



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE MATERIAIS

ELIBE SILVA SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES COMPÓSITOS PARA APLICAÇÃO  
ANTIBACTERIANA BIOINSPIRADOS NA SUPERFÍCIE SUPER-HIDROFÓBICA  
DE PLANTAS**

Recife

2019

ELIBE SILVA SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES COMPÓSITOS PARA APLICAÇÃO  
ANTIBACTERIANA BIOINSPIRADOS NA SUPERFÍCIE SUPER-HIDROFÓBICA  
DE PLANTAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência de Materiais.

Área de concentração: Materiais não metálicos

**Orientador:** Prof. Dr. Petrus d'Amorim Santa Cruz Oliveira

**Coorientadora:** Dra. Lizeth Carolina Mojica Sánchez

Recife  
2019

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Arabelly Ascoli CRB4-2068

S729d Souza, Elibe Silva  
Desenvolvimento de filmes compósitos para aplicação antibacteriana bioinspirados na superfície super-hidrofóbica de plantas / Elibe Silva Souza. – 2019.  
110 f.: il., fig., tab.

Orientador: Petrus d'Amorim Santa Cruz Oliveira  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Ciência de Materiais. Recife, 2019.  
Inclui referências e apêndices.

1. Bioinspiração. 2. Impressão DoD. 3. Nanocompósitos. 4. Hidrofobicidade. I. Oliveira, Petrus d'Amorim Santa Cruz (orientador). II. Título.

620.11            CDD (22. ed.)            UFPE-FQ 2019-56

ELIBE SILVA SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FILMES COMPÓSITOS PARA  
APLICAÇÃO ANTIBACTERIANA BIOINSPIRADOS NA SUPERFÍCIE  
SUPER-HIDROFÓBICA DE PLANTAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciência de Materiais.

Aprovada em: 28/02/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Petrus D' Amorim Santa Cruz (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Maria Goreti Carvalho Pereira (Examinadora Interna)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof<sup>a</sup>. Ivani Malvestiti (Examinadora Externa)

Universidade Federal de Pernambuco

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus primeiramente, pois sem seu amor e suas providências em minha vida, eu nada seria.

Agradeço a minha família, (Emanuel, Paizinha, Davi, Ewellyn, Elaine, Elilde, Ingrid, Junior, Tio Cláudio, Tia Lúcia, Nathália, Cauanny, Sandra, entre outros), pois é deles que emanam minhas forças para continuar a caminhada diariamente, amo muito vocês.

Aos colegas de laboratório que sempre me motivaram e colaboraram cientificamente e pessoalmente no meu desenvolvimento neste período: Carol, Sueli, Karina, Rosely, Fátima, Felipe e Abissal.

Ao professor Petrus pela recepção no grupo de pesquisa Grandfoton juntamente com sua esposa Karen e desde então colaboraram para que este trabalho fosse realizado com êxito.

Aos amigos antigos e aos amigos conquistados durante todo o período de mestrado: Guilherme, Simone, Felype, Raquel, Fernanda, Lídia, Rodolfo, Edielen, Daiane, Janilson, Grici, Flávio, Yuri, Elton, Gerson, Glaucy, Valmir, Paulo, Fabiana, entre outros.

Aos colaboradores da UFPE que fizeram todo seu trabalho com dedicação para que este ocorresse: Gian (técnico do CETENE), Sérgio (técnico do DF), Elias (técnico do DQF), Eliete (técnica do DQF), Patrícia (secretaria do pós-graduação da química DQF), Magda e Rafael (professora e aluno do DEMEC), Norma Gusmão e Nicole (professora e aluna do departamento de antibióticos).

Aos membros da banca avaliadora, a professora Maria Goreti Carvalho Pereira e a professora Ivani Malvestiti, pela compreensão e pela excelência nas suas argumentações e contribuições acerca desta dissertação.

No mais, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais (PGMtr), aos departamentos responsáveis pelo PGMtr, (DQF e DF) e a agência de fomento financiadora da bolsa de mestrado, (CNPq), pela cooperação diária para que a ciência seja realizada diante do surgimento de tantas adversidades.

A verdadeira viagem de descoberta não consiste em procurar novas paisagens, mas em ter novos olhares.

(PROUST, 1983)

## RESUMO

O presente trabalho descreve o desenvolvimento e caracterização de um material compósito polimérico contendo nanopartículas de prata, e obtenção de filmes que aliem propriedade antibacteriana e hidrofobicidade. O material desenvolvido foi bioinspirado nas estruturas da superfície foliar da espécie vegetal *Colocasia esculenta* (L.) Schott, que apresenta efeito Lótus devido a estruturas hierárquicas (nano e micro), porém está presente na diversidade de espécies vegetais existentes no Brasil. Foram obtidos *biotemplates* por hidroponia *indoor* da *C. esculenta*, cujo tubérculo é conhecido localmente como cará paulista, ou pela denominação mais abrangente, como taro. A replicação das estruturas dos *biotemplates* foi realizada através de duas técnicas de impressão distintas, *soft lithography* e impressão *Drop on Demand* (DoD) de materiais. A impressão DoD foi utilizada como prova em conceito para a reprodução das estruturas de folhas da *C. esculenta* a partir do software *TopoSlicer*®, desenvolvido em colaboração na presente pesquisa, que converte imagens 2D em cotas para imprimir estruturas 3D bioinspiradas, através de processo de impressão *Layer by Layer* (LbL). O software desenvolvido apresentou melhor performance com imagens de microscopia de força atômica (AFM) que as obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). O software foi validado com a impressão DoD das estruturas com um fluido imprimível desenvolvido. O material impresso apresentou um aumento de 8° no ângulo de contato, porém a fidelidade da replicação é limitada pelo atual limite de resolução da impressora. Utilizando-se a técnica de *soft lithography*, a reprodução das estruturas da folha foi alcançada com êxito, resultando em ângulo de contato de aproximadamente 122° para a água e fidelidade no tamanho das estruturas originais de acordo com micrografias de MEV. Por fim, foi apresentado o desenvolvimento de dispositivos imprimíveis com propriedades bactericidas utilizando impressão do compósito de matriz polimérica, polivinil butiral incorporando nanopartículas de prata (PVB@NpAg), tendo também como inovação o uso de templates com impressão lateral de fluido contendo extrato da casca de romã como inibidor de flagelina produzida por bactérias, aglomerante de nanopartículas que causaria redução da atividade bactericida do material. Todos os filmes impressos foram submetidos testes que apresentaram inibição bacteriana.

**Palavras-chave:** Bioinspiração. *Soft lithography*. Impressão *DoD*. Nanocompósitos. Hidrofobicidade. Inibição bacteriana.

## ABSTRACT

The present work describes the development and characterization of a polymeric composite material containing silver nanoparticles, and obtaining films that combine antibacterial property and hydrophobicity. The material developed was bioinspired on the leaf surface structures of the plant species *Colocasia esculenta* (L.) Schott, which shows Lotus effect due to hierarchical structures (nano and micro), but is present in the diversity of plant species existing in Brazil. Biotemplates were obtained by indoor hydroponics of *C. esculenta*, whose tubercle is known locally as Cará Paulista, or by the more comprehensive denomination, as taro. The replication of the structures of the biotemplates was performed through two distinct printing techniques, soft lithography and Drop on Demand (DoD) printing of materials. The DoD print was used as a Proof of Concept (PoC) for the reproduction of the *C. esculenta* leaf structures from the software TopoSlicer®, developed in collaboration in the present research, that converts 2D micrography images in a set of 2D quota related images to print bio-inspired 3D structures, through a process of Layer by Layer (LbL) printing. The developed software presented better performance with images of atomic force microscopy (AFM) than those obtained by scanning electron microscopy (SEM). The software was validated with the DoD print of the structures with a developed printable fluid. Printed material showed an 8 ° increase in contact angle, but replication fidelity is limited by the printer's current resolution limit. Using the technique of soft lithography, the reproduction of the leaf structures was successfully achieved, resulting in a contact angle of approximately 122 ° for water and fidelity in the size of the original structures according to SEM micrographs. Finally, it was presented the development of printable devices with bactericidal properties using polymer matrix composite printing, polyvinyl butyral incorporating silver nanoparticles (PVB @ NpAg), also having as innovation the use of templates with lateral impression of fluid containing fruit peel extract of pomegranate as inhibitor of flagellin produced by bacteria, a nanoparticle binder that would cause reduction of the bactericidal activity of the material. All printed films were submitted to tests that showed bacterial inhibition.

**Keywords:** Bioinspiration. Soft lithography. DoD printing. Nanocomposites. Hydrophobicity. Bacterial inhibition.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ondas de inovação descritas a partir das conceituadas inicialmente por Kondratieff (1892-1938) .....	20
Figura 2 -	Superfícies autolimpantes típicas da natureza com suas respectivas micrografias de MEV.....	21
Figura 3 -	Regimes de molhabilidade de uma superfície: a) superfície super-hidrofílica $\theta < 5^\circ$ ; b) superfície hidrofílica $\theta < 90^\circ$ ; c) superfície hidrobóbica $\theta > 90^\circ$ e d) superfície super-hidrofóbica $\theta > 150^\circ$ .....	27
Figura 4 -	Imagens da (a) histerese de ângulo de contato de uma superfície, ângulo de avanço e de recuo numa superfície plana obtidos através do aumento e diminuição do volume da gota, respectivamente; e do (b) ângulo de deslizamento de uma gota em uma superfície inclinada com um ângulo de inclinação $\alpha$ .....	28
Figura 5 -	Estados de molhabilidade de uma gotícula em substratos sólidos: a) Modelo de Young, b) Modelo de Wenzel, c) Modelo de Cassie-Baxter.....	29
Figura 6 -	(a) Fotografia da folha da <i>C. esculenta</i> L. Schott com destaque de uma gota d'água em sua superfície, (b) e (c) Micrografias de MEV da superfície da folha, com hierarquias de micro e nanoestruturas, respectivamente.....	31
Figura 7 -	(a) Fotografia da folha de lótus super-hidrofóbica com gotícula de água. (b) Micrografia de MEV com ampliação das microestruturas de superfície. c) Micrografia de MEV com ampliação das nanoestruturas de superfície.....	32
Figura 8 -	Etapas para replicação de uma superfície utilizando a soft lithography.....	33
Figura 9 -	Ilustração esquemática dos princípios operacionais de uma impressora a jato de tinta (a) (CIJ) e (DoD) com atuador (b) térmico e (c) piezoelétrico.....	35
Figura 10 -	Impressora Dimatix Materials Printer utilizada (DMP-2831-FUJIFILM) .....	37

Figura 11 -	Elementos estratégicos para otimização do processo de impressão DoD.....	38
Figura 12 -	Gotas geradas a partir na impressão a jato de tinta, mostrando a característica cauda alongada e a formação de gotas satélites.....	39
Figura 13 -	Representação da região imprimível do fluido em função dos números de Reynolds e Weber.....	41
Figura 14 -	Estrutura do PDMS.....	42
Figura 15 -	Composto vinílico, acrilato de metila e metacrilato de metila.....	42
Figura 16 -	Estrutura química do monômero de PVA.....	43
Figura 17 -	Estrutura química do PVB, com as três unidades vinis.....	44
Figura 18 -	Esquema de formação das NpAg por redução química com NaBH <sub>4</sub> ..	46
Figura 19 -	Esquema de formação das nanopartículas de prata no solvente orgânico DMF.....	46
Figura 20 -	Biofábrica de cultivo hidropônico indoor para fabricação dos biotemplates.....	53
Figura 21-	Esquema de síntese de nanopartículas de prata por redução química com borohidreto de sódio.....	55
Figura 22 -	Esquema de síntese de nanopartículas de prata por redução química com DMF.....	55
Figura 23 -	Funcionamento do software TopoSlicer®, que transforma micrografias 2D em um conjunto de camadas imprimíveis por cotas para impressão LbL em 3D numa impressora 2D de materiais DoD..	59
Figura 24 -	Dispositivos imprimíveis contra a resistência bacteriana a nanopartículas bactericidas.....	60
Figura 25 -	Atenuação de um feixe de radiação por uma solução absorvente.....	62
Figura 26 -	Esquema de análise de inibição bacteriana dos filmes por Soft lithography em meio de cultura líquido de Mueller-Hilton.....	65
Figura 27 -	Esquema de análise de inibição bacteriana dos fluidos impressos por DoD em meio de cultura sólido Mueller-Hilton Agar pelo método de difusão de disco.....	66
Figura 28 -	a) Início da hidroponia indoor para a Colocasia esculenta (L.) Schott, b) 16 dias de cultivo sob condições controladas; c) 36 dias	67

	de cultivo, d) gota de água submetida ao efeito lótus em uma folha cultivada, e) e f) Micrografias (SEM MIRA3 Tescan) da superfície da folha, com 36 dias de cultivo, evidenciando micro e nano-hierarquias, respectivamente.....	
Figura 29 -	a) Plantas submetidas a estresse hídrico. b) e c) Micrografias da superfície de sua folha (SEM MIRA3 Tescan) .....	68
Figura 30 -	Espectros de absorção na região do UV-visível para redução com NaBH <sub>4</sub> .....	70
Figura 31 -	Histogramas de distribuição de tamanho de partículas para os experimentos utilizando a redução química de NpAg com borohidreto de sódio.....	71
Figura 32 -	Espectros de absorção na região do UV-visível para redução com DMF.....	74
Figura 33 -	Soluções com nanopartículas produzidas por redução química em DMF.....	74
Figura 34 -	Gráficos de distribuição de tamanho de partículas para os experimentos utilizando a redução química de NpAg com DMF.....	76
Figura 35 -	Filmes compósitos polímero@NpAg: (a) PVA e (b) PVB.....	77
Figura 36 -	MEV de moldes negativos em a) PDMS, b) acrilato fotopolimerizado (C. esculenta) .....	78
Figura 37 -	Micrografias de MEV a) da folha da Colocasia esculenta (L.) Schott b) réplica C. esculenta PVB / PDMS, c) réplica C. esculenta PVB/acrilato fotopolimerizável.....	79
Figura 38 -	Micrografias de MEV da réplica C.esculenta com o compósito PVB@NpAg.....	81
Figura 39 -	Curva termogravimétrica dos filmes PVB e PVB@NpAg.....	82
Figura 40 -	Estrutura da Colocasia esculenta representada em contraste de cor em 2D e em perspectiva pela conversão de valores da profundidade no eixo Z a partir de a) micrografia de AFM, com boa resposta e b) micrografia de MEV, com grave distorção na projeção.....	84
Figura 41 -	Layout do TopoSlicer® com a) informações de entrada e b) conjunto de templates digitais gerados pelo software para impressão 3D layer by layer a partir de uma impressora de materiais DoD 2D....	85

Figura 42 -	Gráficos dos parâmetros de impressão do fluido imprimível PVB: etanol: etilenoglicol (cópia de tela de software online) .....	86
Figura 43 -	Comparação da rugosidade na a) superfície lisa impressa e b) réplica C. esculenta impressa.....	86
Figura 44 -	Gráfico com os parâmetros de impressão para o fluido do extrato da casca da romã, mostrando que situa-se (círculo vermelho) em região imprimível por DoD (área verde) - cópia de tela de software online...	88
Figura 45 -	Imagem da formação das gotas, obtida por câmera estroboscópica embarcada na impressora DMP, para o fluido imprimível do extrato da casca de romã.....	89
Figura 46 -	Fotografias a) impressão extrato da casca da romã em filme de acetato com templates quadrados; b) extrato da casca da romã e c) fluido de impressão do extrato da casca da romã.....	89
Figura 47 -	Cinética de liberação do extrato da casca da romã em filme de acetato.....	90
Figura 48 -	Espectro do extrato da casca da romã concentrado.....	91
Figura 49 -	Gráficos dos parâmetros de impressão do compósito PVB@NpAg...	92
Figura 50 -	Imagem da formação das gotas por seis dos 16 bicos do cartucho utilizado, para o fluido imprimível do compósito PVB@NpAg, registrada por câmera estroboscópica embarcada na impressora.....	92
Figura 51 -	Fotografias a) impressão do compósito PVB@NpAg com extrato da casca da romã em filme de acetato; b) fluido de impressão do compósito PVB@NpAg.....	93
Figura 52 -	Inibição bacteriana para os filmes produzidos via soft lithography..	95
Figura 53 -	Inibição bacteriana para os filmes produzidos via impressão DoD...	96
Figura 54 -	Fotografias do efeito bactericida das NpAg e extrato de romã para as bactérias a) E. coli e b) S aureus.....	97

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Parâmetros de controle para impressora Drop-on-Demand (DoD) com atuação piezoelétrica, Dimatix Materials Printer 2831 –Fujifilm .....	38
Tabela 2 -	Matriz do planejamento fatorial $2^3$ com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ ), com as variáveis independentes e seus respectivos níveis .....	54
Tabela 3 -	Matriz do planejamento fatorial $2^2$ com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via solvente DMF, com as variáveis independentes e seus respectivos níveis .....	56
Tabela 4 -	Composição dos sistemas analisados para formação do filme de compósito polimérico .....	56
Tabela 5 -	Ângulos de contato e deslizamento para a água na superfície da folha da <i>C. esculenta</i> .....	69
Tabela 6 -	Planejamento fatorial $2^3$ com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via $\text{NaBH}_4$ , com os níveis e as respectivas variáveis .....	70
Tabela 7 -	Planejamento fatorial $2^2$ com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química em solvente (DMF), com os níveis e as respectivas variáveis .....	73
Tabela 8 -	Ângulos de contato da superfície da folha da <i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott e réplicas obtidas via soft lithography .....	80
Tabela 9 -	Anova do desenho fatorial $2 \times 3 \times 2$ para os filmes via soft lithography ....	94
Tabela 10 -	Anova do desenho fatorial $2 \times 3$ para os filmes via impressão DoD .....	96

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Microscopia de Força Atômica
CA	Ângulos de Contato
CAH	Histerese do Ângulo de Contato
<i>CIJ</i>	<i>Continuous Inkjet</i>
DA	Ângulo Deslizante
DLS	<i>Dynamic Light Scattering</i>
DMF	N, N- dimetilformamida
DMP	<i>Dimatix Materials Printer</i>
DoD	<i>Drop on Demand</i>
DPI	<i>Dots Per Inch</i>
<i>EIJ</i>	<i>Electrostatic Inkjet</i>
ISS	<i>International Space Station</i>
IBM	<i>International Business Machines</i>
LbL	<i>Layer by Layer</i>
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NEC	<i>Nippon Electric Company</i>
NpAg	Nanopartículas de prata
PDMS	Polidimetilsiloxano
Polímero@NpAg	Nanocompósito contendo nanopartículas de prata dispersas em uma fase polimérica
PVA	Poliálcool vinílico
PVA@NpAg	Nanocompósito contendo nanopartículas de prata dispersas no polímero poliálcool vinílico
PVB	Polivinil butiral
PVB@NpAg	Nanocompósito contendo nanopartículas de prata dispersas no polímero polivinil butiral
PVP	Polivinilpirrolidona
<i>SPR</i>	<i>Surface Plasmon Resonance</i>
SIJ	<i>Superfine Inkjet</i>
TGA	Análise Termogravimétrica

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	23
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	24
3.1	DA BIOMIMÉTICA AOS MATERIAIS FUNCIONAIS BIOINSPIRADOS.....	24
<b>3.1.1</b>	<b>Molhabilidade de superfícies</b> .....	25
<b>3.1.2</b>	<b>Energia superficial e tensão superficial</b> .....	25
<b>3.1.3</b>	<b>Histerese de ângulo de contato e ângulo de deslizamento</b> .....	27
<b>3.1.4</b>	<b>Modelos de Wenzel e Cassie-Baxter</b> .....	28
<b>3.1.5</b>	<b>Estruturas hierárquicas</b> .....	29
<b>3.1.6</b>	<b>Colocasia esculenta (L.) Schott</b> .....	30
3.2	TÉCNICAS DE IMPRESSÃO DOS BIOTEMPLATES .....	32
<b>3.2.1</b>	<i>Soft lithography</i> .....	32
<b>3.2.2</b>	<i>Impressão Drop on Demand</i> .....	33
3.2.2.1	<i>Impressora de materiais DMP 2831</i> .....	36
3.2.2.2	<i>Desenvolvimento de fluidos imprimíveis</i> .....	37
3.2.2.3	<i>Design do fluido e geração de gota</i> .....	39
3.2.2.4	<i>Algoritmos de controle</i> .....	41
3.3	POLÍMEROS UTILIZADOS .....	41
3.3.1	<b>Polidimetilsiloxano (PDMS)</b> .....	41
3.3.2	<b>Poliacrilato fotopolimerizável</b> .....	42
3.3.3	<b>Poliálcool vinílico (PVA)</b> .....	43
3.3.4	<b>Polivinil butiral (PVB)</b> .....	43
3.4	NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NpAg) .....	44
<b>3.4.1</b>	<b>Método de redução química com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>)</b> .....	45
<b>3.4.2</b>	<b>Método de redução química com N, N- dimetilformamida (DMF)</b> .....	46
<b>3.4.3</b>	<b>Ressonância plasmônica</b> .....	47
<b>3.4.4</b>	<b>Atividade bactericida das nanopartículas de prata vs resistência bacteriana</b> .....	47
3.5	ESTADO DA ARTE .....	49
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTAL</b> .....	52
4.1	REAGENTES QUÍMICOS .....	52

4.2	HIDROPONIA PARA PRODUÇÃO DE BIOTEMPLATES.....	52
4.3	SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NpAg) .....	54
<b>4.3.1</b>	<b>Método de Redução química com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>).....</b>	<b>54</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Método de Redução química com N, N- dimetilformamida (DMF) ..</b>	<b>55</b>
4.4	DESENVOLVIMENTO DO FILME COMPÓSITO - Polímero@NpAg	56
4.5	IMPRESSÃO .....	58
<b>4.5.1</b>	<b><i>Soft lithography</i>.....</b>	<b>58</b>
<b>4.5.2</b>	<b>Printrônica – Impressão <i>Drop on Demand (DoD)</i>.....</b>	<b>58</b>
<i>4.5.2.1</i>	<i>Desenvolvimento do software para produção de biotemplates digitais e impressão 3D .....</i>	<i>58</i>
4.6	PREPARAÇÃO DO INIBIDOR DE FLAGELINA BACTERIANA: EXTRATO DE CASCA DE ROMÃ .....	60
4.7	CARACTERIZAÇÃO.....	60
4.7.1	Espalhamento Dinâmico de Luz - (DLS) .....	61
4.7.2	Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível.....	61
4.7.3	Microscopia de Força Atômica - (AFM).....	63
4.7.4	Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV).....	63
4.7.5	Ângulo de contato (CA) e ângulo de deslizamento (DA).....	64
4.7.6	Análise Termogravimétrica - (TGA).....	64
4.8	ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA.....	64
<b>5</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>67</b>
5.1	CULTIVO DOS BIOTEMPLATES .....	67
5.2	DESENVOLVIMENTO DOS FILMES COMPÓSITOS POLIMÉRICOS.....	69
<b>5.2.1</b>	<b>Síntese das nanopartículas de prata (NpAg) .....</b>	<b>69</b>
<i>5.2.1.1</i>	<i>Redução química com Borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>) .....</i>	<i>69</i>
<i>5.2.1.2</i>	<i>Redução química com N, N- dimetilformamida (DMF).....</i>	<i>73</i>
<b>5.2.2</b>	<b>Incorporação das nanopartículas de prata na matriz polimérica (PVA e PVB) .....</b>	<b>77</b>
5.3	REPRODUÇÃO DOS BIOTEMPLATES .....	78
<b>5.3.1</b>	<b><i>Soft lithography</i>.....</b>	<b>78</b>
<b>5.3.2</b>	<b>Impressão à jato de tinta <i>Drop on Demand (DoD)</i>.....</b>	<b>82</b>

5.3.2.1	<i>Software TopoSlicer®</i> .....	83
5.3.2.2	<i>Parâmetros de impressão do fluido PVB 0,7 % (v/v): etanol : etilenoglicol</i> .....	85
5.4	DISPOSITIVOS IMPRIMÍVEIS CONTRA A RESISTÊNCIA BACTERIANA A NANOPARTÍCULAS BACTERICIDAS .....	87
<b>5.4.1</b>	<b>Impressão do extrato da casca de romã</b> .....	88
5.4.1.1	<i>Parâmetros de impressão do fluido com extrato da casca da romã</i> .....	88
5.4.1.2	<i>Cinética de liberação do extrato da casca da romã em meio aquoso</i> .....	89
<b>5.4.2</b>	<b>Impressão do compósito PVB@NpAg com extrato da casca da romã</b>	91
5.4.2.1	<i>Parâmetros de Impressão PVB@NpAg</i> .....	92
5.5	ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA .....	93
<b>5.5.1</b>	<b>Filme de PVB@NpAg via <i>Soft lithography</i></b> .....	93
<b>5.5.2</b>	<b>Filme de PVB@NpAg com inibidor via impressão <i>Drop on Demand</i></b> ..	95
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	98
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	100
APÊNDICE A-	<b>ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO OTIMIZADOS PARA FLUIDO DE PVB: ETANOL/ETILENOGLICOL</b> .....	107
APÊNDICE B-	<b>ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO OTIMIZADOS PARA FLUIDO DO EXTRATO DA CASCA DA ROMÃ</b> .....	108
APÊNDICE C-	<b>ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO OTIMIZADOS PARA FLUIDO DO COMPÓSITO PVB@NPAG</b> .....	109
APÊNDICE D-	<b>TRABALHOS PUBLICADOS</b> .....	110

---

## 1 INTRODUÇÃO

---

Apesar do termo “nanotecnologia” ter sido utilizado pela primeira vez em 1974, pelo Prof. Norio Taniguchi da Universidade de Tóquio, foi só no início deste século que a nanotecnologia passou efetivamente a ser explorada comercialmente da forma com que se entende hoje, ou seja, explorando novas propriedades associadas a materiais na escala nanométrica.

O estudo das novas propriedades associadas à escala nanométrica, que deu posteriormente origem à nanociência, foi pioneiramente destacada em 1959, em palestra do Prof. Richard Feynman (Nobel de física de 1965), mas apenas em 1981 o microscópio de tunelamento foi desenvolvido (IBM Zurique, Nobel 1986), permitindo a análise da matéria em escala atômica. Em 1991 o físico japonês Sumio Iijima, da multinacional NEC, publica um importante artigo sobre a produção de nanotubos de carbono, e dez anos depois, no início deste século (2001), uma equipe da IBM constrói uma rede de transistores usando nanotubos, resultado da nanociência gerando nanotecnologia.

Além da nanotecnologia do carbono, envolvendo fulerenos, nanotubos, grafenos, *C-dots* (pontos quânticos de carbono, descobertos apenas há 15 anos) e seus compósitos nanoestruturados, materiais nanoestruturados com nanopartículas metálicas vem dominando grande parte dos trabalhos envolvendo nanociência.

As nanopartículas metálicas constituem os materiais nanoestruturados mais antigos manufaturados pelo homem. O cálice de Licurgo, feito provavelmente na Alexandria entre os anos de 295 e 325, é um objeto vítreo decorativo de pouco mais de 16 cm de altura, que chama a atenção por suas propriedades ao interagir com a luz, devido à presença de nanopartículas metálicas. Pode ser visto atualmente em Londres, exposto no *British Museum*, que o adquiriu há cerca de 60 anos, e encontra-se perfeitamente preservado, depois de cerca de 1700 anos. A análise do vidro que o constitui, revelou que se trata de um compósito vítreo com nanopartículas metálicas (~70 nm), de prata e ouro na proporção 14:1. Interações da luz com as nanopartículas resultam num cálice vermelho quando a luz branca o atravessa, ou num cálice verde, quando a luz branca é refletida por ele (BARBER e FREESTONE, 1990).

Trabalhos envolvendo nanopartículas metálicas dividem-se atualmente em dois grandes grupos: os que exploram as interações da matéria com plásmons – quantização das oscilações coletivas dos elétrons confinados nas nanopartículas – que deram origem à área da plasmônica, e os que exploram propriedades bactericidas das nanopartículas, particularmente de prata.

O emprego da prata e de seus compostos na medicina e na purificação da água se deve à sua atividade antibacteriana e antifúngica. Há relatos de que provavelmente foram observados soldados feridos por lanças de prata sendo curados de infecções, e na China antiga a prata foi incorporada na medicina tradicional chinesa. Agulhas de prata datadas de 113 a.C. foram encontradas na tumba do príncipe Liu Sheng. Antes dos antibióticos, a prata coloidal era inclusive administrada de forma intravenosa, e mais recentemente na forma de colírio para evitar conjuntivite em recém-nascidos, ou na forma de sulfadiazina de prata em pacientes queimados para tratar infecções. Atualmente a prata é utilizada inclusive nos reservatórios de água da Estação Espacial Internacional (ISS), e em muitos filtros domésticos.

Nanocompósitos poliméricos aliam propriedades da fase nanoestruturada às propriedades da fase polimérica, e modificações na química das superfícies permitem a sintonia de propriedades físico-químicas relacionadas ao desempenho dos materiais resultantes. As interações interfaciais entre os nanomateriais, as matrizes poliméricas e a dimensão nanométrica entre os domínios, diferenciam os nanocompósitos poliméricos dos compósitos tradicionais. Os nanocompósitos poliméricos são uma combinação ativa de polímero e nanomaterial (outros aditivos também podem estar presentes), onde pelo menos uma fase permanece no regime nanométrico (menor que 100 nm) no material resultante (KARAK, 2019).

As nanopartículas de prata têm sido amplamente estudadas e aplicadas devido às suas propriedades ópticas, elétricas e magnéticas, e podem ser incorporadas em aplicações antimicrobianas, fibras compostas, materiais supercondutores criogênicos, produtos cosméticos, componentes eletrônicos e materiais para biossensores (SANTOS, 2016).

Na década de 80 a UFPE foi pioneira no desenvolvimento de materiais fotônico-plasmônicos, produzindo aumento da luminescência de lantanídeos em vidros contendo nanopartículas de prata e no ano passado, nosso grupo explorou pela primeira vez propriedades bactericidas de nanocompósitos de prata em dispositivos imprimíveis (MALTA et al, 1985; BARRERA et al, 2018).

O surgimento e recombinação de tecnologias em novos produtos e processos que geram ações inovadoras, resultam na reformulação da indústria e dinâmica que promovem o desenvolvimento da sociedade. O processo de “destruição criativa”, onde antigas suposições

são "destruídas" em razão das novas, e as necessidades das comunidades, respondem a ciclos de mudança, ou "ondas de inovação" (SILVA e DI SERIO, 2016).

As ondas de inovação, conceituadas inicialmente por Kondratieff (1892-1938) com ciclos de 50 a 60 anos de recessão e prosperidade, refletindo nas economias ocidentais dos últimos duzentos anos entre períodos que alternam surto e calmaria (Figura 1) (LINSTONE e DEVEZAS, 2012), atualmente são descritas por ciclos cada vez mais curtos. A primeira onda de inovação foi marcada pela primeira fase da Revolução Industrial, que foi responsável por promover um grande salto em inovação, incorporando novas tecnologias e causando uma mudança da produção artesanal para a industrial. Em seu estágio final, foi influenciado pelo fim das guerras napoleônicas. Já a quinta onda de inovação baseia-se na tecnologia de redes de informação e comunicação, caracterizada pelo uso generalizado de computadores e pela reconfiguração de empresas com o desenvolvimento da internet, e embora esteja bem estabelecida em nossa sociedade, essa onda também mostra sinais de desaceleração, enquanto que a sexta onda de inovação está em ascensão, impulsionada pelo esgotamento do atual modelo de capitalismo e pela necessidade de reconfiguração em torno das necessidades ambientais e sociais presentes, criando um ambiente onde os negócios, a humanidade e a natureza possam coexistir e se desenvolver (SILVA e DI SERIO, 2016). Mais recentemente, no entanto, esta tendência vem sendo afetada por mudanças associadas à geopolítica mundial num cenário de globalização envolvendo conflitos e desestabilização, que dificultam a previsão de uma tendência, mesmo para um futuro próximo.

Figura 1- Ondas de inovação descritas a partir das conceituadas inicialmente por Kondratieff (1892-1938).



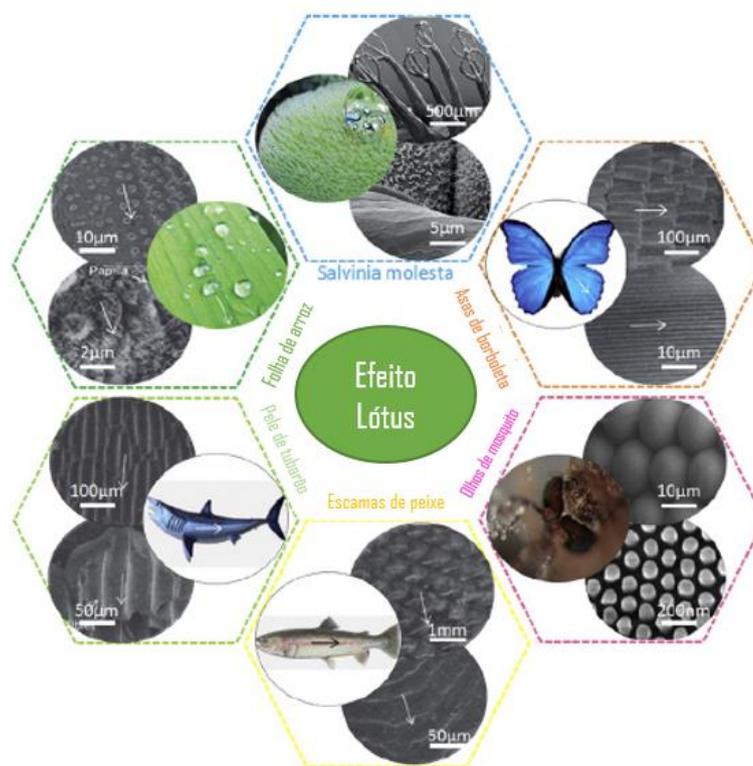
(Adaptado de The Natural Edge Project. The Natural Advantage of Nations (Vol.1): Business Opportunities, Innovation and Governance in the 21th Century)

Na atual sexta onda de inovação, o desenvolvimento de materiais ambientalmente amigáveis inclui nanotecnologia verde, energias renováveis, sustentabilidade e biomimética/bioinspiração.

A evolução das espécies na natureza resultou em uma diversidade surpreendente de estruturas complexas, otimizadas por milhares de anos. Apesar de impossíveis, na grande maioria dos casos, de serem mimetizadas ou copiadas como réplicas idênticas, podem ser utilizadas para inspiração de novos produtos e processos, resultando em sistemas bioinspirados.

Um exemplo típico de estruturas que evoluíram ao longo dos anos em sistemas biológicos e que resultaram em propriedades tecnologicamente interessantes são as encontradas em algumas plantas e animais, como por exemplo, nas folhas de arroz, *Salvinia molesta*, asas de borboleta, escamas de peixe, pele de tubarão e olhos de mosquito, (Figura 2), que desenvolveram superfícies autolimpantes. A água pode rolar seguindo uma direção preferencial ditada pelas características estruturais (M. ZHANG, et al 2015).

Figura 2- Superfícies autolimpantes típicas da natureza com suas respectivas micrografias de MEV.



(M. ZHANG, et al 2015)

Recentemente em nosso Grupo, Sousa (2017), utilizou a técnica *soft lithography* em seu projeto de pós-graduação, para reproduzir estruturas de superfícies de folhas hidrofóbicas de espécies vegetais, com resultados eficientes para replicar superfícies em escala micro- e nanométricas, com estabilidade rapidez e baixo custo para modelagem dessas superfícies, resultando em materiais poliméricos bioinspirados, reproduzindo a propriedade de hidrofobicidade dos moldes naturais.

As impressoras de materiais com tecnologia *Drop on Demand* (DoD) para jateamento de fluidos funcionais utilizam uma tecnologia promissora para reproduzir estruturas ordenadas através da superposição de camadas - *layer by layer* (LbL), devido a sua alta precisão, reprodutibilidade dos padrões de impressão e compatibilidade com diversos substratos, sem danificar o fluido, jateado por pressão, e não por aquecimento. Esta técnica propicia o uso de diversos materiais complexos como fluidos funcionais, além de utilizar pequenas quantidades de materiais, sem geração de resíduos e, portanto, ambientalmente amigável.

O presente trabalho busca a criação de novos materiais funcionais híbridos, aliando estruturas bioinspirados em superfícies hidrofóbicas de plantas, a propriedades de materiais

nanoestruturados com atividade bactericida, e preservação desta propriedade em situações em que a natureza evolui para inativar esta atividade, como ocorre atualmente com antibióticos. Para isto, o desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos com nanopartículas de prata é utilizado na como material para biomimetização das estruturas superficiais da folha de *Colocasia esculenta* (L.) Schott, cujo tubérculo é conhecido localmente como cará paulista, ou pela denominação mais abrangente, como taro. Serão utilizadas duas técnicas de reprodução microestrutural, na tentativa de produzir a hidrofobicidade da superfície dos moldes naturais: a impressão DoD camada por camada (LbL) através da preparação de fluido imprimível, e a técnica de *soft lithography*, preparando-se um molde negativo polimérico a partir do *biotemplate*, seguido da moldagem do nanocompósito ativo, que resulte num material que alie propriedades hidrofóbicas e bactericidas.

Por fim, será apresentado o desenvolvimento de dispositivo impresso com padrão que alterna o nanocompósito bactericida ao lado de fluido contendo um inibidor natural de flagelina, proteína produzida por bactérias, que atua como aglomerante de nanopartículas, podendo resultar na diminuição da atividade bactericida do material. Esta última etapa envolve inovação relacionada a constatação relatada em literatura (PANÁČEK et al, 2017), de aumento de produção da flagelina em bactérias que evoluem em contato com nanopartículas metálicas, como forma de proteção, gerando cepas mais resistentes.

---

## 2 OBJETIVO

---

O principal objetivo deste trabalho é desenvolver filmes de nanocompósitos poliméricos com atividade antibacteriana com superfície hidrofóbica bioinspirada nas folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott.

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Produzir de *biotemplates* para reprodução de estruturas hidrofóbicas a partir do cultivo de *Colocasia esculenta* (L.) Schott in vitro, por hidroponia *indoor*;
- Desenvolver *software* de conversão de micrografias de AFM 2D (x, y, níveis de cinza) em um conjunto de n imagens 2D (x, y, preto/branco) em n cotas, para impressão camada por camada de bioestruturas 3D, utilizando impressora de materiais tipo *Drop on Demand*;
- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata como fase nanoestruturada dos compósitos poliméricos;
- Desenvolver fluidos dos compósitos poliméricos com nanopartículas metálicas para impressão *Drop on Demand*;
- Produzir filmes de compósitos poliméricos com nanopartículas de prata para impressão das estruturas das folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott e caracterizar as propriedades físico-químicas das réplicas obtidas por impressão DoD e *soft lithography*;
- Desenvolver fluidos imprimíveis do extrato de casca de romã na impressão *Drop on Demand*;
- Desenvolver dispositivos imprimíveis via impressão *Drop on Demand* do compósito polimérico com nanopartículas de prata e extrato de casca de romã;
- Realizar testes de inibição bacteriana dos filmes obtidos por *soft lithography* e impressão *Drop on Demand*.

---

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

#### 3.1 DA BIOMIMÉTICA AOS MATERIAIS FUNCIONAIS BIOINSPIRADOS

O termo “biomimética”, surgiu da combinação das palavras gregas *bios*, que significa vida e *mimesis* que significa imitação. A biomimetização é a imitação da biologia ou da natureza, utilizando as diversas áreas da ciência. Envolve a compreensão das funções biológicas, estruturas e princípios encontrados na natureza (HAN, 2016).

Alguns autores incluem o design biologicamente inspirado, adaptação ou derivação da natureza dentro da biomimética, mas na ciência de materiais, na maioria das vezes os produtos e processos incluem apenas algumas características biológicas importantes para a preservação de determinada propriedade, sendo na maioria das vezes impossível a imitação ou réplica, de forma que, neste trabalho, o termo “bioinspiração” será considerado mais apropriado, e os materiais funcionais bioinspirados são aqueles que reproduzem apenas determinada característica importante para a função para a qual evoluiu na natureza.

Segundo Sousa (2017), a bioinspiração não resulta apenas da observação de estruturas naturais, mas requer por exemplo, uma investigação completa das relações estrutura-função em materiais biológicos, se a propriedade a ser explorada depende da estrutura. Na evolução das espécies, a natureza criou várias estratégias para criar ou otimizar excelentes propriedades funcionais, que podem servir de base para o desenvolvimento de materiais funcionais muitas vezes envolvendo comparativamente baixos custos, em alguns casos apenas através de estruturação hierárquica. A pesquisa e desenvolvimento de materiais inspirados na natureza traz oportunidades para a criação de novas estratégias para criar materiais multifuncionais, por exemplo por meio de montagem hierárquica, para o uso inteligente de interfaces e o desenvolvimento de materiais ativos ou autorregeneráveis (FRATZL, 2007).

Os seres vivos, através da evolução das espécies descrita pioneiramente pelo naturalista britânico Charles Darwin em 1859, desenvolveram diversas e criativas estratégias de sobrevivência. Distintas funções foram surgindo e sendo otimizadas, como para evitar predadores, selecionar presas, escolhas de parceiros, adaptar-se a seus ambientes de convivência, etc. Os elementos fundamentais dos corpos dos animais e as características morfológicas da superfície de seus corpos deram origem às superfícies multifuncionais dos seres vivos (HAN, 2016).

Superfícies funcionais inspiradas em estruturas biológicas podem ser desenvolvidas com propriedades aprimoradas para aplicações específicas, como redução de arrasto, redução de ruído, superfícies que atuam como adesivos inteligentes, superfícies antidesgaste, antierosão, super-hidrofóbicas, opticamente funcionais, captação de água, entre outras. Tais propriedades resultam da influência mútua entre morfologias de superfície, de microescala e/ou nanoescala, assim como propriedades físicas e químicas dos materiais que a constituem (HAN, 2016). A complexidade dos meios em que as micro/nanoescalas se relacionam permite a obtenção de superfícies com propriedades cada vez mais atraentes.

Das questões relevantes para cientistas de materiais que cercam a reprodução das estruturas naturais complexas, uma é a capacidade de reproduzir estruturas multiescala e outra é a ordem/desordem topológica em materiais antropogênicos (feitos pelo homem) (NIU, 2016). Trabalhos envolvendo o melhoramento de materiais e métodos nos possibilita aprimorar superfícies artificiais multifuncionais, fazendo uso da ciência em áreas distintas, compreendendo abordagens biomiméticas ou bioinspiradas para o desenvolvimento de novos materiais funcionais derivados dessas estruturas.

### 3.1.1 Molhabilidade de superfícies

A molhabilidade está relacionada com a facilidade de espalhamento de um líquido em uma superfície, que está diretamente relacionado às forças intermoleculares entre as fases e, em geral, é estimada pelas medidas do ângulo de contato. O ângulo de contato ( $\theta$ ) da superfície é o ângulo formado pela interseção da interface sólido-líquido e líquido-vapor, e é obtido traçando-se uma tangente ao longo da interface líquido-vapor (AGRAWAL, 2017). Em um meio poroso, contendo dois ou mais fluidos imiscíveis, a molhabilidade é uma medida da tendência preferencial de um dos fluidos de molhar (propagação ou aderir) a superfície (TIAB, 2016).

### 3.1.2 Energia superficial e tensão superficial

Quando duas fases diferentes entram em contato, uma interface é formada e a interação das moléculas ao longo da interface resulta em tensão interfacial, que é única e depende das fases contribuintes (VOGLER, 1993).

A tensão superficial é uma propriedade física que é exibida pelas moléculas existentes na superfície limítrofe de um material e a de um líquido. Estas moléculas na superfície têm menor

interação estabilizadora em comparação com a fase volumosa, devido ao menor número de moléculas vizinhas presentes na superfície, resultando em excesso de energia. Essa energia superficial gera uma tensão na superfície, denominada tensão superficial, e são propriedades termodinâmicas intensivas de um material (YUAN, 2013).

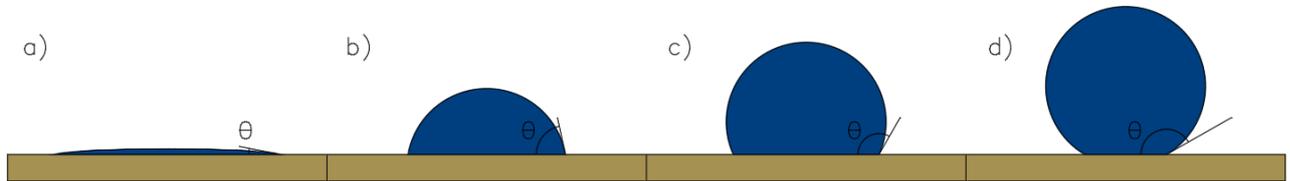
A energia superficial e a tensão superficial desempenham papéis importantes no comportamento de molhabilidade dos materiais (AGRAWAL, 2017).

Ao desenvolver superfícies inspiradas na natureza que possuem propriedades interessantes, como microtexturas com estruturas unitárias, anisotrópicas, hierárquicas de escala dual e outras geometrias, é indispensável se avaliar corretamente os efeitos da rugosidade superficial nas propriedades molhantes, pois há correlação direta com o ângulo de contato estático de uma superfície, que se pretende aprimorar (MA et al, 2017). Para uma compreensão das correlações das funções com as estruturas e composição química das superfícies que exibem autolimpeza encontrados na natureza, muitos estudos já foram realizados (ZHANG et al, 2015).

A maioria das estruturas biológicas evoluíram em contato com a chuva. Em relação ao contato com a água como fluido, as superfícies são classificadas como hidrofílicas quando o ângulo de contato é menor que  $90^\circ$ , hidrofóbicas quando o ângulo de contato é maior que  $90^\circ$  e super-hidrofóbicas quando este ângulo é superior a  $150^\circ$ . Quando o ângulo de contato tende a zero, a superfície é chamada super-hidrofílica, como mostrado na Figura 3 (BURKARTER, 2010). Em certos casos, alguns autores correlacionam o estado super-hidrofóbico com combinação de uma estrutura de superfície hierárquica, que retém o ar por baixo de uma gotícula de água, e a hidrofobicidade superficial de uma cera (ZHANG et al, 2015).

No presente trabalho, no entanto, a hidrofobicidade será promovida apenas pelas estruturas hierárquicas bioinspiradas, reproduzidas em superfícies poliméricas escolhidas por constituírem nanocompósitos incorporando outras propriedades funcionais, associadas a uma fase nanométrica, como nanopartícula metálicas com propriedades antibacterianas. A estrutura da superfície do material será então determinante para o controle de sua molhabilidade.

Figura 3- Regimes de molhabilidade de uma superfície: a) superfície super-hidrofílica  $\theta < 5^\circ$ ; b) superfície hidrofílica  $\theta < 90^\circ$ ; c) superfície hidrobóbica  $\theta > 90^\circ$  e d) superfície super-hidrofóbica  $\theta > 150^\circ$ .



(Imagem do autor).

### 3.1.3 Histerese de ângulo de contato e ângulo de deslizamento

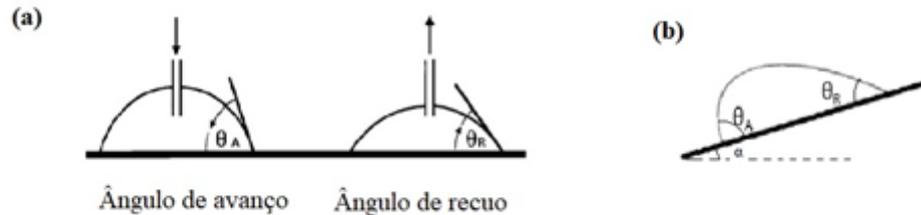
A histerese do ângulo de contato (CAH), Figura 4 a), é definida como a diferença entre avançar e retrain os ângulos de contato, e está diretamente relacionada à força motriz e ao comportamento de deslizamento de uma gota de líquido sobre uma superfície sólida rugosa, dependendo fortemente da estrutura da superfície (MA et al, 2017).

O ângulo deslizante (DA), Figura 4 b) é definido como o ângulo crítico em que uma gota de água com um determinado peso começa a deslizar para baixo da placa inclinada, o que também pode mostrar a força motriz e a força adesiva da gota de um líquido. O ângulo de deslizamento e a histerese do ângulo de contato têm uma definição diferente, mas natureza física semelhante. A equação que descreve a relação entre o ângulo deslizante e a histerese do ângulo de contato, (equação 1) (MA et al, 2017):

$$(mg \sin \alpha)/w = \gamma_{LV}(\cos\theta_R - \cos\theta_A) \quad (1)$$

onde  $\alpha$  é o ângulo deslizante;  $m$  é o peso da gota de água;  $w$  é a largura da gota;  $\gamma_{LV}$  é energia livre do líquido na interface líquido-gás;  $\theta_R$  e  $\theta_A$  são os ângulos de contato de recuo e avanço, respectivamente. Esta equação também indica que as superfícies com a mesma histerese do ângulo de contato nem sempre apresentam os mesmos ângulos deslizantes (MA et al, 2017).

Figura 4- Imagens da (a) histerese de ângulo de contato de uma superfície, ângulo de avanço e de recuo numa superfície plana obtidos através do aumento e diminuição do volume da gota, respectivamente; e do (b) ângulo de deslizamento de uma gota em uma superfície inclinada com um ângulo de inclinação  $\alpha$ .



(Adaptado de BURKARTER, 2010)

A histerese do ângulo de contato desempenha um papel importante na litografia por imersão, revestimentos e impressão a jato de tinta (AGRAWAL, 2017).

### 3.1.4 Modelos de Wenzel e Cassie-Baxter

Os ângulos de contato (CA), característico da molhabilidade de um sólido por um líquido, pode ser medido experimentalmente. Para uma superfície sólida lisa e homogênea ideal, o ângulo de contato intrínseco ( $\theta_Y$ ) pode ser teoricamente descrito usando a equação de Young (equação 2), que expressa a relação entre as tensões interfaciais do vapor sólido ( $\gamma_{SV}$ ), o vapor de líquido ( $\gamma_{LV}$ ) e as interfaces sólido-líquido ( $\gamma_{SL}$ ), Figura 5 (a) (MA et al, 2017):

$$\cos\theta_Y = (\gamma_{SV} - \gamma_{SL})/\gamma_{LV} \quad . \quad (2)$$

Para superfícies rugosas reais, dois estados de molhagem podem ocorrer se uma gota de água é depositada em uma superfície rugosa: os estados de Wenzel e Cassie-Baxter (MA et al, 2017). O estado de Wenzel ocorre quando a gotícula de líquido penetra nos sulcos superficiais, enquanto a equação de Cassie-Baxter explica a condição em que o líquido não adere nos espaços vazios deixando uma camada de vapor aprisionada (AGRAWAL, 2017).

No estado de Wenzel, a penetração do líquido nas cavidades de uma superfície rugosa é completa, conforme ilustrado na Figura 5 (b), e o CA pode ser descrito pela equação de Wenzel (equação 3) (MA et al, 2017):

$$\cos\theta_w = r(\gamma_{SV} - \gamma_{SL})/\gamma_{LV} = r\cos\theta_Y \quad . \quad (3)$$

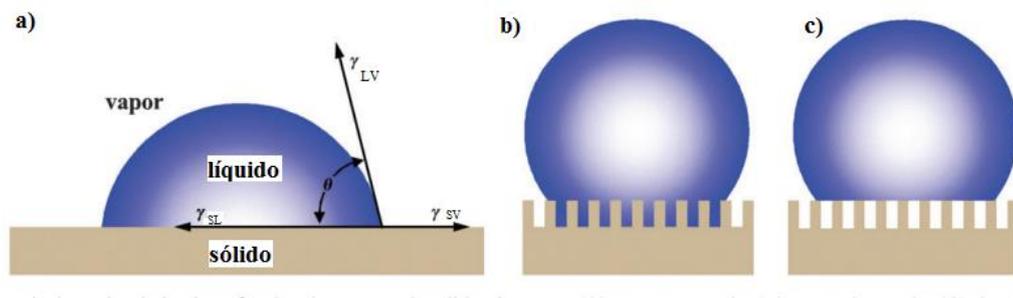
A equação de Wenzel mostra que as propriedades de molhamento de uma substância sólida são proporcionais à rugosidade da superfície molhada, em que  $r$  corresponde ao "fator de rugosidade", definido como a proporção da área de superfície real para a geometria projetada e  $\theta_w$ ,  $\theta_Y$  são o CA aparente em uma superfície rugosa e o CA intrínseco em uma superfície lisa, respectivamente. Pequenas mudanças em  $\theta_Y$  resultarão em maiores mudanças em  $\theta_w$  para o efeito de amplificação do fator de rugosidade,  $r$ . Se  $\theta_Y > 90^\circ$ , o efeito de aumentar a rugosidade  $r$  fará com que uma superfície hidrofóbica se torne mais hidrofóbica, enquanto o efeito de aumentar a rugosidade  $r$  reduzirá o  $\theta_w$  em direção a  $0^\circ$ , se  $\theta_Y < 90^\circ$  (MA et al, 2017).

No estado de Cassie-Baxter, o ar encontrar-se preso nas estruturas da superfície rugosa, conforme ilustrado na Figura 5 (c). Este estado de molhagem é utilizado para descrever o fenômeno de super-hidrofobicidade, especialmente aquelas superfícies com alta rugosidade como folhas de lótus, penas de pato, superfícies super-hidrofóbicas artificiais, etc. O CA  $\theta$  aparente para o estado de Cassie-Baxter, pode ser calculado usando a equação de Cassie-Baxter (equação 4) (MA et al, 2017):

$$\cos\theta_{eff} = n\pi r^2(1 + \cos\theta)^2 - 1 \quad (4)$$

onde  $r$  é a aproximação do raio da microestrutura em contato com o líquido e  $n = (a_0^2\sqrt{3/2})^{-1}$ ,  $a$  é o raio da superfície das estruturas e  $\theta$  o CA medido sobre as superfícies.

Figura 5- Estados de molhabilidade de uma gotícula em substratos sólidos: a) Modelo de Young, b) Modelo de Wenzel, c) Modelo de Cassie-Baxter.



(LIU, YAO. e JIANG, 2010)

### 3.1.5 Estruturas hierárquicas

Segundo Fratzl (2007), a estruturação hierárquica é uma das consequências do processo de crescimento de órgãos grandes e complexos com base em blocos de construção muito menores,

muitas vezes muito semelhantes. Além disso, a estruturação hierárquica permite a adaptação e a otimização do material em cada nível de hierarquia, para gerar um excelente desempenho.

As estruturas em multiescalas combinadas com micropapilas e nanopelos proporcionam formação de bolsas de ar, assim, a água pode interagir apenas com os picos da superfície rugosa ao invés de molhar toda a superfície, e neste caso, o ângulo de contato aparente é dado pela equação de Cassie-Baxter para molhabilidade em superfícies compostas feitas de sólido e ar (CASSIE e BAXTER, 1944). Para superfícies com estruturas hierárquicas, bolsas de ar formadas dentro dos sulcos sob o líquido reduzem a área de contato entre o líquido e a superfície, resultando na redução da histerese do ângulo de contato, ângulo de inclinação e força adesiva. A combinação das micro e nanoescalas nas estruturas é responsável pelas propriedades de super-hidrofobia e autolimpeza, e a estrutura semelhante a pelos em escala nanométrica desempenha um papel mais importante no aspecto da propriedade de autolimpeza da folha de lótus (ZHANG et al, 2015).

Cheng et al. (2006), em seus estudos sobre a influência das estruturas em micro e nanoescala no comportamento de molhabilidade das folhas de lótus, mostraram que após fundição das folhas por 1 hora a 150°C, todas as estruturas semelhantes a pelos em escala nanométrica da folha foram removidas, deixando apenas a superfície da microestrutura e com ângulos de contato da água estática na folha de lótus não tratada e folha de lótus recozida de  $142,4 \pm 8,6^\circ$  e  $126,3 \pm 6,2^\circ$ , respectivamente. Assim, a rugosidade em microescala nas superfícies de lótus é efetiva em aumentar o ângulo de contato estático, e a presença da estrutura em nanoescala é responsável pelo aumento adicional de  $16^\circ$  no ângulo de contato. Além disso, as gotas de água depositadas nas folhas de lótus rolam na mais leve inclinação, enquanto que gotas do mesmo tamanho se tornam pegajosas na folha recozida, aderindo à superfície mesmo quando a folha está inclinada  $90^\circ$  ou virado de cabeça para baixo. Isso significa que a estrutura em nanoescala da folha de lótus é propícia para reduzir a aderência à superfície desta folha. Portanto, no caso da folha de lótus, observa-se o papel importante da estrutura capilar em escala nanométrica em suas propriedades autolimpantes (ZHANG et al, 2015).

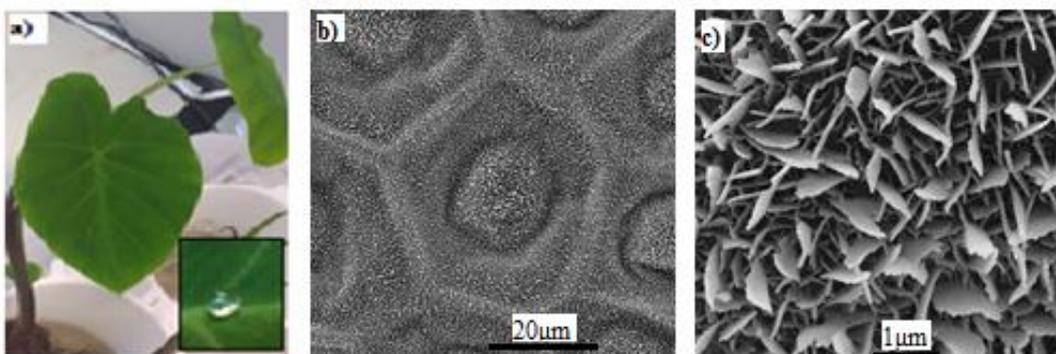
### 3.1.6 *Colocasia esculenta* (L.) Schott

Taro é o nome frequentemente utilizado para se referir aos tubérculos da *Colocasia esculenta* L. Schott, conhecidos regionalmente como cará paulista. O taro é uma das principais raízes da família Araceae com ampla distribuição nos trópicos e subtropicais (LEBOT, 2009).

O taro possui no rizoma o principal produto comercial, devido aos expressivos teores de minerais (Ca, P e Fe), carboidratos, aminoácidos essenciais, provitamina A, provitamina D, vitaminas C e do complexo B e suas propriedades medicinais, que garantem o uso na farmacologia, normalmente na síntese de cortisona e hormônios esteroides. Pode ser utilizado na alimentação, na dieta de crianças alérgicas e adultos com distúrbios gastrointestinais (SILVA, 2011).

Neste trabalho, o objeto de estudo inclui a investigação do uso da folha da *Colocasia esculenta* L. Schott, facilmente cultivada por hidroponia, como uma alternativa local para produção de *biotemplates* que apresentem o “efeito lótus”, já que se observa a baixíssima molhabilidade de sua superfície. O estudo inclui a caracterização da superfície das folhas desta espécie e suas estruturas hierárquicas. A Figura 6 apresenta um espécime cultivado por hidroponia para este trabalho e as características estruturais da superfície de sua folha, destacando-se as estruturas hierárquicas observadas por MEV.

Figura 6- (a) Fotografia da folha da *C. esculenta* L. Schott com destaque de uma gota d'água em sua superfície, (b) e (c) Micrografias de MEV da superfície da folha, com hierarquias de micro e nanoestruturas, respectivamente.

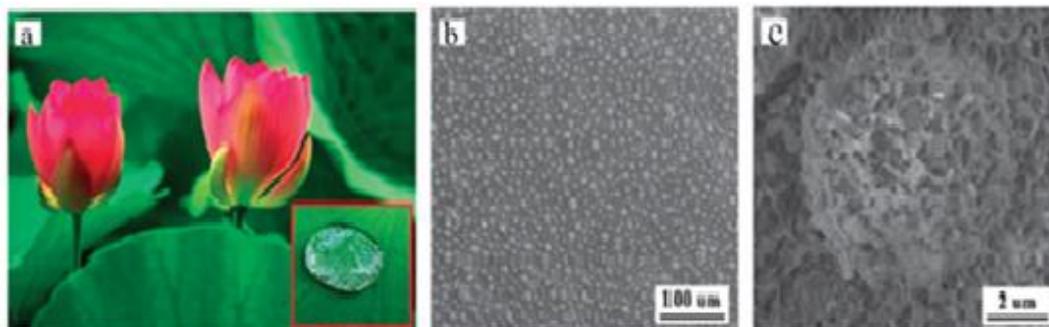


(Imagem do autor)

Este comportamento de repelir a água, destacado na Figura 6 (a), assemelha-se com a super-hidrofobicidade do “efeito lótus”, fenômeno de superfície já conhecido e bem estabelecido, proveniente da combinação de estruturas hierárquicas de micro e nano escalas, mostradas nas Figura 6 (b) e (c).

Na folha lótus, as papilas de escala micrométrica da superfície são recobertas por nanoestruturas formadas por cristais de cera sobrepostos, como mostrado na Figura 7 (MA et al 2017; SOUSA, 2017 e CHEN et al, 2019).

Figura 7- (a) Fotografia da folha de lótus super-hidrofóbica com gotícula de água. (b) Micrografia de MEV com ampliação das microestruturas de superfície. c) Micrografia de MEV com ampliação das nanoestruturas de superfície.



(LIU, YAO e JIANG, 2010)

A natureza harmonizou uma diversidade de estruturas que evoluíram em função da preservação de cada espécie, e a performance desses materiais e processos muitas vezes depende de sinergias envolvendo organização subjacente e otimização multifuncional da arquitetura das estruturas naturais, em hierarquias crescentes de escala (NIU et al., 2016). Muitas rotas de fabricação estão sendo estudadas para desenvolvimento de materiais biomimetizados e bioinspirados, e para isto a importância de cada estrutura hierárquica precisa ser avaliada. Han et al. (2016) e Zhang et al. (2015) em seus trabalhos, discorrem sobre os principais métodos químicos e físicos para replicação de superfícies com micro e nanoestruturas: processo sol-gel, fotolitografia, litografia a laser, sonoquímico, deposição de vapor químico (CVD), infiltração de vapor químico (CVD), *self-assembly* (automontagem), evaporação física e deposição, impressão, escrita direta a laser, remoção do modelo, calcinação, dissolução seletiva, sonicação, anodização, revestimento por imersão, entre outras. Neste trabalho, para replicação das estruturas da *C. esculenta* (L.) Schott utilizadas como *biotemplate*, serão exploradas as técnicas de *soft lithography* e de impressão *Drop-on-Demand (DoD)* de materiais utilizando fluidos funcionais.

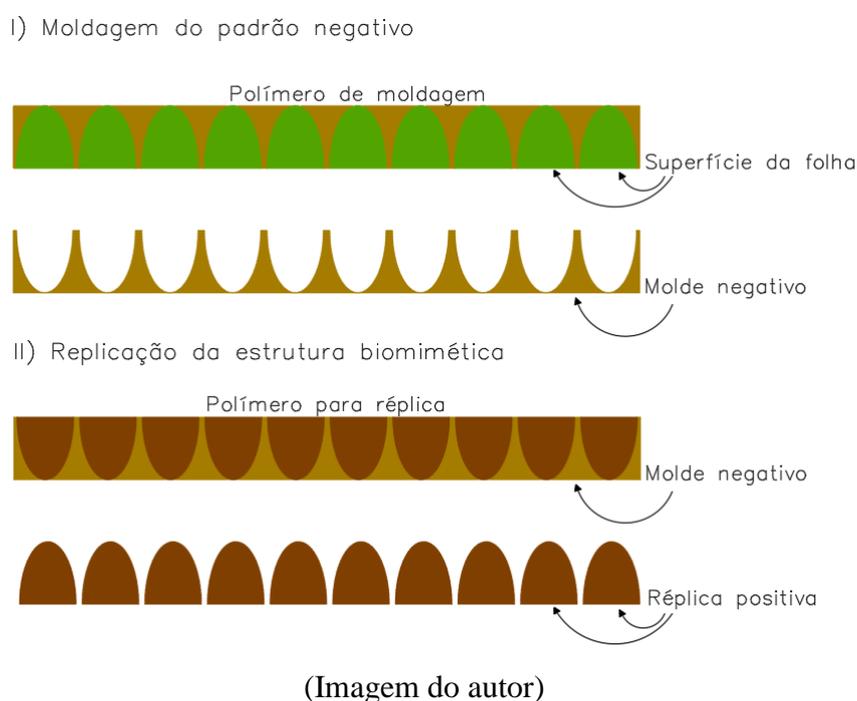
## 3.2 TÉCNICAS DE IMPRESSÃO DOS BIOTEMPLATES

### 3.2.1 *Soft lithography*

O processo de “litografia suave” (*soft lithography*) é um método simples, prático e eficaz de replicação de padrões (*templates*) a partir da elaboração de moldes negativos a serem usados

para estampagem de réplicas. Aqui serão utilizados *biotemplates*, ou seja, padrões de superfícies biológicas. Um molde elastomérico pode replicar com uma precisão típica de 500 nm, inclusive estruturas 3D, devido à suavidade e elasticidade do elastômero (XIA e WHITESIDES, 1998; ACIKGOZ et al, 2011 e WANG et al, 2017). Basicamente, o processo se divide em duas etapas, mostrada na Figura 8: I) moldagem do padrão negativo a partir de um polímero com boa estabilidade e II) replicação de uma estrutura pela não adesão do polímero da réplica ao molde negativo.

Figura 8- Etapas para replicação de uma superfície utilizando a *soft lithography*.



Neste trabalho, a *soft lithography* foi empregada para biomimetizar as estruturas de superfície da folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, em ensaios comparados com moldes negativos de polidimetilsiloxano e poliacrilato fotopolimerizável. Como material de replicação dos filmes, foram desenvolvidos nanocompósitos funcionais contendo nanopartículas de prata dispersas em uma fase polimérica - polímero@NpAg.

### 3.2.2 Impressão *Drop on Demand*

As tecnologias utilizadas em impressoras de materiais se baseiam em dois principais processos distintos, utilizados em impressoras de jato de tinta: *Continuous Inkjet* e *Drop-on-*

*Demand*. Segundo Derby (2015), a impressão de jato de tinta pode utilizar mecanismo de impressão contínua (*Continuous Inkjet - CIJ*) e impressão a jato de tinta eletrostática (*Electrostatic Inkjet - EIJ*), e a impressão de gotas individuais sob demanda (*Drop-on-Demand, DoD*) pode utilizar atuadores térmicos ou piezoelétricos. Cada um desses processos tem seus requisitos particulares para as propriedades físicas do fluido utilizado e um intervalo de tamanho de gota característico.

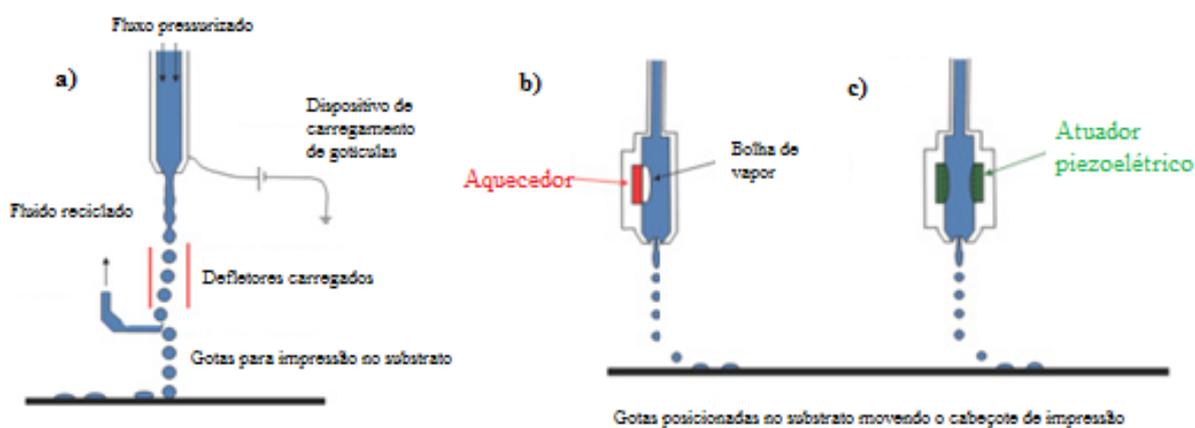
Impressoras *CIJ* jateiam um fluxo de gotas geradas através da instabilidade de Rayleigh de uma coluna de líquido ejetada através de um pequeno bocal ou bico, mantido sob uma diferença de potencial elétrico que transfere uma pequena carga para cada gota. As gotas são direcionadas pela aplicação de outro potencial a placas defletoras (Figura 9 a). Os diâmetros de gota são normalmente maiores que 50  $\mu\text{m}$ , ligeiramente maiores que o diâmetro do bico. As impressoras *CIJ* produzem um fluxo contínuo de gotas; gotas indesejadas (quando não ocorre impressão) são desviadas e normalmente recicladas para evitar desperdícios. A taxa de geração de queda pode ser  $> 50$  kHz e as gotas são ejetadas a velocidades  $> 10$  m/s. Embora o *CIJ* produza o maior volume de tinta por minuto, é limitado em termos de precisão de posicionamento e resolução. A principal preocupação com este método é que o jato de fluido contínuo leva a um desperdício de tinta significativo e, se for utilizada recirculação, há risco de contaminação ou danos ao fluido (DERBY, 2015).

Impressoras *DoD* geram gotas individuais direcionadas pelo posicionamento mecânico do gerador de gotas e substrato, e se formam através da propagação de um pulso de pressão em reservatório de fluido acoplado a bicos de impressão. Esse pulso de pressão deve superar forças de tensão superficial que retêm as gotas. A coluna ejetada de líquido resultante é comprimida para formar uma gota por uma combinação de forças de tensão superficial e o fluxo de retorno do líquido ao reservatório.

Em impressoras *DoD* com atuadores térmicos, um pulso de pressão é produzido pela formação e colapso de uma bolsa de vapor no fluido através de aquecimento local, enquanto que em impressoras *DoD* com atuadores piezoelétricos, o pulso de pressão é produzido pela oscilação mecânica de um cristal piezoelétrico controlado em cada bico de impressão pela diferença de potencial elétrica aplicada, sem aquecimento do fluido - Figuras 9 b) e c), respectivamente. O mecanismo de bolsa de vapor é usado principalmente em dispositivos de impressão de menor produtividade, enquanto a atuação piezoelétrica é mais utilizada em aplicações comerciais que exigem controle mais preciso. Com impressoras *DoD*, os volumes das gotas situavam-se na faixa de 1 pL – 1 nL, com diâmetros correspondentes na faixa de 10–

100  $\mu\text{m}$ . As gotas são ejetadas sob demanda a taxas de até 20 kHz (DERBY, 2015). No final do ano passado esta tecnologia conseguiu produzir gotas com volumes menores do que 1 fL (1 femtolitro =  $10^{-15}$  L), resultando em gotas menores que  $1 \mu\text{m}^3$ , e consequente aumento de resolução. No entanto, gotas desta dimensão passam a interagir eletrostaticamente entre si se ejetadas lado a lado, o que impede mais de um bico por cartucho, enquanto que os cartuchos das impressoras utilizadas no presente trabalho possuem 16 bicos, que resulta no aumento da velocidade de impressão pelo jateamento simultâneo por controle individual de 16 cristais piezoelétricos acoplados.

Figura 9- Ilustração esquemática dos princípios operacionais de uma impressora a jato de tinta (a) (CIJ) e (DoD) com atuador (b) térmico e (c) piezoelétrico.



(DERBY, 2010).

As impressões *CIJ* e *DoD* são fortemente controladas pelas forças de tensão superficial e pela física convencional da mecânica dos fluidos e microfluídica.

Por fim, as impressoras *EIJ* produzem gotas pela repulsão eletrostática experimentada em uma superfície líquida carregada. Se uma superfície líquida for mantida em um potencial elétrico suficientemente alto e restrito mecanicamente, ela se deformará fora de seu plano e, eventualmente, formará uma superfície apical altamente curva. O gradiente de campo próximo à ponta do cone pode se tornar muito grande, resultando na ejeção de pequenas gotículas de líquido no processo de eletropulverização.

As impressoras *EIJ* são restritas a alguns tipos de fluido, e as impressoras *DoD* utilizando atuadores térmicos introduz uma restrição nas propriedades da tinta, porque um componente de baixo ponto de ebulição é necessário para garantir a fácil formação da bolsa de vapor

(DERBY, 2015), além de poder resultar na degradação térmica do fluido, comprometendo sua funcionalidade.

No presente trabalho utilizou-se a impressora Dimatix Materials Printer DMP 2831 Fujifilm, uma impressora de materiais que utiliza tecnologia *Drop on Demand* com atuador piezoelétrico. Foi utilizada com fluidos funcionais preparados neste trabalho para prova de conceito (PoC) de *software* desenvolvido para permitir impressões 3D de *biotemplates*, a partir de micrografias 2D obtidas por AFM. O *software*, desenvolvido no nosso grupo em colaboração com o Centro de Informática (CIN-UFPE), fez parte de dois projetos de pós-graduação: o presente projeto de mestrado, e o projeto de doutorado da estudante Rosely (Santa-Cruz et al, 2018).

A prova de conceito foi executada utilizando-se *biotemplates* digitais gerados a partir de micrografias das estruturas presentes na folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott. A partir de uma micrografia AFM 2D em níveis de cinza correspondentes a cotas no eixo z, um conjunto de n imagens 2D em preto e branco é gerado para ejeção de gotas DoD em posições (x, y), camada por camada (LbL) em n camadas, resultando em impressão 3D dos *biotemplates*. A técnica DoD permite precisão, reprodutibilidade, relativa rapidez de impressão e principalmente diversidade de materiais que podem ser utilizados como fluido funcional de impressão e substrato.

### 3.2.2.1 Impressora de materiais DMP 2831

A impressora de materiais *Dimatix Materials Printer* (DMP 2831) utilizada no presente trabalho é apresentada na Figura 10. A mesma utiliza cartuchos descartáveis com atuadores piezoelétricos, acoplados a uma cabeça de impressão independente. Cada cartucho utilizado possui 16 bicos de jateamento com controle individual das curvas de potencial de cada cristal piezoelétrico, resultando em gotas espaçadas de 5 a 254  $\mu\text{m}$ , dependendo do ângulo de inclinação da cabeça de impressão (ângulo de ataque) utilizado. A escolha é feita em função da resolução (até 5080 *DPI*) do *template* digital a ser impresso, e limitada ao volume da gota, determinada pelo diâmetro o bico de impressão utilizado (o menor, de 9  $\mu\text{m}$ , resulta em gotas de 1 pL).

O substrato é fixado por vácuo e o jateamento é controlado via PC por software dedicado, acoplado hardware embarcado, incluindo câmeras para monitoramento visual do jateamento da

gota com filmagem estroboscópica, *Drop Watcher*, e câmera de inspeção da qualidade dos padrões impressos, *Fiducial Camera* (SOUSA, 2015).

Figura 10- Impressora Dimatix Materials Printer utilizada (DMP-2831-FUJIFILM).



[Imagem do autor]

### 3.2.2.2 Desenvolvimento de fluidos imprimíveis

A printrônica é a área da ciência que estuda o desenvolvimento e impressão de fluidos funcionais para a preparação de novos materiais e dispositivos imprimíveis, a partir do controle e otimização de parâmetros de microfluídica para uso de novos materiais. A impressão de materiais por processos *Drop on Demand*, exige a adequação de parâmetros físico-químicos e algoritmos de controle que juntos corroboram para os parâmetros ideais controle associados à microfluídica do novo material. O fluido de impressão que transporta o material funcional ativo deve apresentar boa estabilidade no processo e boa interação substrato-fluido. Neste caso, o ideal é que a tensão superficial do fluido seja menor do que a do substrato para molhagem adequada e sem formação de gotas satélite.

A combinação de todas as etapas de controle apresentadas na Figura 11 são complementares e juntamente com os parâmetros físico-químicos de operação apresentados na Tabela 1, garantem o ótimo funcionamento da impressora, com jateamento do material reprodutível e preciso (SOUSA, 2015).

Figura 11- Elementos estratégicos para otimização do processo de impressão *DoD*.

(Adaptada de CHEN, 2011)

As vantagens do uso da impressão DoD com atuadores piezoelétricos incluem flexibilidade da composição do fluido de impressão e do substrato, relativa rapidez, baixo custo, envolver processo ambientalmente amigável por não haver desperdício de material nem geração de subprodutos ou rejeitos e utilização de pequenas quantidades, além de ser uma técnica de fabricação de alta precisão, que não emprega máscaras físicas.

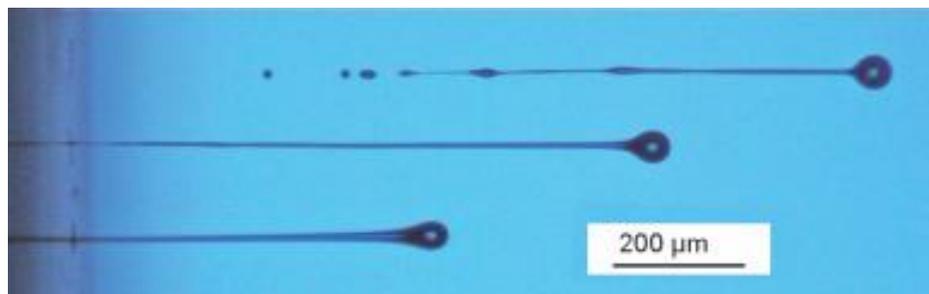
Tabela 1- Parâmetros de controle para impressora *Drop-on-Demand (DoD)* com atuação piezoelétrica, Dimatix Materials Printer 2831 -Fujifilm.

DMP 2831	
Tensão superficial	28-33 x10 <sup>-5</sup> N
Viscosidade	10-12 cP
Densidade	$\rho > 1$
pH	4-9
Volume do reservatório	1,5 mL
Volatilidade	Pe > 100°C
Temperatura do cartucho e substrato	70 e 60 °C respectivamente
Volume da gota	1 ou 10 pL
Diâmetro do bico	9 ou 21 $\mu$ m
Diâmetro máximo recomendado de partículas no fluido	1/100 do diâmetro do bico
Bicos	16
Espaçamento dos bicos	5 $\mu$ m em cartucho inclinado 1,1° 254 $\mu$ m com cartucho a 90°

### 3.2.2.3 Design do fluido e geração de gota

De modo geral, as gotas formadas usando a impressão *DoD* com atuadores piezoelétricos apresentam longas caudas fluidas, se estendendo por trás das gotas ejetadas, conforme apresentado na Figura 12. A tensão superficial atuante na cauda estendida irá puxá-la para a cabeça esférica durante o transporte, no entanto, é possível que a cauda se solte durante o processo de retração, levando a produção de gotas satélite. Assim, os fluidos e as condições de impressão devem ser projetados para eliminar a formação dessas gotas satélite. Estes satélites podem interagir e fundir-se antes do impacto, sempre deteriorando a qualidade da impressão. Para permitir um tempo adequado para a retração da cauda ou para que as gotas satélites se fundam com a gota principal, na impressão *DoD* é normal se imprimir com um espaçamento de 1 a 3 mm entre o cabeçote de impressão e o substrato. No entanto, o espaçamento não pode ser muito grande, porque também afeta a precisão da colocação de gotas devido à influência de correntes de ar no meio, que podem desviar a trajetória desejada da gota. Após impresso, o material ativo deve solidificar, seja por evaporação de solvente ou mudança de fase, para formar uma estrutura estável para pós-processamento (DERBY, 2015).

Figura 12- Gotas geradas a partir na impressão a jato de tinta, mostrando a característica cauda alongada e a formação de gotas satélites.



(DERBY, 2010)

O comportamento fluido das gotas pode ser caracterizado por grandezas adimensionais, determinadas com base nos parâmetros físico-químicos citados no item anterior e a imprimibilidade do fluido deve ser definida para a técnica *DoD*. (DERBY, 2010), tais como os números de Reynolds ( $Re$ ), Weber ( $We$ ) e Ohnesorge ( $Oh$ ):

$$Re = \frac{v\rho a}{\eta} \quad (5)$$

$$We = \frac{v^2\rho a}{\gamma} \quad (6)$$

$$Oh = \frac{\sqrt{We}}{Re} = \frac{\eta}{\sqrt{\gamma\rho a}} \quad (7)$$

Onde  $\rho$ ,  $\eta$  e  $\gamma$  são a densidade, a viscosidade dinâmica e a tensão superficial do fluido, respectivamente,  $v$  é sua velocidade e  $a$  é um comprimento característico, associado ao diâmetro do bico de impressão.

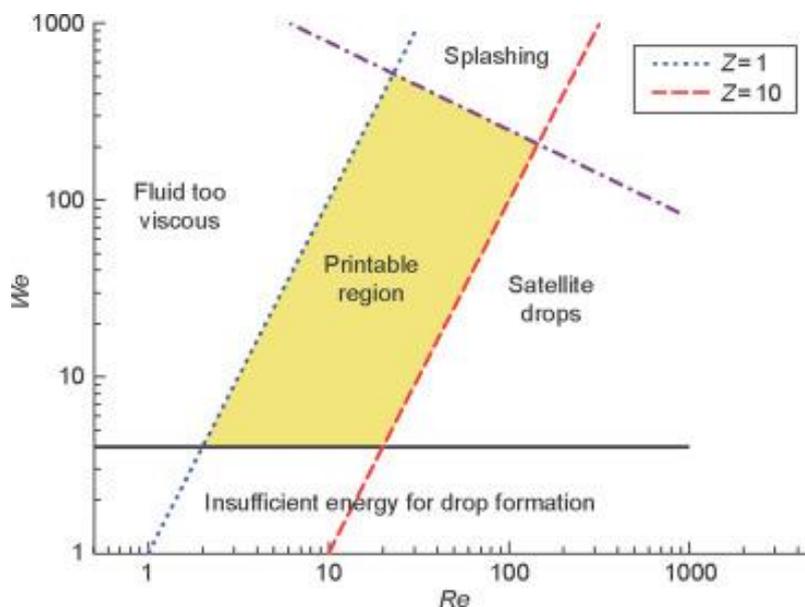
O parâmetro  $Z=1/Oh$  é comumente utilizado avaliação da geração estável das gotas. Reis e Derby (2000), utilizaram simulação numérica de formação de gotas para propor o intervalo  $10 > Z > 1$  para a formação de gotas estáveis. Uma estratégia para reduzir gotas satélites é o aumento da viscosidade do fluido (diminuindo  $Z$ ), que estabiliza a cauda do fluido e reduz a tendência para formação dessas gotas satélite. Em valores de  $Z$  muito baixos a dissipação viscosa evita a ejeção da gota, enquanto que em valores altos, a gota primária é acompanhada por um grande número de gotas satélites (DERBY, 2015).

Outro fator limitante para a geração das gotas é a influência da tensão superficial do fluido/ar no bico de impressão, sugerindo uma velocidade mínima para ejeção (equação 8):

$$V_{min} = \sqrt{\frac{4\gamma}{\rho d_n}} \quad (8)$$

Através do uso das equações apresentadas acima e dos valores limites de  $Z$ , é possível definir uma região de fluido imprimível por processo DoD, em um gráfico com os parâmetros  $Re$  e  $We$  nas coordenadas. A Figura 13 mostra a região imprimível, limitada pelos valores desses parâmetros, com as regiões de energia insuficiente para a ejeção da gota ( $We < 4$ ), salpicos em contato com a superfície (valores altos de  $We$ ), região com gotas satélites dominando o processo de impressão, na área à direita da linha tracejada vermelha ( $Z > 10$ ) e de fluido muito viscoso para impressão, na área à esquerda da linha pontilhada azul ( $Z < 1$ ).

Figura 13- Representação da região imprimível do fluido em função dos números de Reynolds e Weber.



(DERBY, 2015)

#### 3.2.2.4 Algoritmos de controle

Os principais algoritmos de controle são monitorados via software dedicado, que controla a interface PC/utilizador da impressora. De acordo com Sousa (2015), os parâmetros de impressão para jateamento da gota são ajustados na diferença de potencial elétrica aplicada aos piezoelétricos, frequência máxima de jateamento do fluido e os ciclos de impressão, na plataforma *waveform*. Outro parâmetro importante é a frequência da execução do ciclo, que pode ser determinado com base na ferramenta *Drop Watcher* (visualizador de gotas), que permite visualizar a formação das gotas através de uma câmera estroboscópica, onde é observada a distância percorrida para que a gota seja formada e a frequência máxima do ciclo de jateamento.

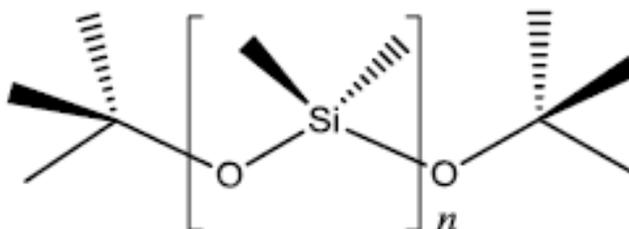
### 3.3 POLÍMEROS UTILIZADOS

#### 3.3.1 Polidimetilsiloxano (PDMS)

O PDMS é um material elastomérico muito utilizado em moldagens e desmoldagens em processos de *soft lithography*, devido sua deformabilidade intrínseca e propriedades

hidrofóbicas, proveniente de sua baixa energia superficial e grupos  $\text{CH}_3$  (MA E HILL, 2006). Cada unidade do PDMS, consiste em grupos  $(\text{CH}_3)_2\text{SiO}$  estabilizados por grupos  $(\text{CH}_3)_3\text{SiO}$ , conforme Figura 14.

Figura 14- Estrutura do PDMS.



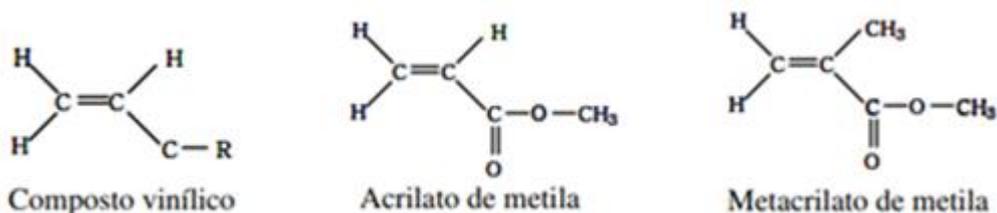
(SOUSA, 2017)

Múltiplos moldes PDMS podem ser fabricados de forma barata a partir de um único molde primário. Além disso, possui várias propriedades úteis para a nanofabricação, pois é durável, inerte à maioria dos materiais que são padronizados ou moldados e quimicamente resistente a muitos solventes (ACIKGOZ et al, 2011).

### 3.3.2 Poliacrilato fotopolimerizável

A principal característica dos monômeros acrílicos é a presença de carbonos vinílicos no grupo terminal pendente na cadeia principal. Os acrilatos são resinas fotopolimerizáveis muito utilizadas devido sua reatividade e a versatilidade de oligômeros de acrilatos funcionalizados (DECKER,1998). A Figura 15 mostra estruturas químicas do composto vinílico, do acrilato de metila e do metacrilato de metila.

Figura 15- Composto vinílico, acrilato de metila e metacrilato de metila.



(PEUTZFELDT, 1997)

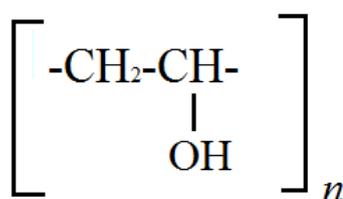
Os monômeros acrilatos e metacrilatos são frequentemente usados devido às suas qualidades como alta reatividade, baixas velocidades de terminação e baixo custo. Os monômeros de acrilato têm maiores reatividades que os de metacrilatos devido ao fato de possuir o grupo metil como substituinte o que dificulta a entrada do radical à dupla ligação (FREGOLENTE, 2006).

A polimerização de monômeros multifuncionais induzida por luz (fotopolimerização) é um processo eficiente para alcançar, seletivamente nas áreas irradiadas, uma transformação quase instantânea de uma resina líquida em um polímero sólido. A radiação UV rompe ligações químicas e pode ser usada para iniciar essas reações fotoquímicas (DECKER, 1998).

### 3.3.3 Poliálcool vinílico (PVA)

O PVA é a resina sintética, solúvel em água, produzida em maior volume no mundo. As propriedades básicas do poli (álcool vinílico) dependem do grau de polimerização e do grau de hidrólise. Por suas excelentes propriedades, o PVA tem sido utilizado em um grande número de aplicações industriais. Este polímero é um excelente adesivo, possui boa resistência a solventes, óleos e graxas e sua resistência à passagem de oxigênio é superior à de qualquer polímero conhecido. É um dos poucos polímeros semicristalinos solúveis em água com boas características interfaciais e mecânicas (ARANHA, 2001). É um polímero polihidroxilado, cujo monômero “álcool vinílico” (Figura 16) não existe no estado livre (WU et al, 2002).

Figura 16- Estrutura química do monômero de PVA.

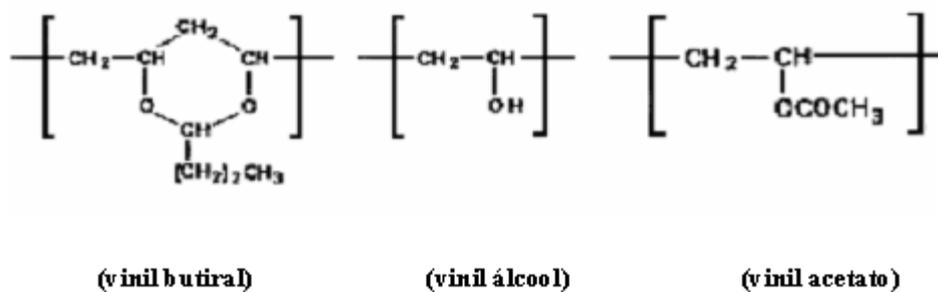


(Imagem do autor)

### 3.3.4 Polivinil butiral (PVB)

O PVB é uma resina termoplástica muito utilizada em aplicações de revestimento ou adesivo com aderência, resistência, transparência óptica e flexibilidade. É formado por unidades vinil álcool, vinil acetato e vinil butiral, conforme Figura 17 (MORAIS, 2008).

Figura 17- Estrutura química do PVB, com as três unidades vinis.



(KINGSTON e YUEN, 1987)

O diferencial do PVB, está na sua estrutura que possui unidade hidrofílicas (vinil álcool), que garante que o polímero apresente afinidade com materiais inorgânicos, e unidades hidrofóbicas (vinil butiral), conferindo boa processabilidade termoplástica e solubilidade em um grande número de solventes (Morais, 2008). Além disso, o filme de polivinil butiral é amplamente utilizado na indústria automotiva em vidros laminados, como camada de proteção mecânica e como filtro UV (XU et al, 2011).

### 3.4 NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NpAg)

As nanopartículas metálicas possuem novas propriedades associadas à escala, que resultam em novas aplicações, que diferem das aplicações no seu estado *Bulk*. As propriedades intrínsecas dessas nanopartículas metálicas são determinadas principalmente pelo tamanho, forma, composição, cristalinidade e estrutura (sólido versus vazio). Em princípio, pode-se controlar qualquer um desses parâmetros para se ajustar as propriedades dessa nanopartícula (SUN e XIA, 2002).

Soluções coloidais de metais como prata e ouro são sistemas em nanoescala particularmente interessantes, devido à facilidade com que podem ser preparadas e modificadas quimicamente (MELO, 2012). Por serem muito reativas e instáveis, as nanopartículas precisam ser estabilizadas para que não se agreguem. Isso pode ser feito através de uma estabilização eletrostática, na qual espécies carregadas, como cátions e ânions se adsorvem à superfície das nanopartículas, dotando-as de carga e dificultando a agregação por repulsão coulombiana. De outro modo, pode-se estabilizar as nanopartículas através de *templates* orgânicos capazes de complexar, por exemplo, o íon Ag<sup>+</sup> e influenciar o processo de redução da prata metálica até estabilizar as nanopartículas, determinando uma camada orgânica ao redor da superfície metálica, numa estrutura casca-caroco. São exemplos, poli (vinilpirrolidona) (PVP), poli

(álcool vinílico) (PVA) e ácido poliacrílico (PAA), que possuem em suas estruturas, sítios básicos de Lewis com alta afinidade pelas nanopartículas, e cadeias orgânicas suficientemente compridas que criam um impedimento estérico, evitando interações entre as mesmas (MELO, 2012 e PINHEIRO et al, 2015).

Uma das características principais que confere às nanopartículas de prata tantas aplicações tecnológicas é o efeito *SPR* (*Surface Plasmon Resonance*), que está diretamente relacionado à forma, tamanho, organização das nanopartículas e índice de refração do meio, de modo que para nanopartículas de mesma natureza, é possível observar frequências de ressonância de plásmons (oscilações coletivas quantizadas de elétrons de condução) diferentes, através da variação destas propriedades (PINHEIRO et al, 2015).

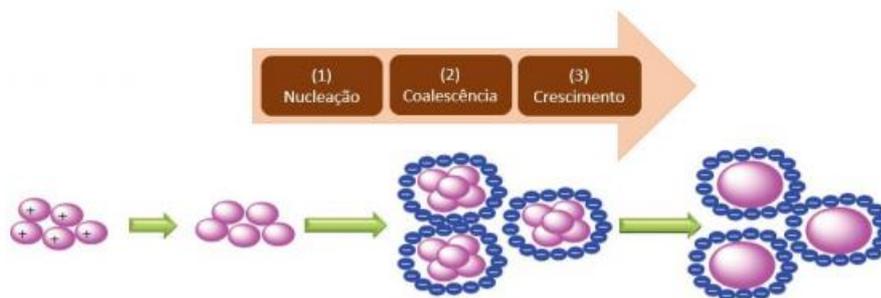
Além de propriedades ópticas, elétricas e magnéticas dessas nanopartículas, que podem ser utilizadas em fibras compostas, materiais supercondutores criogênicos, componentes eletrônicos e materiais para biossensores (SANTOS et al, 2016), uma das aplicações mais importantes está relacionada a sua atividade antimicrobiana, papel desempenhado por elas nos materiais desenvolvidos no presente trabalho.

Existem diversas formas comumente utilizadas para sintetizar NpAg, como métodos eletroquímicos, redução química utilizando sais de prata em meio aquoso, ablação a laser, irradiação por micro-ondas, entre outros, incluindo sínteses verdes. (FERNANDES et al, 2016), e o método de síntese escolhido deve ser adequado à sua aplicação, pois cada método pode resultar em diferentes morfologias, tamanhos, formas e concentração.

### 3.4.1 Método de redução química com borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ )

Normalmente este método utilizado para síntese de suspensões de NpAg é uma variação do método de Turkevich, em que nitrato de prata  $\text{AgNO}_3$  é usado como fonte de metal, produzindo uma ampla distribuição de tamanhos de partículas. Comumente, utiliza-se a redução de  $\text{AgNO}_3$  com  $\text{NaBH}_4$  para síntese de partículas de prata nanométricas. O processo condiz com o método de Creighton, que tipicamente resulta em partículas de 10 nm, com distribuição estreita de tamanho (EVANOFF e CHUMANOV, 2005).

Nessa abordagem, como mostrado na Figura 18, o borohidreto de sódio atua tanto como agente de redução como agente encapsulante, e na medida em que se forma as NpAg, elas são impedidas de formarem partículas maiores, conferindo-lhes simultaneamente uma estabilidade média, devido à repulsão eletrostática entre as NpAg cobertas do íon  $\text{BH}_4^-$  (SANTOS, 2016).

Figura 18- Esquema de formação das NpAg por redução química com NaBH<sub>4</sub>.

(HAIDER e KANG, 2015)

Após a redução da prata, o BH<sub>4</sub><sup>-</sup> fica adsorvido na superfície das nanopartículas, dotando-as de cargas negativas e dificultando a agregação por repulsão coulombiana (PINHEIRO, SIQUEIRA e PANDOLI, 2015).

### 3.4.2 Método de redução química com N, N- dimetilformamida (DMF)

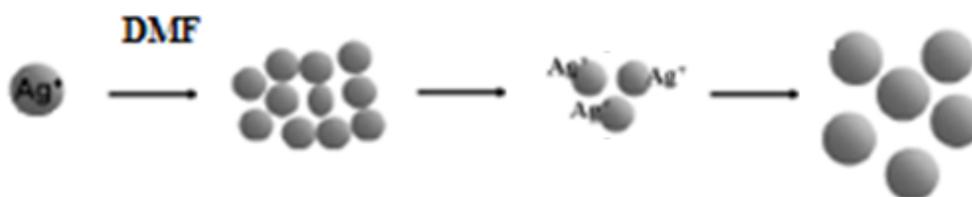
A redução química íons de prata proveniente de um sal precursor, com formação e crescimentos de NpAg sob ação de uma molécula orgânica que atua como agente da redução dos íons Ag<sup>+</sup> e passivante das NpAg formadas é bem estabelecida na literatura (PASTORIZA-SANTOS e LIZ-MARZÁN, 2002; CUSHING, KOLESNICHENKO e O'CONNOR, 2004; SARKAR, KAPOOR e MUKHERJEE, 2005 e COSTA, 2011).

Pastoriza-Santos e Liz-Marzán (2002), relatam que o N, N – dimetilformamida, frente aos íons Ag<sup>+</sup>, é um excelente agente redutor, onde a reação de ambos formam o ácido carbâmico (MecNCOOH) e íons H<sup>+</sup>, como na equação 9 abaixo:



O esquema de formação das nanopartículas de prata com DMF é mostrado na Figura 19.

Figura 19- Esquema de formação das nanopartículas de prata no solvente orgânico DMF.



(Adaptado de COSTA, 2011)

### 3.4.3 Ressonância plasmônica

A Ressonância Plasmônica de Superfície (*SPR - Surface Plasmon Resonance*) tem origem nos elétrons da superfície do metal em escala nanométrica que começam a oscilar coletivamente na presença do campo elétrico da radiação eletromagnética. O efeito *SPR* é observado quando a frequência da oscilação desses elétrons entra em ressonância com a frequência da radiação incidente. A frequência de ressonância dos plásmons (quantização da oscilação) depende da forma, tamanho, organização das nanopartículas e índice de refração do meio, de modo que para nanopartículas de mesma natureza, é possível observar frequências de ressonância diferentes através da variação destas propriedades (PINHEIRO et al, 2015).

Ao alterar a estrutura da superfície de um metal, as propriedades dos plásmons de superfície - em particular sua interação com a luz - podem ser adaptadas. Nesta interação, os elétrons livres respondem coletivamente, oscilando em ressonância com a onda de radiação. A interação ressonante entre a oscilação da carga de superfície e o campo eletromagnético da luz constitui o plásmons de superfície e dá origem a suas propriedades (BARNES, 2003).

Foi estudado o efeito do tamanho e da forma na resposta espectral de nanopartículas de prata individuais e suas propriedades plasmônicas, de forma que a análise espectral também pode ser utilizada para a caracterização dessas nanopartículas. Formas geométricas específicas dão respostas espectrais distintas, desempenhando um papel importante na determinação da ressonância plasmônica. Além disso, um tratamento térmico simples pode modificar a forma e tamanho de uma partícula, resultando em uma mudança em suas propriedades plasmônicas. Tal classificação e ajuste da forma e propriedades ópticas de nanopartículas de prata as tornam excelentes candidatas para outras aplicações em microscopia óptica de campo próximo e ensaios biológicos (MOCK, 2002).

### 3.4.4 Atividade bactericida das nanopartículas de prata vs resistência bacteriana

As nanopartículas de prata possuem grande potencial de aplicação antibacteriana, conforme descrito anteriormente em contexto histórico. Muitos produtos comerciais exploram estas propriedades, com aplicações em produtos cosméticos (GAJBHIYE e SAKHARWADE, 2016), por exemplo. Além disso, aplicações em tintas condutoras (FERNANDES et al, 2016) também vêm sendo utilizadas na impressão *DoD* no campo da eletrônica flexível (ZHANG e ZHU,

2015); eletrodos modificados para aplicação prática na detecção de poluentes nitroaromáticos (LIMA, 2016); além de membranas para purificação de água (LEE et al, 2016).

Barrera e colaboradores (2018) desenvolveram em nosso Grupo dispositivos antibacterianos imprimíveis por tecnologia *Drop-on-Demand (DoD)*, usando NpAg como parte ativa em fluidos imprimíveis funcionais. Os resultados comprovaram inibição bacteriana provocada pelo dispositivo impresso.

Um dos mecanismos associados à ação antibacteriana da prata está ligado à sua interação com grupos tiol encontrados nas enzimas do sistema respiratório das células bacterianas. A prata liga-se à parede celular bacteriana e à membrana celular e inibe o processo respiratório. As nanopartículas de prata apresentam propriedades antimicrobianas eficientes em comparação com outros sais, devido à sua área superficial extremamente grande, que proporciona melhor contato com as células bacterianas. As nanopartículas se ligam à membrana celular e também penetram na bactéria (RAI; YADAY e GADE, 2009). Por outro lado, estudos mostraram um novo mecanismo pelo qual as bactérias originalmente suscetíveis a nanopartículas de prata, tornam-se resistentes. O mecanismo baseia-se no aumento da produção da flagelina, uma proteína que induz a agregação de nanopartículas de prata, suprimindo assim o seu efeito antibacteriano (PANÁČEK et al, 2017). Além disso, o mesmo estudo demonstrou a eficácia do extrato de casca de romã para inibir a produção da proteína flagelina. Também são conhecidas diversas aplicações dos extratos provenientes da romã, com propriedades antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, cicatrizante entre outras. Estas propriedades são atribuídas aos compostos fenólicos, substâncias que são produzidos pelo sistema de defesa da planta contra o ataque microbiano e de animais (SOUZA, 2013; OLIVEIRA, 2016 e BORGES 2017).

O uso indiscriminado de antibióticos contribuiu e acelerou o processo emergente de microrganismos super-resistente, provocando a busca de novos agentes antimicrobianos. Os compostos bioativos naturais que possuem tal função são o ácido elágico, ácido gálico e punicalagina, presentes na romã pelos seus efeitos antioxidantes e antimicrobianos (OLIVEIRA, 2016 e MORZELLE, 2016).

Em seu trabalho, Borges (2017), utilizou a técnica de impressão de compostos fenólicos do extrato de romã em matrizes poliméricas com filmes estáveis por um longo período de armazenamento. A técnica é uma alternativa para produção em escala industrial de filmes com extratos naturais com concentração sob demanda devido a facilidade de obter multicamadas de impressão.

No presente trabalho o interesse da impressão do extrato de romã está associado à inibição da produção de flagelina pelas bactérias, no sentido de evitar a aglomeração de nanopartículas de prata e redução da atividade antibacteriana.

A técnica de impressão *DoD* utilizada permite a impressão de materiais conjugados, lado a lado seguindo um *template*, ou *layer by layer*, sobrepostos. Para este trabalho, o uso da técnica de impressão *DoD* com templates conjugados foi explorada tendo em vista o estudo do efeito antibacteriano da prata e redução da agregação das nanopartículas de prata pelo extrato da casca de romã como inibidor da flagelina.

### 3.5 ESTADO DA ARTE

Propriedades inspiradas em superfícies biológicas têm resultado em diversos trabalhos para desenvolvimento de materiais com aplicações funcionais.

Superfícies com microestrutura, nanoestrutura e estrutura hierárquica foram mimetizadas. As estruturas hierárquicas de superfícies de folhas de plantas super-hidrofóbicas e autolimpantes foram reproduzidas por replicação de micropadrões e auto-associação de alcanos hidrofóbicos (BHUSHAN; KOCH e JUNG, 2009).

Stratakis e colaboradores (2010) desenvolveram substratos sensíveis ao pH funcionalizados com polímeros que podem alternar reversivelmente entre a super-hidrofilicidade em pH baixo e a repelência de super-hidrofobicidade / água em pH alto. O comportamento de comutação da superfície é impulsionado pelos efeitos combinados da resposta química do polímero e da rugosidade de escala dupla.

Liu et al (2010) estudaram sobre as superfícies sintéticas biológicas e bioinspiradas com propriedades especiais de adesão, pois a topografia e o tamanho de micro e nanoestruturas têm grande influência no valor da adesão líquido-sólido, como baixa e alta adesão.

Membranas de fibra oca de polipropileno super-hidrofóbicas foram preparadas, e exibiram superfície super-hidrofóbica e ângulo de contato estático de  $157^\circ$  para a água (XU et al, 2017). Já Maurer e colaboradores (2018) demonstraram um método fácil para a formação de superfícies super-hidrofóbicas e autolimpantes por aquecimento por pulso de laser de um compósito de nanotubos de carbono. Latthe et al (2019), estudou um revestimento proveniente de uma suspensão de nanopartículas de sílica hidrofóbica em diversos materiais usando técnicas simples de mergulho e pulverização. Cada substrato revestido apresentou super-

hidrofobicidade com ângulo de contato com a água de aproximadamente 160° e ângulo de deslizamento menor que 6°.

A presença de aditivos ou contaminantes na água foram averiguados por meio da mudança do ângulo de contato de uma gota sobre as réplicas biomiméticas de estruturas de superfície das espécies *Simaba ferruginea* e *C. esculenta* ‘black magic’ a partir da não-adesão de polímeros, utilizando o PDMS para obtenção dos templates negativos e PVB para obtenção das réplicas biomiméticas, estas réplicas apresentaram valores de ângulo de contato para água de 79 a 131° (SOUSA, 2017). A patente de um dispositivo para avaliação da salinidade de água potável utilizando medida de ângulo de contato em superfície bioinspirada foi depositada recentemente pelo Grupo (SOUSA e SANTA-CRUZ, 2018).

Dispositivos com impressão de materiais DoD também estão sendo valorizados pelo fato da técnica apresentar alta reprodutividade, atenuação de perdas de materiais, além da flexibilidade da composição do fluido de impressão e do substrato a ser utilizado.

Sousa (2015), desenvolveu fluidos funcionais para performance em dispositivo fotônico para dosimetria de radiação UV, impressos em folhas de celulose por tecnologia *DoD inkjet*. Os dispositivos impressos mostraram alta sensibilidade e a uniformidade dos padrões jateados mostrou o grande potencial para o desenvolvimento de outros dispositivos impressos, principalmente para monitoramento ambiental.

Cho e colaboradores (2017) fabricaram uma tela multicamada impressa por jato de tinta de metal / polímero / metal, usando os parâmetros de impressão ajustados e os resultados demonstraram a integridade da tecnologia totalmente impressa a jato de tinta para aplicações de impressão eletrônica.

No Grupo, Barrera e colaboradores (2018) desenvolveram dispositivos antibacterianos imprimíveis por tecnologia de jato de tinta *Drop-on-Demand (DoD)*, usando NpAg como parte ativa em fluidos imprimíveis funcionais.

Filtros de água antibacteriano foram produzidos utilizando a impressão a jato de tinta para depositar nanopartículas de prata sobre uma membrana fibrosa de poliuretano (HORVÁTH; KAWAKITA e CHIKYOW, 2016).

Modificação na superfície do tecido de algodão produzida pelo método simples de imersão em solução de hexadeciltrimetoxisilano não fluorado, mostrou repelência à água e líquidos com tensão superficial de mais de 47 mN/m, com um ângulo de contato estático de mais de 150° e ângulo de inclinação inferior a 10°, além de exibir propriedades antibacterianas (CHAUHAN; KUMAR e BHUSHAN, 2018).

As réplicas com nanocompósitos, elaboradas por mimetização da estrutura hierárquica da folha de lótus autolimpante super-hidrofóbica, foram produzidas usando uma combinação de automontagem de um surfactante de silicone na superfície de suspensões de acrilato/sílica e um processo UVNIL com um padrão de PDMS (CULLY et al, 2018).

Revestimentos nano-híbridos GPTMS-sílica foram imobilizados em substratos de policarbonato (PC) por um método de sol-gel. O revestimento nano-híbrido modificou a hidrofbicidade (CA, 110°) sendo muito eficiente na remoção de poeira através de gotículas de água (ESHAGHI, 2019).

Diversos métodos estão sendo utilizados no desenvolvimento de superfícies super-hidrofóbicas, assim como em superfícies com propriedades antibacterianas. Neste trabalho, o enfoque principal é o desenvolvimento e aplicabilidade de filmes compósitos com propriedades que aliem hidrofbicidade, eficiência na erradicação de bactérias e redução de inibição da atividade antibacteriana. O processo proposto envolve bioinspiração, já que o objeto de inspiração da superfície ativa é uma espécie biológica, e são testadas duas técnicas de impressão para análise comparada da replicação das estruturas: a impressão *DoD* pela produção de biotemplates digitais pelo *software* desenvolvido e devido à flexibilidade composicional do fluido de impressão e a *soft lithography*, pela não-adesão de polímeros, também utilizada por Sousa (2017).

---

## 4 EXPERIMENTAL

---

### 4.1 REAGENTES QUÍMICOS

Na hidroponia foi utilizado nutrientes para crescimento de raízes contendo N-P-K (Forth); nas sínteses de nanopartículas de prata foi utilizado nitrato de prata –  $\text{AgNO}_3$  (Sigma Aldrich 99%); borohidreto de sódio –  $\text{NaBH}_4$  (Sigma Aldrich 98%); N, N-dimetilformamida - DMF (Êxodo Científica, P.A.) e polivinilpirrolidona (Sigma Aldrich). Na preparação e impressão dos compósitos foi utilizado polivinil álcool - PVA (Sigma Aldrich, 99% hidrolisado); polivil butiral - PVB (BUTVAR B-18); polidimetilsiloxano – PDMS comercial (Acetic Silicone WH089284931, WURTH); poliacrilato fotopolimerizável comercial (Chu Jie); etanol (Dinâmica, P.A.) e cascas de romã *in natura*.

### 4.2 HIDROPONIA PARA PRODUÇÃO DE *BIOTEMPLATES*

A hidroponia é uma alternativa para cultivo de plantas quando não se deseja utilizar o cultivo tradicional com o solo (GOZZI e PAIXÃO, 2017). Já na hidroponia *indoor*, o cultivo das plantas, além de não utilizar o solo, a iluminação é feita de forma artificial. Assim, pode-se controlar com precisão as condições em que o material foi cultivado, para uma melhor reprodutividade dos *biotemplates*, permitindo também experimentações em função do controle de parâmetros de cultivo.

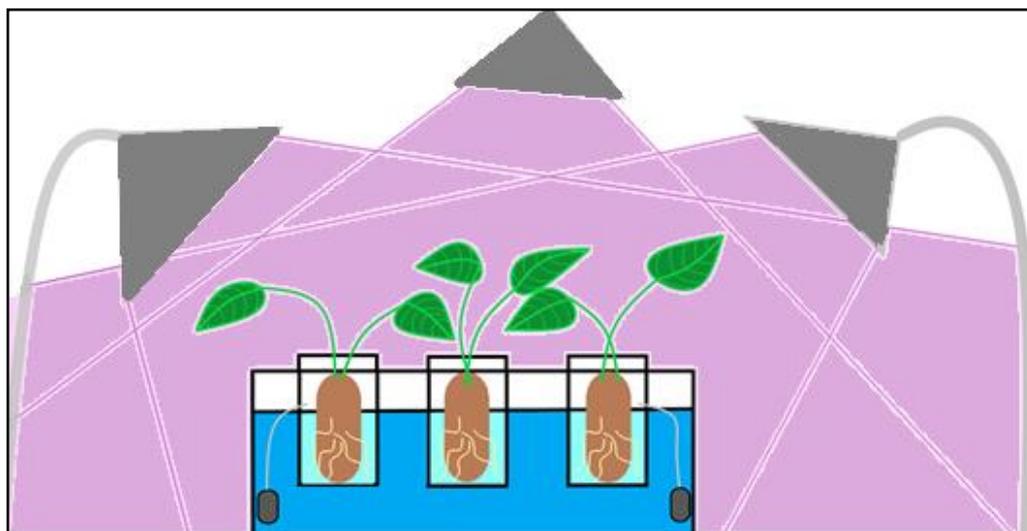
O ciclo da cultura da *Colocasia esculenta* (L.) Schott é afetado por vários fatores, como temperatura, umidade relativa, luminosidade e disponibilidade de água e nutrientes (SILVA, 2011). As principais vantagens do cultivo por hidroponia *indoor* é a facilidade do controle preciso de parâmetros como concentração dos nutrientes, temperatura e intensidade e faixa espectral luminosa.

Neste trabalho, o cultivo de espécimes de *Colocasia esculenta* (L.) Schott foi realizado para obtenção de *biotemplates*, as folhas, que serviram de base para a replicação das estruturas de superfícies nos filmes compósito, através impressão *Drop on Demand* e *soft lithography*. Assim, uma biofábrica de *templates* foi montada por hidroponia em escala piloto na Ponto Quântico Nanodispositivos, hub de inovação do grupo instalado na Positiva, NIT da UFPE, com monitoramento da produção em tempo real por câmera IP acessível em rede 24 horas por dia.

Alguns ensaios em função da adição de contaminantes e corte dos tubérculos, foram executados para a verificação do efeito no desenvolvimento das folhas e conseqüentemente nas micro e nano estruturas hierárquicas de suas superfícies.

O método de cultivo foi adaptado de Nhut, Huong e Khiem (2004), que consiste na alocação de cestos suspensos em banheiras com aproximadamente 15 litros de água, de modo que os tubérculos fiquem 1/2 submersos em água. A circulação de água foi feita através de 4 bombas submersas que forçam a circulação de 220 L/h e entornam a água à meia altura dos cestos que abarcam os tubérculos. A iluminação foi realizada artificialmente por três lâmpadas de 18 LEDs de 20 W cada: 6 LEDs emitindo luz em 450 nm (azul) e 12 LEDs emitindo luz em 625 nm (vermelho), relacionados aos comprimentos de onda de absorção da clorofila. O sistema de hidroponia *indoor* realizado para a *Colocasia esculenta* (L.) Schott é apresentado na Figura 20.

Figura 20- Biofábrica de cultivo hidropônico *indoor* para fabricação dos *biotemplates*.



(Imagem do autor)

A partir do 21º dia, é realizada a primeira troca de água e adição dos nutrientes para crescimento de raízes (N-P-K em proporções preestabelecidas), na proporção de 22,5 gramas dos nutrientes para 15 litros de água. Em seguida, a troca de água é feita a cada 15 dias, juntamente com a adição dos nutrientes.

### 4.3 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (NpAg)

#### 4.3.1 Método de Redução química com borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>)

Com base nos estudos realizados por Mojica-Sánchez (2018), desenvolveu-se um planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com duas repetições no ponto central (Tabela 2), para a síntese das nanopartículas de prata por redução química do sal de prata (AgNO<sub>3</sub>), com o borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), como agente redutor e agente estabilizante. Este estudo buscou verificar as concentrações mais adequadas para obtenção das nanopartículas de prata homogêneas e monodispersas. As variáveis de entrada foram concentração de borohidreto de sódio, concentração de nitrato de prata e tempo de agitação, enquanto que para a variável resposta, buscou-se relação do comprimento de onda de absorção e distribuição de tamanho das partículas, com as técnicas de espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e espalhamento dinâmico de luz (DLS), respectivamente.

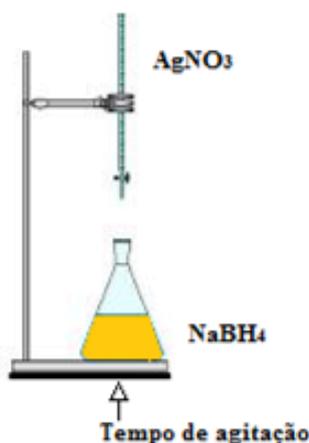
A Tabela 2 apresenta a matriz do planejamento para síntese das nanopartículas de prata com o agente redutor borohidreto de sódio, com as variáveis independentes e seus respectivos níveis.

Tabela 2- Matriz do planejamento fatorial 2<sup>3</sup> com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via borohidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>), com as variáveis independentes e seus respectivos níveis.

Níveis	Tempo de agitação (min)	[AgNO <sub>3</sub> ] (mMol.L <sup>-1</sup> )	[NaBH <sub>4</sub> ] (mMol.L <sup>-1</sup> )
+	90	4,5	4,5
-	30	2,5	2,5
0	60	3,5	3,5

Com a solução de borohidreto em um Erlenmeyer, sob resfriamento prévio por cerca de 20 minutos, inicia-se a agitação adicionando gota a gota a solução de nitrato de prata a solução de borohidreto de sódio contida no Erlenmeyer, até a formação de uma solução coloidal de cor amarelo ouro, como mostrada na Figura 21. Após formada, a solução coloidal é mantida sob agitação em banho de gelo durante o tempo determinado no planejamento. Para que esta solução coloidal de NpAg mantenha-se estável, acondiciona-se em geladeira com aproximadamente 3-4°C e em frasco âmbar (para proteção contra luz) até o momento de serem utilizadas.

Figura 21- Esquema de síntese de nanopartículas de prata por redução química com borohidreto de sódio

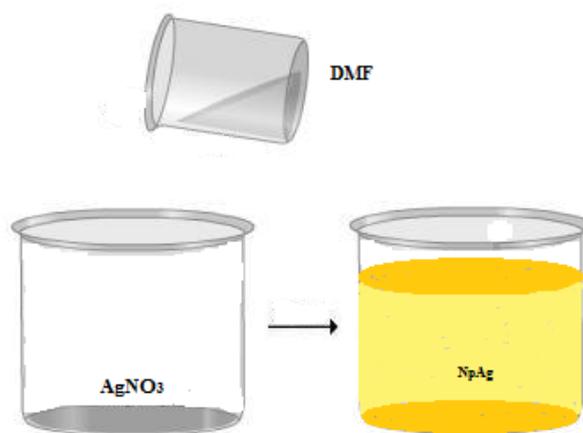


(Imagem do autor)

#### 4.3.2 Método de Redução química com N, N- dimetilformamida (DMF)

Com base nos estudos realizados por Costa (2011), construiu-se um planejamento fatorial  $2^2$  com duas repetições no ponto central com as variáveis de entrada massa de  $\text{AgNO}_3$  e o volume de DMF N, N-dimetilformamida (Tabela 3), a fim de verificar a homogeneidade e dispersão das partículas obtidas, logo, para a variável resposta, buscou-se relação do comprimento de onda de absorção e distribuição de tamanho das partículas com as técnicas de espectroscopia de absorção na região do UV-Visível e espalhamento dinâmico de luz (DLS), respectivamente. Nesse procedimento para síntese das nanopartículas de prata, adiciona-se o DMF ao sal precursor e logo em seguida há a formação das  $\text{NpAg}$ , esquematizado na Figura 22.

Figura 22- Esquema de síntese de nanopartículas de prata por redução química com DMF



(Imagem do autor)

É importante ressaltar que a síntese ocorreu em temperatura ambiente de aproximadamente 23°C, e que a massa de PVP, utilizado como estabilizante, foi mantida fixo em todos os experimentos. Como as NpAg possuíam estabilizantes, após a síntese as mesmas foram armazenadas em geladeira com aproximadamente 3-4°C e em frasco âmbar (para proteção contra luz) até o momento de serem utilizadas.

Tabela 3- Matriz do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via solvente DMF, com as variáveis independentes e seus respectivos níveis.

Níveis	AgNO <sub>3</sub> (mg)	DMF (mL)
+	2,0	20,0
-	1,0	15,0
0	1,5	17,5

\* Valor fixo de PVP de 270 mg

#### 4.4 DESENVOLVIMENTO DO FILME COMPÓSITO - Polímero@NpAg

Preliminarmente, testes de compatibilidade para formação de filmes compósitos de nanopartículas de prata com o polímero, foram realizados. Os sistemas utilizados para desenvolvimento destes são listados na Tabela 4 a seguir, com as respectivas quantidades dos seus componentes e temperaturas. Os aspectos destes compósitos foram analisados após evaporação do solvente.

Tabela 4- Composição dos sistemas analisados para formação do filme de compósito polimérico.

Sistemas	Quantidades	Temperatura de evaporação do solvente
PVB <sub>(etanol)</sub> / NpAg <sub>(H2O)</sub>	[2% (m/m)] – 3 mL / 0,5 mL	23 °C
PVB <sub>(s)</sub> / NpAg <sub>(DMF/PVP)</sub>	0,5 g / 2mL	60 °C
PVB <sub>(s)</sub> / NpAg <sub>(DMF/PVP)</sub>	0,5 g / 2mL	23 °C
PVA <sub>(H2O)</sub> / NpAg <sub>(H2O)</sub>	[10% (m/m)] - 3mL / 1mL	23 °C
PVA <sub>(s)</sub> / PVB <sub>(s)</sub> / AgNO <sub>3</sub> / DMF	10mg / 10mg / 1mg / 7mL	23 °C
PVA <sub>(s)</sub> / PVB <sub>(s)</sub> / (etanol) / NpAg <sub>(H2O)</sub>	10mg / 10mg / 7 mL / 1 mL	23 °C

Diante dos resultados mais satisfatórios, realizou-se um estudo das proporções cabíveis entre o polímero e nanopartículas para formação do filme composto com propriedades estáveis para replicar as estruturas das superfícies das folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, na impressão por *soft lithography*.

## 4.5 IMPRESSÃO

### 4.5.1 *Soft lithography*

A *soft lithography* é um método simples de replicação de estruturas e foi utilizado na produção de filmes bioinspirados na estrutura hierárquica da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, sendo executado em duas etapas.

Na primeira etapa, de produção do padrão negativo, foram depositados uniformemente sobre as folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott os polímeros para moldagem: PDMS comercial e poliacrilato fotopolimerizável comercial. Para remoção do polímero da folha, no PDMS esperou-se a completa cura durante 24 horas, já o poliacrilato fotopolimerizável, foi removido após cura por irradiação por 10 minutos em câmara UV.

Na segunda etapa, para obtenção da réplica da folha, preliminarmente utilizou-se a deposição uniforme do polivinil butiral - PVB 20 % (m/m) em etanol sobre os moldes negativos produzidos na etapa anterior, deixado-os em temperatura ambiente durante 24 horas para evaporação do solvente e formação do filme. Em paralelo, um estudo para desenvolver um compósito polímero@NpAg, foi realizado e em seguida este compósito foi utilizado para deposição e formação do filme réplica.

As réplicas obtidas foram caracterizadas por medidas do ângulo de contato, microscopia eletrônica de varredura e análise termogravimétrica.

### 4.5.2 *Printônica – Impressão Drop on Demand (DoD)*

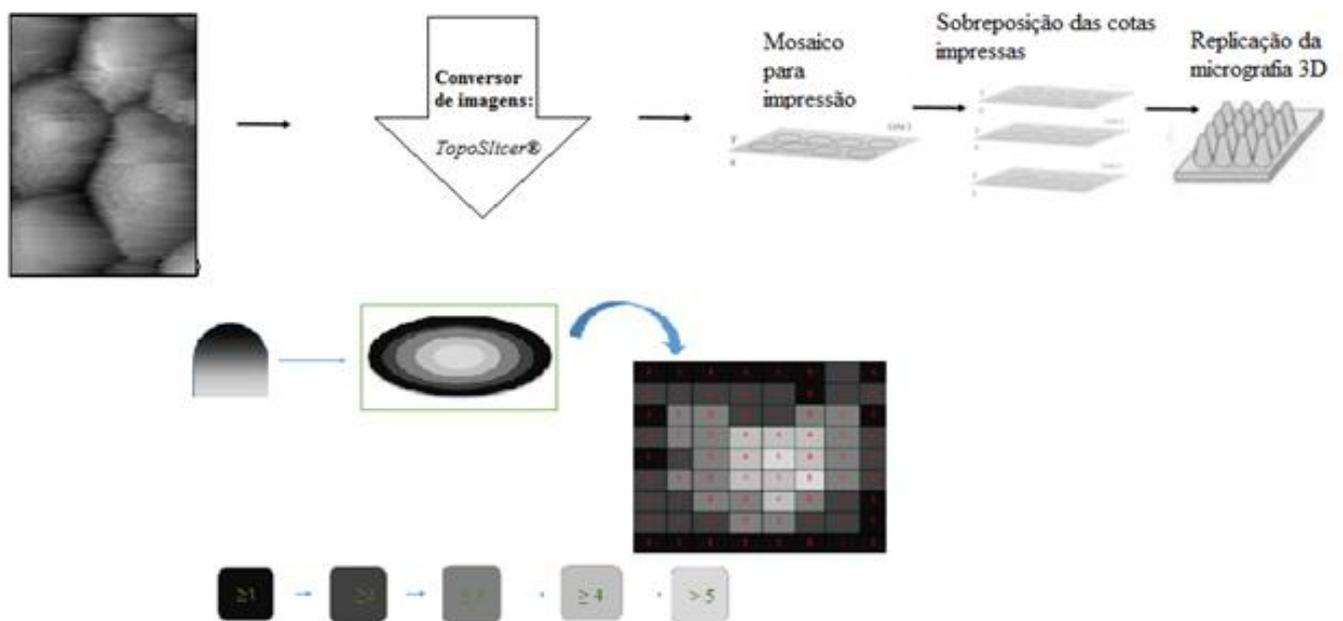
#### 4.5.2.1 *Desenvolvimento do software para produção de biotemplates digitais e impressão 3D*

Para o desenvolvimento tanto deste projeto de mestrado quanto para o projeto de doutorado de Rosely Queiroz, sob a mesma supervisão no Grupo, foi desenvolvido um *software* inovador, em parceria com o departamento de Informática<sup>1</sup>, e depositado no INPI com o nome de *TopoSlicer*® (SANTA-CRUZ et al, 2018). O *TopoSlicer*® transforma uma micrografia 2D (em níveis de cinza) em um conjunto de imagens preto e branco que correspondem a camadas a serem impressas *Layer-by-Layer* (LbL), permitindo a impressão DoD em 3D, através de conversão dos níveis de cinza em cotas

<sup>1</sup>Parceria com Professor Silvio B. Melo, CIn, UFPE-Recife

no eixo z, com as coordenadas (x,y) de impressão de cada camada. As micrografias são inseridas no formato bitmap com 24 bits de níveis de cinza, e a saída é de imagem de 1 bit (preto) em fundo branco. A conversão da imagem 2D (x,y) para n imagens 3D (x,y para cada cota z) é feita de acordo com os níveis de cinza da micrografia, relacionadas ao eixo z. O número de camadas n é dado por  $z_{\text{máx}}/\text{passo}$ , sendo cada valor de z relacionado a um dos  $2^{24}$  (16 milhões) de níveis de cinza da micrografia original. O nível mais escuro de cinza corresponde à parte mais profunda da estrutura, e o mais claro ao topo. O nível mais escuro de cinza é usado para produzir a primeira camada de impressão DoD, e os mais claros geram as camadas seguintes, em função da altura em z. De acordo com o algoritmo desenvolvido, cada pixel com um nível de cinza igual ou menor que o nível mais escuro deve ser impresso na primeira cota, para a segunda cota, cada pixel com um nível de cinza igual ou menor que o segundo nível mais escuro deve ser impresso na segunda cota e sucessivamente conforme apresentado na Figura 23.

Figura 23- Funcionamento do *software TopoSlicer®*, que transforma micrografias 2D em um conjunto de camadas imprimíveis por cotas para impressão *LbL* em 3D numa impressora 2D de materiais DoD.



(Adaptado de Queiroz et al, 2018)

Conforme as cotas são geradas, para uma superfície com dimensões micrométricas da micrografia, um mosaico dessa quota é formado para cobrir a área de impressão desejada. Neste trabalho, objetiva-se usar o *software TopoSlicer®* para prova de conceito do uso de

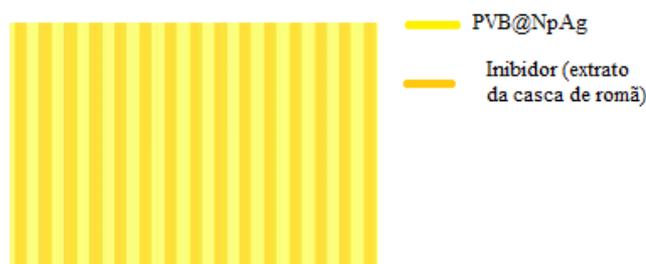
micrografias de AMF e MEV dos *biotemplates* das folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, e validação do software desenvolvido. Foram utilizados como substratos de impressão, neste caso, lâminas de vidro.

#### 4.6 PREPARAÇÃO DO INIBIDOR DE FLAGELINA BACTERIANA: EXTRATO DE CASCA DE ROMÃ

Cascas de romã foram lavadas em água corrente, cortadas de tamanhos iguais, e em seguida levadas à estufa a 60 °C até peso constante. Após resfriamento, estas cascas foram trituradas para serem usadas no processo de extração.

Foi realizada uma extração Soxhlet, usando etanol como solvente. A relação pó solvente foi 1:25 (m/v), a 80°C, durante 1 ciclo de extração. O extrato foi caracterizado por espectroscopia de absorção na região do UV-Visível. O extrato de casca de romã foi utilizado para produzir um dispositivo imprimível contra resistência bacteriana a nanopartículas bactericidas, utilizando fluido imprimível de casca de romã e fluido imprimível do composto PVB@NpAg (1:1 PVB 2% (m/m) e NpAg (DMF)). Esses materiais foram impressos alternadamente na forma de linhas, através de mudança de *templates*, em substrato de filme de acetato, a impressão está exemplificada na Figura 24.

Figura 24- Dispositivos imprimíveis contra a resistência bacteriana a nanopartículas bactericidas



(Imagem do autor)

#### 4.7 CARACTERIZAÇÃO

As técnicas utilizadas para caracterização neste trabalho foram: espalhamento dinâmico de luz (DLS), espectroscopia de absorção na região do UV- Visível, microscopia de força atômica

(AFM), microscopia eletrônica de varredura (MEV), ângulo de contato (CA), ângulo de deslizamento (DA) e análise termogravimétrica (TGA).

#### 4.7.1 Espalhamento Dinâmico de Luz - (DLS)

As medidas de espalhamento dinâmico de luz (DLS – Dynamic Light Scattering), foi utilizada para medir o tamanho das nanopartículas e distribuição de tamanhos em função da quantidade. Foram obtidas em equipamento Zetasizer Nano-ZS, com laser de comprimento de onda de 633nm, sob um ângulo de espalhamento de 90° e temperatura de 25°C. As medidas foram realizadas no Laboratório Multiusuário do CETENE.

A determinação é feita a partir de dados da espectroscopia de correlação de fótons para medir o tamanho das partículas. O movimento aleatório das partículas, browniano ou térmico, faz com que a intensidade da luz dispersa a partir de partículas varie com o tempo. Partículas grandes movem-se mais lentamente que as pequenas, deste modo, a taxa de variação da luz dispersa é mais lenta. A espectroscopia de correlação de fótons utiliza a taxa de alteração destas flutuações de luz para determinar a distribuição de tamanho das partículas (YE e SINGH, 2006).

Para amostras monodispersas e diluídas, em movimento browniano é possível extrair o coeficiente de difusão translacional da partícula, DT. Caso as partículas possam ser assumidas esfericamente simétricas, utiliza-se a equação de Stokes-Einstein (equação 8) para o cálculo do diâmetro efetivo (Def) ou hidrodinâmico das partículas em equilíbrio térmico com o solvente (NOMURA et al, 2013):

$$Def = \frac{k_B T}{3\pi\eta DT} \quad , \quad (8)$$

sendo  $k_B$  a constante de Boltzmann, T a temperatura (K) e  $\eta$  a viscosidade do solvente. Para o diâmetro efetivo, conta-se o diâmetro da partícula associada a contra-íons e camadas de hidratação que difundem junto com a mesma.

#### 4.7.2 Espectroscopia de absorção na região do UV-Visível

A espectroscopia UV-Visível se refere à análise da absorção de radiação eletromagnética por uma amostra na região espectral do ultravioleta e visível. As medidas das amostras foram realizadas em fase líquida com amostras em cubetas de quartzo, utilizando-se um espectrofotômetro PerkinElmer modelo Lambda 650. A faixa de absorção analisada foi de 200 a 800 nm e foi utilizado o solvente de cada amostra como referência para que não houvesse

contribuição do solvente nos espectros. As medidas foram realizadas na Central Analítica do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE.

De acordo com a Lei de Beer-Lambert a intensidade de absorção de um feixe paralelo de radiação monocromática que passa por uma solução absorvente, depende da concentração das moléculas absorventes ( $c$ ) e da extensão do caminho óptico ( $b$ ) percorrido pela radiação, Figura 25. À medida em que a radiação atravessa um meio contendo um analito que absorve, um decréscimo de sua intensidade ocorre na proporção em que o analito é excitado. Em virtude das interações entre os fótons e as partículas absorventes, a potência radiante do feixe decresce de  $P_0$  a  $P$ . A transmitância  $T$  da solução é a fração da radiação incidente transmitida pela solução, mostrado na equação 9 (SKOOG, 2006):

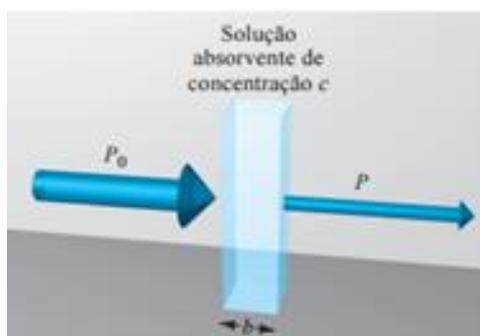
$$T = \frac{P}{P_0} . \quad (9)$$

A absorvância  $A$  de uma solução está relacionada com a transmitância de forma logarítmica, como mostrado na equação 10 (SKOOG, 2006):

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc , \quad (10)$$

onde,  $\epsilon$  é a constante de proporcionalidade denominada absortividade. Quando a absorvância de uma solução aumenta, a transmitância diminui exponencialmente. A absorvância é uma grandeza adimensional, enquanto que a absortividade  $\epsilon$  deve ter unidades que cancelam as unidades de  $b$  e  $c$ .

Figura 25- Atenuação de um feixe de radiação por uma solução absorvente.



(SKOOG, 2006)

### 4.7.3 Microscopia de Força Atômica - (AFM)

A microscopia de força atômica (AFM) é uma técnica que fornece informações sobre a topologia do material, através da força de interação entre os átomos de uma sonda mecânica na forma de uma ponta muito fina (*cantilever*) e os átomos da amostra.

Neste trabalho, as micrografias de AFM foram utilizadas como *input* para o software *TopoSlicer*®. As análises foram realizadas no modo de não-contato nas amostras da folha de *C. esculenta* e do material impresso, para uma análise comparada das topografias. As amostras foram limpas com jato de N<sub>2</sub> e fixadas em porta amostras com fita adesiva dupla face. As imagens de AFM foram obtidas com o *microscópio EasyScan-57* da Nanosurf de grandes áreas (10x10x1,8µm) do nosso laboratório, LandFoton (DQF-UFPE).

Como em AFM a imagem é produzida através de informação de deslocamento *z* da sonda em cada coordenada *x*, *y*, atribuindo-se um nível de cinza em função deste deslocamento, os níveis de cinza da imagem construída apresentam correlação direta e linear com o eixo *z*, em cada ponto (*x*, *y*, *z*) da superfície analisada.

### 4.7.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica que permite a análise da morfologia e estruturas de superfície das amostras com ampliação muito maior do que a microscopia ótica, já que o comprimento de onda de de Broglie associado ao elétron é muito menor do que o comprimento de onda da luz, permitindo assim interações com estruturas muito menores.

Neste trabalho, a microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para caracterizar as estruturas hierárquicas das superfícies das folhas da *C. esculenta*. As micrografias obtidas por MEV foram usadas como *input* no software *TopoSlicer*® para a produção do conjunto de templates digitais utilizados para impressão DoD dos filmes funcionais bioinspirados, impressos com fluidos funcionais. Em seguida a técnica de MEV foi utilizada para uma análise comparada das estruturas correlacionadas com propriedades hidrofóbica nos moldes de réplicas produzidas por *soft lithography* e os *biotemplates* naturais.

As amostras das plantas e dos filmes foram cortadas e fixadas sobre porta amostras utilizando-se fitas de carbono. Para garantir a condutividade elétrica da superfície do material, a metalização das amostras foi realizada com deposição de ouro, na espessura de

aproximadamente 20 nm, utilizando-se o SC 701 Quick Coater. As micrografias foram obtidas utilizando-se um microscópio MIRA3 LMH FE-SEM (Tescan) com uma tensão de 10 kV, sob diferentes magnificações do Departamento de Física (DF) da UFPE..

#### 4.7.5 Ângulo de contato (CA) e ângulo de deslizamento (DA)

Para medidas de ângulo de contato (CA) e ângulo de deslizamento (DA), foi utilizado um tensiômetro óptico Biolin Scientific Attension®, no laboratório Campolab do Departamento de engenharia mecânica (DEMEC) da UFPE, com gotas de 10 µL de água destilada. Esta análise foi realizada na superfície das folhas e filmes replicados.

#### 4.7.6 Análise Termogravimétrica - (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica que mede mudanças no peso em relação a mudanças na temperatura. A curva de perda de peso fornece informações sobre mudanças na composição da amostra, estabilidade térmica, pureza do material, determinação da umidade na amostra, entre outros.

Neste trabalho, as análises foram realizadas no equipamento TGA-50H (Shimadzu), do nosso laboratório, LandFoton (DQF-UFPE), com amostras na forma de filme em cadinho de platina, sob atmosfera de Nitrogênio (50 mL/min) com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min numa faixa de temperatura de 25 °C até 900 °C.

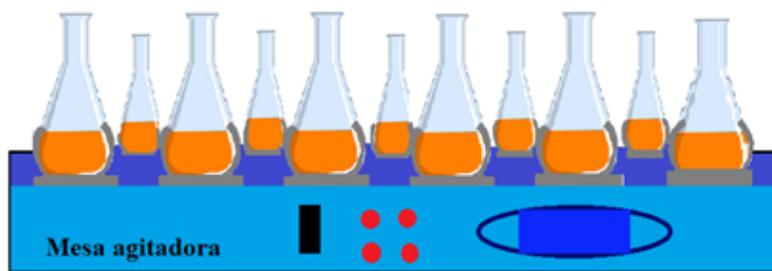
### 4.8 ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA

Foram realizados diferentes testes de inibição bacteriana por duas bactérias para os filmes impressos, uma Gram-negativa (*Escherichia coli*) e uma Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*). Os testes de inibição bacteriana foram realizados de duas formas, em meio de cultura líquido de Mueller-Hinton para os filmes produzido por *soft lithography* e em meio de cultura de Mueller-Hinton Agar para os filmes impressos por *DoD* e seus respectivos fluidos de impressão.

Os inóculos bacterianos de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram preparados e ajustados para a escala de McFarland 0,5 que é usada na preparação de inóculos bacterianos para realizações de testes de sensibilidade antimicrobiana.

Em meio de cultura líquido, foi realizado o teste de inibição bacteriana para os filmes produzidos por *soft lithography*. Os microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram semeados em Erlenmeyer contendo 20 mL do meio de cultura e 10  $\mu$ L do microrganismo. Foram realizados testes com 2 e 4 mg de cada filme. Os Erlenmeyer foram fechados e colocados em agitação de 140 rpm a 32°C, durante 36 horas, como na Figura 26. Após tempo de incubação, alíquotas de cada ensaio foram coletadas, diluídas para que estivessem na escala de McFarland 0,5 e realizou-se a leitura em espectrofotômetro. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

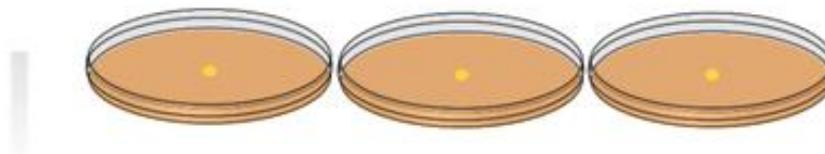
Figura 26- Esquema de análise de inibição bacteriana dos filmes por *Soft lithography* em meio de cultura líquido de Mueller-Hilton



(Imagem do autor)

Em meio de cultura sólido, os microrganismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram semeados nas placas de Petri pelo método de difusão de disco, onde o meio preparado foi previamente vertido. Os microrganismos foram retirados da diluição salina com a ajuda de um cotonete estéril e a semeadura foi realizada em toda a superfície da placa de Petri. Em seguida, com o auxílio de uma pinça estéril, os discos previamente cortados em 4 mm de diâmetro foram colocados na superfície de semeadura, de modo que o material impresso ficasse em contato direto com as bactérias. As placas foram seladas com *Parafilm*<sup>®</sup> e incubadas a 37 °C por 36 horas. Após o tempo de incubação, mediu-se a inibição gerada pelos discos produzidos por impressão *DoD*, com PVB@NpAg, PVB@NpAg+extrato da casca de romã e dos fluidos de impressão do extrato da casca de romã e PVB@NpAg. Para os testes com os fluidos de impressão, foi realizado um furo de 11 mm e preenchido com 50  $\mu$ L do fluido em análise, sendo que na interação de PVB@NpAg+extrato da casca de romã foi colocada 25  $\mu$ L dos respectivos componentes. Cada ensaio foi realizado em triplicata, como mostrado na Figura 27.

Figura 27- Esquema de análise de inibição bacteriana dos fluidos impressos por *DoD* em meio de cultura sólido Mueller-Hilton Agar pelo método de difusão de disco



(Imagem do autor)

---

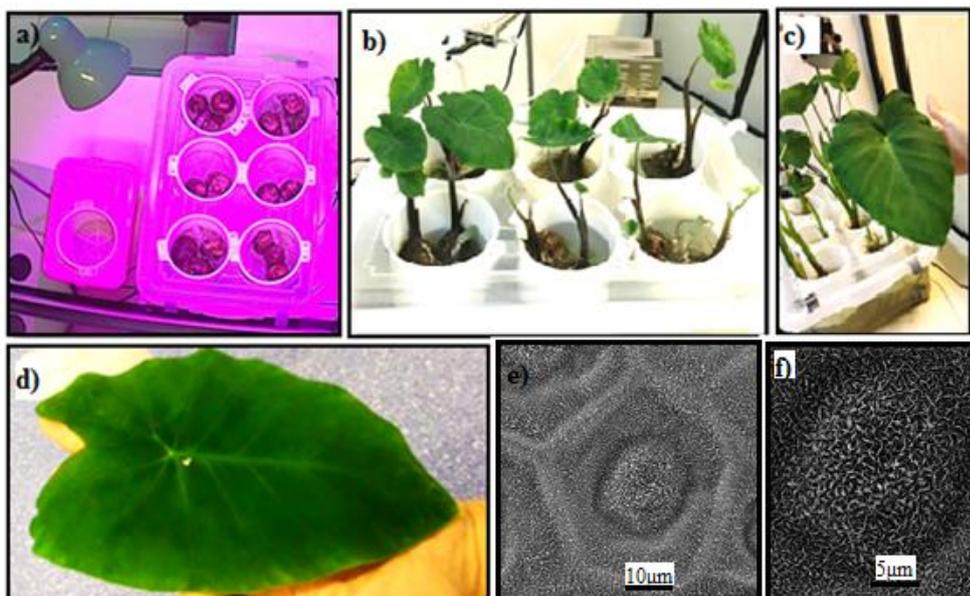
## 5 RESULTADOS

---

### 5.1 CULTIVO DOS BIOTEMPLATES

Utilizou-se a hidroponia *indoor* para o cultivo dos *biotemplates* para a preparação dos materiais funcionais bioinspirados. Foi observado que a partir do 8º - 10º dia, as primeiras folhas são abertas e já possuem super-hidrofobicidade e deslizamento da gota de água na superfície característicos do efeito lótus. No transcorrer de 16 dias de cultivo das plantas, as respectivas folhas, apresentaram tamanho de aproximadamente 10 cm. A primeira troca de água é realizada entre 20º - 25º dia, com adição dos nutrientes para manutenção do crescimento. A Figura 28, mostra o sistema montado de hidroponia para a *Colocasia esculenta* (L.) Schott no início do cultivo, com 16 dias e 36 dias de cultivo, o efeito lótus da folha e sua respectiva micrografia da superfície da folha.

Figura 28- a) Início da hidroponia *indoor* para a *Colocasia esculenta* (L.) Schott, b) 16 dias de cultivo sob condições controladas; c) 36 dias de cultivo, d) gota de água submetida ao efeito lótus em uma folha cultivada, e) e f) Micrografias (SEM MIRA3 Tescan) da superfície da folha, com 36 dias de cultivo, evidenciando micro e nano-hierarquias, respectivamente.



Estudos preliminares com variações em parâmetros como estresse hídrico, corte de tubérculos em frações e adição de surfactante foram promovidos durante o cultivo para avaliar o efeito dos mesmos na estrutura de superfície da folha.

Em condições de estresse hídrico induzido durante o cultivo das plantas, foi observado retardo no crescimento e amarelamento folhas, conforme mostrado na Figura 29. Nesta situação, as folhas possuem aproximadamente 4 cm após 42 dias de cultivo, com ângulo de contato menor e com histerese de ângulo de contato elevado, comparados com a folha saudável (Tabela 5). A explicação para esse efeito é dada pela mudança da estrutura original combinado com a redução das estruturas nanométricas, resultando nas mudanças dos parâmetros característicos que resultam na super-hidrofobicidade e rolamento da gota de água na superfície da folha. Sivan (1995) em seus estudos acerca do estresse hídrico do taro, também observou que a condutância estomática, o número de folhas e a área foliar de ambas as cultivares são afetados em decorrência do estresse hídrico.

Figura 29- a) Plantas submetidas a estresse hídrico. b) e c) Micrografias da superfície de sua folha (SEM MIRA3 Tescan).

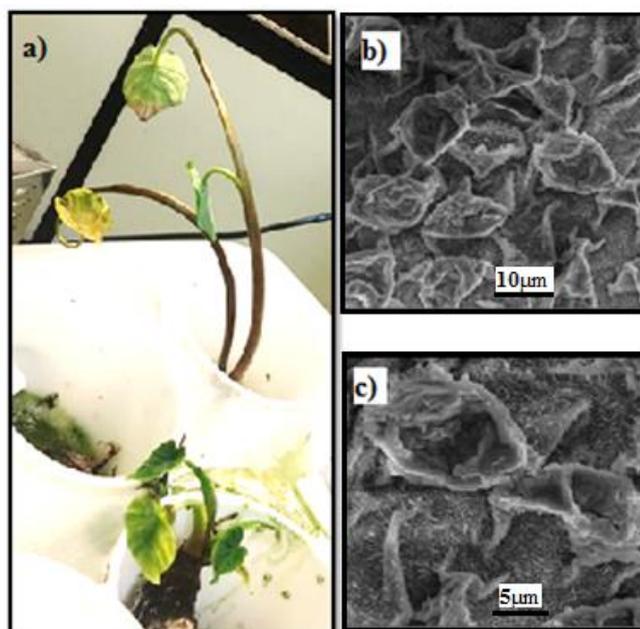


Tabela 5- Ângulos de contato e deslizamento para a água na superfície da folha da *C. esculenta*.

<i>C. esculenta</i> (L.) Schott	ângulo de contato (°)	ângulo de deslizamento (°)
Normal	154,24	7,3
Submetida à estresse hídrico	164,95	14,9

Ensaio de corte de fração de tubérculo acompanhado de adição dos nutrientes resultaram na aceleração do crescimento das folhas (6º dia de cultivo), já a inserção de surfactante gerou retardo no crescimento das mesmas para o 20º dia de cultivo, seguido de morte dos espécimes em poucos dias após o surgimento das primeiras folhas, no 30º dia. Considerou-se a importância da análise estrutural das superfícies das folhas cultivadas nesses ensaios, por imagens de microscopia e ângulo de contato, para correlação com as variáveis manipuladas.

## 5.2 DESENVOLVIMENTO DOS FILMES COMPÓSITOS POLIMÉRICOS

Os compósitos poliméricos foram iniciados pela síntese das nanopartículas de prata, seguido da incorporação no polímero para formação de filmes nanocompósitos.

### 5.2.1 Síntese das nanopartículas de prata (NpAg)

#### 5.2.1.1 Redução química com Borohidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ )

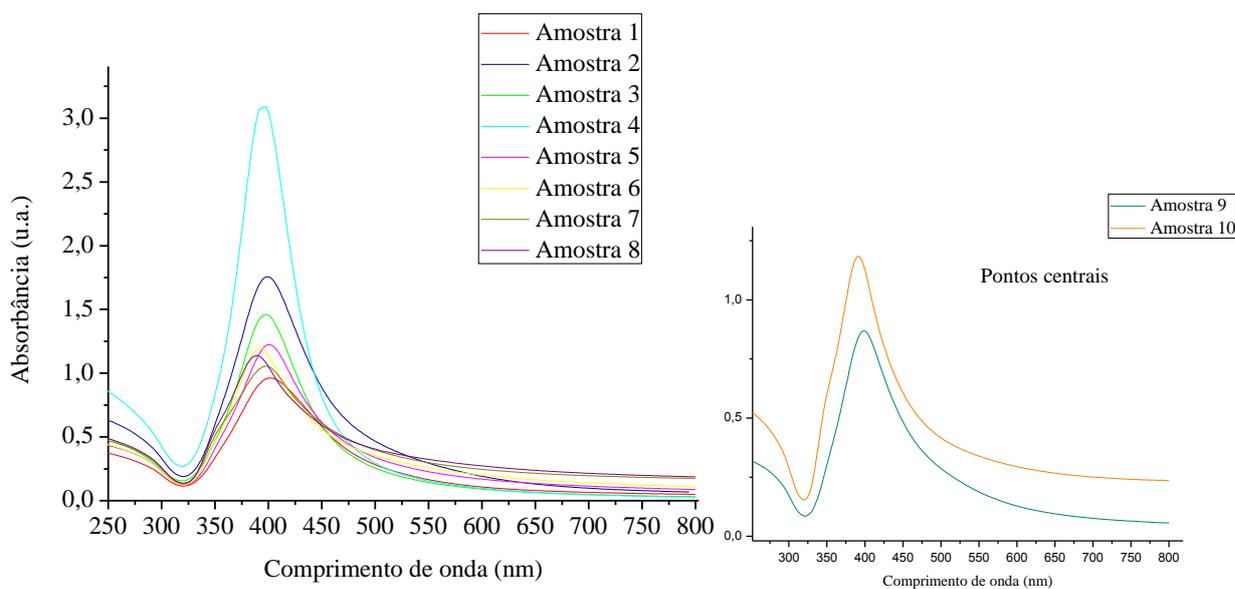
Foi realizada uma síntese química em banho de gelo, via redução com borohidreto de sódio e um precursor do sal de prata, utilizando um planejamento fatorial  $2^3$  com duas repetições no ponto central (Tabela 6). As variáveis de entrada foram: concentração do agente redutor, concentração de precursor e tempo de agitação das nanopartículas. Como respostas, foram utilizados o comprimento de onda por espectrofotometria de absorção na região do UV-Visível e a distribuição de tamanho de partícula medida por espalhamento dinâmico de luz (DLS).

Tabela 6- Planejamento fatorial  $2^3$  com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química via  $\text{NaBH}_4$ , com os níveis e as respectivas variáveis.

Amostras		Tempo de agitação (min)	$[\text{AgNO}_3]$ ( $\text{mMol.L}^{-1}$ )	$[\text{NaBH}_4]$ ( $\text{mMol.L}^{-1}$ )	Comprimento de onda $\lambda$ (nm)
<b>1</b>	+++	90	4,5	4,5	401,96
<b>2</b>	++-	90	4,5	2,5	399,03
<b>3</b>	+--	90	2,5	2,5	397,78
<b>4</b>	---	30	2,5	2,5	395,69
<b>5</b>	-++	30	4,5	4,5	400,73
<b>6</b>	--+	30	2,5	4,5	392,29
<b>7</b>	-+-	30	4,5	2,5	398,06
<b>8</b>	+-+	90	2,5	4,5	389,34
<b>9</b>	<b>000</b>	60	3,5	3,5	398,48
<b>10</b>	<b>000</b>	60	3,5	3,5	391,45

Os espectros de absorção na região do UV-visível, apresentados na Figura 30, mostraram absorção em bandas centradas em torno de 390 nm e 400 nm, características das NpAg.

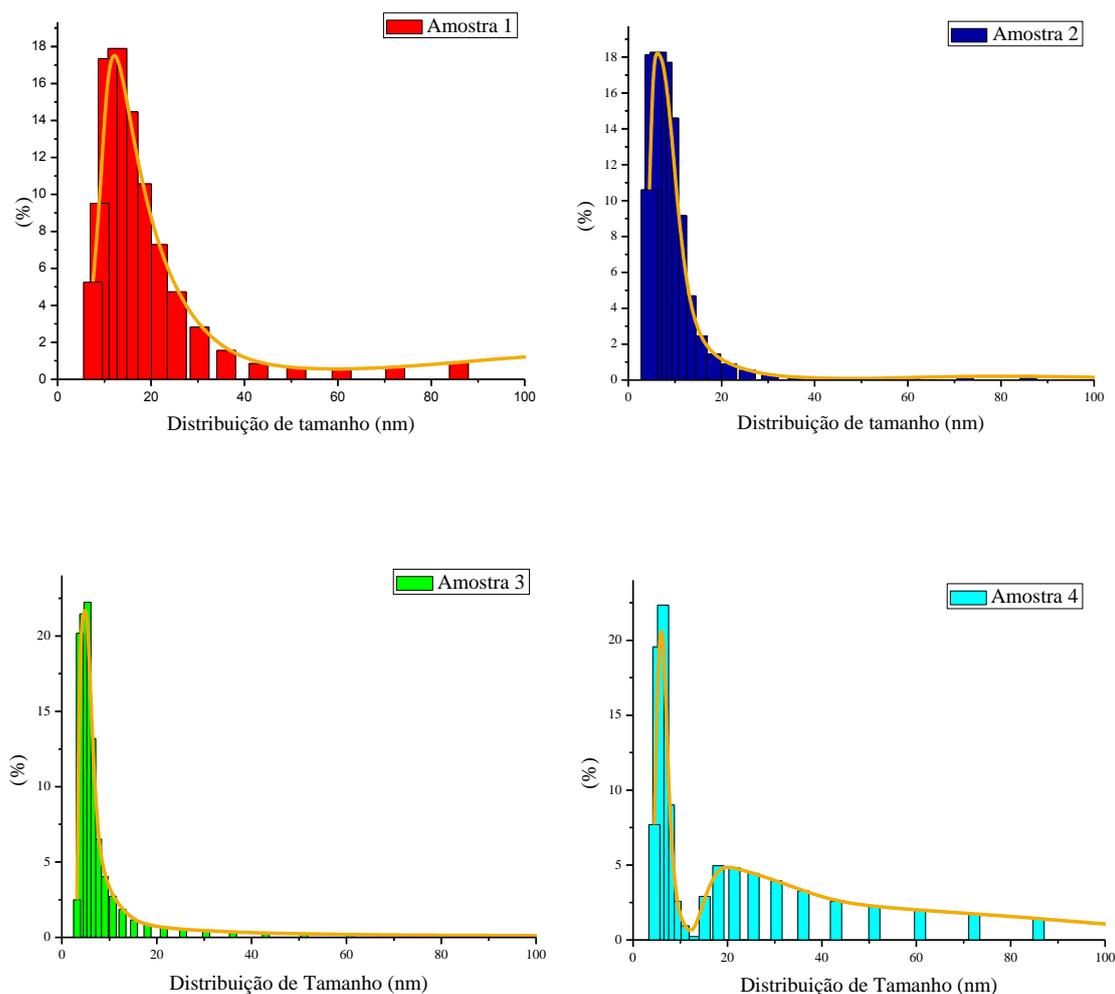
Figura 30- Espectros de absorção na região do UV-visível para redução com  $\text{NaBH}_4$ .

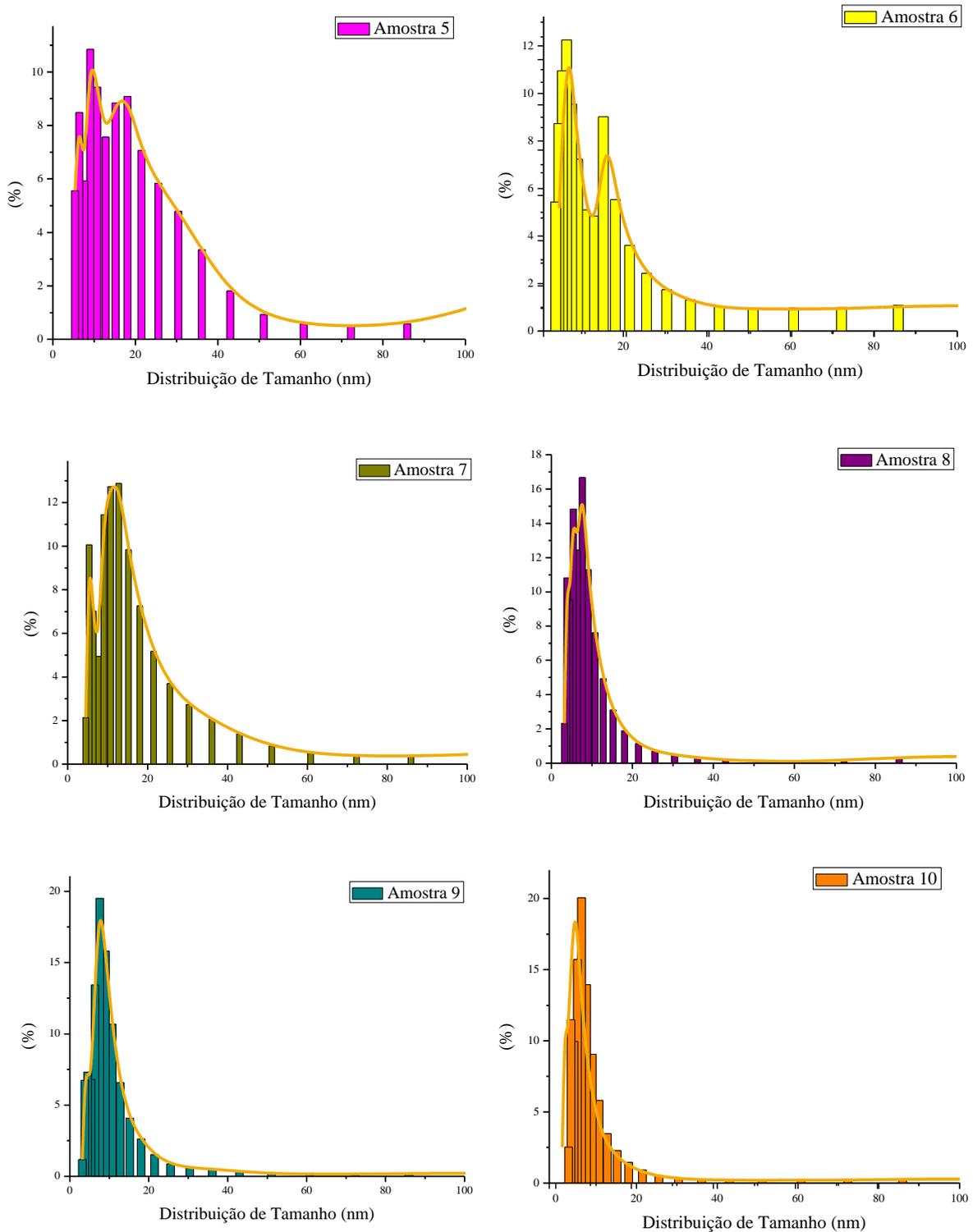


Estes resultados estão em concordância com os obtidos por Borralho (2017), que estudou a redução de nanopartículas de prata pelo mesmo método. Os espectros de absorção são dependentes do tamanho e forma das nanopartículas, e a análise dos resultados obtidos sugere nanopartículas esféricas pela existência de apenas uma banda de ressonância plasmônica de superfície (SOSA; NOGUEZ e BARRERA 2003).

Os histogramas de distribuição de tamanho de partículas da Figura 31 indicam que a síntese usada resulta em partículas monodispersas, com tamanhos médios de até 30 nm, exceto para as amostras 5 e 6, em que se variou a concentração do precursor metálico. Para estas amostras foram encontrados uma maior distribuição de tamanhos, mostrando uma polidispersividade. Estes resultados apresentaram o mesmo perfil de distribuição de tamanho de NpAg, observados por Borralho (2017).

Figura 31- Histogramas de distribuição de tamanho de partículas para os experimentos utilizando a redução química de NpAg com borohidreto de sódio.





A reprodutibilidade desta síntese foi constatada pelos pontos centrais (amostras 9 e 10), devido à similaridade de distribuição de tamanho das partículas, corroborados com a posição dos picos de absorção de suas bandas. Contudo, as condições utilizadas na amostra 3, com

proporções iguais de precursor metálico e o agente redutor (2.5 M) em um tempo maior tempo de agitação (90 min), apresentaram maior teor de partículas centradas numa faixa de tamanho menor (até 20 nm), sugerindo seu uso nos estudos posteriores.

#### 5.2.1.2 Redução química com *N, N*- dimetilformamida (DMF)

Foi realizada uma segunda síntese utilizando DMF como agente redutor e mantendo o precursor metálico de prata, utilizando-se um planejamento fatorial  $2^2$  com duas repetições no ponto central. As variáveis de entrada/independentes utilizadas foram: massa do sal precursor e volume do solvente redutor das nanopartículas. Como respostas, utilizou-se o máximo da banda de absorção observado no espectro UV-Visível e dados da distribuição de tamanhos de partícula obtidos por DLS. Os resultados são apresentados na Tabela 7.

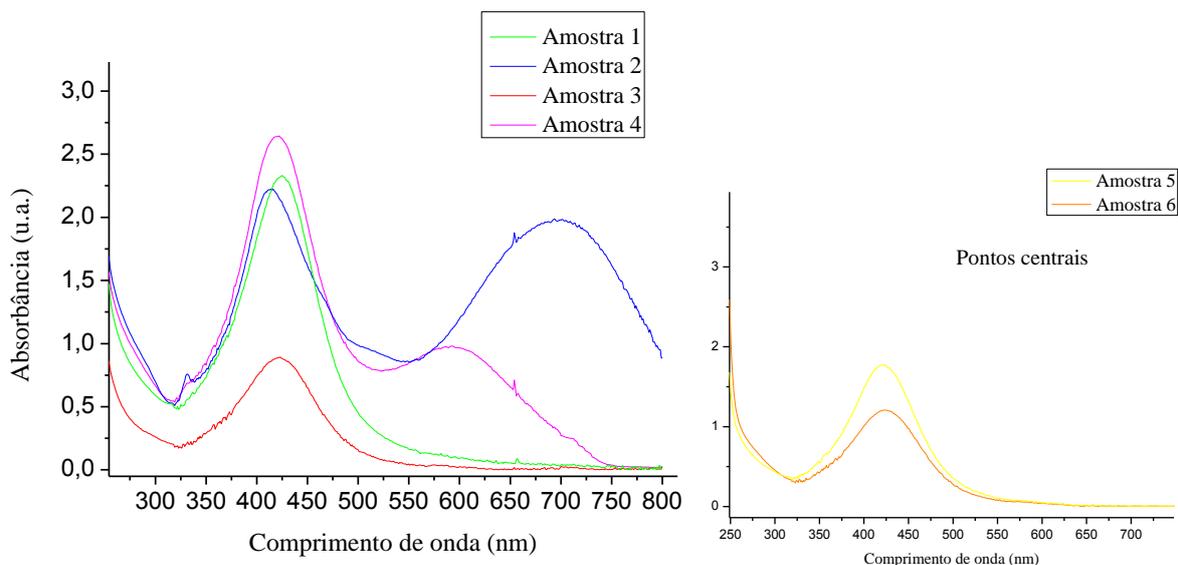
Tabela 7- Planejamento fatorial  $2^2$  com duas repetições no ponto central para a síntese de nanopartículas por redução química em solvente (DMF), com os níveis e as respectivas variáveis.

Experimentos		AgNO <sub>3</sub> (mg)	DMF (mL)	Comprimento de onda $\lambda$ (nm)
<b>1</b>	++	2,0	20,0	424,18
<b>2</b>	+-	2,0	15,0	331,80, 411,81 e 697,90
<b>3</b>	--	1,0	15,0	423,21
<b>4</b>	-+	1,0	20,0	420,05 e 597,36
<b>5</b>	00	1,5	17,5	420,64
<b>6</b>	00	1,5	17,5	425,18

\* Valor fixo de PVP de 270 mg

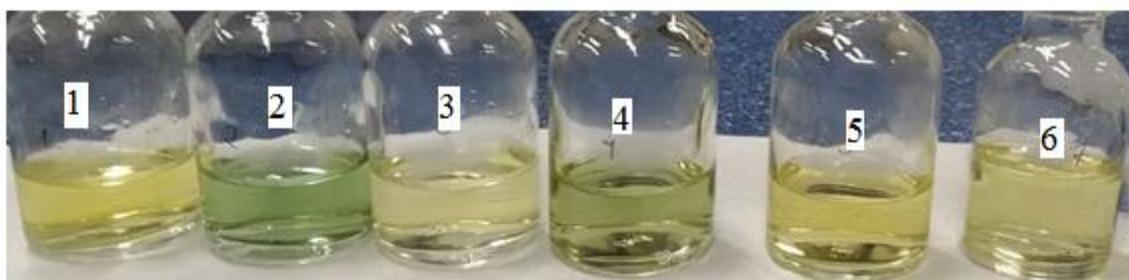
Os espectros na região do UV-visível (Figura 32) apresentam bandas de absorção com máximos entre 412 nm e 425 nm, com exceção de duas amostras (2 e 4). As diferenças nos espectros, com o surgimento de outras bandas de absorção nas amostras 2 e 4, podem ser atribuídas à morfologia das NpAg formadas, que exibem ressonâncias de plásmons distintas.

Figura 32 Espectros de absorção na região do UV-visível para redução com DMF.



Ressonâncias de plásmons de superfície são dependentes da forma e tamanho das partículas metálicas, resultando em mudança de cor dos coloides, como apresentadas na Figura 33. Para as nanopartículas esféricas é esperada apenas uma banda de ressonância plasmônica de superfície, enquanto que partículas anisotrópicas dão origem a duas ou mais bandas, dependendo do formato das partículas (SOSA; NOGUEZ e BARRERA, 2003).

Figura 33- Soluções com nanopartículas produzidas por redução química em DMF.



Inicialmente a síntese de NpAg utilizando DMF como redutor, coloração amarelada estáveis para todas as amostras, no entanto para as amostras 2 e 4, foi prosseguido com a formação de solução amarela (característico de partículas esféricas de prata), tornando-se laranja-avermelhado e em seguida, no decorrer de 15 minutos, tempo de síntese para todas as amostras, a solução apresentou coloração esverdeada e como a coloração da solução coloidal de NpAg é característica de nanopartículas com formas geométricas específicas que dão respostas espectrais distintas e estão relacionadas a ressonância plasmônica, que por sua vez afeta a

posição da banda de absorção dos plasmons de superfícies, apresentando picos de absorção em diferentes comprimentos de onda.

A amostra 2, apresentou bandas de absorção em 332, 412 e 698 nm. Nesse contexto, a literatura reporta trabalhos onde nanopartículas de prata na forma de prismas apresentam picos de absorção semelhantes aos que foram observados na amostra 2. O pico em 332 nm é atribuído à ressonância quadrupolar fora do plano, o pico em 412 nm é referente à existência de nanopartículas esféricas na solução e o pico em 698 nm é atribuído a ressonância quadrupolar no plano, responsável pela cor da solução, esverdeada. Autores relatam ainda, que a forma das nanopartículas esféricas pode mudar para o triangular pelo envelhecimento e o processo não é afetado pela luz (MANSOURI e GHADER, 2009 e DARMANIN et al, 2012).

Pastoriza-Santos & Liz-Marzan (2002) sintetizaram nanoprismas de prata com nitrato de prata em N, N-dimetilformamida (DMF), na presença de poli (vinilpirrolidona) (PVP) e as concentrações de  $\text{AgNO}_3$  e PVP foram um fator chave na definição da morfologia final. Também relataram que o PVP, além de estabilizar as partículas, reduzem  $\text{Ag}^+$  através de grupos terminais de hidroxilas, a uma taxa suficientemente lenta que o crescimento de partículas se torna cineticamente controlado, favorecendo formas triangulares. Durante a síntese, uma mistura de nanoprismas e nanoesfera é formada.

A amostra 4 é observado duas posições de picos de absorção, correspondentes a ressonância plasmônica da superfície transversal e ressonância plasmônica da superfície longitudinal, respectivamente em 420 e 597 nm. De acordo com a literatura os nanobastões de prata apresentam oscilação de elétrons na superfície possuem os modos de oscilações de plasmons transversal, que está relacionada principalmente aos diâmetros dos nanobastões de prata, e longitudinal, que está relacionada ao comprimento dos nanobastões de prata. (ZHANG et al, 2012; ZHANG et al, 2014 e REKHA, NAYAR e GOPCHANDRAN, 2018).

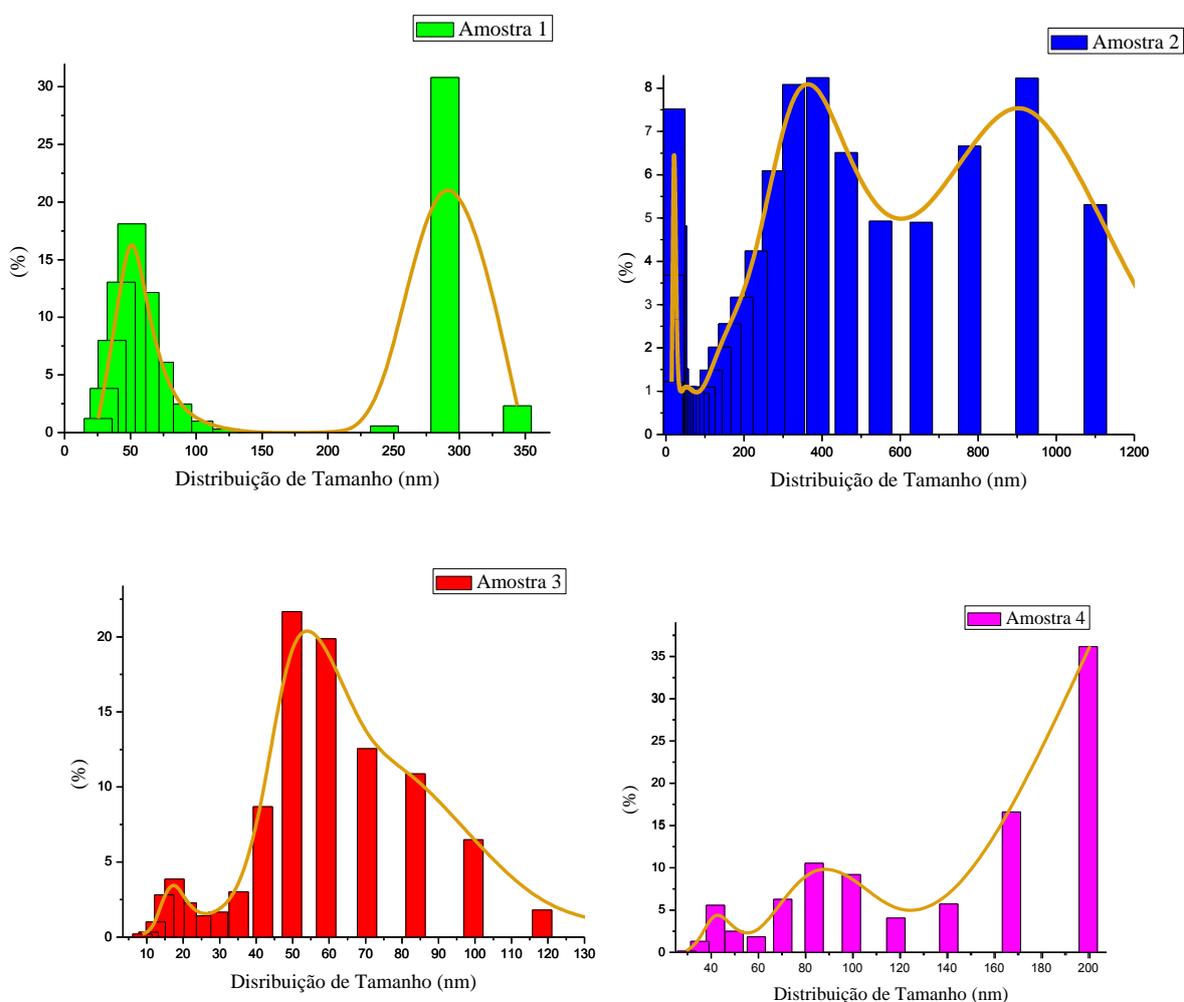
Kekha e colaboradores (2018), testaram a estabilidade das suspensões coloidais de nanobastões em diferentes intervalos de tempo e nenhuma mudança significativa foi observada mesmo após três meses, indicando que essas suspensões são altamente estáveis.

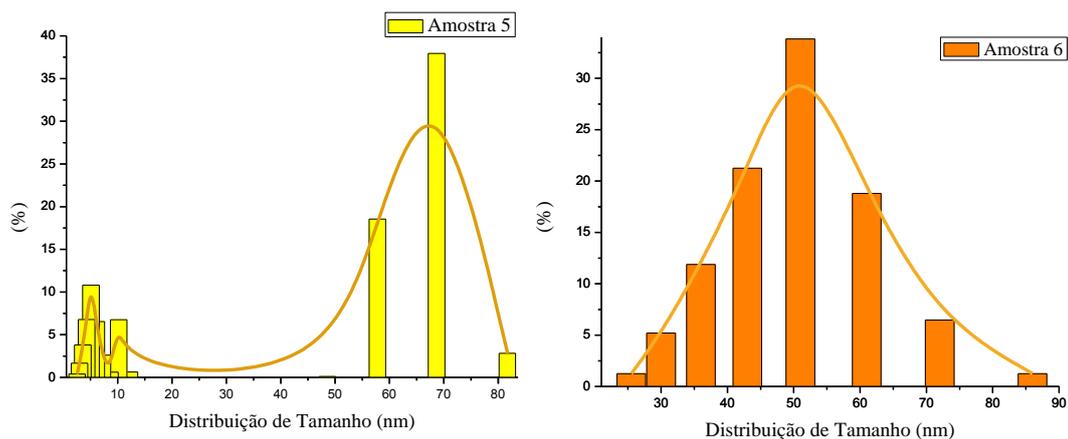
Os gráficos de distribuição de tamanho de partículas (Figura 34), mostram que na síntese de redução química com DMF, as nanopartículas de prata obtidas apresentaram polidispersão, com partículas dentro de uma grande faixa de tamanhos. As amostras 1, 3 e 6 apresentaram as distribuições de tamanho mais centradas numa faixa de tamanho. No entanto, esperava-se obter

resultados similares para as amostras 5 e 6, pois são amostras com as mesmas concentrações e condições de síntese, porém foram constatadas diferenças nas suas dispersões de tamanho, mostrando que a síntese não apresentou a reprodutibilidade esperada para os tamanhos das partículas, que inicialmente pode ser atribuída à erros da operação do equipamento de análise, sugerindo assim a repetição da análise de tamanho de partículas para este método de síntese.

A redução química com borohidreto, descrita anteriormente, mostrou-se mais eficiente no controle das morfologias e tamanho das partículas.

Figura 34- Gráficos de distribuição de tamanho de partículas para os experimentos utilizando a redução química de NpAg com DMF.



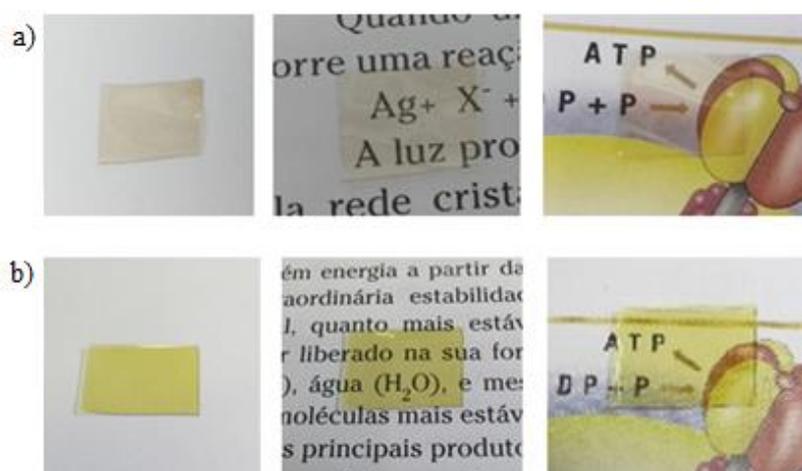


Diante desses resultados, para continuidade do presente trabalho com o compósito polimérico, a amostra 3 foi escolhida, por apresentar dispersão mais razoável entre 10 a 120 nm através deste método de redução.

### 5.2.2 Incorporação das nanopartículas de prata na matriz polimérica (PVA e PVB)

Dentre os sistemas estudados descritos no procedimento experimental para incorporação das nanopartículas de prata, apenas dois sistemas, PVB<sub>(s)</sub> / NpAg<sub>(DMF/PVP)</sub> e PVA<sub>(H<sub>2</sub>O)</sub> / NpAg<sub>(H<sub>2</sub>O)</sub>, formaram filme consistente com boa transparência e estabilidade das nanopartículas de prata, apresentados na Figura 35.

Figura 35- Filmes compósitos polímero@NpAg: (a) PVA e (b) PVB.



No entanto, os filmes de PVA@NpAg, são solúveis em água, o que inviabiliza sua aplicação neste estudo, considerando-se apenas o sistema PVB@NpAg para continuação do trabalho com as impressões por *soft lithography* e a impressão *DoD*.

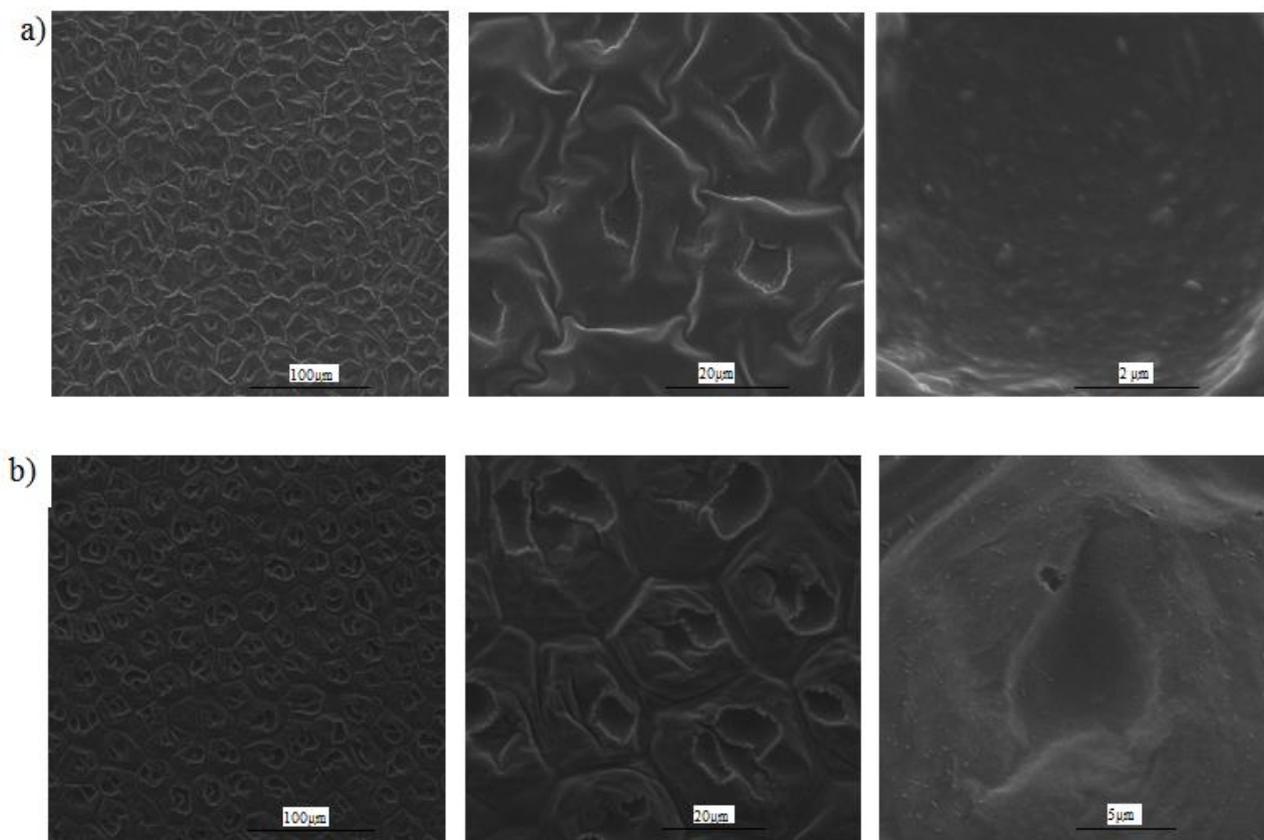
### 5.3 REPRODUÇÃO DOS BIOTEMPLATES

Para a replicação das estruturas da folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, foram utilizadas duas técnicas distintas descritas anteriormente, a *Soft lithography* e a impressão *Drop on Demand*. A seguir, são apresentados e discutidos os resultados para cada um dos processos.

#### 5.3.1 *Soft lithography*

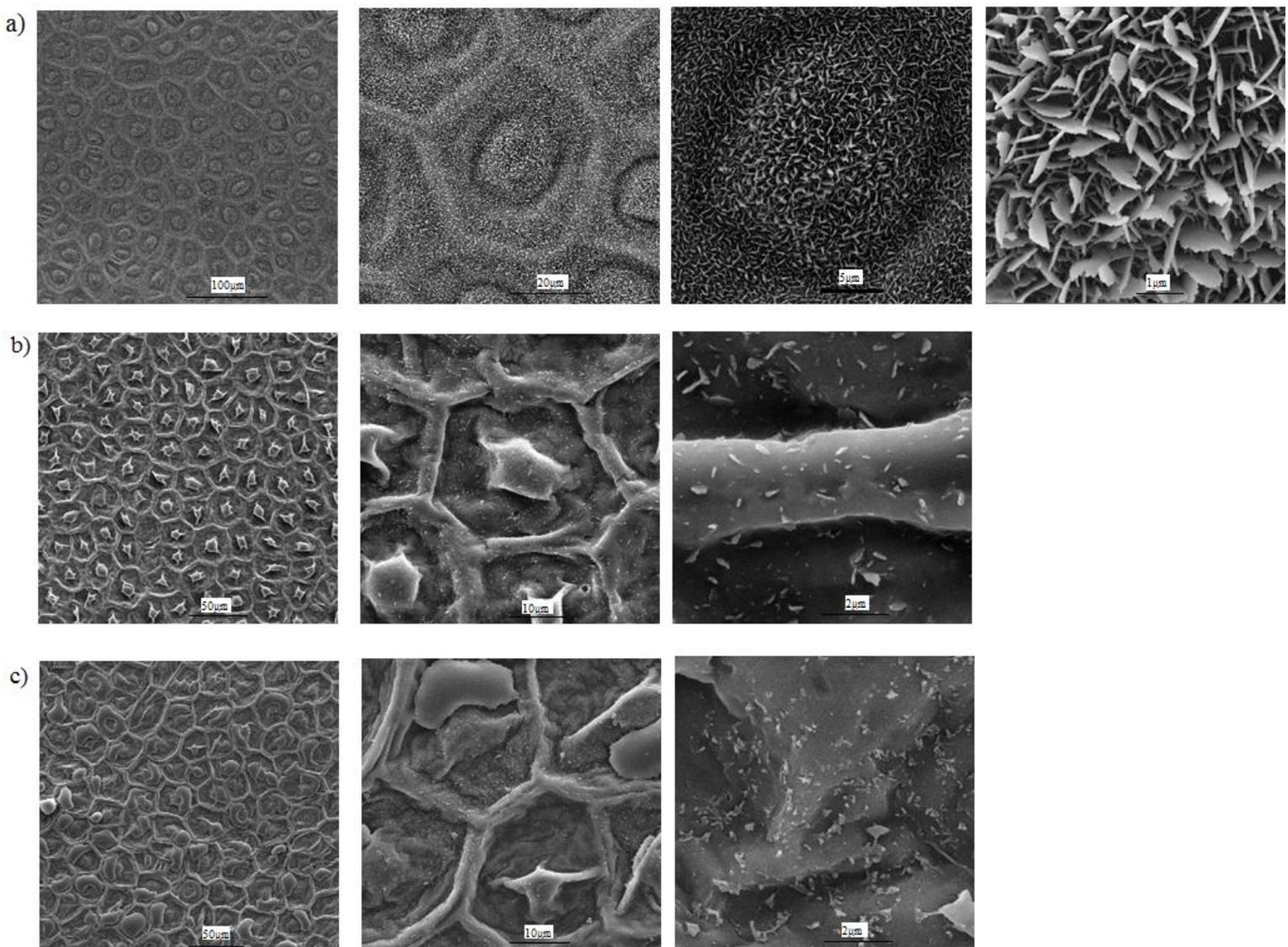
Conforme descrito em capítulo anterior, esta técnica é realizada em duas etapas. Na primeira etapa, um padrão negativo da estrutura da folha é obtido e a segunda etapa é prosseguida da deposição do compósito polimérico (PVB@NpAg) sobre o padrão negativo para obtenção da réplica bioinspirada na folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott. Neste trabalho, estudou-se a influência de diferentes materiais para obtenção do padrão negativo e seus resultados no template positivo. Os materiais utilizados para produção do molde negativo foram PDMS e acrilato fotopolimerizável, e as micrografias obtidas por MEV são apresentadas na Figura 36.

Figura 36- MEV de moldes negativos em a) PDMS, b) acrilato fotopolimerizado (*C. esculenta*).



De acordo com as estruturas superficiais das folhas da *Colocasia esculenta* (L.) Schott, (Figura 37 a), as micrografias do molde negativo mostram o mesmo padrão das microestruturas e fidelidade das dimensões (Figura 36). Ao replicar estas estruturas nos moldes negativos com solução de PVB 20% (m/m) em etanol, as estruturas características da planta foram observadas, e os ângulos de contato entre os dois materiais foram similares - aproximadamente  $125^\circ$  (Tabela 8). No entanto, o molde de acrilato fotopolimerizável apresentou falhas nas estruturas, provavelmente causadas pela alta viscosidade, que impediu que a deposição ocorresse de forma uniforme. Moldes negativos de PDMS de estruturas convexas foram obtidos com êxito nos trabalhos de Kim; Lee e Park (2010) e Sousa (2017).

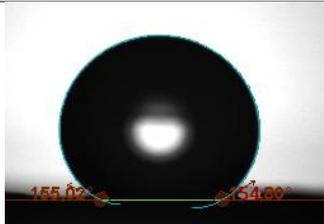
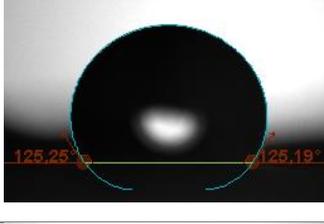
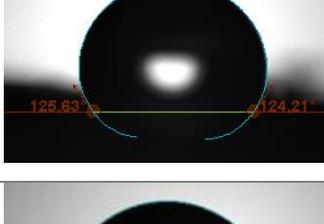
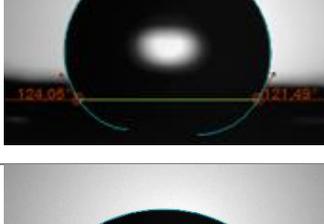
Figura 37- Micrografias de MEV a) da folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott b) réplica *C. esculenta* PVB / PDMS, c) réplica *C. esculenta* PVB/acrilato fotopolimerizável.



Wang et al (2017), obteve a microestrutura da folha de lótus replicada das superfícies de bambu por *soft lithography*, usando uma folha fresca como modelo e polidimetilsiloxano (PDMS) para geração do padrão negativo. A superfície foi replicada posteriormente com sucesso, com ângulo de contato superior a  $150^\circ$  e propriedade super-hidrofóbica semelhante à folha de lótus.

Diante dos resultados obtidos no presente trabalho, os moldes negativos de PDMS foram selecionados para replicação das superfícies biomimetizadas.

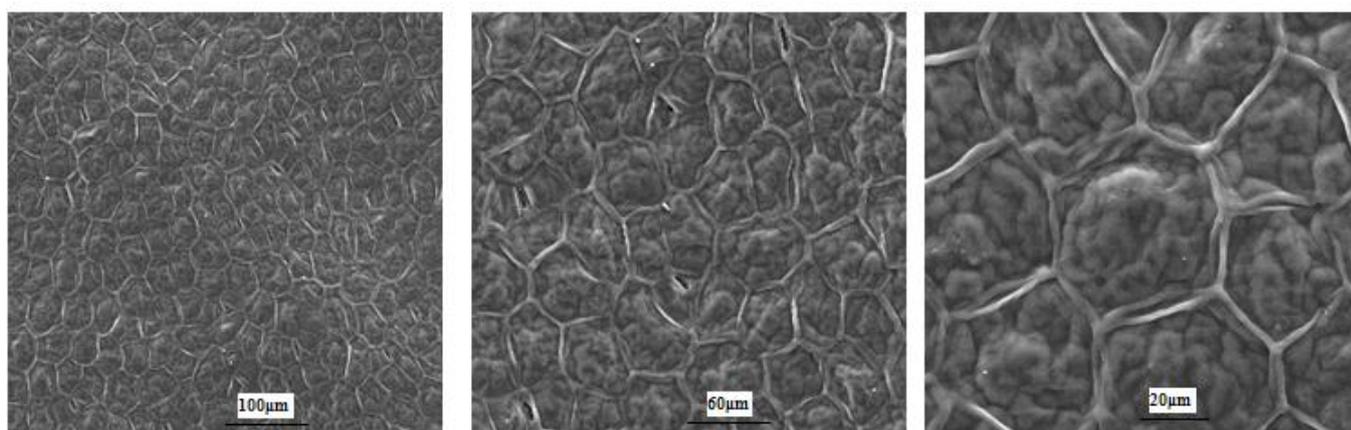
Tabela 8- Ângulos de contato da superfície da folha da *Colocasia esculenta* (L.) Schott e réplicas obtidas via *soft lithography*.

		CA ( $^\circ$ )	Desvio
<i>Colocasia esculenta</i> (L.) Schott		154,24	+/- 1,13
Réplica PVB/PDMS		125,22	+/- 1,57
Réplica PVB/acrilato fotopolimerizável		124,25	+/- 0,667
Réplica do compósito PVB@NpAg		122,77	+/- 1,28
Compósito PVB@NpAg liso		69,21	+/- 1,07

Desta forma, a replicação com o nanocompósito polimérico PVB@NpAg, foi realizada com sucesso, resultando na funcionalidade bioinspirada da estrutura do biotemplate, comprovada pelo valor de o ângulo de contato obtido no filme bioinspirado produzido (Tabela 8) e as micrografias características da planta, apresentadas na Figura 37. Os filmes bioinspirados tiveram o comportamento hidrofóbico, e suas micrografias de MEV (Figura 38) evidenciaram o mesmo padrão das estruturas convexas observadas na folha in natura, assim como na réplica apenas com PVB.

A replicação com o compósito polimérico PVB@NpAg apresentou ângulo de contato médio de  $122,8^\circ$ , com um valor mínimo de  $121,5^\circ$  e um valor máximo de  $124^\circ$ . Já para a réplica com o PVB, o ângulo de contato médio foi de  $125,2^\circ$ , com um valor mínimo de  $123,7^\circ$  e um valor máximo de  $126,8^\circ$ , logo, as diferenças encontradas são pouco significativas para o ângulo de contato.

Figura 38- Micrografias de MEV da réplica *C.esculenta* com o compósito PVB@NpAg.



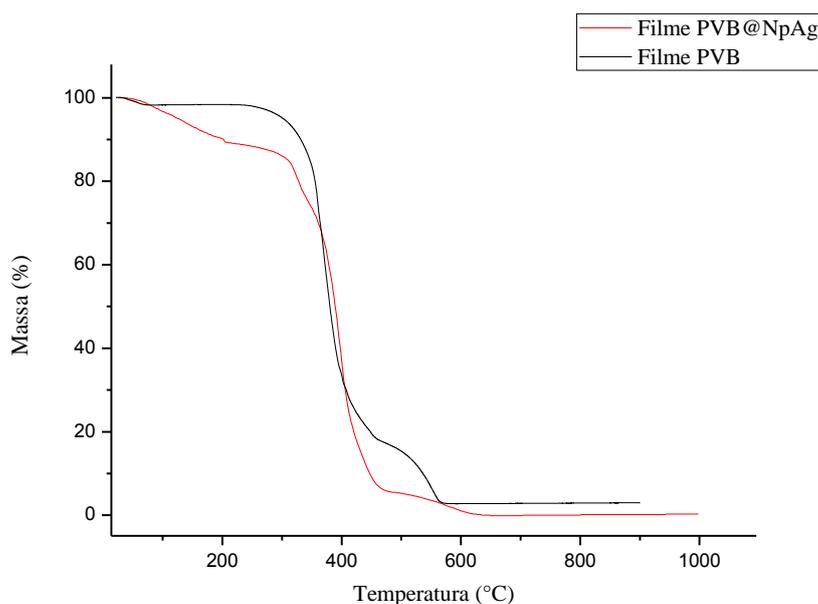
Devido à limitação da ampliação e resolução das imagens de MEV da réplica com PVB@NpAg, não foi possível observar as estruturas hierárquicas, no entanto, foi demonstrado com a réplica de PVB (Figura 37 b), que é possível a utilização do compósito para obter a biomimetização da réplica por esta técnica de impressão.

Nos ângulos de contato das réplicas do *biotemplate*, foi observado uma diferença de aproximadamente  $30^\circ$ . Sousa (2017) ao desenvolver filmes biomiméticos via *soft lithography* utilizando modelos com nano e microestruturas provenientes de superfícies das folhas de espécies vegetais nativas da caatinga, com deposição de PVB sobre molde negativo de PDMS, obteve resultados similares e associou este efeito à estrutura e composição do PVB, pois a

presença de seus grupos vinil álcool e vinil acetato, são hidrofílicos e atuam aumentando a adesão da fase líquida da superfície.

As curvas termogravimétricas do PVB e do compósito PVB@NpAg são mostradas na Figura 39. É possível observar perfis térmicos similares para ambos os materiais, devido à maior perda de massa ser das cadeias poliméricas de PVB. A partir de 250 °C observa-se a maior perda de massa, 75%, que está associada a decomposição térmica do polímero, em 460 °C. Observa-se uma segunda perda de 15%, que está associada às ligações inter cruzadas e compostos cíclicos do polímero. O compósito apresenta o mesmo perfil, exceto na região abaixo de 300 °C, em que apresenta uma primeira perda, de massa, de 15%, associada à quantidade de solvente quando incorporadas as nanopartículas de prata na matriz, e resquícios de agente redutor. A segunda e terceira perda estão associadas à matriz polimérica.

Figura 39- Curva termogravimétrica dos filmes PVB e PVB@NpAg.



Os filmes resultantes deste tópico foram submetidos a testes de inibição bacteriana.

### 5.3.2 Impressão à jato de tinta *Drop on Demand* (DoD)

A técnica de impressão *DoD* foi apresentada no capítulo anterior para a realização de prova de conceito para uso e validação do *software TopoSlicer*, recentemente desenvolvido e

registrado, para a impressão bioinspirada. Utilizou-se micrografias da folha da *Colocasia esculenta* como *biotemplate* para geração de *templates* digitais a serem utilizados na impressora DoD DMP2831 2D para impressão 3D através de processo camada por camada (LbL), com os múltiplos templates digitais gerados pelo *software*.

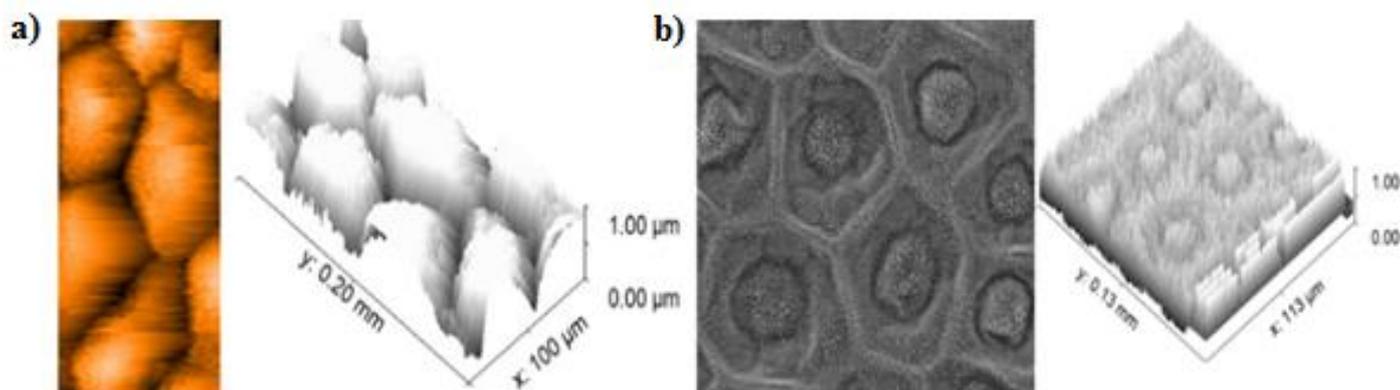
#### 5.3.2.1 Software TopoSlicer®

A impressão *Drop on Demand*, foi utilizada com *templates* digitais. O *software TopoSlicer*® foi desenvolvido para produzir esses templates para impressão LbL a partir de uma micrografia AFM ou MEV. Para validar o software para cada tipo de micrografia, precisa-se constatar a linearidade entre os níveis de cinza das imagens com as cotas do eixo z (profundidade).

Com o auxílio do *software Gwyddion*® de tratamento de imagens para AFM, que permite a visão em perspectiva das imagens, simulando uma visão 3D, as micrografias obtidas por AFM e MEV foram confrontadas as imagens 2D com níveis de cor associados ao eixo z do AFM, como mostrado na Figura 40.

Como esperado, as imagens de AFM (Figura 40 a), mostraram uma relação confiável entre a escala de contraste de cor e os valores de profundidade z, uma vez que o AFM é uma técnica topológica, que forneceu valores quantitativos para o eixo z, resultando em coordenadas (x, y, z), que permite produzir uma autentica projeção 3D. No entanto, as micrografias de MEV (Figura 40 b), não apresentaram linearidade entre os valores da escala de cinza 2D e da profundidade z, uma vez que as estruturas hierárquicas micro e nano da *Colocasia esculenta* foram mostradas na micrografia na mesma proporção em z, ou seja, não correspondendo à estrutura real. Essa não-linearidade pode se dar, por exemplo, pelas diferentes densidades eletrônicas dos distintos materiais, resultando em diferentes valores de z na mesma cota.

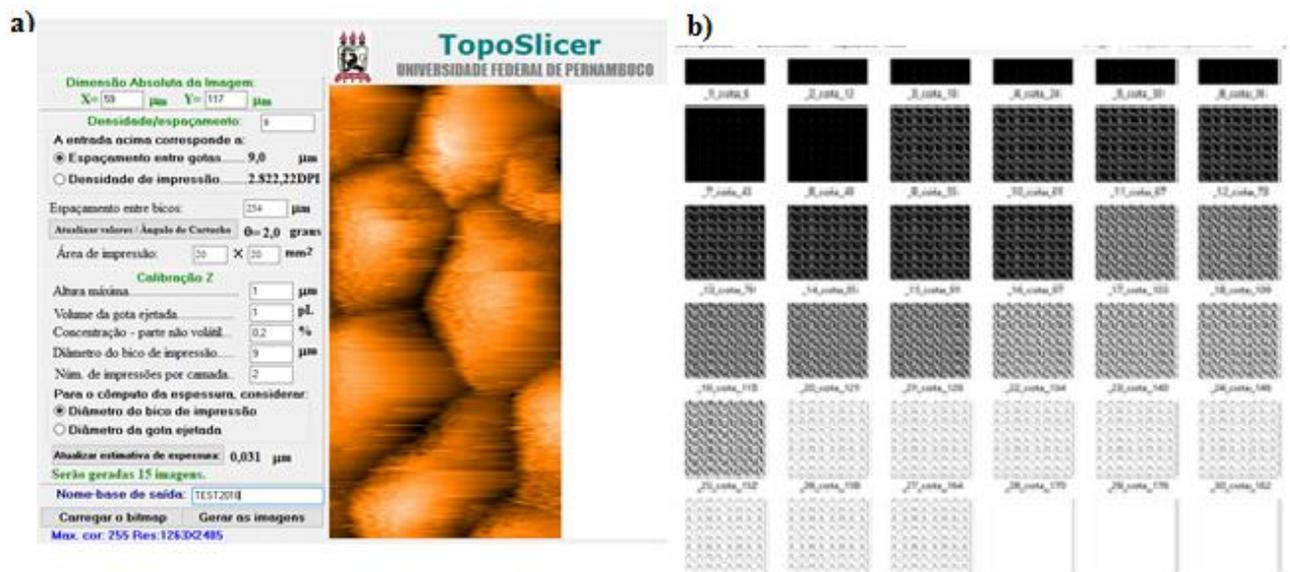
Figura 40- Estrutura da *Colocasia esculenta* representada em contraste de cor em 2D e em perspectiva pela conversão de valores da profundidade no eixo Z a partir de a) micrografia de AFM, com boa resposta e b) micrografia de MEV, com grave distorção na projeção.



Conclui-se assim que o software *TopoSlicer*<sup>®</sup> pode utilizar como *input* as micrografias AFM com confiabilidade para gerar os templates das camadas para impressão 3D LbL, mas as imagens de MEV não devem ser utilizadas como input, a não ser que se providencie a linearização entre os níveis de cinza das imagens 2D e as cotas do eixo z, linearização essa que deve depender de vários parâmetros, não sendo trivial.

Desta forma, utilizou-se o software *TopoSlicer*<sup>®</sup>, fazendo-se o uso das imagens de AFM como entrada. A inserção de diversas informações como tamanho absoluto da imagem, tamanho da área a ser impressa, densidade da impressão (resolução), altura máxima impressa da superfície, volume da gota ejetada, concentração do fluido e diâmetro do bocal, deve ser feita no aplicativo desenvolvido, mostrado na Figura 41 a). A Figura 41 b) mostra o conjunto de templates digitais 2D gerados a partir da micrografia de entrada, a serem usados no processo *layer by layer* em impressora de materiais *DoD*.

Figura 41- Layout do *TopoSlicer*<sup>®</sup> com a) informações de entrada e b) conjunto de templates digitais gerados pelo software para impressão 3D *layer by layer* a partir de uma impressora de materiais *DoD 2D*.



### 5.3.2.2 Parâmetros de impressão do fluido PVB 0,7 % (v/v): etanol : etilenoglicol

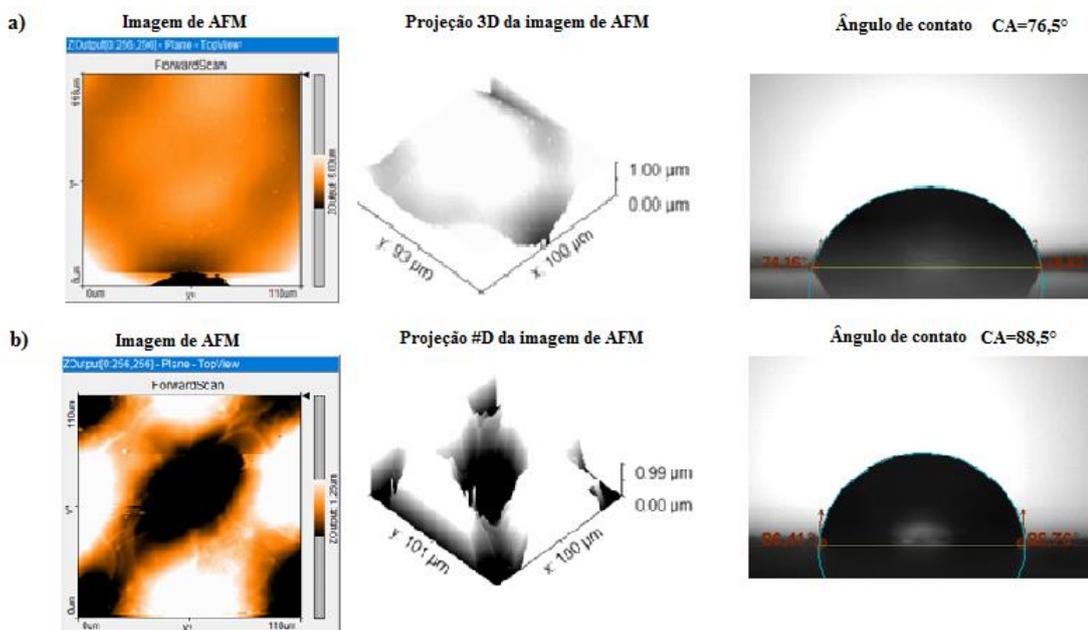
Preparou-se um fluido, desenvolvido de acordo com os parâmetros de imprimibilidade *DoD* (Figura 42), conforme parâmetros descritos anteriormente, conforme Derby (2010). Utilizou-se PVB 0,7% (v/v) em etanol e etilenoglicol. A partir dos parâmetros de impressão *Re* e *We*, o fluido foi ajustado para que se situasse em região de fluido imprimível (área verde no gráfico da Figura 42). O círculo vermelho foi traçado a partir dos parâmetros do fluido. Os algoritmos de controle de impressão, são apresentados no APÊNDICE A. Vale salientar que todos os parâmetros de impressão (*Re* e *We*) reportados neste trabalho, são calculados a partir de variáveis físico-químicas ( $\eta$ ,  $\Upsilon$ ,  $\rho$ ) que são reportados na literatura e como o fluido é composto de várias componentes, é feito uma média com tais valores da literatura e a percentagem de cada componente no fluido.

Figura 42- Gráficos dos parâmetros de impressão do fluido imprimível PVB: etanol: etilenoglicol (cópia de tela de *software online*).



Após impressão, o ângulo de contato estático da réplica impressa bioinspirada foi de  $88,5^\circ$ , enquanto a superfície lisa do PVB,  $76,5^\circ$ . O aumento de  $8^\circ$  para o filme do PVB impresso é gerado pelo aumento da rugosidade na superfície do polímero, mostrado na Figura 43, com as respectivas imagens da topologia de superfície por AFM.

Figura 43- Comparação da rugosidade na a) superfície lisa impressa e b) réplica *C. esculenta* impressa



O pequeno aumento no ângulo de contato estático, apesar de suficiente como prova de conceito, mostra que há uma limitação na resolução de impressão da impressora DMP2831, mesmo com os menores bicos disponíveis no mercado, que produzem gotas de 1pL. Esta é a principal razão que impede a reprodução correta dessas bioestruturas.

De acordo com os resultados apresentados aqui, seria necessário uma impressora com bicos capazes de ejetar gotas com volume em torno de  $10^{-15}$ L, para reproduzir as microestruturas desejadas.

Uma nova geração de impressoras *DoD* foi lançada e apresentada na *Printed Electronics USA 2018*. Com tecnologia denominada SIJ (*superfine inkjet*), apesar de mais lenta por utilizar apenas um bico no cartucho (para evitar interação entre gotas próximas), o novo limite de volume de gotas atingido, de 0,1 fL (1 femtolitro =  $10^{-15}$ L), permitirá a aplicação completa do *TopoSlicer*® para a printrônica bioinspirada.

#### 5.4 DISPOSITIVOS IMPRIMÍVEIS CONTRA A RESISTÊNCIA BACTERIANA A NANOPARTÍCULAS BACTERICIDAS

O aumento da resistência bacteriana à NpAg em cepas expostas a nanopartículas metálicas ao longo de poucas gerações é ocasionada pelo aumento da produção da proteína flagelina por bactérias, que atua como uma cola promovendo a agregação das nanopartículas e fazendo com que elas percam sua eficiência bactericida (PANÁČEK et al., 2017). Diante desta recente constatação, foram projetados e preparados fluidos imprimíveis funcionais contendo extrato da casca de romã como conhecido inibidor de flagelina (PANÁČEK et al., 2017) e com o compósito PVB@NpAg como fluido funcional com atividade antibacteriana. Em seguida é realizada uma abordagem de impressão destes fluidos no mesmo dispositivo, para análise de inibição bacteriana e inibidor de flagelina. A possibilidade de ser impresso com padrão de hidrofobicidade, permitirá a seletividade na molhabilidade em função dos parâmetros da estrutura, para recobrimentos bactericidas com atividade seletiva a determinados fluidos.

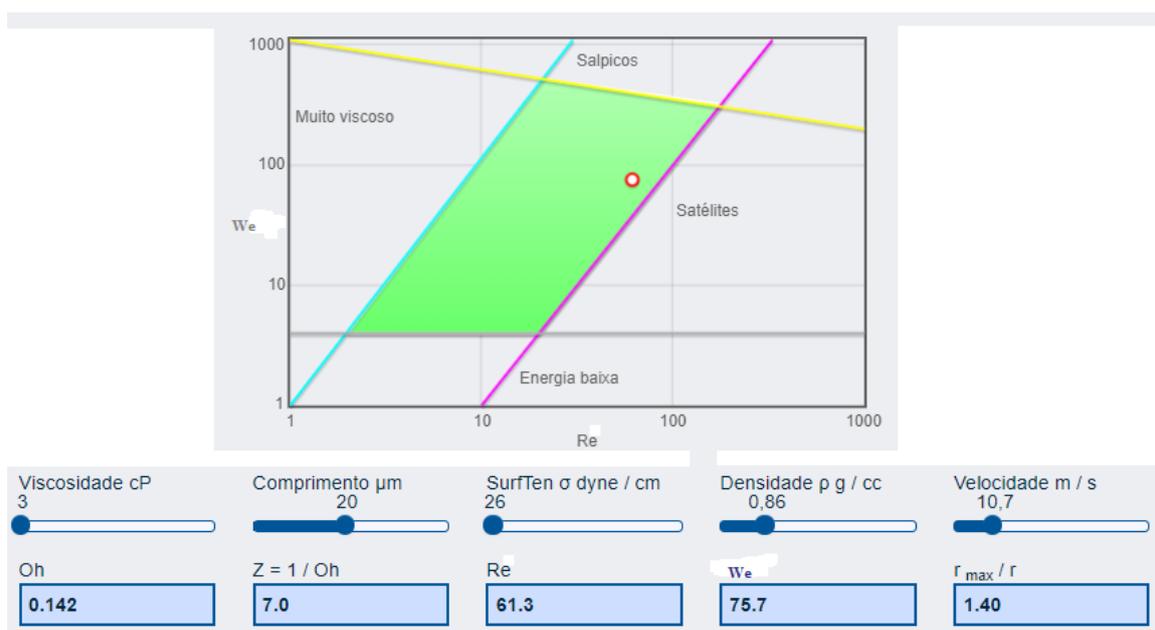
### 5.4.1 Impressão do extrato da casca de romã

A partir do extrato da casca de romã, um fluido imprimível foi desenvolvido com os parâmetros de impressão. Em seguida o estudo da cinética de liberação do extrato impresso, foi realizado.

#### 5.4.1.1 Parâmetros de impressão do fluido com extrato da casca da romã

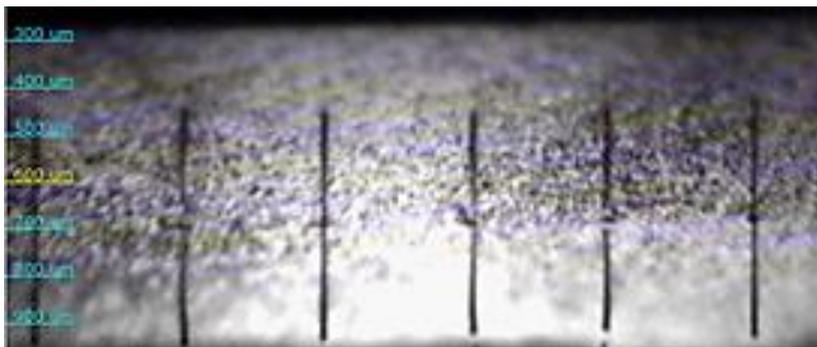
O fluido de impressão foi preparado conforme descrito no procedimento experimental, e para este fluido, calculou-se os parâmetros de impressão para impressoras *DoD*, que prevê a imprimibilidade do fluido elaborado. Os principais parâmetros são os números de Weber e Reynolds, e para determiná-los, estimou-se os valores de densidade, tensão superficial e viscosidade, levando-se em consideração valores experimentais já determinados para os componentes individualmente. O resultado, mostrado no círculo vermelho do gráfico da Figura 44, mostra que o fluido caiu na área imprimível (em verde no mesmo gráfico).

Figura 44- Gráfico com os parâmetros de impressão para o fluido do extrato da casca da romã, mostrando que situa-se (círculo vermelho) em região imprimível por *DoD* (área verde) - cópia de tela de *software online*.



De acordo com os valores obtidos para os números de Reynolds e Weber, pode-se descrever o presente fluido como imprimível conforme a literatura (DERBY, 2010), a ejeção das gotas deste fluido é mostrada na Figura 45. Os algoritmos de controle de impressão, são apresentados no APÊNDICE B.

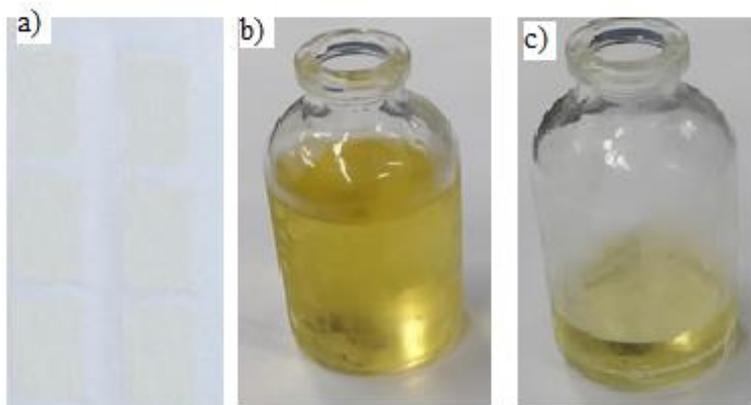
Figura 45- Imagem da formação das gotas, obtida por câmera estroboscópica embarcada na impressora DMP, para o fluido imprimível do extrato da casca de romã.



#### 5.4.1.2 Cinética de liberação do extrato da casca da romã em meio aquoso

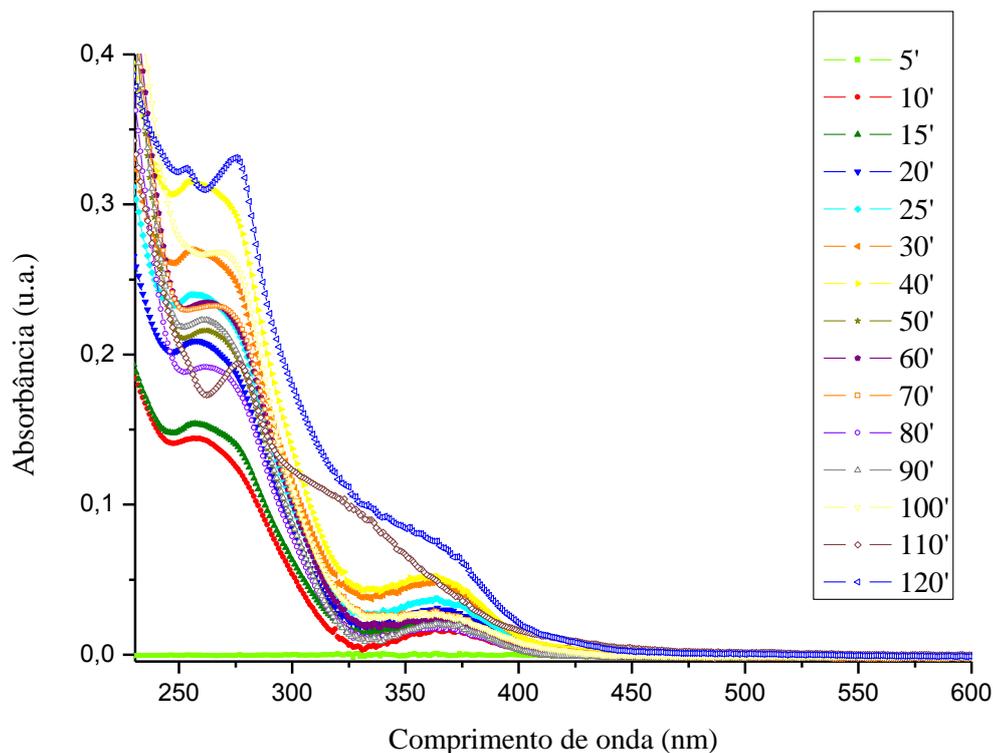
O fluido de impressão desenvolvido foi impresso em templates quadrados (12 mm x 12 mm), em três camadas (Figura 46 a). O extrato da casca da romã e o fluido de impressão preparado com esse extrato são apresentados nas fotografias da Figura 46 b) e c) respectivamente.

Figura 46- Fotografias a) impressão extrato da casca da romã em filme de acetato com templates quadrados; b) extrato da casca da romã e c) fluido de impressão do extrato da casca da romã.



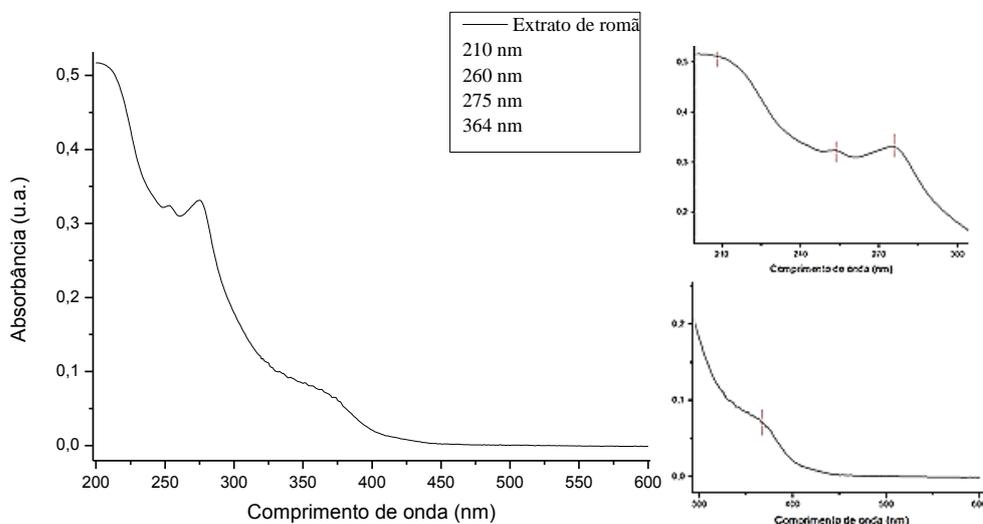
A Figura 47 mostra o acompanhamento da liberação dos compostos presentes no extrato da casca da romã a partir de espectroscopia de absorção UV-visível. O fluido foi impresso em filme de acetato e a cinética quantificada durante 2 horas.

Figura 47- Cinética de liberação do extrato da casca da romã em filme de acetato



A partir dos espectros de absorção obtidos na cinética, foi possível constatar a eficiência da liberação dos compostos fenólicos ativos, e apesar dos compostos serem depositados diretamente no substrato, a deposição não danificou os mesmos. Resultados semelhantes foram observados por Borges (2017) ao estudar incorporação de ativos naturais da romã em matrizes poliméricas para liberação oral utilizando a técnica de impressão. A Figura 48, mostra o espectro do extrato da casca da romã concentrado.

Figura 48- Espectro do extrato da casca da romã concentrado.



O espectro de absorção na região do UV-Visível obtido para o extrato da casca da romã concentrado e o fluido impresso apresentaram os principais compostos fenólicos que, de acordo com (Oliveira (2016) e Morzelle (2016), são também agentes antimicrobianos.

Abrantes (2016), obteve bandas de absorção centradas nos comprimentos de onda de 210 e 267 nm, relatando que são relativos à absorção de compostos fenólicos, enquanto que a banda centrada em 267 nm é proveniente do ácido gálico.

Fuku et al (2016) observou bandas de absorção centradas em 275 nm e 373 nm, e as atribuiu às bandas de absorção da punicalagina, um polifenol complexo. Amyrgialaki et al (2014), em seu estudo, atribuiu estes picos de absorção não só à punicalagina, mas também ao ácido elágico.

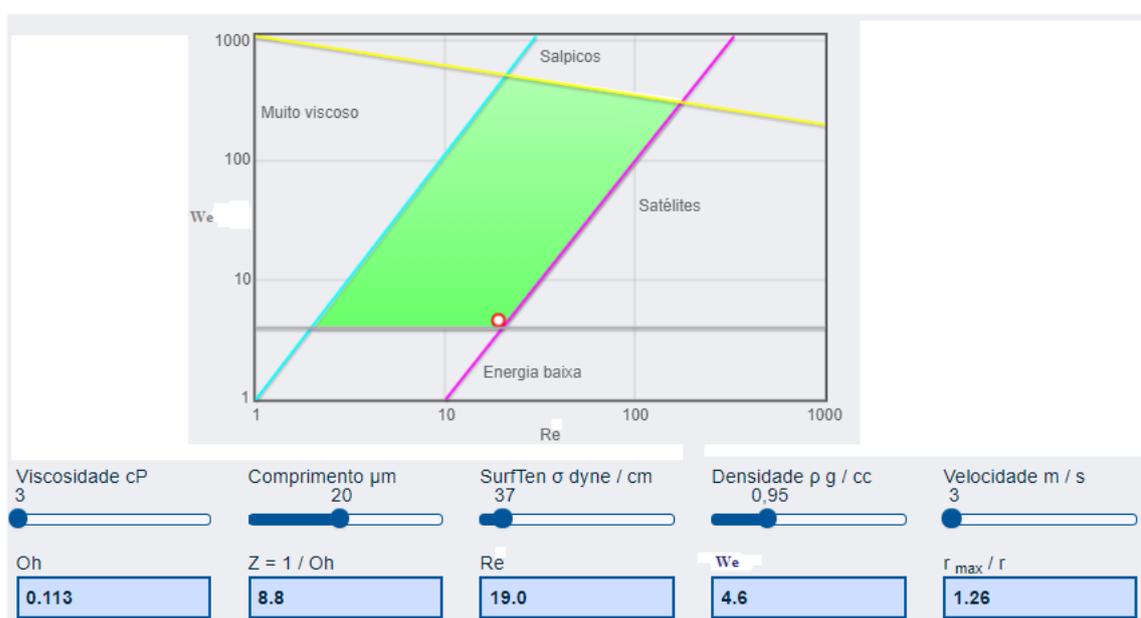
#### 5.4.2 Impressão do compósito PVB@NpAg com extrato da casca da romã

O fluido imprimível do compósito de PVB@NpAg foi impresso lado a lado do fluido imprimível do extrato da casca de romã, através de templates, para analisar sua influência na inibição bacteriana do dispositivo híbrido. A seguir são apresentados os resultados do desenvolvimento do fluido com os parâmetros para impressoras *DoD* com o compósito PVB@NpAg, e posteriormente, a impressão de dispositivos híbrido, com a impressão do fluido compósito impresso paralelo ao fluido inibidor de flagelina.

### 5.4.2.1 Parâmetros de Impressão PVB@NpAg

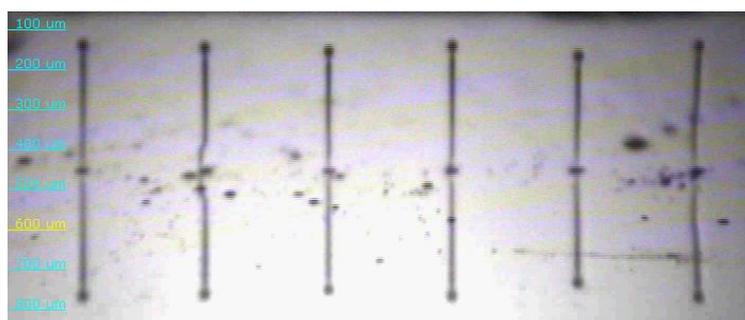
O fluido de impressão para o compósito PVB@NpAg foi preparado na proporção 1:1 do volume do polímero na concentração de 2 % (m/m) e do volume de nanopartículas de prata reduzidas em DMF. Foram calculados os parâmetros de impressão para impressora DoD, números de Weber e Reynolds, que preveem o comportamento do fluido, apresentados no gráfico da Figura 49.

Figura 49- Gráficos dos parâmetros de impressão do compósito PVB@NpAg



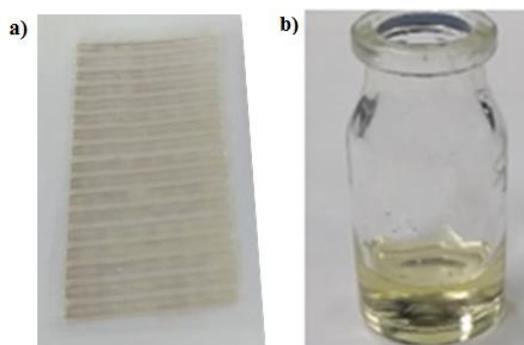
Os valores obtidos para os números de Reynolds e Weber descreveram o fluido como imprimível, conforme a literatura (DERBY, 2010). A Figura 50 mostra a ejeção de gotas deste fluido. Os algoritmos de controle de impressão são apresentados no APÊNDICE C.

Figura 50- Imagem da formação das gotas por seis dos 16 bicos do cartucho utilizado, para o fluido imprimível do compósito PVB@NpAg, registrada por câmera estroboscópica embarcada na impressora.



A impressão do compósito PVB@NpAg e extrato da casca da romã, foi realizada na forma de linhas alternadas de cada material, através de mudança de *templates*. Foram impressas, 30 camadas sobrepostas para o compósito PVB@NpAg e 15 camadas sobrepostas para o extrato da casca da romã. O dispositivo híbrido impresso do compósito PVB@NpAg + extrato da casca da romã e o fluido de impressão do compósito PVB@NpAg são apresentados na Figura 51.

Figura 51- Fotografias a) impressão do compósito PVB@NpAg com extrato da casca da romã em filme de acetato; b) fluido de impressão do compósito PVB@NpAg.



Estes dispositivos impressos em filme de acetato foram submetidos a testes de inibição bacteriana, apresentados no tópico a seguir.

## 5.5 ATIVIDADE DE INIBIÇÃO BACTERIANA

Os testes de inibição bacteriana foram tratados com análise de variância (ANOVA) no programa estatístico IBM SPSS® (*student version*). Para os testes de inibição, foram utilizadas bactérias Gram-positiva e Gram-negativa: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, respectivamente.

### 5.5.1 Filme de PVB@NpAg via *Soft lithography*

Os testes de inibição bacteriana foram realizados em meio de cultura líquido para 2 tipos de bactérias, 3 tipos de filmes e 2 pesos diferentes para cada filme, formando um desenho fatorial 2X3X2. A Tabela 9 mostra os *p*-valores, que indicam o menor valor do nível de significância para o qual rejeitamos a hipótese nula. A hipótese nula existe influência na diminuição da

atividade bacteriana e a hipótese alternativa não existe influência na diminuição da atividade bacteriana.

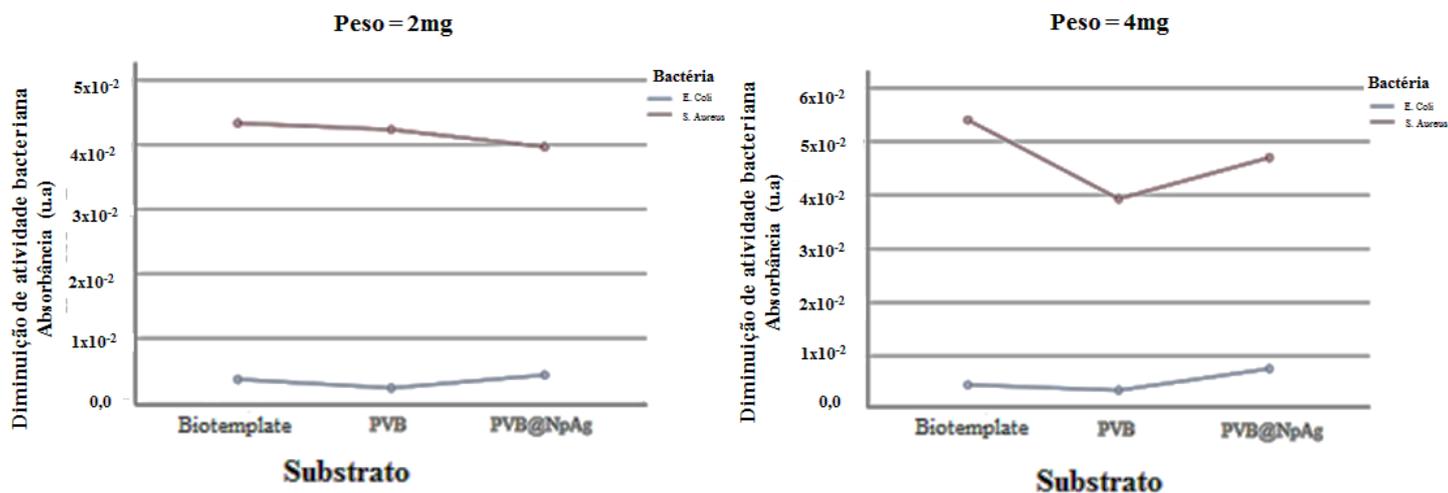
Os  $p$ -valores dos níveis peso e substrato são maiores do que 0,05, logo pode-se dizer com 95% de certeza que a hipótese alternativa é aceita, portanto não há influência destes níveis sobre a diminuição da atividade bacteriana analisada. No entanto, o  $p$ -valor do nível bactéria é menor que 0,05, logo a hipótese nula é aceita com certeza de 95%, ou seja, o tipo de bactéria tem influência sobre a diminuição da atividade bacteriana.

Tabela 9- Anova do desenho fatorial 2X3X2 para os filmes via *soft lithography*.

ANOVA UNIVARIANTE					
Variável dependente: Diminuição da atividade bacteriana					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Media quadrática	F	p_valor
<b><i>Bactéria</i></b>	0,014	1	0,014	298,16 3	<b>0,003</b>
<b><i>Peso</i></b>	0,000	1	0,000	2,582	0,249
<b><i>Substrato</i></b>	0,000	2	6,175E-05	1,183	0,544
<b><i>Bactéria * Peso</i></b>	2,178E-05	1	2,178E-05	0,586	0,524
<b><i>Bactéria * Substrato</i></b>	9,606E-05	2	4,803E-05	1,291	0,436
<b><i>Peso * Substrato</i></b>	8,272E-05	2	4,136E-05	1,112	0,473
<b><i>Bactéria * Peso * Substrato</i></b>	7,439E-05	2	3,719E-05	6,729	<b>0,005</b>

A interação entre os três níveis (bactéria, peso e substrato), também apresentou o  $p$ -valor menor que 0,05, logo com 95% de certeza a hipótese nula é aceita, ou seja, a interação de todos os níveis tem influência sobre a diminuição da atividade bacteriana gerada.

A Figura 52, mostra a diminuição da atividade bacteriana com os filmes do compósito desenvolvido e o controle.

Figura 52- Inibição bacteriana para os filmes produzidos via *soft lithography*

De modo geral, foi observado um comportamento de aumento de inibição bacteriana para os filmes PVB@NpAg com relação ao PVB, provavelmente devido a presença das NpAg. A atividade bacteriana nos filmes de PVB, deve estar relacionada com a estrutura superficial replicado do biotemplate.

No entanto, é importante ressaltar que foi utilizado o biotemplate da folha da *C. esculenta* para o controle, logo o aumento da inibição bacteriana observada neste, pode estar relacionado aos prováveis agentes microbianos presentes nas folhas, que normalmente existem para atuar como mecanismo de defesa das plantas (SOUZA, 2013; OLIVEIRA, 2016 e BORGES, 2017). Nesta análise de inibição bacteriana, a escolha do controle deveria ser melhor avaliada, tendo em vista a pretensão de analisar a estrutura superficial e atividade das nanopartículas de prata no filme compósito, logo o controle deveria ser uma superfície lisa com o filme de PVB, por exemplo, sem substâncias inibidoras de bactérias.

### 5.5.2 Filme de PVB@NpAg com inibidor via impressão *Drop on Demand*

Os testes de inibição bacteriana foram realizados por testes de difusão de discos com dois tipos de bactérias e três tipos de material inibidor, formando um desenho fatorial 2x3. A Tabela 10, mostra os *p*-valores de cada fator, que indicam o menor valor do nível de significância para o qual rejeitamos a hipótese nula. A hipótese nula existe influência no halo de inibição bacteriana e a hipótese alternativa não existe influência no halo de inibição bacteriana.

O *p*-valor do nível bactéria foi maior do que 0,05, logo a hipótese alternativa é aceita com 95% de certeza, ou seja, não existe influência deste nível sobre o halo de inibição. De maneira

oposta, o p\_valor do nível tratamento é menor do que 0,05, o que significa que com certeza de 95% a hipótese nula é aceita, ou seja, o tipo de material inibidor tem influência sobre o halo de inibição bacteriano gerado.

Tabela 10- Anova do desenho fatorial 2X3 para os filmes via impressão *DoD*

ANOVA UNIVARIANTE					
Variável dependente: Halo de inibição					
	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Media quadrática	F	p_valor
<b>Bacteria</b>	0,849	1	0,849	3,038	0,223
<b>Material inibidor</b>	95,98	2	47,99	171,676	<b>0,006</b>
<b>Bacteria * Material inibidor</b>	0,559	2	0,28	2,879	0,095

O p\_valor da interação entre os dois níveis, é maior do que 0,05, porém não está muito longe, portanto considerando uma certeza de 90%, o valor poderia ser considerado como aceita a hipótese nula e dizer que a interação dos níveis bactéria e tratamento tem influência no halo de inibição formado.

A Figura 53, mostra o halo de inibição existente quando as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* estão em contato com os discos impressos com PVB@NpAg em filme de acetato, no entanto, mostram uma inibição maior quando estão em contato com os discos impressos de PVB@NpAg e extrato de romã (Figura 54).

Figura 53- Inibição bacteriana para os filmes produzidos via impressão *DoD*.

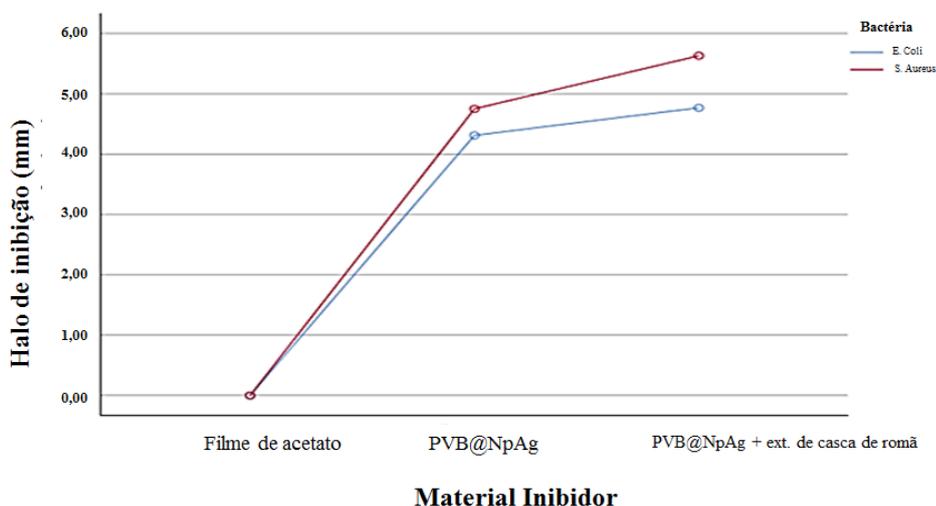
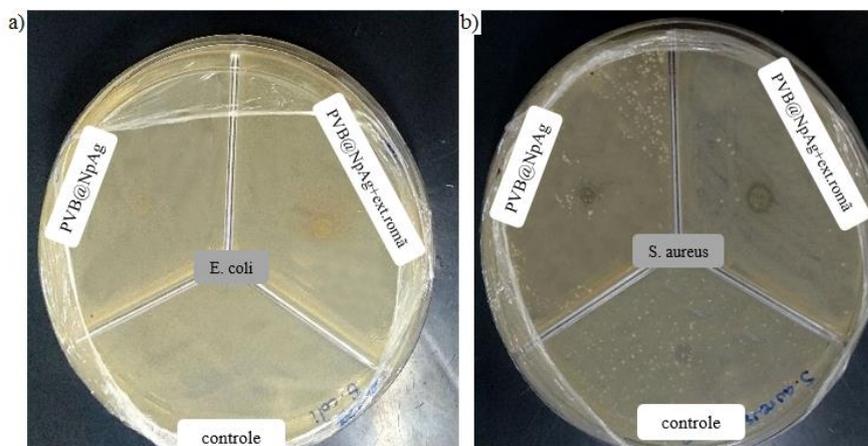


Figura 54 - Fotografias do efeito bactericida das NpAg e extrato de romã para as bactérias a) *E. coli* e b) *S. aureus*.



Os resultados obtidos apresentaram atividade de inibição bacteriana promovida pelas nanopartículas de prata e potencializada pela presença do extrato da casca de romã.

Estudos recentes mostraram que a resistência bacteriana decorrente do aumento da produção da flagelina no flagelo adesivo, que desencadeia a agregação das nanopartículas de prata mesmo que estejam estabilizadas com polímeros, foi fortemente reprimida pela inibição da produção da flagelina com o extrato da casca da romã líquido (PANÁČEK et al, 2017). Neste contexto, faz-se necessário que estes dispositivos impressos sejam sujeitos a testes de longa duração de resistência bacteriana, envolvendo algumas gerações de bactérias continuamente expostas ao dispositivo, para avaliação de sua eficiência quanto à persistência da atividade antibacteriana ao longo de várias gerações de bactérias.

---

## 6 CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

---

Este trabalho avaliou fluidos imprimíveis funcionais para se aliar três propriedades distintas em um dispositivo final: a hidrofobicidade induzida por estruturas bioinspiradas, a atividade bactericida proporcionada por nanopartículas metálicas em nanocompósitos poliméricos e fluido contendo produto natural inibidor de flagelina, para impedir desativação da atividade antibacteriana das nanopartículas por gerações evoluídas de bactérias.

Conseguiu-se projetar e produzir cada fluido monitorando-se a imprimibilidade para impressoras *Drop-on-Demand* por avaliação de parâmetros de microfluídica, bem como a atividade funcional de cada um, inicialmente de forma individual. Assim, a hidrofobicidade de filmes bioinspirados foi monitorada por medidas de ângulo de contato, a atividade antibacteriana foi avaliada por testes de inibição bacteriana realizados em meio de cultura com bactéria Gram-positiva e Gram-negativa, e a impressão do extrato de romã foi obtida com sucesso.

O trabalho iniciou com o desenvolvimento de um compósito polimérico contendo nanopartículas de prata para obtenção de filmes com comportamento hidrofóbico e bactericida, inspirado nas estruturas da superfície foliar da *C. esculenta* (L.) Schott, sendo estes biotemplates cultivados em piloto de biofábrica por hidroponia *indoor*. A reprodução das estruturas da folha por *soft lithography*, foi alcançada com êxito, com ângulo de contato de aproximadamente 122° e fidelidade no tamanho das estruturas originais de acordo com micrografias de MEV.

A impressão à jato de tinta, foi feita como prova de conceito na reprodução das estruturas de folhas da *C. esculenta*, a partir do software *TopoSlicer*<sup>®</sup> aqui desenvolvido para produção de camadas de templates digitais, e mostrou-se uma ferramenta útil para reproduzir biotemplates 3D utilizando-se uma impressora de materiais DoD 2D, por processo *Layer-by-Layer*. Apesar das limitações de hardware, que não permitem a reprodução exata da estrutura bioinspirada, o software está pronto para ser usado com a nova geração de impressoras SIJ, que produz gotas de 0,1 fL.

Foi produzido um dispositivo utilizando unicamente a técnica de impressão DoD contendo o compósito polimérico com atividade antibacteriana e o inibidor da flagelina, porém sem propriedades hidrofóbicas devido a limitação de resolução da impressora.

---

Por fim, foi projetado um dispositivo imprimível aliando as três propriedades citadas, a partir da impressão lado a lado do nanocompósito bactericida impresso com textura hidrofóbica bioinspirada e o extrato de romã, ambos em diversas camadas sobrepostas. A hidrofobicidade pode ser útil na seletividade da molhabilidade da superfície do dispositivo em função do meio. Em patente recente no grupo, explorou-se a variação da molhabilidade de superfícies em função da salinidade da água, por exemplo. Os dispositivos desenvolvidos com o compósito PVB@NpAg e extrato de romã não tiveram alteração de compostos fenólicos ativos do produto natural, sendo potencialmente usados contra a resistência bacteriana, a ser comprovada no dispositivo em ensaios de longa duração no decorrer da evolução de cepas bacterianas expostas continuamente ao dispositivo híbrido aqui desenvolvido.

---

## REFERÊNCIAS

---

- ABRANTES, A. C. N. DE. **Obtenção de sistemas microemulsionados, a partir de óleos vegetais, para incorporar o extrato seco de *Punica granatum***. Dissertação - Mestrado Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Instituto de Química, Natal, RN, 2016.
- ACIKGOZ, C.; HEMPENIUS, M. A.; HUSKENS, J. e VANCOSO, G. J. Polymers in conventional and alternative lithography for the fabrication of nanostructures. **European Polymer Journal**, 47 (11), 2033-2052. 2011.
- AGRAWAL, G., NEGI, Y. S., PRADHAN, S., DASH, M., and SAMAL, S. K. Wettability and contact angle of polymeric biomaterials. **Characterization of Polymeric Biomaterials**, 57–81, 2017.
- AMYRGIALAKI, E., MAKRIS, D. P., MAUROMOUSTAKOS, A., and KEFALAS, P.. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. **Industrial Crops and Products**, 59, 216–222, 2014.
- ARANHA, I. B. e LUCAS, E. F. Poli (álcool vinílico) modificado com cadeias hidrocarbônicas: Avaliação do balanço hidrófilo/lipófilo. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 11, nº 4, p. 174-181, 2001.
- BARNES, W. L.; DEREUX, A. e EBBESEN, T. W. **Nature**. V. 424, p. 824, 2003
- BARRERA N.; GUERRERO L. de; DEBUT A. e SANTA-CRUZ P. Nanocompósitos imprimíveis de polímeros e nanopartículas de prata para dispositivos antibacterianos produzidos pela tecnologia DoD. **PLoS ONE** 13 (7): 2018.
- BORRALHO, T. DA S. **As aplicações da Prata na Nanotecnologia Farmacêutica**. Dissertação/Tese. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Escola de Ciências e Tecnologias de Saúde. Lisboa, 2017.
- BURKARTER, E. **Desenvolvimento de Superfícies Super-hidrofóbicas de Politetrafluoretileno**. Tese de doutorado (Doutorado em Física) — Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2010.
- BORGES, J. G. **Incorporação de compostos ativos naturais em matrizes poliméricas para liberação oral utilizando a técnica de impressão**. Tese (Doutorado) – Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga. 2017.
- BHUSHAN, B.; KOCH, K. e JUNG, Y. C. Fabricação e caracterização da estrutura hierárquica de superhidrofobicidade e autolimpeza. **Ultramicroscopy**, 109 (8), 1029-1034. 2009.
- CASANOVA, M. C. R. **Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis**. Dissertação (mestrado em ciências, área química analítica). Universidade de São Paulo - Instituto de Química de São Carlos. São Carlos, 2010.
- CASSIE, A. B. D. e BAXTER, S. Wettability of porous surfaces. **Trans Faraday Soc** (40) 546–551, 1944.

- CHENG, Y. T.; RODAK, D. E.; WONG, C. A. e HAYDEN, C. A. Effects of micro- and Nanostructures on the self-cleaning behaviour of lotus leaves, **Nanotechnology** 17 1359–1362, 2006.
- CHEN, R., WAN, Y., WU, W., YANG, C., ELE, J.-H., CHENG, J.,...CHEN, Y. A lotus effect-inspired flexible and breathable membrane with hierarchical electrospinning micro/nanofibers and ZnO nanowires. **Materials and Design**, 162, 246 – 248, 2019.
- CHEN, CHIN-TAI (2011). Inkjet Printing of Microcomponents: Theory, Design, Characteristics and Applications, Features of Liquid Crystal Display Materials and Processes, Dr. Natalia Kamanina (Ed.), ISBN: 978-953-307-899-1, InTech, Available from <http://www.intechopen.com/books/features-of-liquid-crystal-display-materialsand-processes/inkjet-printing-of-microcomponents-theory-design-characteristics-and-applications>.
- CHAUHAN, P.; KUMAR, A. e BHUSHAN, B. Self-cleaning, Stain-resistant and Anti-bacterial Superhydrophobic Cotton Fabric Prepared by Simple Immersion Technique. **Journal of Colloid and Interface Science**. 2018.
- CHO, C. L.; KAO, H.; CHANG, L. C.; WU, Y. H.; e CHIU, H. C. Fully inkjet-printing of metal-polymer-metal multilayer on a flexible liquid crystal polymer substrate. **Surface and Coatings Technology**, 320, 568–573. 2017.
- Costa, L. P. da. **Controle morfológico de nanopartículas de prata e nanoestruturas do tipo caroço-casca Ag@SnO<sub>2</sub>**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química, 2011.
- Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., O'Connor, C., Recent advances in the liquid phase syntheses of inorganic nanoparticles. **J. Chem. Ver.**, 104, 3893-3946, 2004.
- CULLY, P.; KARASU, F.; MÜLLER, L.; JAUZEIN, T. e LETERRIER, Y. Superfícies de nanocompósitos de polímero autolimpantes e resistentes ao desgaste. **Tecnologia de Superfícies e Revestimentos**, 348, 111-120, 2018.
- DARMANIN, T., NATIVO, P., GILLILAND, D., CECCONE, G., PASCUAL, C., DE BERARDIS, B., ... ROSSI, F. Microwave-assisted synthesis of silver nanoprisms/nanoplates using a “modified polyol process”. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 395, 145–151, 2012.
- DECKER, C. The Use of UV Irradiation in Polymerization. **Polymer International**, n. 45, p. 133-141, 1998.
- DERBY B. Additive Manufacture of Ceramics Components by Inkjet Printing. **Engineering**, volume 1, Issue 1, March, Pages 113-123, 2015.
- DERBY, B. Inkjet Printing of Functional and Structural Materials: Fluid Property Requirements, Feature Stability, and Resolution. **Annual Review of Materials Research**, v. 40, p. 395-414, 2010.
- BARBER, D. J. and FREESTONE, I. C. “An investigation of the origin of the colour of the Lycurgus Cup by analytical transmission electron microscopy,” **Archaeometry** 32, 33–45, 1990.
- EVANOFF, D. D. J. e CHUMANOV. G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. **Chemical Physics and Physical Chemistry**, v. 6, p. 1221-1231, 2005.

- ESHAGHI, A. Revestimento nano-híbrido de auto-limpeza duro transparente em substrato polimérico. **Progress in Organic Coatings**, 128, 120–126, 2019.
- FERNANDES, I. J.; AROCHE, A. F.; MORAES, C. A. M.; PETER, C. R. e HASENKAMP, W. Síntese de nanopartículas de prata para produção de tintas condutoras: Uma revisão. **22º CBECiMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, Natal, RN, Brasil. 2016.
- FRATZL P. Biomimetic materials research: what can we really learn from nature's structural materials? **J. R. Soc. Interface**4, 637-642. doi: 10.1098/rsif.2007.0218, 2007.
- FREGOLENTE, P. B. L. **Estudo da fotopolimerização de monômeros monofuncionais e multifuncionais para produção e recobrimento de lentes oftálmicas**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP. 2006.
- FUKU, X., KAVIYARASU, K., MATINISE, N., and MAAZA, M. Punicalagin Green Functionalized Cu/Cu<sub>2</sub>O/ZnO/CuO Nanocomposite for Potential Electrochemical Transducer and Catalyst. **Nanoscale Research Letters**, 11(1), 2016.
- GABRIEL, J. S., GONZAGA, V. A., POLI, A. L., and SCHMITT, C. C., Photochemical synthesis of silver nanoparticles on chitosans/montmorillonite nanocomposite films and antibacterial activity. **Carbohydrate Polymers**, 171, 202–210, 2017.
- GAJBHIYE, S. e SAKHARWADE, S. Silver Nanoparticles in Cosmetics. **Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications**, 6(1), pp.48–53. Available 2016.
- GOZZI, E. M. e PAIXÃO, Michel, A. S. Viabilidade econômica de duas hortas hidropônicas na área urbana da cidade de São Paulo. *Revista IPecege*, Piracicaba, SP, Brasil, v. 3, n. 4, p. 12-21, dez. ISSN 2359-5078. Disponível em: <<https://revista.ipecege.com/Revista/article/view/108/112>>. Acesso em: 02 fev. 2019. 2017.
- HAN, Z.; MU, Z.; YIN, W.; LI, W.; NIU, S.; ZHANG, J. and REN, L. Biomimetic multifunctional surfaces inspired from animals. **Advances in Colloid and Interface Science**, 234, 27-50, 2016.
- HORVÁTH, B.; KAWAKITA, J. and CHIKYOW, T. Adhesion of silver/polypyrrole nanocomposite coating to a fluoropolymer substrate. **Applied Surface Science**, 384, 492–496, 2016.
- KARAK, N. Nanomaterials and Polymer Nanocomposites: **Raw Materials to Applications**, 1-45, 2019.
- KIM, H.-H., O, B.-H., LEE, S.-G., and PARK, S.-G. Fabricação de novas microlentes duplas usando litografia suave de dois passos. **Microelectronic Engineering**, 87 (5-8), 1033-1036, 2010.
- LATTHE, S. S; SUTAR, R. S; KODAG, V. S.; BHOSALE, A. K.; KUMAR, A. M; KUMAR SADASIVUNI, K. e LIU, S. Revestimentos super-hidrofóbicos autolimpantes: Potenciais aplicações industriais. **Progress in Organic Coatings**, 128, 52–58. 2019.
- LEBOT, V. Tropical Root and Tuber Crops: Cassava, Sweet Potato. **In: Yams and Aroids**. CABI, Cambridge, UK, pp. 279–349. 2009.
- LEE, S. J.; HEO, D. N.; HEO, M., NOH, M. H.; LEE, D.; PARK, S. A; MOON, J. e KWON, I. K. Most simple preparation of an inkjet printing of silver nanoparticles on fibrous membrane for water purification: Technological and commercial application. **J. Ind. Eng. Chem**. 2016.
- LIMA, C. A. DE. **Preparação, caracterização e aplicação de um novo sensor baseado em nanopartículas de prata para a determinação de poluentes nitroaromáticos**. Tese

- (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Florianópolis, SC, 147p. 2016.
- LINSTONE, H. A. e DEVEZAS, T. Inovação tecnológica e a teoria das ondas longas revisitadas. **Previsão tecnológica e mudança social**, 79 (2), 414-416, 2012.
- LIU, K., YAO, X. e JIANG, L. Recent developments in bio-inspired special wettability **Chem. Soc. Rev.** 39(8), 3240, 2010.
- LIU, M., ZHENG, Y., ZHAI, J. e JIANG, L. Bioinspired Super-antiwetting Interfaces with Special Liquid–Solid Adhesion. **Accounts of Chemical Research**, 43 (3), 368-377. 2010.
- KINGSTON, GC, e YUEN, HK. Aplicação da análise de gases evoluídos ao estudo da estabilidade térmica de poli (vinil butiral). **Thermochimica Acta**, 116, 317-327. 1987.
- MA, F. M., LI, W., LIU, A. H., YU, Z. L., RUAN, M., FENG, W., CHEN, H. X. and CHEN, Y. Geometrical effect, optimal design and controlled fabrication of bio-inspired micro/nanotextures for superhydrophobic surfaces. **Mater. Res. Express** 4, 2017.
- MALTA O. L., SANTA-CRUZ, P.A., DE SÁ, G.F., AUZEL, F., Fluorescence Enhancement Induced by the Presence of Small Silver Particles in Eu<sup>3+</sup>Doped Materials. **Journal of Luminescence**, v. 33, n. 3, p. 261–272, 1985.
- MA, M. e HILL, R. M. Superhydrophobic surfaces, *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 11 193–202, 2006.
- MANSOURI, S. S., E GHADER, S. Experimental study on effect of different parameters on size and shape of triangular silver nanoparticles prepared by a simple and rapid method in aqueous solution. **Arabian Journal of Chemistry**, 2(1), 47–53, 2009.
- MAURER, J. A; MILLER, M. J e BARTOLUCCI, S. F. Superfícies nanocompósitos super-hidrofóbicas autolimpantes geradas pelo aquecimento por pulso a laser. **Journal of Colloid and Interface Science**, 524, 204-208, 2018.
- MELO, JR. M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. DO C. e NOGUEIRA, A. F. Preparação de Nanopartículas de Prata e Ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Quim. Nova** [online]. vol.35, n.9, pp.1872-1878. ISSN 0100-4042, 2012.
- MORAIS, D. **Avaliação da tensão superficial do PVB e da PA-6**. Dissertação (mestrado)-Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, São Paulo, 2008.
- MOCK, J.; BARBIC, M.; SMITH, D. R.; SCHULTZ, D. A. e SCHULTZJ, S. Shape effects in plasmon resonance of individual colloidal silver nanoparticles. **Chem. Phys** 116, 6755, 2002.
- MORZELLE, M. C. **Efeito neroprotetor da casca de romã (Punica granatum)**. Teses (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz Queiroz”, Piracicaba. 2016.
- NOMURA, D. A.; ENOKI, T. A.; SILVEIRA, N. P. e LAMY, M.T. Discussing the use of light scattering in the characterization of polydisperse colloidal systems. Trabalho apresentado na **XLII Reunión anual de la Sociedad Argentina de Biofísica**, Carlos Paz, Córdoba, Argentina. 2013.
- NIU, H., ZHOU, R., CHENG, C., ZHANG, G., HU, Y., HUANG, B., ... XU, J. Magnetron sputtering in the creation of photonic nanostructures derived from Sasakia Charonda Formosana-butterfly wings for applied in dye-sensitized solar cells. **Journal of Power Sources**, 325, 598–608, 2016.

NHUT, D. T.; HUONG, N.T. D.; KHIEM, D. V. Direct microtuber formation and enhanced growth in the acclimatization of in vitro plantlets of taro (*Colocasia esculenta* spp.) using hydroponics. **Scientia Horticulturae**, n.101, p.207–212, 2004.

OLIVEIRA, L. M. L. de. **Punica granatum: quantificação de polifenóis de extratos e potencial antifúngico contra *Candida albicans***. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Araçatuba. 2016.

PANÁČEK, A.; KVÍTEK, L.; SMÉKALOVÁ, M.; VEČEŘOVÁ, R.; KOLÁŘ, M.; RÖDEROVÁ, M. e ZBOŘIL, R. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. **Nature Nanotechnology**, 13(1), 65–71, 2017.

PASTORIZA-SANTOS, I. LIZ-MARZÁN, L. M. Synthesis of silver nanoprisms in DMF. **Nano Lett.**, 2,903-905, 2002.

PEUTZFELDT A., Resin composites in dentistry: the monomer systems. **European Journal of Oral Science**. V.105, p.97-116, 1997.

PINHEIRO, J. M. S.; SIQUEIRA, C. G. e PANDOLI, O. Síntese de NPs-Ag em fluxo contínuo como fonte de substratos para análise SERS. **XXIII Seminário de IC da PUC-Rio**, 2015.

PROUST, M. **Pastiches et mélanges**. Paris: Gallimard, 1919. - **A prisioneira**, v. 5, p 218, Rio de Janeiro: Globo, 1983.

QUEIROZ, R. S.; NEGREIROS, E. S. S. ; MELO, S. B. ; ALVES JUNIOR, S. ; SANTA-CRUZ, P. A. . DoD inkjet printing of non-wetting surfaces bioinspired on leaves templates: from the AFM image to a PVB replica using TopoSlicer. **In: XVII Brazilian MRS meeting**, 2018, Natal/RN. SBPMat - Brazil MRS, 2018.

RAI, M.; YADAV, A. e GADE, A. Nanopartículas de prata como uma nova geração de antimicrobianos. **Biotechnology Advances**, 27 (1), 76-83, 2009.

RAUWEL, P.; RAUWEL, E.; et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Properties, and Applications. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2015, p. 1–2, 2015.

REIS, N. e DERBY, B. Ink jet deposition of ceramic suspensions: modelling and experiments of droplet formation. **MRS Symp**. Proc. 624:65–70. 2000.

REKHA, C. R., NAYAR, V. U., E GOPCHANDRAN, K. G. Synthesis of highly stable silver nanorods and their application as SERS substrates. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**, 3(2), 196–205, 2018.

SÁNCHEZ. L.C.M. **Desenvolvimento de dispositivo híbrido para monitoramento ambiental usando reconhecimento molécula-alvo em polímeros molecularmente impressos com marcador fotônico nanoestruturado**. Tese (doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências de Materiais, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2108.

SANTA-CRUZ, P. A.; MELO, S. B.; QUEIROZ, R. S. de, NEGREIROS. E. S. S. **TopoSlicer Software**, INPI: BR512018001308-2 TopoSlicer (2018), Software Registered at INPI in 30/07/2018.

SANTOS, V. de M. **Desenvolvimento de compósitos a base de nanocelulose impregnada em nanopartículas de prata visando sua aplicação em biossensores eletroquímicos**. Trabalho Conclusão de Curso – Departamento de Engenharia Química e de Petróleo – Universidade Federal Fluminense, Niterói -RJ 2016.

- SANTOS, V. M.; STEVAN, R. A. R.; BOSCO, A. T.; ALHADEFF, e RAMIREZ, N. B. Characterization and Evaluation of AgNPs Incorporated in Composite Graphite Aiming their Application in Biosensor (in press). **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, 2016.
- SARKAR, A., KAPOOR, S., MUKHERJEE, T., Preparation characterization and surface modification of silver nanoparticles in formamide, **J. Phys. Chem. B.**,109, 7698-7704, 2005.
- SILVA, G. and DI SERIO, L. C. The sixth wave of innovation: are we ready? **RAI Revista de Administração e Inovação**, **13(2)**, 128–134, 2016.
- SILVA, E. E. da. A Cultura do Taro - Inhame (*Colocasia esculenta* (L.) Schott): Alternativa para o Estado de Roraima/ Edmilson Evangelista da Silva - Boa Vista, RR: **Embrapa Roraima**, 2011.
- SIVAN, P. **Drought tolerance and the effect of potassium supply on growth of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) and tannia (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott)**. PhD Thesis. University of Queensland, 1995.
- SOSA, I.O., NOGUEZ, C. and BARRERA, R.G. Propriedades ópticas de nanopartículas metálicas com formas arbitrarias. **Journal of Physical Chemistry B**, 107 (26), 6269-6275, 2003.
- SOUZA, D. R. **O conhecimento sobre fitoterápicos no tratamento de feridas**. Trabalho de conclusão de curso (graduação em farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.
- SOUZA, F. L. N. **Dispositivos imprimíveis por tecnologia “drop-on-demand” de materiais fluidos funcionais: de nanotubos de carbono a complexos para dosímetros UV pessoais**. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 2015.
- SOUSA, F. L. N. **Filmes super-hidrofóbicos biomimetizados a partir de estruturas hierárquicas da superfície de folhas de espécies vegetais da caatinga**. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciência de Materiais) — Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2017.
- SOUSA, F. L. N.; SANTA-CRUZ, P.A., Patente BR10201801710, **Filme Bioinspirado em Superfícies Hidrofóbicas para Medida de Salinidade em função de Ângulo de Contato** (2018).
- SKOOG, D. A; WEST, D. M.; HOLLER, F. J. e CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.
- STRATAKIS, E.; MATEESCU, A.; BARBEROGLU, M.; VAMVAKAKI, M.; FOTAKIS, C. e ANASTASIADIS, S. H. De super hidrofobicidade e repelência à super-hidrofilicidade: superfícies inteligentes com polímeros. **Chemical Communications**, 46 (23), 4136. 2010.
- SUN, Y. G. e XIA, Y. N. *Science* (Washington, DC) 298 – 2176, 2002.
- TIAB, D., and DONALDSON, E. C. Wettability. **Petrophysics**, 319–357, 2016.
- VOGLER E. A interfacial chemistry in biomaterial science. 3ed. Marcel Dekker: New York; 1993.
- WANG, F.; WANG, L.; WU, H.; PANG, J.; GU, D. and LI, S. A Lotus-leaf-like SiO<sub>2</sub> Superhydrophobic Bamboo Surface based on Soft Lithography. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, 2017.

- WU, C. L.; ZHANG, M. Q.; RONG, M. Z. and FRIEDRICH, K. Tensile Performance Improvement of Low Nanoparticles Filled-polypropylene Composites. **Composite Science and Technology**, 62: 1327-1340, 2002.
- XIA, Y. and WHITESIDES, G. M. Soft Lithography. **Angewandte Chemie International Edition**, 37(5), 550–575. 1998.
- XU, Z.; LIU, Z.; SONG, P. and XIAO, C. Fabricação de membrana de fibra oca de polipropileno super-hidrofóbica e sua aplicação na destilação por membranas. **Dessalinização**, 414, 10-17. 2017.
- XU, J.; LI, Y.; GE, D.; LIU, B.; ZHU, M. Experimental investigation on constitutive behavior of PVB under impact loading. **Int. J. Impact Eng.**, n. 38, p. 106-114, 2011.
- YE, A. and SINGH, H. Adsorption behaviour of lactoferrin in oil-in-water emulsions as influenced by interactions with  $\beta$ -lactoglobulin. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 295, n. 1, p. 249-254, 2006.
- YUAN, Y. e LEE, T. R. In: Bracco G, Holst B, editors. Surface science techniques. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; p. 3. 2013.
- ZHANG, M., FENG S., WANG L., ZHENG Y. Lotus effect in wetting and self-cleaning. Published by **Elsevier** Ltd. 2015.
- ZHANG, Z. e ZHU, W. **Journal of Alloys and Compounds** 649 687-693, 2015.
- ZHANG, W., QIAO, X., CHEN, Q., CAI, Y., E CHEN, H. The influence of synthesis condition and aging process of silver nanocrystals on the formation of silver nanorods. **Applied Surface Science**, 258(15), 5909–5913, 2012.
- ZHANG, W., HU, G., ZHANG, W., QIAO, X., WU, K., CHEN, Q., e CAI, Y. Surfactant-directed synthesis of silver nanorods and characteristic spectral changes occurred by their morphology evolution. **Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures**, 64, 211–217, 2014.

---

**APÊNDICES**


---

**APÊNDICE A - ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO  
OTIMIZADOS PARA FLUIDO DE PVB: ETANOL/ETILENOGLICOL.**

<b>Fluido imprimível PVB/Etanol:Etilenoglicol</b>	
Tensão de disparo [V]	20
Frequência de ejeção [kHz]	12
Temperatura do cartucho [°C]	30
Ciclos de limpeza	Purga 2 Purga 0.3 Run every 300 seg
Temperatura do substrato [°C]	35
Numero de camadas impressas	144
Interval entre as camadas [seg]	1-8 camadas, 180 seg > 8 camadas, 270 seg > 24 camadas, 360 seg > 40 camadas, 410 seg >56 camadas, 500 seg >72 camadas, 590 seg >80 camadas, 600 seg

**APÊNDICE B - ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO  
OTIMIZADOS PARA FLUIDO DO EXTRATO DA CASCA DA ROMÃ.**

<b>Fluido imprimível do extrato da casca da romã</b>	
Tensão de disparo [V]	20
Frequência de ejeção [kHz]	25
Temperatura do cartucho [°C]	30
Ciclos de limpeza	Purga 2 Purga 0.3 Run every 300 seg
Temperatura do substrato [°C]	50
Número de camadas impressas	15
Intervalo entre as camadas [seg]	200

**APÊNDICE C - ALGORITMOS DE CONTROLE DE IMPRESSÃO  
OTIMIZADOS PARA FLUIDO DO COMPÓSITO PVB@NPAG.**

<b>Fluido imprimível do compósito PVB@NpAg</b>	
Tensão de disparo [V]	20
Frequência de ejeção [kHz]	23
Temperatura do cartucho [°C]	30
Ciclos de limpeza	Purga 2 Purga 0.3 Run every 300 seg
Temperatura do substrato [°C]	40
Número de camadas impressas	30
Intervalo entre as camadas [seg]	200

**APÊNDICE D - TRABALHOS PUBLICADOS**

QUEIROZ, R. S.; NEGREIROS, E. S. S. ; MELO, S. B. ; ALVES JUNIOR, S. ; SANTA-CRUZ, P. A. . DoD inkjet printing of non-wetting surfaces bioinspired on leaves templates: from the AFM image to a PVB replica using TopoSlicer. **In: XVII Brazilian MRS meeting**, 2018, Natal/RN. SBPMat - Brazil MRS, 2018.

SANTA-CRUZ, P. A.; MELO, S. B.; QUEIROZ, R. S. de, NEGREIROS. E. S. S. **TopoSlicer Software**, INPI: BR512018001308-2 TopoSlicer (2018), Software Registered at INPI in 30/07/2018.

QUEIROZ, R. S.; NEGREIROS, E. S. S.; MELO, S. B.; ALVES JUNIOR, S.; SANTA-CRUZ, P. A. TopoSlicer ® software for bioinspiration using DoD inkjet printing: from AFM image of leaf templates to a PVB replica of non-wetting surfaces. **In: Agroecologia, Meio Ambiente e Sustentabilidade**, Ponta Grossa – PR. Editora Atena, 2019.

SANTA-CRUZ, P. A. ; BARRERA, N. ; GUERRERO, L. ; SOUZA, E. S. ; QUEIROZ, R. S. **Recobrimento imprimível híbrido de material bioativo com inibição estrutural de formação de placa bacteriana**. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR10201901483, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 18/07/2019.