



CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

ALINE FERREIRA CARNEIRO

**NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS DE GRAFENO ANTIMICROBIANOS: UM
ESTUDO DE CASO SOBRE PERSPECTIVAS, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES**

BELO HORIZONTE

2022

ALINE FERREIRA CARNEIRO

NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS DE GRAFENO ANTIMICROBIANOS: UM ESTUDO DE CASO SOBRE PERSPECTIVAS, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Ferreira Santos

BELO HORIZONTE

2022

ALINE FERREIRA CARNEIRO

NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS DE GRAFENO ANTIMICROBIANOS: UM ESTUDO DE CASO SOBRE PERSPECTIVAS, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção de título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Aprovado em: 13/12/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Paulo Ferreira Santos – Orientador

Prof. Dra. Mayra Aparecida Nascimento

Prof. Dr. Sidney Nicodemos da Silva

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por depositar em minha vida planos e caminhos nos quais eu jamais poderia um dia sonhar. Agradeço por estar ao meu lado em todas situações e por confiar que eu seria capaz de conquistar e realizar cada sonho nosso. Obrigada por ser A Luz do mundo, A Estrela da manhã, A Porta, O Caminho, A Verdade e A Vida.

Agradeço à minha família, que independente da situação sempre estiveram me apoiando, incentivando e torcendo por mim. Obrigada por acreditarem em mim em todos os momentos, mesmo quando eu não acreditava, e obrigada por confiar que essa é a primeira de muitas conquistas em minha vida. Obrigada, vocês foram e são a minha base!

Aos amigos que eu encontrei ao longo desse caminho, que bom ter encontrado vocês! Obrigada pela companhia, parceria, apoio e risadas em cada dia que vivemos no CEFET.

Ao meu orientador Prof. Dr. João Paulo Ferreira Santos, obrigada pela confiança não só no TCC, mas também nos projetos de Iniciação Científica. Através das suas aulas eu me encantei pelo mundo dos materiais poliméricos e encontrei o meu caminho na Engenharia de Materiais. Aos demais professores e servidores do CEFET-MG, obrigada por proporcionarem além do necessário para a minha formação.

RESUMO

Nos últimos anos, houve uma grande estimulação da comunidade científica e tecnológica em busca de soluções e alternativas antimicrobianas em combate às doenças infecciosas. O aquecimento no setor é devido ao crescimento populacional, ao uso indiscriminado de medicamentos, entre outros fatores que levam a um alto risco de ocorrência de epidemias, tais como a pandemia causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Estudos recentes apontam uma atuação interessante de nanocompósitos poliméricos de grafeno em aplicações antimicrobianas, onde o grafeno tem capacidade de atribuir a ação biocida nos sistemas. Dessa forma, o presente Trabalho de Conclusão de Curso tem como objetivo apresentar o panorama de pesquisas desenvolvidas nos últimos 10 anos em torno do tema, avaliar a potencialidade do grafeno como agente biocida e apresentar as principais aplicações de nanocompósitos poliméricos de grafeno antimicrobianos. A metodologia de estudo de caso abordou estratégias de revisão sistemática e compreendeu três etapas principais: Planejamento, Desenvolvimento e Finalização. As sub-etapas envolvem: definições do tema de pesquisa e perguntas-chaves; elaboração de revisão bibliográfica; definição do design de estudo e protocolo de pesquisa; realização do protocolo de pesquisa; identificação, avaliação e seleção de trabalhos; extração, análise e interpretação de dados; e elaboração de resultados, discussões e conclusões. Por meio de uma análise comparativa dos trabalhos selecionados, sob métricas e critérios de análise, foi observado que nos últimos 10 anos as pesquisas aumentaram 25 vezes e entre os trabalhos selecionados 74,5% são artigos de pesquisa e 25,5% artigos de revisão. Em relação ao país de origem, os três principais países com maior número de publicações foram China (27,3%), Índia (16,4%) e Irã (13,6%). As três principais aplicações são tratamento de água e efluentes (28,2%), Engenharia de tecidos (23,6%), embalagens e revestimentos de superfícies (22,7%). Acerca dos materiais, 68,2% estão associados nanocompósitos poliméricos e 60,9% dos sistemas utilizam óxido de grafeno (GO), onde esse nanomaterial apresentou vantagens, devido ao melhor desempenho nos mecanismos de ação antimicrobiana (estresse oxidativo, interação eletrostática e dano físico) associada às melhores propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade. Com isso, podemos demonstrar que o grafeno possui uma grande potencialidade em aplicações antimicrobianas, aliada a uma alta capacidade de otimizar a ação dos sistemas e outras propriedades dos nanocompósitos poliméricos, sendo promissor para essa finalidade.

Palavras-chave: Grafeno. Nanocompósitos. Polímeros. Antimicrobiano.

ABSTRACT

In recent years, there has been a great stimulation of the scientific and technological community in search of antimicrobial solutions and alternatives in the fight against infectious diseases. The heating in the sector is due to population growth, the indiscriminate use of medicines, among other factors that lead to a high risk of epidemics, such as the pandemic caused by the new coronavirus (SARS-CoV-2). Recent studies point to an interesting performance of graphene polymeric nanocomposites in antimicrobial applications, where graphene has the capacity to attribute the biocidal action in the systems. Thus, this Course Completion Work aims to present the panorama of research developed in the last 10 years on the subject, to evaluate the potential of graphene as a biocidal agent and to present the main applications of antimicrobial graphene polymeric nanocomposites. The case study methodology addressed systematic review strategies and comprised three main stages: Planning, Development and Finalization. The sub-steps involve: definitions of the research topic and key questions; preparation of bibliographic review; definition of study design and research protocol; implementation of the research protocol; identification, evaluation and selection of works; data extraction, analysis and interpretation; and elaboration of results, discussions and conclusions. Through a comparative analysis of the selected works, under metrics and analysis criteria, it was observed that in the last 10 years the searches increased 25 times and among the selected works 74.5% are research articles and 25.5% are review articles. Regarding the country of origin, the three main countries with the highest number of publications were China (27.3%), India (16.4%) and Iran (13.6%). The top three applications are water and effluent treatment (28.2%), tissue engineering (23.6%), packaging and surface coatings (22.7%). Regarding the materials, 68.2% are associated with polymeric nanocomposites and 60.9% of the systems use graphene oxide (GO), where this nanomaterial presented advantages, due to the better performance in the mechanisms of antimicrobial action (oxidative stress, electrostatic interaction and damage physical) associated with better biocompatibility and biodegradability properties. With this, we can demonstrate that graphene has great potential in antimicrobial applications, combined with a high capacity to optimize the action of systems and other properties of polymeric nanocomposites, being promising for this purpose.

Key-words: Graphene; Nanocomposites; Polymers; Antimicrobial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 – Variações das morfologias do tipo cocos e bacilos.....	17
Figura 3.2 – Variações das morfologias espirais, estrela e retangular	18
Figura 3.3 – Estrutura típica de uma célula procariótica bacteriana	19
Figura 3.4 – Arranjos dos flagelos bacterianos	20
Figura 3.5 – Diferentes espécies de fungos e suas características morfológicas.....	25
Figura 3.6 – Estrutura típica de uma célula eucariótica	26
Figura 3.7 – Micrografia e diagrama da morfologia de um (a) vírus poliédrico não envelopado (adenovírus <i>Mastadenovirus</i>) e (b) um vírus helicoidal envelopado (vírus <i>influenza A2</i>)	30
Figura 3.8 – Micrografia e diagrama dos tipos de morfologia dos vírus: (a) vírus helicoidal, (b) vírus poliédrico, (c) vírus envelopado e (d) vírus complexo	33
Figura 3.9 – Ciclo lítico de um bacteriófago T-par	34
Figura 3.10 – Ciclo lisogênico do bacteriófago λ em <i>Escherichia coli</i>	35
Figura 3.11 – Representação da relação entre massa molar e propriedades físicas gerais de polímeros	40
Figura 3.12 – Membros da família de nanomateriais de carbono	46
Figura 3.13 – Ilustrações esquemáticas das estruturas de (a) grafeno e (b) ligações σ (sigma) e π (pi) na rede de carbono de hibridização sp^2	49
Figura 3.14 – Representação do mecanismo da atividade antibacteriana do GO por diversas interações físicas.....	52
Figura 3.15 – Descrição dos principais mecanismos de atividade antiviral do GO, a) inativação do vírus, b) inibição dos receptores virais das células hospedeiras, c) fotodegradação e d) aprisionamento eletrostático	54
Figura 3.16 – Descrição das etapas procedimento para a realização de um estudo de caso	58
Figura 4.1 – Fluxograma de descrição da metodologia utilizada no trabalho.....	60
Figura 5.1 – Perfil de distribuição anual de trabalhos publicados.....	65
Figura 5.2 – Perfil de distribuição mundial de trabalhos publicados	67
Figura 5.3 – Perfil de distribuição percentual do país de origem	67
Figura 5.4 – Comparação de países SCImago	69
Figura 5.5 – Distribuição percentual da natureza das publicações.....	70
Figura 5.6 – Distribuição da natureza das publicações por ano	71
Figura 5.7 – Distribuição de aplicações citadas	72
Figura 5.8 – Distribuição da área de conhecimento da revista.....	73

Figura 5.9 – Distribuição de materiais utilizados nos trabalhos.....	77
Figura 5.10 – Distribuição do tipo de grafeno utilizado nos trabalhos.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1 – Comparação entre a multiplicação viral dos bacteriófagos e dos vírus animais .	35
Tabela 3.2 – Fatores que contribuíram para a emergência das doenças infecciosas	38
Tabela 4.1 – Protocolo de busca de trabalhos	63
Tabela 5.1 – Número de publicações encontradas na base de dados seguindo o protocolo de pesquisa	65
Tabela 5.2 – Percentual de citações do material associado	78
Tabela 5.3 – Fatores que afetam a atividade antimicrobiana de Gr e seus derivados	81

LISTA DE ABREVIACOES

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
BDTD	Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações
CAFe	Comunidade Acadêmica Federada
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
COVID-19	<i>Corona vírus disease-19</i>
CNTs	Nanotubos de carbono
CVD	Deposição de vapor químico
CNPEM	Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
CTMHs	Células-tronco mesenquimais humanas
DNA	cido desoxirribonucleico
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EPI's	Equipamentos de Proteção Individual
EVA	Poli(etileno-vinil acetato)
GBMs	Materiais  base de grafeno
GO	xido de grafeno
GQDs	<i>Graphene quantum dots</i>
GPa	Giga Pascal
HCV	Hepatite C
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IPEA	Instituto de Pesquisa Econmica Aplicada
MERS-CoV	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MWCNTs	<i>Multi-walled carbon nanotubes</i>
NCPM	Nanotubos de carbono de múltiplas paredes
NCPS	Nanotubos de carbono de paredes simples
OMS	Organização Mundial de Saúde
PBS	Solução salina tamponada com fosfato
PCL	Policaprolactona
PDA	Polidopamina
PEO	Poli(xido de etileno)
PEG	Poli(etilenoglicol)
PET	Poli(tereftalato de etileno)

PEUAPM	Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular
PLA	Poli(ácido láctico)
PMMA	Polimetilmetacrilato
PVA	Poli(álcool vinílico)
QS	Quitosana
RE	Retículo endoplasmático
rGO	Óxido de grafeno reduzido
RNA	Ácido ribonucleico
rRNA	Ácido ribonucleico ribossomal
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Severa
SARS-CoV	Coronavírus
SARS-CoV-2	Coronavírus 2
SWCNTs	<i>Single-walled carbon nanotubes</i>
NP	Nanopartículas
NPAs	Nanopartículas de prata
NPTiO ₂	Nanopartículas de dióxido de titânio
NPZnO	Nanopartículas de óxido de zinco
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Microbiologia	16
3.1.1 Bactérias	16
3.1.2 Fungos	23
3.1.3 Vírus	30
3.1.4 Panorama sobre doenças infecciosas emergentes e reemergentes	36
3.2 Materiais poliméricos	40
3.2.1 Atividade antimicrobiana dos materiais poliméricos	41
3.3 Nanomateriais de carbono	46
3.3.1 Grafeno e derivados.....	48
3.3.1.1 <i>Propriedades antimicrobianas do grafeno.....</i>	<i>51</i>
3.3.2 Segurança e desafios em torno de nanomateriais de carbono	55
3.4 Nanocompósitos poliméricos de grafeno para aplicações antimicrobianas	56
3.5 Estudo de caso.....	58
4 METODOLOGIA.....	60
4.1 Planejamento.....	61
4.1.1 Definição de pesquisa e palavras-chaves.....	61
4.1.2 Elaboração de revisão bibliográfica	62
4.2 Desenvolvimento	63
4.3 Finalização.....	64
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
5.1 Design do estudo e protocolo de pesquisa.....	65

5.2 Análise da evolução anual de publicações	65
5.3 Análise do perfil de distribuição do país de origem das publicações.....	66
5.4 Análise do perfil de distribuição da natureza do trabalho	69
5.5 Análise da distribuição das aplicações e áreas de conhecimento	72
5.6 Análise do material empregado.....	77
5.7 Análise do tipo de grafeno e mecanismo de ação antimicrobiano.....	80
6 CONCLUSÃO.....	83
7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	86
REFERÊNCIAS	87
ANEXO A - Publicações selecionadas para análise do estudo de caso	94

1 INTRODUÇÃO

O crescimento populacional e o uso indiscriminado de medicamentos acarretam um alto risco de ocorrência de problemas epidemiológicos e outros problemas associados a transmissão de doenças infecciosas em geral, em especial devido ao desenvolvimento de resistência a medicamentos em patógenos. Atualmente, devido ao cenário de pandemia causado pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2), a comunidade científica e tecnológica tem realizado diversos trabalhos acerca do desenvolvimento de alternativas de combate ao COVID-19, desde medicamentos, vacinas até sistemas e equipamentos de proteção, tais como têxteis antivirais e antibacterianos. Dessa forma, é amplamente estudado e desenvolvido métodos e agentes antimicrobianos não tradicionais como forma de prevenção e combate a disseminação dessas doenças. Entre estudos desenvolvidos podemos citar a utilização de nanopartículas (NPs) metálicas e óxidos metálicos, nanotubos de carbono e mais recentemente o grafeno, o óxido de grafeno e o óxido de grafeno reduzido (FATIMA et al., 2021).

Nanomateriais de carbono, tais como o grafeno, tem tido um interesse crescente nos últimos anos em diversas aplicações, devido a abrangente eficiência em desenvolvimentos inovadores na indústria. Esses materiais possuem excelentes propriedades que quando combinados a outros materiais formam compósitos com propriedades e características aprimoradas superiores aos materiais originais. Uma das propriedades do grafeno e de nanocargas carbonáceas que vêm sendo amplamente estudadas são as propriedades antimicrobianas (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; FATIMA et al., 2021). O grafeno e seus derivados vêm sendo utilizados em diversas aplicações objetivando melhorias do desempenho e resistência mecânica, condutividade elétrica, bioatividade, entre outros. Estudos recentes apontam que o grafeno e seus derivados possuem propriedades antimicrobianas, físico-químicas, entre outras características muito interessantes para o desenvolvimento de sistemas eficazes ao combate, controle e eliminação de patógenos, e conseqüentemente doenças infecciosas (FATIMA et al., 2021; SRIVASTAVA et al., 2020).

Fatima et al. (2021) descreve em seu trabalho uma revisão bibliográfica abrangente acerca das aplicações antimicrobianas dos materiais à base de grafeno (GBMs). Além disso, apresenta o modo de atuação, a capacidade antibacteriana, antifúngica e antiviral dos GBMs e seus derivados, evidenciando os fatores que influenciam a atividade antimicrobiana. Em resumo, modo de ação antimicrobiano ocorre através de danos físico-químicos mecanismos químicos nas células dos organismos e a atividade antimicrobiana dos GBMs é

condicionada pelas características físico-químicas do grafeno, tais como forma, tamanho, características superficiais, estrutura eletrônica, número de camadas, concentração, dispersão e funcionalização. Além disso, dependem também das características dos microrganismos, como tipo, morfologia, condição de interação, meio, concentração e tempo de incubação (FATIMA et al., 2021).

As matrizes poliméricas são opções comumente utilizadas entre as matrizes disponíveis para a produção dos compósitos com grafeno, dado que esses materiais também possuem em alguns casos características antimicrobianas próprias e muitas vantagens em termos propriedades, materiais disponíveis e processamentos (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; FATIMA et al., 2021). Os compósitos poliméricos à base de grafeno podem ser classificados em termos do tipo de polímero utilizado, sendo compósitos de grafeno à base de polímeros naturais, bioplásticos de recursos renováveis, polímeros sintéticos e polímeros duplos (FATIMA et al., 2021). A partir disso, esses compósitos podem ser utilizados em diversas aplicações e na fabricação de diversos produtos e dispositivos com ação antimicrobiana, como por exemplo biossensores, equipamentos de proteção individual (EPI's), fibras e tecidos, curativos, hidrogéis, dispositivos para liberação de medicamentos, filmes, revestimentos, embalagens flexíveis, purificação da água e outros (SRIVASTAVA et al., 2020; FATIMA et al., 2021; MATHARU et al., 2020; AZIZI-LALABADI et al., 2020; SHIN et al., 2021; MELO et al., 2020; SIMON, 2021; SEIFI; KAMALI, 2021; RHAZOUANI et al., 2021).

Dessa forma, o presente Trabalho de Conclusão de Curso tem como objetivo apresentar e avaliar através do estudo de caso, pesquisa e análise de trabalhos desenvolvidos no ambiente científico a possibilidade da utilização de nanocompósitos poliméricos com grafeno para aplicações na área da saúde, como equipamentos de proteção individual (EPI's) e componentes hospitalares, com intuito de indicar os possíveis efeitos antimicrobianos capazes de auxiliar no combate e proteção ao COVID-19 e a outros microrganismos. O trabalho é direcionado a contribuir na melhoria da segurança no ambiente hospitalar, estimular as pesquisas em torno de nanocompósitos e incentivar o avanço tecnológico de produções em escala que sejam viáveis e de baixo custo, que também estejam orientados a uma produção consciente e minimamente sustentável.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Apresentar e avaliar a aplicabilidade da utilização de nanocompósitos poliméricos de grafeno de propriedades antimicrobianas em aplicações em benefício à saúde pública, como sistemas e soluções alternativas para o controle, prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar uma busca literária em torno dos microrganismos, doenças infecciosas, materiais poliméricos, nanoestruturas de carbono, propriedades e atividades antimicrobianas dos materiais, nanocompósitos poliméricos de grafeno e suas aplicações.
- Abordar os mecanismos de ação antimicrobiana dos materiais;
- Abordar pesquisas e conceitos em torno do desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos;
- Identificar as aplicações potenciais de nanocompósitos poliméricos de grafeno em sistemas antimicrobianos;
- Avaliar a real aplicabilidade dessa utilização e apontar as perspectivas futuras.
- Contribuir para o avanço de pesquisas e produções de nanocompósitos poliméricos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Microbiologia

A microbiologia é a ciência que estuda os microrganismos, esses por sua vez são seres vivos muito pequenos, a nível microscópico, que podem estar presentes em quase todos os ambientes, no solo, água, ar e nos organismos vivos. Os microrganismos estão associados a manutenção do equilíbrio da vida e do meio ambiente, sendo parte integrante da cadeia alimentar. Esses microrganismos podem ser bactérias, fungos, protozoários, algas microscópicas ou vírus. Cada microrganismo em cada ambiente possui um papel e um efeito diferente, alguns principais exemplos são os microrganismos presentes nos oceanos, lagos e rios que são a base da cadeia alimentar para seus predadores, os microrganismos presentes nos solos que fazem parte dos processos de degradação da matéria e reciclagem dos elementos químicos no solo, os que estão relacionados aos processos de fotossíntese em plantas ou ainda os microrganismos presentes no organismo do humanos e outros animais, que fazem parte de processos de digestão, síntese de vitaminas essenciais e outros processos biológicos (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

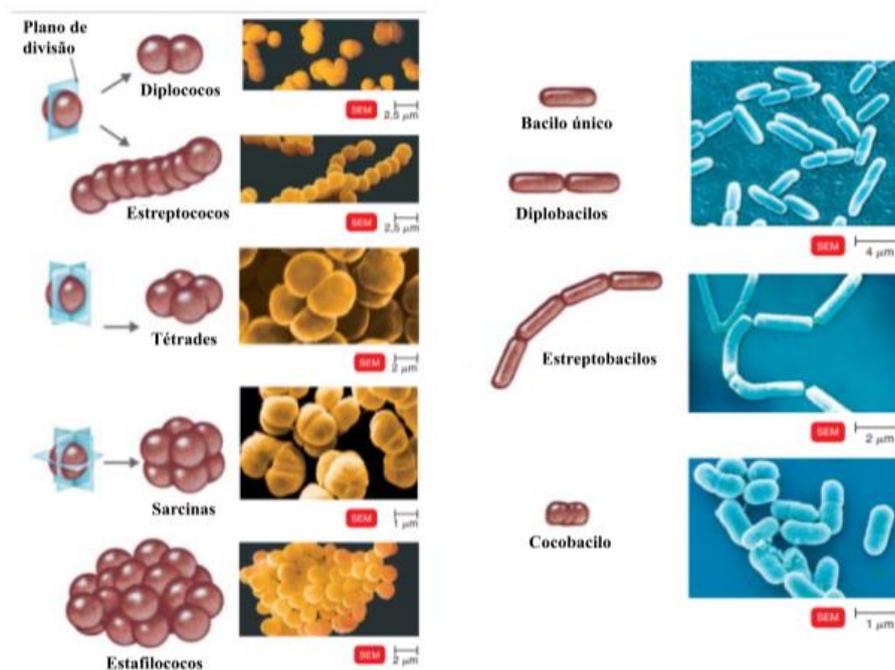
Com a evolução da tecnologia os microrganismos passaram a ter outras diversas atuações nos setores comerciais e industriais, tais como fabricação de produtos químicos, indústria farmacêutica, na indústria alimentícia e de bebidas e outras funcionalidades. Embora uma grande parte dos microrganismos tenha uma relação harmoniosa com a população e o ambiente, alguns desses pequenos organismos tem uma atuação patogênica, isto é, são causadores de doenças e infecções, e trazem para a sociedade e para o meio ambiente efeitos prejudiciais. Esses microrganismos se não controlados ou impedidos tem alto potencial de transmissão e contaminação, podendo causar desde a deterioração de alimentos até epidemias ou pandemias. Dessa forma, os conhecimentos e estudos em torno desses microrganismos são essenciais para a manutenção da vida, saúde pública, segurança sanitária, para as práticas médicas e ciências da saúde (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Nos tópicos a seguir serão apresentados alguns conceitos e fundamentos da microbiologia sobre os principais microrganismos patológicos.

3.1.1 Bactérias

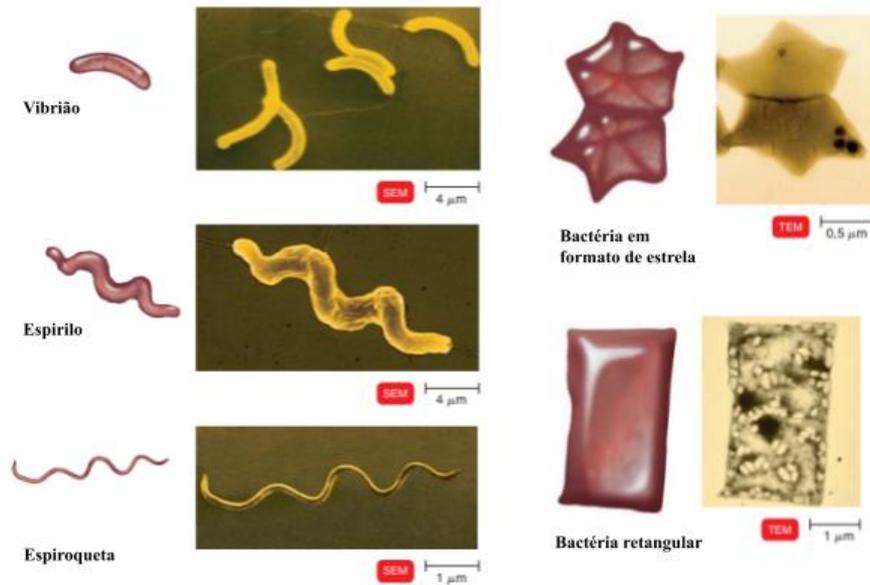
As bactérias são organismos unicelulares de estrutura celular procariótica simples, onde o seu material genético não está contido em um núcleo, logo não possui uma membrana nuclear que o envolve e em geral não possuem organelas envolvidas por membranas, assim como as arqueias. No início do desenvolvimento da vida na terra é indicado que as primeiras células vivas a surgirem foram as células bacterianas. Esses microrganismos são os classificados no grupo *Bacteria*, segundo o sistema de classificação desenvolvido por Carl Woese em 1978, e possuem diferentes espécies que diferem entre si conforme a morfologia, composição química, fatores nutricionais, atividade bioquímica e metabólica. A área da ciência destinada ao estudo das bactérias é denominada bacteriologia. Em geral, as bactérias têm dimensões entre 0,2 e 2 μm de diâmetro e 2 a 8 μm de comprimento. Dentre as principais formas estão os formatos de bastões (*Bacilos*), esferas (*cocos*) e espirais, podendo ainda se apresentarem na forma retangular, estrela ou combinações e variações dos formatos de origem, conforme ilustrado nas figuras 3.1 e 3.2 (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.1 – Variações das morfologias do tipo cocos e bacilos



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

Figura 3.2 – Variações das morfologias espirais, estrela e retangular

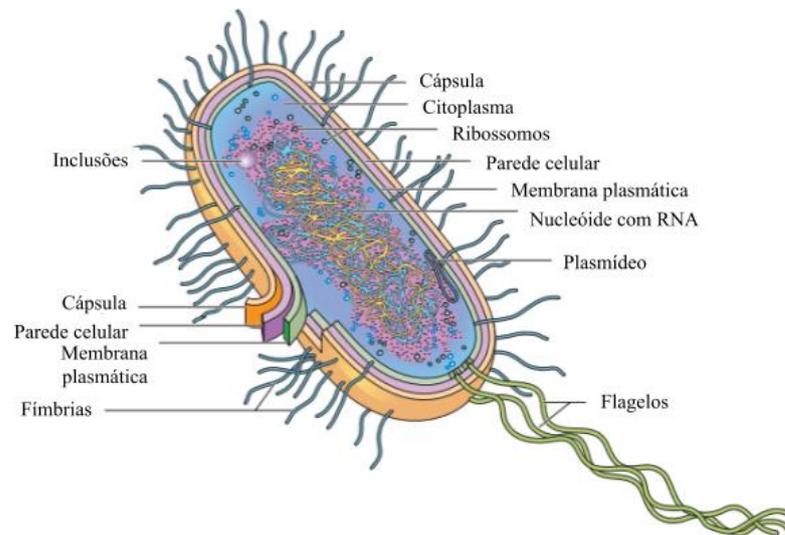


Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

A reprodução de células bacterianas ocorre por processos de fissão binária, onde as células se dividem em duas partes iguais, sua alimentação é via nutrição por compostos orgânicos encontrados na natureza, de organismos vivos ou mortos, compostos inorgânicos ou ainda produção de alimento por fotossíntese, em algumas bactérias. O metabolismo bacteriano é baseado na reciclagem de nutrientes e elementos por acumulação e degradação, esses processos geram e consomem energia e substâncias que mantêm a integridade desses microrganismos. As características estruturais das células bacterianas, assim como outros fatores, são aspectos importantes para os mecanismos de replicação dessas células, análises de identificação e métodos de controle e ou remediação (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

A estrutura celular procariótica da bactéria, representada na figura 3.3, é composta por uma parede celular de peptidoglicano, um complexo de carboidratos e proteínas, podendo ou não ser envolto por uma cápsula composta por polissacarídeos e ou polipeptídios, denominada glicocálice e outras estruturas externas acopladas, tais como fimbrias, filamentos axiais e flagelos. O interior celular é circundado por uma membrana plasmática que contém disperso no citoplasma o RNA (ácido ribonucleico) circular, em geral de um único cromossomo chamado de nucleóide, juntamente com plasmídeos, ribossomos e inclusões, onde essas organelas não são revestidas por membrana (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.3 – Estrutura típica de uma célula procariótica bacteriana



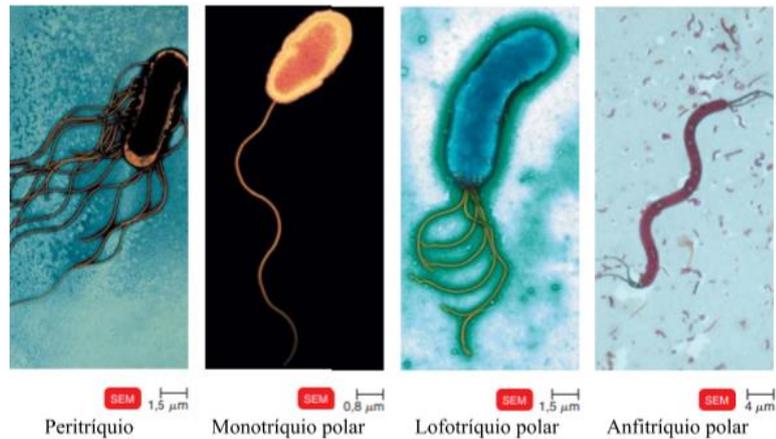
Fonte: Adaptado de ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011.

Sendo assim, para cada componente pertencente a estrutura da célula bacteriana podemos citar algumas características importantes a seguir:

- Glicocálice:** é um revestimento externo na superfície da parede celular composto por polissacarídeos e ou polipeptídios secretado por algumas bactérias. Quando esse revestimento é organizado e está aderido à parede celular é denominado cápsula e quando não é organizado e não está aderido à parede celular recebe o nome de camada limosa. Em algumas bactérias patogênicas o glicocálice é um método protetivo contra a fagocitose pelo sistema imune do hospedeiro e está também associado a adesão e colonização no organismo ou em superfícies, logo o glicocálice é relacionado a virulência bacteriana. Por exemplo, as bactérias *Bacillus anthracis* e *Streptococcus pneumoniae*, onde as doenças só se desenvolvem em bactérias encapsuladas;
- Flagelos:** é um ou mais filamentos acoplados ao conjunto cápsula/parede celular/membrana plasmática, presente em algumas bactérias que confere mobilidade e motilidade. Os flagelos podem ser do tipo peritríquios, polares monotríquios, polares lofotríquios ou polares anfitríquios, como representado da figura 3.4. A mobilidade permite que esses microrganismos se locomovam de acordo com o estímulo que é captado por elas, seja químico ou luminoso, isso indica que as bactérias podem se deslocar para ambientes favoráveis ou se

afastarem de ambientes agressivos. Além disso, a morfologia dos flagelos se diferencia entre as variações de uma espécie de bactérias, como as bactérias gram-positivas e gram-negativas que possuem flagelos de morfologias diferentes;

Figura 3.4 – Arranjos dos flagelos bacterianos



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

- c) **Filamentos axiais (endoflagelos):** são feixes de fibrilas presentes nos extremos da estrutura celular bacteriana que se enrolam em torno da célula como um espiral. As bactérias com essa característica pertencem ao grupo chamado espiroquetas, tais como a *Treponema pallidum* causadora da sífilis, e essa configuração de flagelo faz que a bactéria tenha um movimento muito característico na forma de espiral e garante que sem movimentem em fluido corporais;
- d) **Fímbrias e pili:** são filamentos curtos, finos e retos, similares aos pelos, presentes na superfície de algumas bactérias do tipo gram-negativas. As fímbrias podem se distribuir uniformemente ao longo da superfície ou estarem situadas nos polos, possuem grande capacidade de fixação umas às outras, às superfícies sólidas e líquidas e ao tecido epitelial formando biofilmes e agregados. Os pili é um filamento maior que as fímbrias e estão presentes em uma ou duas unidades por célula, estão associados a mobilidade e a transferência genética. Dependendo do código genético compartilhado pode ser adicionado novas funções à célula receptora, tais como resistência a

antibióticos ou maior eficiência de replicação e degradação celular. Dessa forma, as fímbrias e pili estão associadas ao potencial patológico da bactéria;

- e) **Parede celular:** é uma estrutura semirrígida e complexa que envolve, protege contra danos e confere forma a membrana plasmática e seu conteúdo. A parede celular é também um ponto de apoio para a acoplagem dos flagelos e o ponto de ação de antibióticos, logo está relacionada com a capacidade patológica. A composição e morfologia da parede celular auxilia na identificação das espécies bacterianas, mas em geral é composta por peptídeoglicano e outras substâncias formando uma rede macromolecular.

A parede celular das bactérias gram-positivas possui muitas camadas de peptídeoglicano, contendo ácido teicoico em sua superfície e ácido lipoteicoico no espaço periplasmático granular (espaço entre a parede celular e a membrana plasmática). Essas substâncias permitem a identificação por antígenos, a comunicação e as transferências de compostos entre o meio extra e intracelular, que estão ligados a diversos mecanismos de sobrevivência e crescimento da célula. Enquanto isso, a parede celular das gram-negativas possui uma membrana externa de lipopolissacarídeos, lipoproteínas e fosfolipídeos e poucas ou apenas uma camada fina de peptídeoglicano, localizado no periplasma (espaço periplasmático gelatinoso entre a membrana externa e a membrana plasmática). As gram-negativas não possuem ácidos teicoicos, mas contém enzimas de degradação e proteínas de transporte, permitindo a comunicação e transferência de substâncias entre o meio extra e intracelular, logo a identificação ocorre por especificidade antigênica às outras substâncias, como os lipopolissacarídeos presentes na membrana externa. A membrana externa confere resistência a detergentes, sais, metais pesados, antibióticos, corantes e enzimas digestórias;

- f) **Membrana plasmática:** é uma estrutura interna à parede celular que envolve o citoplasma e as organelas do interior da célula. É uma bicamada composta por fosfolipídios e proteínas, onde a ausência de esteróis faz com que seja uma estrutura menos rígida. A principal função e propriedade da membrana plasmática é a permeabilidade seletiva, que controla a entrada e saída de moléculas para o meio extra e intracelular, entretanto possui outras funções importantes como digestão de nutrientes e produção de energia;

- g) **Citoplasma:** é uma substância espessa, semitransparente e elástica situada no interior da membrana plasmática que abriga as organelas celulares. É composta por 80% de água, que contém proteínas, carboidratos, lipídeos, íons inorgânicos e outros compostos e moléculas dispersas. O citoplasma de uma célula procariótica possui citoesqueleto, similar as células eucarióticas, que tem papel importante durante a divisão celular garantido a integridade da célula;
- h) **Nucleoide:** é uma única molécula extensa e contínua de DNA (ácido desoxirribonucleico) dupla fita arranjando na forma circular formando o cromossomo bacteriano. O nucleoide pode ter formato esférico, alongado ou em halteres, não possui membrana de revestimento nem histonas, está aderido a membrana plasmática, onde as proteínas da membrana são responsáveis pela replicação do material genético na divisão celular;
- i) **Plasmídeos:** é um material genético extracromossômico, pequenas moléculas de DNA dupla fita circulares, que em condições normais não exercem um papel muito importante na sobrevivência da célula. Apesar de não estarem ligados ao nucleoide, os plasmídeos possuem ligações com às proteínas de membrana e são capazes de se replicarem forma independente. Assim em condições ambientais mais severas podem realizar a transferência de genes e conferir a bactéria resistência a antibióticos, tolerância a metais tóxicos, produzir toxinas e sintetizar proteínas. O plasmídeo é comumente utilizado em técnicas de manipulação genética;
- j) **Ribossomos:** Os ribossomos procarióticos recebem o nome de ribossomos 70S, são moléculas sintetizadoras de proteínas, compostas por proteína e RNA ribossômico e estão relacionados ao crescimento celular. A atividade dos ribossomos é influenciada pela ação de antibióticos, que atuam inibindo a síntese proteica e levando a destruição da célula;
- k) **Inclusões:** são moléculas de armazenamento de nutrientes e substâncias. Dependendo do tipo as inclusões são importantes para a integridade da célula, pois evitam a grande variação de pressão osmótica, estão relacionadas a síntese de energia, absorção de oxigênio, luz e nutrientes, locomoção e proteção da célula. As inclusões são diferentes em algumas bactérias, logo essas diferenças permitem uma identificação da espécie, por exemplo testes de coloração. Entre as inclusões presentes nas células bacterianas podemos citar os grânulos

metacromáticos, grânulos polissacarídicos, inclusões lipídicas, grânulos de enxofre, carboxissomos, vacúolos de gás e magnetossomos;

- 1) **Endósporos:** são células desidratadas, espessas, com camadas adicionais e duráveis em condições adversas, como elevada temperatura, falta de água, presença de substâncias tóxicas e a radiação. Os endósporos estão presentes no interior da membrana plasmática e contém DNA, RNA, ribossomos, enzimas e outras moléculas na forma desidratada que quando liberadas ao ambiente podem retomar o metabolismo. São componentes importantes como objeto de estudo devido à resistência a ambientes adversos (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

3.1.2 Fungos

Os fungos são microrganismos unicelulares ou multicelulares de células eucarióticas. Diferentemente das células procarióticas, as células eucarióticas são maiores e mais complexas, onde possuem o DNA, de cromossomos múltiplos, contido em um núcleo delimitado por membrana nuclear que o separa do citoplasma, além de outras organelas revestidas por membrana, tais como mitocôndria, retículo endoplasmático, complexo de Golgi, lisossomos, entre outras organelas (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

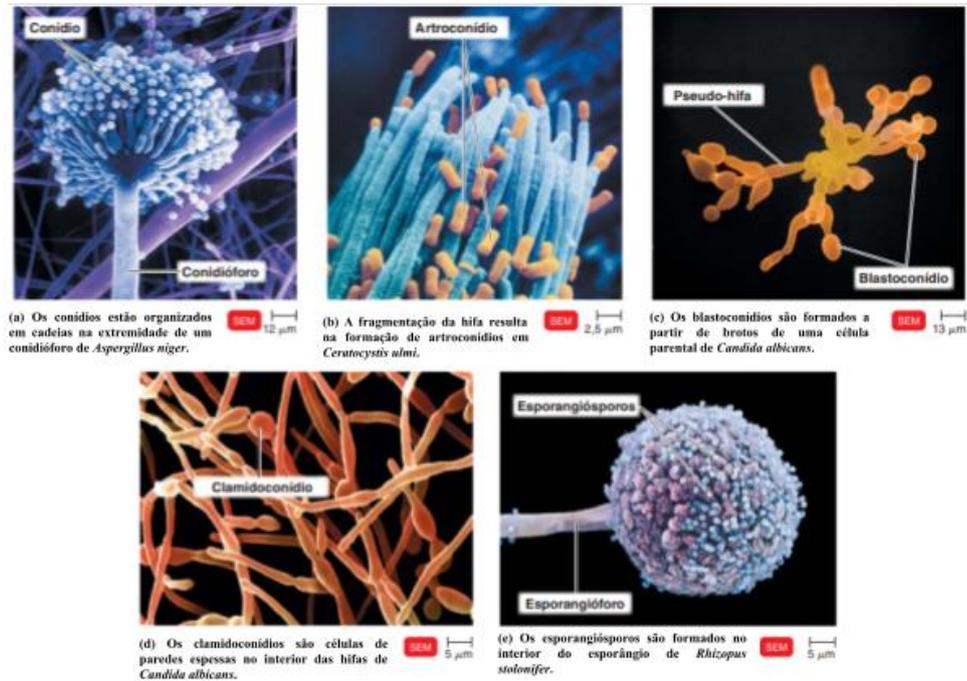
A área da ciência destinada ao estudo dos fungos é denominada micologia e de acordo com micologia os fungos pertencem ao domínio *Eukarya*, segundo a organização celular dos organismos desenvolvido em 1978 por Carl Woese. Dentro desse domínio são pertencentes ao Reino Fungi, que abrange as leveduras, organismos unicelulares, os bolores e cogumelos que são multicelulares. As leveduras possuem dimensões maiores que as bactérias e um formato oval ou esférico. Os bolores são os fungos mais comuns e ao se colonizarem formam micélios, que são massas de fungos visíveis compostas por filamentos longos e ramificados (hifas) que se entrelaçam entre si e ligam as células, semelhante ao crescimento do algodão. E os cogumelos são fungos grandes similares as plantas, embora não sejam capazes de promover fotossíntese (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

O meio de nutrição dos fungos é via processo quimio-heterotrófico, isto é, esses organismos se alimentam através da absorção pela da membrana plasmática da matéria orgânica presente no ambiente, via metabolismo aeróbio ou anaeróbio facultativo, como fonte

de energia e fonte de carbono. O metabolismo aeróbio é mais comum entre os fungos filamentosos, enquanto o metabolismo anaeróbio facultativo é presente em grande maioria das leveduras, esse metabolismo permite que esses microrganismos cresçam em ambientes adversos e em caso de ausência de oxigênio eles são capazes de metabolizar nutrientes, fermentando carboidratos e produzindo etanol e dióxido de carbono, essa característica é aproveitada na tecnologia de produção de cervejas e vinhos. Os fungos são capazes de sobreviver em ambientes adversos nos quais as bactérias não são resistentes, como em ambientes com pH em torno de 5, pressão osmótica mais elevada, em maiores teores de sais e açúcares, em ambientes pouco úmidos, com menor necessidade de nitrogênio, além de conseguirem metabolizar carboidratos complexos, tais como a lignina presente na madeira (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

O modo de reprodução dos fungos pode ser sexuado ou assexuado, onde esse processo envolve a divisão celular mitose, em que o cromossomo é replicado originando células gêmeas, levando a colonização dos fungos, que se desenvolvem pelo brotamento ou fissão em unicelulares, ou pela formação de esporos ou por porções de hifas fragmentadas em multicelulares. A figura 3.5 apresenta algumas diferentes espécies de fungos onde é possível observar em suas morfologias a presença de brotos, hifas, esporos e variações dessas estruturas, como conídios, artroconídios, blastoconídios, clamidoconídios, esporangiósporos e outros (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.5 – Diferentes espécies de fungos e suas características morfológicas



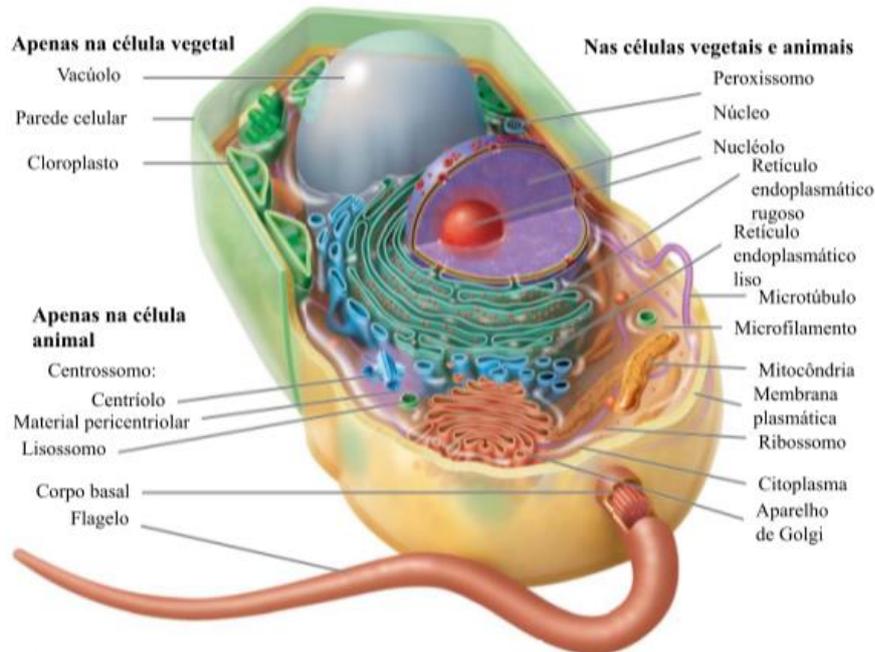
Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

As hifas podem ser não septadas, ou seja, não conter divisões e serem longas e contínuas ou podem dividir em outras iguais na forma de septos, que são paredes cruzadas que separam as unidades uninucleadas de uma hifa septada, elas crescem devido ao alongamento das extremidades, onde cada parte de uma hifa pode crescer independentemente e quando ocorre a fragmentação de uma parte, nesse local cresce a partir dessa porção fragmentada um novo prolongamento adjacente da hifa, como uma ramificação. As hifas podem ainda crescer a partir de um esporo. Os esporos dos fungos, diferentemente dos endósporos das bactérias, são responsáveis pelo processo de reprodução de um fungo filamentoso, pois a partir da formação de esporos o fungo sofre germinação e aumenta a quantidade de células presentes. Os esporos auxiliam a identificação dos fungos, pois de acordo com a sua tipificação assexuada ou sexuada é possível diferenciar características próprias de uma linhagem ou espécie de fungo. Além disso, as características dos esporos dos fungos geram aos fungos uma menor resistência a ambientes de baixa umidade e alta temperatura por períodos longos, em comparação às bactérias (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Os fungos são microrganismos de células eucarióticas e sua estrutura típica, apresentada na figura 3.6, é composta por diferentes estruturas externas, como parede celular, em alguns casos de quitina ou celulose, em outros casos com presença de glicocálice e

flagelos. Possui ainda internamente diferentes organelas internas revestidas por membrana, tais como mitocôndria, lisossomos, ribossomos, retículo endoplasmático liso e rugoso, complexo de Golgi, núcleo com DNA cromossômico múltiplo, cloroplastos e citoplasma com citoesqueleto e outras estruturas (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.6 – Estrutura típica de uma célula eucariótica



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

A seguir é apresentado os componentes da célula eucariótica e suas características:

- a) **Flagelos e cílios:** são projeções ligadas a membrana plasmática por um corpo basal e tem como objetivo auxiliar e promover a locomoção da célula, podendo ainda ajudar na movimentação de substâncias sobre a superfície da célula. Essas projeções são revestidas por membrana e quando são longas e em menor quantidade são chamadas de flagelos e quando em maior quantidade e mais curtas recebem o nome de cílios;
- b) **Parede celular e o Glicocálice:** A parede celular de uma célula eucariótica é mais simples do que a das células procarióticas. Para a maioria dos tipos de fungos a parede celular é composta pelo polissacarídeo quitina, alguns fungos, como a leveduras, contêm outros polissacarídeos glicano e manana. O glicocálice é uma estrutura composta de carboidratos e outras substâncias que

são ligadas a membrana plasmática de algumas células eucarióticas, essa estrutura tem como função a proteção da célula, o auxílio na comunicação e adesão entre células;

- c) **Membrana plasmática:** similar a membrana plasmática de células procarióticas possui adicionalmente outras proteínas, carboidratos, esteróis, lipídeos complexos. Essas moléculas estão envolvidas em processos de comunicação e reconhecimento entre células, transmissão de sinais, manutenção da célula em variações de pressão osmótica, mecanismos de endocitose, fagocitose e pinocitose. Os carboidratos presentes estão relacionados com a capacidade de ligação com células bacterianas, dado que se comportam como sítios de ligação e receptor para as bactérias;
- d) **Citoplasma:** é uma substância aquosa que acomoda diferentes organelas e componentes no interior da membrana plasmática, incluindo ainda o citoesqueleto, que são bastões, na forma de microfilamentos e filamentos intermediários, e microtúbulos semelhantes a cilindros. O citoesqueleto tem como função dar forma e sustentação à célula, auxilia no transporte de substâncias e nutrientes, podendo ainda ter uma participação na movimentação da célula em processos de fagocitose;
- e) **Ribossomos:** são moléculas que sintetizam proteínas essenciais para a célula. Em células eucarióticas os ribossomos estão localizados na superfície externa do retículo endoplasmático rugoso, aderidos a outras organelas e dispersos no citoplasma, são moléculas maiores e em maior quantidade, em comparação às moléculas presentes em células procarióticas;
- f) **Núcleo:** é o local que abriga o DNA da célula, conteúdo genético que pode também ser encontrado em outras organelas. É a maior organela dentro da célula e tem um formato esférico ou oval, contém ainda em seu interior nucléolos, que são estruturas compactas de cromossomos que sintetizam RNA ribossomal (rRNA). O núcleo de células eucarióticas possui proteínas específicas associadas ao DNA, entre elas as histonas que fazem parte do processo de replicação da célula. As replicações das células eucarióticas ocorrem via mitose e meiose, e o conjunto DNA-proteínas quando não estão em processo de divisão nuclear estão condensadas em um aglomerado enovelado, denominado cromatina e durante a divisão nuclear a cromatina se organiza formando os cromossomos, bastões curtos e espessos. O núcleo

possui em seu entorno um envelope nuclear, uma membrana dupla semelhante a membrana plasmática, por onde ocorre os mecanismos de comunicação, transmissão e movimentação de substâncias;

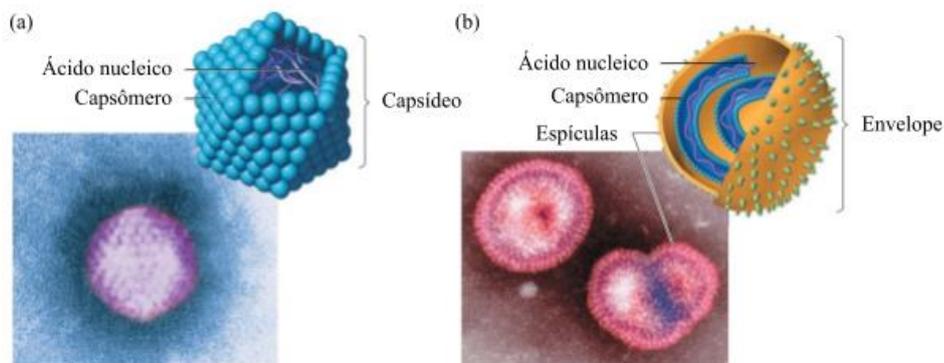
- g) **Retículo endoplasmático (RE):** é uma rede grande de bolsões membranosos achatados ou túbulos, que recebem o nome de cisternas e estão localizados ligados ao longo da superfície do envelope nuclear. O retículo endoplasmático pode ainda ser diferenciado em retículo endoplasmático rugoso e retículo endoplasmático liso, que possuem estruturas e funções diferentes, embora estejam associados. O RE rugoso está ligado diretamente ao envelope nuclear, na forma de bolsões membranosos achatados e contínuos e sua superfície externa contém unidades de ribossomos dispersos, a partir do RE rugoso é produzido as proteínas secretoras e outras moléculas de membrana, como fosfolipídios e carboidratos. O RE liso está localizado na superfície mais externa do RE rugoso na forma de uma rede de túbulos membranosos, não possui ribossomos fixados em sua superfície externa, logo não são capazes de sintetizar proteínas, entretanto contém enzimas específicas que fornecem diferentes funções a essa organela, sintetiza fosfolipídios, gorduras, esteroides. O RE liso das células hepáticas auxilia nos processos de liberação de glicose no sangue e desintoxicação de drogas e substâncias tóxicas, nas células musculares os RE liso é responsável pela liberação de íons de cálcio para processos de contração muscular;
- h) **Aparelho de Golgi:** é uma organela grande no formato de bolsões membranosos, em um conjunto de 3 a 20 cisternas. O aparelho de Golgi é a organela responsável pelo transporte de proteínas que são sintetizadas no RE rugoso para outras regiões da célula, as proteínas são englobadas por parte do RE e formam uma vesícula transportadora que se une à cisterna do aparelho de Golgi e libera as proteínas no interior da cisterna. As proteínas no interior das cisternas sofrem algumas modificações essenciais através de enzimas presentes e são transportadas entre as cisternas do aparelho de Golgi através de vesículas de transferência. As enzimas transformam a proteínas em glicoproteínas, glicolipídios e lipoproteínas, essas moléculas são liberadas em vesículas secretoras e se deslocam para membrana plasmática, onde são liberadas por exocitose. Outras proteínas processadas pelo aparelho de Golgi são liberadas em vesículas de armazenamento;

- i) **Lisossomos:** são as principais vesículas de armazenamento liberadas pelo aparelho de Golgi que contém em seu interior enzimas digestórias que participam dos mecanismos de digestão e degradação de moléculas, microrganismos, como as bactérias;
- j) **Vacúolos:** são cavidades revestidas por membrana presentes no citoplasma derivadas do aparelho de Golgi. Os vacúolos possuem diversas funções, podendo atuar como organelas de armazenamento temporário de proteína as e outras substâncias, como açúcares, ácidos orgânicos e íons inorgânicos, ou ainda tendo papel no transporte de nutrientes para dentro da célula. Nas células vegetais essas organelas representam 5 a 90% do volume celular e armazenam subprodutos metabólicos, toxinas e água;
- k) **Mitocôndria:** são organelas alongadas e irregulares dispersas no citoplasma, possuem uma dupla camada membranosa superficial, similar a membrana plasmática. A camada externa da membrana tem uma superfície lisa, enquanto a camada interna possui o formato de cristas, com uma grande área superficial essencial para reações químicas da organela e contém proteínas relacionadas a respiração celular e seu interior contém a matriz, uma substância semifluida responsável por grande parte das reações metabólicas da respiração celular. As mitocôndrias possuem DNA próprio, ribossomos e outras moléculas responsáveis pela replicação, transcrição e transdução de DNA, podendo se replicarem dividindo-se em duas;
- l) **Cloroplastos:** são organelas exclusiva de células vegetais de algas e plantas verdes, é uma estrutura membranosa com clorofila e enzimas essenciais para os processos de fotossíntese. Contém ainda ribossomos, DNA e enzimas necessárias para produção de proteínas. Os cloroplastos dividem entre si e se replicam semelhantes as mitocôndrias;
- m) **Peroxisomos:** semelhantes aos lisossomos, são organelas menores responsáveis por armazenar enzimas que degradam e oxidam diversas substâncias orgânicas e tóxicas;
- n) **Centrossomo:** é uma organela próxima ao núcleo constituída de um material pericentriolar, localizado na área pericentriolar, que é uma rede fibrilar proteica que contém um par de centríolos. Essas estruturas desempenham um papel importante durante o processo de divisão celular (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

3.1.3 Vírus

Os vírus são microrganismos diferentes aos microrganismos procariotos e eucariotos, são muito pequenos, entre 0,02 e 1 μm , acelulares, com estrutura muito simples, onde o núcleo é composto por um único tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA. O núcleo de um vírus possui um envoltório proteico de uma camada, que alguns casos contém uma membrana de lipídios, proteínas e carboidratos, denominada envelope, apresentada na figura 3.7. Toda célula que contém DNA ou RNA são capazes de se reproduzirem e outras células autônomas, entretanto no caso dos vírus, a reprodução de células é condicionada a utilização das estruturas e componentes de uma célula hospedeira infectada, isto é, os vírus são considerados microrganismos parasitários intracelulares obrigatórios e seus genes podem conduzir a biossíntese nas células hospedeiras ou serem incorporados aos genes da célula. Adicionalmente são considerados microrganismos não vivos, dado que sem um hospedeiro vivo são microrganismos inertes, contudo essa definição ainda é uma questão ambígua de conceitos dentro da ciência (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.7 – Micrografia e diagrama da morfologia de um (a) vírus poliédrico não envelopado (adenovírus *Mastadenovirus*) e (b) um vírus helicoidal envelopado (vírus *influenza A2*)



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

A virologia é a área da ciência que estuda os vírus e surgiu durante a Idade do Ouro da Microbiologia e diferentemente dos microrganismos mencionados anteriormente, os vírus não estão classificados entre os três domínios determinados por Carl Woese, os domínios *Eukarya*, *Bacteria* e *Archaea*. Segundo o comitê Internacional de Taxonomia Viral, os vírus

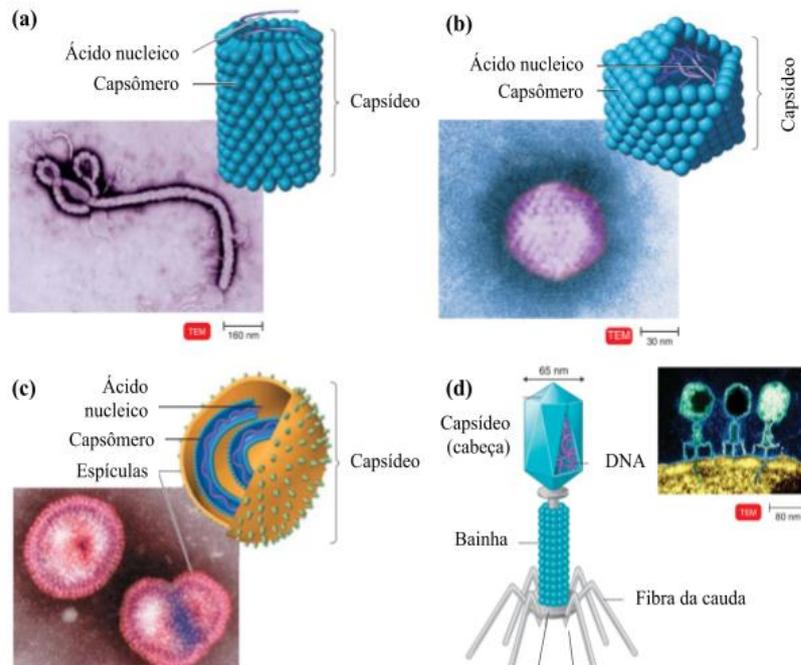
são agrupados em famílias de acordo com seu gene e sua estrutura, onde o sufixo (-*vírus*) indica o gênero, o sufixo (-*viridae*) indica a família e o sufixo (-*ales*) as ordens da espécie viral, como por exemplo o *Human herpesvirus 2*, da família *Herpesviridae* e gênero *Simplexvirus*, que caracteriza o nome científico da herpes-vírus humano. A espécie viral é determinada como o grupo de vírus que possui um mesmo nicho ecológico (espectro de hospedeiros) e o mesmo conteúdo genético, nas quais comumente são definidas em nomes descritivos informais, como vírus da imunodeficiência humana (HIV) e suas subespécies que levam o mesmo nome adicionadas um número (HIV-1), caso existam (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

A estrutura de um vírus é uma estrutura simples, composta por um ácido nucleico e uma capsula proteica de proteção, dessa forma os vírus são diferenciados entre si pelo ácido nucleico de seu conteúdo e por variações geométricas da estrutura do envoltório. A seguir é apresentado os componentes estruturais de uma célula viral e suas características:

- a) **Ácido nucleico:** é o material genético de uma célula viral, pode ser do tipo DNA ou RNA, nunca os dois tipos coexistirão dentro da célula. O ácido nucleico das células virais podem ser uma dupla fita ou fita simples de DNA ou RNA, podendo ainda ser linear, circular ou segmentado, dependendo do tipo do vírus;
- b) **Capsídeo e envelope:** o capsídeo é um envoltório proteico de proteção ao ácido nucleico no interior da estrutura celular viral, esse envoltório é formado por subunidades de proteínas, denominada capsômeros, sua composição é determinada de acordo com ácido nucleico presente, podendo ser composta de vários tipos de proteínas ou apenas de um tipo. Em termos de massa, essa estrutura representa a maior parte da célula, principalmente em vírus menores, e pode ser visivelmente observada e micrografias eletrônicas. A morfologia do capsídeo varia de acordo com o tipo do vírus e em alguns casos o capsídeo contém um envelope de proteção adicional composto de proteínas, lipídios e carboidratos. A estrutura do envelope é similar a uma membrana plasmática e em sua superfície externa pode ainda conter complexos de carboidratos e proteínas, denominados de espículas, que reforçam a proteção da célula e em alguns vírus servem como pontos de ancoramento e ligação da célula viral na célula hospedeira, essa característica é aproveitada para a testes de identificação de vírus no organismo (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

A célula viral possui variações morfológicas características que auxiliam na identificação do tipo de vírus presente, essas variações de morfologia são de acordo com as diferentes organizações e arquiteturas das estruturas do capsídeo, que podem ser facilmente observadas por microscopia eletrônica e cristalografia de raios X. Entre as morfologias identificadas podemos citar a morfologia dos vírus helicoidais, onde o capsídeo é um tubo cilíndrico oco, semelhante a bastões longos, que podem ser rígidos ou flexíveis, e abrigam em seu interior o ácido nucleico na forma helicoidal, como apresentado na figura 3.8 (a). Outra morfologia é a dos vírus poliédricos, onde o capsídeo forma um poliedro com muitas faces triangulares e vértices, o mais comum dos vírus poliédricos são os que possuem a forma de um icosaedro, um poliedro regular de 20 faces e 12 vértices, como pode ser observado na figura 3.8 (b). A morfologia de estrutura dos vírus envelopados são variações morfológicas dos vírus helicoidais e poliédricos, nas quais o conjunto capsídeo-ácido nucleico é envolvido por um envelope proteico, geralmente esférico, com representado na figura 3.8 (c). Além disso, existem os vírus complexos que possuem morfologias complexas, diferentes das estruturas já citadas e com estruturas adicionais, como o vírus representado na figura 3.8 (d), que possui uma cabeça poliédrica que abriga o material genético em conjunto com uma bainha da cauda helicoidal (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.8 – Micrografia e diagrama dos tipos de morfologia dos vírus: (a) vírus helicoidal, (b) vírus poliédrico, (c) vírus envelopado e (d) vírus complexo

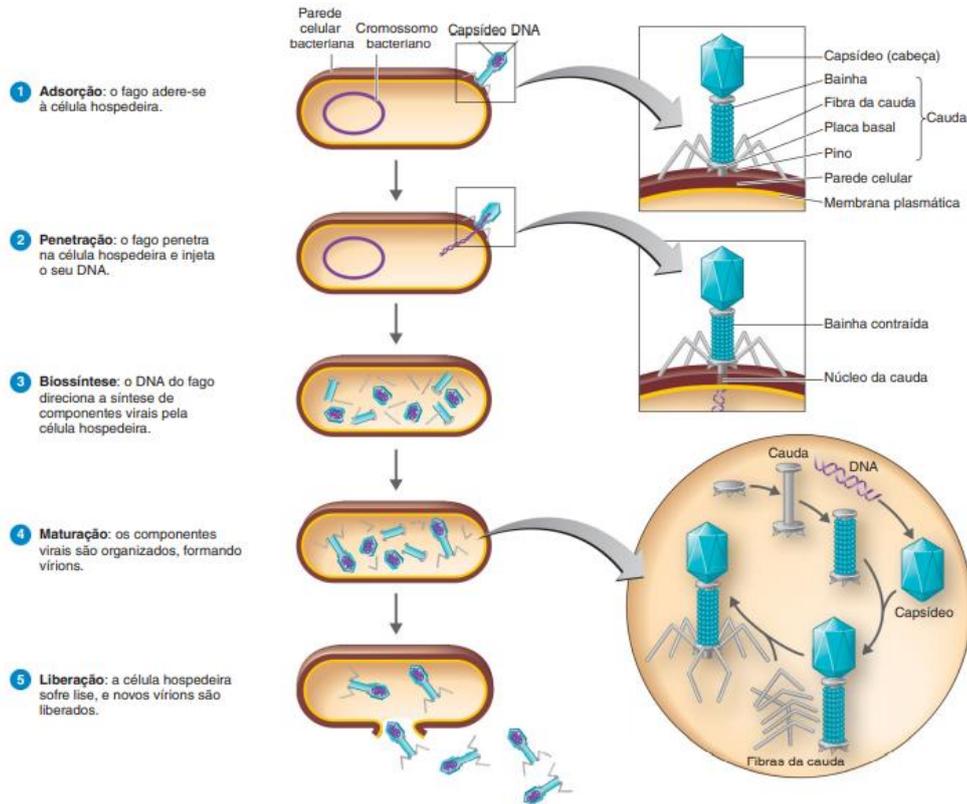


Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

Os vírus não são capazes de se desenvolver e sobreviver fora de uma célula hospedeira, também não são capazes de se multiplicarem em meios de cultura sintéticos devido a necessidade de se ligarem a uma célula viva, apenas os vírus bacteriófagos possuem capacidade de serem cultivados em ambientes de cultura bacteriana, devido a capacidade das bactérias de desenvolverem em meios de cultura. Dessa forma, o metabolismo, o modo de sobrevivência e outras reações do microrganismo vírus estão associados ao sistema e componentes de um organismo vivo, logo as enzimas necessárias para a síntese de proteínas, ribossomos, RNA transportador, produção de energia, entre outros é todo fornecido pela célula hospedeira. Dentro de uma célula hospedeira a replicação viral está associada a codificação dos genes que produzem as enzimas virais e essas por sua vez são as moléculas responsáveis pelo processo de penetração nas células e replicação do material genético viral dentro da célula do hospedeiro, a partir dessa replicação viral as células virais são capazes de assumir o comando do sistema metabólico do organismo a favor de sua multiplicação. O modo como ocorre a multiplicação viral é comum a todos os vírus, para isso é comumente utilizado a multiplicação de bacteriófagos para demonstrar esse mecanismo de replicação. Os vírus bacteriófagos se multiplicam de duas maneiras, pelo ciclo lítico, onde ao final desse ciclo se tem a lise e morte da célula hospedeira e o ciclo lisogênico, onde no final do processo

a célula hospedeira se mantém viva. No ciclo lítico o processo de multiplicação ocorre mediante a cinco etapas, são elas adsorção, penetração, biossíntese, maturação e liberação, como representado na figura 3.9 (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

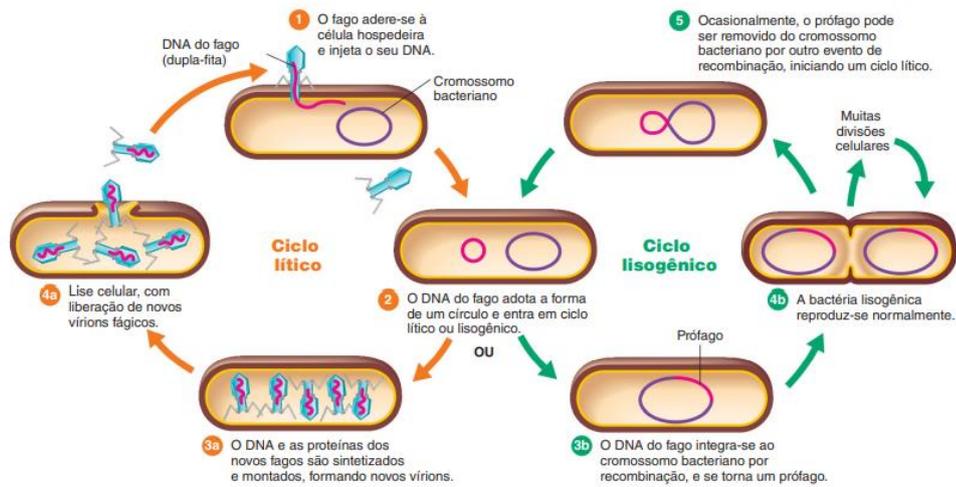
Figura 3.9 – Ciclo lítico de um bacteriófago T-par



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

No ciclo lisogênico a multiplicação também ocorre em cinco etapas, entretanto é comum alguns vírus terem a capacidade de induzir um ciclo lisogênico em paralelo a um ciclo lítico. Assim o ciclo lisogênico apresenta as etapas de penetração, mudança de conformação do DNA, multiplicação e transcrição do DNA paralela a uma recombinação de DNA com o DNA da célula hospedeira, tornando-se parte do material genético, denominado como prófago, seguida da produção de novos vírus e a lise celular em paralelo com a replicação do prófago, que se mantém inativo sem levar a morte celular, podendo ser liberado e ativado, por meio da ação de luz, substâncias químicas ou evento natural raro, iniciando o ciclo lítico. Esses dois mecanismos podem ser observados na figura 3.10 (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Figura 3.10 – Ciclo lisogênico do bacteriófago λ em *Escherichia coli*



Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

O modo como ocorre a multiplicação viral dos vírus animais, embora seja um processo muito semelhante a todos os vírus, possuem alguns fatores do modo de replicação diferentes do modo de replicação de bacteriófagos esses fatores são comparados na tabela 3.1 (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Tabela 3.1 – Comparação entre a multiplicação viral dos bacteriófagos e dos vírus animais

Estágio	Bacteriófagos	Vírus animais
Adsorção	As fibras da cauda ligam-se às proteínas da parede celular.	Os sítios de adesão são proteínas e glicoproteínas da membrana plasmática.
Penetração	O DNA viral é injetado na célula hospedeira.	Penetração do capsídeo por endocitose mediado por receptor ou por fusão.
Desnudamento	Desnecessário.	Remoção enzimática das proteínas do capsídeo.
Biossíntese	Ocorre no citoplasma.	Ocorre no núcleo (vírus com genoma DNA) ou no citoplasma (vírus com genoma RNA).
Infecção crônica	Por lisogenia.	Ocorre por latência, infecções virais lentas ou ainda câncer.
Liberação	Pela lise (morte) da célula hospedeira.	Brotamento dos vírus envelopados e rompimento da membrana plasmática dos não envelopados.

Fonte: Adaptado de TORTORA; CASE; FUNKE, 2016.

Os fatores apresentados na tabela 3.1, representam uma grande importância no desenvolvimento de soluções de combate às doenças infecciosas, dado que o modo de replicação dos organismos está relacionado com a disseminação das doenças em diferentes

condições e está relacionado também na sobrevivência dos microrganismos. Com isso, esses fatores são essenciais para o modo de atuação dos sistemas antimicrobianos.

3.1.4 Panorama sobre doenças infecciosas emergentes e reemergentes

Os microrganismos estão presentes em diversos ambientes, eles fazem parte da variedade de matéria das águas, solos, ar e dos organismos vivos. Eles estão associados a manutenção do equilíbrio da vida, do meio ambiente, desempenhando diferentes papéis em cada condição ambiental, estão presentes desde processos de degradação da matéria até a manutenção da microbiota normal dos seres vivos, participando de processos de digestão, síntese de vitaminas essenciais e outros processos biológicos. Entretanto, muitos microrganismos possuem um potencial patológico de risco e podem desencadear doenças infecciosas e outros problemas de saúde e problemas ambientais. (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011).

Doenças infecciosas são definidas como doenças causadas por microrganismos patológicos, tais como vírus, bactérias, parasitas ou fungos que entram em células hospedeiras saudáveis causando diversos efeitos nocivos ao organismo e podem ser transmitidas entre as pessoas, entre animais e também dos animais para os humanos. Ao longo da história da sociedade diversas doenças infecciosas foram identificadas, desde grandes contaminações como as epidemias de peste bubônica e cólera, que devastou grande parte da população europeia no século XIV, aos surtos de tuberculose, malária, difteria, gripe espanhola, entre outras doenças até o final do século XX (TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; ENGELKIRK; DUBEN-ENGELKIRK; FADER, 2011; PEDROSO; ROCHA, 2009). As doenças infecciosas sempre foram associadas a problemas de saúde pública, saneamento básico em conjunto com altos índices demográficos e condições habitacionais insalubres. Os avanços tecnológicos e eventos posteriores à Segunda Guerra Mundial colaboraram para melhoria das condições de vida, saneamento básico, moradia e nutrição da população, dessa forma após esse período houve um controle efetivo das doenças infecciosas, onde algumas doenças foram erradicadas pelos mecanismos de controle da época e como resposta ocorreu a queda das mortes decorrentes de doenças infecciosas e, conseqüentemente, o aumento demográfico. Entretanto, as mudanças socioeconômicas ocorridas após esse período transformaram o estilo de vida da população e dessa forma o perfil de contaminação por doenças infecciosas também foi alterado. A partir desse momento, o perfil das doenças infecciosas deixou de ser associado

somente a fatores relacionados ao saneamento básico e índice demográfico, e passou a ter diversos outros fatores mais complexos dependentes (WALDMAN, 2001).

O modelo de vida pós Segunda Guerra Mundial contou com um grande desenvolvimento tecnológico, socioeconômico, industrialização de bens e alimentos, urbanização, intercâmbio internacional de pessoas e produtos, mudanças nas condições ambientais das cidades, estilo de vida das populações, entre outros acontecimentos. Esse novo modelo de vida, com todos esses fatores, causou impactos sobre a saúde pública acelerando a disseminação de microrganismos, aumentando os índices doenças patológicas, causando o aparecimento de novas doenças, modificação doenças conhecidas e ressurgimento de doenças erradicadas. Alguns desses impactos foram observados a partir dos anos 80 com o ressurgimento de doenças infecciosas já conhecidas e o aparecimento de um novo agente patógeno, o HIV, que causou a epidemia da síndrome da imunodeficiência adquirida, conhecida como AIDS (WALDMAN, 2001).

Nesse contexto, é inserido a partir dos anos 90 o conceito de doenças infecciosas emergentes e reemergentes, que por definição são doenças recentemente detectadas na população humana ou doenças já existentes que tiveram sua ocorrência aumentada e a sua distribuição geográfica ampliada de forma rápida. As doenças infecciosas emergentes e reemergentes de relevância são as doenças infecciosas relacionadas à microrganismos que adquiriram alterações evolutivas e que desenvolveram resistência a medicamentos e tratamentos; a contaminações por alimentos, principalmente alimentos de origem animal, como os casos de encefalite espongiforme bovina, popularmente conhecida como doença da “vaca louca” causada pelos príons; a contaminações por produtos e tecnologias novas no mercado, como a epidemia da síndrome do choque tóxico pela utilização de absorventes internos no final dos anos 70; ao uso de pesticidas; aos desmatamentos; às novas construções; à disseminação de microrganismos em lugares novos; ao aumento da exposição humana a agentes infecciosos; entre outros fatores. No Brasil e no mundo outras doenças infecciosas emergentes e reemergentes de relevância podem ser citadas, tais como a dengue e suas variações, malária, doença de Chagas, febre amarela, Hantavírus, Vírus sabiá, Vírus mayaro, Vírus rocio, Retrovírus, encefalite do oeste do Nilo, coqueluche, difteria, tuberculose, Hepatites virais, Vírus Hérpes, sífilis e outras doenças sexualmente transmissíveis, Influenza, entre outras doenças. A tabela 3.2 traz um resumo dos fatores que contribuem para a emergência de doenças infecciosas (WALDMAN, 2001; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; PEDROSO, 2009).

Tabela 3.2 – Fatores que contribuíram para a emergência das doenças infecciosas

Fatores principais	Fatores específicos	Doenças
Mudanças ecológicas, desenvolvimento econômico e manipulação da terra	Agricultura, represas, desmatamentos e reflorestamentos, mudanças nos ecossistemas hídricos, enchentes e secas, fome, mudanças climáticas.	Esquistossomose, febres hemorrágicas, leishmaniose, disseminação das arboviroses (vírus sabiá/ vírus rocio/encefalite, vírus mayaro oropuche/ síndromes febris).
Demografia e comportamentos humanos	Crescimento populacional e migrações, guerras e conflitos civis, deterioração humana, adensamento populacional, comportamento sexual, uso de drogas venosas.	Síndrome de imunodeficiência adquirida, hepatites virais (B e C), dengue, tuberculose.
Comércio e viagens internacionais	Movimento internacional de pessoas e produtos, viagens aéreas.	Malária, disseminação de mosquitos vetores, cólera e dengue, influenza.
Indústria e tecnologia	Internacionalização do suprimento de alimentos, mudanças no processamento e empacotamento de alimentos, transplante de órgãos e tecidos, drogas determinantes de imunossupressão, uso inadequado de antibióticos.	Encefalopatia espongiiforme bovina, síndrome hemolítico-urêmica (<i>E. coli</i> 0157:H7), hepatites B e C, doença de Chagas, infecções oportunistas em pacientes imunodeprimidos.
Adaptação e mudança dos agentes	Evolução dos microrganismos, pressão seletiva e desenvolvimento de resistência.	Variações naturais/mutações em: vírus (HIV), bactérias (febre purpúrica brasileira causada pelo <i>Haemophilus influenzae</i>), resistência aos antimicrobianos, antivirais, antimaláricos e pesticidas, influenza.
Estrangulamento nas medidas de saúde pública	Saneamento e controle de vetores inadequados, cortes nos programas de prevenção.	Cólera, dengue, difteria.

Fonte: Adaptado de PEDROSO, 2009.

Os mais recentes processos epidemiológicos de grandes impactos foram os causados por surtos de Ebola a partir de 1970, Gripe H1N1 entre 2009 e 2010 e mais recentemente a pandemia de COVID-19, do inglês *corona vírus disease-19*, instalada desde o final de 2019, causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). A Síndrome Respiratória Aguda Severa (SARS) é uma doença infecciosa emergente causada pelo coronavírus associado à SARS (SARS-CoV), pertencente à família dos vírus que causam o resfriado e SARS. A primeira manifestação do SARS-CoV ocorreu em 2002, na China, entre 2012 e 2014 foram

confirmados 339 casos positivos em humanos e 100 mortes decorridas da doença no Oriente Médio, que nesse período ficou conhecida como Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV). Em 2019, novos casos de infecção por coronavírus foram identificados em Wuhan, na China, se instalando rapidamente para uma epidemia. Entretanto, os novos casos da doença estavam associados a um novo tipo de coronavírus, o SARS-CoV-2, também conhecido como novo coronavírus ou coronavírus 2, que causa a doença COVID-19 (TEIXEIRA; ALVES, 2020; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

Assim como o SARS-CoV, o novo coronavírus produz os mesmos sintomas da gripe e resfriado, porém mais fortes e agudos. Os principais sintomas são: febre, fadiga e tosse seca persistente, em alguns casos diarreia, perda do olfato e paladar, dor de garganta, congestão nasal, dor de cabeça, dor nos músculos e juntas, entre outros sintomas menos recorrentes. Em casos raros pessoas infectadas podem se apresentar assintomáticas, porém independente da presença ou não de sintomas o vírus possui uma alta capacidade de disseminação e contaminação entre as pessoas e um alto risco de avanço para casos graves, onde ocorre o comprometimento das vias respiratórias, dos pulmões e outras complicações clínicas, levando a uma alta possibilidade de morte. Além disso, o vírus possui uma alta capacidade de mutação, devido ao ganho de resistência, às variações nas condições ambientais etc., originando diferentes variantes virais, que atualmente já somam cinco tipos de variantes em circulação, desde o aparecimento do vírus em 2019, são elas as variantes Alfa, Beta, Gama, Delta e Ômicron (TEIXEIRA; ALVES, 2020; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016; OPAS/OMS, 2022).

Em dezembro de 2019 a Organização Mundial de Saúde (OMS), do inglês *World Health Organization* – WHO, decretou emergência internacional e em março de 2020 determinou o cenário de alta disseminação do SARS-CoV-2 em vários países como uma pandemia, desde então são mais de 326 milhões de casos confirmados e mais de 5,5 milhões de mortes decorrentes do COVID-19 (TEIXEIRA; ALVES, 2020; WHO, 2022). Atualmente, muitas medidas de combate ao SARS-CoV-2 foram tomadas, desde isolamento social, à utilização de equipamentos de proteção individual, produtos para higienização, campanhas, políticas públicas de emergência até o desenvolvimento de vacinas. Dados atuais da OMS indicam que em janeiro de 2021 mais de 50% da população mundial está vacinada com todas as doses necessárias (WHO, 2022).

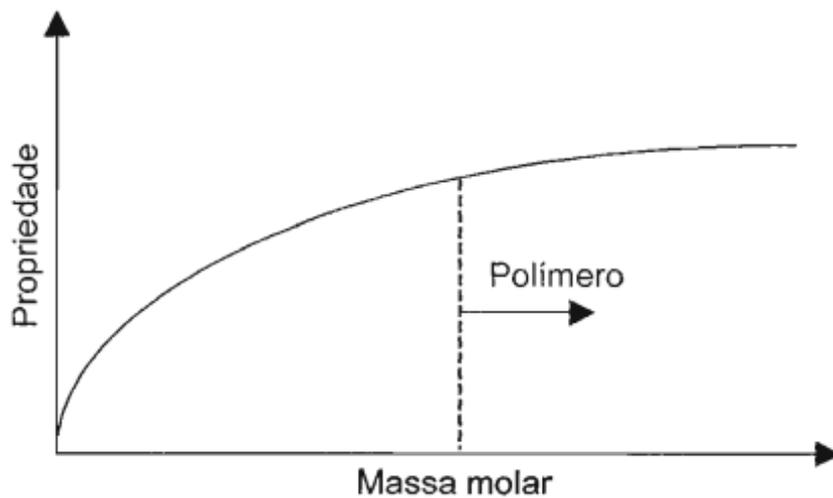
Dessa forma, o recente enfrentamento da pandemia causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) alertou a sociedade em geral para o potencial nocivo que o surgimento de novas doenças infecciosas, ou ressurgimento de doenças infecciosas, oferece a população

mundial, por consequência ocorreu o fortalecimento de medidas de consolidação da saúde pública, educação, prevenção e melhoria das condições de vida. Além disso, aqueceu a comunidade científica e o setor de pesquisa para o interesse para o desenvolvimento tecnológico em torno de soluções e alternativas para o controle, prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças infecciosas, proporcionando diversas novas tecnologias, produtos e medidas de combate ao novo coronavírus e a outras doenças decorrentes de infecção por microrganismos (TEIXEIRA; ALVES, 2020; TORTORA; CASE; FUNKE, 2016).

3.2 Materiais poliméricos

Os materiais poliméricos são materiais naturais, artificiais e sintéticos que possuem uma boa versatilidade de características, propriedades e aplicações aliado a um baixo custo de produção. Por definição, um polímero é uma macromolécula formada por muitas unidades de repetição, denominadas meros, ligadas entre si por ligações covalentes. O composto que dá origem às N unidades de repetição é denominado monômero, determinado como uma molécula com uma unidade de repetição, é a partir dele que é iniciado o processo de polimerização e síntese do polímero. De acordo com a natureza química, estrutura do monômero, massa molar, estrutura e configuração molecular, as propriedades e características físico-químicas dos polímeros são moduladas. Com isso, é possível se ter uma ampla gama de diferentes tipos de polímeros comercialmente fabricados, denominados como *grades*, que atenda a diversos processamentos e aplicações. A figura 3.11 é um gráfico característico que demonstra a alteração de propriedades físicas em geral de materiais poliméricos de acordo com a variação de massa molar, esse gráfico mostra que o aumento de massa molar acarreta no aumento de propriedade física de forma assintótica até atingir um valor limite (CANEVAROLO JR, 2006; CALLISTER JUNIOR; RETHWISCH, 2015).

Figura 3.11 – Representação da relação entre massa molar e propriedades físicas gerais de polímeros



Fonte: CANEVAROLO JR, 2006.

A partir disso, os polímeros podem ser divididos em amorfos e semicristalinos, sendo classificados em três classes principais, os plásticos, os elastômeros e as fibras. Os polímeros possuem uma ampla faixa de propriedades interessantes, na quais incluem baixa densidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, flexibilidade, tenacidade, boa resistência mecânica, resistência ao impacto, rigidez, entre outras (CANEVAROLO JR, 2006; CALLISTER JUNIOR; RETHWISCH, 2015).

Na história da humanidade os polímeros têm sido utilizados em diversas aplicações no cotidiano e na indústria, desde aplicações mais antigas do uso da madeira, algodão, lã, seda, couro, borracha natural até aplicações mais recentes em pneus, produtos plásticos descartáveis, espumas, revestimentos adesivos, filmes, entre outras aplicações mais tecnológicas, como na indústria automobilística e aeroespacial, desenvolvimento de compósitos e nanocompósitos, aplicações biomédicas, produção de sensores, componentes eletrônicos e outros (CANEVAROLO JR, 2006; CALLISTER JUNIOR; RETHWISCH, 2015; NGO et al., 2018).

3.2.1 Atividade antimicrobiana dos materiais poliméricos

O crescimento populacional e o uso indiscriminado de medicamentos são alguns dos fatores que colaboram para o alto risco de ocorrência de problemas epidemiológicos e outros problemas associados a transmissão de doenças infecciosas em geral, em especial devido ao desenvolvimento de resistência de microrganismos aos medicamentos. Dessa forma, é amplamente estudado e desenvolvido métodos e agentes antimicrobianos não tradicionais

como forma de prevenção e combate a disseminação dessas doenças. A atividade antimicrobiana de alguns materiais poliméricos é atualmente uma propriedade muito significativa para o campo técnico-científico e têm sido tema recorrente em muitos estudos atuais. Os polímeros antimicrobianos podem ser utilizados em diversos sistemas contra o desenvolvimento de microrganismos e contágio por doenças infecciosas. Entre as diversas aplicações podemos citar a utilização de materiais poliméricos ou compósitos poliméricos antimicrobianos em equipamentos de proteção individual, fibras e têxteis, filmes e revestimentos de superfícies, sistemas de filtração e purificação do ar e das águas, embalagens, hidrogéis, medicamentos e curativos, sistemas de liberação de drogas, sensores e biossensores, *scaffolds* e outros biomateriais funcionais, entre outros (FATIMA et al., 2021; GUERRA et al., 2015; BARBOSA, 2013).

O conhecimento em torno de polímeros antimicrobianos surgiu em 1965, quando os pesquisadores Robert J. Cornell e Guy L. Dunraruma produziram polímeros e copolímeros baseados em 2-metacriloxitropononas e observaram que esses polímeros eram capazes de matar bactérias. Alguns anos depois, em 1970, muitos outros estudos acerca da atividade antimicrobiana de outros polímeros foram desenvolvidos, tais como os estudos em torno da polimerização de ácido salicílico, por Vogl et al., ou a sintetização de polímeros com grupos funcionais de amônio quaternário, por Panarin et al. (SIEDENBIEDEL; TILLER, 2012). O desempenho antimicrobiano dos materiais poliméricos está baseado em interações físico-químicas e superficiais, tais como interações eletrostáticas, bloqueio de interações e danos físico-químicos, similares às interações de moléculas de defesa naturais do organismo contra os patógenos invasores. Por definição, essas interações são conceituadas como mecanismos de ação por via ativa ou via passiva. Devido a esse modo de ação, os polímeros antimicrobianos não são capazes de adquirir resistência, como acontece com os medicamentos, onde o modo de ação é direcionado às enzimas e outras moléculas de replicação de material genético (KYZIOŁ et al., 2019; GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021).

O mecanismo de ação antimicrobiana por via ativa ocorre por meio de interações eletrostáticas ou biocidas, enquanto o mecanismo por ação passiva ocorre mediante ao bloqueio de interações, impedindo a adesão de patógenos em superfícies. Muitos microrganismos possuem características hidrofóbicas ou estão carregados negativamente, dessa forma é possível ajustar a hidrofilicidade, propriedades de carga e energia superficial dos polímeros para que esses sejam capazes de repelir patógenos e ou bloquear interações de adesão e ancoramento (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021).

No mecanismo de ação ativa as bactérias que se aderem à superfície são eliminadas pelo contato direto, onde grupos funcionais presentes na superfície dos polímeros estabelecem interações biocidas com a parede celular microbiana rompendo a membrana plasmática e todo o conteúdo intracelular é vazado para fora da célula, causando a morte celular. Esse rompimento por via ativa também pode ocorrer por ação eletrostática. Os polímeros ativos são polímeros funcionalizados com agentes ativos, tais como biocidas catiônicos, peptídeos antimicrobianos, enzimas, antibióticos, nanopartículas, entre outros agentes orgânicos ou inorgânicos de modificação. Os polímeros ativos mais utilizados estão os baseados em sais de amônio quaternário, por exemplo a polietilenimina (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; HUANG et al., 2016; RIBEIRO, 2019).

No mecanismo de ação passiva os polímeros atuam reduzindo a adesão de proteínas na superfície de um substrato, impedindo o ancoramento de microrganismos, similar a um agente repelente. Devido à natureza hidrofóbica dos microrganismos, os polímeros passivos são materiais hidrofílicos, de carga negativa ou de baixa energia superficial. Adicionalmente, esses polímeros podem ser materiais com superfície porosa imersos em líquidos escorregadios e auto regenerativos, como poli(dimetilsiloxano), polianfólitos carregados, polímeros zwitteriônicos, como a fosfobetaína, sulfobetaína e polímeros fosfolipídicos ou ainda polímeros não carregados, tais como poli(etilenoglicol) (PEG), sendo esse o mais utilizado entre os polímeros passivos com uma alta capacidade de impedimento de crescimento microbiano (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; HUANG et al., 2016).

De acordo com Munõz-Bonilla et al. (2012) existem quatro categorias em que os materiais poliméricos antimicrobianos se enquadram, essa classificação é de acordo a presença ou não de grupos funcionais de modificação. Os polímeros são classificados como:

- a) **Polímeros com propriedades antimicrobianas intrínsecas:** são polímeros que possuem em sua estrutura molecular própria monômeros com átomos de nitrogênio quaternário, halogênios, derivados de fósforo e enxofre; polímeros que possuem guanidina; polímeros similares a peptídeos naturais; polímeros derivados de ácidos fenólico ou benzoico, polímeros organometálicos, entre outros;
- b) **Polímeros quimicamente modificados:** são polímeros modificados quimicamente com moléculas antimicrobianas ligadas covalentemente à cadeia polimérica, modificadas com peptídeos antimicrobianos ligados a um polímero inativo e com polímeros antimicrobianos enxertados em um polímero regular;

- c) **Polímeros com agente antimicrobiano orgânico:** são polímeros em que o agente antimicrobiano é ligado covalentemente ao polímero através de interações intermediadas por compostos orgânicos; e formulações de blends poliméricas de polímeros antimicrobianos com polímeros não ativos, com o auxílio de compostos orgânicos, conferindo assim propriedade antimicrobiana;
- d) **Polímeros com agente antimicrobiano inorgânico:** são polímeros nos quais a atividade biocida é conferida através da adição de compostos inorgânicos, tais como, metais, óxidos metálicos ou cargas modificadas (RIBEIRO, 2019; MUÑOZ-BONILLA; FERNÁNDEZ-GARCIA, 2012).

Os polímeros antimicrobianos podem ainda ser classificados em três tipos: biocidas poliméricos, polímeros biocidas e polímeros liberadores de biocidas. Os biocidas poliméricos são polímeros nos quais o monômero é uma espécie ativa com propriedades biocidas, isto é, é um composto biocida polimerizado. A polimerização de espécies biocidas pode ou não resultar em um polímero biocida, isso é devido a insolubilidade de alguns compostos polimerizados em água, dessa forma o material não atinge propriedades antimicrobianas ativas, como é o caso da polimerização de cloreto de 4-vinil-N-benzilpiridínio, um composto biocida ativo que quando polimerizado forma ligações cruzadas e não é capaz de eliminar microrganismos, apenas capturá-los. Entretanto, muitos outros compostos e antibióticos quando polimerizados em conjunto a nanopartículas e outras espécies poliméricas apresentaram propriedades antimicrobianas satisfatórias, como no caso da polimerização de penicilina com nanopartículas de poliacrilato (HUANG et al., 2016; SIEDENBIEDEL; TILLER, 2012).

Os polímeros biocidas são polímeros nos quais a espécie biocida é incorporada na estrutura macromolecular, esses polímeros possuem biocidas catiônicos, como espécies de amônio quaternário, fosfônio, sulfônico terciário e guanidínio, que são espécies com uma grande densidade de cargas de grupos catiônicos capazes de promover uma desestabilização das cargas negativas presentes na superfície celular dos microrganismos e provocar a lise celular. A quitosana é um polímero natural que é amplamente utilizado em aplicações biocidas devido a atividade antimicrobiana aliada a não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. Os polímeros liberadores de biocidas são polímeros sintetizados com o aprisionamento do agente antimicrobiano em sua estrutura tridimensional, similar ao encapsulamento de substâncias, dessa forma é obtido um sistema de liberação controlada da espécie biocida no meio de inserção. Esse tipo de polímero pode ser obtido por polimerização

de moléculas de liberadoras de biocidas em uma estrutura polimérica ou em compostos que liberam o conjunto polímero/biocida. Sistemas como esses possuem uma alta concentração de agentes antimicrobianos, com isso são sistemas eficientes, de ação facilitada e ótima ação localizada. Muitos sistemas de liberação controlada de biocidas podem ser citados, tais como um sistema reabsorvível de polímero eluente com antibióticos destinado a um preenchimento ósseo, em aplicações de dispositivos ortopédicos, para promover propriedades osteocondutoras e antimicrobianas, e conseqüentemente reduzir a incidência de infecções (HUANG et al., 2016; SIEDENBIEDEL; TILLER, 2012).

Diversos outros polímeros podem ser utilizados em aplicações antimicrobianas, dado que as possibilidades de aplicações são diversas, desde sistemas de diagnóstico e liberação de drogas, sensores, biossensores, a equipamentos de proteção individual, fibras e têxteis, filmes e revestimentos de superfícies, sistemas de filtração, entre tantas outras utilizações. A seleção dos polímeros é mediante a adequação de suas propriedades inerentes às aplicações. Estudos relatam que para a produção de fibras e nanofibras, destinadas a fabricação de têxteis e derivados, são utilizados polímeros de fácil processamento por fiação ou eletrofiação, tais como, poli(ácido láctico) (PLA), poli(álcool vinílico) (PVA), óxido de polietileno (PEO), policaprolactona (PCL), fibras de poli(tereftalato de etileno) (PET) e outros poliésteres. Além disso, os materiais são facilmente adaptáveis às técnicas de processamento disponíveis, como extrusão, moldagem por injeção, fiação, termoformagem, injeção sopro, entre outros processamentos. (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; GUERRA, 2015; COTRIM, 2020).

Uma metodologia de processamento de polímeros mais recente que têm se mostrado promissora em diversas aplicações, incluindo sistemas de ação e proteção antimicrobiana, é manufatura aditiva, também conhecida como impressão 3D. Esse processamento é uma técnica versátil, econômica, pode ser automatizada, com capacidade de reprodução de geometrias complexas tridimensionais, em escala micro ao macro, e com características individuais, conforme a necessidade da aplicação. Além disso, é um processo relativamente rápido em comparação aos demais processos de fabricação convencionais, pode ser aplicado uma ampla variedade de polímeros, que dependendo da técnica utilizada, se apresentam na forma de pós, monômeros reativos, resinas e filamentos termoplásticos, e possui ainda a possibilidade de desenvolvimento de compósitos e nanocompósitos (STANSBURY; IDACAVAGE, 2016; WANG, X. et al., 2017; MOHAMED; MASOOD; BHOWMIK, 2015; NGO et al., 2018; VOLPATO, 2017). Estudos apresentam o desenvolvimento de *scaffolds* fibrosos de óxido de grafeno/poli (ϵ -caprolactona) fabricados por impressão 3D que

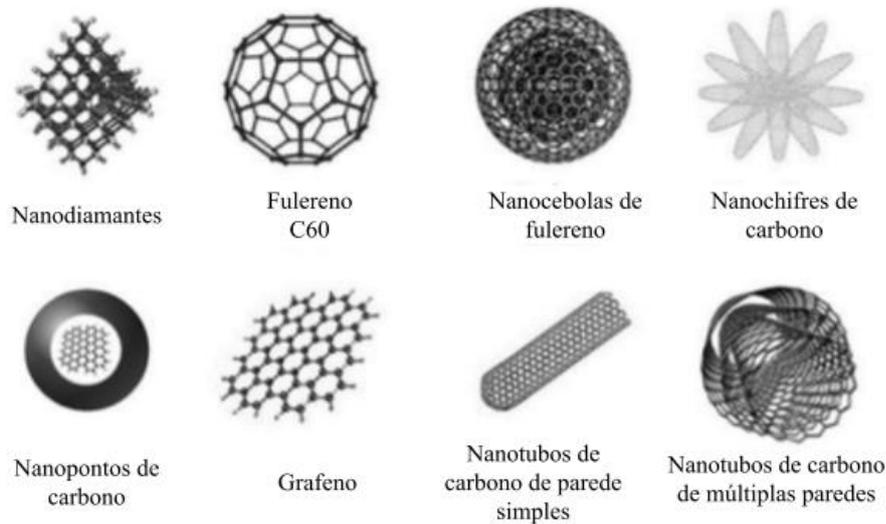
apresentaram propriedades antibacterianas contra *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021).

Algumas pesquisas atuais envolvem a utilização de poli(etileno-vinil acetato) (EVA) e poli(tereftalato de etileno) (PET) no desenvolvimento de filmes plásticos para embalagens flexíveis para contato com alimentos e revestimento de superfícies. Outras pesquisas abordam a produção de fibras híbridas de polimetilmetacrilato (PMMA) e óxido de grafeno (GO) com propriedades antimicrobianas, capacidade para reter microrganismos e atuarem como materiais de elevada eficácia no controle da disseminação e contaminação desse patógenos na população, aumentando o nível de segurança da saúde pública. Dessa forma, podemos concluir que os polímeros são materiais versáteis, que possuem a capacidade de se adaptarem a diversas utilidades, incluindo diversas aplicações e sistemas de ação e proteção contra microrganismos e doenças infecciosas (FATIMA et al., 2021; MATHARU et al., 2020).

3.3 Nanomateriais de carbono

O carbono é um elemento tetravalente pertencente à família 4A da tabela periódica e possui a capacidade de sofrer hibridização dos tipos sp , sp^2 e sp^3 em ligações carbono-carbono ou ligações carbono-ametais. Devido as essas características o carbono possui muitas possibilidades de estabelecer ligações e configurações estruturais. As ligações carbono-carbono estabelecem algumas formas alotrópicas, tais como o grafite e o diamante. Em nanomateriais de carbono as formas alotrópicas são classificadas de acordo com seu arranjo espacial em três dimensões (0D, 1D e 2D), algumas configurações amplamente estudadas são os nanopontos quânticos de carbono (*carbon quantum dots*), fulerenos, nanotubos de carbono, grafeno, entre outras nanoestruturas, como representado na figura 3.12. O estado de hibridização determina a anisotropia da estrutura, dessa forma as propriedades desses nanomateriais de carbono, em especial as propriedades elétricas, são dependentes do estado de hibridização. Por exemplo, os materiais de carbono de ligação sp^2 são materiais naturalmente anisotrópicos, pois não possuem os seus últimos elétrons π (π) de valência hibridizados, assim eles ficam deslocalizados em um plano perpendicular ao seu plano basal e isso faz com que seja criada camadas eletrônicas, onde se tem alta mobilidade dos elétrons e alta condutividade em 2D (WANG, W. et al., 2020; BAPTISTA et al., 2015; GEORGAKILAS et al., 2015).

Figura 3.12 – Membros da família de nanomateriais de carbono



Fonte: Adaptado de BAPTISTA et al., 2015.

O primeiro nanomaterial de carbono a ser descoberto foi a molécula C60, em 1985, comumente chamada de fulereño esse material possui em cada molécula 60 átomos de carbono ligados entre si com ligações sp^2 na forma de hexágonos e pentágonos, que tridimensionalmente se ligam formando uma estrutura esférica. Muitos outros tipos de fulerenos, como o C20 e C70 foram descobertos em seguida, entretanto o C60 é o mais aplicado em estudos e pesquisas (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015).

Posteriormente, o desenvolvimento dos nanotubos de carbono por Sumio Iijima, físico japonês, em 1991 gerou um grande avanço sobre a tecnologia de nanoestruturas à base de carbono. Os nanotubos de carbono (CNTs) são nanomateriais formados por átomos de carbono de ligação sp^2 que se ligam e se organizam na forma de tubos cilíndricos. Atualmente é conceituado como folhas de grafeno enroladas na forma de tubos. Os CNTs são nanomateriais altamente anisotrópicos, devido a sua elevada razão de aspecto (comprimento/diâmetro), isso faz com que esses materiais sejam considerados como materiais 1D (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015). Os CNTs podem ser estruturas de paredes simples (NCPS), em inglês SWCNTs (*single-walled carbon nanotubes*), onde há apenas uma folha de grafeno enrolada formando um tubo ou estruturas de múltiplas paredes (NCPM), em inglês MWCNTs (*multi-walled carbon nanotubes*), onde as folhas são concêntricamente organizadas em múltiplos tubos. A orientação da rede de átomos de carbono em relação ao eixo do tubo é denominada de quiralidade e a partir desses padrões os NCPS podem ser classificados nos tipos zig-zag, quiral e poltrona. Os CNTs possuem propriedades físicas, elétricas, térmicas e ópticas ajustáveis, porém semelhantes as propriedades do grafeno

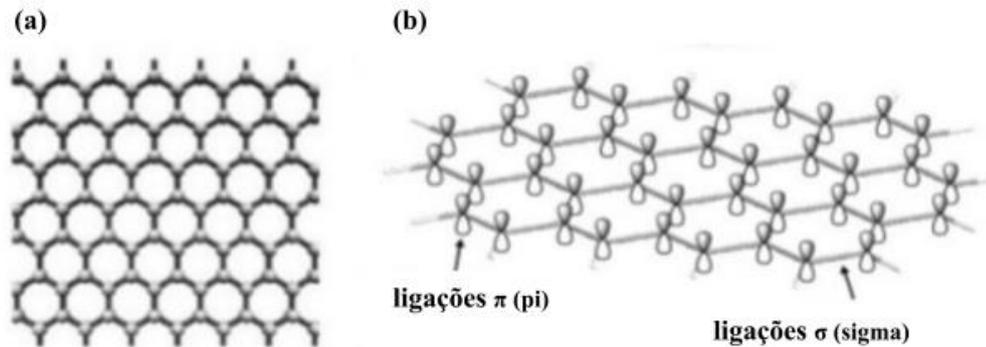
que podem ser ajustadas através do controle do diâmetro, comprimento, quantidade de paredes ou camadas, quiralidade, funcionalização de superfície e dopagem com heteroátomos (WANG, W. et al., 2020; BAPTISTA et al., 2015).

Os nanomateriais de carbono são amplamente utilizados em diversas aplicações, que envolvem desde a melhoria de resistência e desempenho mecânico até a otimização de propriedades de condutividade elétrica, térmica e outros. Esses nanomateriais podem ser encontrados no desenvolvimento de células fotovoltaicas, dispositivos elétricos, eletrônicos e optoeletrônicos, na robótica e a soft robótica, dispositivos antiestáticos, sensores e biossensores, dispositivos de bloqueio de sinais eletromagnéticos, em componentes para indústria aeroespacial e automobilística, além de outras aplicações na indústria têxtil, no campo biomédico e engenharia de tecidos. E mais recentemente, vêm sendo objeto de estudo de pesquisas que abordam as propriedades antimicrobianas de nanomateriais de carbono (TONATTO, 2017; CHIZARI et al., 2017; ZAREK et al., 2015; VIJAYAKUMAR; LINDLEY, 2020).

3.3.1 Grafeno e derivados

O grafeno é a nanoestrutura derivada do carbono mais recente e embora tenha sido descoberto em 1962, por Hanns-Peter Boehm e coautores, o grafeno foi isolado e caracterizado somente em 2004, pelos pesquisadores Andre Geim e Konstantin Novoselov, nos quais foram premiados com o Nobel de Física em 2010 (GEORGAKILAS et al., 2015). É um filme fino de estrutura planar 2D, derivado do grafite, com espessura a nível atômico. Esse filme fino é composto por átomos de carbono de hibridização sp^2 , ligações do tipo σ (sigma), ligados covalentemente a outros três átomos de carbono vizinhos formando uma estrutura hexagonal similar a um favo de mel. Os orbitais perpendiculares não hibridizados interagem e formam uma banda de ligação π (pi) o que confere aromaticidade ao grafeno, representado na figura 3.13 (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015).

Figura 3.13 – Ilustrações esquemáticas das estruturas de (a) grafeno e (b) ligações σ (sigma) e π (pi) na rede de carbono de hibridização sp^2



Fonte: Adaptado de WANG, W. et al., 2020.

Essa estrutura hexagonal é altamente resistente e flexível, sendo atualmente o material com maior Módulo de Elasticidade já medido, com aproximadamente 1000 GPa, tem ótimas propriedades de absorção de luz, sendo um excelente candidato para fototransistores com alta sensibilidade. É um material transparente, com transmitância óptica de uma monocamada entre 94 e 97,5% e conforme se aumenta o número de camadas essa transmitância óptica é reduzida, as propriedades de condutividade elétrica, térmica e propriedades mecânicas são excelentes, porém dependem da qualidade do grafeno (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015; RHAZOUANI et al., 2021).

A qualidade do grafeno é determinada em função da presença de defeitos físicos ou sítios de oxigênio distribuídos na rede, essas imperfeições conferem ao grafeno hidrofobicidade, maior permeabilidade, propriedades isolantes e menor resistência mecânica. Essas características variam de um processo de síntese para outro, geralmente o grafeno obtido por deposição de vapor químico (CVD) ou esfoliação líquida possui maior qualidade que o obtido pela redução do óxido de grafeno (GO), conseqüentemente esse grafeno possui melhores propriedades de condutividade elétrica e outras. Com isso, o processo de síntese influencia diretamente em características morfológicas e propriedades do grafeno, tais como, área de superficial, pureza, quantidade de camadas, largura lateral, química superficial e hidrofobicidade. Entretanto, a presença de defeitos e sítios ativos não indica que seja um material ruim, esse material pode ser destinado a outras utilizações adequadas as suas propriedades. Por exemplo, alguns processos produzem nanofolhas de grafeno de tamanho de largura lateral reduzido, esses materiais demonstram um excelente desempenho biocida, diminuindo a viabilidade de células bacterianas. Outros processos sintetizam GO que possui defeitos estruturais, grupos funcionais oxigenados, elementos dopantes e resíduos metálicos,

esse grafeno produzido apresenta propriedades biológicas interessantes para aplicações em *scaffolds* na engenharia de tecidos, devido a sua característica hidrofílica, com alta capacidade de dispersão de água e adesão a substratos (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015; RHAZOUANI et al., 2021).

O grafeno possui nanoestruturas semelhantes, caracterizadas em monocamada ou poucas camadas de grafeno com diferentes tamanhos de largura e grau de pureza, dependendo do modo de síntese. Uma das variações do grafeno monocamada ou com poucas camadas é a forma de nanofolhas, também denominada como pontos quânticos de grafeno (*graphene quantum dots* - GQDs), que representa uma aplicação largamente estudada nos últimos anos devido às boas propriedades ópticas e eletrônicas que podem ser ajustadas com a variação do seu tamanho, forma, geometria e natureza das suas arestas. As aplicações em potencial para os GQDs são em aplicações em dispositivos fotovoltaicos, dispositivos de bioimagem, fototransistores e fotocatalise. O grafeno também pode se apresentar na estrutura multicamadas, que compreende de 2 a 10 monocamadas empilhadas, essa estrutura possui propriedades similares ao do grafeno e pode ser dispersa em solventes orgânicos formando suspensões estáveis e transparentes. Outra nanoestrutura que o grafeno pode apresentar são as de nanofitas, que são fitas muito finas e alongadas de uma monocamada ou poucas camadas de grafeno, essas nanofitas podem ser obtidas em três tipos de quiralidade, os tipos zig-zag, quiral e poltrona (GEORGAKILAS et al., 2015).

Os métodos de síntese do grafeno compreendem as técnicas de cima para baixo (*Top-down*) e baixo para cima (*Bottom-up*). Nas técnicas *Top-down* o grafite é esfoliado causando o desprendimento das camadas de grafeno, essa esfoliação pode ocorrer por ação mecânica, em fase líquida, utilizando ultrassom com solventes orgânicos com energia de superfície adequada, por arco elétrico entre dois eletrodos de grafite ou ainda por reações de oxidação. Já os métodos *Bottom-up* envolvem o crescimento de camadas de grafeno em superfícies de substratos, esses métodos incluem o crescimento epitaxial em cristais de carboneto de silício e deposição de vapor químico (CVD). No processo CVD o grafeno é precipitado, a partir de um composto hidrocarboneto, em uma superfície de metal de transição. Os métodos de síntese do grafeno não diferenciam entre si somente em termos de qualidade do grafeno obtido, mas também em parâmetros operacionais e de rendimento. A técnica CVD é a que apresenta as melhores características de facilidade de controle de processo, escalabilidade, complexidade, rendimento e produz um grafeno com elevada área superficial e elevada qualidade. Enquanto outras técnicas, como esfoliação em fase líquida ou esfoliação mecânica, embora não apresentem escalabilidade ou conferem um produto de qualidade inferior ao CVD, são

processos de menor custo, com menor impacto ambiental e de parâmetros de operação mais simples e fáceis (WANG, W. et al., 2020; GEORGAKILAS et al., 2015).

Em relação a modificações que o grafeno pode ser submetido, podemos relacionar como as principais variações o óxido de grafeno (GO) e o óxido de grafeno reduzido (rGO). O GO são folhas de grafeno que quando levadas à oxidação ganham grupos funcionais hidroxila, carbonila, carboxila, epóxi e fenol nas bordas e no plano basal das folhas. A oxidação confere a esse nanomaterial uma área superficial superior, devido a formação de defeitos superficiais (poros) que levam a uma alta rugosidade, confere alta interação química e eletrostática com íons metálicos, biomoléculas e outras moléculas carregadas. Os poros formados são capazes de armazenar substâncias. Além disso, em geral melhora a estabilidade química de compósitos e dispersão em água. Conforme a densidade desses grupos funcionais, o GO pode ter uma variação em sua hidrofiliabilidade. O óxido de grafeno reduzido (rGO) possui propriedades semelhantes ao GO e é obtido através da redução do teor de oxigênio na superfície GO através de métodos de redução, que podem ser reduções químicas, térmicas, eletroquímicas ou biológicas (USMAN et al., 2016; MATOS; GALEMBECK; ZARBIN, 2017; KHALIL et al., 2020; OMRAN; BAEK, 2022).

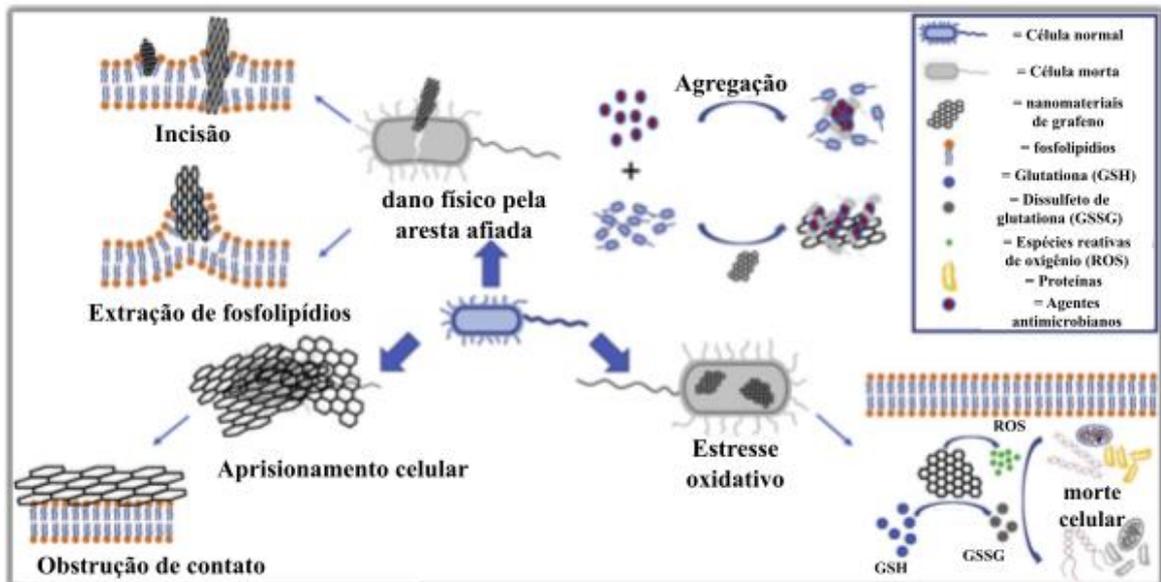
3.3.1.1 Propriedades antimicrobianas do grafeno

O grafeno e seus derivados possuem excelentes características e propriedades que podem ser aproveitadas para diversos objetivos. Segundo algumas pesquisas, como as apresentadas nos trabalhos de Azizi-Lalabadi et al. (2020) e Fatima et al. (2021), mostraram que o grafeno e o óxido de grafeno (GO) possuem um potencial ação antimicrobiana, devido a algumas de suas excelentes propriedades físico-químicas, tais como, a elevada área superficial, características morfológicas adequadas, propriedades mecânicas e ótima condutividade elétrica e térmica. As pesquisas apontaram a redução da viabilidade de crescimento de diversas células bacterianas, fúngicas e virais, por exemplo *E. coli*, *Fusarium oxysporum* e hepatite C (HCV), respectivamente, ou até mesmo impedimento do seu desenvolvimento em superfícies. A propriedade antimicrobiana do grafeno é devido ao alto contato com a superfície da célula e a fácil movimentação de elétrons em direção a célula. Ao entrar em contato com as células do microrganismo, o grafeno e o GO, interagem com a parede celular e membrana plasmática promovendo diferentes mecanismos de ação (AZIZI-LALABADI et al., 2020; FATIMA et al., 2021).

O modo de ação antimicrobiano do grafeno, figura 3.14, envolve a produção de estresse oxidativo, formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), que são espécies tóxicas para as células microbianas, agregação, aprisionamento celular, obstrução de contato, causam danos físicos, extração de fosfolipídios da membrana celular e o vazamento do conteúdo intracelular, devido a incisão pelas suas arestas afiadas, levando a morte celular. Em resumo, os mecanismos principais são:

- Estresse oxidativo: a presença de grupos funcionais na superfície do grafeno leva a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e por consequência leva a oxidação e peroxidação de biomoléculas, desregula o ambiente intracelular promovendo uma disfunção celular;
- Interação eletrostática: as cargas presentes na superfície do nanomaterial leva a uma interação eletrostática que provoca a obstrução de contato, agregação e aprisionamento dos microrganismos, conferindo propriedade de barreira;
- Danos físicos: as arestas afiadas das folhas de grafeno levam a extração de fosfolipídios, incisão da membrana celular, alteração de permeabilidade e pressão osmótica, e consequente vazamento do conteúdo intracelular (AZIZI-LALABADI et al., 2020; FATIMA et al., 2021; OMRAN; BAEK, 2022).

Figura 3.14 – Representação do mecanismo da atividade antibacteriana do GO por diversas interações físicas



Fonte: Adaptado de FATIMA et al., 2021.

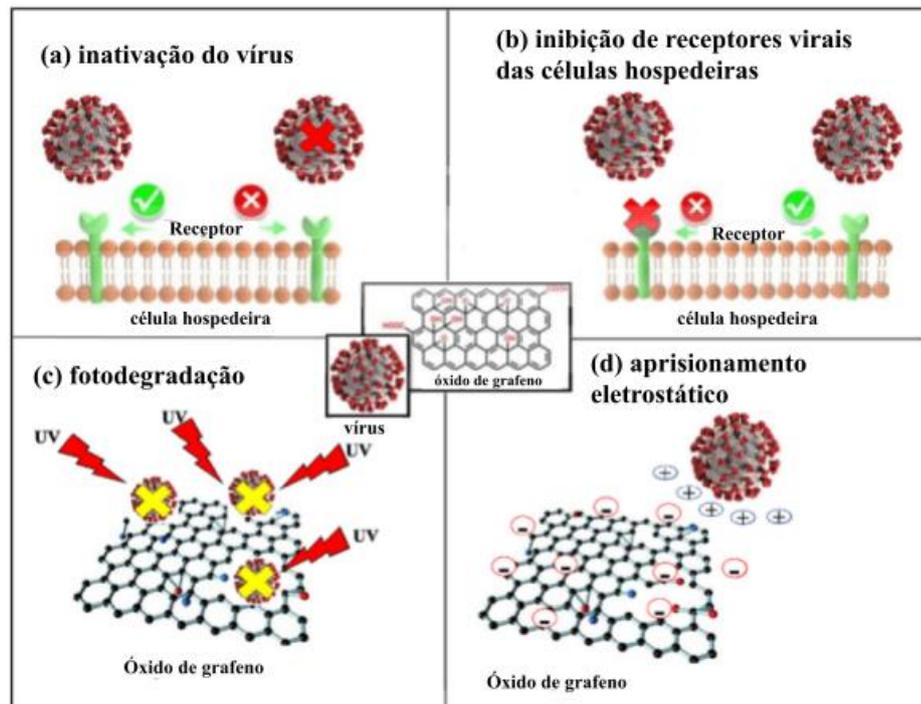
Fatima et al. (2021) reúne, em seu artigo de revisão, diferentes trabalhos em torno dos mecanismos de ação antibacteriano, antifúngico e antiviral de materiais à base de grafeno, nesses estudos são apresentadas algumas observações sobre as interações do grafeno com as células dos microrganismos. É demonstrado que diferentes níveis de oxidação do GO produzem variações na produção de ROS, óxidos de grafeno com menor grau de oxidação forneceram uma melhor estimulação de estresse oxidativo e maiores níveis de formação de ROS. A extração de fosfolipídios ocorre devido as interações de Van de Waals entre as folhas de GO e os fosfolipídios da membrana celular, que atua como uma força de remoção. Após a extração, as regiões hidrofóbicas do GO têm forte afinidade pela cauda hidrofóbica dos fosfolipídios e por ação eletrostática também interagem com a cabeça hidrofílica dos fosfolipídios, danificando a estrutura da membrana celular. Além disso, as interações do grafeno com a célula são capazes de desestabilizar ligações entre proteínas da célula, levando a uma falha funcional. No modo de dano físico, as arestas afiadas das folhas de grafeno perfuram a membrana celular, promovendo o vazamento dos componentes citoplasmáticos. O tamanho das folhas é um fator influenciador, dado que folhas em dimensões micrométricas adotam preferencialmente uma orientação perpendicular à bicamada fosfolipídica, causando a perfuração da célula, enquanto as nanofolhas de grafeno se orientam paralelamente, promovendo um bloqueio de contato entre a célula bacteriana e o substrato. É apontado também que o desempenho dos materiais baseado em grafeno é otimizado quando funcionalizado e empregado em conjunto com outros agentes antimicrobianos, tais como nanopartículas metálicas, enzimas, antibióticos, entre outros compostos orgânicos e inorgânicos (FATIMA et al., 2021).

A elaboração de compósitos produzidos pela associação de nanopartículas metálicas com GO também são aplicações potenciais em sistemas antimicrobianos. Os estudos desenvolvidos por Zhang et al. (2016), apontaram que a ação biocida de compósitos de nanopartículas de prata com GO em colônias de *E. coli* e *Staphylococcus aureus* atingiram, respectivamente, 99,99 e 99,6% de redução de viabilidade bacteriana. Nesse estudo o mecanismo de ação do compósito foi mediante a estresse oxidativo, produção de ROS, alterações funcionais de lipopolissacarídeos, rompimento da membrana celular e encerramento dos processos de replicação de material genético. Assim como a pesquisa de Zhang et al., outros autores desenvolveram compósitos antimicrobianos partir de polímeros, espécies derivadas do grafeno e diferentes nanopartículas metálicas, tais como nanopartículas de cobre, ferro, óxido de zinco e óxido de titânio, e confirmaram seus desempenhos no

aumento de toxicidade e consequente diminuição da viabilidade de células bacterianas (ZHANG et al., 2016; AZIZI-LALABADI et al., 2020).

O desempenho biocida dos sistemas antimicrobianos, à base de grafeno, é influenciado por alguns fatores relacionados ao grafeno. São eles, a forma, tamanho, presença e natureza química de grupos funcionais, condutividade elétrica, teor de grafeno, dispersão e grau de agregação do grafeno, tempo de contato com o microrganismo e pH do meio. A figura 3.15 apresenta uma descrição sobre os principais mecanismos de atividade antiviral do GO (RHAZOUANI et al., 2021).

Figura 3.15 – Descrição dos principais mecanismos de atividade antiviral do GO, a) inativação do vírus, b) inibição dos receptores virais das células hospedeiras, c) fotodegradação e d) aprisionamento eletrostático



Fonte: Adaptado de RHAZOUANI et al., 2021.

O GO é uma espécie com maior densidade de cargas negativas em sua superfície, com isso possui uma ação antiviral mais eficiente quando em contato com vírus carregados positivamente, demonstrando assim que a densidade de cargas presentes nas espécies de grafeno também é um fator importante para o seu desempenho e pode ser aproveitada em dispositivos de detecção viral. Além disso, a funcionalização do grafeno pode oferecer uma melhoria das interações, otimizar os mecanismos de inativação dos microrganismos ou de receptores das células hospedeiras, o aprisionamento eletrostático e as lesões físico-químicas

dos microrganismos, podendo ainda ser uma característica ativada pelo calor ou pela luz em sistemas de esterilização (RHAZOUANI et al., 2021).

3.3.2 Segurança e desafios em torno de nanomateriais de carbono

Os materiais baseados em grafeno demonstram, em diversos estudos, características e propriedades notáveis para diferentes aplicações. Incluído muitas utilizações no campo biomédico, em componentes e dispositivos médicos, na engenharia de tecidos e mais recentemente como agente antimicrobiano. Muitos estudos apontam que a incorporação do grafeno em compósitos e sistemas otimizarão a capacidade antibacteriana e antiviral desses materiais. Embora o grafeno seja um candidato promissor em estratégias para o controle, prevenção, diagnóstico, tratamento de doenças infecciosas e combate ao desenvolvimento de microrganismos, esse material é uma tecnologia relativamente nova e ainda requer mais estudos e pesquisas, a fim de esclarecer dúvidas sobre alguns parâmetros. Por se tratar de materiais em escala nanométrica, os nanomateriais de carbono têm alta capacidade de interação com as células do organismo, pode penetrar no organismo através da pele, intestino e vias respiratórias. De acordo com tipo e tempo de exposição, esses nanomateriais podem causar efeitos adversos às células, tais como alterações nos metabolismos celulares, mecanismos de transporte, respostas inflamatórias e morte celular. Dessa forma, é necessário uma exploração e levantamento de informações em torno da segurança ambiental, não toxicidade para organismos animais, desempenho biocida para outras variedades de microrganismos, custo, escalabilidade de produção (AZIZI-LALABADI et al., 2020; SEIFI; KAMALI, 2021; BAPTISTA et al., 2015).

Algumas pesquisas apontam que o grafeno tem uma toxicidade mínima para organismos animais, sendo a toxicidade do óxido de grafeno (GO) dependente do seu tamanho, morfologia, métodos de síntese, área superficial, funcionalização, carga, concentração e distribuição, via de administração e tempo de exposição. Outros estudos avaliam amplamente a utilização do grafeno, nanotubos de carbono e outros nanomateriais de carbono em aplicações biomédicas, como em *scaffolds* na engenharia de tecidos. Os trabalhos apontam os nanomateriais de carbono como materiais biocompatíveis, capazes de promover um melhor desempenho de proliferação, crescimento e adesão de diferentes tipos de células animais, tais como células tronco, células neurais, células osteogênicas, entre outras, acarretando um melhor processo de regeneração tecidual. Esses estudos indicam que esses materiais demonstraram nenhuma, ou mínima, resposta inflamatória e tóxica as células

humanas e animais. Contudo, é necessário considerar todos os prós e contras em torno da utilização dos nanomateriais baseados em carbono, especialmente relação ao risco à saúde pelo contato com o organismo humano e de animais, produção de resíduos e potencial risco ambiental (AZIZI-LALABADI et al., 2020; SEIFI; KAMALI, 2021; WANG, W. et al., 2020).

No Brasil, um estudo desenvolvido pelo Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), publicado em 2021, apresenta a água sanitária (hipoclorito de sódio) como uma substância de baixo custo e acessível capaz de reduzir a toxicidade do óxido grafeno. Os testes foram realizados com o microrganismo *Caenorhabditis elegans*, um nematoide de 1 mm, demonstrou que a água sanitária degrada quimicamente o GO, promove a diminuição do tamanho de partícula e conseqüentemente reduz sua toxicidade. O estudo contribuiu para o entendimento sobre o risco da utilização do grafeno na biomedicina e segurança no descarte de resíduos no meio ambiente. Muitas instituições brasileiras, como a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e outras, estão ativamente envolvidas em pesquisas envolvendo o GO. Vale ressaltar que, no Brasil, novas tecnologias destinadas a saúde pública necessitam de aprovação e regulamentação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Atualmente, a ANVISA, seguindo uma recomendação da autoridade de saúde do Canadá, alerta para a utilização de máscaras faciais de proteção contendo grafeno. Em razão do desconhecimento acerca dos potenciais riscos à saúde, a ANVISA recomenda a necessidade do desenvolvimento de estudos avaliativos que comprovem atividade antimicrobiana desses produtos novos e reforça que produtos de têxteis técnicos com propriedade antimicrobiana devem atender às normas nacionais e internacionais existentes, além de comprovar a segurança e biocompatibilidade (DUARTE, 2011; TORDIN, 2015; ANVISA, 2021).

3.4 Nanocompósitos poliméricos de grafeno para aplicações antimicrobianas

Nanocompósitos poliméricos são materiais que possuem duas fases distintas em sua formulação, a fase matriz, formada por materiais poliméricos e a fase reforço, formada por nanocargas de reforço, que possuem dimensões nanométricas. A formulação de compósitos e nanocompósitos tem como objetivo aprimorar ou conferir propriedades os materiais, que isoladamente não são atingidas. A utilização de nanopartículas como reforço em compósitos é justificada pela multifuncionalidade que esses materiais conferem. Elas possuem propriedades notáveis e mesmo em concentrações pequenas atuam como pequenos pontos de incremento de

propriedades ópticas, elétricas e mecânicas, acrescentando à matriz funcionalidade, sem comprometer a transparência, ductilidade, resistência mecânica e processabilidade. Além disso, as nanopartículas possuem elevada área superficial que fornece melhores interações interfaciais com a matriz polimérica (BARBOSA, 2013).

O processo de produção de compósitos pode ser realizado através da polimerização *in situ*, onde monômero e as nanocargas são misturados e polimerizados em conjunto, por mistura em solução ou no estado fundido. Além disso, esses compósitos produzidos são adaptáveis às técnicas de processamento de polímeros disponíveis na indústria. Alguns fatores são importantes para o desempenho de nanocompósitos, entre eles o grau de uniformidade de dispersão das nanopartículas, a afinidade química entre as fases, que está diretamente relacionada com a sua boa adesão à matriz. Para promover uma melhor interação físico-química entre as fases é comum a realização de tratamento superficial com compostos orgânicos ou adição de monômeros hidrofílicos na cadeia polimérica (BARBOSA, 2013). A seleção da matriz polimérica é de acordo com a aplicação, propriedades requisitadas e processamento, entre as opções podem ser polímeros naturais, artificiais ou sintéticos, que incluem polímeros *commodities*, biocompatíveis, biodegradáveis e outros (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021; FATIMA et al., 2021).

A crescente necessidade do desenvolvimento de sistemas contra a disseminação e contágio por microrganismos alavancou o interesse do campo científico em busca de materiais com atividade antimicrobiana para aproveitamento em diversas aplicações. Nos últimos 10 anos, o desenvolvimento de nanocompósitos de carbono ganhou relevância de utilização em diversas aplicações antimicrobianas. A seguir são apresentadas as principais aplicações antimicrobianas, utilizando nanocompósitos poliméricos baseados em grafeno, encontrados na literatura (GIRAUD; TOURRETTE; FLAHAUT, 2021).

As principais aplicações que envolvem a utilização de nanocompósitos poliméricos baseados em grafeno com propriedades antimicrobianas são:

- a) Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) e dispositivos hospitalares;
- b) Fibras e têxteis;
- c) Filmes e revestimento de superfícies;
- d) Biossensores e dispositivos para diagnóstico;
- e) Curativos, hidrogéis e entrega de drogas;
- f) Engenharia de tecidos;
- g) Sistemas de filtração e purificação;

- h) Embalagens e outros (SRIVASTAVA et al., 2020; FATIMA et al., 2021; MATHARU et al., 2020; AZIZI-LALABADI et al., 2020; SHIN et al., 2021; MELO et al., 2020; SIMON, 2021; SEIFI; KAMALI, 2021; RHAZOUANI et al., 2021).

Na seção 5, resultados e discussão, são apresentados e discutidos detalhes e parâmetros dos estudos encontrados na literatura, acerca das principais aplicações antimicrobianas de nanocompósitos poliméricos baseados em grafeno, citadas anteriormente. As análises foram conduzidas com base nos mecanismos de ação dos nanocompósitos e nas respostas de atuação. Também foi abordado uma análise da evolução temporal e perfil de distribuição geográfica em relação às pesquisas e estudos relacionados ao tema proposto.

3.5 Estudo de caso

Estudo de caso é uma metodologia que tem como objetivo reunir e revisar conceitos, analisar e buscar entendimento sobre um determinado assunto ou hipótese, avaliar metodologias e resultados e encontrar novas interpretações. Essa metodologia é conduzida por uma construção bibliográfica e formação de suposições, nas quais é se busca responder e compreender. Pode ter como finalidade caráter exploratório, de desenvolvimento teórico, investigação teórica ou melhorar a base teórica. Tem como características principais: utilização de uma fonte de pesquisa para obtenção de dados qualitativos e quantitativos para construção da análise; a análise é realizada de forma descritiva e indutiva. Além disso, pode ser do tipo casos únicos ou casos múltiplos, com enfoque incorporado ou com enfoque holístico.

A figura 3.16 representa a estrutura e procedimento para a realização de um estudo de caso.

Figura 3.16 – Descrição das etapas procedimento para a realização de um estudo de caso



Fonte: Adaptado de FREITAS; JABBOUR., 2011.

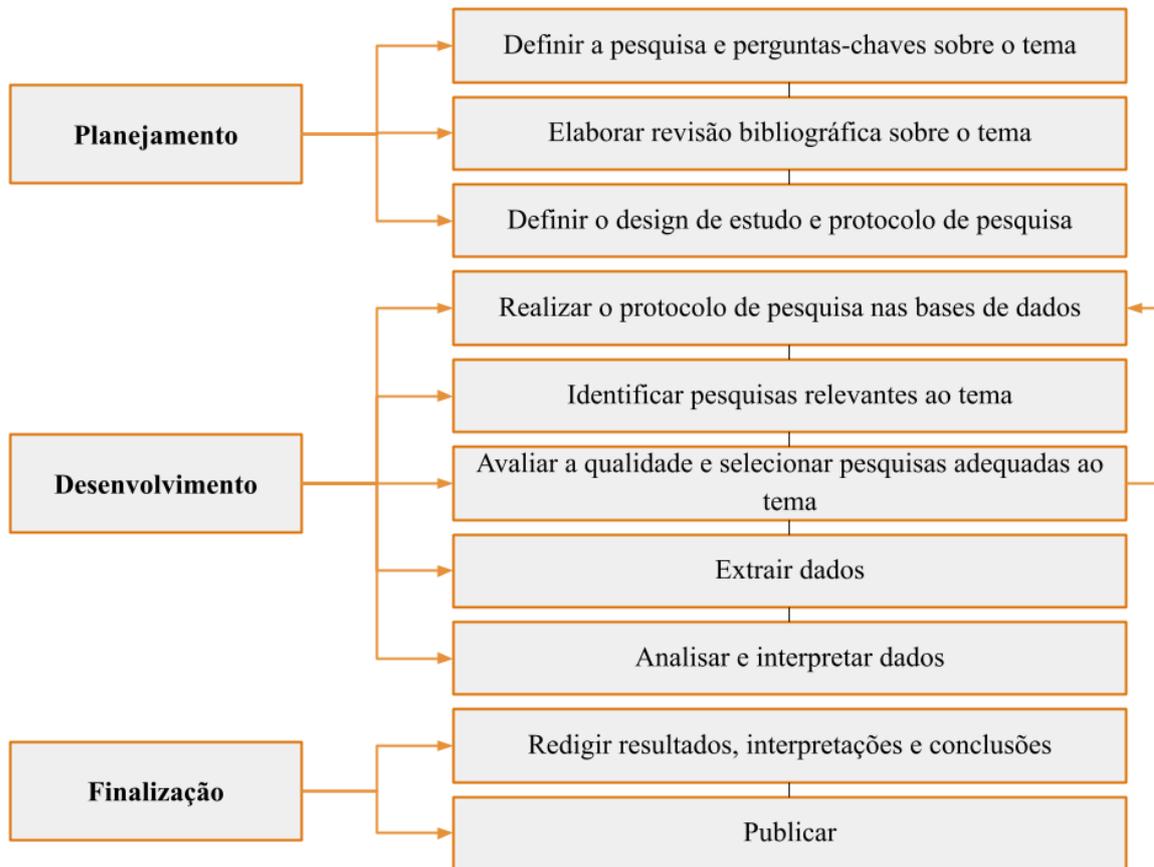
A metodologia de estudo de caso, em resumo, possui 4 etapas principais: definição do caso a ser estudado, definição de um protocolo de pesquisa, realização da coleta publicações e dados, bem como levantamento de evidências e análise dos dados extraídos sobre o tema.

4 METODOLOGIA

A metodologia adotada no desenvolvimento do presente trabalho foi a metodologia de estudo de caso, onde os conteúdos referentes ao tema foram pesquisados em bibliotecas, revistas científicas nacionais e internacionais e outras bases de dados digitais de trabalhos científicos. Foram selecionados artigos científicos de pesquisa e de revisão, teses, dissertações, monografias, livros, enciclopédias, normas, entre outros conteúdos, que abordam a utilização de nanocompósitos poliméricos de grafeno com propriedades antimicrobianas para aplicações que beneficie a saúde pública. Esses conteúdos foram coletados e analisados, conforme o objetivo do trabalho, foram extraídos e apresentados os principais conceitos e principais aplicações antimicrobianas de nanocompósitos poliméricos de grafeno, juntamente com a exposição de análises, testes, propriedades, desempenho, respostas e demais observações para esses sistemas.

O fluxograma, representado na figura 4.1, resume a metodologia utilizada no processo de estudo de caso, que consiste em três etapas principais: planejamento, desenvolvimento e conclusão. Cada etapa principal contém sub-etapas e atividades que constitui o levantamento de trabalhos analisados no presente trabalho.

Figura 4.1 – Fluxograma de descrição da metodologia utilizada no trabalho



Fonte: Próprio autor, adaptado de Brereton et al, 2007.

A seguir é apresentado o detalhamento das etapas e sub-etapas da metodologia adotada.

4.1 Planejamento

4.1.1 Definição de pesquisa e palavras-chaves

Com o intuito de avaliar a aplicabilidade de nanocompósitos poliméricos de grafeno em sistemas antimicrobianos foi formulada a temática da pesquisa desenvolvida, bem como as questões relacionadas ao tema e o protocolo de pesquisa. Utilizando conceitos das metodologias de revisão sistemática e revisão interativa, foi definido as perguntas-chaves em que o trabalho busca analisar. As perguntas-chaves definidas foram:

- O grafeno tem potencial aplicação como material antimicrobiano?
- Qual é o panorama atual de pesquisas em torno de nanocompósitos que abordam a atividade antimicrobiana do grafeno?
- Quais são as aplicações mais abordadas e quais as respostas?

4.1.2 Elaboração de revisão bibliográfica

No escopo do planejamento, alguns assuntos e conceitos foram traçados e pesquisados, esses conteúdos são relatados no levantamento de literatura, apresentado na sub- etapa de revisão bibliográfica, seção 3. Tais assuntos envolvem:

- a) Conceitos em torno dos microrganismos patológicos;
- b) Panorama atual em torno de potenciais urgências epidemiológicas;
- c) Como a nanotecnologia e os nanomateriais de carbono podem auxiliar no aumento da segurança da saúde pública;
- d) Conceitos acerca de materiais poliméricos e nanomateriais de carbono;
- e) Processo de desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos;
- f) Quais são as principais aplicações e sistemas antimicrobianos em que os nanocompósitos poliméricos de grafeno estão inseridos;
- g) Como os nanocompósitos poliméricos de grafeno atuam em um sistema antimicrobiano, quais as respostas, desempenhos e benefícios que esses sistemas conferem;
- h) Quais os desafios e as perspectivas futuras.

Para a construção do referencial teórico em torno dos assuntos acima, foi realizada a consulta e pesquisa a livros, artigos científicos de pesquisa e de revisão, teses, dissertações, monografias, normas, entre outros conteúdos, em portais e bases de dados nacionais e internacionais confiáveis. As bases de dados utilizadas foram:

- ScienceDirect - Elsevier;
- American Chemical Society Publications;
- Periódicos Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior);
- ResearchGate;
- Google Scholar;
- Biblioteca Digital Brasileira de Teses e Dissertações (BDTD) e outras bibliotecas de universidades brasileiras.

Foram pesquisados nas bases de dados alguns termos e palavras-chaves, em português e em inglês, tais como, “grafeno”, “nanomateriais de carbono”, “nanotecnologia e atividade

antimicrobiana”, “aplicações antimicrobianas de materiais de grafeno”, “nanocompósitos antimicrobianos”, “atividade antiviral do grafeno”, “atividade antibacteriana do grafeno”, “nanopartículas antimicrobianas”, “sistemas antimicrobianos”, “sistemas antivirais”, “sistemas antibacterianos”, “nanocompósitos poliméricos”, “polímeros antimicrobianos”, “polímeros para aplicações antimicrobianas”, “coronavírus e a nanotecnologia”, “epidemias e a nanotecnologia”, “doenças infecciosas e a nanotecnologia”, entre outros.

4.1.3 Definição de design do estudo e protocolo de pesquisa

Para o design do estudo de caso foi definido a busca por trabalhos que abordassem nanocompósitos de grafeno em aplicações antimicrobianas. A partir disso, foi traçado a estratégia e protocolo de pesquisa apresentado na tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Protocolo de busca de trabalhos

Componente	Descrição
Base de dados	ScienceDirect – Elsevier (acesso remoto pela rede Comunidade Acadêmica Federada (CAFe)/Portal de Periódicos CAPES)
Palavras-chaves (com operadores booleanos)	(graphene nanocomposites applications) AND (antimicrobial activity OR antibacterial activity OR antifungal activity OR antiviral activity)
Período	2013-2023
Tipo de trabalho	Artigo de pesquisa e artigo de revisão
Ordenação de resultados	Relevância
Quantidade de trabalhos selecionados para análise	10 artigos mais relevantes por ano.

Fonte: Próprio autor.

O protocolo de pesquisa foi definido de tal forma para relacionar trabalhos de diferentes países, dado que a ScienceDirect é uma fonte internacional de artigos científicos, evitar a relação de trabalhos divergentes ao tema, com a utilização das palavras-chaves com operadores booleanos, e selecionar uma quantidade adequada de trabalhos a serem analisados.

4.2 Desenvolvimento

Durante o desenvolvimento, foi realizado a pesquisa de trabalhos científicos relacionados ao tema, em base de dados, de acordo com o design do estudo e protocolo de

pesquisa estabelecido. Os estudos identificados foram avaliados para verificação de relevância e qualidade de trabalho, bem como conformidade e adequação ao tema e as aplicações citadas. Foi considerado como critério de seleção a abordagem da ação antimicrobiana do grafeno, associação em materiais compósitos e citação da aplicação final. Esse processo foi realizado continuamente a fim de reunir a quantidade de trabalhos e informações necessárias para abranger a aplicabilidade de nanocompósitos poliméricos de grafeno em sistemas e aplicações antimicrobianas. Posteriormente, os trabalhos foram analisados e a partir disso foram extraídos dados, informações, detalhes e demais observações relevantes em torno da exposição das análises, testes, propriedades, desempenhos e respostas desses materiais frente a uma aplicação antimicrobiana.

4.3 Finalização

Na etapa de finalização foi redigido os resultados, observações, interpretações e conclusões dos dados extraídos dos estudos selecionados, em torno de cada aplicação antimicrobiana estabelecida para os nanocompósitos poliméricos de grafeno. Foram observados e analisados detalhes e parâmetros dos estudos encontrados na literatura, acerca das principais aplicações antimicrobianas de nanocompósitos poliméricos baseados em grafeno.

As análises foram conduzidas com base na evolução temporal das pesquisas, no perfil de distribuição da natureza do trabalho, país de origem de publicação, eixo da revista científica, material associado, tipo de grafeno, aplicação final, tipo de atividade antimicrobiana. Tais fatores foram correlacionados com os mecanismos de ação e com as respostas de atuação. Foi utilizado o *software* Microsoft Excel para a criação de planilhas, tabelas e gráficos de análises sobre as métricas estabelecidas. Além disso, foi feita uma exposição sobre a importância do avanço tecnológico em torno do desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos em benefício à sociedade e a saúde pública.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Design do estudo e protocolo de pesquisa

Com base no design de estudo e na realização do protocolo de pesquisa estabelecido, seção 4, foram encontradas um total de 6362 publicações, onde são distribuídas em 3018 artigos de revisão e 3344 artigos de pesquisa. Os resultados apresentados foram obtidos através da busca no portal da ScienceDirect, utilizando a combinação de palavras-chaves com operadores booleanos, (graphene nanocomposites applications) AND (antimicrobial activity OR antibacterial activity OR antifungal activity OR antiviral activity), entre os anos de 2013 e 2023, com o filtro de tipo de artigo utilizado para artigo de revisão e artigo de pesquisa, com resultados ordenados por relevância. Na tabela 5.1, são mostrados os números totais de publicações encontradas.

Tabela 5.1 – Número de publicações encontradas na base de dados seguindo o protocolo de pesquisa

Natureza do Trabalho	Quantidade	Total
Artigo de revisão	3018	6362
Artigo de pesquisa	3344	

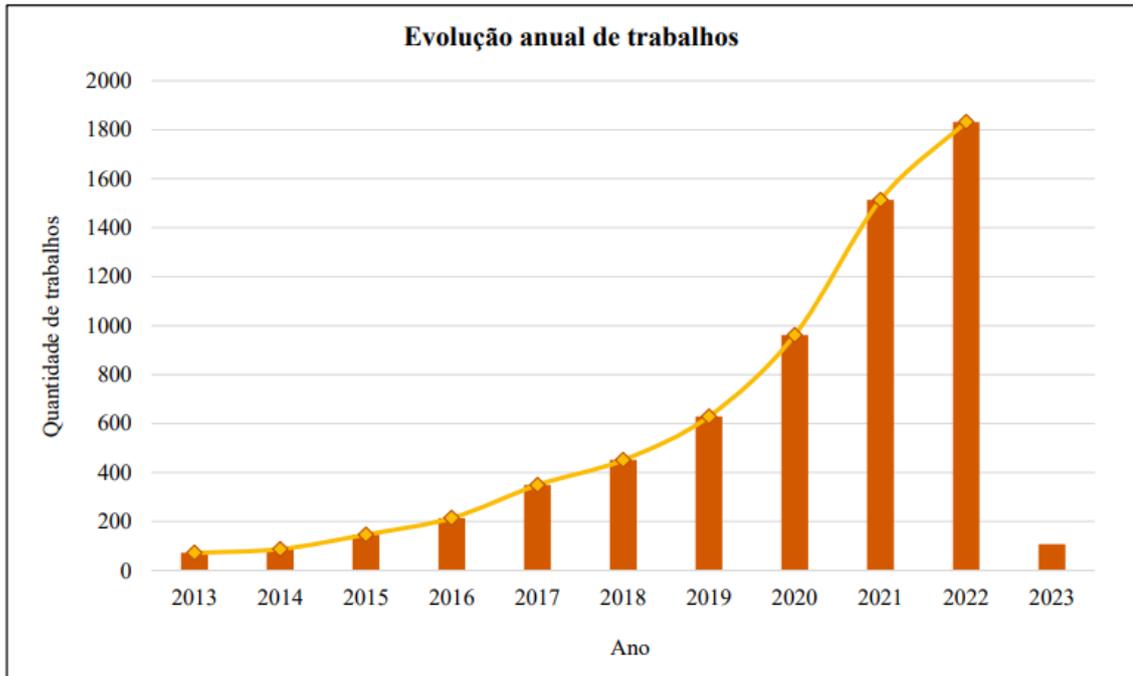
Fonte: Próprio autor.

A partir dos resultados obtidos no protocolo de busca, foram selecionados os 10 artigos mais relevantes por ano, contabilizando um total de 110 artigos. Os 110 artigos foram analisados de acordo com as métricas estabelecidas e os resultados são mostrados nas seções a seguir.

5.2 Análise da evolução anual de publicações

Através dos resultados encontrados na base de dados, foi possível analisar quantitativamente a evolução anual das pesquisas em torno de nanocompósitos de grafeno com propriedades antimicrobianas. Dessa forma, observamos através da figura 5.1 o perfil de distribuição de publicações entre os anos de 2013 e 2023.

Figura 5.1 – Perfil de distribuição anual de trabalhos publicados



Fonte: Próprio autor.

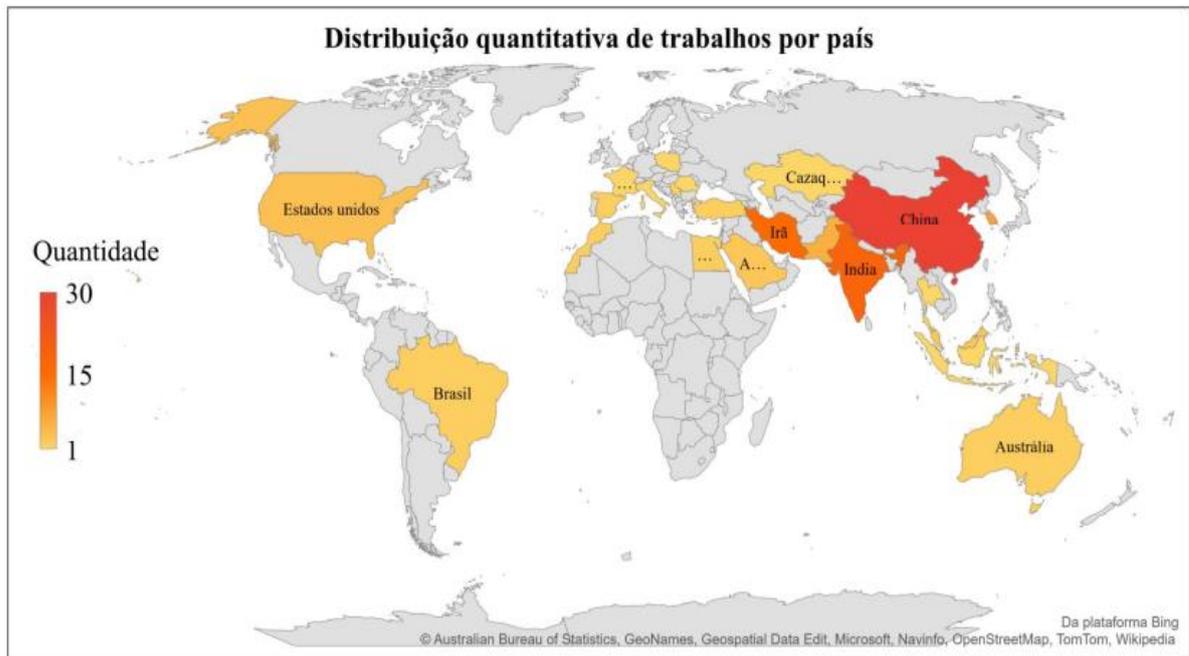
Em geral, o perfil de distribuição anual dos trabalhos publicados permite analisar quantitativamente um comportamento crescente de pesquisas de forma progressiva, nos último 10 anos. A quantidade de artigos publicados em 2022 é aproximadamente 25 vezes maior que os artigos publicados em 2013, indicando que em 10 anos teve um elevado crescimento do interesse nas pesquisas que envolvem a aplicação antimicrobiana do grafeno. É considerável observar a grande variação na quantidade de artigos publicados entre os anos de 2019 e 2022. Os números apontam que entre 2019 e 2020 a quantidade de trabalhos publicados foi 53% maior e entre 2020 e 2021 o crescimento foi de 57%.

De acordo com De Negri, et. al (2020), pesquisadores do Centro de Pesquisa em Ciência, Tecnologia e Sociedade do Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA), esse comportamento é explicado devido ao estabelecimento do cenário de pandemia, causado pelo COVID-19. Nesse período houve uma grande mobilização e estimulação da comunidade científica no desenvolvimento de pesquisas que ajudem a entender a doença e seus impactos, bem como encontrar alternativas de combate, tratamento e prevenção contra o novo coronavírus. Durante esse cenário emergencial, as organizações federais aplicaram medidas de incentivo para acelerar o desenvolvimento de pesquisas na área, o que impactou num aumento significativo de trabalhos desenvolvidos e publicados (DE NEGRI et. Al, 2020).

5.3 Análise do perfil de distribuição do país de origem das publicações

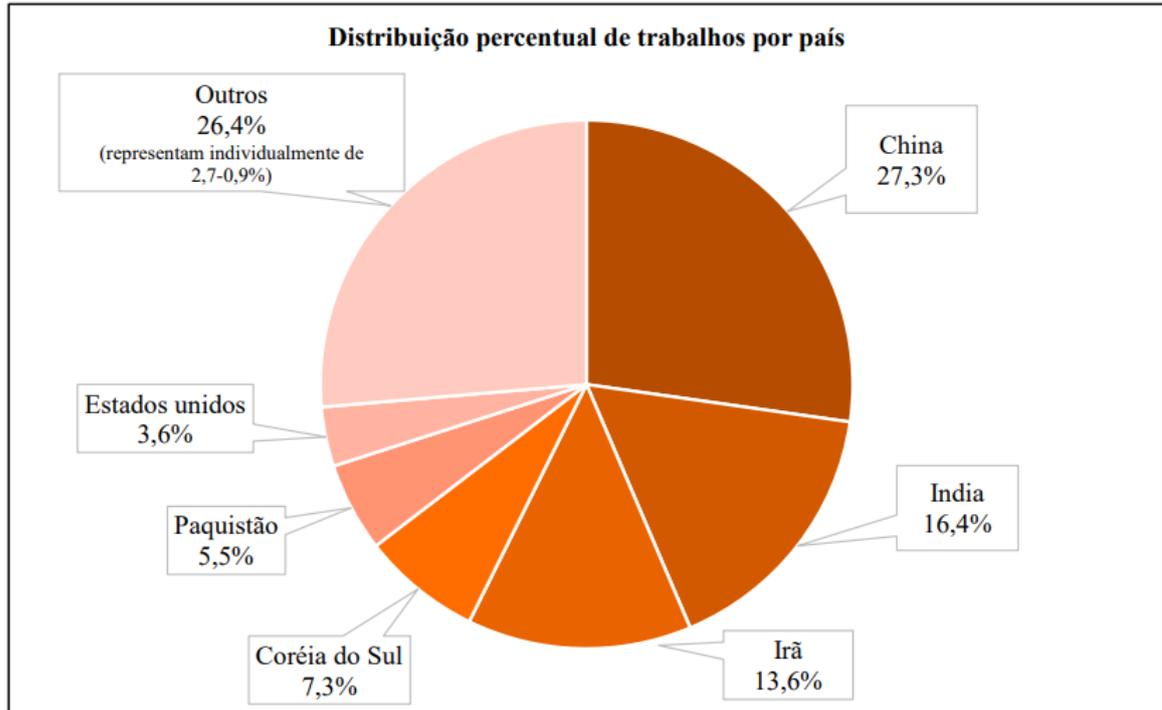
A base de dados ScienceDirect, sob domínio da revista holandesa Elsevier, é a principal fonte internacional de artigos científicos, com isso foi possível realizar uma análise de distribuição mundial de artigos publicados em torno do tema. As figuras 5.2 e 5.3 representam, respectivamente, a distribuição geográfica dos países de origem das publicações e distribuição percentual de trabalhos por país.

Figura 5.2 – Perfil de distribuição mundial de trabalhos publicados



Fonte: Próprio autor.

Figura 5.3 – Perfil de distribuição percentual do país de origem



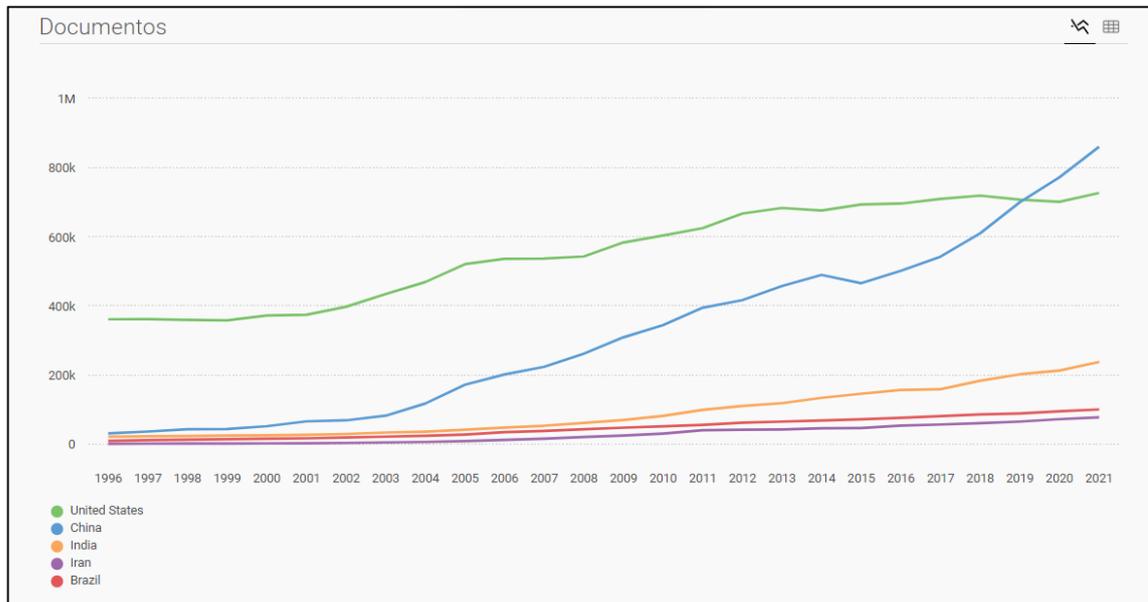
Fonte: Próprio autor.

Por meio da análise das figuras 5.2 e 5.3 observa-se que a maior quantidade de pesquisas é concentrada nos países do continente asiático, onde a China é o país que lidera as pesquisas com 27,3%, em segundo lugar a Índia com 16,4% e em terceiro lugar o Irã com 13,6%. Vale observar que apesar de serem países com culturas e costumes dissimilares, a China, Índia e Irã são países que possuem territórios muito próximos, dessa forma a produção científica desses países, sobre a saúde pública, podem apresentar semelhanças ou até mesmo um ponto de encontro, dado que essas regiões próximas e ou de fronteiras possuem uma alta probabilidade de disseminação de doenças.

Além do fator territorial, segundo estudos recentes, a China é líder mundial em pesquisas científicas em diversas áreas de conhecimento, alcançou a posição ultrapassando os números dos Estados Unidos da América e hoje é um dos países mais influentes em termos de quantidade e qualidade de publicações e citações de artigos científicos. Em comparação aos anos 2000 a China possuía aproximadamente uma quantidade de publicações 12 vezes menor que os números atuais. O crescimento acelerado no desenvolvimento científico no país nos últimos anos foi apoiado por meio de políticas públicas de investimento em universidades, incentivo e valorização do ensino superior e da carreira profissional no setor de pesquisa, principalmente no período de pandemia pelo COVID-19 (MATSUZOE, 2022; RIGHETTI; GAMBA, 2021; MARQUES, 2022).

Nesse mesmo sentido, pode-se observar o mesmo avanço tecnológico e científico de outros países, devido a essas ações de valorização, como o caso da Índia, Irã, Coreia do Sul e até mesmo Brasil. A figura 5.4 apresenta o gráfico retirado do portal da SCImago, onde exemplifica a comparação da quantidade de publicações entre os Estados Unidos, China, Índia, Irã e Brasil, no período de 1996 a 2021 (MATSUZOE, 2022; RIGHETTI; GAMBA, 2021; MARQUES, 2022; SCIMAGO, 2022a).

Figura 5.4 – Comparação de países SCImago



Fonte: SCIMAGO, 2022b.

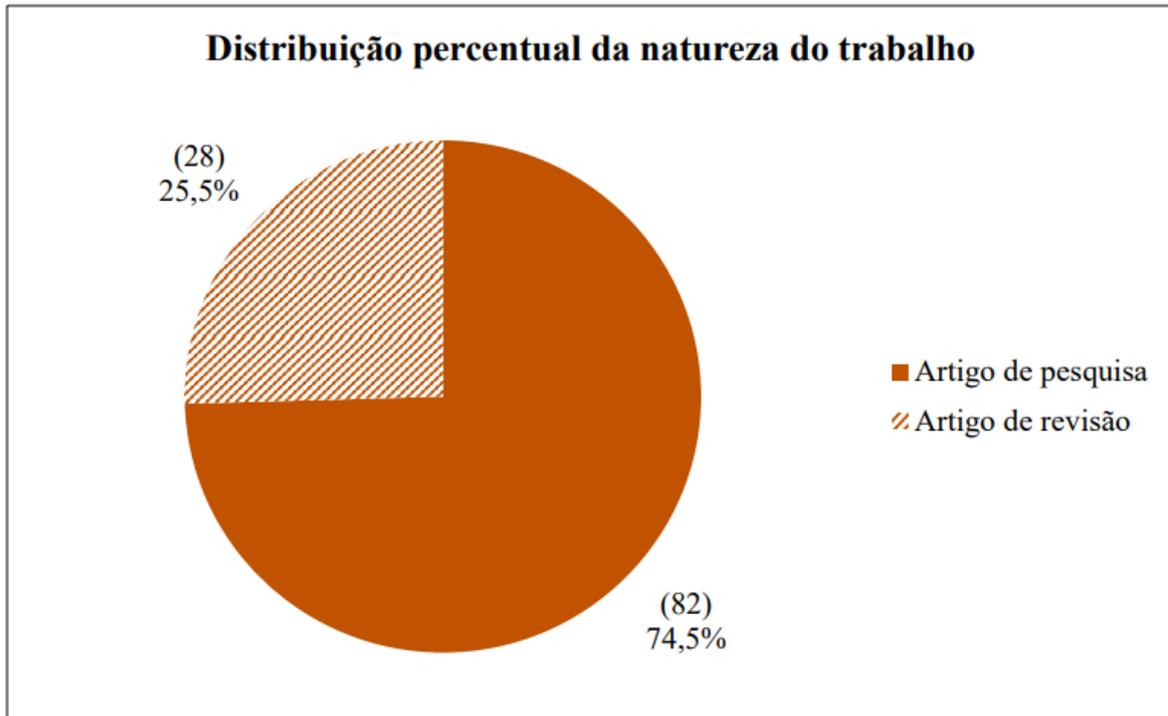
De acordo com dados do SCImago, portal internacional de classificação de periódicos e países, o Brasil ocupa o 14º lugar do ranking de produção científica. Em comparação a outros países a produção científica brasileira cresce, mas em um ritmo mais lento. Isso se dá devido ao baixo incentivo e às adversidades em relação aos cortes de gastos realizados nas organizações brasileiras de incentivo à pesquisa. Entretanto, o Brasil é o único país Latino a fazer parte dos 31 países mais importantes no meio científico do mundo e possui importantes contribuições no setor (MATSUZOE, 2022; RIGHETTI; GAMBA, 2021; MARQUES, 2022; SCIMAGO, 2022a).

5.4 Análise do perfil de distribuição da natureza do trabalho

Com o intuito de analisar o perfil de distribuição da natureza dos estudos desenvolvidos no período, foi utilizado na estratégia de pesquisa o filtro tipo de artigo. Com

isso, os trabalhos selecionados estão divididos em artigos de pesquisa e artigos de revisão. Através desses dados foi possível construir um gráfico da distribuição percentual de cada tipo de trabalho, conforme apresentado na figura 5.5.

Figura 5.5 – Distribuição percentual da natureza das publicações



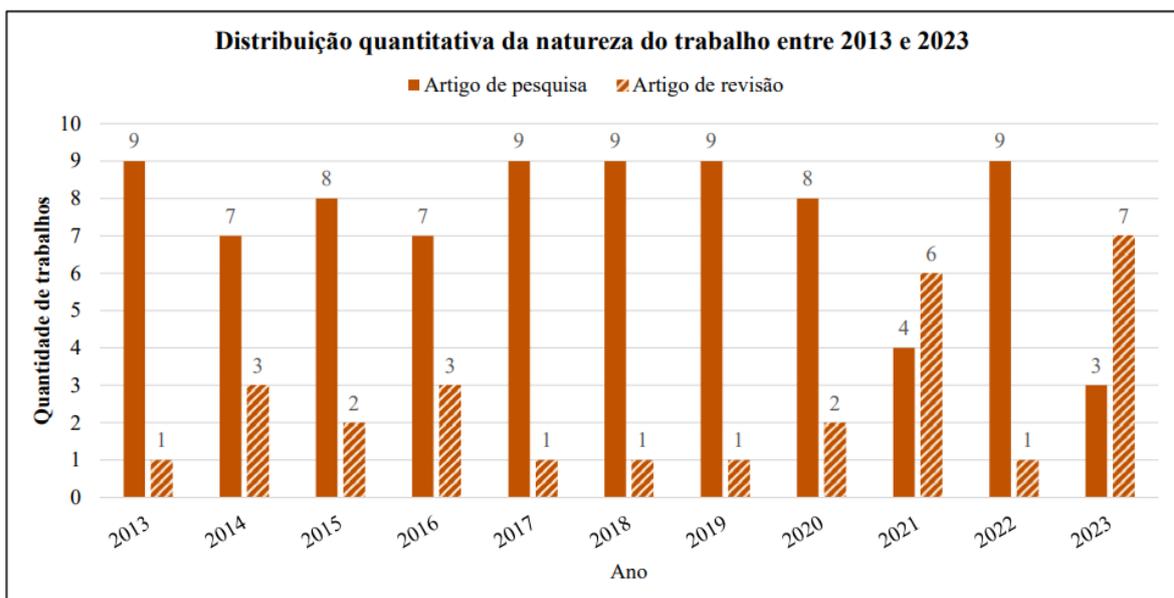
Fonte: Próprio autor.

De acordo com a distribuição apresentada pela figura 5.5, têm-se que 74,5% dos trabalhos desenvolvidos são artigos de pesquisa, contra 25,5% artigos de revisão. Geralmente, o setor de pesquisa possui um alto número de estudos e artigos de pesquisa realizados. Esse tipo de artigo, no qual é chamado de trabalho de fonte primária, possui uma estrutura bem definida, que deve ser seguida, e é focado em compartilhar com a comunidade o passo a passo para entendimento e reprodução de uma nova descoberta, por isso necessita, principalmente, descrever detalhadamente os métodos e os resultados observados em torno do assunto estudado. O alto número de artigos de pesquisa demonstra que a comunidade científica está dedicada na expansão tecnológica e no desenvolvimento de soluções alternativas para diversos setores (MORGAN, 2022). Considerando que todo o processo é parametrizado, qualquer alteração significativa na metodologia pode alterar o comportamento do estudo e levar a uma nova descoberta, assim esse fator pode contribuir para o grande volume de artigos de pesquisas publicados.

Já os artigos de revisão, pequena parcela das publicações, são chamados de trabalhos de fonte secundária. Em tese eles utilizam dos artigos de fonte primária para construir uma base de entendimento e análise sobre um determinado assunto. Apesar do artigo de revisão ser um trabalho que pode ser influenciado pela perspectiva do autor, ele pode utilizar dados qualitativos e quantitativos para construir sua análise. Dessa forma, os artigos de revisão possuem grande importância no setor de pesquisa, pois fornecem uma análise sistemática sobre a pesquisa, além de ser responsável por revisar conceitos, encontrar padrões, falhas, avaliar metodologias e resultados, encontrar novas interpretações e percepções sobre o estudo. Em geral, os estudos de revisão são concentrados em pesquisas emergentes, esse fator é devido a capacidade dos trabalhos de revisão de aumentar a relevância e impacto de artigos de pesquisas, dado que esses são citados nas revisões e outros artigos e criam um aglomerado ou rede de conexões através das citações (MORGAN, R. L., 2022; NASSI-CALÒ, 2021; PALMATIER; HOUSTON; HULLAND, 2018).

Assim, podemos avaliar, através da figura 5.6, que de 2013 em diante a quantidade de artigos de pesquisa se apresentou comumente muito superior aos de revisão. Já a partir de 2019, vemos que esse comportamento se altera e assim podemos observar há uma variação crescente nos trabalhos de revisão desenvolvidos a partir desse ano, em comparação aos trabalhos de pesquisa. Esse dado leva em consideração a mobilização científica em torno do entendimento e desenvolvimento de soluções em combate ao novo coronavírus no período.

Figura 5.6 – Distribuição da natureza das publicações por ano

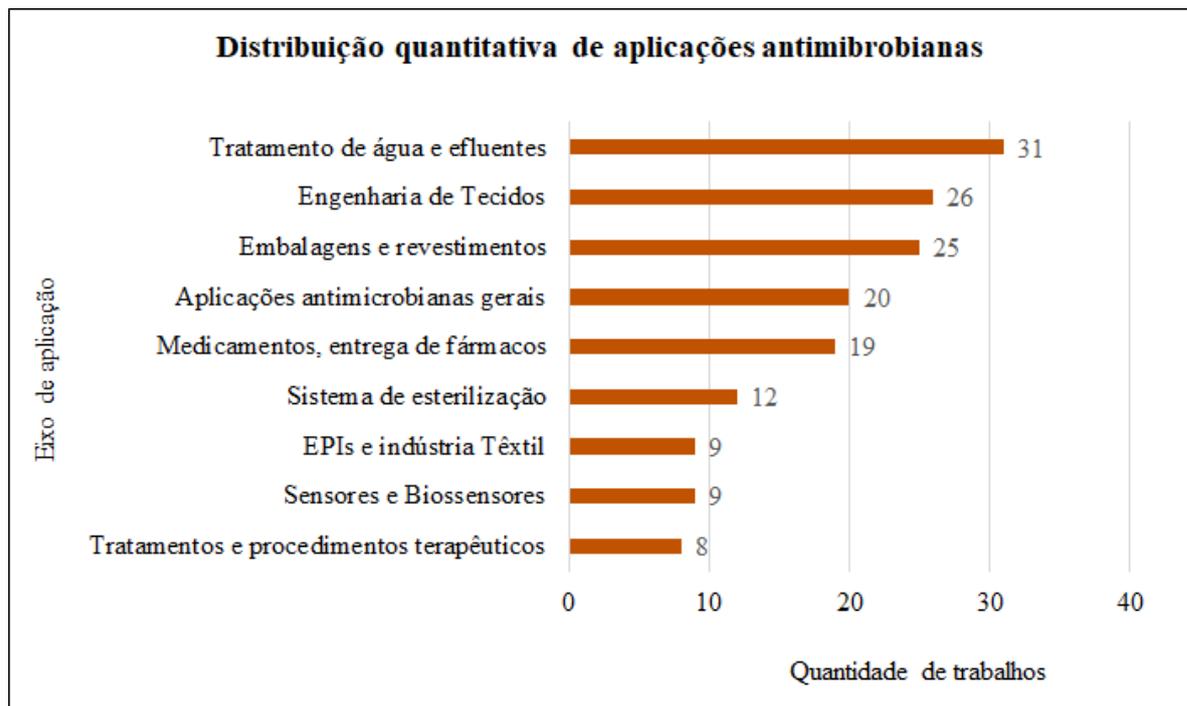


Fonte: Próprio autor.

5.5 Análise da distribuição das aplicações e áreas de conhecimento

Um dos objetivos dos trabalhos foi identificar quais as principais aplicações que os nanocompósitos de grafeno estão inseridos e a partir disso avaliar qual aplicação tem maior aplicabilidade. Apoiado nesse objetivo, foi traçado o perfil de distribuição de aplicações citadas, conforme ilustrado na figura 5.7.

Figura 5.7 – Distribuição de aplicações citadas



Fonte: Próprio autor.

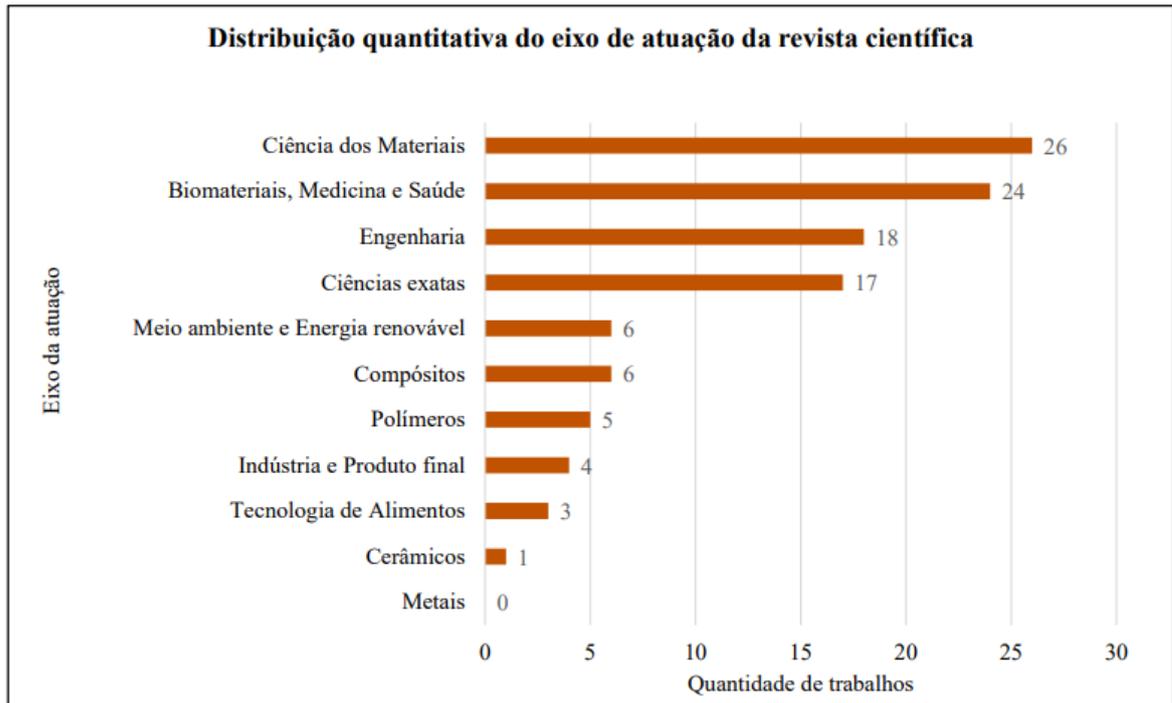
Os artigos foram agrupados e classificados por eixo de aplicação final citada. Em relação a esse perfil de distribuição, podemos observar que a contabilização final da quantidade de cada eixo de classificação é igual a 159, diferente do número total de artigos selecionados. Conforme discutido na seção 5.4, dentre os 110 trabalhos selecionados, existem artigos de pesquisa e artigos de revisão. Em alguns casos, esses trabalhos são destinados a uma única aplicação final específica, mas para outros foi observado algumas considerações: muitos artigos de pesquisa citam apenas aplicações antimicrobianas gerais, sem indicação de alguma em específico e ou citam mais de uma possibilidade de aplicação; muitos artigos de revisão fazem síntese das principais utilizações, apresentando assim várias aplicações finais para os sistemas antimicrobianos de grafeno. Mas, realizando um cálculo proporcional ao total de trabalhos selecionados, podemos indicar que as principais aplicações citadas são

destinadas ao tratamento de água e efluentes (28,2%), Engenharia de tecidos (23,6%), embalagens e revestimentos (22,7%).

Um dos primeiros trabalhos encontrados em 2013 foi o estudo de Wang et al. (2013) que relaciona a utilização de materiais baseados em grafeno para purificação de águas residuais, com capacidade de adsorção degradação fotocatalítica de poluentes inorgânicos, orgânicos e ação bactericida para sistemas de separação e purificação de líquidos e gases. Em consequência do alto nível populacional do planeta e intensa utilização dos recursos naturais, o eixo de tratamento de água e efluentes é um assunto importante e abordado em grande volume em diversas áreas de aplicação. Os recursos hídricos são utilizados desde o ambiente doméstico ao industrial e agropecuário, esses processos liberam no meio ambiente um grande volume de resíduos urbanos, contaminantes químicos, físicos e biológicos (WANG et al., 2013).

Atualmente, o tema ainda é um assunto muito abordado e discutido nas pesquisas, como é exemplo do estudo mais recente de Omran e Baek (2022), em que eles realizam uma revisão sobre quais são as perspectivas atuais e futuras em torno do emprego de nanocompósitos antibacterianos baseados em grafeno para desinfecção de água. Entre as aplicações citadas por Omran e Baek, podemos encontrar sistemas de esterilização, que envolve o comportamento fotocatalítico desses nanocompósitos; e membranas de ultrafiltração com capacidade anti-bioincrustante e antibacteriana. Além disso, o estudo apresenta um excelente material de referência bibliográfica sobre propriedades, métodos de síntese, comportamento, características e interações físico-químicas dos nanomateriais e nanocompósitos, mecanismos antimicrobianos, biossegurança e biocompatibilidade dos sistemas (OMRAN; BAEK, 2022).

Figura 5.8 – Distribuição da área de conhecimento da revista



Fonte: Próprio autor.

A figura 5.8 representa o perfil de distribuição da área de conhecimento da revista de publicação.

É interessante observar também que ao realizar o cruzamento dos dados identificamos que o segundo maior eixo de conhecimento das revistas é relacionado a Biomateriais, Medicina e Saúde, mesma posição em que a Engenharia de tecidos ocupa no ranking de aplicações citadas. Dentre o eixo da Engenharia de tecidos, foram encontradas algumas soluções para a utilização de nanocompósitos de grafeno antimicrobianos, são elas:

- a. Curativos, bandagens e bioadesivos;
- b. Mantas/Scaffolds;
- c. Próteses e implantes.

Puértolas e Kurtz (2014) sintetizaram em seu trabalho os ganhos no comportamento mecânico, tribológico e de estabilidade química ao aplicar grafeno como reforço em próteses ortopédicas de Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM). Além disso, os autores discutem a biocompatibilidade desse nanocompósito aliada a uma ação antibacteriana. As propriedades biológicas são dependentes de fatores em relação a síntese, processamento, tamanho, morfologia, defeitos estruturais, concentração, grupos funcionais e cargas presentes no material. Outros estudos evidenciam que há uma diferença nos resultados de biocompatibilidade e desempenho antibacteriano quando utiliza óxido de grafeno (GO), óxido

de grafeno reduzido (rGO) ou outros tipos de grafeno. Entretanto, conhecendo a parametrização adequada, esses nanomateriais resultaram em uma otimização nos mecanismos de diferenciação e proliferação de células (PUÉRTOLAS; KURTZ, 2014).

Chen et al. (2016) produziram nanocompósitos de óxido de zinco com óxido de grafeno carboxilado (ZnO/GO-COOH) para aplicações osteogênicas. Em seu estudo os nanocompósitos apresentaram baixa citotoxicidade juntamente com o favorecimento de formação de células osteoblásticas. Nesse sistema o óxido de grafeno carboxilado atuou como um controlador de liberação de íons de zinco, fornecendo locais de ancoragem e armazenamento de NPZnO. Para o processo de diferenciação e proliferação celular o nível de íons de Zn é um fator determinante, dado que altos níveis de íons Zn no organismo acarretam respostas citotóxicas, desregulação e ou supressão das proteínas e moléculas responsáveis pelos mecanismos de desenvolvimento celular. Além disso, o grupo COOH presente no grafeno alterou as propriedades superficiais, em termos de molhabilidade, auxiliando a adesão de proteínas, devido ao favorecimento da hidrofiliabilidade e em termos de rugosidade apropriada para crescimento de células. Sobre a ação antibacteriana, os nanocompósitos de ZnO/GO-COOH mostram resultados promissores, dado que tanto os íons de Zn quanto o GO possuem propriedades bactericidas contra *Streptococcus mutans*. Para os íons de Zn o mecanismo bactericida é atribuído ao transporte de íons pelos canais iônicos da membrana bacteriana, que levam a desregulação celular. Para o GO o mecanismo é associado a interface de contato pelas bordas afiadas das nanopartículas, que causam danos e rompimentos da estrutura, além da transferência de carga, estresse oxidativo e formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), causando a morte celular (CHEN et al., 2016).

Muitos outros trabalhos relacionados apresentam a utilização do grafeno em benefício da regeneração celular e implantes. Como é caso dos estudos a seguir:

- Mazaheri et al. (2014) sintetizaram um filme flexível de quitosana (QS) reforçado com GO antibacteriano para proliferação de células-tronco mesenquimais humanas (CTMHs/hMSCs). O estudo mostrou que a adição de GO melhorou Módulo de elasticidade e a resistência à tração da QS em função das fortes ligações de hidrogênio entre o grupamento amina da QS e GO; O óxido de grafeno melhorou o desempenho bactericida da QS contra *Staphylococcus aureus*; o crescimento de hMSCs foi melhorado a uma concentração de 1,5% em peso de GO (MAZAHERI et al., 2014);
- Kandiah et al. (2014) estudaram o desempenho de nanocompósitos de TiO₂/GO, preparados pelo método sol-gel, onde foi estabelecido uma otimização nas características de intumescimento em água e em solução salina tamponada com fosfato

(PBS), levando a uma melhor absorção de nutrientes, melhor superfície de adesão de células e baixa citotoxicidade; os nanocompósitos com concentração de 2 e 2g de GO são os que possuem a razão Ca/P mais similar ao do organismo humano (1,5-1,67), dessa forma favorecem a formação de hidroxiapatita nas proporções corretas; e as propriedades antibacterianas não obtiveram resultados relevantes, dado que a interação entre a célula bacteriana e o material foi considerada nula, não sendo possível avaliar esse comportamento (KANDIAH et al., 2014).

- Esmaeili et al. (2020) produziram, por eletrofiação, mantas nanocompósitas (*scaffolds*) com ação antimicrobiana à base de celulose/poliuretano impregnadas com rGO/NPAGs e ou curcumina, para auxílio de cicatrização de feridas cutâneas. Entre os resultados observados pelos autores podemos destacar: a presença de rGO/NPAGs e curcumina diminuiu consideravelmente o diâmetro das fibras poliméricas, esse fator levou a um aumento da porosidade da manta e melhorou a disponibilidade de área superficial para adesão de células e transferência de moléculas e nutrientes, levando a uma cicatrização mais eficiente; a presença de rGO/NPAGs conferiu maior hidrofiliabilidade, para a curcumina não houve resultados relevantes; a propriedades mecânicas foram melhoradas com a presença de rGO/NPAGs, ao contrário da curcumina, em que a propriedades diminuíram; e em relação a ação antibacteriana o scaffolds que continham rGO/NPAGs e curcumina conferiram uma taxa de mortalidade de bactérias Gram-positivas de 100% e bactérias Gram-negativas de 95%, mostrando assim resultados satisfatórios sobre a otimização da cicatrização de feridas (ESMAEILI et al., 2020).

Para exemplificar as aplicações em revestimentos e embalagens, terceiro lugar no ranking de publicações, temos os estudos de Fauzi et al. (2022), onde os autores produzem um filme nanocompósito de poliacrilamida/GO/óleo essencial de cravo-da-índia com propriedades antimicrobianas benéficas para aplicação em embalagens e revestimentos. Outro trabalho relevante é o de De Carvalho e Júnior (2020) que reúne, em uma revisão sistemática estratégias sustentáveis para a fabricação de embalagens de alimentos ativas. Em sua revisão, os autores apresentam a utilização de polímeros biodegradáveis em associação aos nanomateriais à base de grafeno contra fungos e bactérias, além de considerar um cenário favorável à ação antiviral (FAUZI et al., 2022; DE CARVALHO; JÚNIOR, 2020).

Podemos citar ainda muitas outras aplicações promissoras que contém um alto número de divulgações, tais como tecidos, EPIs, entrega de drogas, medicamentos, cosméticos,

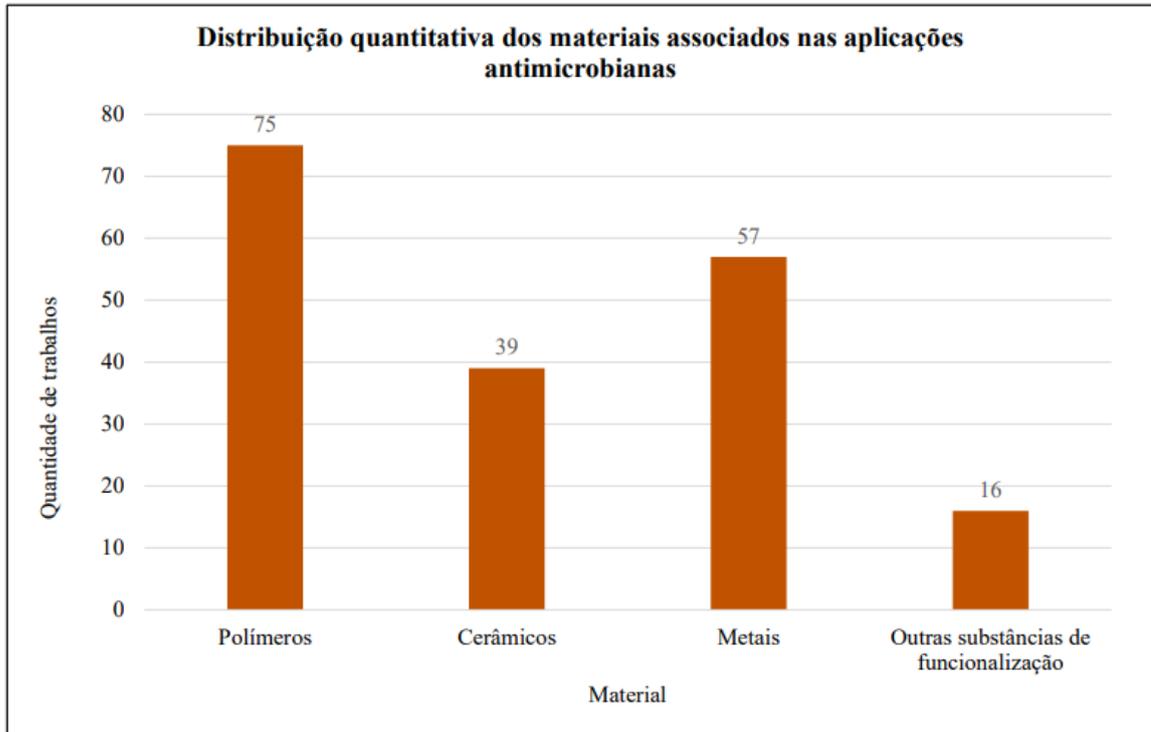
biossensoriamento de moléculas, biomoléculas e substâncias resultantes da ação de biocidas. Entre os trabalhos selecionados foi encontrado também aplicações mais inéditas, como comportamento antimicrobiano do grafeno em matriz cimentícia, matriz metálica em construções civis, aplicações na odontologia e outras. Essas aplicações diversas se enquadram na categoria ‘Aplicações antimicrobianas gerais’, presente na figura 5.7 e juntas representam cerca de 18,2% das citações nos 110 artigos selecionados.

No contexto de soluções que auxiliam o sensoriamento e detecção de agentes patógenos, podemos relacionar o trabalho de Rhazouani et al. (2021). Em seu trabalho os autores apresentam a potencial aplicação de nanocompósitos de grafeno em biossensores capazes de detectar a presença de patógenos infecciosos, tais como SARS-CoV-2, vírus da dengue (DENV), vírus da hepatite B, entre outros. Os dispositivos de detecção operam por dois principais métodos, o método de edição genética (CRISPR) e o método de identificação de anticorpos específicos de antígenos virais. Além disso, podem ainda atuarem na identificação de biomarcadores, proteínas e outras biomoléculas atuantes nos processos imunológicos (RHAZOUANI et al., 2021).

5.6 Análise do material empregado

Um dos objetivos do trabalho é avaliar a aplicabilidade do grafeno para fins antimicrobianos associado a nanocompósitos poliméricos. Por tanto, uma das métricas mapeadas e analisadas, entre os artigos selecionados, foi o tipo de material associado ao grafeno mapeado nesses sistemas. A figura 5.9 representa a distribuição quantitativa dos materiais citados entre os trabalhos analisados.

Figura 5.9 – Distribuição de materiais utilizados nos trabalhos



Fonte: Próprio autor.

No mesmo sentido da análise da seção 5.5, ao totalizar as citações para o eixo de polímeros, cerâmicos, metais e outras substâncias de funcionalização, podemos observar que esse valor extrapola a quantidade total de artigos selecionados. Pelo mesmo motivo discutido na seção anterior, muitos artigos citam mais de uma aplicação e dessa forma apresentam mais de uma possibilidade de material associado, podendo esses estarem em eixos diferentes. Para trazer uma distribuição percentual dos materiais utilizados, foi feito o cálculo proporcional aos 110 trabalhos escolhidos, apresentados na tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Percentual de citações do material associado

Material associado	% sobre o total de artigos selecionados	Total
Polímero	68,2%	110
Cerâmico	35,5%	
Metal	51,8%	
Outras substâncias de funcionalização	14,5%	

Fonte: Próprio autor.

No do eixo de materiais poliméricos foi relacionado os polímeros com o maior número de menções entre os 75 artigos que abordam esses materiais. Com 20% das menções, temos a quitosana, onde 15 trabalhos entre os 75 citam esse polímero em associação ao grafeno em

nanocompósitos antimicrobianos. A quitosana (QS) é um polissacarídeo natural obtido através da quitina, composto presente na superfície externa de crustáceos. Esse material é um catiônico semicristalino com vários grupos funcionais amina e hidroxila em sua estrutura, devido a isso é um material polar com carga parcial positiva, facilmente protonado em meio ácido e com forte interação íons metálicos, moléculas e compostos carregados negativamente, como é o caso do GO. Essas mesmas características químicas conferem a quitosana biocompatibilidade, não citotoxicidade, biodegradabilidade, propriedades antimicrobianas e propriedades de melhoria do desenvolvimento celular no organismo animal. Por consequência, a quitosana é amplamente utilizada em diversas aplicações biomédicas, que variam desde biossensores, entrega controlada de fármacos e moléculas, engenharia de tecidos, implantes, próteses, embalagens, revestimentos, dentre outras utilizações (RYU et al., 2013; ORDIKHANI et al., 2015).

No trabalho de Khalil et al. (2020), podemos observar a preparação de um nanocompósito antimicrobiano de GO e QS para utilização em curativos e medicamentos de uso tópico. Os resultados mostraram uma eficácia contra a proliferação de bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*), Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*) e fungos (*Candida tropicalis* e *Candida albicans*). Os principais mecanismos de inibição dos patógenos discutidos no trabalho foram estresse oxidativo, dano físico e obstrução de contato. Esses mecanismos levaram a remoção de fosfolipídios, destruição da estrutura celular e formação de espécies reativas de oxigênio, que promovem a oxidação e peroxidação de ácidos nucleicos, lipídeos e proteínas, levando a morte celular. É levado em consideração também a contribuição da QS na ação antimicrobiana, onde esse comportamento é atribuído a interação com os grupos amina que levam à desestabilização de lipídeos e proteínas (KHALIL et al., 2020).

Em segundo lugar, também com 20% de citações, temos a celulose e em terceiro, com 16%, o poli(álcool vinílico) (PVA). Ambos os polímeros são biocompatíveis, biodegradáveis, são atóxicos ao organismo, podem ser processados na forma de fibras, cristais, pellets e são utilizados em revestimentos, embalagens, indústria têxtil, purificação de água, *scaffolds*, sensores, curativos, hidrogéis, entre outras aplicações biomédicas. Além disso, estudos apresentam o comportamento antimicrobiano desses polímeros em associação com o grafeno e outras nanopartículas, onde tem respostas relacionadas aos principais mecanismos antimicrobianos (LIU et al., 2017; HU et al., 2017).

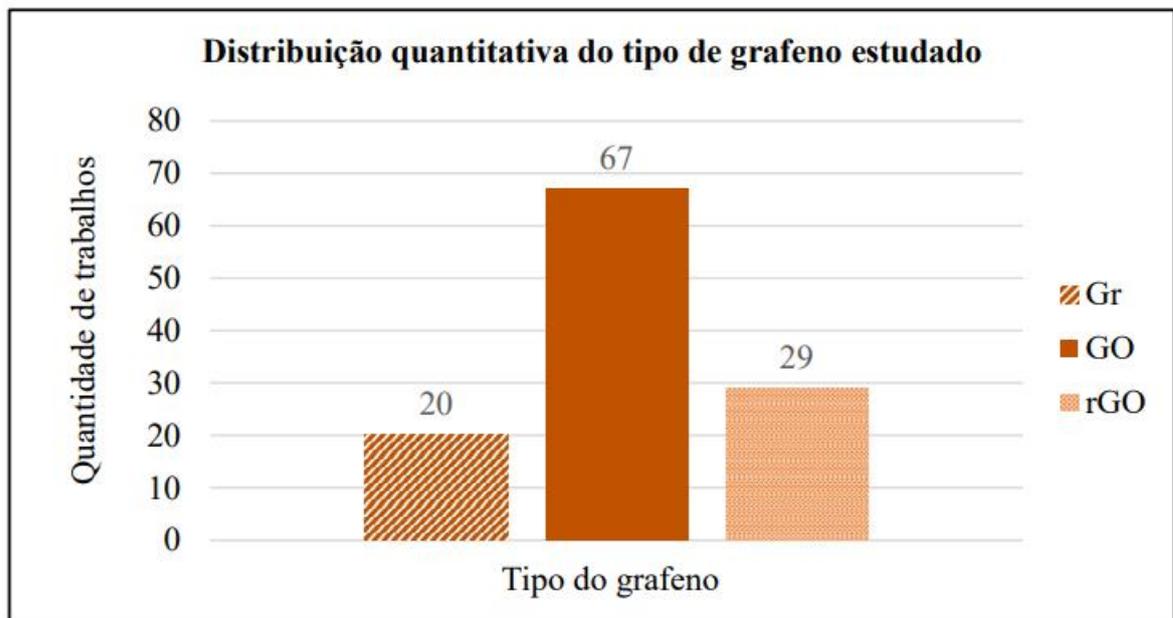
Entre os demais eixos de materiais citados, podemos destacar que 46 artigos (82,1% de 57 artigos que citam metais), aplicam nanopartículas de prata (NPAGs). Entre os 39

trabalhos que mencionam materiais cerâmicos, 10 artigos (29,4%) citam nanopartículas de óxido de titânio (NPTiO₂). Outros materiais diversos podem ser encontrados entre os trabalhos analisados, são eles polidopamina (PDA), polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM), outros polímeros, hidroxiapatita, cimento Portland, vidro, aço, cerâmica dentária, fármacos, aminoácidos, substâncias biocidas, óleos e substratos vegetais.

5.7 Análise do tipo de grafeno e mecanismo de ação antimicrobiano

Uma das perguntas-chaves que conduz o trabalho é a potencial ação antimicrobiana do grafeno. Visto que, o desempenho antimicrobiano do nanocompósito é determinado pelas interações físico-químicas entre o microrganismo e material, é fundamental conhecer os mecanismos de ação antimicrobiana dos materiais e os fatores que o influenciam. Com base nesse princípio, foi feito o levantamento do tipo de grafeno associado em cada trabalho, representado na figura 5.10, e com base nesse resultado foi discutido os fatores que influenciam nos mecanismos de ação desse nanomaterial.

Figura 5.10 – Distribuição do tipo de grafeno utilizado nos trabalhos



Fonte: Próprio autor.

A figura 5.10 representa a distribuição quantitativa de citações sobre o tipo de grafeno empregado em nos sistemas antimicrobianos. Para essa distribuição foi aplicado o mesmo cálculo percentual discutido em seções anteriores, onde foi feito um cálculo proporcional ao

total de trabalhos selecionados. A partir disso, demonstramos que 60,9% (67 trabalhos) utilizam o óxido de grafeno (GO) para alcançar e/ou aprimorar as propriedades antimicrobianas do nanocompósito, 26,4% (29 trabalhos) utilizam óxido de grafeno reduzido (rGO) e 18,2% (20 trabalhos) associaram o grafeno puro, sem modificação química.

O GO são folhas de grafeno que quando levadas à oxidação ganham grupos funcionais hidroxila, carbonila, carboxila, epóxi e fenol nas bordas e no plano basal das folhas. A oxidação confere a esse nanomaterial uma área superficial superior, devido a formação de defeitos superficiais (poros) que levam a uma alta rugosidade, confere alta interação química e eletrostática com íons metálicos, biomoléculas e outras moléculas carregadas. Os poros formados são capazes de armazenar proteínas, fármacos, fatores de crescimento e outras substâncias. Além disso, em geral melhora a estabilidade química de compósitos e dispersão em água. Conforme a densidade desses grupos funcionais, o GO pode ter uma variação em sua hidrofiliabilidade, capacidade de promover estresse oxidativo e interação eletrostática com os microrganismos. O dano físico dos microrganismos é afetado pela morfologia das folhas de grafeno (USMAN et al., 2016; MATOS; GALEMBECK; ZARBIN, 2017; KHALIL et al., 2020; OMRAN; BAEK, 2022).

A alta atribuição do GO é devido às melhores propriedades, relacionadas biocompatibilidade e ação antimicrobiana, em comparação ao grafeno, que não possui a funcionalização, e ao óxido de grafeno reduzido que possui menos grupos funcionais. Devido a essas características podemos compreender os benefícios de utilizar o GO em aplicações antimicrobianas (USMAN et al., 2016; MATOS; GALEMBECK; ZARBIN, 2017; KHALIL et al., 2020; OMRAN; BAEK, 2022).

Com base nos principais mecanismos ação antimicrobianos dos nanomateriais (estresse oxidativo, interação eletrostática e dano físico), relacionamos que o modo de ação, em resumo, é dado a nível de interação com proteínas, lipídios e ácidos nucleicos dos microrganismos e é afetado pelas características físico-químicas do grafeno e do microrganismo (FATIMA et al., 2021; OMRAN; BAEK, 2022). A tabela 5.3 a relaciona os fatores que afetam as propriedades antimicrobianas e sua e sua influência correspondente.

Tabela 5.3 – Fatores que afetam a atividade antimicrobiana de Gr e seus derivados

Fator	Influência sobre a atividade antimicrobiana
Tipo de microrganismo	A ação antimicrobiana pode ser afetada devido às variações de morfologia, estrutura e dimensão dos diferentes tipos de microrganismos. Microrganismos mais simples podem ter um maior efeito da ação

	antimicrobiana em comparação aos microrganismos mais complexos.
Tipo de grafeno	É afetada devido a diferença de densidade de grupos funcionais, carga, poros, rugosidade, variação na hidrofiliabilidade e biocompatibilidade, influenciando diretamente na interação com os microrganismos e mecanismos. Devido a isso, afeta também a dispersão nos compósitos e pode dificultar o contato nanomaterial-microrganismo.
Tamanho da folha de grafeno	Afeta a interação superficial com os microrganismos. Folhas menores possuem alta densidade de grupos funcionais por área, facilitam, por exemplo, a interação química, produção de ROS e dano físico. Folhas maiores possuem maior capacidade de aprisionamento e obstrução de contato. O tamanho pode ainda influenciar a dispersão do nanomaterial na matriz compósita.
Número de camadas	Afeta a dispersão nos sistemas e a energia de ligação. Maior número de camadas pode levar à aglomeração do nanomaterial, menor efeito de dano físico e significa uma maior barreira energética de interação com os microrganismos, sendo assim prejudica os mecanismos que dependem dessa interação e contato. Os mecanismos são beneficiados com a redução de camadas.
Concentração de grafeno e tempo de exposição	Em condições muito baixas podem ser insuficientes para a interação entre o microrganismo e nanomaterial ou ainda levar a uma toxicidade para a célula mamífera em condições muito altas.

Fonte: Próprio autor adaptado de FATIMA et al., 2021; OMRAN; BAEK, 2022.

6 CONCLUSÃO

Em vista dos resultados levantados e discutidos no presente trabalho, podemos compreender o panorama em torno do desenvolvimento de soluções e aplicações antimicrobianas utilizando nanocompósitos poliméricos com grafeno. Em resumo podemos destacar os seguintes resultados:

- a. Nos últimos 10 anos, o campo científico apresentou interesse progressivo em pesquisas que envolvem a aplicação antimicrobiana do grafeno, onde os artigos publicados em 2022 são aproximadamente 25 vezes maiores que os artigos publicados em 2013. Destacamos um elevado crescimento de pesquisas entre os anos de 2019 e 2022, justificado pela grande mobilização e estimulação da comunidade científica no período de pandemia causado pelo COVID-19. O incentivo ajudou a entender a doença e seus impactos, bem como encontrar alternativas de combate, tratamento e prevenção contra o novo coronavírus.
- b. Os países destaques nas pesquisas foram China, Índia e Irã, que apresentaram semelhanças ou até mesmo um ponto de encontro na produção científica devido à proximidade territorial e foram países que nos últimos anos grande apoio e incentivo nos investimentos em universidades e no setor de pesquisa, principalmente no período de pandemia pelo COVID-19. O Brasil, embora tenha um crescimento mais suave, apresentou importantes contribuições e faz parte dos 31 países mais importantes do mundo no meio científico.
- c. Em termos de natureza de trabalho, foi observado que a maioria das publicações são artigos de pesquisa (trabalho de fonte primária), o que demonstrou que a comunidade científica estava dedicada na expansão tecnológica. Entretanto, os artigos de revisão (trabalhos de fonte secundária), embora em menor número, são capazes de fornecer uma análise sistemática, revisar conceitos, encontrar padrões, falhas, avaliar metodologias e resultados, encontrar novas interpretações e percepções sobre o estudo, tendo assim grande importância para o setor. Foi observado também o aumento desse tipo de trabalho no período de pandemia, dado que esse tipo de trabalho é característico de pesquisas com temas emergentes.
- d. Sobre as aplicações e áreas de conhecimento, temos as três principais áreas, tratamento de água e efluentes (28,2%), Engenharia de tecidos (23,6%), embalagens e revestimentos (22,7%). O tratamento de água e efluentes é um tema ainda muito abordado e discutido nas pesquisas, devido alto nível populacional do planeta e

intensa utilização dos recursos naturais e liberação de grande volume de resíduos urbanos, contaminantes químicos, físicos e biológicos no meio ambiente. Na Engenharia de tecidos podemos encontrar aplicações curativos, bandagens e bioadesivos, mantas/scaffolds, próteses e implantes. O interesse nessa área é devido a possibilidade de aliar as propriedades antibacterianas com bons resultados em torno da biocompatibilidade, biodegradabilidade e otimização da regeneração celular. Para aplicações em revestimentos e embalagens, foi observado pesquisas relevantes para a indústria alimentícia, com embalagens ativas, setor médico e hospitalar como revestimento de superfícies.

- e. Os materiais mais utilizados foram os polímeros, com 68,2% das citações, onde a quitosana, celulose e PVA, foram os polímeros mais associados nas pesquisas. Polímeros com ampla utilização no setor biomédico, dentre outros, devido às propriedades de biocompatibilidade, não citotoxicidade, biodegradabilidade, propriedades antimicrobianas e propriedades de melhoria do desenvolvimento celular no organismo animal. Para os demais materiais, temos as nanopartículas de prata (NPAGs) representando a maioria das citações para o eixo de metais, as nanopartículas de óxido de titânio (NPTiO₂) representando o eixo de cerâmicos, além de materiais diversos citados em algumas publicações, como hidroxiapatita, cimento Portland, vidro, aço, cerâmica dentária, fármacos, aminoácidos, substâncias biocidas, óleos e substratos vegetais.
- f. Para o tipo de grafeno, o óxido de grafeno (GO) obteve a maioria das aplicações, com 60,9% (67 trabalhos). O GO possui características próprias que justifica a sua alta utilização em sistemas antimicrobianos em comparação às outras variações do grafeno, são elas: presença de grupos funcionais hidroxila, carbonila, carboxila, epóxi e fenol nas bordas e no plano basal das folhas; área superficial superior; maior disponibilidade de defeitos superficiais (poros); alta rugosidade, alta interação química e eletrostática com íons metálicos, biomoléculas e outras moléculas carregadas. Essas características promovem armazenamento de proteínas, fármacos, fatores de crescimento e outras substâncias, melhora a estabilidade química de compósitos, biocompatibilidade, melhora a hidrofiliabilidade, e conseqüentemente melhora a ação antimicrobiana dos mecanismos de estresse oxidativo, interação eletrostática e dano físico. E em relação aos mecanismos, foi relacionado também que as características físico-químicas do grafeno e do microrganismo a afetam diretamente no modo de ação antimicrobiano.

Com base nesses principais resultados, podemos concluir e responder as perguntas-chaves que conduziram esse trabalho. O grafeno possui uma grande potencialidade em aplicações antimicrobianas, onde foi destacado que, além de promover atividade antimicrobiana, esse material tem capacidade de otimizar ação dos sistemas e otimizar outras propriedades do nanocompósitos. O panorama atual de pesquisas em torno de nanocompósitos, que abordam a atividade antimicrobiana do grafeno, mostrou resultados promissores e bem desenvolvidos. Além disso, apoiado nesse panorama identificamos as principais aplicações, materiais, mecanismos e respostas abordadas nas produções científicas nos últimos 10 anos.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Considerando a os resultados e discussões apresentados no presente trabalho de conclusão de curso, observamos a potencialidade da utilização de quitosana e grafeno em aplicações do campo biomédico e demais áreas. Dessa forma, sugere-se em trabalhos futuros desenvolver estudos experimentais partindo da produção de filmes nanocompósitos de quitosana com diferentes concentrações de óxido de grafeno, em sequência realizar caracterizações físico-químicas, parametrização das condições ótimas de produção dos nanocompósitos e testes de comportamento e desempenho antimicrobiano em meio de cultura.

Levando em conta a potencialidade de outros materiais que são bem citados entre os trabalhos, sugere-se a realização de experimentos em sistemas híbridos, tais como polímero/grafeno/nanopartículas metálicas, e assim conduzir a avaliação de performance desses sistemas. Após a realização dos estudos experimentais será possível indicar os nanocompósitos à uma aplicação específica, como por exemplo scaffolds, curativos, filmes para revestimentos, entre outros.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2021. Alerta 3558 (Tecnovigilância) – ALERTA DE SEGURANÇA – Uso de máscaras faciais que contêm grafeno ou biografeno podem representar riscos à saúde. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13?p_p_id=101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2&p_p_col_id=column-1&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_groupId=33868&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_urlTitle=alerta-3558-tecnovigilancia-alerta-de-seguranca-uso-de-mascaras-faciais-que-contem-grafeno-ou-biografeno-podem-representar-riscos-a-saude-&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_assetEntryId=6286546&_101_INSTANCE_WvKKx2fhdjM2_type=content>. Acesso em: 20 Jan. 2022.
- AZIZI-LALABADI, M.; HASHEMI, H; FENG, J.; JAFARI, S. M. Carbon nanomaterials against pathogens; the antimicrobial activity of carbon nanotubes, graphene/graphene oxide, fullerenes, and their nanocomposites. **Advances in Colloid and Interface Science**, p. 102250, 2020.
- BAPTISTA, F. R.; BELHOUT, S. A; GIORDANIBAND, S.; QUINN, J. Recent developments in carbon nanomaterial sensors. *Chemical Society Reviews*, v. 44, n. 13, p. 4433-4453, 2015.
- BAPTISTA, R.; GUEDES, M. Morphological and mechanical characterization of 3D printed PLA scaffolds with controlled porosity for trabecular bone tissue replacement. **Materials Science and Engineering: C**, v. 118, p. 111528, 2021.
- BARBOSA, A. M. **Obtenção e aplicação biológica de nanocompósitos à base de óxido de grafeno**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.
- BRERETON, P.; KITCHENHAM, B. A.; BUDGEN, D.; TURNER, M.; KHALIL, M. Lessons from applying the systematic literature review process within the software engineering domain. **Journal of systems and software**, v. 80, n. 4, p. 571-583, abr. 2007.
- CALLISTER JUNIOR, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia dos materiais: uma introdução**. 8. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 817 p.
- CANEVAROLO JR, S. V. **Ciência dos polímeros: um texto básico para tecnólogos e engenheiros**. 2. Ed. São Paulo: Artliber Editora, 2006. 282 p.
- CHEN, J.; ZHANG, X.; CAI, H.; CHEN, Z.; WANG, T.; JIA, L.; WANG, J.; WAN, Q.; PEI, X. Osteogenic activity and antibacterial effect of zinc oxide/carboxylated graphene oxide nanocomposites: Preparation and in vitro evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 147, p. 397-407, 2016.

CHIZARI, K.; ARJMAND, M.; LIU, Z.; SUNDARARAJ, U; THERRIAULT, D. Three-dimensional printing of highly conductive polymer nanocomposites for EMI shielding applications. **Materials Today Communications**, v. 11, p. 112-118, 2017.

COTRIM, M. A. P. **Produção de fios contínuos a partir de nanofibras de policaprolactona/seda contendo pontos quânticos de carbono para aplicação em biotêxtil**. 2020. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Engenharia. Belo Horizonte, 2020.

DE NEGRI, F.; ZUCOLOTO, G.; MIRANDA, P.; KOELLER, P. Ciência e Tecnologia frente à pandemia: Como a pesquisa científica e a inovação estão ajudando a combater o novo coronavírus no Brasil e no mundo. **Centro de Pesquisa em Ciência, Tecnologia e Sociedade**, 2020. Disponível em: < <https://www.ipea.gov.br/cts/pt/central-de-conteudo/artigos/artigos/182-corona> >. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

DE CARVALHO, Anna Paula Azevedo; JUNIOR, Carlos Adam Conte. Green strategies for active food packagings: A systematic review on active properties of graphene-based nanomaterials and biodegradable polymers. **Trends in Food Science & Technology**, v. 103, p. 130-143, 2020.

DUARTE, C. **Água sanitária pode reduzir toxicidade de óxido de grafeno - CNPEM**. 2021. Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM). Disponível em: <<https://cnpem.br/agua-sanitaria-pode-reduzir-toxicidade-de-oxido-de-grafeno/>>. Acesso em: 20 Jan. 2022.

ENGELKIRK, P. G.; DUBEN-ENGELKIRK, J.; FADER, R. C. **Burton's microbiology for the health sciences**. 9. ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2011. ISBN 978-1-60913-321-4.

ESMAEILI, E. ESLAMI-ARSHAGHI, T.; HOSSEINZADEH, T.; Elahirad, E.; JAMALPOOR, Z.; HATAMIE, S.; SOLEIMANI, M. The biomedical potential of cellulose acetate/polyurethane nanofibrous mats containing reduced graphene oxide/silver nanocomposites and curcumin: Antimicrobial performance and cutaneous wound healing. **International journal of biological macromolecules**, v. 152, p. 418-427, 2020.

FATIMA, N.; QAZI, U. Y.; MANSHA, A.; BHATTI, I. A.; JAVAID, R.; ABBAS, Q.; NADEEM, N.; REHAN, Z. A.; NOREEN, S.; ZAHID, M. Recent developments for antimicrobial applications of graphene-based polymeric composites: A review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2021.

FAUZI, Fika et al. Synthesis of polyacrylamide/graphene oxide/clove essential oil composite via physical adsorption method for potential antibacterial packaging applications. **Nano-Structures & Nano-Objects**, v. 32, p. 100908, 2022.

FREITAS, W. R. S.; JABBOUR, C. J. C. Utilizando estudo de caso (s) como estratégia de pesquisa qualitativa: boas práticas e sugestões. **Revista Estudo & Debate**, v. 18, n. 2, 2011.

GEORGAKILAS, V.; PERMAN, J. A.; TUCEK, J.; ZBORIL, R. Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. **Chemical reviews**, v. 115, n. 11, p. 4744-4822, 2015.

GIRAUD, L.; TOURRETTE, A.; FLAHAUT, E. Carbon nanomaterials-based polymer-matrix nanocomposites for antimicrobial applications: a review. *Carbon*, 2021.

GUERRA, M. A. **Desenvolvimento e caracterização de compósitos de PET com partículas metálicas com atividade antimicrobiana**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2015.

HU, X.; REN, N.; CHAO, Y.; LAN, H.; YAN, X.; SHA, Y.; BAI, Y. Highly aligned graphene oxide/poly (vinyl alcohol) nanocomposite fibers with high-strength, antiultraviolet and antibacterial properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 102, p. 297-304, 2017.

HUANG, KS.; YANG, CH.; HUANG, SL.; CHEN, CY.; LU, YY.; LIN, YS. Recent advances in antimicrobial polymers: a mini-review. *International journal of molecular sciences*, v. 17, n. 9, p. 1578, 2016.

KANDIAH, K.; MUTHUSAMY, P.; MOHAN, S.; VENKATACHALAM, R. TiO₂-graphene nanocomposites for enhanced osteocalcin induction. **Materials Science and Engineering: C**, v. 38, p. 252-262, 2014.

KHALIL, W. F.; EL-SAYYAD, G. S.; EL ROUBY, W. M.; SADEK, M. A.; FARGHALI, A. A.; EL-BATAL, A. I. Graphene oxide-based nanocomposites (GO-chitosan and GO-EDTA) for outstanding antimicrobial potential against some *Candida* species and pathogenic bacteria. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 1370-1383, 2020.

KYZIOŁ, A.; KHAN, W.; SEBASTIAN, V.; KYZIOŁ, K. Tackling microbial infections and increasing resistance involving formulations based on antimicrobial polymers. **Chemical Engineering Journal**, v. 385, p. 123888, 2020.

LIU, L. P.; YANG, X. N.; YE, L.; XUE, D. D.; LIU, M.; JIA, S. R.; ZHONG, C. Preparation and characterization of a photocatalytic antibacterial material: Graphene oxide/TiO₂/bacterial cellulose nanocomposite. **Carbohydrate Polymers**, v. 174, p. 1078-1086, 2017.

MARQUES, F. Produção científica sobre Covid-19 afeta o equilíbrio da geração de conhecimento. **Centro de Pesquisa em Ciência, Tecnologia e Sociedade**, 2020. Disponível em: < <https://revistapesquisa.fapesp.br/producao-cientifica-sobre-covid-19-afeta-o-equilibrio-da-geracao-de-conhecimento/>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

MATHARU, R. K.; TABISH, T. A.; TRAKOOLWILAIWANA, T.; MANSFIELD, J.; MOGERC, J.; WUD, T.; LOURENÇO, C.; CHEN, B.; CIRIC, L.; PARKINE, I. P.; EDIRISINGHE, M. Microstructure and antibacterial efficacy of graphene oxide nanocomposite fibres. *Journal of colloid and interface science*, v. 571, p. 239-252, 2020.

MATOS, C. F.; GALEMBECK, F.; ZARBIN, A. J. G. Nanocompósitos multifuncionais de látex de borracha natural e nanoestruturas de carbono. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p. 73-96, 2017.

MATSUZOE, R. China tops U.S. in quantity and quality of scientific papers. **Nikkei Asia**, Tóquio, 10 de agosto de 2022. Disponível em: <<https://asia.nikkei.com/Business/Science/China-tops-U.S.-in-quantity-and-quality-of-scientific-papers>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

MAZAHERI, M.; AKHAVAN, O.; SIMCHI, A. Flexible bactericidal graphene oxide–chitosan layers for stem cell proliferation. **Applied Surface Science**, v. 301, p. 456-462, 2014.

MELO, S. F.; NEVES, S. C.; PEREIRA, A. T.; BORGES, I.; GRANJA, P. L.; MAGALHÃES, F. D.; GONÇALVES, I. C. Incorporation of graphene oxide into poly (ϵ -caprolactone) 3D printed fibrous scaffolds improves their antimicrobial properties. *Materials Science and Engineering: C*, v. 109, p. 110537, 2020.

MOHAMED, O. A.; MASOOD, S. H.; BHOWMIK, J. L. Optimization of fused deposition modeling process parameters: a review of current research and future prospects. **Advances in Manufacturing**, v. 3, n. 1, p. 42–53, 2015.

MORGAN, R. L. LSU Libraries, 2022. NFS 4021 Contemporary Topics in Nutrition: Research Articles vs Review Articles. Disponível em: <<https://guides.lib.lsu.edu/c.php?g=376856&p=2550574>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

MUÑOZ-BONILLA, A.; FERNÁNDEZ-GARCIA. M. Polymeric materials with antimicrobial activity. **Progress in Polymer Science**. V.37, pp.281– 339, 2012.

NASSI-CALÒ, L. O papel dos artigos de revisão vai além de sintetizar o conhecimento atual sobre um tema de pesquisa. **SciELO em perspectiva**, 2021. Disponível em: <<https://blog.scielo.org/blog/2021/07/14/o-papel-dos-artigos-de-revisao-vai-alem-de-sintetizar-o-conhecimento-atual-sobre-um-tema-de-pesquisa/#.Y3LX23bMLtR>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

NGO, T. D. KASHANI, A.; IMBALZANO, G.; NGUYEN, K. T. Q.; HUI, D. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. **Composites Part B: Engineering**, v. 143, p. 172–196, 2018.

OMRAN, B.; BAEK, K. Graphene-derived antibacterial nanocomposites for water disinfection: Current and future perspectives. **Environmental Pollution**, p. 118836, 2022.

OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde Américas. Folha informativa sobre COVID-19, 2022. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19>>. Acesso em: 17 Jan. 2022.

ORDIKHANI, F.; FARANI, M. R.; DEHGHANI, M.; TAMJID, E.; SIMCHI, A. Physicochemical and biological properties of electrodeposited graphene oxide/chitosan films with drug-eluting capacity. **Carbon**, v. 84, p. 91-102, 2015.

PALMATIER, Robert W.; HOUSTON, Mark B.; HULLAND, John. Review articles: purpose, process, and structure. **Journal of the Academy of Marketing Science**, v. 46, n. 1,

p. 1–5, 2017. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s11747-017-0563-4#citeas>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

PEDROSO, E. R. P.; ROCHA, M. O. C. Infecções emergentes e reemergentes. **Rev Med Minas Gerais**, v. 19, n. 2, p. 140-150, 2009.

PUÉRTOLAS, J. A.; KURTZ, S. M. Evaluation of carbon nanotubes and graphene as reinforcements for UHMWPE-based composites in arthroplastic applications: A review. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 39, p. 129-145, 2014.

RHAZOUANI, A.; AZIZ, K.; GAMRANI, H.; GEBRATI, L.; UDDIN, MD. S.; FAISSAL, A. Can the application of graphene oxide contribute to the fight against COVID-19? Antiviral activity, diagnosis and prevention. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, v. 2, p. 100062, 2021.

RIBEIRO, V. F. **Desenvolvimento de compósitos antimicrobianos à base de SEBS/PP aditivados com partículas de cobre**. 2019. Tese (Doutorado em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul, Escola de Engenharia. Porto Alegre, 2019.

RIGHETTI, S.; GAMBA, E. China passa EUA e lidera produção de ciência mundial pela primeira vez. **Folha de S.Paulo**, São Paulo, 26 de dezembro de 2021. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/ciencia/2021/12/china-passa-eua-e-lidera-producao-de-ciencia-mundial-pela-primeira-vez.shtml>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022.

RYU, H. J.; MAHAPATRA, S. S.; YADAV, S. K.; CHO, J. W. Synthesis of click-coupled graphene sheet with chitosan: Effective exfoliation and enhanced properties of their nanocomposites. **European Polymer Journal**, v. 49, n. 9, p. 2627-2634, 2013.

SCIMAGO. Scimago Journal & Country Rank, 2022. Country Rankings. Disponível em: <<https://www.scimagojr.com/countryrank.php>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022a.

SCIMAGO. Scimago Journal & Country Rank, 2022. Country Comparison. Disponível em: <<https://www.scimagojr.com/comparecountries.php>>. Acesso em: 12 de novembro de 2022b.

SEIFI, T.; KAMALI, A. R. Antiviral performance of graphene-based materials with emphasis on COVID-19: A review. **Medicine in Drug Discovery**, p. 100099, 2021.

SHIN, H.; PARK, SJ.; KIM, J.; LEE, JS.; MIN, DH. A graphene oxide-based fluorescent nanosensor to identify antiviral agents via a drug repurposing screen. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 183, p. 113208, 2021

SIEDENBIEDEL, F.; TILLER, J. C. Antimicrobial polymers in solution and on surfaces: overview and functional principles. **Polymers**, v. 4, n. 1, p. 46-71, 2012.

SIMON, G. O uso da nanotecnologia aplicada às máscaras de proteção: Uma revisão da literatura. 2021. Trabalho Conclusão do Curso (Bacharelado em Engenharia têxtil) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico de Ciências Exatas e Educação da, Blumenau, 2021.

SRIVASTAVA, A. K.; DWIVEDI, N.; DHAND, C.; KHAN, R.; SATHISH, N.; GUPTA, M. K.; KUMAR, R.; KUMAR, S. Potential of graphene-based materials to combat COVID-19: properties, perspectives and prospects. *Materials Today Chemistry*, p. 100385, 2020.

STANSBURY, J. W.; IDACAVAGE, M. J. 3D printing with polymers: Challenges among expanding options and opportunities. *Dental Materials*, v. 32, n. 1, p. 54–64, 2016.

TEIXEIRA, L.; ALVES, L. Ciência, saúde e doenças emergentes: uma história sem fim. *Agência Fiocruz de Notícias*, 2020.

TONATTO, A. W. **Influência de parâmetros de processamento em propriedades de amostras de um compósito polimérico condutor de eletricidade fabricadas por impressão 3D**. 2017. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

TORDIN, C. Embrapa avalia óxido de grafeno em organismos aquáticos. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa)**, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/7659347/embrapa-avalia-oxido-de-grafeno-em-organismos-aquaticos#:~:text=O%20seu%20uso%20desperta%20preocupa%C3%A7%C3%B5es,pesquisas%20sobre%20os%20poss%C3%ADveis%20danos..>>. Acesso em: 20 Jan. 2022.

TORTORA, G. J.; CASE, C. L.; FUNKE, B. R. **Microbiologia**. 12. ed. Artmed Editora, 2016.

USMAN, A.; HUSSAINY, Z.; RIAZ, A.; KHAN, A. N. Enhanced mechanical, thermal and antimicrobial properties of poly (vinyl alcohol)/graphene oxide/starch/silver nanocomposites films. *Carbohydrate polymers*, v. 153, p. 592-599, 2016.

VIJAYAKUMAR, D.; LINDLEY, D. 3D Printing Polymeric Parts Reinforced With Carbon Nanotube Yarn. In: ANDREW, William. **Nanotube Superfiber Materials**. 2. ed., s.l.: 2019. p. 205-216.

VOLPATO, N. *Manufatura aditiva: tecnologia e aplicações da impressão 3D*. ed. 1, São Paulo: Blucher, 2017.

ZAREK, M.; LAYANI, M.; COOPERSTEIN, I.; SACHYANI, E.; COHN, D.; MAGDASSI, S. 3D printing of shape memory polymers for flexible electronic devices. *Advanced Materials*, v. 28, n. 22, p. 4449-4454, 2016.

ZHANG, HZ.; ZHANG, C.; ZENG, GM.; GONG, JL.; OU, XM.; HUAN, SY. Easily separated silver nanoparticle-decorated magnetic graphene oxide: synthesis and high antibacterial activity. *Journal of colloid and interface science*, v. 471, p. 94-102, 2016.

WALDMAN, E. A. Doenças infecciosas emergentes e reemergentes. *Revista USP*, n. 51, p. 128-137, 2001.

WANG, H.; YUAN, X.; WU, Y.; HUANG, H.; PENG, X.; ZENG, G.; ZHONG, H.; LIANG, J.; REN, M. Graphene-based materials: fabrication, characterization and application for the

decontamination of wastewater and wastegas and hydrogen storage/generation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 195, p. 19-40, 2013.

WANG, W.; HOU, Y.; MARTINEZ, R.; KURNIANWAN, D.; CHIANG, WH.; BARTOLO, P. Carbon Nanomaterials for Electro-Active Structures: A Review. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 2946, 2020.

WANG, X.; JIANG, M.; ZHOU, Z.; GOU, J.; HUI, D. 3D printing of polymer matrix composites: A review and prospective. **Composites Part B: Engineering**, v. 110, p. 442–458, 2017.

WHO | World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, 2022. Disponível em: < <https://covid19.who.int/> >. Acesso em: 17 de Jan. 2022.

ANEXO A - Publicações selecionadas para análise do estudo de caso

AATI, S.; CHAUHAN, A.; SHRESTHA, B.; RAJAN, S. M.; AATI, H.; FAWZY, A. Development of 3D printed dental resin nanocomposite with graphene nanoplatelets enhanced mechanical properties and induced drug-free antimicrobial activity. **Dental Materials**, [S. l.], 2022. DOI: 10.1016/j.dental.2022.10.001.

AHMAD, A.; QURESHI, A. S.; LI, L.; BAO, J.; JIA, X.; XU, Y.; GUO, X. Antibacterial activity of graphene supported FeAg bimetallic nanocomposites. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 143, p. 490–498, 2016. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.03.065.

AHMADI, Y.; AHMAD, S. Surface-active antimicrobial and anticorrosive Oleo-Polyurethane/graphene oxide nanocomposite coatings: Synergistic effects of in-situ polymerization and π - π interaction. **Progress in Organic Coatings**, [S. l.], v. 127, p. 168–180, 2019. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2018.11.019.

ALADAGHLO, Z.; JAVANBAKHT, S.; SAHRAGARD, A.; REZA FAKHARI, A.; SHAABANI, A. Cellulose-based nanocomposite for ultrasonic assisted dispersive solid phase microextraction of triazole fungicides from water, fruits, and vegetables samples. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 403, 2023. DOI: 10.1016/j.foodchem.2022.134273.

ALAYANDE, A. B.; OBAID, M.; KIM, I. S. Antimicrobial mechanism of reduced graphene oxide-copper oxide (rGO-CuO) nanocomposite films: The case of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 109, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2019.110596.

ALSHARAEH, E.; MUSSA, Y.; AHMED, F.; ALDAWSARI, Y.; AL-HINDAWI, M.; SING, G. K. Novel route for the preparation of cobalt oxide nanoparticles/reduced graphene oxide nanocomposites and their antibacterial activities. **Ceramics International**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 3407–3410, 2016. DOI: 10.1016/j.ceramint.2015.10.135.

ARCHANA, S.; KUMAR, K. Y.; JAYANNA, B. K.; OLIVERA, S.; ANAND, A.; PRASHANTH, M. K.; MURALIDHARA, H. B. Versatile Graphene oxide decorated by star shaped Zinc oxide nanocomposites with superior adsorption capacity and antimicrobial activity. **Journal of Science: Advanced Materials and Devices**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 167–174, 2018. DOI: 10.1016/j.jsamd.2018.02.002.

AYUB, M.; OTHMAN, M. H. D.; KHAN, I. U.; YUSOP, M. Z. M.; KURNIAWAN, T. A. Graphene-based nanomaterials as antimicrobial surface coatings: A parallel approach to restrain the expansion of COVID-19. **Surfaces and Interfaces**. Elsevier B.V., 2021. DOI: 10.1016/j.surfin.2021.101460.

AZIZI-LALABADI, M.; HASHEMI, H.; FENG, J.; JAFARI, S. M. Carbon nanomaterials against pathogens; the antimicrobial activity of carbon nanotubes, graphene/graphene oxide, fullerenes, and their nanocomposites. **Advances in Colloid and Interface Science**. Elsevier B.V., 2020. DOI: 10.1016/j.cis.2020.102250.

BHUYAN, C.; KONWAR, A.; BORA, P.; RAJGURU, P.; HAZARIKA, S. Cellulose nanofiber-poly(ethylene terephthalate) nanocomposite membrane from waste materials for

treatment of petroleum industry wastewater. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 442, 2023. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.129955.

BORA, C.; BHARALI, P.; BAGLARI, S.; DOLUI, S. K.; KONWAR, B. K. Strong and conductive reduced graphene oxide/polyester resin composite films with improved mechanical strength, thermal stability and its antibacterial activity. **Composites Science and Technology**, [S. l.], v. 87, p. 1–7, 2013. DOI: 10.1016/j.compscitech.2013.07.025.

BYKKAM, S.; NARSINGAM, S.; AHMADIPOUR, M.; DAYAKAR, T.; VENKATESWARA RAO, K.; SHILPA CHAKRA, Ch; KALAKOTLA, Shanker. Few layered graphene Sheet decorated by ZnO Nanoparticles for anti-bacterial application. **Superlattices and Microstructures**, [S. l.], v. 83, p. 776–784, 2015. DOI: 10.1016/j.spmi.2015.03.063.

DE CARVALHO, A. P. A.; CONTE JUNIOR, C. A. Green strategies for active food packagings: A systematic review on active properties of graphene-based nanomaterials and biodegradable polymers. **Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 2020. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.07.012.

CHEN, C; YU, W.; LIU, T.; CAO, S.; TSANG, Y. Graphene oxide/WS₂/Mg-doped ZnO nanocomposites for solar-light catalytic and anti-bacterial applications. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, [S. l.], v. 160, p. 43–53, 2017. DOI: 10.1016/j.solmat.2016.10.020.

CHEN, J.; ZHANG, X.; CAI, H.; CHEN, Z.; WANG, T.; JIA, L.; WANG, J.; WAN, Q.; PEI, X. Osteogenic activity and antibacterial effect of zinc oxide/carboxylated graphene oxide nanocomposites: Preparation and in vitro evaluation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 147, p. 397–407, 2016. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.08.023.

CHOWDHURY, S.; BALASUBRAMANIAN, R. Graphene/semiconductor nanocomposites (GSNs) for heterogeneous photocatalytic decolorization of wastewaters contaminated with synthetic dyes: A review. **Applied Catalysis B: Environmental**, [S. l.], v. 160–161, p. 307–324, 2014. DOI: 10.1016/j.apcatb.2014.05.035.

COBOS, M.; DE-LA-PINTA, I.; QUINDÓS, G.; FERNÁNDEZ, M. J.; FERNÁNDEZ, M. D. One-step eco-friendly synthesized silver-graphene oxide/poly(vinyl alcohol) antibacterial nanocomposites. **Carbon**, [S. l.], v. 150, p. 101–116, 2019. DOI: 10.1016/j.carbon.2019.05.011.

DAULBAYEV, C.; SULTANOV, F.; KOROBENYK, A. V.; YELEUOV, M.; TAURBEKOV, A.; BAKBOLAT, B.; UMIRZAKOV, A.; BAIMENOV, A.; DAULBAYEV, O. Effect of graphene oxide/hydroxyapatite nanocomposite on osteogenic differentiation and antimicrobial activity. **Surfaces and Interfaces**, [S. l.], v. 28, 2022. DOI: 10.1016/j.surfin.2021.101683.

DE FARIA, A. F.; MARTINEZ, D. S. T.; MEIRA, S. M. M.; DE MORAES, A. C. M.; BRANDELLI, A.; FILHO, A. G. S.; ALVES, O. L. Anti-adhesion and antibacterial activity of silver nanoparticles supported on graphene oxide sheets. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 113, p. 115–124, 2014. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.08.006.

DENG, C. H.; GONG, J. L.; ZENG, G. M.; NIU, C. G.; NIU, Q. Y.; ZHANG, W.; LIU, H. Y. Inactivation performance and mechanism of *Escherichia coli* in aqueous system exposed to iron oxide loaded graphene nanocomposites. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 276, p. 66–76, 2014. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2014.05.011.

DHANASEKAR, M.; JENEFER, V.; NAMBIAR, R. B.; BABU, S. G.; SELVAM, S. P.; NEPPOLIAN, B.; BHAT, S. V. Ambient light antimicrobial activity of reduced graphene oxide supported metal doped TiO₂ nanoparticles and their PVA based polymer nanocomposite films. **Materials Research Bulletin**, [S. l.], v. 97, p. 238–243, 2018. DOI: 10.1016/j.materresbull.2017.08.056.

ESMAEILI, E.; ESLAMI-ARSHAGHI, T.; HOSSEINZADEH, S.; ELAHIRAD, E.; JAMALPOOR, Z.; HATAMIE, S.; SOLEIMANI, M. The biomedical potential of cellulose acetate/polyurethane nanofibrous mats containing reduced graphene oxide/silver nanocomposites and curcumin: Antimicrobial performance and cutaneous wound healing. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 152, p. 418–427, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.295.

FARZANEGAN, A.; ROUDBARY, M.; FALAHATI, M.; KHOOBI, M.; GHOLIBEGLOO, E.; FARAHYAR, S.; KARIMI, P.; KHANMOHAMMADI, M. Synthesis, characterization and antifungal activity of a novel formulated nanocomposite containing Indolicidin and Graphene oxide against disseminated candidiasis. **Journal de Mycologie Medicale**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 628–636, 2018. DOI: 10.1016/j.mycmed.2018.07.009.

FATHALIPOUR, S.; MARDI, M. Synthesis of silane ligand-modified graphene oxide and antibacterial activity of modified graphene-silver nanocomposite. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 79, p. 55–65, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.05.020.

FATHALIPOUR, S.; POURBEYRAM, S.; SHARAFIAN, A.; TANOMAND, A.; AZAM, P. Biomolecule-assisted synthesis of Ag/reduced graphene oxide nanocomposite with excellent electrocatalytic and antibacterial performance. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 75, p. 742–751, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.02.122.

FATIMA, N.; QAZI, U. Y.; MANSHA, A.; BHATTI, I. A.; JAVAID, R.; ABBAS, Q.; NADEEM, N.; REHAN, Z. A.; NOREEN, S.; ZAHID, M. Recent developments for antimicrobial applications of graphene-based polymeric composites: A review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Korean Society of Industrial Engineering Chemistry, 2021. DOI: 10.1016/j.jiec.2021.04.050.

FAUZI, F.; AYU, E. S.; HIDAYAT, H.; MUSAWWA, M. M.; SUPARNO; SWASTIKA, P. E.; DWANDARU, W. S. B. Synthesis of polyacrylamide/graphene oxide/clove essential oil composite via physical adsorption method for potential antibacterial packaging applications. **Nano-Structures and Nano-Objects**, [S. l.], v. 32, 2022. DOI: 10.1016/j.nanoso.2022.100908.

GHOLIVAND, K.; RAHIMZADEH DASHTAKI, M.; ALAVINASAB ARDEBILI, S. A.; MOHAMMADPOUR, M.; EBRAHIMI VALMOOZI, A. A. New graphene oxide-phosphoramidate nanocomposites as practical tools for biological applications including anti-bacteria, anti-fungi and anti-protein. **Journal of Molecular Structure**, [S. l.], v. 1240, 2021. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130528.

GIRAUD, L.; TOURRETTE, A.; FLAHAUT, E. Carbon nanomaterials-based polymer-matrix nanocomposites for antimicrobial applications: A review. **Carbon**, Elsevier Ltd, 2021. DOI: 10.1016/j.carbon.2021.06.002.

GU, B.; JIANG, Q.; LUO, B.; LIU, C.; REN, J.; WANG, X.; WANG, X. A sandwich-like chitosan-based antibacterial nanocomposite film with reduced graphene oxide immobilized silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 260, 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.117835.

HABIBA, K.; BRACHO-RINCON, D. P.; GONZALEZ-FELICIANO, J. A.; VILLALOBOS-SANTOS, J. C.; MAKAROV, V. I.; ORTIZ, D.; MORELL, G. Synergistic antibacterial activity of PEGylated silver-graphene quantum dots nanocomposites. **Applied Materials Today**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 80–87, 2015. DOI: 10.1016/j.apmt.2015.10.001.

HALDORAI, Y.; KIM, B. K.; JO, Y. L.; SHIM, J. J. Ag@graphene oxide nanocomposite as an efficient visible-light plasmonic photocatalyst for the degradation of organic pollutants: A facile green synthetic approach. **Materials Chemistry and Physics**, [S. l.], v. 143, n. 3, p. 1452–1461, 2014. DOI: 10.1016/j.matchemphys.2013.11.065.

HASHEM, A. H.; HASANIN, M.; KAMEL, S.; DACRORY, S. A new approach for antimicrobial and antiviral activities of biocompatible nanocomposite based on cellulose, amino acid and graphene oxide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 209, 2022. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2021.112172.

HEGAB, H. M.; ELMEKAWY, A.; ZOU, L.; MULCAHY, D.; SAINT, C. P.; GINIC-MARKOVIC, M. The controversial antibacterial activity of graphene-based materials. **Carbon**, Elsevier Ltd, 2016. DOI: 10.1016/j.carbon.2016.04.046.

HU, X.; REN, Nan; CHAO, Y.; LAN, H.; YAN, X.; SHA, Y.; SHA, X.; BAI, Y. Highly aligned graphene oxide/poly(vinyl alcohol) nanocomposite fibers with high-strength, antiultraviolet and antibacterial properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, [S. l.], v. 102, p. 297–304, 2017. DOI: 10.1016/j.compositesa.2017.08.015.

JEEVITHA, G.; ABHINAYAA, R.; MANGALARAJ, D.; PONPANDIAN, N. Tungsten oxide-graphene oxide (WO₃-GO) nanocomposite as an efficient photocatalyst, antibacterial and anticancer agent. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, [S. l.], v. 116, p. 137–147, 2018. DOI: 10.1016/j.jpcs.2018.01.021.

JI, H.; SUN, H.; QU, X. Antibacterial applications of graphene-based nanomaterials: Recent achievements and challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Elsevier B.V., 2016. DOI: 10.1016/j.addr.2016.04.009.

JOSHI, M. K.; PANT, H. R.; KIM, H. J.; KIM, J. H.; KIM, C. S. One-pot synthesis of ag-iron oxide/reduced graphene oxide nanocomposite via hydrothermal treatment. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 446, p. 102–108, 2014. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2014.01.058.

KANDIAH, K.; MUTHUSAMY, P.; MOHAN, S.; VENKATACHALAM, R. TiO₂-graphene nanocomposites for enhanced osteocalcin induction. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 252–262, 2014. DOI: 10.1016/j.msec.2014.02.010.

KANG, Y.; WANG, C.; SHI, X.; ZHANG, G.; CHEN, P.; WANG, J. Crystallization, rheology behavior, and antibacterial application of graphene oxide-graft-poly (L-lactide)/poly (L-lactide) nanocomposites. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 451, p. 315–324, 2018. DOI: 10.1016/j.apsusc.2018.04.271.

KARIMI, L.; YAZDANSHENAS, M. E.; KHAJAVI, R.; RASHIDI, A.; MIRJALILI, M. Optimizing the photocatalytic properties and the synergistic effects of graphene and nano titanium dioxide immobilized on cotton fabric. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 332, p. 665–673, 2015. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.01.184.

KHALIL, W. F.; EL-SAYYAD, G. S.; EL ROUBY, W. M. A.; SADEK, M. A.; FARGHALI, A. A.; EL-BATAL, A. I. Graphene oxide-based nanocomposites (GO-chitosan and GO-EDTA) for outstanding antimicrobial potential against some *Candida* species and pathogenic bacteria. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 164, p. 1370–1383, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.205.

KHAN, A. A. P.; KHAN, A.; RAHMAN, M. M.; ASIRI, A. M.; OVES, M. Lead sensors development and antimicrobial activities based on graphene oxide/carbon nanotube/poly(O-toluidine) nanocomposite. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 89, p. 198–205, 2016. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.04.064.

KHAWAJA, H.; ZAHIR, E.; ASGHAR, M. A.; ASGHAR, M. A. Graphene oxide, chitosan and silver nanocomposite as a highly effective antibacterial agent against pathogenic strains. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 555, p. 246–255, 2018. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2018.06.052.

KIM, J. D.; YUN, H.; KIM, G. C.; LEE, C. W.; CHOI, H. C. Antibacterial activity and reusability of CNT-Ag and GO-Ag nanocomposites. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 283, p. 227–233, 2013. DOI: 10.1016/j.apsusc.2013.06.086.

LI, C.; WANG, X.; CHEN, F.; ZHANG, C.; ZHI, X.; WANG, K.; CUI, D. The antifungal activity of graphene oxide-silver nanocomposites. **Biomaterials**, [S. l.], v. 34, n. 15, p. 3882–3890, 2013. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.02.001.

LI, K.; JIN, S.; LI, J.; CHEN, H. Improvement in antibacterial and functional properties of mussel-inspired cellulose nanofibrils/gelatin nanocomposites incorporated with graphene oxide for active packaging. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 132, p. 197–212, 2019. a. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.02.011.

LI, S.; GAO, B.; WANG, Y.; JIN, B.; YUE, Q.; WANG, Z. Antibacterial thin film nanocomposite reverse osmosis membrane by doping silver phosphate loaded graphene oxide quantum dots in polyamide layer. **Desalination**, [S. l.], v. 464, p. 94–104, 2019. b. DOI: 10.1016/j.desal.2019.04.029.

LI, X. F.; LU, P.; JIA, H. R.; LI, G.; ZHU, B.; WANG, X.; WU, F. G. Emerging materials for hemostasis. **Coordination Chemistry Reviews**, Elsevier B.V., 2023. DOI: 10.1016/j.ccr.2022.214823.

LIU, L.; BAI, H.; LIU, J.; SUN, D. D. Multifunctional graphene oxide-TiO₂-Ag nanocomposites for high performance water disinfection and decontamination under solar irradiation. **Journal of Hazardous Materials**, [S. l.], v. 261, p. 214–223, 2013. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.07.034.

LIU, L. P.; YANG, X. N.; YE, L.; XUE, D. D.; LIU, M.; JIA, S. R.; HOU, Y.; CHU, L. Q.; ZHONG, C. Preparation and characterization of a photocatalytic antibacterial material: Graphene oxide/TiO₂/bacterial cellulose nanocomposite. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 174, p. 1078–1086, 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.07.042.

LUKOWIAK, A.; KEDZIORA, A.; STREK, W. Antimicrobial graphene family materials: Progress, advances, hopes and fears. **Advances in Colloid and Interface Science**, Elsevier B.V., 2016. DOI: 10.1016/j.cis.2016.08.002.

MA, L.; ZHU, Z.; SU, M.; MA, L.; LIU, D.; WANG, Z. Preparation of graphene oxide-silver nanoparticle nanohybrids with highly antibacterial capability. **Talanta**, [S. l.], v. 117, p. 449–455, 2013. DOI: 10.1016/j.talanta.2013.09.017.

MAKTEDAR, S. S.; MEHETRE, S. S.; SINGH, M.; KALE, R. K. Ultrasound irradiation: A robust approach for direct functionalization of graphene oxide with thermal and antimicrobial aspects. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 1407–1416, 2014. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.02.022.

MARTA, B.; POTARA, M.; ILIUT, M.; JAKAB, E.; RADU, T.; IMRE-LUCACI, F.; KATONA, G.; POPESCU, O.; ASTILEAN, S. Designing chitosan-silver nanoparticles-graphene oxide nanohybrids with enhanced antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 487, p. 113–120, 2015. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2015.09.046.

MATHARU, R. K.; TABISH, T. A.; TRAKOOLWILAIWANA, T.; MANSFIELD, J.; MOGER, J.; WUD, T.; LOURENÇO, C.; CHEN, B.; CIRIC, L.; PARKINE, I. P.; EDIRISINGHE, M. Microstructure and antibacterial efficacy of graphene oxide nanocomposite fibres. **Journal of Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 571, p. 239–252, 2020. DOI: 10.1016/j.jcis.2020.03.037.

MAZAHARI, M.; AKHAVAN, O.; SIMCHI, A. Flexible bactericidal graphene oxide-chitosan layers for stem cell proliferation. *Em: APPLIED SURFACE SCIENCE* 2014, **Anais [...]**. : Elsevier B.V., 2014. p. 456–462. DOI: 10.1016/j.apsusc.2014.02.099.

NAEEM, H.; AJMAL, M.; QURESHI, R. B.; MUNTHA, S. T.; FAROOQ, M.; SIDDIQ, M. Facile synthesis of graphene oxide-silver nanocomposite for decontamination of water from multiple pollutants by adsorption, catalysis and antibacterial activity. **Journal of Environmental Management**, [S. l.], v. 230, p. 199–211, 2019. DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.09.061.

NAJAFABADI, S. A. A.; MOHAMMADI, A.; KHARAZI, A. Z. Polyurethane nanocomposite impregnated with chitosan-modified graphene oxide as a potential antibacterial wound dressing. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 115, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110899.

NAM, J. A.; NAHAIN, A. A.; KIM, S. M.; IN, I.; PARK, S. Y. Successful stabilization of functionalized hybrid graphene for high-performance antimicrobial activity. **Acta Biomaterialia**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. 7996–8003, 2013. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.04.022.

NAM, S. N.; PARK, C. M.; JANG, M.; HUANG, Y.; JANG, A.; SON, A.; YOON, Y.. Review of boron nitride-based membranes in liquid purification/separation applications. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 453, 2023. DOI: 10.1016/j.cej.2022.139740.

NASKAR, A.; KHAN, H.; SARKAR, R.; KUMAR, S.; HALDER, D.; JANA, S. Anti-biofilm activity and food packaging application of room temperature solution process based polyethylene glycol capped Ag-ZnO-graphene nanocomposite. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 91, p. 743–753, 2018. DOI: 10.1016/j.msec.2018.06.009.

NETHRAVATHI, P. C.; MANJULA, M. V.; DEVARAJA, S.; SAKAR, M.; SURESH, D. Eco-friendly preparation of Bi₂O₃, Ag-Bi₂O₃ and Ag-Bi₂O₃-rGO nanomaterials and their photocatalytic H₂ evolution, dye degradation, nitrite sensing and biological applications. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, [S. l.], v. 435, 2023. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2022.114295.

NOREEN, H.; IQBAL, J.; ARSHAD, A.; FARYAL, R.; ATA-UR-RAHMAN; KHATTAK, R. Sunlight induced catalytic degradation of bromophenol blue and antibacterial performance of graphene nanoplatelets/polypyrrole nanocomposites. **Journal of Solid State Chemistry**, [S. l.], v. 275, p. 141–148, 2019. DOI: 10.1016/j.jssc.2019.03.045.

OMRAN, B.; BAEK, K. H. Graphene-derived antibacterial nanocomposites for water disinfection: Current and future perspectives. **Environmental Pollution**, Elsevier Ltd, 2022. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.118836.

ORDIKHANI, F.; FARANI, M. R.; DEHGHANI, M.; TAMJID, E.; SIMCHI, A. Physicochemical and biological properties of electrodeposited graphene oxide/chitosan films with drug-eluting capacity. **Carbon**, [S. l.], v. 84, n. C, p. 91–102, 2015. DOI: 10.1016/j.carbon.2014.11.052.

OUADIL, B.; AMADINE, O.; ESSAMLALI, Y.; CHERKAOUI, O.; ZAHOUILY, M. A new route for the preparation of hydrophobic and antibacterial textiles fabrics using Ag-loaded graphene nanocomposite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 579, 2019. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2019.123713.

PAL, N.; BANERJEE, S.; ROY, P.; PAL, K. Cellulose nanocrystals-silver nanoparticles-reduced graphene oxide based hybrid PVA nanocomposites and its antimicrobial properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 191, p. 445–456, 2021. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.237.

PAL, N.; DUBEY, P.; GOPINATH, P.; PAL, K. Combined effect of cellulose nanocrystal and reduced graphene oxide into poly-lactic acid matrix nanocomposite as a scaffold and its

anti-bacterial activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 95, p. 94–105, 2017. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.11.041.

PANT, B.; POKHAREL, P.; TIWARI, A. P.; SAUD, P. S.; PARK, M.; GHOURI, Z. K.; CHOI, S.; PARK, S. J.; KIM, H. Y. Characterization and antibacterial properties of aminophenol grafted and Ag NPs decorated graphene nanocomposites. **Ceramics International**, [S. l.], v. 41, n. 4, p. 5656–5662, 2015. DOI: 10.1016/j.ceramint.2014.12.150.

PENG, J. M.; LIN, J. C.; CHEN, Z. Y.; WEI, M. C.; FU, Y. X.; LU, S. S.; YU, D. S.; ZHAO, W. Enhanced antimicrobial activities of silver-nanoparticle-decorated reduced graphene nanocomposites against oral pathogens. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 71, p. 10–16, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2016.09.070.

PHROMPET, C.; SRIWONG, C.; RUTTANAPUN, C. Mechanical, dielectric, thermal and antibacterial properties of reduced graphene oxide (rGO)-nanosized C3AH6 cement nanocomposites for smart cement-based materials. **Composites Part B: Engineering**, [S. l.], v. 175, 2019. DOI: 10.1016/j.compositesb.2019.107128.

PRASHANTH, K. S.; REVATHI, V. Antimicrobial and antifungal studies of polymer nanocomposites with 2D nanomaterials. *Em: MATERIALS TODAY: PROCEEDINGS 2021*, **Anais [...]**. : Elsevier Ltd, 2021. p. 593–596. DOI: 10.1016/j.matpr.2021.04.510.

PUÉRTOLAS, J. A.; KURTZ, S. M. Evaluation of carbon nanotubes and graphene as reinforcements for UHMWPE-based composites in arthroplastic applications: A review. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, Elsevier Ltd, 2014. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2014.06.013.

RADHI, A.; MOHAMAD, D.; ABDUL RAHMAN, F. S.; ABDULLAH, A. M.; HASAN, H. Mechanism and factors influence of graphene-based nanomaterials antimicrobial activities and application in dentistry. **Journal of Materials Research and Technology**, Elsevier Editora Ltda, 2021. DOI: 10.1016/j.jmrt.2021.01.093.

RAHIMI, R.; ZARGARI, S.; YOUSEFI, A.; YAGHOUBI BERIJANI, M.; GHAFFARINEJAD, A.; MORSALI, A. Visible light photocatalytic disinfection of E. coli with TiO₂-graphene nanocomposite sensitized with tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 355, p. 1098–1106, 2015. DOI: 10.1016/j.apsusc.2015.07.115.

RASOULZADEHZALI, M.; NAMAZI, H. Facile preparation of antibacterial chitosan/graphene oxide-Ag bio-nanocomposite hydrogel beads for controlled release of doxorubicin. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 116, p. 54–63, 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.04.140.

RHAZOUANI, A.; AZIZ, K.; GAMRANI, H.; GEBRATI, L.; UDDIN, M. S.; FAISSAL, A. Can the application of graphene oxide contribute to the fight against COVID-19? Antiviral activity, diagnosis and prevention. **Current Research in Pharmacology and Drug Discovery**, Elsevier B.V., 2021. DOI: 10.1016/j.crphar.2021.100062.

ROZMAN, A. S.; HASHIM, N.; MARINGGAL, B.; ABDAN, K.; SABARUDIN, A. Recent advances in active agent-filled wrapping film for preserving and enhancing the quality of

fresh produce. **Food Control**, [S. l.], v. 144, p. 109400, 2023. DOI: 10.1016/j.foodcont.2022.109400.

RYU, H. J.; MAHAPATRA, S. S.; YADAV, S. K.; CHO, J. W. Synthesis of click-coupled graphene sheet with chitosan: Effective exfoliation and enhanced properties of their nanocomposites. **European Polymer Journal**, [S. l.], v. 49, n. 9, p. 2627–2634, 2013. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2013.06.005.

SADHUKHAN, S.; GHOSH, T. K.; ROY, I.; RANA, D.; BHATTACHARYYA, A.; SAHA, R.; CHATTOPADHYAY, D. Green synthesis of cadmium oxide decorated reduced graphene oxide nanocomposites and its electrical and antibacterial properties. **Materials Science and Engineering C**, [S. l.], v. 99, p. 696–709, 2019. DOI: 10.1016/j.msec.2019.01.128.

SARIPEK, F. B.; SEVGI, F.; DURSUN, S. Preparation of poly(ϵ -caprolactone) nanofibrous mats incorporating graphene oxide-silver nanoparticle hybrid composite by electrospinning method for potential antibacterial applications. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [S. l.], v. 653, 2022. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2022.129969.

SCAFFARO, R.; BOTTA, L.; MAIO, A.; GALLO, G. PLA graphene nanoplatelets nanocomposites: Physical properties and release kinetics of an antimicrobial agent. **Composites Part B: Engineering**, [S. l.], v. 109, p. 138–146, 2017. DOI: 10.1016/j.compositesb.2016.10.058.

SEIFI, T.; KAMALI, A. R. Anti-pathogenic activity of graphene nanomaterials: A review. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 199, 2021. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.111509.

SHAHEEN, S.; SAEED, Z.; AHMAD, A.; PERVAIZ, M.; YOUNAS, U.; MAHMOOD KHAN, R. R.; LUQUE, R.; RAJENDRAN, S. Green synthesis of graphene-based metal nanocomposite for electro and photocatalytic activity; recent advancement and future prospective. **Chemosphere**, [S. l.], v. 311, 2023. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.136982.

SHARMA, V. K.; MCDONALD, T. J.; KIM, H.; GARG, V. K. Magnetic graphene-carbon nanotube iron nanocomposites as adsorbents and antibacterial agents for water purification. **Advances in Colloid and Interface Science**, Elsevier, 2015. DOI: 10.1016/j.cis.2015.10.006.

SHEIK MYDEEN, S.; RAJ KUMAR, R.; SIVAKUMAR, R.; SAMBATHKUMAR, S.; KOTTAISAMY, M.; VASANTHA, V. S. Graphene quantum dots/ZnO nanocomposite: Synthesis, characterization, mechanistic investigations of photocatalytic and antibacterial activities. **Chemical Physics Letters**, [S. l.], v. 761, 2020. DOI: 10.1016/j.cplett.2020.138009.

SHOEB, M.; MOBIN, M.; RAUF, M. A.; ADNAN, S. M.; ANSARI, M. Y. Graphene nickel[sbnd]copper nanocomposite (Gr@NiCu NCs) as a binder free electrode for high energy density supercapacitor and antimicrobial application. **Journal of Materiomics**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 815–827, 2021. DOI: 10.1016/j.jmat.2020.12.008.

SHUBHA, A.; MANOHARA, S. R.; SIDDLINGESHWAR, B.; DAIMA, H. K.; SINGH, M.; REVAPRASADU, N. Ternary poly(2-ethyl-2-oxazoline)-polyvinylpyrrolidone-graphene nanocomposites: Thermal, electrical, dielectric, mechanical, and antibacterial profiling.

Diamond and Related Materials, [*S. l.*], v. 125, 2022. DOI: 10.1016/j.diamond.2022.109001.

SINGH, R.; UMAPATHI, A.; PATEL, G.; PATRA, C.; MALIK, U.; BHARGAVA, S. K.; DAIMA, H. K. Nanozyme-based pollutant sensing and environmental treatment: Trends, challenges, and perspectives. **Science of the Total Environment**, Elsevier B.V., 2023. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.158771.

SONG, B.; ZHANG, C.; ZENG, G.; GONG, J.; CHANG, Y.; JIANG, Y. Antibacterial properties and mechanism of graphene oxide-silver nanocomposites as bactericidal agents for water disinfection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [*S. l.*], v. 604, p. 167–176, 2016. DOI: 10.1016/j.abb.2016.04.018.

SUN, X. F.; QIN, J.; XIA, P. F.; GUO, B. B.; YANG, C. M.; SONG, C.; WANG, S. G. Graphene oxide-silver nanoparticle membrane for biofouling control and water purification. **Chemical Engineering Journal**, [*S. l.*], v. 281, p. 53–59, 2015. DOI: 10.1016/j.cej.2015.06.059.

SUNDRAMOORTHY, A. K.; GUNASEKARAN, S. Applications of graphene in quality assurance and safety of food. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, Elsevier B.V., 2014. DOI: 10.1016/j.trac.2014.04.015.

SURUDŽIĆ, R.; JANKOVIĆ, A.; BIBIĆ, N.; VUKAŠINOVIĆ-SEKULIĆ, M.; PERIĆ-GRUJIĆ, A.; MIŠKOVIĆ-STANKOVIĆ, V.; PARK, S. J.; RHEE, K. Y. Physico-chemical and mechanical properties and antibacterial activity of silver/poly(vinyl alcohol)/graphene nanocomposites obtained by electrochemical method. **Composites Part B: Engineering**, [*S. l.*], v. 85, p. 102–112, 2016. DOI: 10.1016/j.compositesb.2015.09.029.

TSOU, C. H.; MA, Z. L.; DE GUZMAN, M. R.; ZHAO, L.; DU, J.; EMORI, W.; WU, J. High-performance antibacterial nanocomposite films with a 3D network structure prepared from carboxylated graphene and modified polyvinyl alcohol. **Progress in Organic Coatings**, Elsevier B.V., 2022. DOI: 10.1016/j.porgcoat.2022.106805.

USMAN, A.; HUSSAIN, Z.; RIAZ, A.; KHAN, A. N. Enhanced mechanical, thermal and antimicrobial properties of poly(vinyl alcohol)/graphene oxide/starch/silver nanocomposites films. **Carbohydrate Polymers**, [*S. l.*], v. 153, p. 592–599, 2016. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.08.026.

VATANPOUR, V.; KESKIN, B.; NAZIRI MEHRABANI, S. A.; KARIMI, H.; ARABI, N.; BEHROOZI, A. H.; SHOKROLLAHI-FAR, A.; YAVUZTURK GUL, B.; KOYUNCU, I. Investigation of boron nitride/silver/graphene oxide nanocomposite on separation and antibacterial improvement of polyethersulfone membranes in wastewater treatment. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [*S. l.*], v. 10, n. 1, 2022. DOI: 10.1016/j.jece.2021.107035.

VATANPOUR, V.; SHOCKRAVI, A.; ZARRABI, H.; NIKJAVAN, Z.; JAVADI, A. Fabrication and characterization of anti-fouling and anti-bacterial Ag-loaded graphene oxide/polyethersulfone mixed matrix membrane. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [*S. l.*], v. 30, p. 342–352, 2015. DOI: 10.1016/j.jiec.2015.06.004.

WANG, H.; YUAN, X.; WU, Y.; HUANG, H.; PENG, X.; ZENG, G.; ZHONG, H.; LIANG, J.; REN, M. M. Graphene-based materials: Fabrication, characterization and application for the decontamination of wastewater and wastegas and hydrogen storage/generation. **Advances in Colloid and Interface Science**, Elsevier B.V., 2013. DOI: 10.1016/j.cis.2013.03.009.

WEI, L.; WANG, S.; SHAN, M.; LI, Y.; WANG, Y.; WANG, F.; WANG, L.; MAO, J. Conductive fibers for biomedical applications. **Bioactive Materials**, KeAi Communications Co., 2023. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.10.014.

XIA, M. Y.; XIE, Y.; YU, C. H.; CHEN, G. Y.; LI, Y. H.; ZHANG, T.; PENG, Q. Graphene-based nanomaterials: the promising active agents for antibiotics-independent antibacterial applications. **Journal of Controlled Release**, Elsevier B.V., 2019. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.06.011.

XIE, Y. Y.; HU, X. H.; ZHANG, Y. W.; WAHID, F.; CHU, L. Q.; JIA, S. R.; ZHONG, C. Development and antibacterial activities of bacterial cellulose/graphene oxide-CuO nanocomposite films. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 229, 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115456.

XIONG, W.; ZHANG, R.; ZHOU, H.; LIU, Y.; LIANG, M.; LI, K.; YE, Q. Application of nanomedicine and mesenchymal stem cells in burn injuries for the elderly patients. **Smart Materials in Medicine**, KeAi Communications Co., 2023. DOI: 10.1016/j.smaim.2022.08.001.

YAHIA, I. S.; SHKIR, M.; KESHK, S. M. A. S. Physicochemical properties of a nanocomposite (graphene oxide-hydroxyapatite-cellulose) immobilized by Ag nanoparticles for biomedical applications. **Results in Physics**, [S. l.], v. 16, 2020. DOI: 10.1016/j.rinp.2020.102990.

YE, X.; FENG, J.; ZHANG, J.; YANG, X.; LIAO, X.; SHI, Q.; TAN, S. Controlled release and long-term antibacterial activity of reduced graphene oxide/quaternary ammonium salt nanocomposites prepared by non-covalent modification. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 149, p. 322–329, 2017. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2016.10.016.

YOUSEFI, M.; DADASHPOUR, M.; HEJAZI, M.; HASANZADEH, M.; BEHNAM, B.; DE LA GUARDIA, M.; SHADJOU, N.; MOKHTARZADEH, A. Anti-bacterial activity of graphene oxide as a new weapon nanomaterial to combat multidrug-resistance bacteria. **Materials Science and Engineering C**, Elsevier Ltd, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2016.12.125.

YU, L.; ZHANG, Y.; ZHANG, B.; LIU, J.; ZHANG, H.; SONG, C. Preparation and characterization of HPEI-GO/PES ultrafiltration membrane with antifouling and antibacterial properties. **Journal of Membrane Science**, [S. l.], v. 447, p. 452–462, 2013. DOI: 10.1016/j.memsci.2013.07.042.

ZHANG, Q.; TU, Q.; HICKEY, M. E.; XIAO, J.; GAO, B.; TIAN, C.; WANG, J. Preparation and study of the antibacterial ability of graphene oxide-catechol hybrid poly(lactic acid) nanofiber mats. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 172, p. 496–505, 2018. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.09.003.

ZHENG, H.; MA, R.; GAO, M.; TIAN, X.; LI, Y. Q.; ZENG, L.; LI, R. Antibacterial applications of graphene oxides: structure-activity relationships, molecular initiating events and biosafety. **Science Bulletin**, Elsevier B.V., 2018. DOI: 10.1016/j.scib.2017.12.012.

ZHOU, H.; LIU, Y.; CHI, W.; YU, C.; YU, Y. Preparation and antibacterial properties of Ag@polydopamine/graphene oxide sheet nanocomposite. **Applied Surface Science**, [S. l.], v. 282, p. 181–185, 2013. DOI: 10.1016/j.apsusc.2013.05.099.