



PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Jefferson Coelho Queiroz

Preparação e caracterização de polipirrol: aplicação em músculos artificiais e agente antimicrobiano

JUAZEIRO – BA

2016



Jefferson Coelho Queiroz

Preparação e caracterização de polipirrol: aplicação em músculos artificiais e agente antimicrobiano

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, como parte dos Requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira

JUAZEIRO – BA

2016

Q3p

Queiroz, Jefferson Coelho.

Preparação e caracterização de polipirrol: aplicação em músculos artificiais e agente antimicrobiano/ Jefferson Coelho Queiroz.--Juazeiro-BA,2016.

xv; 75f. : il. 29 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro-BA, 2016.

Orientador (a): Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira.

1. Polímero. 2. Músculos artificiais. I. Título. II. Oliveira, Helinando Pequeno de. III. Universidade Federal do Vale do São Francisco.

CDD 620.192

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF
Bibliotecário: Renato Marques



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO

Avenida Antônio Carlos Magalhães, 510 - Santo Antônio. CEP: 48902-300 Juazeiro/BA

Tel/Fax: (74)21027645, www.univasf.edu.br/~cpgcm

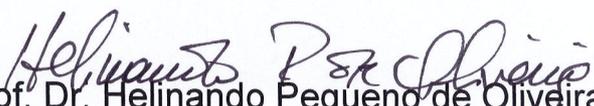
COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

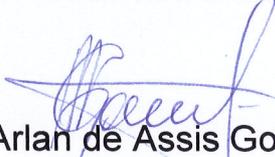
Preparação e caracterização de polipirrol: aplicação em músculos artificiais e agente antimicrobiano

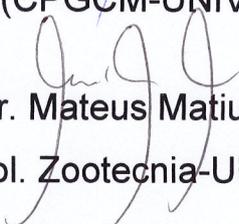
por

Jefferson Coelho Queiroz

Dissertação de mestrado APROVADA em sessão pública no dia 22 de março do ano dois mil e dezesseis perante a banca examinadora constituída pelos seguintes professores:


Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira
(CPGCM-UNIVASF)


Prof. Dr. Arlan de Assis Gonsalves
(CPGCM-UNIVASF)


Prof. Dr. Mateus Matiuzzi da Costa
(Col. Zootecnia-UNIVASF)

Dedico este trabalho a minha vizinha
Maria do Socorro de Macedo Coelho por estar
sempre ao meu lado me ajudando e encorajando.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por tudo que tem feito em minha vida pela sua misericórdia e amor por mim, reconheço que sem ELE não teria chegado ao término desse trabalho.

Aos meus familiares em especial minha vó Maria do Socorro de Macedo Coelho que durante esta jornada esteve sempre ao meu lado

Em especial ao meu orientador e cientista Dr. Helinando Pequeno de Oliveira, por toda dedicação, incentivo, pelas inúmeras oportunidades concedidas proporcionando meu amadurecimento profissional, pelas cobranças que faz parte do processo, enfim, por ter sido meu ORIENTADOR, ensinado que fazer ciência requer dedicação, motivação e nunca desânimo, o verdadeiro cientista nunca desiste mas busca uma solução para o problema.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Univasf e aos companheiros do LEIMO (Laboratório de Espectroscopia de Impedância e Materiais Orgânicos), em especial Fernando Antônio.

A todos os técnicos e funcionários do Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais.

Ao professor Dr. Mateus Matiuzzi (Colegiado de Zootecnia), Naiana Braga e Antônio Wilton.

Á minha namorada Karyne Krysley, pois sempre esteve ao meu lado me apoiando e incentivando

A FACEPE pelo apoio financeiro

E a todos que torceram por mim !

“Porque a palavra da cruz é loucura para os que perecem; mas para nós, que somos salvos, é o poder de Deus”.

(Apóstolo Paulo)

RESUMO

A descoberta dos polímeros condutores a partir da década de 1970 trouxe grande impacto para a sociedade, ao possibilitar sua aplicação em diversas áreas. Nos últimos anos, os polímeros condutores vêm sendo estudados para aplicação como sensores de gás, células solares, supercapacitores, atuadores mecânicos (músculos artificiais) e também como agente bactericida. O presente trabalho descreve dois tipos de sínteses usadas para preparar o polipirrol (PPY) para ser aplicado como músculo artificial e como agente bactericida. Sendo assim, para aplicação do PPy como músculo artificial utilizou-se o método de polimerização interfacial, com os filmes de PPy sendo formados na interface de dois líquidos. Os filmes foram submetidos a testes de atuação para identificação dos ângulos de deflexão. Os maiores ângulos de deflexão foram 5,13, 14,72 e 6,23 graus respectivamente. Para aplicação como agente bactericida foram produzidos pós de PPy pelo método de oxidação química. Para avaliar a ação antibacteriana o PPy foi submetido a três técnicas: difusão de discos, Concentração Bactericida Mínima (CBM) e teste de morte (*Time Kill*), testadas para bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*. As bactérias apresentaram halos de inibição com diâmetros acima de 30 mm e CBM de 1 mg/mL.

ABSTRACT

The development of conducting polymers in the 1970 decade resulted in a strong impact in different application areas. In recent years, these materials have been studied as template for application in gas sensors, solar cells, supercapacitors, mechanical actuators (artificial muscles), bactericidal agents and so on. This work is focused on application of polypyrrole produced by two different synthesis with direct application as artificial muscles and bactericide. The interfacial polymerization method was applied in the production of prototypes for artificial muscles. This method provide self-standing films at interface between two imiscible liquid phases. Resulting materials were submitted to performance tests, allowing the identification of the deflection angles. Larger deflection angles were varied between 5.13 and 14.72 degrees. In order to evaluate the antibacterial action of PPy as bactericidal agent, three techniques of characterization were explored: disk diffusion, Bactericidal Concentration Minimum (CBM) and death test (*Time Kill*) against for *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*. Bacteria exhibits inhibition hales with diameters around 30 mm and CBM of 1 mg / mL.

PREFÁCIO

Os polímeros condutores são uma classe de materiais que têm recebido bastante atenção no campo da ciência e tecnologia por apresentarem boas propriedades elétricas, mecânicas e estabilidade química. Sua estrutura é caracterizada por longas cadeias alternadas com ligações simples e duplas favorecendo deslocamento de elétrons por toda a estrutura. Sua capacidade de dopagem é umas das características mais importantes destes materiais, uma vez que contribuem para uma série de aplicações em diversos ramos.

Diante disso, este trabalho teve por objetivo sintetizar e caracterizar o polipirrol, um tipo de polímero condutor, produzido por método de polimerização interfacial e química para aplicação como músculo artificial e agente bactericida. O monômero de pirrol quando submetido a processos distintos de polimerização produz polipirrol com estruturas morfológicas diferentes, sendo tais estruturas exploradas neste trabalho. A apresentação do trabalho e foi distribuída da seguinte forma:

No capítulo 1 é apresentada uma abordagem sobre o desenvolvimento dos polímeros condutores e das principais características do polipirrol, em seguida, os mecanismos de condução dos polímeros condutores e as aplicações do polipirrol como músculos artificiais abordando o processo de atuação e aplicação do polipirrol como agente bactericida apresentando os métodos para avaliação antimicrobiana. Por fim são apresentados os principais tipos de síntese do polipirrol.

O capítulo 2 descreve os materiais e as técnicas de caracterização como microscopia eletrônica de Varredura (MEV) e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), além dos métodos de avaliação bacteriana como, técnica de difusão de disco de halos de inibição, concentração bactericida mínima (CBM) e o teste de tempo de morte *time kill*.

O capítulo 3 descreve os resultados e discussões sobre o polipirrol sintetizado via polimerização interfacial para aplicação como musculo artificial. Inicialmente são apresentados os resultados e discussões da produção do filme e de sua morfologia e em seguida os resultados e discussões dos testes de atuação. Além disso descreve os resultados e discussões do polipirrol sintetizado por polimerização química para aplicação como agente bactericida. São apresentados os resultados e

discussões sobre a produção do material e em seguida os resultados e discussões dos testes para avaliação da atividade antimicrobiana.

O capítulo 4 descreve as conclusões obtidas através da observação dos resultados apresentados nos capítulos 3 e 4 e as perspectivas futuras.

Sumário

Capítulo I - Aplicações de polímeros condutores	17
1.1 Polímeros Condutores.....	17
1.1.2 Mecanismo de condução dos polímeros condutores	22
1.2 Aplicações do Polipirrol	24
1.2.1 Músculos Artificiais.....	24
1.2.1.2 Funcionamento e processos de atuação	25
1.2.2 PPy como agente antimicrobiano.....	27
1.2.2.1 Métodos para avaliação de atividade antimicrobiana	29
1.3 Principais sínteses usadas na polimerização do polipirrol	30
1.3.1 Síntese Química.....	31
1.3.2 Síntese Eletroquímica	31
1.4 Objetivo Geral	32
1.4.1 Objetivos Específicos.....	32
Capítulo II – Materiais e Métodos.....	33
2.1 Reagentes.....	33
2.2 Sínteses dos nanocompósitos.....	33
2.2.1 Síntese dos Filmes de PPy	33
2.2.2 Síntese do PPy convencional.....	36
2.3 Ensaio de atividade antimicrobiana	36
2.3.1 Ensaio de disco (halos de inibição).....	37
2.3.2 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)	37
2.3.4 Ensaio do Tempo de Morte	38
2.4 Técnicas de Caracterização	39
2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	39
2.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR ..	41
2.4.3 Teste de atuação	42
Capítulo III Resultados e discussões.....	44
3. Músculos artificiais	44

3.1 Síntese	44
3.3 Aplicação dos filmes de PPy como atuadores mecânicos.....	47
3.4 Polipirrol como agente bactericida	54
3.7 Ensaio de disco difusão.....	56
3.8 Concentração Bacteriana Mínima (CBM)	58
3.9 Curva de Morte.....	59
Capítulo IV - Conclusões e Perspectivas	63
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICE	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura de polímeros condutores intrínsecos nas suas formas neutras.....	18
Figura 2	Representação da estrutural (a) pirrol; (b) polipirrol	19
Figura 3	Protonação do Pirrol	19
Figura 4	Representação do segmento estrutural do polipirrol; (a) neutro; (b) formação do polaron e (c) formação do bipolaron	21
Figura 5	Esquema da evolução da estrutura de bandas.	21
Figura 6	Ligações duplas e simples intercaladas	22
Figura 7	hibridização sp^2 , onde se observa que a ligação π é espacialmente estendida	23
Figura 8	Mão robótica	25
Figura 9	Esquema de uma célula eletroquímica com configuração de eléctrodos (WE eléctrodo de trabalho, CE contraeléctrodo e RE eléctrodo referência) para obtenção do comportamento do atuador bicamada de Fita/PPy-DBS	26
Figura 10	Configurações da cadeia de polímero. (a) Descrição de um motor ideal molecular constituído por uma única cadeia de dois micro-eléctrodos ligado a alterações conformacionais reversa que são estimuladas por oxidação ou redução em um electrólito. (b) estrutura do complexo dopolímero, mostrando variações de volume (inchaço / encolhimento) produzidos durante a redução / oxidação	27
Figura 11	Os princípios gerais de trabalho de polímeros antimicrobianos: (a) polímeros biocidas; (b) biocidas poliméricos; (c) polímeros de libertação de biocidas.	28
Figura 12	Síntese química do polipirrol	31
Figura 13	Esquema do procedimento experimental para síntese do filme de PPy via polimerização interfacial.	34
Figura 14	Síntese do PPy convencional a) solução de de APS, b) Solução de APS com pirrol a baixa temperatura e c) filtração e lavagem do PPy.	36

Figura 15	Microplaca contendo substância teste + MH + bactéria; b) replicador multicanal e c) Inoculação do conteúdo de cada poço na placa petri.....	38
Figura 16	Esquema da diluição empregada no teste de microplacas para avaliação da atividade antibacteriana.	38
Figura 17	Esquema de um microscópio eletrônico de varredura	40
Figura 18	Microscópio Eletrônico de Varredura, Vega 3XMU.	41
Figura 19	Espectrômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier Shimadzu.....	42
Figura 20	Montagem experimental do sistema de atuação	43
Figura 21	Filme de PPy submerso em uma solução de KCl 2 M.....	43
Figura 22	Filme de PPy produzidos na interface do sistema líquido-líquido, b) Recorte do filme a se usado nos testes de atuação.	45
Figura 23	Micrografias obtidas por MEV : a) PPy sintetizado pelo parâmetro A, b) PPy sintetizado pelo parâmetro B e c) PPy sintetizado pelo parâmetro AB.....	46
Figura 24	Atuação do filme de PPy (parâmetro A) submetido a uma tensão elétrica de 10 V com variação de frequência de a)) 0,1 Hz, b) 0.2 Hz, c) 0.3 Hz, d) 0.4 Hz, e) 0.5 Hz, f) 0.6 Hz , g) 0.7 Hz. e h) dependência dos ângulos de deflexão com a frequência do sinal elétrico.	48
Figura 25	Atuação do filme de PPy (parâmetro AB) submetido a uma tensão elétrica de 10 V com variação de frequência de a) 0,1 Hz, b) 0.2 Hz, c) 0.4 Hz, d) 0.5 Hz, e) 0.6 Hz e f) 0.7 Hz.....	50
Figura 26	Ângulos x Frequência para PPy sintetizado sob parâmetro AB.	51
Figura 27	MEV do Polipirrol convencional.	55
Figura 28	FTIR do PPy convencional.	56
Figura 29	Imagens dos halos de inibição para a) E.coli, b) K. pneumoniae, c) S. aureus (25923), d) S. aureus isolado (9606), e) S. aureus isolado (8689), f) S. aureus isolado (11D5) e S. aureus isolado (8AECM).57	
Figura 30	Ensaio do tempo de morte 7 cepas bacterianas.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição de valores de condutividade para os polímeros conjugados conhecidos20
Tabela 2	Parâmetros usados para síntese do polipirrol.34
Tabela 3	Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro A 49
Tabela 4	Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro AB50
Tabela 5	Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro B 52

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

μL – Microlitro

ATCC – American Type Culture Collection

Au - Ouro

CBM – Concentração Mínima Bacteriana

CE – contra eletrodo

FeCl_3 – Cloreto de ferro (III)

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

Hz - Hetz

IPCM - Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais

KBr – Brometo de Potássio

KN – kilo newton

KV – Quilo Volt

mA – mili ampere

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

Pd - Paládio

PPy – Polipirrol

Pt - Platina

Py - Pirrol

RE – Eletrodo de referência

UFC – Unidade Formadora de Colônia

WE – Eletrodo de trabalho

TSB - *Tryptic Soy Broth*

Capítulo I - Aplicações de polímeros condutores

1.1 Polímeros Condutores

Os polímeros condutores são classificados como uma classe de materiais que possuem em suas estruturas longas cadeias poliméricas com ligações simples e duplas em um sistema conjugado. Além disso, também são chamados de “metais sintéticos” por possuírem algumas propriedades dos metais, tais como, boa condutividade elétrica, magnética e óptica [1-2].

O desenvolvimento de polímeros sintéticos ocorreu nos Estados Unidos no início do século XX, em 1908 pelo belga Leo Baekeland. Por volta de 1960, com o desenvolvimento científico da química orgânica, foram feitos estudos envolvendo processos que combinavam as propriedades elétricas dos metais com as propriedades mecânicas dos polímeros, incorporando cargas elétricas a partir do negro de fumo, fibras metálicas e fibras de carbono. A incorporação de cargas nos polímeros possibilitou a condução de corrente elétrica no mesmo, criando os chamados “polímeros condutores extrínsecos” [3-4].

A descoberta dos polímeros condutores ocorreu acidentalmente em 1976, quando um estudante do grupo de polímeros de Hideki Shirakawa, (laboratório do Instituto de Tecnologia de Tóquio) sintetizou o poliacetileno, adicionando uma quantidade de catalizador 1000 vezes maior do que o necessário [3]. Em 1977, Hideki Shirakawa, trabalhando com químico orgânico MacDiarmid e o físico Alan Heeger na Universidade da Pensilvânia, EUA, verificaram que a dopagem de poliacetileno com iodo contribuiu para o aumento na condutividade elétrica do material [5].

Essas descobertas contribuíram para que estes pesquisadores mencionados fossem laureados em 2000, com o prêmio Nobel da Química pela descoberta dos polímeros condutores [2]. Através desses estudos foi possível desenvolver plásticos que apresentassem propriedades elétricas, magnéticas e ópticas superiores [6-7].

Devido à grande aplicabilidade em diversas áreas, tem crescido o estudo sobre esta classe de materiais. Em particular, o PPy é um dos polímeros condutores de maior interesse na literatura dadas as suas aplicações, devido a características superiores como: alta condutividade elétrica, excelente estabilidade ambiental e fácil polimerização [8-9], (estrutura mostrada na Fig.1). O polipirrol foi sintetizado pela primeira vez em 1916 por A. Angeli e L. Alesandro pelo método de oxidação química do pirrol [10].

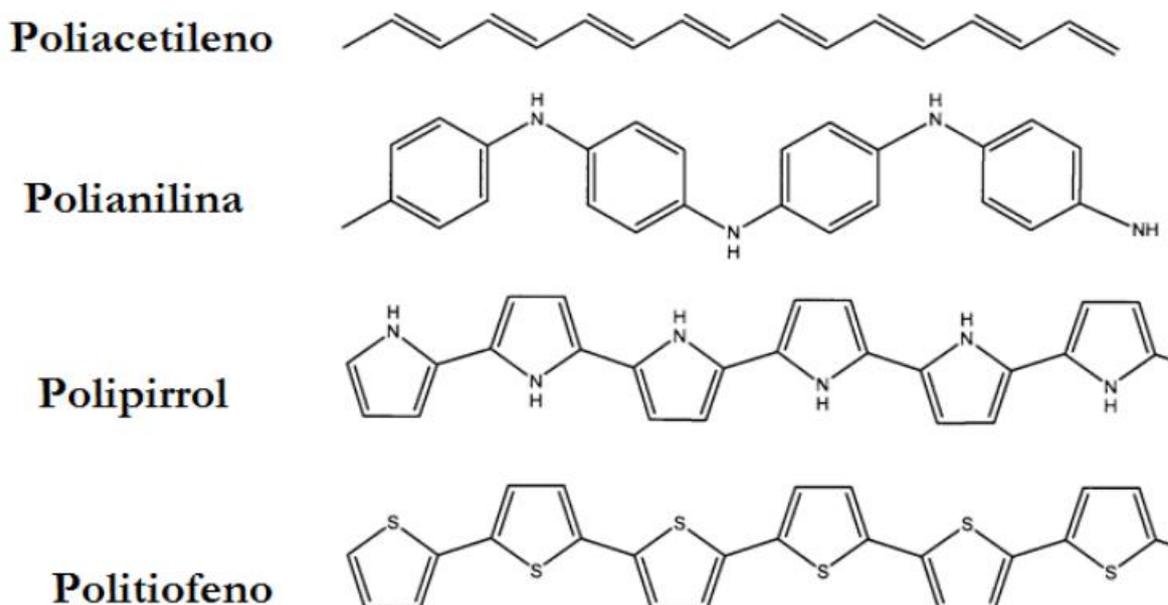


Figura 1 - Estrutura de polímeros condutores intrínsecos nas suas formas neutras [11].

Um dos desafios em trabalhar com o polipirrol é processá-lo em filme ultrafino devido à sua insolubilidade em muitos solventes orgânicos comuns [12-13]. A formação do polipirrol ocorre a partir da combinação de monômeros de pirrol na presença de contra-íons [14]. O PPy é insolúvel na maioria dos solventes usuais, exceto quando dopado com agentes que contribuem para aumento da solubilidade [15]. A Fig. 2 mostra a estrutura do pirrol e polipirrol.

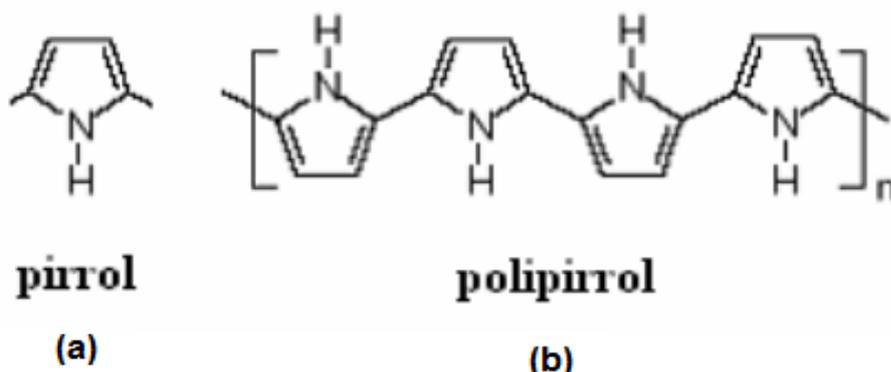


Figura 2 – Representação da estrutural (a) pirrol; (b) polipirrol [16].

O processo de formação do PPy se dá pela oxidação do monômero, seguido do acoplamento entre os radicais, ou seja, a protonação nos átomos de carbono do anel do pirrol provoca a formação de cátions que conseqüentemente geram oligômeros. O processo ocorre de forma repetitiva em cada anel formam uma cadeia polimérica [17].

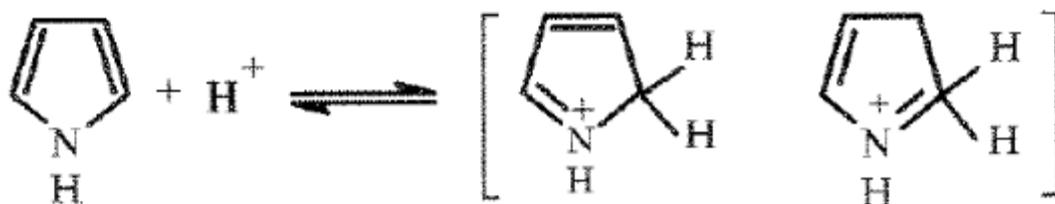


Figura 3 - Protonação do Pirrol [15].

Uma das características comuns que é atribuída aos polímeros condutores é a presença de ligações duplas e simples ao longo de sua cadeia principal, devido à presença de elétrons π que podem se deslocar ao longo da mesma. Tais elétrons podem ser adicionados ou removidos, sem provocar destruição das ligações necessárias da macromolécula [19]. A Tabela 1 apresenta a distribuição de valores e condutividade para algumas classes de materiais.

Tabela 1 - Distribuição de valores de condutividade para os polímeros conjugados conhecidos [18].

	Condutividade (S.cm⁻¹)	Materiais	Polímeros conjugados	Áreas de aplicação
Condutores	10 ⁵	Cobre	10 ⁵ (S.cm ⁻¹)	Cabo de energia Aquecimento Sensor
	10 ³	Ferro		
	10 ²	Grafite		
		Bismuto		
Semicondutores	10 ⁰	Índio/Antimônio	10 ⁻⁸ (S.cm ⁻¹)	Blindagem Antiestático
	10 ⁻²	Gálio/Arsênio		
	10 ⁻⁴	Germânio		
	10 ⁻⁸	Silício		
Isolantes	10 ⁻¹⁰			
	10 ⁻¹²			
	10 ⁻¹⁴			
	10 ⁻¹⁸			
	10 ⁻²⁰			Isolantes

A oxidação na cadeia polimérica (remoção de um elétron) cria uma carga positiva, tal carga é favorecida se o ganho de energia da carga for maior que a distorção na cadeia polimérica provocada pela oxidação. O cátion formado com um spin = ½ é chamado de polaron. Quando houver uma segunda oxidação na cadeia polimérica, existirão duas possibilidades: (i) formação de um pólaron em outro ponto da cadeia ou, (ii) o elétron pode ser removido do polaron já existente, formando um dicátion chamado bipolaron, sendo que, para que ocorra a formação do polaron o ganho de energia deve exceder repulsões coulômbicas entre as cargas de mesmo sinal. Os polarons são facilmente ionizáveis, sendo assim, para um alto grau de dopagem, há formação preferencial dos bipolarons, e para baixos graus de dopagem dos polaron [20-21]. A Fig. 4 apresenta a estrutura geral para o polipirrol; (a) estado neutro, (b) formação polaron e (c) formação de bipolaron.

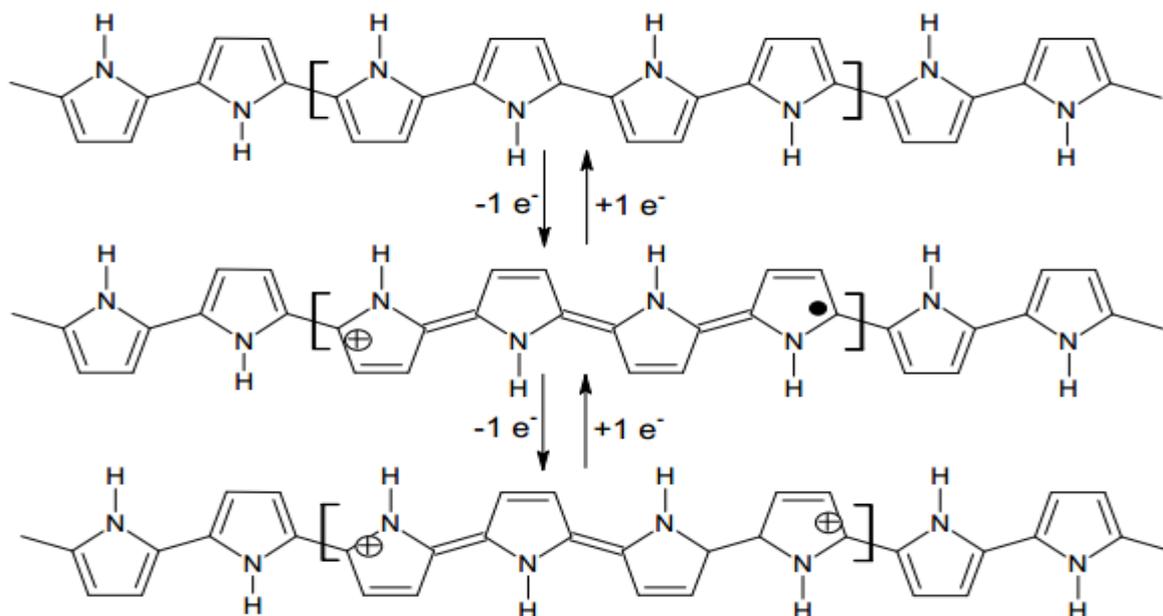


Figura 4 - Representação do segmento estrutural do polipirrol; (a) neutro; (b) formação do polaron e (c) formação do bipolaron [22].

Brédas e Street afirmaram que o band *gap* do polipirrol no seu estado neutro é 3,2 eV [23], dado o baixo grau de dopagem. A tendência de formação de polaron é acentuada com aumento no grau de dopagem, sendo um número maior de elétrons removido, o que ocasiona a sobreposição dos níveis bipolarônicos com bandas estreitas dentro do gap, denominadas banda bipolarônicas [24]. A Fig. 5 mostra a evolução das bandas de energia com variação dos níveis de dopagem.

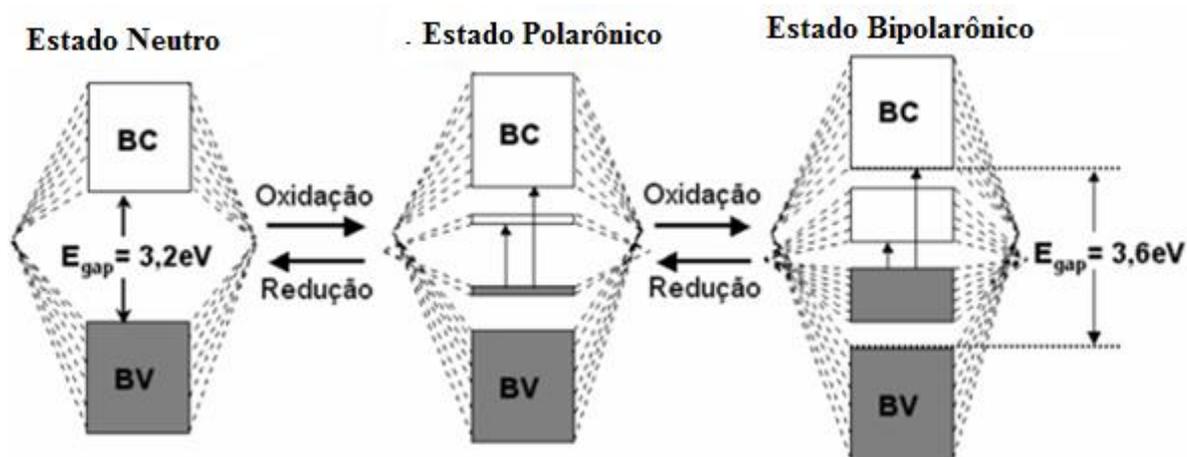


Figura 5 - Esquema da evolução da estrutura de bandas.

1.1.2 Mecanismo de condução dos polímeros condutores

Por apresentar ligações π em sua estrutura, facilitando os processos de oxidação ou redução, podemos afirmar que o fenômeno de dopagem é o que distingue os polímeros condutores dos demais materiais [19, 25].

As ligações conjugadas ao longo das cadeias poliméricas são um dos fatores importantes para condução elétrica. A Fig. 6 mostra ligações duplas e simples intercaladas.

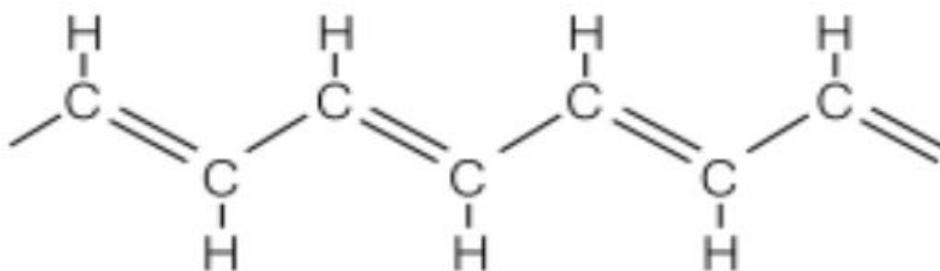


Figura 6 - Ligações duplas e simples intercaladas [4]

Para cada ligação dupla $C = C$, há uma ligação 'sigma' (σ) que forma uma ligação quimicamente forte e uma ligação π que forma uma ligação quimicamente fraca [26]. Por estarem fracamente ligados, os elétrons das ligações π podem ser facilmente removidos ou adicionados, para formar íons. A ligação simples é formada apenas por ligações σ enquanto que ligações duplas são formadas por ligações σ e π . A distância entre os átomos nas ligações contribui para que o polímero não seja condutor a partir das conjugações, sendo que os átomos de carbonos nas ligações σ estão mais afastados entre si quando comparado com átomos das ligações π . Essa aproximação dos átomos nas ligações π impedem o deslocamento dos elétrons na cadeia polimérica [27].

As ligações π dão origem aos orbitais moleculares ocupados, π , e vazios, π^* ; equivalentes às conhecidas bandas de valência (BV) e de condução (BC) dos semicondutores inorgânicos. Estes orbitais moleculares são denominados HOMO (highest occupied molecular orbital) e LUMO (lowest unoccupied molecular orbital). A diferença de energia entre as bandas é uma região proibida chamada de gap, no qual sua faixa de energia é descrita por E_g [24-27].

A diferença de energia entre a banda de condução (BC) e a banda de valência (BV) serve para identificar as propriedades elétricas do material. Se o material

possui um banda gap maior que 1,5 eV esse material possui propriedades intrinsecamente de um material semiconductor [8]. Sendo assim levando em consideração a analogia feita entre os orbitais e as bandas BC e BV, pode-se dizer que a 'dopagem' é um processo quando um polímero passa do estado isolante para estado condutor [21].

A Fig. 7 mostra representação das ligações σ e π .



Figura 7 - Hibridização sp^2 , onde se observa que a ligação π é espacialmente estendida [23]

O que explica o alto nível de condutividade de polímeros conjugados é o nível de dopagem dos mesmos. O processo de oxidação e redução dos polímeros conjugados, como já mencionados na seção anterior, possibilita a incorporação de um contra íon para neutralizar o polímero carregado. Este processo de incorporação de cargas é denominado dopagem, sendo os íons chamados de dopantes [8, 28]. O termo dopagem é uma analogia aos semicondutores inorgânicos cristalinos. No entanto, o processo de dopagem de polímeros é diferente dos materiais inorgânicos mas em ambos os casos, os processos não alteram a estrutura do material, no entanto, a diferença está na inserção de impurezas nas estruturas dos materiais. Nos semicondutores inorgânicos, as impurezas são inseridas nas cadeias, enquanto que nos polímeros são inseridas nas vizinhanças, que têm a função de balancear as cargas [29].

Para MacDiarmid apud [6], dopantes seriam: “.. uma substância onde uma quantidade relativamente pequena da mesma altera drasticamente as propriedades eletrônicas, ópticas, magnéticas e/ou estrutural do polímero, acompanhadas por um grande aumento na condutividade elétrica”.

Ele descreve dois métodos para dopar um polímero condutor:

Dopagem redox: elétrons são removidos ou adicionados pelo processo de oxidação/redução do polímero. A dopagem pode ser tanto do tipo p ou tipo n,

removendo ou adicionando elétrons na cadeia do polímero, proporcionando aumento na condutividade. Poliacetileno, polipirrol e politiofeno são exemplos de polímeros dopados por este método.

Dopagem ácida / básica: se dá pela criação de defeitos para aumento da condutividade. Um exemplo é polianilina, onde a dopagem ocorre pela protonação dos grupos iminas, as cargas positivas são balanceadas pela incorporação de um contra-íon. Os polifluorenos é outro exemplo de polímero dopado por este processo [6].

1.2 Aplicações do Polipirrol

A literatura tem reportado estudos sobre aplicação de polímeros condutores em diversas áreas, tais como, sensores eletrônicos [30-31], atuadores mecânicos [32-33], supercapacitores [34] e células solares [35-36].

1.2.1 Músculos Artificiais

O corpo humano produz movimento com o auxílio dos ossos e músculos, sendo assim, para se locomover ou criar movimentos com um de seus membros é necessário que ocorra relaxamento e contrações dos músculos. As contrações são responsáveis pela estabilidade do corpo, gerando movimentos voluntários e involuntários. Os músculos são responsáveis por 40% da massa corporal humana [37].

Um músculo biológico é composto por um grande número de fibras musculares sarcômeros que atuam como unidades de construção. A produção de força e deslocamento de um músculo ocorre devido ao efeito de agregação das unidades de construção das proteínas específicas que se agrupam e formam filamentos [38]. Além disso, características como tensão e força são ajustadas para cargas específicas através das unidades de construção celulares [39]. Os músculos podem se adaptar para satisfazer uma determinada força específica e condições de deslocamento [40]. Músculos naturais são desejáveis para aplicações em biorrobótica, no entanto, possuem características complexas para serem reproduzidas artificialmente. A Fig. 8 apresenta uma mão robótica.

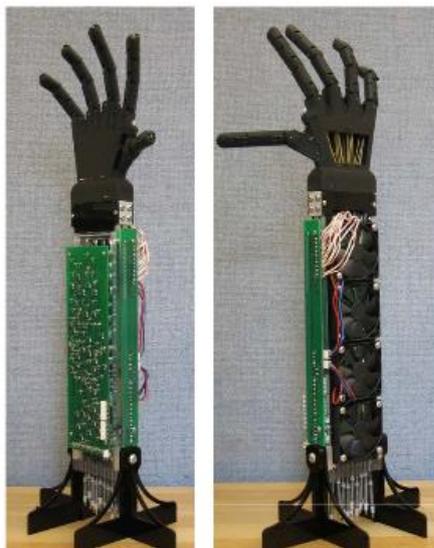


Figura 8 - mão robótica [40]

Nos últimos 20 anos surgiram novos polímeros capazes de responder a estímulos elétricos com significativa forma ou configuração de tamanho, contribuindo para uma importante área desta classe de materiais [41- 43]. Os assim chamados polímeros eletroativos (PEA), representam um ramo emergente de materiais inteligentes, com capacidade única de mudar de forma na presença de um campo elétrico. Estes polímeros são classificados de acordo com suas propriedades estruturais elétricas, iônicas e moleculares [42].

Polímeros eletroativos (também chamados de atuadores mecânicos) possuem a capacidade de converter energia elétrica em energia mecânica como resposta à tensão elétrica aplicada ao material. Por apresentar características semelhantes aos músculos biológicos [43], tais atuadores também têm sido chamados de “músculos artificiais” [44]. Embora o uso de polímeros condutores como músculos artificiais tenha sido demonstrado pela primeira vez por Baughman em 1990 [45], os avanços no desempenho têm ocorrido de forma significativa nos últimos anos.

1.2.1.2 Funcionamento e processos de atuação

Os processos de atuação para músculos artificiais podem ocorrer basicamente em solução eletrolítica e no ar [46, 47,49]. O procedimento padrão usado para testes de atuação em solução eletrolítica é mostrado na Fig. 9. O filme é

inserido juntamente com um contra eletrodo na solução eletrolítica, quando, os mesmos estão interligados a um equipamento gerador de tensão.



Figura 9 - Esquema de uma célula eletroquímica com configuração de eletrodos (WE eletrodo de trabalho, CE contraeletrodo e RE eletrodo referência) para obtenção de atuador com bicamada [46].

A alteração na estrutura dimensional dos músculos artificiais está diretamente relacionada ao fluxo de íons da solução eletrolítica na matriz polimérica. Dependendo do sistema polímero/eletrolito, a taxa de variação do potencial e a inserção de elétrons no eletrodo podem ser acompanhadas pelo aumento do volume quando cátions são inseridos ou pela diminuição do volume quando ânions são removidos [48].

Um polímero condutor neutro com cadeia linear típico exemplo de, conectado a um eletrodo imerso em um eletrólito representa um motor molecular. Esta estrutura assemelha-se à estrutura de um atuador mecânico com movimentos unidimensionais. As fortes interações intramoleculares originam-se de uma estrutura compacta. Quando ocorre oxidação, mudanças na distribuição da dupla ligação e o armazenamento de cátions ao longo da cadeia provocam movimentos de conformação mudando a estrutura, ou seja, ocorre um inchaço na matriz polimérica.

O atuador molecular funciona de maneira reversível acionado por reações de oxidação/redução. Pulsos elétricos, intercâmbio de íons /solventes entre o polímero e a solução, resultam em movimentos conformacionais ao longo da cadeia polimérica, que são processos relacionados à atuação molecular. As tensões

empregadas nesses materiais são baixas (1 a 7V), [49]. A Fig 10 mostra a contração e a retração provocada pelas reações redox.

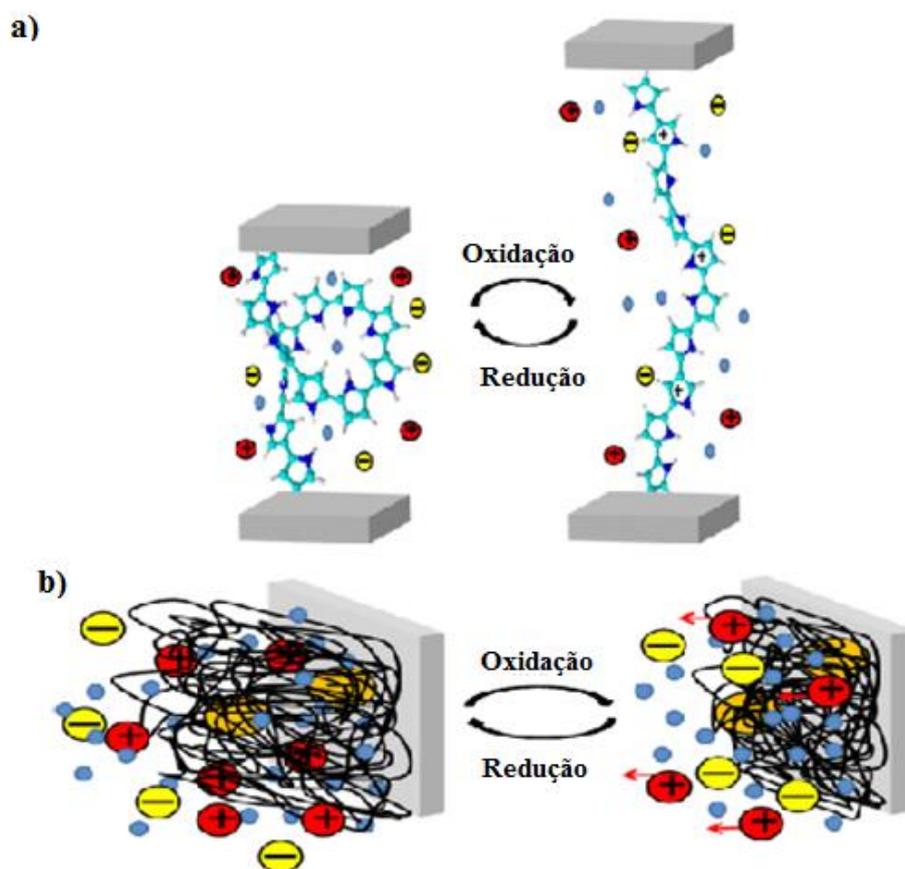


Figura 10 - Configurações da cadeia de polímero. a) Descrição de um motor ideal molecular constituído por única cadeia de dois microeletrodos (b) estrutura do complexo dopolímero, mostrando variações de volume (inchaço / encolhimento) produzido durante a redução / oxidação [49].

1.2.2 PPy como agente antimicrobiano

Polímeros antimicrobianos são conhecidos desde 1965 quando polímeros e copolímeros foram sintetizados a partir de 2-metacriloxi troponina [50]. Na década de 1970 vários grupos sintetizados apresentaram estruturas poliméricas com ação antimicrobianas, tais como ácido salicílico e polímeros possuindo grupos amônicos [51-52]. Os polímeros antimicrobianos representam uma classe de biocidas que se tornam cada vez mais importantes, como alternativa aos biocidas já existentes e até mesmo alguns antibióticos [53].

A literatura revela três tipos gerais de polímeros antimicrobianos: polímeros biocidas, biocidas poliméricos e polímeros de liberação de biocidas, como mostra a Fig. 11.

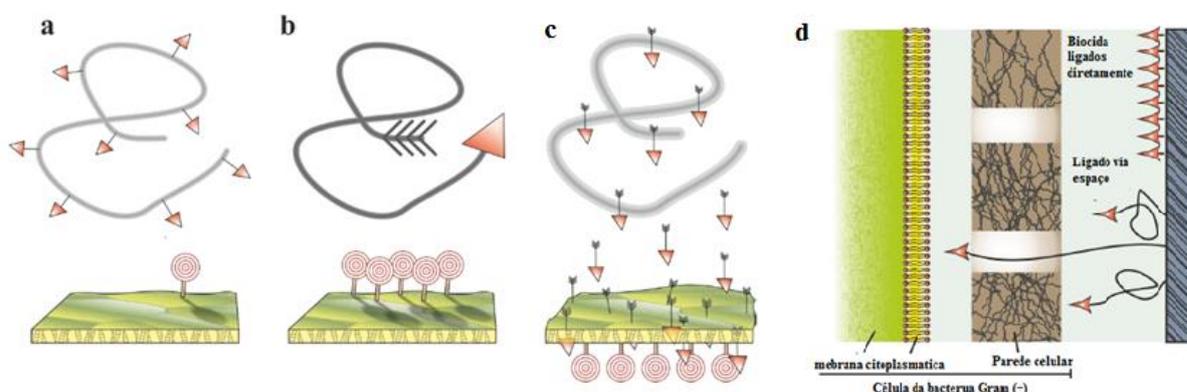


Figura 11 - Os princípios gerais de trabalho de polímeros antimicrobianos: (a) polímeros biocidas; (b) biocidas poliméricos; (c) polímeros de liberação de biocidas; (d) conceito de contato de morte através do efeito espaçador polimérico adaptado [59].

A primeira classe, os polímeros biocidas, consiste de unidades repetidas, isto é, polímeros são apenas biocidas que funcionam de modo semelhante aos monômeros. Frequentemente, a polimerização de biocidas não produz polímeros antimicrobianos ativos, porque os polímeros são insolúveis em água ou as funções biocidas não atingem o alvo de aplicação [54].

Nos biocidas poliméricos por outro lado, o princípio ativo é incorporado por toda a macromolécula, não exigindo necessariamente unidades de repetições antimicrobianos. Em geral as células microbianas possuem cargas negativas em sua superfície devido às proteínas nas membranas. Nas bactérias Gram-positivas, as cargas são resultantes do ácido teicóico e nas bactérias Gram-negativas resultantes do fosfolípídeo da membrana externa. Sendo assim, polycations são atraídos e são capazes de romper a parede da membrana citoplasmática, provocando danos na membrana que resultará na morte celular [55].

O terceiro tipo de polímero antimicrobiano são os polímeros que liberam agentes biocidas, sendo que, os mesmos não atuam de forma direta contra os microrganismos mas apenas como transporte de biocidas, transferindo-as para células microbianas. Tais polímeros são geralmente mais ativos nos sistemas porque podem liberar os biocidas próximos dos locais de maior concentração de microrganismo [56-57].

O PPy como já citado anteriormente é um tipo de polímero condutor que tem recebido bastante atenção para aplicação como eficaz material antibacteriano, devido a descoberta de novas formas de bactérias associadas com uso frequente de antibióticos [58]. Portanto, um dos aspectos importantes (em relação à atividade antibacteriana de PPy) diz respeito à polimerização oxidativa dos polímeros condutores, sendo que, as cargas positivas são formadas para cada três a cinco monômeros ao longo da cadeia de polipirrol. Como consequência, uma forte interação eletrostática é estabelecida com espécies de cargas opostas, tais como a parede celular bacteriana [59-60].

As etapas que seguem a aderência eletrostática de PPy em bactérias com cargas negativas são: a adsorção de PPy na superfície celular; difusão de nanopartículas ao longo da parede celular; ligação com nanopartículas de membrana citoplasmática; vazamento de componentes intracelulares e liberação de íons K^+ e morte de bactérias [59]. A adsorção de polycations sobre as superfícies das bactérias carregadas negativamente deverá ter uma maior extensão do que as moléculas de monômeros catiônicos, consequência da elevada densidade de cargas transportada pelos polycations. A presença de um grande número de cargas negativas sobre a membrana facilitará a ligação dos polycations para membrana citoplasmática, reforçando a ruptura da membrana [60].

1.2.2.1 Métodos para avaliação de atividade antimicrobiana

Atualmente os dois métodos de ensaios de susceptibilidade mais utilizados para avaliação de um material com potencial antibacteriano, ou seja, que possuem capacidades para inibição de microrganismos, são os métodos de difusão em ágar e diluição em caldo [61]. Em algumas situações clínicas, a inibição já é suficiente, já que o antibiótico atua de forma a evitar a propagação a partir de um determinado foco da infecção, impedindo a replicação microbiana para novos sítios; agindo sobre a bacteriana e a cura clínica [62].

O método de difusão em ágar é muito usado pela facilidade de uso, baixo custo, boa reprodutibilidade e flexibilidade em testes utilizando um grande número de amostras simultaneamente. Esse método pode ser realizado através das técnicas difusão de disco (halos de inibição), do poço ou template [63]. Apesar de ser um método de fácil uso requer um cuidado minucioso na preparação, pois fatores como

composição do meio de cultura, preparação incorreta do meio de cultura, utilização errada da atmosfera de CO₂ para ensaios com uso da atmosfera controlada, leitura prematura podem influenciar no resultado final [64].

Os discos de difusão são ensaios produzidos pelo método de difusão em ágar, que possibilita a visualização das zonas de inibição adjacentes aos discos contendo o agente antimicrobiano. O tamanho dos halos de inibição microbiana depende diretamente da solubilidade e difusibilidade da substância em análise, portanto, essa técnica expressa a avaliação qualitativa indicando se material é resistente ou não aos microrganismos [65].

O método de diluição em caldo embora não seja tão simples como o método de difusão, apresenta a vantagem de permitir a avaliação da eficiência de um agente antibacteriano de forma quantitativa. Com esse teste é possível determinar concentração bactericida mínima (CBM), que é a menor concentração do antimicrobiano que mata 99,9% do inóculo bacteriano [66]. O método apresenta uma desvantagem para substâncias que são insolúveis aos meios de cultura, pois o mesmo não entra em contato com a suspensão do inóculo [65].

A curva de morte é uma metodologia desenvolvida aplicado na quantificação dos efeitos das combinações de antimicrobianos, que podem ser usados em tratamentos de infecções bacterianas intensiva, onde, a monoterapia não é vulnerável a todos os patógenos envolvidos no tratamento, podendo ocorrer o surgimento de resistência por parte dos microrganismos [67-68].

A curva morte é também usado para avaliar a relação entre tempo e concentração em que um agente antimicrobiano eliminar um microrganismo. O teste comprova ação da substância que está sendo testada como agente bactericida, analisando o tempo e a concentração, além disso, ajuda explicar as falhas de tratamentos em situações clínicas em que atividade bactericida pode ser crucial para evolução do doente [69].

1.3 Principais sínteses usadas na polimerização do polipirrol

As técnicas de síntese mais utilizadas para preparação do polipirrol é a eletroquímica, química e interfacial. As condições em que um dado material será sintetizado influenciam significativamente na sua estrutura molecular, determinando características físicas, químicas e mecânicas.

1.3.1 Síntese Química

A polimerização química é realizada através da oxidação do monômero por um agente oxidante, com o cloreto férrico sendo o agente oxidante mais utilizado nesse tipo de síntese. O rendimento e a condutividade são afetados por alguns fatores entre quais podemos destacar: (i) solvente e oxidante (ii) proporção inicial de monômero (iii) tempo (iv) temperatura [70]. O rendimento da síntese tende a ser alto quando proporção de $\frac{1}{2}$ entre oxidante/monômero são usadas associado a, tempo curto de ionização e a temperaturas baixas (0 a 5°C), contribuindo para uma maior condutividade [71].

Esse método possibilita a preparação de partículas de PPy com diferentes tamanhos entre escalas nanométricas e micrométricas, no entanto, uma das desvantagens dessa técnica é o baixo rendimento do material em superfícies sendo um obstáculos na produção de sensores [72]. A Fig. 13 mostra o mecanismo de síntese do PPy.

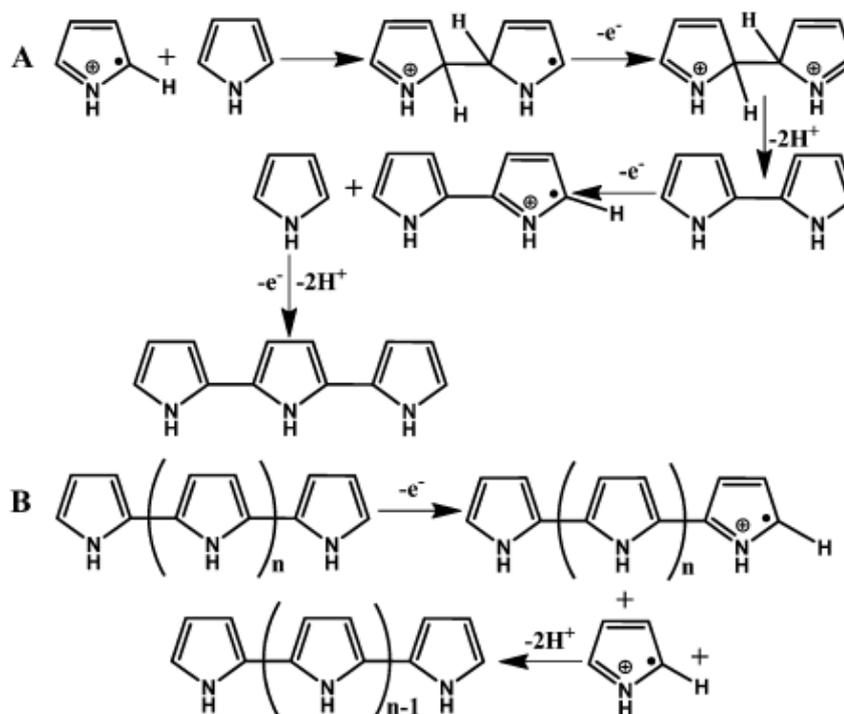


Figura 12 - Síntese química do polipirrol [15].

1.3.2 Síntese Eletroquímica

A técnica de eletropolimerização para síntese de polipirrol é a preferida para fins de pesquisa, devido a sua simplicidade, proporcionando o controle da espessura do material, geometria e localização, controle do dopante durante a síntese, grande variedades de íons disponíveis usados no eletrólito e a formação de bons filmes [73].

A polimerização eletroquímica ocorre quando o pirrol é dissolvido em solventes que possuem a presença de eletrólitos, a partir de corrente anódica é aplicado ao monômero através do solvente e eletrólitos. Os contraíons mais presentes nos eletrólitos são, ClO_4^- , BF_4^- , PF_6^- , Cl^- , Br^- , SO_4^- entre outros [35]. O produto da reação é um filme eletroativo ligado à superfície do eletrodo [73].

1.4 Objetivo Geral

Sintetizar o polipirrol pelo método de polimerização química para aplicação como músculos artificias e agente antimicrobiano.

1.4.1 Objetivos Específicos

Sintetizar filmes de polipirrol variando as concentrações de monômero e oxidante.

Estudar o comportamento de atuação dos filmes frente a frequência e tensão elétrica.

Avaliar a atividade antibacteriana do polipirrol sintetizado via convencional, pelas técnicas microbiológicas de tempo de morte, CBM e Halos de inibição para cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e isolados humanos de *Staphylococcus aureus*.

Capítulo II – Materiais e Métodos

2.1 Reagentes

Os reagentes utilizados neste trabalho foram o pirrol adquirido junto à Sigma Aldrich (destilado antes do uso), cloreto de potássio obtido na Dinâmica Química Contemporânea Ltda, cloreto férrico hexahidratado obtido pela Vetec, clorofórmio obtido junto a Synth e o persulfato de amônio obtido junto a Synth.

2.2 Sínteses dos nanocompósitos

2.2.1 Síntese dos Filmes de PPy

Os filmes de PPy foram produzidos pelo processo de polimerização interfacial de acordo com metodologia proposta por Rosenberg et al [57]. O método consiste na dispersão de oxidante e monômero em fase de água e óleo respectivamente. Reações redox ocorrem na interface das duas soluções imiscíveis, onde as espécies reduzidas e oxidadas voltam à fase inicial [60], sendo o produto formado na interface das soluções.

Os filmes foram sintetizados em um sistema constituído por dois líquidos. Para a fase aquosa, 300 mg de cloreto férrico III (agente oxidante) foram dissolvidas em 15 mL de água mili-Q. Na fase orgânica, 800 µL de Py foram adicionados em 15 mL de clorofórmio. A fase aquosa foi gotejada lentamente sobre a fase orgânica formando-se um sistema bifásico.

O sistema foi fechado e deixado em repouso por um período de 24 horas. Posteriormente, o filme produzido na interface foi retirado cuidadosamente com auxílio de uma lâmina. O filme foi lavado e submetido à secagem na estufa por 24 horas. A Fig.14 mostra o esquema da polimerização interfacial.

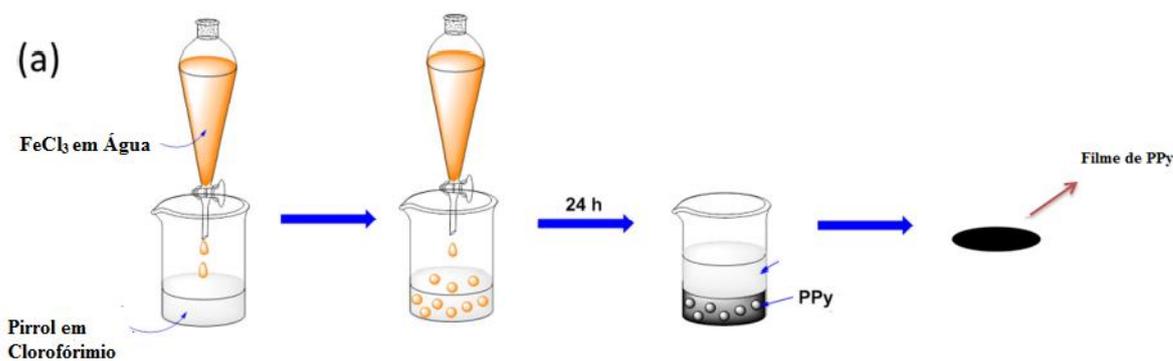


Figura 13 - Esquema do procedimento experimental para síntese do filme de PPy via polimerização interfacial.

Os filmes foram sintetizados levando em consideração três parâmetros, com as concentrações mostradas na Tabela 2.

Tabela 2 - Parâmetros usados para a síntese do polipirrol.

Parâmetro	[FeCl ₃]	[Py]
A	0,2 M	0,4 M
B	0,1 M	0,8 M
AB	0,2 M	0,8 M

A Tabela 2 apresenta as concentrações de oxidante e monômero usadas neste trabalho. A variação da concentração de oxidante e monômero afetam algumas variáveis tais como: morfologia, velocidade de síntese, taxa de crescimento, condutividade elétrica e resistência mecânica.

A morfologia de PPy influencia fortemente suas propriedades elétricas e até mesmo em suas aplicações. Portanto, pode ser visto que existem relações entre a morfologia e as propriedades elétricas do PPy. Bhattacharya et al [74] mostram que a variação de 0,01 a 0,2 M da concentração do oxidante (cloreto férrico) contribuem para o crescimento globular na estrutura do polipirrol. No entanto, com o aumento da concentração do monômero há um aumento na uniformidade da matriz polimérica e uma diminuição da rugosidade. A concentração de monômeros representa o

parâmetro mais importante para a morfologia da nanoestrutura, no entanto, para concentrações que variam entre 0,01 a 0,08 M, o polipirrol não apresentará, por exemplo, estrutura de nanotubo [75].

Além disso, na polimerização do PPy há uma série de fatores que influenciam as suas morfologias e propriedades elétricas, tais como o tipo de solvente [76]

O PPy preparado em quantidades diferentes de FeCl_3 mostra uma tendência no aumento da propriedade elétrica e, em seguida, um decréscimo com a concentração de FeCl_3 variando entre 0,025 a 0,40 M. Além disso, com relação ao tipo de oxidante, o polipirrol apresenta maior condutividade quando oxidado com cloreto férrico em vez de persulfato de amônio (APS) [77]. O cloreto férrico foi usado para produzir filmes autossustentáveis.

Os principais efeitos da concentração de oxidante sobre a condutividade do PPy são nível de dopagem e efeito da conjugação da molécula. Quando sintetizado em proporções diferentes de oxidante/monômero (cloreto férrico e pirrol) o polímero apresenta um aumento de condutividade elétrica, devido ao aumento do efeito de dopagem e o enfraquecimento na conjugação da molécula, aumentando o defeito dos grupos, ou seja, cargas nas laterais da estrutura polimérica [78].

A temperatura na qual a síntese está sendo realizada também afeta as propriedades do polipirrol. A condutividade elétrica de filmes PPy muda com o aumento da temperatura de polimerização. Em baixas temperaturas de polimerização (5 °C) os filmes de PPy exibem condutividade elétrica de aproximadamente 70 S/cm. Yee et al [79] reportou que o aumento da temperatura de polimerização entre 15 °C a 25 °C promove uma variação na condutividade elétrica dos filmes de 67 S/cm para 61 S/cm. Com o aumento da temperatura de 40 °C para 60 °C, a condutividade elétrica dos filmes diminuiu de 8,0 S/cm para 1,0 S/cm. Esta diminuição da condutividade elétrica pode ser devido ao fato de que sob temperaturas mais baixas, as películas dos polímeros têm maior nível de dopagem, menos defeitos estruturais e comprimentos mais longos de conjugação. Isto sugere que os materiais sintetizados a temperaturas mais baixas serão melhores condutores de eletricidade [80].

O tempo de polimerização também afeta o tamanho das partículas. Tempos de polimerização de 4, 24 e 96 horas apresentam tamanho médio das partículas de PPy, de cerca 150, 200 e 500 nm, respectivamente. O crescimento das partículas de

PPY com o aumento do tempo de polimerização pode resultar em um aumento do tamanho médio dos domínios cristalinos [81].

2.2.2 Síntese do PPy convencional

A polimerização do monômero de pirrol foi realizada por oxidação química. O pirrol (0,2 M) foi gotejado em uma solução 0,6 M de persulfato de amônio, sob agitação constante com barra magnética a 8 °C durante 1 h. Os precipitados em forma de pó foram filtrados sob vácuo e lavados com quantidade abundante de água destilada. Posteriormente o PPy foi levado à estufa por 6 horas a 60 °C. Para preparação de PPy convencional utilizou-se persulfato de amônio como oxidante. A Fig. 15 mostra as etapas da síntese do PPy convencional.

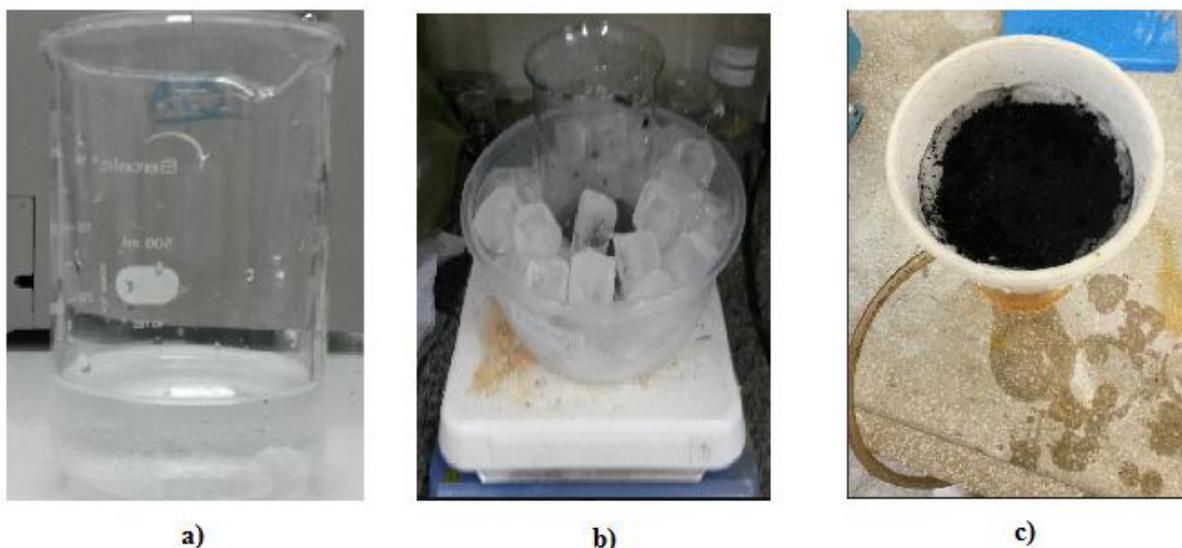


Figura 14 - Síntese do PPy convencional a) solução de de APS, b) Solução de APS com pirrol à baixa temperatura e c) filtragem e lavagem do PPy.

2.3 Ensaio de atividade antimicrobiana

Os três ensaios descritos nos tópicos abaixo foram realizados para seguintes bactérias: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC XLD), *Escherichia coli* (ATCC 25992), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e isolados de *Staphylococcus aureus* humanos 8AECM, 9606, 11D5 e 8689.

2.3.1 Ensaio de disco (halos de inibição)

Com o interesse em conhecer o perfil de suscetibilidade aos antimicrobianos, submeteu-se as bactérias mencionadas do tópico anterior à técnica de disco difusão [62].

Após a turvação das bactérias em solução 0,2 M de NaCl em 0,85% da escala MacFarland, o inóculo com concentração $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, foi semeado em ágar Muller Hinton com auxílio de swab estéril. Sobre as placas inoculadas foram depositados discos de PPy convencional. O material foi incubado por 24h, em seguida, procedeu-se a leitura dos halos de inibição.

Na preparação dos discos pesou-se 50 mg de PPy convencional. Com auxílio de uma prensa aplicou-se uma pressão de 20 kN sobre o material por 3 minutos para produção dos discos.

2.3.2 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

A avaliação da concentração bactericida mínima (CBM) do material realizada pelo método descrito por Tashiro et al [61], consiste na realização de sucessivas microdiluições em caldo. Primeiramente 200 μ L do caldo Mueller Hinton (caldo MH) foram distribuídos em cada poço das microplacas. Para a preparação da solução com o material polimérico, dissolveu-se 8 mg PPy em 1 mL de Tween 80 e 3 mL de água destilada. Em seguida, uma alíquota de 200 μ L da solução polimérica foi transferida para o primeiro poço e, após a homogeneização, foi transferida para os demais poços sucessivamente. Após as diluições obteve-se as concentrações finais de: 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64 e 1:128 mg/mL.

Na preparação do inóculo, 5 mL de uma solução 0,2 M de NaCl foi utilizadas para obtenção de uma suspensão bacteriana com turvação equivalente à escala 0,5 MacFarland. Desta suspensão, 100 μ L foram transferidos para um tubo contendo 9,9 mL de caldo MH. Em seguida, 10 μ L da solução MH caldo foram transferida para cada poço contendo as diluições do material polimérico. As microplacas foram incubadas à 28°C durante 24 horas. Posteriormente, com o auxílio de um replicador multicanal, o conteúdo de cada poço da microplaca foi inoculado em uma placa de petri contendo caldo MH, como mostra a Fig. 16.

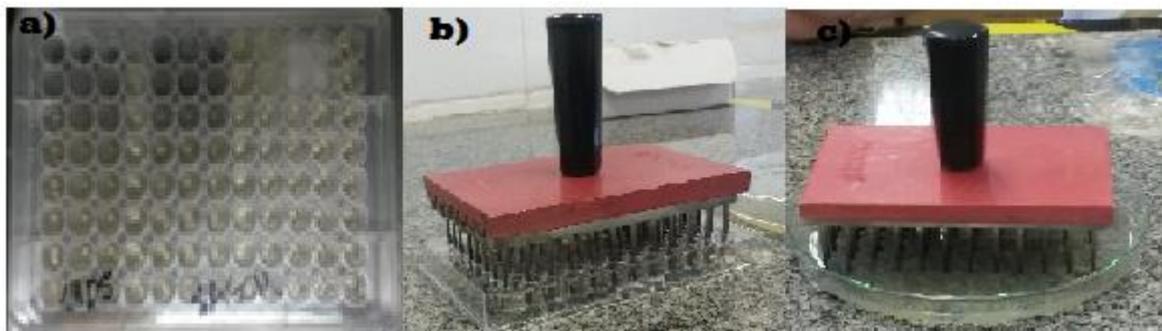


Figura 15 - Microplaca contendo substância teste + MH + bactéria; b) replicador multicanal e c) Inoculação do conteúdo de cada poço na placa petri.

A placa foi incubada por 24 horas a 28°C, para determinação da CBM. Para garantir que o meio não estava contaminado, utilizou-se quatro poços contendo apenas caldo MH, denominado controle negativo. Para garantir que a bactéria estava presente, utilizou-se quatro poços contendo apenas caldo MH e o inóculo, denominado controle positivo. Os ensaios foram realizados em triplicata, A Fig 17 esquematiza os testes em microplacas.

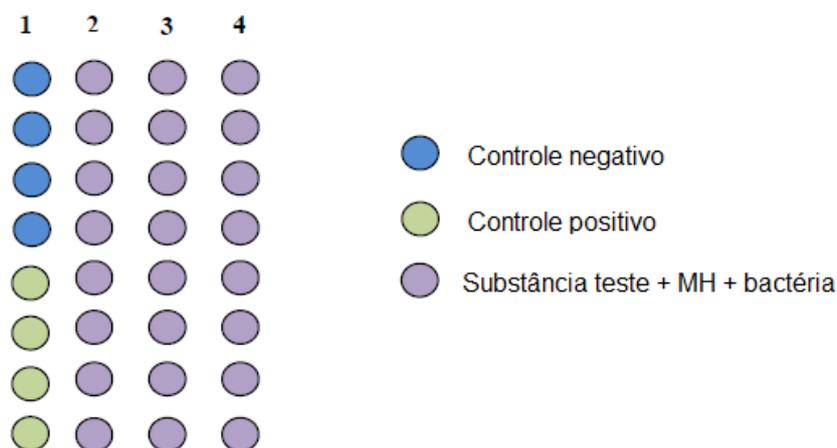


Figura 16 - Esquema da diluição empregada no teste de microplacas para avaliação da atividade antibacteriana.

2.3.4 Ensaios do Tempo de Morte

O ensaio do tempo de morte *in vitro* foi feito de acordo com a metodologia descrita na norma M26-A do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS,1999). Para a realização dos experimentos, a concentração bacteriana foi padronizada com base na escala 0,5 MacFarland ($1,0 \times 10^8$ UFC/mL) que se refere a

uma concentração bacteriana de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL. Uma alçada da amostra bacteriana foi colocada em 30 mL de solução salina e agitou-se até atingir a turvação do tubo 0,5 da escala MacFarland com concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL. Após a turvação, a solução foi diluída até uma concentração de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL. Em seguida, 2 mL da solução com concentração $1,0 \times 10^6$ UFC/mL foi diluída em 200 μ L de TSB. Posteriormente, 1 mL da solução contendo TSB foi adicionada em um tubo de ensaio autoclavado.

A concentração do material foi baseada a partir da CBM determinada nos testes de microdiluição. A concentração do material usada nesse ensaio foi multiplicada 10 vezes superior ao valor usando no ensaio CBM. Portanto, para cada bactéria foram testadas três concentrações do material, sendo 10, 20 e 40 mg de PPy convencional adicionadas em 3 tubos de ensaio contendo 1 mL da solução TSB

O plaqueamento ocorreu nos tempos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas para cada bactéria, em duplicata. Para cada tempo retirou-se 100 μ L da solução contendo TSB/amostra e adicionou-se em placa de petri. Em seguida, acrescentou-se 20 mL de PCA. As placas foram incubadas em estufa por 24 horas à 37 °C e, após a incubação, as colônias foram contadas manualmente, dividindo-se a placa em quatro quadrantes sendo o número de colônia por quadrante multiplicada por quatro.

2.4 Técnicas de Caracterização

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio eletrônico de Varredura (MEV) é um dos equipamentos disponíveis mais versáteis para observação e análise das características microestruturais de um material sólido, fornecendo informações topográficas (características da superfície do material), morfológicas (forma e tamanho das partículas que consistem no material) e composição (quantidade e elementos presentes no material). O princípio de funcionamento consiste em aplicar uma alta tensão, geralmente na faixa entre 1 a 50 kV, que acelera o feixe de elétrons sobre a superfície da amostra explorando-a ponto a ponto. À medida que os elétrons penetram na superfície da amostra ocorrem um serie de interações, resultando na emissão de elétrons ou fótons que são detectados e transmitidos do detector para

uma tela catódica que possui uma varredura completamente sincronizada com o feixe incidente [82 - 83].

Os principais sistemas presentes no MEV consistem em: sistema de vácuo, necessário para evitar a dispersão ou colisão dos elétrons com outras moléculas sistema de geração do feixe de elétrons, posicionado no topo da coluna do microscópio, sistema de manipulação do feixe de elétrons [75, 84], como mostra a Fig. 18.

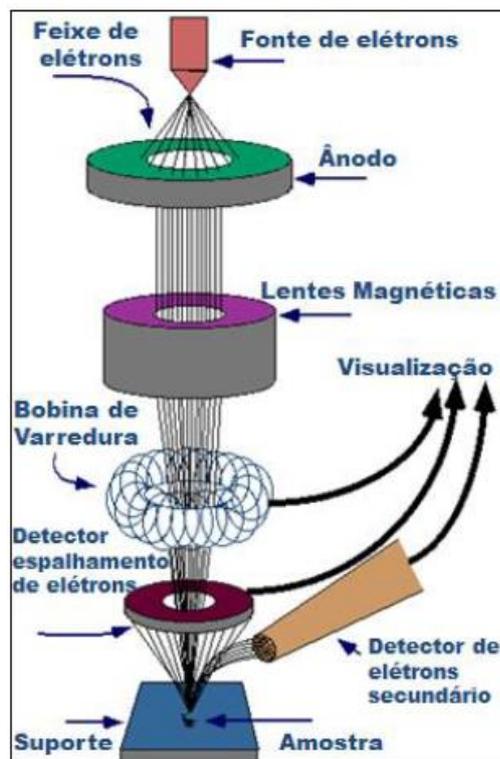


Figura 17 - Esquema de um microscópio eletrônico de varredura [82]

O Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Vega 3XMU, do laboratório de microscopia do Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais - IPCM UNIVASF, utilizado na caracterização das amostras deste trabalho é mostrado na Fig. 19.



Figura 18 - Microscópio Eletrônico de Varredura, Vega 3XMU.

Para obter uma maior interação da amostra com o feixe eletrônico, visando melhorar o nível de emissão de elétrons para construção da imagem, algumas amostras passam por processos físicos como evaporação ou recobrimento com íons metálicos. Os íons metálicos mais usados no recobrimento por deposição são ouro (Au), liga de ouro-paládio (Au-Pd) ou platina (Pt) [85]. Nesse trabalho, as amostras foram recobertas por uma camada de ouro. Durante o procedimento as amostras permaneceram em uma metalizadora por 120 s .

2.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR

Uma das grandes vantagens da espectroscopia no infravermelho é o estudo da amostra em qualquer estado físico. A técnica baseia-se na absorção de diferentes frequências decorrentes das vibrações de átomos e moléculas presentes na amostra [84].

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier foi desenvolvida a fim de sanar as limitações encontradas com os instrumentos dispersivos, criados antes do surgimento do FTIR. O principal problema dos antigos instrumentos dispersivos era o lento processo de digitalização das amostras [86].

O FTIR possui um dispositivo óptico chamado interferômetro, capaz de produzir um único tipo de sinal com todas as frequências emitidas da radiação

infravermelha incidida na amostra. O processo de digitalização ocorrem na ordem de um segundo ou mais [87].

Os espectros para estudo dos grupos funcionais presentes nas amostras de filmes de PPy e do PPy convencional foram obtidos por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. A Fig. 20 mostra o espectrofotômetro modelo IR PRESTIGE-21, com varredura de 400 a 4500 cm^{-1} , da marca Shimadzu do laboratório de Espectroscopia de Impedância e Materiais Orgânicos (LEIMO) - UNIVASF, utilizado na caracterização das amostras deste trabalho.



Figura 19 - Espectrômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier Shimadzu.

Na preparação das amostras, inicialmente reduziu-se com auxílio de gral e pistilo (de quartzo) 100 mg de KBr puro para forma de pó. Em seguida foi inserido em um molde (patilhador) para prensagem e formação de pastilhas.

O espectro da pastilha de KBr puro serviu como referência. Em seguida as amostras foram misturadas com 100 mg de KBr e prensadas, a fim de obter as pastilhas que foram analisadas na região ente 4000 a 500 cm^{-1} . As pastilhas foram prensadas com uma força de 40 kN.

2.4.3 Teste de atuação

A fim de avaliar as características de atuação dos filmes de PPy produzidos pelo método de polimerização interfacial sob os parâmetros mencionados na seção 2.2.1, montou-se um sistema eletroquímico. Para cada ensaio o filme foi imerso em

uma solução eletrolítica de cloreto de potássio com concentração $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ interligado a um gerador de sinais da Stanford Wave Generator modelo DS345. Uma placa de aço foi usada como contra-eletródo para completar o circuito eletroquímico. A Fig 21 mostra o esquema do circuito eletroquímico usado no experimento.

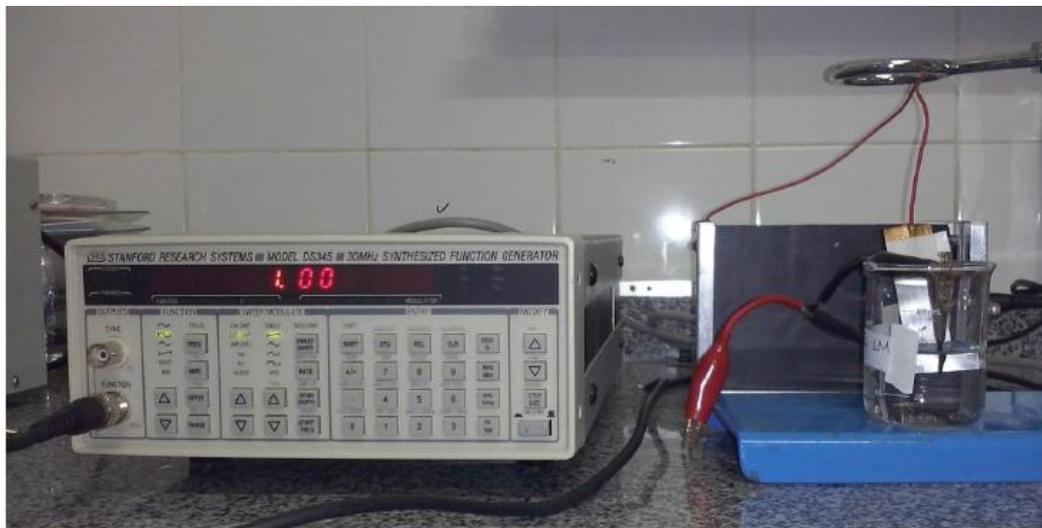


Figura 20 - Montagem experimental do sistema de atuação

Para estudar o comportamento de atuação dos filmes quanto á sua deflexão foram aplicadas tensões de 1 a 10 V com frequências elétricas que variavam de 0,1 a 2,0 Hz. Os ensaios com o dispositivo em movimento foram gravados (com auxílio de uma câmera digital) para captação dos ângulos de deslocamento, Fig 22. Em seguida, com auxílio dos softwares Windows Movie Maker e Windows Mídia Play os vídeos digitais foram convertidos em imagens JPEG.

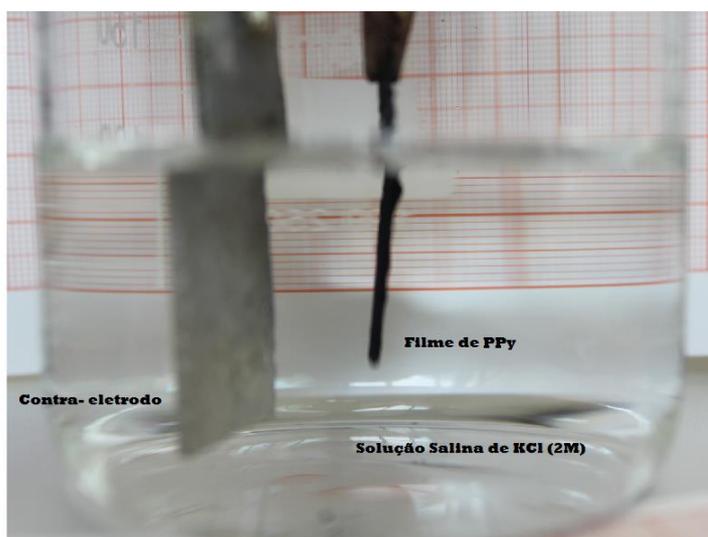


Figura 21 - Filme de PPy submerso em uma solução de KCl 2 M.

Capítulo III Resultados e discussões

3. Músculos artificiais

3.1 Síntese

Os filmes de PPy foram preparados pelo método de polimerização interfacial, em um sistema líquido-líquido contendo água (solução de FeCl_3) e clorofórmio. A polimerização ocorreu na interface entre as duas fases líquidas, sendo que, na parte superior correspondeu a fase aquosa (água) contendo cloreto férrico e, na parte inferior a fase orgânica contendo o monômero de pirrol. O monômero de pirrol e o oxidante sofrem polimerização na interface das fases líquida e gasosa produzindo uma película fina, no entanto, com o progresso da polimerização a película torna-se mais espessa e escura.

A taxa de polimerização interfacial é controlada por difusão, e as taxas de difusão dos reagentes para a interface a uma dada temperatura são normalmente determinadas pelas concentrações de reagentes. As principais condições reacionais que afetam o processo de fabricação e as propriedades dos filmes de PPy são concentração do monômero (pirrol), concentração do oxidante (FeCl_3) e o tempo de polimerização. Neste trabalho realizamos a produção dos filmes de PPy em três parâmetros denominado de A, B e AB. No parâmetro A, uso-se 400 μL de Pirrol e 500 mg de cloreto férrico, no parâmetro B usou-se 300 mg de cloreto férrico e 800 μL de pirrol enquanto que para o parâmetro AB usou-se 800 μL de pirrol e 500 mg de cloreto férrico. A Fig. 23 mostra o processo de polimerização interfacial.



Figura 22 – Polimerização interfacial, a) fase orgânica e fase aquosa em 0h, b) formação do filme na interface após 24 h.

Após 24 horas de reação, os filmes foram produzidos na interface da solução de cloreto férrico e clorofórmio. Em seguida, os mesmos foram retirados e recortados para a, como mostrado na Fig. 24.

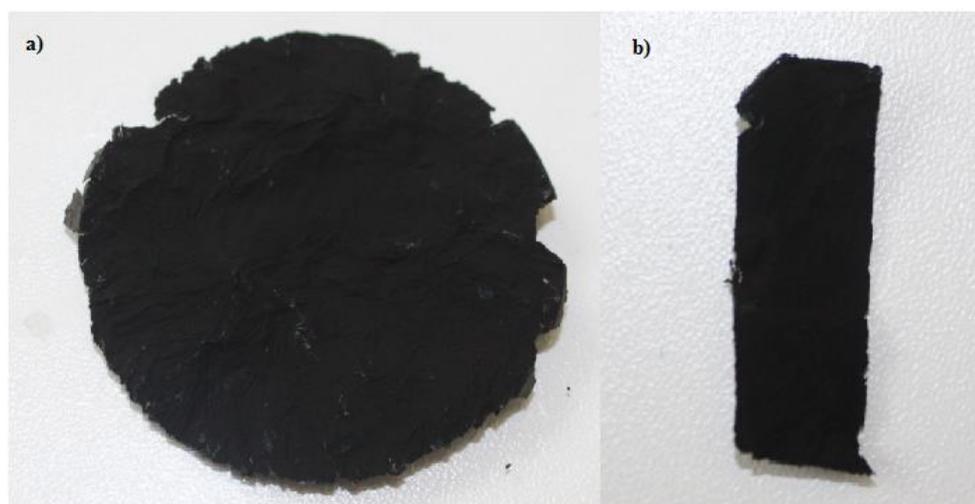


Figura 23 - Filme de PPy produzido na interface do sistema líquido-líquido, b) Recorte do filme usado nos testes de atuação.

A morfologia dos filmes de polipirrol pode apresentar diferentes estruturas, dependendo do método de síntese utilizado. O tipo de síntese influencia na

uniformidade, tamanho dos poros e área superficial [88 - 89]. A imagem da Fig. 25, mostram as micrografias dos filmes de PPy, obtidas por MEV, preparados nas três condições experimentais de polimerização interfacial.

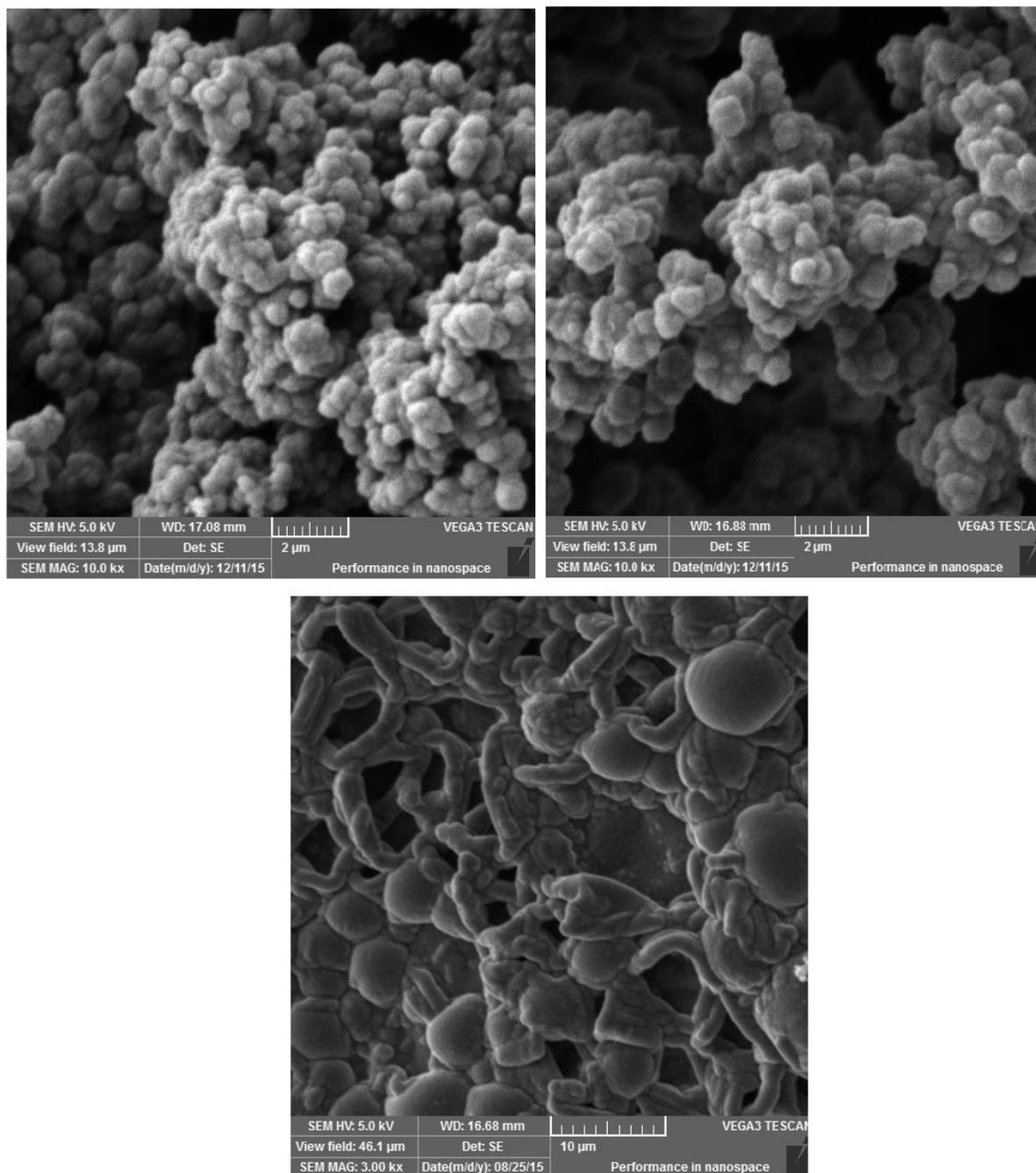


Figura 24 - Micrografias obtidas por MEV : a) PPy sintetizado pelo parâmetro A, b) PPy sintetizado pelo parâmetro B e c) PPy sintetizado pelo parâmetro AB.

É possível verificar que as amostras dos filmes de PPy sintetizadas apresentam superfícies rugosas com esferas irregulares, características essas, típicas de filmes produzidos pelo método de polimerização interfacial. Quando se

compara as imagens (Fig.24a e 24b com Fig.24c), pode-se observar a presença de estruturas fibrosas consequente do aumento da concentração do oxidante [90-91].

3.3 Aplicação dos filmes de PPy como atuadores mecânicos

As respostas dos atuadores mecânicos foram analisadas a partir da excitação elétrica aplicada nas amostras imersas em uma solução eletrolítica de KCl (2,0 M), em um intervalo de frequência de 0.1 a 0.7 Hz, como mostra a imagem da Fig 26.

As principais condições reacionais que afetam o processo de fabricação e as propriedades dos filmes incluem a concentração de monômero (Py), concentração do oxidante e o tempo de reação [89]. A espessura dos filmes depende da concentração do oxidante, quanto maior a concentração do oxidante na reação maior será a espessura do filme [92]. Além disso, a concentração do oxidante contribui para o aumento na taxa de polimerização [93]. Concentrações superiores a 0,2 M do monômero durante a reação resulta na produção de filmes com estruturas rugosas e baixa condutividade [89].

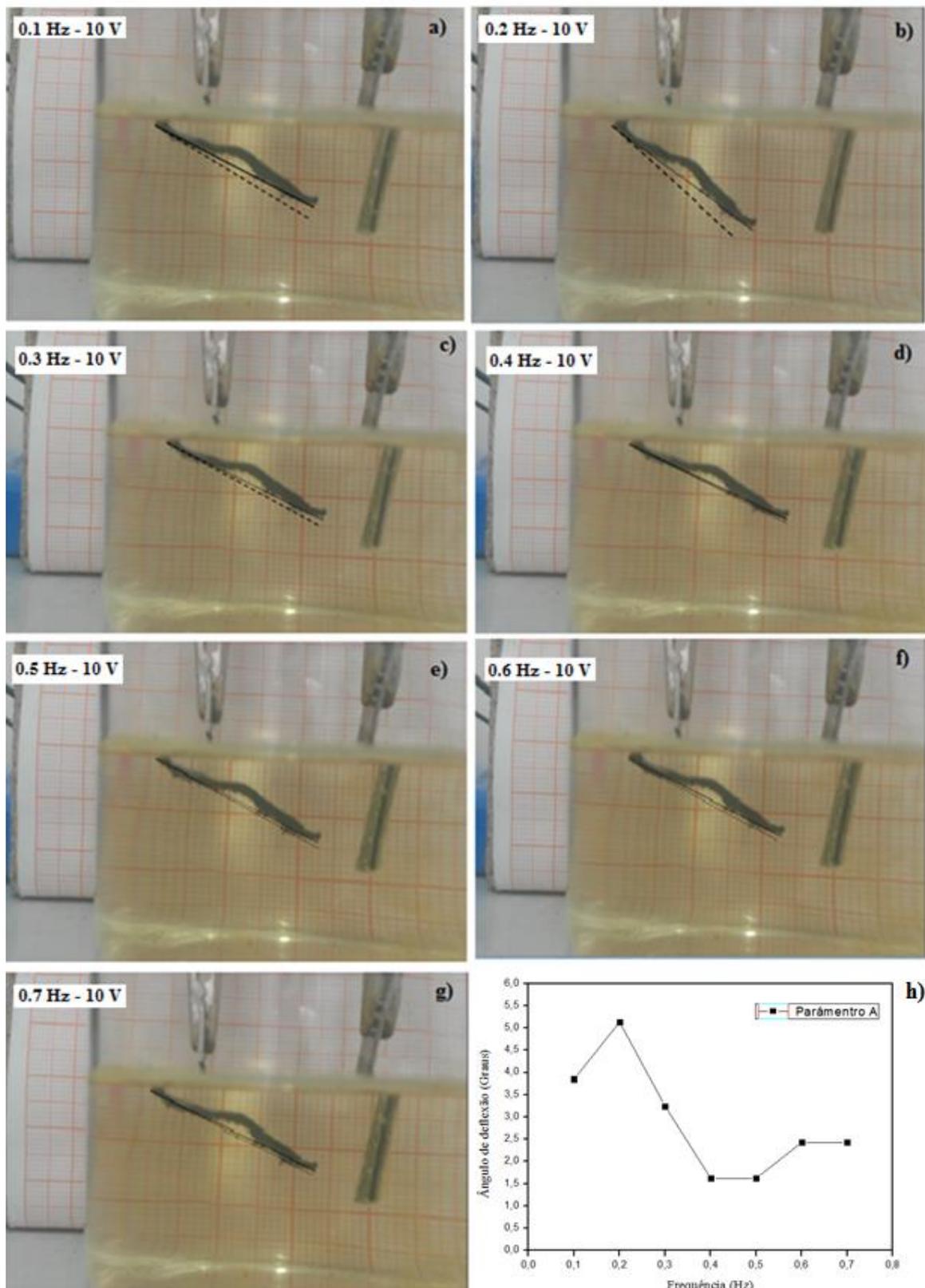


Figura 25 - Atuação do filme de PPy (parâmetro A) submetido a uma tensão elétrica de 10 V com variação de frequência de a) 0,1 Hz, b) 0.2 Hz, c) 0.3 Hz, d) 0.4 Hz, e) 0.5 Hz, f) 0.6 Hz, g) 0.7 Hz. e h) dependência dos ângulos de deflexão com a frequência do sinal elétrico.

Os ensaios com filmes de PPy (parâmetro A) apresentaram deformações quando estimulados por uma fonte de corrente alternada, proporcionando assim, um deslocamento periódico do material. As deformações são decorrentes das trocas iônicas entre solução e material, confirmando os processos de oxidação e redução que contribuem para a deflexão do material.

A partir das imagens (Fig. 26) observa-se que o filme de PPy apresentou amplitudes de deslocamento quando submetido a todas as frequências elétricas avaliadas, a qual variou entre 0.1 a 0.7 Hz sob uma tensão elétrica de 10 V, aplicado entre o filme e o contra-eletrodo (imersos na solução eletrolítica), fazendo com que o material se torne carregado de forma negativa ou positiva. A Tabela 3 apresenta os valores da tensão e frequência elétrica e os respectivos ângulos de deflexão obtidos para cada medida.

Tabela 3 - Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro A

Tensão (v)	Frequência Elétrica (Hz)	Ângulos deflexão (Graus)	Parâmetro
10 V	0.1	3.85	A
	0.2	5.13	
	0.3	3.24	
	0.4	1.62	
	0.5	1.62	
	0.6	2.43	
	0.7	2.33	

No entanto, pode-se analisar que o maior deslocamento para o filme sintetizado (parâmetro A) ocorreu quando o polímero foi submetido a 0.2 Hz sob uma tensão de 10 V, apresentando um ângulo de deflexão de 5.13°. Tal deslocamento é decorrente da interação eletroquímica com íons em solução eletrolítica, sob reações redox [86]

A Fig. 26 mostra o resultado para os ensaios de atuação dos filmes de PPy sintetizados sob o parâmetro AB. Pode-se observar visualmente nas imagens (Fig. 27 (a, b, c, d, e, e f) que a deflexão do filme varia com o inverso da frequência elétrica.

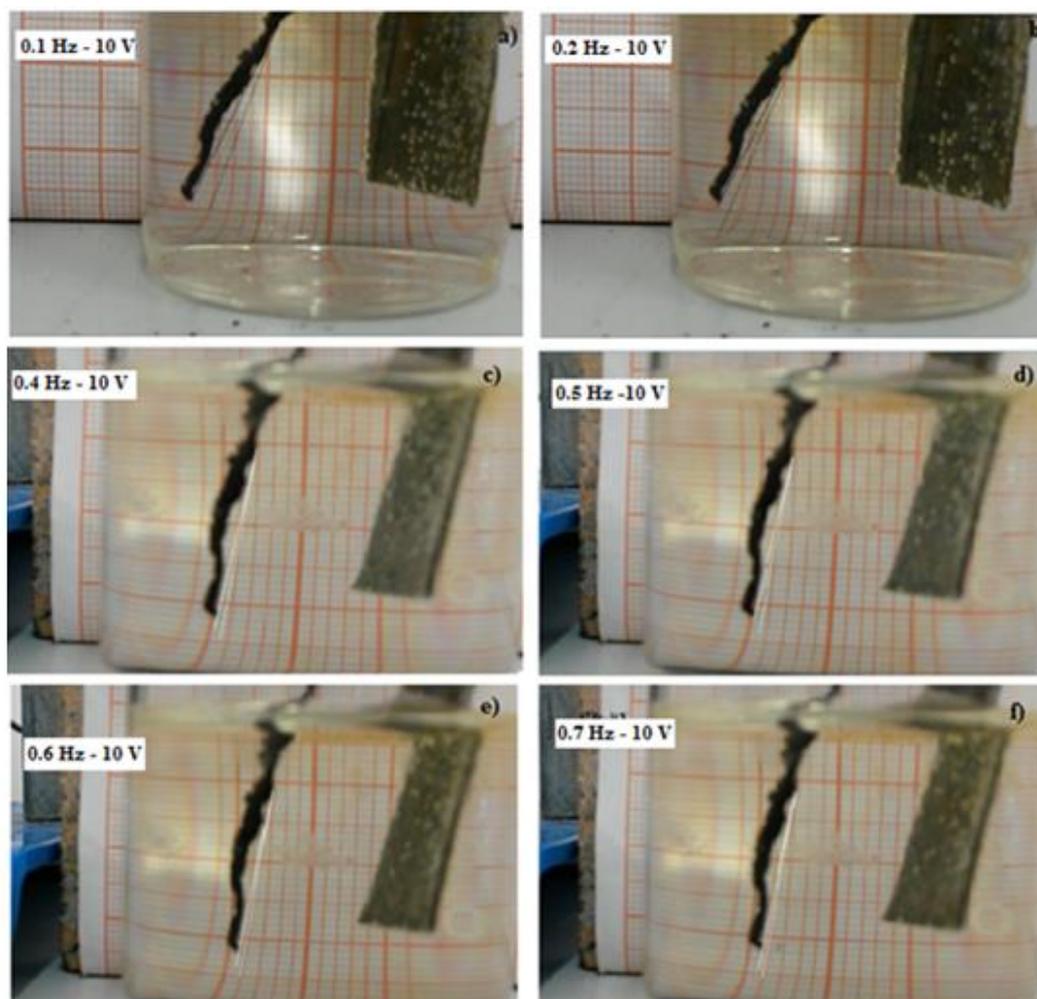


Figura 26 - Atuação do filme de PPy (parâmetro AB) submetido a uma tensão elétrica de 10 V com variação de frequência de a) 0,1 Hz, b) 0.2 Hz, c) 0.4 Hz, d) 0.5 Hz, e) 0.6 Hz e f) 0.7 Hz

Tabela 4 - Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro AB

Tensão (v)	Frequência Elétrica (Hz)	Ângulos deflexão (Graus)	Parâmetro
10 V	0.1	6.23	AB
	0.2	4.44	
	0.3	3.55	
	0.4	3.62	
	0.5	3.29	
	0.6	2.43	
	0.7	2.33	

A Tabela 4 mostra os valores de deflexão para os filmes sintetizados usando o parâmetro AB. Sendo assim, o filme alcançou maior ângulo de deflexão quando submetido a uma frequência de 0.1 Hz.

Pode-se observar na (Fig. 28) que ocorre um decaimento nos ângulos de deflexão com aumento da frequência.

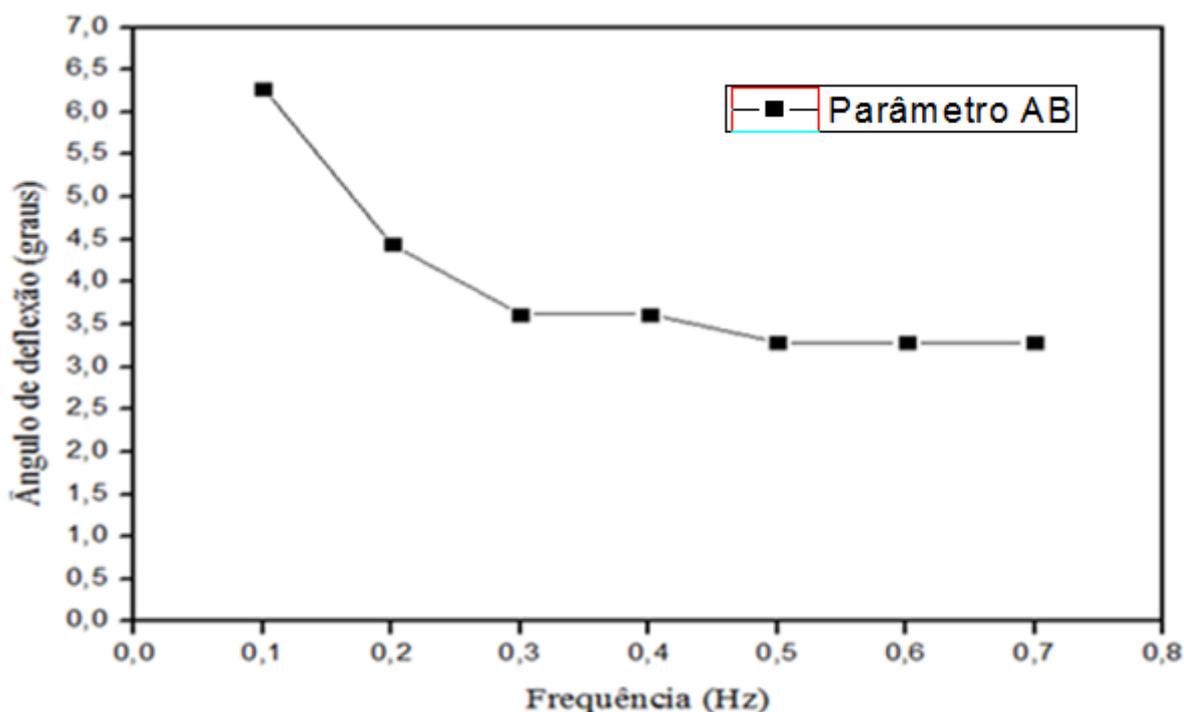


Figura 27 – Ângulos de deflexão x Frequência do campo elétrico para PPy sintetizado utilizando parâmetro AB.

A Tabela 5 apresenta os ângulos de deflexão para os testes com filme produzido a partir das concentrações indicadas pelo parâmetro B, onde se usou 300 mg de cloreto férrico e 800 μ L de pirrol.

Os ângulos de deflexão para o filme sintetizado pelo (parâmetro B), quando submetido a uma série de frequências elétricas, apresentou melhores resultados de deflexão quando comparados aos filmes produzidos pelos parâmetros A e AB. Observa-se que o filme exibiu uma amplitude de deslocamento de $14,72^\circ$ indicando que a menor concentração do oxidante combinada com a maior concentração do monômero pode resultar em filmes com uma estrutura mais favorável para atuação como músculo artificial.

Tabela 5 - Ângulos de deflexão dos filmes sintetizados pelo parâmetro B

Tensão (v)	Frequência Elétrica (Hz)	Ângulos deflexão (Graus)	Parâmetro
10 V	0.1	13,25	B
	0.2	9,03	
	0.3	10,42	
	0.4	11,85	
	0.5	14,72	
	0.6	13,27	
	0.7	6,32	

A Tabela 5 apresenta os resultados de deflexão do filme preparado pelo parâmetro B (0,07 M de FeCl₃ e 0,8 M de pirrol). Pode-se observar que a frequência elétrica influencia no aumento dos ângulos de deflexão entre 0,3 a 0,5 Hz.. Com o aumento na frequência do campo elétrico, os processos dependentes do tempo são ativados em períodos mais curtos John et al [94].

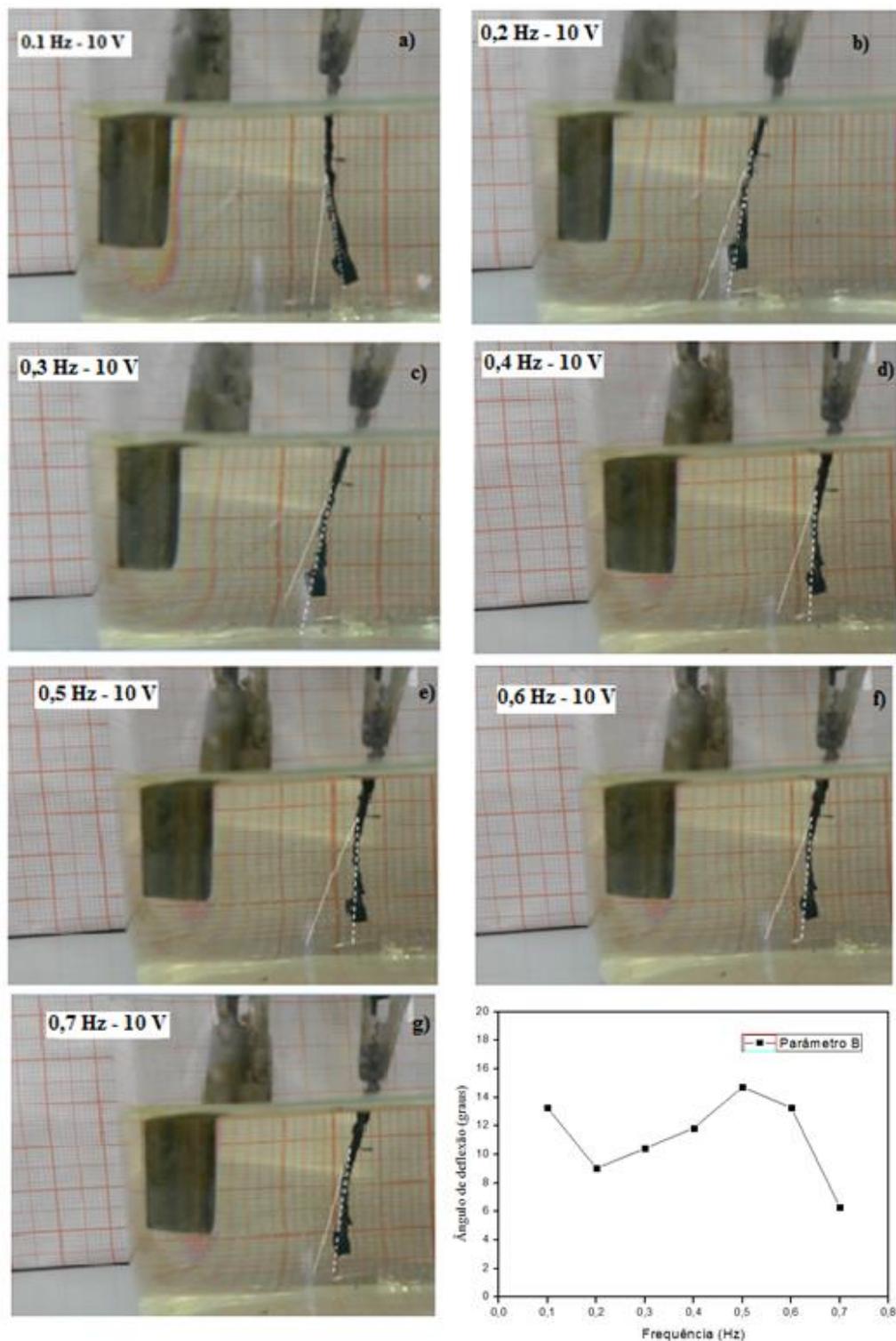


Figura 28 - Atuação do filme de PPy (parâmetro B) submetido a uma tensão elétrica de 10 V com variação de frequência de a) 0,1 Hz, b) 0.2 Hz, c) 0.4 Hz, d) 0.5 Hz, e) 0.6 Hz e f) 0.7 Hz.

3.4 Polipirrol como agente bactericida

Alguns produtos antimicrobianos comuns nos dias atuais à base de triclosan (2,4,4 – tricloro -2-hidroxidifenileter um composto fenólico) e prata sofrem deficiência pela curta duração ativa e pelos altos custos. Além disso, por possuírem baixos pesos moleculares, causam danos ao meio ambiente e aos usuários desses produtos. Polímeros antimicrobianos têm sido cada vez mais uma alternativa viável para aplicações bactericidas, pois o elevado peso molecular contribui para superar tais problemas, além disso, são considerados um meio interessante para muitas aplicações, em particular na indústria têxtil, por apresentar vantagens como baixa irritação, baixa toxicidade, biocompatibilidade, longo tempo de resistência aos microrganismos e atividade biológica [60].

Neste estudo, a atividade antimicrobiana do PPy convencional foi avaliada frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas através do teste de microdiluição (CBM). Para completar o estudo foram aplicados os ensaios de disco de halos de inibição e de tempo de morte.

3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O polipirrol via síntese química recebeu o nome de “convencional” por ser sintetizado por um dos métodos mais comuns. Nesta síntese, as cadeias de polipirrol foram sintetizadas usando o persulfato de amônio como agente oxidante. O produto final da reação resultou em pó um preto. A morfologia do polipirrol convencional pôde ser observada na micrografia da Fig. 30, apresentando esferas irregulares com superfícies rugosas. O uso do APS como oxidante contribuiu para produzir uma estrutura volumosa.

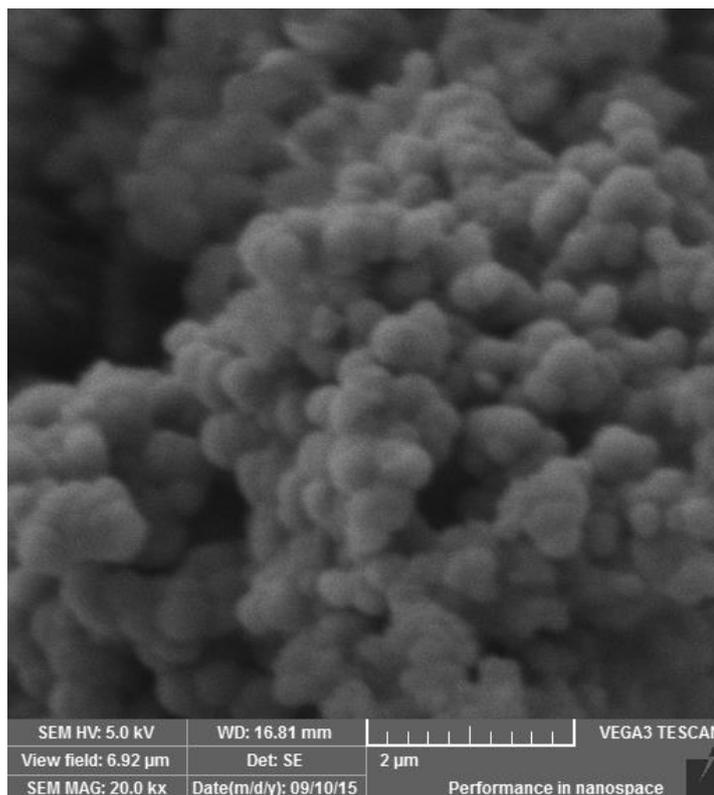


Figura 29 - MEV do Polipirrol convencional.

3.6 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A partir da análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi possível identificar os picos característicos do PPy convencional.

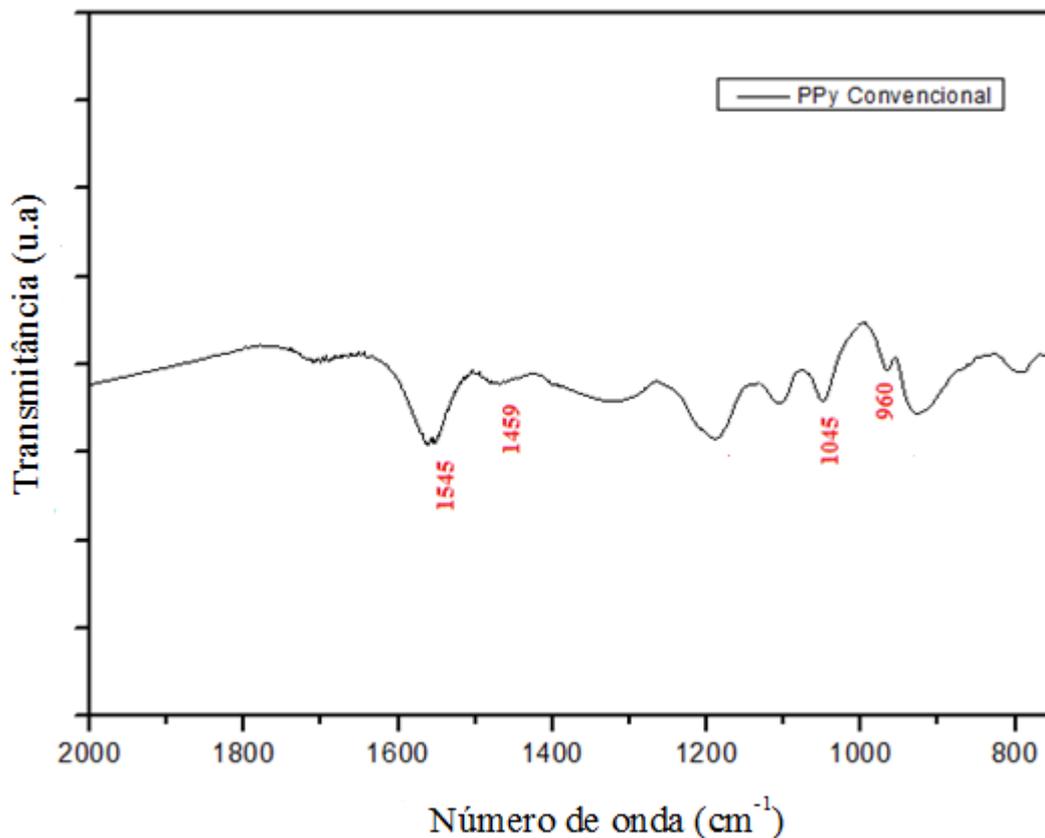


Figura 30 - FTIR do PPy convencional.

O espectro de FTIR (Fig. 31) revela que a assinatura característica do polipirrol pode ser visualizada a partir dos picos localizados em 1545, 1459, 1045, 960 e 927 cm^{-1} , que correspondem respectivamente, às ligações de estiramento do anel do pirrol em C=C, às vibrações de alongamento em C-N, das deformações de vibração em C-H e às ligações de C-C para fora do plano da deformação de vibração do anel de pirrol. Esses picos também confirmam o grau de polimerização do PPy convencional [95-100].

3.7 Ensaios de disco difusão

O método de difusão em ágar foi explorado a fim de identificar atividade antimicrobiana do polipirrol sintetizado via polimerização interfacial. As imagens da Fig. 31 apresentam os halos de inibição, com as áreas claras ao redor das amostras correspondentes aos locais onde não houve o crescimento de bactérias. As zonas de inibição são atribuídas à atividade antibacteriana do material.

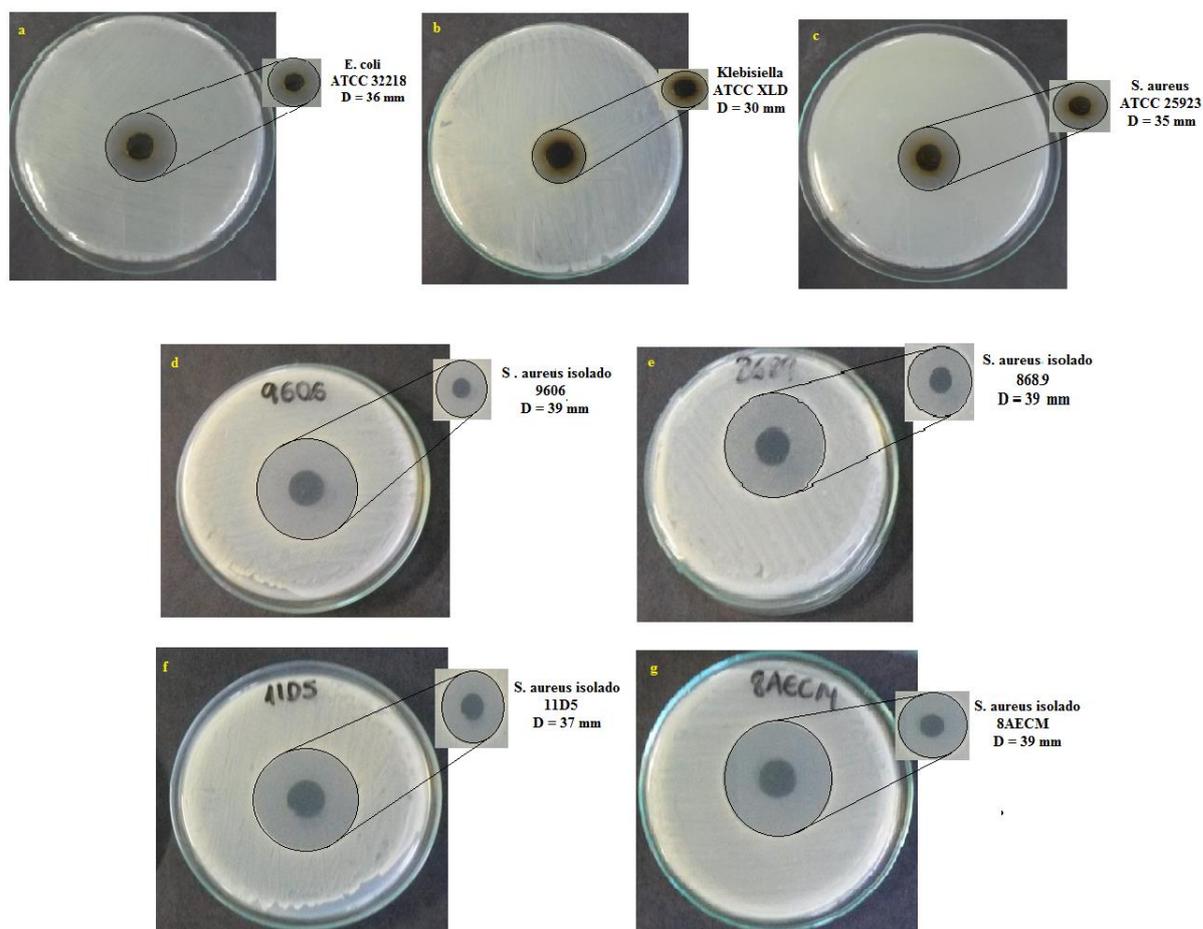


Figura 31 - Imagens dos halos de inibição para a) *E.coli*, b) *K. pneumoniae*, c) *S. aureus* (25923), d) *S. aureus* isolado (9606), e) *S. aureus* isolado (8689), f) *S. aureus* isolado (11D5) e *S. aureus* isolado (8AECM).

Quando comparados os três tipos de bactérias, podemos ver que a atividade bactericida do PPy convencional, em termos das zonas de inibição de formação, seguem as seguintes ordens: Isolados *S. Aureus* (humanos) > *E. coli* > *S. Aureus* > *K. pneumoniae*. A inibição indica que o material possui grande potencial como agente bactericida para os três tipos de bactérias. No entanto, para os isolados humanos de *S. aureus* (bactérias Gram-positivas) o material apresenta o maior potencial bactericida, sendo que, quando em contato com essas bactérias exibiu diâmetros de inibição superiores aos da *E. coli* e *K. Pneumoniae* (bactérias Gram-negativas). Os tamanhos significativos dos halos comprovam que a interação do polímero e microrganismos resultou na morte das bactérias.

O método de difusão em ágar se limita em fornecer apenas dados qualitativos, desse modo, as bactérias também foram submetidas a testes de diluição que fornecem dados quantitativos.

3.8 Concentração Bacteriana Mínima (CBM)

O método de microdiluição em caldo, uma técnica de diluição, faz uso de volumes entre 1 e 100 μL , possibilitando a visualização da atividade inibitória. Utilizando o parâmetro de concentração bactericida mínima (CBM), que é a concentração mínima do agente que mata até 99,9% [66] do número original de bactérias. Esse parâmetro além de refletir a capacidade do polipirrol em inibir o crescimento também demonstra o efeito na morte bacteriana [101]. A Tabela 4 apresenta os dados da CBM.

Das sete cepas bacterianas que foram submetidas aos testes de CBM, todas exibiram uma CBM de 1,0 mg/mL, indicando que os dois grupos de bactérias, Gram-positivas e Gram-negativas, apresentaram a mesma sensibilidade quando submetidos a esse teste. A Fig. 33 mostra os resultados da CBM em microplacas, onde pôde-se observar que não houve um crescimento de bactérias no poço corresponde à concentração de 1,0 mg/mL. Portanto, os resultados mostraram que material pode ser utilizado para tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, em particular, das espécies estudadas.

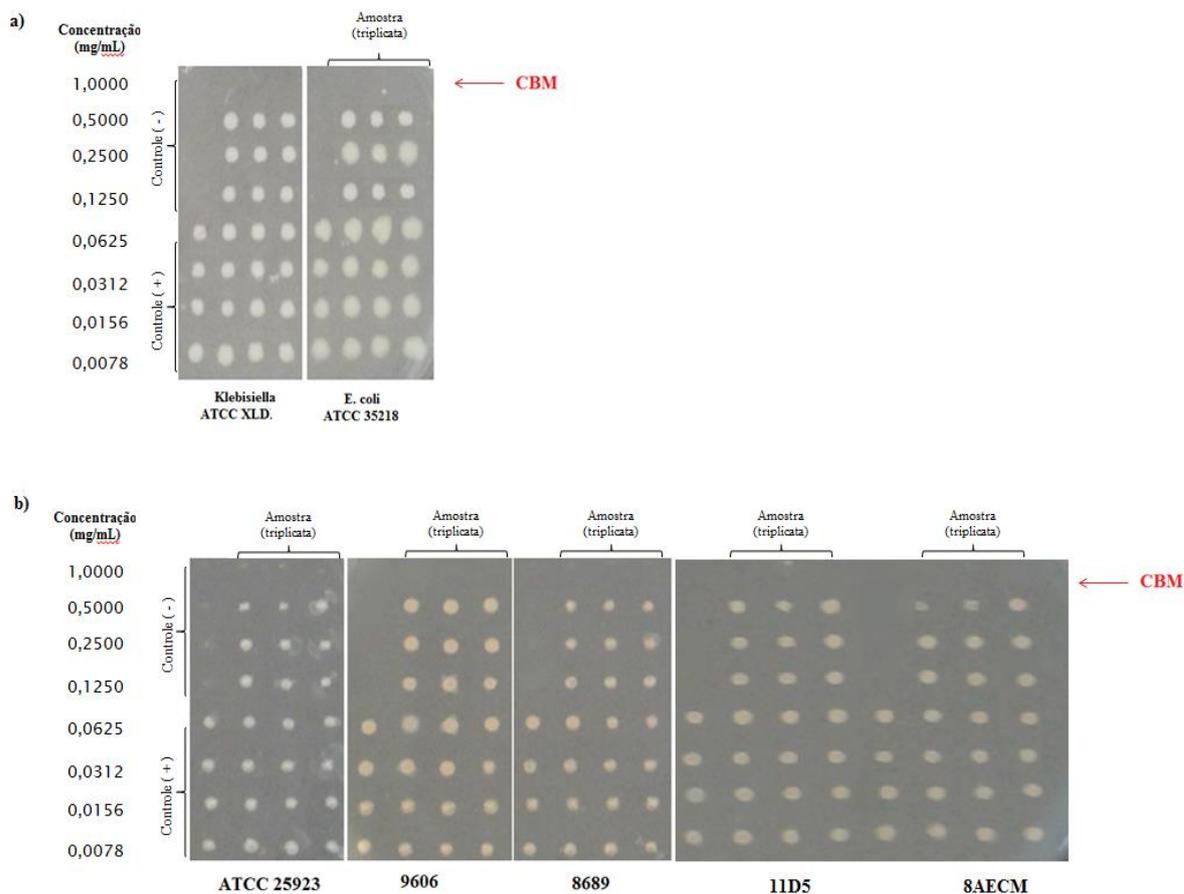


Figura 32 – Recorte das microplacas com resultado da CBM

3.9 Curva de Morte

O ensaio de tempo de morte é um teste no qual se determina o tempo que a substância que está sendo testada (PPy convencional) impede o desenvolvimento do microorganismo. Ele fornece informações sobre a ação da substância e sua interação com o tempo [102-103]. Neste estudo foi realizado o tempo de morte do PPy convencional em três concentrações para *S. aureus* (ATCC 25923), isolados humanos de *S. aureus*, *E. coli* (ATCC 32218) e *K. pneumoniae* (ATCC XLD), em tempos de 0 a 8 horas.

A Fig. 34 mostra os resultados dos ensaios do tempo de morte quando submetidos a três diferentes concentrações de PPy convencional. Os gráficos foram plotados estimando-se a quantidade máxima de colônias bacterianas (1000 colônias).

A *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva e as Figuras 32a, 32b, 32c e d mostram que os ensaios de tempo de morte utilizando a concentração de 10 mg/mL,

não foram suficiente para eliminar as colônias de bactérias em 8 horas de experimento.

Quando os ensaios foram feitos com uma concentração de 20 mg/mL, observa-se que em 7 horas de experimentos para os isolado *S. aureus* (8689) e *S. aureus* (11D5) todas colônias estavam mortas e em 8 horas as colônias de *S. aureus* (9606). Para *S. aureus* (25923) e *S. aureus* (8AECM) 20 mg/mL não foram suficientes para eliminar todas as colônias em 8 horas.

Com a concentração de 40 mg/mL as colônias foram totalmente eliminadas. Em duas horas as colônias de *S. aureus* (8AECM), em 3 horas as *S. aureus* (25923), em 4 horas as colônias de *S. aureus* (9606), *S. aureus* (9606) e *S. aureus* (11D5).

Para *K. pneumoniae* as concentrações de 10 e 20 mg/mL de PPy convencional não foram suficientes para eliminar as colônias bacterianas em 8 horas, mas quando submetidas a 40 mg/mL de PPy, 4 horas foi o tempo suficiente para eliminar todas as colônias.

O PPy convencional não foi capaz de eliminar em 8 horas todas as colônias de *E. coli*, mas 6 horas de experimentos para as concentrações de 20 e 40 mg/mL todas as colônias foram eliminadas.

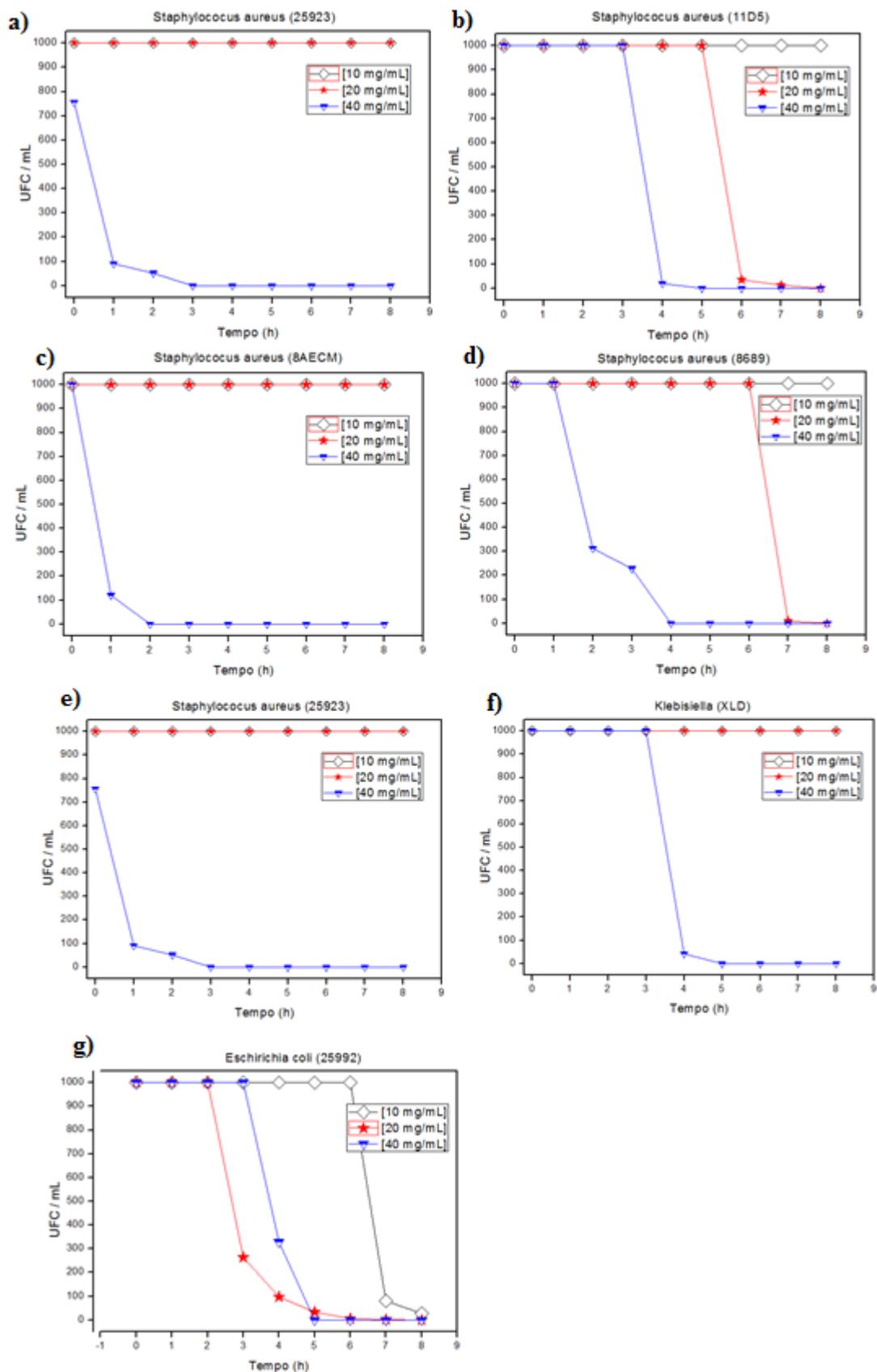


Figura 33 - Ensaios da curva de morte para sete cepas bacterianas.

As bactérias Gram-positivas possuem uma camada espessa de peptidoglicano em sua parede celular enquanto que as bactérias Gram-negativas possuem uma camada de peptidoglicano mais uma camada fina de Lipopolissacarídeo da membrana externa. [104]. Desse modo podemos observar através da Fig. 34, que a atividade bactericida é mais forte para isolados de *S. aureus* em comparação com *E. coli* e *K. pneumoniae*. A atividade bactericida é atribuída à morfologia do material. A *S. aureus* é caracterizada por múltiplas camadas de peptidoglicano e um grau elevado de porosidade, características que facilitam a difusão de nanopartículas do material e a interação com células. Contudo, a parede fina da *E.coli* e *K. pneumoniae* minimizam a difusão das nanopartículas do material. Apesar dessas desvantagens o material apresentou uma ação bactericida mas em tempos mais longos [105].

A função antimicrobiana resulta das interações atrativas entre os grupos catiônicos e da membrana celular da bactéria, carregada negativamente. Essas interações ocasionam a formação de agente tensoativos, que provocara a interrupção de todas as funções essenciais da membrana celular e, assim, cessando a atividade da proteína. Além disso, afetam o DNA bacteriano, causando uma perda da capacidade de multiplicação [106]. Portanto, o polipirrol é um agente bactericida porque as cargas positivas em sua estrutura são atraídas pelas cargas negativas das bactérias, sendo assim, a estrutura polimérica entra em contato com estrutura interna das bactérias provocando a morte das mesmas [107].

Capítulo IV - Conclusões e Perspectivas

4. Conclusões e Perspectivas

Na produção de filmes para aplicação como músculos artificiais, o PPy foi sintetizado pelo método de polimerização interfacial, apresentando uma morfologia com estrutura com alta rugosidade superficial, analisada por MEV. Através do FTIR foi possível identificar os picos característicos do PPy.

Quanto aos estudos relativos à aplicação dos músculos observou-se que material demonstrou capacidade de atuação e performance de trabalho quando submetidos a baixas tensões (1 a 10 V). Além disso, apresentou significativas deformações quando submetidos a baixas frequências (0.1 a 0.7 Hz), caracterizando sua viabilidade para futuras aplicações como dispositivos de atuação.

Os testes com discos, que resultaram nos halos de inibição exibiram diâmetros significativos para as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, indicando que o material possuía um grande potencial para atuar como agente bactericida (antimicrobiano).

O ensaio de micro-diluição (CBM) apresentou o material polimérico como um agente antimicrobiano para todas as bactérias estudadas, sendo sua concentração mínima bactericida de 1,0 mg/mL.

O ensaio de tempo de morte confirmou o resultado obtido no ensaio de micro-diluição demonstrando que o material é um agente bactericida. No entanto, a concentração de 10 mg/mL foi insuficiente para eliminar todas as sete bactérias em até 8 horas. Quando aplicado uma concentração de 40 mg/mL do material polimérico é que foi possível eliminar todas as colônias em tempo inferiores a 8 horas, sendo que, as *S. aureus* isoladas de humanos e a ATCC 25923 apresentaram os melhores resultados.

As perspectivas para este trabalho são de melhorar as propriedades elétricas dos filmes de polipirrol para aplicação em músculos artificiais através do acréscimo de dopantes e surfactantes durante o processo de síntese, além disso, produzir os filmes pelo método de polimerização eletroquímica, de forma a apresentar uma maior viabilidade para aplicação em atuadores por apresentar morfologia e propriedades mais adequadas.

Objetivamos também sintetizar o polipirrol pelas técnicas de polimerização interfacial tri-fase para aplicação em supercapacitores como também polimerização interfacial congelada (um tipo de polimerização onde a fase aquosa é solidificada a baixas temperaturas) para aplicação em células solares.

REFERÊNCIAS

- [1] BOLIN, M. Conjugated polymer surface switches for active cell control. 53 f Linkoping University, Suécia, 2011.
- [2] FAEZ, R., et al. Polímeros Condutores. Química nova na escola, 2000.
- [3] XAVIER, M, Eletrossíntese de nanoestruturas de polianilina. 2010. 101 f Universidade Federal de São Carlos, 2010.
- [4] FILHO, R.R.C. Polímeros condutores: Descobertas e aplicações. Química nova na escola, 11-14, 2000.
- [5] CHIANG, C.K. Electrical conductivity in doped polyacetylene. Physical Review Letters, v. 39, p.1098-1101, 1977.
- [6] MACDIARMID, A, Synthetic metals: a novel role for organic polymers. Synthetic Metals, 11-22. 2002.
- [7] BLINOVA, N.V, STEJSKAL, J, TRCHOVA, M, PROKES, J. Polyaniline prepared in solutions of phosphoric acid: Powders, thin films, and colloidal dispersions. Polymer. 42 – 48, 2006,
- [8] BREDAS, J. L.; STREET, Street, G. B. Polarons, Bipolarons, and Solitons in Conducting Polymers, Accounts of Chemical Research, vol. 18, no. 10, pp. 309-315, 1985.
- [9] LAWAL, A.T., WALLACE, G.G. Vapour phase polymerisation of conducting and non-conducting polymers: Talanta, 133 – 143, 2014.
- [10] SINGH, A., SALMI, Z., JOSHI, N., JHA, P., KUMAR, A., LECOQ, H., LAU, S., CHEHIMI, M.M., ASWAL, D.K., SHIV K. GUPTA, S.K. Photo-induced synthesis of polypyrrole-silvernanocomposite films on N-(3-trimethoxysilylpropyl)pyrrole-modified biaxially oriented polyethylene terephthalate flexible substrates. RSC Advances, 2013, 5506.
- [11] MEDEIROS, E.S., OLIVEIRA, J. E., FILHO, N.C., PATERNO, L. G. MATTOSO, L.H.C . Uso de Polímeros Condutores em Sensores. Parte 1: Introdução aos Polímeros Condutores. Revista Eletrônica de Materiais e Processos, 1809 – 8797, 2012,
- [12] FOU, A. C. RUBNER, M. F. Molecular - Level Processing of Conjugated Polymers. 2. Layer-by-Layer Manipulation of In-Situ Polymerized p-Type Doped Conducting Polymers. *Macromolecules*, 7115 – 7120, 1995,

- [13] RAM, M.K., ADAMI, M., FARACI, P., NICOLINI, C. Physical insight in the in-situ self-assembled films of polypyrrole. *Polymer*, 7499 – 7509, 2000,
- [14] BREDAS, J. L.; SCOTT, J. C.; YAKUSHI, K.; STREET, G. B.. *Phys. Rev.*, 30, 1023, 1984,
- [15] NETO, J.F. Estudo de propriedades elétricas e características Físico-Química do polipirrol obtido por síntese fotoquímica. Universidade Estadual de Campinas, 17 – 25, 2002.
- [16] VASQUES, C.T. Preparação e caracterização de filmes poliméricos a base de amido de milho e polipirrol para aplicação como biomaterial. Universidade Federal de Santa Catarina, 24 – 29, 2007,
- [17] RAM, M.K.; ADAMI, M.; FARACI, P.; NICOLINI, C. Physical insight in the in-situ self-assembled films of polypyrrole. *Polymer* 417499–7509, 2000.
- [18] BASHIR, T. Conjugated Polymer-based Conductive Fibers for Smart Textile Applications. UNIVERSITY OF BORÅS. Sweden. 0346-718X, 2013.
- [19] GONÇALVES, V. F. B. N. Uso de Polímeros Condutores na Proteção Catódica de Estruturas de Aço. Universidade do Porto, Portugal, 2008.
- [20] CHANCE, R.; BOURDEAUX, D.; BRÉDAS, J. L.; SILBEY, R.. em “ Handbook of Conducting Polymers” , T. A. Skotheim (ed.), Marcel Dekker Inc., 1986, vol. 2, Nova Iorque, Cap. 24.
- [21] RINALDI, A.W., Desenvolvimento de blendas e sensores utilizando polímeros condutores eletrônicos e iônicos. Universidade Estadual de Maringá, 11 – 15, 2005.
- [22] FOSCHINI, M. Eletrossíntese e caracterização de filmes de polipirrol-2-ácido carboxílico para uso em biossensores amperométricos contruídos em eletrodos miniaturizados, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo f.49-57, 2009.
- [23] MATTOS, L. L. Membranas nanoestruturadas de polipirrol para aplicação em baterias. Universidade Federal de Santa Catarina, 42 – 49, 2011,
- [24] Eletrossíntese e caracterização de filmes de polipirrol-2-ácido carboxílico para uso em biossensores amperométricos construídos em eletrodos miniaturizados. Universidade de São Paulo, 49 – 55, 2009
- [25] MACDIARMID, A.; EPSTEIN, A.J. Secondary doping in polyaniline. *Synthetic Metals*, v.69, p.85-92, 1995.
- [26] SANTIM, R.H. Síntese e Caracterização de Polipirrol (PPy) obtido pelo processo químico convencional e microemulsão. Universidade Estadual Paulista, 18 – 28, 2011.

- [27] LUNA, J.G.A. Estudo de dispositivo eletrônico e opto-eletrônico a base de semicondutores orgânicos utilizando a Ressonância Magnética Detectada Eletricamente. Universidade de São Paulo, 10 -14, 2009.
- [28] KU, C. C.; LIEPINS, R.; Electrical Properties of Polymers:Chemical Principles, Munich, 1987.
- [29] MAIA, D. J.; DE PAOLI, M-A.; ALVES, O. L.; et al., Síntese de polímeros condutores em matrizes sólidas hospedeiras, Química Nova, vol. 23, 2000.
- [30] ESTEVES, N. A. H, IGLESIAS, B. A, Li, R.C.W, OGAWAC, T, ARAKIA, K, GRUBERA, J. New composite porphyrin-conductive polymer gas sensors for application in electronic noses. Sensors and Actuators B. 136 -141, 2014
- [31] YANG. X, Li, L. Polypyrrole nanofibers synthesized via reactive template approach and their NH₃ gas sensitivity. Synthetic Metals. 1365 – 1367, 2010
- [32] MIRFAKHRAI. T, MADDEN, J.W.D, BAUGHMAN, R.H. Polymer artificial muscles. Materialstoday. 1369 7021, 2007.
- [33] OTERO, T. F., MARTINEZ, J. G, PARDILLA. J. A. Biomimetic electrochemistry from conducting polymers. A review Artificial muscles, smart membranes, smart drug delivery and computer/neuron interfaces. Electrochimica Acta. 112 – 128, 2012.
- [34] OLIVEIRA, H. P, SYDLIK, S. A, SWAGER, T. M. Supercapacitors from Free-Standing Polypyrrole/Graphene Nanocomposites. The Journal of PHYSICAL CHEMISTRY C. 10270 – 10276, 2013.
- [35] MUHSIN. B, ROESCH. R, GOBSCH. G, HOPPE. H. Flexible ITO-free polymer solar cells based on highly conductive PEDOT:PSS and a printed silver grid. Solar Energy Materials & Solar Cells. 551 – 554, 2014,
- [36] CHOI. S, WILLIAM J. POTSCAVAGE. W.J.J, KIPPELEN. B. ITO-free large-area organic solar cells. OPTICS EXPRESS A458, 2010.
- [37] S. Brooks, N. Cole, and J. Falkner. Tissue engineering of skeletal muscle. In J. Bronzino, editor, The Biomedical Engineering Handbook. CRC Press, Inc., 1995.
- [38] HOOPER, S.L; HOBBS, K.H; THUMA, J.B. Invertebrate muscles: Thin and thick filament structure; molecular basis of contraction and its regulation, catch and asynchronous muscle, Progress in Neurobiology, 86, 72–127, 2008.
- [39] LIEBER, R.L. Skeletal Muscle is a Biological Example of a Linear Electro-Active Actuator. Proceedings of SPIE's 6th Annual International Symposium on Smart Structures and Materials 3669-03, 2009.

- [40] ROSMARIN, K.J.C.; HARRY ASADA, H. SBC Hand: A Lightweight Robotic Hand with an SMA Actuator Array implementing C-segmentation, IEEE International Conference on Robotics and Automation Roma, Italy1-4244-0602-1/07, 2007.
- [41] COHEN, Y.B Electroactive Polymers as Artificial Muscles – Reality and Challenges. Proceedings of the 42nd AIAA Structures, Structural Dynamics, and Materials Conference (SDM), Gossamer Spacecraft Forum (GSF), held in Seattle WA, 2001.
- [42] Price, A.D. Fabrication, Modelling and Application of Conductive Polymer Composites. University of Toronto, f, 20-26, 2012.
- [43] Stubbs, L.The Development of Artificial Muscles Using Textile Structures. University of Manchester, f, 26 - 43, 2010.
- [44] Tahhan, M. Van-Tan Truong, V.T, Spinks, G.M , Wallace, G.G Carbon nanotube and polyaniline composite actuators. Smart Mater. Struct. ,12, 626–632 , 2003.
- [45]. Baughman, R.H Conducting polymer artificial muscles. Synthetic Metals, 78, 339-353, 1996.
- [46] Valero, L., Martinez, J.G., Otero. T.F. Creeping and structural effects in Faradaic artificial muscles. J Solid State Electrochem, 19:2683–2689, 2015.
- [47] NAFICY, S., STOBOI, N., WHITTEN, P. G., SPINKS, G. M.WALLACE, G. G. .Evaluation of encapsulating coatings on the performance of polypyrrole actuators. Smart Materials and Structures, 22 ,075005-1-075005-8, 2013.
- [48] Mirfakhral, T Madden, J.W.D., Baughman, R.H. Polymer artificial muscles. V. 10, ISSN:1369 – 7021, 2007.
- [49] VALERO, L.; PARDILLA, J.A.; RODRÍGUEZB, J.C.; SMITB, M.A.; OTERO, T.F Characterization of the movement of polypyrrole–dodecylbenzenesulfonate–erchlorate/tape artificial muscles.Faradaic control of reactive artificial molecular motors and muscles. Electrochimica Acta 56, 3721–3726, 2011.
- [50] Cornell, R.J.; Donaruma, L.G. 2-Methacryloxytroponones. Intermediates for Synthesis of Biologically Active Polymers. *J. Med. Chem.* 8, 388-390, 1965.
- [51] Vogl, O.; Tirrell, D. Functional Polymers with Biologically-Active Groups. *J. Macromol. Sci.-Chem.* A13, 415-439, 1979.
- [52] Panarin, E.F.; Solovski, M.; Ekzemply, O. Synthesis and Antimicrobial Properties of Polymers Containing Quaternary Ammonium Groups. *Khim.-Farm. Zh.* 5, 24-28, 1971.

- [53] Milovic, N.M.; Wang, J.; Lewis, K.; Klibanov, A.M. Immobilized N-Alkylated Polyethylenimine Avidly Kills Bacteria by Rupturing Cell Membranes with No Resistance Developed. *Biotechnol. Bioeng.* 90, 715-722, 2005.
- [54] Kawabata, N. Capture of Microorganisms and Viruses by Pyridinium-Type Polymers and Application to Biotechnology and Water-Purification. *Prog. Polym. Sci.* 17, 1-34, 1992.
- [55] Timofeeva, L.; Kleshcheva, N. Antimicrobial Polymers: Mechanism of Action, Factors of Activity, and Applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89, 475-492, 2011.
- [56]. Bortnowska-Barela, B.; Polowinska, A.; Polowski, S.; Vaskova, V.; Barton, J. Bioactive Emulsions of o-Carboxyphenyl Methacrylate Copolymers. *Acta Polym.*, 38, 652-654, 1987.
- [57] Rosenberg, L.E.; Carbone, A.L.; Roemling, U.; Uhrich, K.E.; Chikindas, M.L. Salicylic Acid-Based Poly(anhydride esters) for Control of Biofilm Formation in Salmonella Enterica Serovar Typhimurium. *Lett. Appl. Microbiol.* 46, 593-599, 2008.
- [58] A. Simchi, E. Tamjid, F. Pishbin, A.R. Boccaccini, Recent progress in inorganic and composite coatings with bactericidal capability for orthopaedic applications, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 7 22–39, 2011.
- [59] Varesano, C. Vineis, A. Aluigi, F. Rombaldoni, C. Tonetti, G. Mazzuchetti Antibacterial efficacy of polypyrrole in textile application *Fibers Polym.*, 14 pp. 36–42, 2013.
- [60] SESHADRI, D.T; BHAT, N.V. Synthesis and properties of cotton fabrics modified with polypyrrole *Sen-I Gakkaishi*, 61,4, pp. 103–108, 2005
- [61] TASHIRO T. Antibacterial and bacterium adsorbing macromolecules. *Macromolecules Materials Engeneering.* 286:63-87, 2001.
- [62] NOGUEIRA, L.G. Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonametídeos com enfoque no *Helicobacter pylori*, Universidade Federal Júlio de Mesquita Filho, p, 34- 40, 2012.
- [63] CHAND, S.; LUSUNZI, I.; VEAL, D. A.; WILLIAMS, L. R.; KARUSO, P.; J. ANTIBIOT. Rapid screening of the antimicrobial activity of extracts and natural products 47, 1295, 1994.
- [64] SILVA, C. H. P. M.; *Bacteriologia: Um Texto Ilustrado*, Ed. Eventos: Teresópolis, 1999.

- [65] RODRIGUES, T.L.J. RODERO, L. CUENCA, E.M. CÓRDOBA, .Determinación e la resitencia a Iso antifúngicos em al laboratório. III Curso Hispano Argentino de icologia médica, Buenos Aires, Argentina, 2001.
- [66] ABALOS, A.; PINAZO, A.; INFANTE, M. R.; CASALS, M.; GARCIA, F.; MANRESA, A.; Physicochemical and antimicrobia properties of new rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 form soybean oil refinery wastes. *Langmuir*, v.17,n.5,p 1367 – 1371, 2001.
- [67] SUEKE, H.; KAYE, S. B.; NEAL, T.; HALL, A.; TUFT, S.; PARRY, C. M. An in vitro investigation of synergy or antagonism between antimicrobial combinations against isolates from bacterial keratitis. *Immunol. Microbiol.*, v. 51, n. 8, p. 4151 – 4155, 2010.
- [68] JACKSON, C.; AGBOKE, A.; VICTOR NWOKE, V. In vitro evaluation of antimicrobial activity of combinations of nystatin and *Euphorbia hirta* leaf extract against *Candida albicans* by the checkerboard method. *J. Med. Plants. Res.*, v. 3, n. ,p. 666-669, 2009.
- [69] MITCHELL, G.; LAFRANCE, M.; BOULANGER, S.; SÉGUIN, D. L.; GUAY, I.; GATTUSO, M.; MARSAULT, E.; BOUARAB, K.; MALOUIN, F. Tomatidine acts in synergy with aminoglycoside antibiotics against multiresistant *Staphylococcus aureus* and prevents virulence gene expression. **J. Antimicrob. Chemother.**, v. 67, p. 559-68,2012.
- [70] VERNITSKAYA, T.V., EFIMOV, O.N. Polypyrrole: a conducting polymer; its synthesis, properties and applications. *Russian Chemical Reviews*, 443 – 457, 1997.
- [71] RAPI, S., BOCCHI, V., GARDINI, G.P. Conducting polypyrrole by chemical synthesis in water. *Synthetic Metal*, 217 – 221, 1998.
- [73] RAMANAVICIUS, A., RAMANAVICIENE, A., MALINAUSKAS, A. Electrochemical sensors based on conducting polymer – polypyrrole. *Electrochimica Acta*, 6025–6037, 2006.
- [74] BHATTACHARYA, A; MUKHERJEE, D.C; Gohil, J.M; Kumar, Y; Kundu, S. Preparation, characterization and performance of conducting polypyrrole composites based on polysulfone. *Desalination*, 225, 366–372, 2008.
- [75] KOJABAD, Z. D; SHOJAOSADATI, A.S. Chemical synthesis of polypyrrole nanostructures: Optimization and applications for neural microelectrodes. Materials & Design, 378–384, 2016.

- [76] OTERO, T.F; CANTERO, I; GRANDE, H. Solvent effects on the charge storage ability in polypyrrole. 44, 2053–2059, 1999.
- [77] YAHUA, B; NICHOLSON, P.S. Conductive polypyrrole coating on mullite/alumina fibers for electrophoretic deposition of oxide matrices. Journal of the American Ceramic Society, 87, 1767-177,0 2004.
- [78] ZHAI, J; LI, Y; HU, S; XIAO, D; HAN, H; JIANG, Y, QU, Y. Effect of oxidant dosage and solvent ratio on electric properties of pypyrrole. Materials Technology: Advanced Performance Materials, 30, 2014.
- [79] YEE, L.M; MAHMUD, E; H.N.M.E; KASSIM, A; YUNUS, W.M.M,Organic conductor: Influence of reparation temperature. Journal of Materials Processing Technology, 209, 3931 - 3936, 2009.
- [80] Otero T.F., Cortes M.T. A sensing muscle. Sens. Actuators B, 96, 152 – 156, 2003.
- [81] GENG, W; LI, N; LI, X; WANG, R, TU, J; ZHANG, T Effect of polymerization time on the humidity sensing properties of polypyrrole. Sensors and Actuators B, 125, 114 - 119, 2007.
- [82] ATEH, D.D., NAVSARIA, H.A., VADGAMA, P. Polypyrrole-based conducting polymers and interactions with biological tissues. Journal of the Royal Society Interface, 741 – 752, 2006.
- [83] DEDAVID, B.A et .Microscopia eletrônica de varredura. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul , 2007, 9-27.
- [84] VOUTOU, B., STEFANAKI, E.- C. Electron Microscopy: The Basics. Physics of Advanced Materials Winter School, 2008, 1-11.
- [85] DUNLAP, M., ADASKAVEG, J.E. Introduction to the Scanning Electron Microscope. Facility for advanced instrumentation U.C. Davis, 1997, 1-19.
- [86] GOLDSTEIN, J; NEWBURY D.E. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis- A text for biologist, Materials Scientist and Geologists., Plenum Press, New York, 2nd ed., 1992.
- [87] HSU, C.P. S. Infrared Spectroscopy. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, 247-277.
- [88] THERMO. USA : Thermo Nicolet Corporation. Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry, 1-8.

- [89] CHANG, J. H., LEON, C. A. R, HUNTER, I. W. Self-Assembled, nanostructured polypyrrole films Grown in a High-Gravity Environment. *Langmuir*, 28, 4805–4810, 2012,
- [90] Qi, G., Wu, Z., Wang, H. Highly conductive and semitransparent free-standing polypyrrole films prepared by chemical interfacial polymerization. *Journal of Materials Chemistry C*, 1, 7102–7110, 2013,
- [91] Xie, A., Jiang. W., Wu, F., Dai. X., Sun, M., Wang.Y., Wang, M. Interfacial synthesis of polypyrrole microparticles for effective dissipation of electromagnetic waves. *JOURNAL OF APPLIED PHYSICS*, 118, 204105, 2015.
- [92] LEI, JUNYU; LI, ZHICHENG; LU, XIAOFENG. Controllable fabrication of porous free-standing polypyrrole films via a gas phase polymerization. *Journal of Colloid and Interface Science*, 364, 555 - 560, 2011.
- [93] SCHOOR, R.C.G.M; LEUR, R.H.M; MIT, J.H.W. Synthesis of a polypyrrole film on a non-conducting substrate: the influence of the oxidant and acid concentration. *Synthetic metals*, 99, 17 – 20, 1999.
- [94] OTERO, T. F. et al. Nucleation, non-stoichiometry and sensing muscles from conducting polymers. *Electrochimica Acta*, v. 49, n. 22–23, p. 3719-3726, 9/15/ 2004. ISSN 0013-4686.
- [95] JOHN, STEPHEN; ALICI, GURSEL; COOK, C.D. Frequency response of polypyrrole trilayer actuator displacement. *International Symposium on Smart Structures and Materials, and Nondestructive Evaluation and Health Monitoring and Diagnostics* (pp. 69271T-1-69271T). Bellingham, Washington, USA, 2008.
- [96] Liu. F, Yuan. Y, Li. L, Shang, S, Yu, X, Zhang, Q, Jiang, S Wu Y. Synthesis of polypyrrole nanocomposites decorated with silver nanoparticles with electrocatalysis and antibacterial property. *Composites: Part B*, 2015, 69, 232–236.
- [97] Zhong, J Gao, S. Xue, Wang, B. Study on Enhancement Mechanism of Conductivity Induced by Graphene Oxide for Polypyrrole Nanocomposites. *Macromolecules*, 48, 1592 – 1597, 2015,
- [98] D.X. Han, Y. Chu, L.K. Yang, Y. Liu, Z.X. Lv, Reversed micelle polymerization: a new route for the synthesis of DBSA-polyaniline nanoparticles, *Colloid. Surface A* 259 179-187. 16, 2005
- [99] Upadhyay, J; A. Kumar, Structural, thermal and dielectric studies of polypyrrole nanotubes synthesized by reactive self-degrade template method, *Mater. Sci. Eng. B-Adv.* 178 982 – 989, 2013

- [100] Xing, S. X; G.K. Zhao, Morphology, structure, and conductivity of polypyrrole prepared in the presence of mixed surfactants in aqueous solutions, J. Appl. Polym. Sci. 104 (2007) 1987-1996.
- [101] X. Yang, L. Li, F. Yan, Polypyrrole/silver composite nanotubes for gas sensors, Sensor Actuat. B-Chem. 145 (2010) 495-500.
- [102] Buffé, C. Araújo, B.V. Dalla. T.C. Parêmetro farmacocinéticos e farmacodinâmicos na otimização de terapias antimicrobianas. Caderno de Farmácia, 17, p. 97-109, 2001.
- [103] ELIOPOULOS, G.M.; ELIOPOULOS, C.T. Antibiotic combinations: should they be tested. Clinical Microbiology Reviews, v. 1, p. 139-156, 1988.
- [104] ELIOPOULOS, G.M.; MOELLERING Jr, R.C. Antimicrobial combinations. In: LORIAN, V. (Ed.), Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th ed. Baltimore, Williams and Wilkins, Md: p. 330-396, 1996.
- [105] RYAN. K. J; RAY. C.G Sherris MEDICAL MICROBIOLOGY: AN INTRODUCTION TO INFECTIOUS DISEASES. 4ª Ed. 2004.
- [106] MARINI, M. BONDI, M. ISEPPI, F. TOSELLI, M. PILATI, F. Preparation and antibacterial activity of hybrid materials containing quaternary ammonium salts via sol-gel process. European Polymer Journal 43 3621-3628, 2007.
- [107] DA SILVA, FERNANDO A. G. ; LIBÓRIO, RAFAEL C. ; DA COSTA, MATEUS M. ; de Oliveira, Helinando P. . Bactericidal activity of zinc oxide particles embedded in poly(vinyl pyrrolidone) electrospun fibers. Fibers and Polymers **JCR** v. 15, p. 1793-1796, 2014.

APÊNDICE

PRODUÇÃO CIENTÍFICA DECORRENTE DESTE TRABALHO

Artigos:

DA SILVA JR ., FERNANDO A.G. ; **QUEIROZ, JEFFERSON C.** ; MACEDO, ERICLEITON R. ; FERNANDES, ANTONIO W.C. ; FREIRE, NAIANA B. ; DA COSTA, MATEUS M. ; DE OLIVEIRA, HELINANDO P. . Antibacterial behavior of polypyrrole: The influence of morphology and additives incorporation. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems* v. 62, p. 317-322, 2016.

Resumos:

Queiroz, J.C; Oliveira . H. P. PREPARAÇÃO DE MÚSCULOS ARTIFICIAIS A BASE DE POLIPIRROL. 2ª Encontro Nordeste de Ciência e Tecnologia de Polímero, 2015, Salvador.

F. A. G. Silva Jr. ; **QUEIROZ, J. C.** ; FREIRE, N. B. ; COSTA, M. M. ; OLIVEIRA, HELINANDO PEQUENO . Avaliação bactericida de polipirrol convencional e solúvel em água. In: XXXIII Encontro de Físicos do Norte e Nordeste, 2015, Natal.