



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE  
PERNAMBUCO PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior

**Atividade antibacteriana de dispositivos nanoestruturados à base de  
polipirrol**

Recife-PE

2019



**UFRPE**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA-RENORBIO**

**Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior**

**Atividade antibacteriana de dispositivos nanoestruturados à base de polipirrol**

TRABALHO APRESENTADO AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA – RENORBIO, DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO COMO EXIGÊNCIA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM BIOTECNOLOGIA.

**Orientador:** Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira

**Área de concentração:** Biotecnologia e Saúde

Recife-PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Biblioteca Centra, Recife-PE, Brasil

S586a Silva Júnior, Fernando Antonio Gomes da  
Atividade antibacteriana de dispositivos nanoestruturados à  
base de polipirrol / Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior. – 2019.  
141 f. : il.

Orientador: Helinando Pequeno de Oliveira.  
Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia – RENORBIO, Recife, BR-PE, 2019. Ponto focal em  
Pernambuco – Universidade Federal Rural de Pernambuco.  
Inclui referências e apêndice(s).

1. Bactérias 2. Campo elétrico 3. Polímeros I. Oliveira,  
Helinando Pequeno de, orient. II. Título

CDD 620.8

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA RENORBIO**

### **Atividade antibacteriana de dispositivos nanoestruturados à base de polipirrol**

**Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior**

#### **BANCA EXAMINADORA**

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 29 de março de 2019

#### **Orientador:**

---

**Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira**

Universidade Federal de Pernambuco

#### **Examinadores:**

---

**Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade**

Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Dr. Eduardo Padrón Hernández**

Universidade Federal de Pernambuco

---

**Prof. Dr. Mateus Matiuzzi da Costa**

Universidade Federal do Vale do São Francisco

---

**Prof. Dr. Nikifor Rakov Gomez**

Universidade Federal do Vale do São Francisco

---

# AGRADECIMENTOS

---

Embora uma tese de doutorado seja, pela sua finalidade acadêmica, um trabalho individual, há contributos de natureza diversa que não podem e nem devem deixar de ser realçados. Por essa razão, desejo expressar os meus sinceros agradecimentos:

Ao Deus eterno, imortal, invisível, mas real, pelo dom da vida. Por cada dia me conceder fôlego de vida para conquistar o que Ele preparou para mim. A Ele todo louvor!

À minha família, em especial a minha mãe Célia Magalhães, minha ajudadora e protetora. Ao meu irmão Felipe Magalhães pela companhia, paciência e por me fazer sorrir. Minha avó Diva Magalhães pelo cuidado e por se orgulhar de mim e ao meu irmão e amigo Jonas Coêlho pelo companheirismo e amizade. Obrigado por não me deixar desistir.

Ao meu orientador Helinando P. de Oliveira, meu pai na ciência, pelos conhecimentos transmitidos, por confiar esse trabalho em minhas mãos, por me ensinar o que é ciência, e que essa não se faz apenas em um laboratório e com materiais e reagentes, mas acima de tudo com humildade. Obrigado por cada palavra, cada conselho, por me motivar, por não desistir de mim. Sinto-me privilegiado em ser seu eterno aluno. Muito obrigado!

Ao extraordinário grupo Leimo. Nele nos sentimos em casa. Agradeço aos colegas e amigos de laboratório pela troca de conhecimento, pelo apoio, união e por sermos uma família.

Ao Prof. Dr. Mateus Matiuzzi pela colaboração, por se fazer presente e por contribuir de maneira significativa nas análises microbiológicas.

A todos muito obrigado!

---

# RESUMO

---

O polipirrol (PPy) é um polímero condutor que possui diversas aplicações, e que nos últimos anos tem se destacado como um agente antibacteriano. Nesse sentido, esta tese teve como objetivo o desenvolvimento de dispositivos à base de polipirrol e de baixo custo com alto poder antibacteriano, fornecendo assim uma nova forma de tratamento contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

Com base no poder antibacteriano do PPy, nanopartículas de polipirrol foram sintetizadas e testadas contra *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Através dos ensaios de tempo de morte pode-se determinar que com menos de 1 min as nanopartículas de PPy foram capazes de inibir o crescimento das bactérias, zerando o número de colônias remanescentes.

A partir da técnica de eletrofiação foram produzidos lenços de eudragit L100 e eudragit L100 revestidos com PPy objetivando a limpeza de uma placa de metal contaminada com *S. aureus*. Após a limpeza, o lenço revestido com PPy mostrou-se mais eficiente, reduzindo significativamente a UFC. Dispositivos vestíveis de poliuretano (PU) e de fibras de algodão revestidos com PPy aplicados à técnica de disco-difusão e aos ensaios de tempo de morte contra *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* revelaram total eficiência contra as referidas bactérias, mostrando halos de inibição significantes e inibindo o crescimento dos microrganismos após 6 h e 4 h em contato com o PU/CNT/PPy e com as fibras de algodão/PPy, respectivamente.

Ensaio utilizando o campo elétrico externo revelaram potencializar o efeito antibacteriano do PPy. Aplicando tensões de 1 V e 2 V em esponjas de PU/CNT/PPy e Papel lixa/Grafite/PPy contra *E. coli* e *S. aureus* foi observado o crescimento do halo de inibição e a redução do número de colônias remanescentes a medida em que a tensão é aumentada.

Palavras-chave: Bactérias, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, polipirrol, nanopartículas de polipirrol, dispositivos vestíveis, campo elétrico.

---

# ABSTRACT

---

Polypyrrole (PPy) is a conductive polymer that has several applications, and in recent years has stood out as an antibacterial agent. In this sense, this thesis aimed at the development of low cost polypyrrole devices with high antibacterial power, thus providing a new form of treatment against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*.

Based on the antibacterial power of PPy, polypyrrole nanoparticles were synthesized and tested against *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumoniae*. Through the time-of-death assays it can be determined that with less than 1 min the nanoparticles of PPy were able to inhibit the growth of the bacteria, zeroing the number of remaining colonies.

From the electrophying technique were produced eudragit L100 and eudragit L100 wipes coated with PPy aiming the cleaning of a plate of metal contaminated with *S. aureus*. After cleaning, the wipe coated with PPy was shown to be more efficient, significantly reducing the UFC. Wearable polyurethane (PU) and cotton fibers coated with PPy applied to the disc-diffusion technique and the time-of-death assays against *E. coli*, *S. aureus*, and *K. pneumoniae* showed total efficiency against said bacteria, showing and inhibiting the growth of the microorganisms after 6 h and 4 h in contact with the PU / CNT / PPy and with the cotton / PPy fibers, respectively.

Tests using the external electric field revealed potentiating the antibacterial effect of PPy. Applying tensions of 1 V and 2 V in PU/CNT/PPy sponges and Sandpaper/Graphite/PPy against *E. coli* and *S. aureus*, growth of inhibition halo and reduction of the number of remaining colonies measured in that the voltage is increased.

Keywords: Bacteria, *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, polypyrrole, polypyrrole nanoparticles, Wearable bactericidal, electric field.

---

# SUMÁRIO

---

<b>Lista de figuras.....</b>	<b>11</b>
<b>Lista tabelas.....</b>	<b>17</b>
<b>Lista de símbolos e abreviaturas.....</b>	<b>18</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>21</b>
<b>Capítulo 1: Fundamentação teórica.....</b>	<b>23</b>
<b>1.1 Bactérias.....</b>	<b>24</b>
1.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
1.2.2 <i>Klebsiela pneumoniae</i> .....	29
1.2.3 <i>Escherichia coli</i> .....	30
<b>1.3 Resistência antibacteriana.....</b>	<b>31</b>
<b>1.4 Polímeros antibacterianos.....</b>	<b>22</b>
<b>1.5 Polímeros condutores.....</b>	<b>33</b>
1.5 Definição.....	33
1.5.1 Técnicas e sínteses para polímeros condutores.....	35
1.5.2 Dopagem.....	37
1.5.3 Polipirrol.....	38
<b>1.6 Referências bibliográficas.....</b>	<b>40</b>
<b>Capítulo 2: Síntese, caracterização e atividade antibacteriana de nanopartículas de polipirrol.....</b>	<b>46</b>
<b>2. Materiais e métodos.....</b>	<b>47</b>
2.1 Preparação das nanopartículas de polipirrol.....	47
<b>2.2 Ensaio microbiológicos para o PPy solúvel.....</b>	<b>48</b>

2.2.1 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) para o PPy solúvel.....	48
2.2.2 Determinação do tempo de morte e contagem de colônias para o PPy solúvel.....	49
<b>2.3 Caracterização do PPy solúvel.....</b>	<b>50</b>
<b>2.4 Resultados e discussão.....</b>	<b>51</b>
2.4.1 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM).....	51
2.4.2 Determinação do tempo de morte e contagem de colônias para os diferentes tipos de PPy solúvel.....	52
2.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier.....	55
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>57</b>
<b>Capítulo 3: Lenços e dispositivos vestíveis antibacterianos.....</b>	<b>58</b>
<b>3. Materiais e métodos.....</b>	<b>59</b>
<b>3.1 Produção de lenços antibacterianos.....</b>	<b>59</b>
3.1.2 Produção de lenços de Eudragit L100 e Eudragit L100/PEO.....	59
3.1.3 Polimerização dos lenços de Eudragit L100 e Eudragit L100/PEO.....	61
<b>3.1.4 Ensaios microbiológicos.....</b>	<b>62</b>
3.1.4.1 Contagem de colônias.....	62
3.1.4.2 Testes de difusão em ágar.....	63
<b>3.1.5 Caracterização dos lenços.....</b>	<b>64</b>
<b>3.2 Desenvolvimento de sensores de movimento.....</b>	<b>65</b>
3.2.1 Preparação das amostras de poliuretano (PU) e deposição de nanotubos de carbono (CNT).....	65
3.2.2 Deposição de polipirrol em esponjas de PU e PU/CNT.....	65
3.2.3 Ensaios de detecção de movimentos corporais.....	66
<b>3.2.4 Ensaios microbiológicos para sensores de movimento.....</b>	<b>67</b>
3.2.4.1 Contagem de colônias.....	67
3.2.4.2 Difusão em ágar.....	68

3.2.5	<b>Caracterização das amostras de PU/CNT, PU/PPy E PU/CNT/PPy.....</b>	<b>68</b>
<b>3.3</b>	<b>Fibras de algodão com ação antibacteriana.....</b>	<b>69</b>
3.3.1	<b>Ensaio microbiológicos para fibras de algodão com ação antibacteriana.....</b>	<b>70</b>
3.3.2	Contagem de colônias.....	70
3.3.3	Difusão em ágar.....	71
<b>3.4</b>	<b>Técnica de caracterização.....</b>	<b>71</b>
<b>3.5</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>72</b>
3.5.1	Atividade antibacteriana para os lenços.....	72
3.5.2	Morfologia e análise estrutural dos lenços.....	74
3.5.3	Caracterização elétrica.....	80
3.5.4	Atividade antibacteriana das esponjas de PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy.....	82
3.5.5	Morfologia e análise estrutural das esponjas.....	83
3.5.6	Análise antibacteriana das fibras de algodão.....	93
3.5.7	Análise morfológica e estrutural.....	95
	<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>100</b>
	<b>Capítulo 4: Efeito do campo elétrico externo na atividade antibacteriana do polipirrol.....</b>	<b>104</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais e métodos.....</b>	<b>105</b>
4.1.2	Síntese das amostras de PU/PPy e PU/CNT/PPy.....	105
4.1.3	Síntese das amostras de papel lixa/PPy (SP/PPy) e papel lixa/grafite/PPy (SP/Grap/PPy).....	106
4.1.4	<b>Ensaio microbiológicos.....</b>	<b>106</b>
4.1.5	Contagem de colônias.....	106
4.1.6	Técnica de disco difusão.....	107
<b>4.2</b>	<b>Caracterização das amostras.....</b>	<b>108</b>
<b>4.3</b>	<b>Resultados e discussão.....</b>	<b>109</b>
4.3.1	Espectroscopia Raman.....	109
4.3.2	Caracterização elétrica.....	111
4.3.3	Análise morfológica.....	113

<b>4.3.4 Análises antibacterianas.....</b>	<b>117</b>
4.3.4.1 Tempo de morte de <i>S. aureus</i> e <i>E. coli</i> com 0 V, 1 V e 2 V.....	117
4.3.4.2 Testes de disco difusão.....	120
4.3.4.3 Avaliação anti biofilme.....	123
<b>Referências bibliográficas.....</b>	<b>125</b>
<b>Capítulo 5: Conclusão e perspectivas.....</b>	<b>128</b>
<b>Anexo: Produções decorrentes desta tese.....</b>	<b>131</b>

---

# LISTA DE FIGURAS

---

Figura 1: Morfologia de bactérias coradas pelo método de Gram.....	26
Figura 1.1: Parede celular de bactérias gram positivas e bactérias gram negativas.....	26
Figura 1.2: Estrutura química do polipirrol.....	39
Figura 2. Esquema de preparação do PPy solúvel.....	48
Figura 2.1 Microplaca para a determinação da CBM.....	49
Figura 2.2. Determinação do tempo de morte do ppy solúvel para <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> e <i>K. pneumoniae</i> .....	50
Figura 2.3 A) Coleta de 10 µL da solução bacteriana + PPy solúvel e B) Distribuição da solução bacteriana + PPy solúvel em placas de petri com TSA.....	51
Figura 2.4 Crescimento de bactérias remanescentes após 24 h de incubação a 37° C.....	52
Figura 2.5 Tempo de morte de bactérias após variação no tempo de exposição à diferentes agentes antibacterianos.....	53
Figura 2.6 Espectro de FTIR do polipirrol solúvel.....	55
Figura 2.7 Distribuição do tamanho de partícula do polipirrol solúvel.....	56

Figura 3. Aparato experimental do processo de eletrofiação. (a) Aparelho de eletrofiação em funcionamento (b) Coletor (c) Fibra produzida.....	60
Figura 3.1. Processo de polimerização dos lenços de EDGT/PEO.....	61
Figura 3.2. 1. Solução bacteriana de <i>S. aureus</i> ; 2. Distribuição de <i>S. aureus</i> em superfícies de metal; 3. Limpeza das placas com lenços antibacterianas; 4 e 5. Carimbo de superfície metálica em meio nutritivo (PCA).....	62
Figura 3.3. Esquema do procedimento experimental do teste de difusão em ágar.....	64
Figura 3.5. Processo da incorporação de CNT, polimerização do PPy em esponjas de PU e princípio de atuação do dispositivo sob pressão.....	66
Figura 3.6. Fixação de espumas de PU em partes do corpo.....	67
Figura 3.7. Determinação do tempo de morte para as esponjas de PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy.....	68
Figura 3.8. Polimerização das fibras de algodão.....	70
Figura 3.9. Determinação do tempo de morte para as linhas de algodão/CNT/, algodão/PPy, algodão/CNT/PPy, algodão/I-PPy e algodão/CNT/I-PPy.....	71
Figura 3.10. Halos de inibição formados pelos lenços de EDGT, EDGT/PEO, EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) e EDGT/PPy (FeCl <sub>3</sub> ).....	72
Figura 3.11. Colônias de <i>S. aureus</i> remanescentes em meio de cultura após limpeza de placas de metal com diferentes lenços.....	71

Figura 3.12. Imagens do MEV de fibras de EDGT puro (A) e fibras de EDGT/PEO (B) com histograma correspondente a distribuição de tamanho. (Barra de escala de 5 µm em todas as imagens).....	76
Figura 3.13. Imagens do MEV de fibras de EDGT/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) (A) e fibras de EDGT/PEO/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) (B) com histograma correspondente a distribuição de tamanho. (Barra de escala de 5 µm em todas as imagens).....	77
Figura 3.14. Imagens do MEV de fibras de EDGT/PPy (APS) (A) e fibras de EDGT/PEO/PPy (APS) (B) com histograma correspondente a distribuição de tamanho. (Barra de escala de 5 µm em todas as imagens).....	78
Figura 3.15. Espectros de FTIR de EDGT/PPy (APS), EDGT/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) e EDGT puro (esquerda) e espectros de FTIR de EDGT/PEO/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) e EDGT puro e PEO (direita) .....	79
Figura 3.16. Espectro de impedância de EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (APS), EDGT/PPy (FeCl <sub>3</sub> ) e EDGT/PEO/PPy (FeCl <sub>3</sub> ).....	81
Figura 3.17. Halo de inibição de colônias de <i>S. aureus</i> sob ação de compósitos (a) e número remanescentes de colônias (UFC) após interação com solução salina contendo <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> e <i>K. pneumoniae</i> (b).....	83
Figura 3.18. Imagens do MEV de (a) PU puro, (b) CNT/PU, (c) PPy/PU e (d) compósitos de PPy/CNT/PU.....	84
Figura 3.19. Espectro Raman de amostras preparadas em esponjas de PU.....	86
Figura 3.20. Curvas de corrente-tensão de CNT/PU, PPy/PU e compósitos de PPy/CNT/PU .....	86
Figura 3.21. (a) variação da resistência de compósitos sob condições de aumento de pressão (0-10 kPa); (b) variação da resistência de compósitos em	

função da força aplicada; (c) sensibilidade à pressão dos compósitos em função da pressão; (d) curvas de força de calibre de compósitos.....88

Figura 3.22. Variação de resistência sob esforços mecânicos repetidos de alongamento, torção e flexão em compósitos.....90

Figura 3.23. Resposta elétrica de compósitos dispostos como detectores de movimentos humano montados em articulações de joelho, dedos e cotovelo.....91

Figura 3.24. Imagens do MEV de PPy/PU x 5 kx (a) e x 10 kx (b) preparadas conforme PPy/PU x 5 kx (c) e x 10 kx (d), amostra PPy/PU após 20 ciclos de alongamento x 5 kx (e) e x 10 kx (f).....92

Figura 3.25. (a) Imagens do halo de inibição de amostras contra *S. aureus* e (b) UFC restante de *S. aureus* após tratamento com diferentes compósitos.....94

Figura 3.26. Imagens do MEV de (a) Algodão, (b) CNT, (c) PPy, (d) CNT-PPy, (e) I-PPy e (f) CNT-I-PPy.....97

Figura 3.27. Espectros Raman das amostras de (a) Algodão, (b) CNT, (c) PPy, (d) CNT-PPy, (e) I-PPy e (f) CNT-I-PPy.....98

Figura 4. Ensaio para contagem de colônias após tratamento com campo elétrico.....107

Figura 4.1 Representação da configuração experimental para medição do halo de inibição.....107

Figura 4.2. Espectro Raman de eletrodos à base de poliuretano (PU) e lixa (SP) (puros e com PPy): (a) SP/Grap; (b) PU/CNT; (c) SP/Graf/PPy e (d) PU/CNT/PPy.....111

Figura 4.3. Parte real (a) e imaginária (b) da impedância de eletrodos (SP/PPy e SP/Graf/PPy e PU/PPy e PU/CNT/PPy).....112

Figura 4.4. Imagens do MEV de eletrodos (a) SP/Grap; (b) e (c) SP/Grap/PPy com diferentes ampliações; (d) eletrodo de poliuretano recoberto por uma fina camada de PPy (e) e (f) agregados de PPy na camada de suporte de PU/CNT.....113

Figura 4.5. Imagens de eletrodos PU/CNT/PPy recobertos por biofilmes de *S. aureus* (a) e *E. coli* ((b) e (c)).....114

Figura 4.6. Voltamogramas de eletrodos de SP/Grap/PPy em solução salina a diferentes taxas de varredura (10mV/s, 20 mV/s e 50 mV/s) para a solução salina pura em diferentes tensões (0-1 V – a e 0-2 V – b) e na presença de *E. coli* ( $10^6$  UFC) – com correspondentes tensão de 0-1 – c e 0-2 V – d.....116

Figura. 4.7 (a) Colônias remanescente de *E. coli* em função do tempo de tratamento com PU, PU/PPy e PU/CNT/PPy na ausência de campo elétrico; (b) Influência de campo nas UFCs remanescentes de *E. coli* tratadas com PU/CNT/PPy em crescente tensão; (c) UFC remanescente de *S. aureus* em função do tempo de tratamento com PU, PU/PPy e PU/CNT/PPy na ausência de campo elétrico; (d) Influência de campo nas UFC restantes de *S. aureus* tratadas com PU/CNT/PPy em aumento de tensão.....118

Figura. 4.8. (a) Colônias remanescente de *E. coli* em função do tempo de tratamento com SP/PPy e SP/Grap/PPy na ausência de campo elétrico; (b) Influência de campo nas UFCs remanescentes de *E. coli* tratadas com SP/Grap/PPy em tensão crescente; (c) UFC remanescente de *S. aureus* em função do tempo de tratamento com SP/PPy e SP/Grap/PPy na ausência de campo elétrico; (d) Influência de campo nas UFCs remanescentes de *S. aureus* tratadas com SP/Grap/PPy no aumento da tensão.....119

Figura 4.9. Halos de inibição de SP/Grap/PPy (a) e PU/CNT/PPy (b) contra *S. aureus* e *E. coli* sob ação do campo elétrico.....121

Figura 4.10 Espectro de UV-Vis para *E. coli* após tratamento de 2 V.....123

Figura 4.11. Aumento da aderência relativa do biofilme em eletrodos e reatores em relação ao grau de formação de biofilme puros (poliuretano e lixa).....124

---

# LISTA DE TABELAS

---

Tabela 1: Polímeros condutores e suas abreviações.....33

---

# LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

---

ACS - ácido canforsulfônico

Ag – Prata

AgNO<sub>3</sub> – Nitrato de prata

AMPs - peptídeos antibacterianos

APS – Persulfato de amônia

CBM – concentração inibitória mínima

CNT – nanotubo de carbono

CPs – Polímeros condutores

CTAB - Brometo de cetiltrimetilamônio

DBSA - dodecilbenzenosulfonato de sódio

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

DRX – Difractometria de raio X

EDGT – Eudragit

ESBL - *E. coli* produtora de β-lactamase de espectro estendido

FeCl<sub>3</sub> – Cloreto férrico

FIB - bactéria indicadora de fezes

FTIR - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

Gr – Grafeno

HCl – Ácido Clorídrico

IDSA - Sociedade de Doenças Infecciosas da América

IRAS - infecções relacionadas à assistência à saúde

KP - *Klebsiella pneumoniae*

MDR-KP - *Klebsiella pneumoniae* resistente a múltiplas drogas

MDRSA - *S. aureus* resistente a múltiplos fármacos

MEV – Microscópio eletrônico de varredura

MIC – concentração inibitória mínima

MRSA - *S. aureus* resistente à metilina

MWCNTs - Nanotubos de carbono de paredes múltiplas

NPs – nanopartículas

OMS – Organização Mundial de Saúde

PA – Poliacetileno

PAC - Poliacetileno

PANI - Polianilina

PAT - Poli (3-alquiltiofeno)

PAZ - Poliazuleno

PBD - Polibutadieno

PCA - plate count agar

PCIs - polímeros condutores intrínsecos

PE – poliéster

PEDT, PEDOT - Poli (3,4 – etilenodioxítiofeno)

PEO - Óxido de polietileno

PFu - Polifurano

pH – potencial hidrogeniônico

PIP - Poliisopropano

PITN - Poli (isotianafetina)

PNA - Poli ( $\alpha$ -naftilamina)

POTMT - Poli (3-octiltiofeno-3-metiltiofeno)

PPP - Poli (p-fenileno)

PPS - Poli-p-fenileno-sulfureto

PPTA - Poli (p-fenileno-tereftalamida)

PPTA - Poli (p-fenileno-tereftalamida)

PPV - Poli-p-fenilenevinileno

PPy - Polipirrol

PPy – Polipirrol

PTh - Polítiofeno

PTh-V - Polítiofeno-vinileno

PTV - Poli (2,5-tienilenevinileno)

PU – poliuretano

PVA – poli vinil álcool

Py – pirrol

SDS - dodecil sulfato de sódio

SP - sandpaper

SWCNTs - nanotubos de carbono de parede única

TEM - Microscópio eletrônico de transmissão

TSA - Trypticase soy agar

TSB - Tryptic Soy Broth

UFC – Unidade Formadora de colônia

UTI – Unidade de terapia intensiva

UV – Ultravioleta

VRSA - *S. aureus* resistente à vancomicina

# Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) determinadas por bactérias multirresistentes representam um importante problema de saúde pública, exigindo uma ação nas práticas de prevenção e controle de agentes antibacterianos (ROSSI, 2011) (GISKE et al., 2008) .

Estas infecções ocorrem tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, com taxas de morbidade e mortalidade elevadas e aumento de custos (GISKE et al., 2008). O problema é mais expressivo em países em desenvolvimento, pela escassez de recursos financeiros, humanos e laboratórios de microbiologia habilitados, além do uso maior e abusivo de antibacterianos (TOUFEN et al., 2003).

A seleção dos antibacterianos adequados no tratamento de infecções tem se tornado cada vez mais difícil pela seleção de bactérias multirresistentes e a diminuição de opções terapêuticas (SADER, H.; GALES, 2008). Organismos multirresistentes juntamente com a escassez alarmante de novas classes de antibacterianos tem obrigado a comunidade da área de saúde a otimizar o potencial terapêutico de antibacterianos atualmente disponíveis (RICE, 2009).

Diante dessa problemática, esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de dispositivos de baixo custo à base de polipirrol e com alto poder antibacteriano contra *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*.

Inicialmente sintetizamos nanopartículas de polipirrol (PPy solúvel) e as aplicamos contra bactérias gram positivas e gram negativas. Num segundo momento produzimos lenços antibacterianos a partir da técnica de eletrofiliação e incorporamos polipirrol em nanofibras de Eudragt L100. Em nosso terceiro trabalho desenvolvemos um sensor de movimento antimicrobiano à base de espumas de poliuretano, nanotubos de carbono e polipirrol. Em um quarto trabalho desenvolvemos linhas de algodão antimicrobiana. E por último, aplicamos tensão elétrica em eletrodos de poliuretano, nanotubos de carbono e polipirrol e de lixas de papel, grafite e polipirrol contra *S. aureus* e *E. coli* provando que o efeito antibacteriano do PPy é pontencializado variando a tensão entre 1 V e 2 V.

Esta tese está dividida em cinco capítulos:

No capítulo 1 é feita a apresentação dos diferentes temas do trabalho: o conceito de bactéria, dos sistemas estudados durante o trabalho e as doenças causadas por elas. Em seguida, é definido o conceito de polímeros antibacterianos e mostrados os mais estudados no combate a bactérias. É definido também o conceito de polímeros condutores, as principais técnicas usadas para sua síntese, dopagem e, por fim, destacamos o polipirrol como um agente antibacteriano.

O capítulo 2 traz o estudo da síntese, caracterização e atividade antibacteriana de nanopartículas de polipirrol. Este trabalho sumariza o procedimento de preparação de PPy, as caracterizações morfológica e estrutural, tamanho de partícula e os testes microbiológicos sobre a ação do PPy contra *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*.

O capítulo 3 é discutida a metodologia e a ação antibacteriana de dispositivos vestíveis à base de PPy. Em um primeiro momento foi desenvolvida uma toalha eletricamente condutora e antibacteriana preparado via polimerização química in situ de polipirrol em fibras eletrofiadas de Eudragit L-100 e Eudragit L-100 / óxido de polietileno, fornecendo um molde para adsorção e remoção de *S. aureus* em superfícies metálicas. Em um outro momento foi desenvolvido um material poroso que fornece detecção direta de movimentos simples das articulações humanas (joelho, dedo e cotovelo) e atividade antibacteriana intrínseca contra *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *E. coli*. Ainda nesse capítulo é provado que têxteis eletrônicos portáteis multifuncionais baseados na polimerização interfacial de polipirrol em nanotubos de carbono/fibras de algodão oferecem vantagens de materiais simples e de baixo custo que incorporam um bom desempenho antibacteriano.

O capítulo 4 mostra o estudo do efeito do campo elétrico na atividade antibacteriana do polipirrol. Nesse capítulo 0 V, 1 V e 2 V são aplicados em eletrodos de poliuretano e papel revestidos com PPy contra *S. aureus* e *E. coli*. Nesse estudo observamos que o poder antibacteriano do PPy é potencializado com a variação do campo elétrico até 2V.

O capítulo 5 apresenta a conclusão referente aos diversos experimentos realizados e propostas de estudos futuros relacionados a aplicação do PPy em superbactérias, a produção de novos dispositivos e ensaios de toxicidade.

---

# CAPÍTULO 1

---

## Fundamentação Teórica

## 1.1 Bactérias

As bactérias apresentam uma estrutura relativamente simples. Elas são organismos procariotos — simples, unicelulares que não apresentam membrana nuclear, mitocôndria, aparelho de Golgi, ou retículo endoplasmático — que se reproduzem por divisão assexuada. São as menores células, somente visíveis com o emprego de um microscópio. As menores bactérias (*Chlamydia* e *Rickettsia*) apresentam diâmetro entre 0,1 a 0,2  $\mu\text{m}$ , enquanto que as bactérias maiores podem ter vários micrômetros de comprimento (PRESCOTT, LANSING M., 2002).

Existem bactérias benéficas, oportunistas e patogênicas. Fatores de virulência são características que diferenciam as bactérias causadoras de doenças das centenas de espécies de bactérias benéficas que compõem a flora normal do nosso intestino, superfícies mucosas e pele (MUNGUIA; NIZET, 2017).

As bactérias causadoras de doenças levam pessoas à morte em todo o mundo, e o combate a elas tem se sido cada vez mais difícil por se tornarem resistentes aos antibióticos convencionais. Bactérias que transportam genes que lhes permitem sobreviver à exposição aos antibióticos que são usados atualmente são chamadas de superbactérias. Isso significa que as infecções causadas por essas bactérias são mais difíceis de tratar, embora não sejam necessariamente mais graves ou infecciosas. O fato preocupante é que o gene que transporta a resistência aos antibióticos pode ser passado entre as bactérias, permitindo a criação de bactérias que carregam genes de resistência para muitos antibióticos diferentes, uma superbactéria (RAMYA; SANKAR, 2018).

As superbactérias mais virulentas são resistentes a praticamente todos os antibióticos no uso corrente. As superbactérias notórias atuais incluem cepas multirresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* (M. TB), o agente causador da tuberculose, e a bactéria *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) (VILLIERS, 2018).

A OMS listou e classificou os agentes patogênicos prioritários para pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos. Essas também são as

bactérias que tem gerado doenças e causado mortes em todo o mundo (OMS, 2017).

#### Prioridade 1: CRÍTICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistente a carbapenema
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a carbapenema
- *Enterobacteriaceae*, resistente a carbapenema, produtoras de ESBL

#### Prioridade 2: ALTA

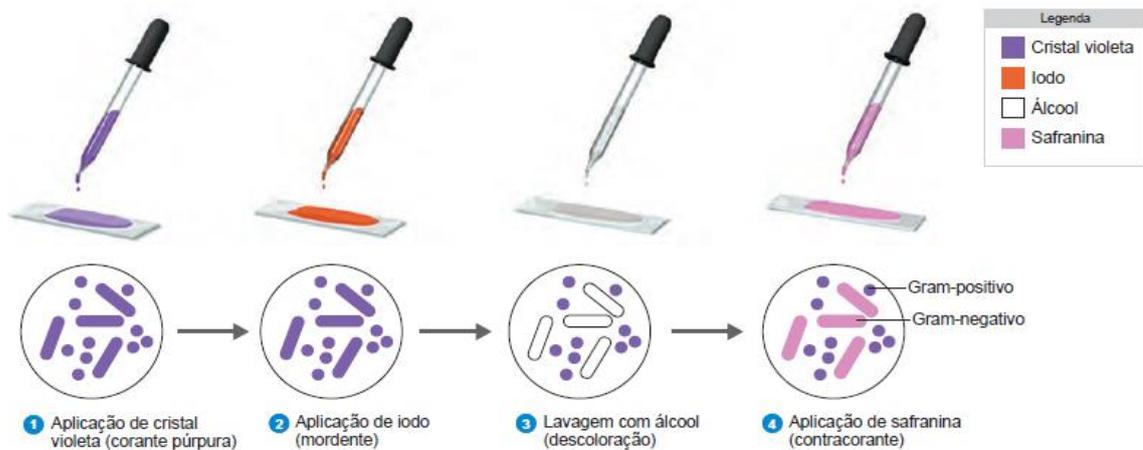
- *Enterococcus faecium*, resistente à vancomicina
- *Staphylococcus aureus*, resistente à meticilina, com sensibilidade intermediária e resistência à vancomicina
- *Helicobacter pylori*, resistente à claritromicina
- *Campylobacter spp.*, resistente às fluoroquinolonas
- *Salmonellae*, resistentes às fluoroquinolonas
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a cefalosporina, resistente às fluoroquinolonas

#### Prioridade 3: MÉDIA

- *Streptococcus pneumoniae*, sem sensibilidade à penicilina
- *Haemophilus influenzae*, resistente à ampicilina
- *Shigella spp.*, resistente às fluoroquinolonas

As bactérias podem dividir-se em dois conjuntos designados por gram-positivas e gram-negativas (positivas e negativas no teste de Gram). Coloração de Gram é um teste rápido, importante e fácil que permite a diferenciação entre as duas mais importantes classes de bactérias, permitindo um diagnóstico inicial e, portanto, uma terapêutica com base em diferenças inerentes às bactérias. Nesse teste as bactérias são fixadas na superfície de uma lâmina, coradas pelo cristal violeta (Fig.1), um corante que é precipitado pelo lugol e, posteriormente, o corante em excesso e não ligado é removido pelo descolorante, contendo acetona, e pela água. Um contracorante, safranina, é adicionado corando todas células descoradas. Este processo demora menos de 10 minutos (TORTORA et al., 2012).

Figura 1: Morfologia de bactérias coradas pelo método de Gram.

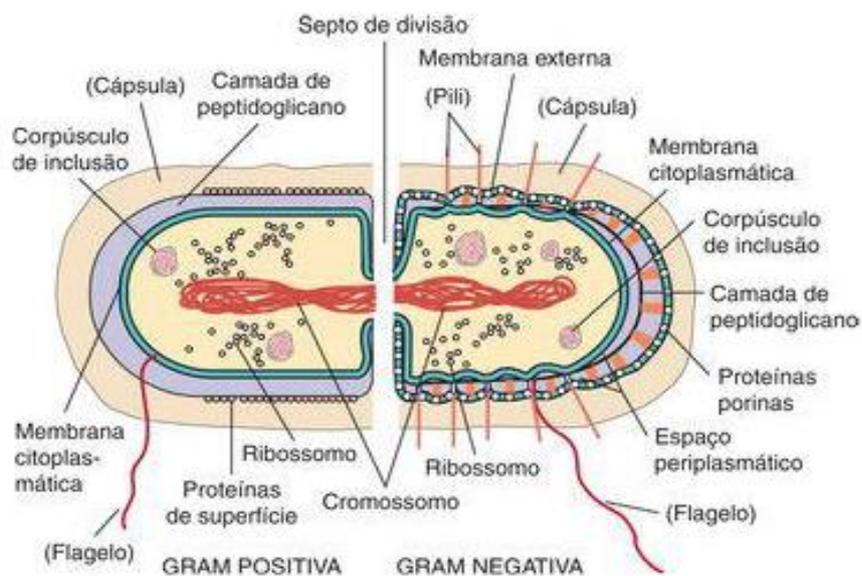


Fonte: TORTORA et al., 2012

Como mostra a Fig. 1, o cristal violeta da coloração de Gram é precipitado pelo lugol do Gram e é retido na espessa camada de peptidoglicano nas bactérias Gram positivas. O descolorante dispersa a membrana externa das Gram negativas e retira o cristal violeta através da fina camada de peptidoglicano. E em seguida as bactérias gram negativas são visualizadas pelo contracorante vermelho.

Uma das principais diferenças entre essas bactérias reside na constituição da parede celular, mais propriamente no peptidoglicano (Fig. 1.1).

Figura 1.1: Parede celular de bactérias gram positivas e bactérias gram negativas



Fonte: (PRESCOTT, LANSING M., 2002)

Como podemos ver na Fig. 1.1, a bactéria gram positiva tem uma camada de peptidoglicano espessa. A bactéria gram negativa tem uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa que contém lipopolissacarídeo, fosfolípidos e proteínas. O espaço periplasmático entre as membranas citoplasmáticas e externas contém proteínas de transporte, degradativas e de síntese de parede celular. A membrana externa é acoplada à membrana citoplasmática em pontos de adesão e é presa ao peptidoglicano por lipoproteínas de ligação.

O peptidoglicano é o componente mais importante na parede celular dos procariontes, conferindo rigidez à parede celular das bactérias e determinando a sua forma evitando a lise celular (processo de ruptura da parede bacteriana). Nas bactérias gram-positivas a parede celular apresenta uma camada espessa de peptidoglicano situada sobre a membrana citoplasmática, não existindo membrana exterior. Por outro lado, nas bactérias gram-negativas o peptidoglicano encontra-se entre a membrana citoplasmática e a membrana exterior da bactéria (BLACK, 2008; F. H. KAYSER, K. A. BIENZ, 2011; PRESCOTT, LANSING M., 2002). As paredes celulares de bactérias gram negativas são mais complexas do que a parede celular das gram positivas, tanto do ponto de vista estrutural quanto químico. Estruturalmente, as paredes

celulares de gram-negativos contêm duas camadas externas à membrana citoplasmática. Imediatamente externa à membrana celular está uma fina camada de peptidoglicano que contribui somente para 5% a 10% do peso da parede celular da bactéria gram negativa (PRESCOTT, LANSING M., 2002).

### 1.2.1 *Staphylococcus aureus*

A pele é o maior e mais exposto órgão do corpo humano. Embora seja extremamente eficaz na proteção de organismos hospedeiros contra ameaças ambientais externas, as infecções da pele são comuns e podem ser causadas por bactérias, fungos ou vírus (FENSTERSEIFER et al., 2015).

O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria que faz parte da microbiota normal. Esta bactéria reside principalmente nas narinas, pele e membranas mucosas de humanos e animais e não representa ameaça à espécie hospedeira em circunstâncias normais. A taxa de colonização em adultos saudáveis é entre 5 e 30%, e 10 a 20% dos indivíduos exibem colonização permanente. Por outro lado, bactérias de indivíduos saudáveis podem representar um risco de transmissão para a população imunocomprometida, produzindo efeitos prejudiciais sobre as pessoas infectadas (STRATEGIES, 2018). Diante disso, o *S. aureus* é um importante e principal causador de diversas doenças, desde infecções da pele e feridas até sítio cirúrgico nosocômio, dispositivos médicos e infecções da corrente sanguínea que podem causar sépsis e morte (ILUZ et al., [s.d.]). Esse microrganismo foi nomeado pelo cirurgião escocês Sir Alexander Ogston em 1882 (FRANCIS et al., 2018), e que agora é conhecido como patógeno humano extremamente bem sucedido.

Esta bactéria está presente em 50% dos biofilmes encontrados nos hospitais, contamina instrumentos cirúrgicos após o uso, e é um agente causador frequente de infecções relacionadas à assistência à saúde e de origem alimentar (ALMATROUDI et al., 2018). O *S. aureus* é também causador da mastite, a inflamação das glândulas mamárias, em vacas, cabras e ovelhas. A mastite uma das doenças mais comuns e caras na produção leiteira em todo o mundo. O *Staphylococcus aureus* é frequentemente considerado como um dos patógenos mais relevantes, causando mastite crônica clínica e subclínica, acompanhada de

aumento da contagem de células somáticas no leite e redução da produção de leite (BAR-GAL et al., 2015).

A resistência a antibióticos entre isolados clínicos de *S. aureus* é uma preocupação crescente. A resistência a drogas em *S. aureus* pode ser adquirida por diferentes mecanismos, incluindo a transferência horizontal de genes através de plasmídeos ou outros elementos genéticos móveis, bem como mutações espontâneas. Isso levou ao surgimento de múltiplas cepas que demonstram resistência a um ou a uma combinação de antibióticos, como *S. aureus* resistente à meticilina (MRSA), *S. aureus* resistente à vancomicina (VRSA) e *S. aureus* resistente a múltiplos fármacos (MDRSA) (STRATEGIES, 2018). Cerca de 60% das infecções por *S. aureus* adquiridas em hospitais envolvem *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Infecções por MRSA têm pior prognóstico e aumentam os custos de hospitalização em comparação com cepas sensíveis a antibióticos (STRATEGIES, 2018).

### **1.2.2 *Klebsiella pneumoniae***

A *Klebsiella pneumoniae* é um importante patógeno frequentemente implicado em infecções respiratórias e do trato urinário de pacientes hospitalizados. É uma parte da microbiota respiratória e intestinal de seres humanos (MUNSON et al., 2018). Também está fortemente associada a infecções denominadas septicemias e infecções iatrogênicas, uma vez que o ambiente hospitalar está associado a pacientes internados por longo tempo e / ou que se encontram em unidade de terapia intensiva (UTI), sob intubação orofaríngea (REDDY et al., 2014). Além de ser responsável pela toxicidade do trato intestinal, causando náuseas e diarreia (LABED-ZOUAD et al., 2015). As bacteremias causadas por *K. pneumoniae* são nosocomiais e são resistentes à ampicilina e carbenicilina.

A resistência das bactérias aos antibióticos aumentou tanto que a Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta para uma "era pós-antibiótica" (OMS 2014). A *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos foi descrita pela primeira vez na Escócia no final dos anos noventa. Em 2005, 3,3% dos isolados de *K. pneumoniae* eram resistentes ao carbapenem nos hospitais do Brooklyn.

Em 2014, duas das seis regiões da OMS relataram 50% ou mais de resistência de *K. pneumoniae* a carbapenem (HOSSAN et al., 2018).

As infecções causadas por cepas multirresistentes (MDR) de KP estão se espalhando amplamente em todo o mundo. O MDR-KP é uma das principais causas de infecções associadas aos cuidados de saúde em todo o mundo e apresenta desafios significativos no tratamento, pois demonstraram maior tolerância a antibióticos, desinfetantes químicos e ao sistema de defesa humana, como a fagocitose (MOHAMED et al., 2018).

A formação de biofilme em KP também tem sido a hipótese de contribuir para a persistência bacteriana, estes biofilmes foram mostrados para resistir a matar com a exposição prolongada aos antibióticos. As bactérias dentro do biofilme são 10 a 1000 vezes mais resistentes aos antibióticos do que as células planctônicas, mas seu mecanismo de resistência ainda é inexplicável, portanto, é difícil erradicar os biofilmes bacterianos que causam inúmeras infecções (MOHAMED et al., 2018).

### **1.2.3 *Escherichia coli***

Os patógenos Gram-negativos *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* estão entre as "superbactérias" mais críticas identificadas pela Sociedade de Doenças Infecciosas da América (IDSA) (BERGEN et al., 2018). A *Escherichia coli* é documentada como a bactéria mais estudada (FUH et al., 2018).

A *E. coli* é responsável por 75-90% dos casos de infecções do trato urinário adquiridas na comunidade. São causas frequentes de infecção grave em pacientes gravemente enfermos e são comumente tratados com os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos meropenem e piperacilina / tazobactam (BERGEN et al., 2018). O aumento da resistência antimicrobiana e multirresistência (MDR) entre *E. coli* (isto é, *E. coli* produtora de  $\beta$ -lactamase de espectro estendido (ESBL)) está atualmente limitando as opções de tratamento para UTIs. Isso poderia levar a um uso mais extensivo de carbapenêmicos, que são reservados para outras infecções complicadas. Além disso, organismos produtores de carbapenemase estão se espalhando mundialmente. A falta de antibacterianos eficazes devido ao surgimento de resistência antimicrobiana aumenta o uso de antibacterianos

de último recurso para infecções comuns, como as infecções do trato urinário (FOSFOMYCIN et al., 2018).

Muitas doenças relacionadas à água são causadas por bactérias como *E. coli* (HUANG et al., 2018). A *E. coli* é amplamente utilizada como uma bactéria indicadora de fezes (FIB) para detectar contaminação recente de água com matéria fecal. Foi selecionado como um FIB baseado, em parte, no fato de que sobrevive por um curto período de tempo em corpos d'água, pois as condições lá podem causar choque ao metabolismo bacteriano e levar à morte rápida. No entanto, quando a *E. coli* se deposita nos sedimentos do leite pode sobreviver por muito mais tempo, com persistência por semanas e meses sendo freqüentemente relatada (BRAGINA et al., 2017).

### **1.3 Resistência antibacteriana**

Um aumento alarmante e persistente da resistência aos antibióticos entre muitas espécies bacterianas patogênicas importantes constitui um dos maiores desafios contemporâneos à saúde pública (MUNGUIA; NIZET, 2017). Antibióticos são drogas usadas para tratar infecções bacterianas. Têm sido usados nos últimos 70 anos para tratar doenças infecciosas. Desde a década de 1940, essas drogas reduziram muito o número de doenças e a mortes por infecções. Originalmente, um antibiótico é uma substância produzida por um microorganismo que inibe seletivamente o crescimento de outro (RAMYA; SANKAR, 2018). O termo genérico antibiótico denota qualquer classe de molécula orgânica que pode matar ou inibir o crescimento de bactérias causadoras de doenças, interagindo com alvos bacterianos específicos.

A descoberta de antibióticos revolucionou a medicina moderna, mas as bactérias se adaptaram a novos ambientes desenvolvendo mecanismos de resistência à maioria dos antibióticos. O desenvolvimento de resistência a drogas em bactérias anteriormente suscetíveis é devido a alterações genéticas que ocorrem por mutação genética ou pela introdução de novas informações genéticas. Essas alterações genéticas permitem que as bactérias afetadas desenvolvam tipos específicos de resistência (VILLIERS, 2018).

Diante disso o estudo de materiais e dispositivos antibacteriano faz-se necessário. Nesse sentido, os polímeros antibacterianos e polímeros

condutores, especificadamente o polipirrol é um forte candidato no combate a superbactérias.

#### 1.4 Polímeros Antibacterianos

Um antibacteriano é um agente usado para matar bactérias ou inibir seu crescimento. Embora numerosos medicamentos antibacterianos tenham sido desenvolvidos para matar ou inibir bactérias, muitas doenças infecciosas permanecem difíceis de tratar (HUANG et al., 2016).

Os polímeros antibacterianos são uma classe de novos agentes antibacterianos que são alimentados pelo conhecimento combinado de peptídeos antibacterianos (AMPs) e desinfetantes de polímeros que emergiram como dois campos distintos desde a década de 1980 (GANEWATTA; TANG, 2015). Podem ser definidos como materiais capazes de matar / inibir o crescimento de bactérias numa superfície ou ambiente circundante (JAIN et al., 2014).

Polímeros antibacterianos oferecem algumas vantagens sobre o restante dos biocidas existentes e têm se tornado cada vez mais importantes como uma alternativa potencial. Os polímeros antibacterianos são, em geral, altamente ativos, com baixo potencial de aumentar a resistência e reduzir a toxicidade (SURFACES et al., 2018).

Polímeros antibacterianos podem ser preparados incorporando um agente biocida no *bulk* polimérico, por exemplo, durante o processamento ou pela aplicação de revestimentos de superfície. Recentemente foi relatada a polimerização de grupos biocidas contendo monômeros ou o enxerto de agentes antibacterianos nos polímeros. A polimerização do polímero biocida na superfície de polímeros comerciais por polimerização de radical de transferência de átomos também foi relatada (PALZA, 2015).

Estudos recentes mostraram que esses polímeros ativos na membrana são eficazes contra bactérias multiresistentes, incluindo *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus* resistente à metilicina. Em comparação com os antibióticos convencionais, esses polímeros catiônicos são menos propensos a desenvolver resistência, tornando-os atraentes para aplicações de cuidados de saúde (LOU et al., 2018), além de demonstrar eficácia superior, toxicidade

reduzida, problemas ambientais minimizados e maior resistência (HUANG et al., 2018).

A atividade dos polímeros antibacterianos é considerada como uma função do equilíbrio entre múltiplos fatores. Estes podem ser fatores relacionados com o peso molecular do polímero, densidade de carga, comprimento da cadeia, hidrofobicidade, bem como fatores ambientais, tais como pH e temperatura (JAIN et al., 2014).

A exposição das bactérias aos polímeros leva inicialmente a uma despolarização da membrana citoplasmática resultando em permeabilidade que inicia a morte celular através de uma liberação de material fibroso e celular (BRAUN et al.,). Polímeros funcionalizados com agentes ativos, como biocidas catiônicos, peptídeos antibacterianos, ou antibióticos podem matar bactérias em contato. Os polímeros antibacterianos ativos mais amplamente utilizados são funcionalizados com o amônio quaternário de carga positiva (HUANG et al., 2016). Nos últimos anos, uma variedade de sistemas poliméricos antibacterianos foi investigada incluindo compostos de amônio quaternário, sais de fosfônio quaternário polimérico, polímeros contendo guanidina e polímeros de halogênio (isto é, N-halaminas). A maioria dos sistemas estudados são policatiônicos, em particular aqueles com átomos de nitrogênio quaternário. Embora seu mecanismo de ação não seja totalmente compreendido, essas estruturas policatiônicas interagem eletrostaticamente com a membrana bacteriana carregada negativa, causando ruptura da parede e posterior morte do microrganismo.

Uma outra classe de polímeros que tem ganhado destaque nos últimos anos pelos estudos e pesquisas no combate à bactérias são os polímeros condutores.

## **1.5 Polímeros Condutores**

Polímeros condutores são polímeros com cadeias altamente conjugadas. Eles podem atuar como isolantes, semicondutores e condutores (SHI et al., 2015). Podem ser aplicados como supercapacitores (KIM et al., 2016), sensores, displays eletrônicos, transistores (BHARTI et al., 2018), biomateriais (KAUR et al., 2015) e antibacteriano (DA SILVA et al., 2016)(DA SILVA et al., 2017).

Possuem propriedades ópticas e similares aos dos metais e semicondutores, e oferecem maiores vantagens dos que os polímeros convencionais, como por exemplo a facilidade de síntese (KAUR et al., 2015).

A década de 1970 testemunhou a evolução de uma variedade de polímeros condutores (KUMAR; SHARMA, 1998). O primeiro trabalho sobre polímeros condutores foi observado nos estudos da condutividade do poliacetileno (PA). Nesse trabalho o PA foi exposto ao vapor de iodo e sua condutividade foi extremamente aumentada. A partir daí deu-se início a estudos mais profundos sobre polímeros condutores. Hoje existem mais de 25 sistemas dessa classe de polímeros (AL-OQLA et al., 2015), são eles:

Polipirrol (PPy)

Polianilina (PANI)

Poli (3,4 – etilenodioxitiofeno) (PEDT, PEDOT)

Politiofeno (PTh)

Politiofeno-vinileno (PTh-V)

Poli (2,5-tienilenevinileno) (PTV)

Poli (3-alquiltiofeno) (PAT)

Poli (p-fenileno) PPP

Poli-p-fenileno-sulfureto (PPS)

Poli-p-fenilenevinileno (PPV)

Poli (p-fenileno-tereftalamida) (PPTA)

Poliacetileno (PAc)

Poli (isotianafetina) (PITN)

Poli ( $\alpha$ -naftilamina) (PNA)

Poliazuleno (PAZ)

Polifurano (PFu)

Poliisopropano (PIP)

Polibutadieno (PBD)

Poli (3-octiltiofeno-3-metiltiofeno) (POTMT)

Poli (p-fenileno-tereftalamida) (PPTA)

### **1.5.1 Técnicas de sínteses para polímeros condutores**

Não existe um método singular para sintetizar polímeros condutores. Eles podem ser sintetizados utilizando métodos padrões e convencionais de polimerização, incluindo os métodos de reações de Wittig, Horner e Grignard, bem como os processos de policondensação e técnicas de polimerização catalisadas por metais (KUMAR; SHARMA, 1998).

A literatura destaca uma série de técnicas de polimerização de polímeros condutores, são elas:

1. Polimerização química
2. Polimerização eletroquímica
3. Polimerização fotoquímica
4. Polimerização de metátese
5. Polimerização de emulsão concentrada
6. Polimerização de inclusão
7. Polimerização em estado sólido
8. Polimerização por plasma
9. Pirólise
10. Preparação de polímero precursor solúvel.

Atualmente a polimerização química e a eletroquímica são os métodos mais utilizados na produção de polímeros condutores (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). A polimerização química é a mais utilizada na produção de uma grande quantidade de polímeros condutores, uma vez que é executada sem a presença de eletrodos. A síntese química é comumente realizada através de polimerização radicalar, que é o resultado da oxidação do monômero (formando

íons radicais) através de um agente iniciador (agente oxidante – cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>), persulfato de amônio (APS)) e posterior acoplamento dos monômeros, passando pelas etapas de iniciação, propagação e finalização (formação do polímero) (RONCALI, 1997).

Uma outra vantagem de se usar o método químico é a facilidade de sintetizar polímeros que o método eletroquímico não produz. Em contrapartida, a condutividade dos polímeros produzidos pelo método químico é inferior aos que são produzidos eletroquimicamente (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). Apesar da eficiência no processo eletroquímico, e de ser um processo facilmente monitorado, o rendimento polimérico é baixo e inferior ao procedimento químico (WEI; HSUEH; JANG, 1994).

A tabela 1 mostra as principais sínteses para a polimerização de diversos polímeros condutores.

**Tabela 1: Técnicas de sínteses de polímeros condutores (KUMAR; SHARMA, 1998)**

<b>Polímeros</b>	<b>Método utilizado</b>
Poliacetileno	Polimerização química
Politiofeno	Polimerização química Polimerização eletroquímica
Polianilina	Polimerização química Polimerização eletroquímica
Poliisopreno	Polimerização de inclusão
Polibutadieno	Polimerização de inclusão
Poli (2,3-dimetil-butadieno)	Polimerização de inclusão
Polipirrol	Polimerização química Polimerização eletroquímica

Poly (p- fenileno-tereftalamida)	Polimerização eletroquímica
Compósitos de polipirrol e poliimida	Polimerização eletroquímica
PVC	Polimerização química
Poliestireno	Polimerização de emulsão concentrada
Poli (p-fenileno)	Polimerização química
Poli ( $\alpha$ -naftilamina)	Polimerização eletroquímica
3-Octiltiofeno-3-metiltiofeno	Polimerização eletroquímica
Poli (1,4-fenileno)	Polimerização eletroquímica
Poli (anilina-co-o-anisidina)	Polimerização química

### 1.5.2 Dopagem

Os polímeros condutores podem conduzir cargas devido a facilidade com que os elétrons saltam dentro e entre as cadeias do polímero. A condutividade surge devido a uma combinação de vários fatores. Os polímeros condutores são formados por uma série de ligações simples e duplas alternadas. Ligações simples e duplas contém uma ligação sigma ( $\sigma$ ) fortemente localizada, enquanto as ligações duplas contém uma ligação pi ( $\pi$ ) menos fortemente localizada. Os orbitais p em uma série de ligações  $\pi$  se sobrepõe permitindo que os elétrons sejam mais facilmente deslocalizados movendo-se livremente pelos átomos (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). A condutividade de um polímero pode ser aumentada várias vezes por dopagem com substituintes oxidativos/redutores ou por radicais doadores/ aceitadores (KUMAR; SHARMA, 1998). Os dopantes doam elétrons para a faixa de condução (dopantes do tipo n) ou aceitam elétrons para a faixa de valência (dopantes do p), deslocando o nível de Fermi e aumentando o número de portadores de carga livre na rede (JACOBS et al., 2017).

A dopagem é realizada por métodos químicos de exposição direta do polímero conjugado a um agente de transferência de carga (dopante) na fase de gás ou solução, ou por oxidação ou redução eletroquímica (KUMAR; SHARMA, 1998). Polímeros podem ser dopados pelas seguintes técnicas:

1. dopagem gasosa
2. dopagem em solução
3. dopagem eletroquímica
4. auto-dopagem
5. dopagem induzido por radiação e
6. Dopagem de troca iônica.

Destas, as três primeiras técnicas são amplamente utilizadas por conveniência e baixo custo. No processo de dopagem gasosa, os polímeros são expostos aos vapores do dopante sob vácuo. A dopagem de solução envolve o uso de um solvente no qual todos os produtos de dopagem são solúveis (KUMAR; SHARMA, 1998).

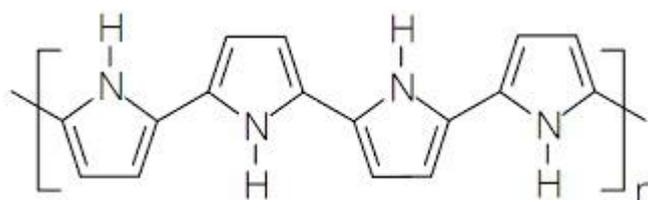
É importante conhecer a relação proporcional entre a quantidade de dopante usado e a condutividade do polímero dopado (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014) e a natureza do polímero, pois eles podem ser moléculas e compostos neutros ou sais inorgânicos que podem facilmente formar íons, dopantes orgânicos e dopantes poliméricos (KUMAR; SHARMA, 1998).

### **1.5.3 Polipirrol**

O polipirrol (PPy) (Figura 1.2) é um dos representantes mais populares de polímeros condutores (STEJSKAL; MOR, 2017). É o polímero condutor mais estudado devido à quantidade de publicações em torno de suas propriedades e aplicações (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014). Nos últimos anos o polipirrol tem se destacado por possuir propriedades de um semiconductor orgânico (STEJSKAL; MOR, 2017), possuir fácil síntese, alta condutividade elétrica (LIMA et al., 2018), boa estabilidade sob condições ambientais (INES; RAMANAVI; MIKOLI, 2017) e boas propriedades redox (SHI et al., 2015) podendo ser aplicado como supercapacitores, sensores, na proteção contra a corrosão

(STEJSKAL; MOR, 2017), na remoção de metais pesados (OSAGIE et al., 2018) e adsorventes (SZCZESNIAK et al., 2018).

Figura 1.2: Estrutura química do polipirrol



Fonte: elaborada pelo autor

A biocompatibilidade é uma característica que tem sido explorada no polipirrol, apesar de algumas propriedades mecânica pobres, como fraco, frágil, rígido e não biodegradável, o que dificultou sua aplicação na biomedicina (KUMAR et al., 2017). Diversos estudos mostram sua aplicação na medicina, como biossensores, tratamento de infecções em feridas, administração de medicamentos, implantes biomédicos, engenharia de tecidos (STEJSKAL; MOR, 2017), sondas neurais e condutores sanguíneos (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014).

O polipirrol possui muitas propriedades responsivas ao estímulo, o que o torna um biomaterial “inteligente” muito promissor. Tem uma boa biocompatibilidade in vitro e in vivo (KAUR et al., 2015), boa estabilidade química e razoavelmente alta condutividade sob condições fisiológicas, pode ser facilmente modificado para torna-lo mais adequado para aplicações biomédicas através da incorporação de moléculas bioativas (BALINT; CASSIDY; CARTMELL, 2014).

O polipirrol é um forte candidato no combate a bactérias. Um importante aspecto a ser reportado (relativo à atividade antibacteriana do PPy) consiste na polimerização oxidativa dos CPs: cargas positivas que são formadas em cada três a cinco monômeros ao longo da cadeia principal do polipirrol. Como consequência, uma forte interação eletrostática é estabelecida com espécies de cargas opostas, tal como a parede celular de bactérias (DA SILVA et al., 2016). Cinco etapas seguem a aderência eletrostática do PPy na bactéria carregada negativamente: a adsorção do PPy na superfície da célula; a difusão de

nanopartículas ao longo da parede celular; ligação das nanopartículas com a membrana citoplasmática; dispersão de componentes intracelulares e liberação de íons  $K^+$ , e conseqüentemente a morte da bactéria.

A facilidade de síntese do polipirrol é um fator importante a ser considerado, pois a produção de dispositivos antibacterianos à base de ppy se torna mais fácil e eficiente (DA SILVA et al., 2017) (LIMA et al., 2018) (DA SILVA et al., 2018) (DA SILVA et al., 2019).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Rossi, F. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. v. 52, p. 1138-1143, 2011.

[2] Giske, C. G.; Monnet, D. L.; Cars, O.; Carmeli, Y. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram Negative Bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. v. 52, n. 3, p. 813–821, 2008.

[3] Toufen JR, C.; Hovanian, A. L. D.; Franca, S. A.; Carvalho, C. R. R. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. v. 58, n. 5, p. 254–259, 2003.

[4] Sader, H.; Gales, A. C. Treatment of severe infections in the era of high rates of antimicrobial resistance. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 5, n. 4, p. 200–214, 2008.

[5] Rice, L. B. The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Current Opinion in Microbiology*, v. 12, p. 476–481, 2009.

[6] Munguia, J.; Nizet, V. Pharmacological Targeting of the Host – Pathogen Interaction: Alternatives to Classical Antibiotics to Combat Drug-Resistant Superbugs. *Trends in Pharmacological Sciences*, v. 38, n. 5, p. 473–488, 2017.

[7] Ramya, K.; Sankar, P. *Clinical Pharmacology and Translational Medicine*

Review Article Antimicrobial Resistance : Alarming Universal Concern. v. 2, n. 1, p. 87–88, 2018.

[8] Villiers, M. DE. ATTACK OF THE SUPERBUGS The Law & Medicine of Antibiotic Resistance. v. 11, p. 1–41, 2018.

[9] Black, J. G. Microbiology : principles and explorations. John Wiley and Sons, 2008. BRAGINA, L. et al. Agriculture , Ecosystems and Environment Cattle exclusion using fencing reduces *Escherichia coli* ( *E . coli* ) level in stream sediment reservoirs in northeast Ireland. “Agriculture, Ecosystems and Environment”, v. 239, p. 349–358, 2017.

[10] Fensterseifer, I. C. M. et al. Peptides Effects of cyclotides against cutaneous infections caused by *Staphylococcus aureus*. Peptides, v. 63, p. 38–42, 2015.

[11] Strategies, N. D. crossm Recombinant Endolysins as Potential Therapeutics against Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* : Current Status of Research and Novel Delivery Strategies. v. 31, p. 1-17, 2018.

[12] Francis, J. S. et al. Severe Community-Onset Pneumonia in Healthy Adults Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carrying the Panton-Valentine Leukocidin Genes. v. 40, n. August, 2018.

[13] Almatroudi, A. et al. *Staphylococcus aureus* dry-surface biofilms are more resistant to heat treatment than traditional hydrated biofilms. v. 98, p. 161–167, 2018.

[14] Bar-gal, G. K. et al. Host-specificity of *Staphylococcus aureus* causing intramammary infections in dairy animals assessed by genotyping and virulence genes. Veterinary Microbiology, v. 176, n. 1–2, p. 143–154, 2015.

[15] Munson, E. et al. Determination of MIC and disk diffusion quality control guidelines for meropenem – vaborbactam , a novel carbapenem / boronic acid  $\beta$ -lactamase inhibitor combination. Diagnostic Microbiology & Infectious Disease,

v. 90, n. 4, p. 324–328, 2018.

[16] Reddy, L. S. et al. Antimicrobial activity of zinc oxide ( ZnO ) nanoparticle against *Klebsiella pneumoniae*. v. 209, p. 1-10, 2014.

[17] Labeled-zouad, I. et al. Chemical Compositions and Antibacterial Activity of Four Essential Oils from *Ferula vesceritensis* Coss . & Dur . Against Clinical Isolated and Food-Borne Pathogens. v. 4, p. 518–525, 2015.

[18] Hossan, S. et al. Antibacterial effects of 18 medicinal plants used by the Khyang tribe in Bangladesh. *Pharmaceutical Biology*, v. 0, n. 0, p. 201–208, 2018.

[19] Mohamed, S. H. et al. Combination of essential oil and ciprofloxacin to inhibit / eradicate biofilms in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Applied Microbiology*, v. 125, p. 84--95, 2018.

[20] Bergen, P. J. et al. Differences in suppression of regrowth and resistance despite similar initial bacterial killing for meropenem and piperacillin / tazobactam against *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*, v. 91, n. 1, p. 69–76, 2018.

[21] Fuh, N. J. et al. Prevalence and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* O157 : H7 Serotype from Chicken Droppings Produced by Free - Ranged and Poultry Birds in Cross River , Nigeria. v. 6, n. 3, p. 51–55, 2018.

[22] Fosfomycin, P. et al. crossm coli in a Murine Urinary Tract Infection Model. v. 62, n. 6, p. 1–16, 2018.

[23] Huang, J. et al. Performance of ceramic disk fi lter coated with nano ZnO for removing *Escherichia coli* from water in small rural and remote communities of. *Environmental Pollution*, v. 238, p. 52–62, 2018.

[24] Huang, K. et al. Recent Advances in Antimicrobial Polymers. *Interneteional Journal of Molecular Science*, v. 17, p. 1578-1592, 2016.

[25] Ganewatta, M. S.; Tang, C. Controlling macromolecular structures towards effective antimicrobial polymers. *Polymer*, v. 63, p. A1–A29, 2015.

[26] JAIN, A. et al. *Antimicrobial Polymers*. p. 1969–1985, 2014.

[27] Surfaces, A. et al. Tailoring Macromolecular Structure of Cationic Polymers towards Efficient Contact Active. v. 10, p. 241-257, 2018.

[28] Palza, H. *Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles*. p. 2099–2116, 2015.

[29] Lou, W. et al. *Acta Biomaterialia* Antimicrobial polymers as therapeutics for treatment of multidrug- resistant *Klebsiella pneumoniae* lung infection. *Acta Biomaterialia*, v. 78, p. 78-88, 2018.

[30] Braun, C. et al. Antimicrobial Activity of Intrinsic Antimicrobial Polymers Based on Poly (( tert- butyl-amino ) -methyl-styrene ) Against Selected Pathogenic and Spoilage Microorganisms Relevant in Meat Processing Facilities *Antimicrobial Agents*. v. 3, n. 1, p. 1–9.

[31] Shi, Y. et al. Nanostructured conductive polymers for advanced energy storage. *Chem. Soc. Rev.*, v. 44, n. 19, p. 6684–6696, 2015.

[32] Kim, J. et al. Conductive polymers for next-generation energy storage systems: recent progress and new functions. *Mater. Horiz.*, v. 3, n. 6, p. 517–535, 2016.

[33] Bharti, M. et al. Conductive polymers for thermoelectric power generation. *Progress in Materials Science*, v. 93, p. 270–310, 2018.

[34] Kaur, G. et al. Electrically conductive polymers and composites for biomedical applications. *RSC Adv.*, v. 5, n. 47, p. 37553–37567, 2015.

[35] Da Silva, F. A. G. et al. Antibacterial behavior of polypyrrole: The influence of morphology and additives incorporation. *Materials Science and Engineering C*,

v. 62, p. 317–322, 2016.

[36] Da Silva, F. A. G. et al. Synthesis and characterization of highly conductive polypyrrole-coated electrospun fibers as antibacterial agents. *Composites Part B: Engineering*, v. 129, p. 143–151, 2017.

[37] Kumar, D.; Sharma, R. C. Review Article Advances in Conductive Polymers. *European Polymeric Journal*, v. 34, n. 8, p. 1053–1060, 1998.

[38] Al-Oqla, F. M. et al. Natural fiber reinforced conductive polymer composites as functional materials: A review. *Synthetic Metals*, v. 206, p. 42–54, 2015.

[39] Kumar, A. M. et al. Promising bio-composites of polypyrrole and chitosan : Surface protective and in vitro biocompatibility performance on 316L SS implants. *Carbohydrate Polymers*, v. 173, p. 121–130, 2017.

[40] Balint, R.; Cassidy, N. J.; Cartmell, S. H. Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, v. 10, n. 6, p. 2341–2353, 2014.

[41] Roncali, J. Synthetic Principles for Bandgap Control in Linear  $\pi$ -Conjugated Systems. v. 97, p. 173-205, 1997.

[42] Wei, Y.; Hsueh, K. F.; Jang, G. W. Monitoring the chemical polymerization of aniline by open-circuit-potential measurements. *Polymer*, v. 35, n. 16, p. 3572–3575, 1994.

[43] Jacobs, I. E. et al. Quantitative Dedoping of Conductive Polymers. *Chemistry of Materials*, v. 29, n. 2, p. 832–841, 2017.

[44] Stejskal, J.; Mor, Z. Polypyrrole nanotubes : The tuning of morphology and conductivity vkov a. v. 113, p. 247-248, 2017.

[45] Lima, R. M. A. P. et al. Multifunctional Wearable Electronic Textiles Using

Cotton Fibers with Polypyrrole and Carbon Nanotubes. ACS Appl. Mater. Interfaces, v. 10, p. 13783-13795, 2018.

[46] Ines, A.; Ramanavi, A.; Mikoli, L. Fast Fourier transformation electrochemical impedance spectroscopy for the investigation of inactivation of glucose biosensor based on graphite electrode modified by Prussian blue, polypyrrole and glucose oxidase. v. 532, n. March, p. 165–171, 2017.

[47] Osagie, U. et al. Separation and Purification Technology A novel method for removal of Cr (VI) using polypyrrole magnetic nanocomposite in the presence of unsteady magnetic fields. Separation and Purification Technology, v. 194, n. November 2017, p. 377–387, 2018.

[48] Szczęśniak, B. et al. Highly porous carbons obtained by activation of polypyrrole / reduced graphene oxide as effective adsorbents for -. Journal of Porous Materials, v. 25, n. 2, p. 621–627, 2018.

---

# CAPÍTULO 2

---

Síntese, caracterização e atividade antibacteriana de nanopartículas de polipirrol

Uma das características dos polímeros condutores, já mencionadas nesse trabalho, é a atividade antibacteriana. Nesse capítulo será descrita a metodologia usada para a preparação de nanopartículas de polipirrol e descritos e discutidos os testes microbiológicos para avaliar seu potencial antibacteriano.

## 2. Materiais e métodos

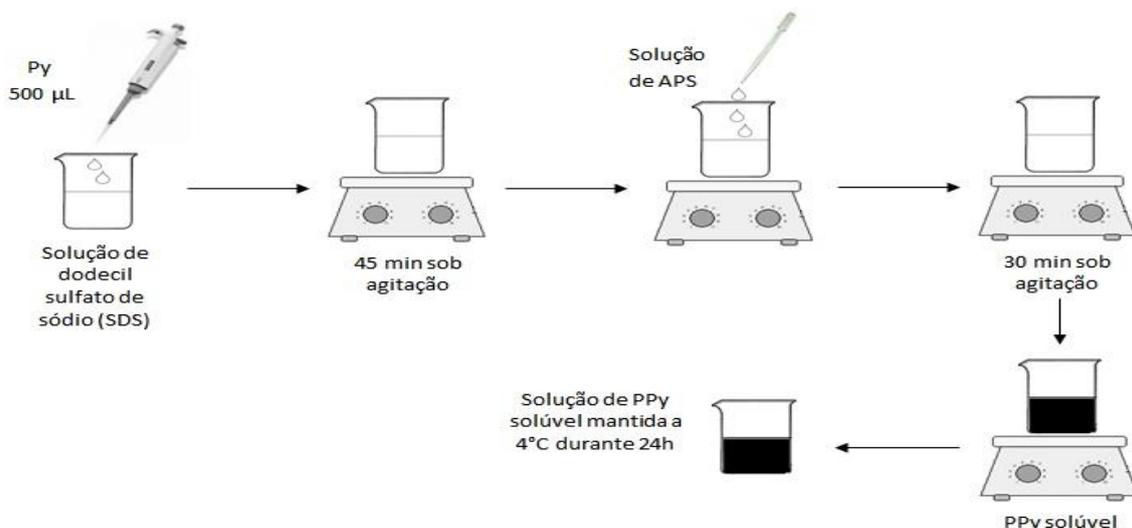
Todos os reagentes utilizados no desenvolvimento da parte experimental foram de grau analítico (P.A.) e sem tratamento prévio, com exceção do pirrol que foi previamente destilado antes do uso. Após cada destilação, o monômero foi armazenado e refrigerado para evitar processos de fotodegradação e oxidação térmica. A água ultrapura utilizada em todo o processo de preparação das soluções foi obtida através do sistema Mili-Q com resistividade 18,2 Mohm.cm.

Neste capítulo será descrita a metodologia e discutidos os resultados referentes a síntese, caracterização e a aplicação do material como antibacteriano.

### 2.1 Preparação das nanopartículas de polipirrol

A solução das nanopartículas de polipirrol (PPy solúvel) foi preparada de acordo com o trabalho de T.S. Kang e colaboradores (KANG, T.S.et al., 2005). Na preparação foram solubilizados 1,08 g de dodecil sulfato de sódio (SDS) em 100 mL de água ultrapura (milli-Q), em seguida, nesta solução, foram adicionados 500 µL de pirrol (Py). A solução resultante foi mantida sob intensa agitação durante 45 min. Finalizado o tempo, 50 mL de uma solução aquosa de persulfato de amônio (APS) (0,256 g) foi gotejada lentamente no sistema anterior, o novo sistema ficou mantido sob intensa agitação durante 35 min. Ao final obteve-se uma solução negra, e essa foi mantida a 4°C durante 24 h. A Fig.2 mostra o esquema de preparação do PPy solúvel.

Fig. 2: Esquema de preparação do PPy solúvel



Fonte: Elaborada pelo autor

## 2.2 Ensaios microbiológicos para o PPy solúvel

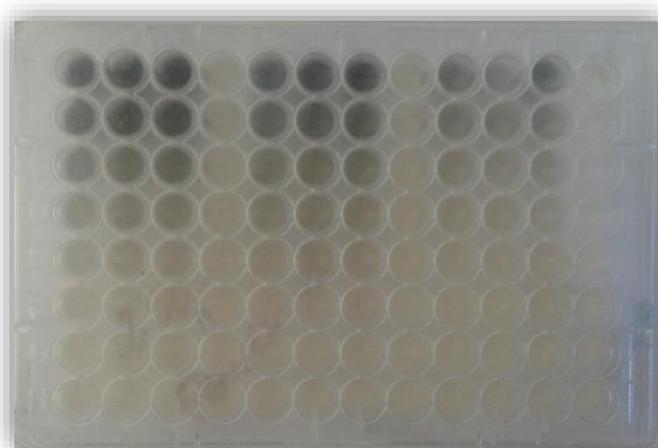
### 2.2.1 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM) para o PPy solúvel

A avaliação da concentração bactericida mínima do PPy solúvel sobre *S. aureus* (ATCC 25923), *E. coli* (ATCC 25992) e *K. pneumoniae* (ATCC 1388) foi determinada seguindo as descrições do protocolo M7-A7 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2006), que consiste inicialmente em realizar sucessivas microdiluições em caldo. Primeiramente, 200 µL de caldo Mueller Hinton (MH) foram distribuídos em cada poço das microplacas. Uma alíquota de 200 µL da solução de PPy solúvel de concentração 2 mg/mL foi adicionada ao primeiro poço e, após homogeneização, transferida para o segundo, e assim sucessivamente.

Uma vez realizadas as diluições seriadas, foram obtidas as seguintes concentrações finais: 1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128 µg/mL. Na preparação do inóculo, 5 mL de solução salina foram utilizados para obtenção de uma suspensão bacteriana com densidade ótica de 0,104 nm ( $10^8$  UFC), sendo mensurada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 580 nm. Desta suspensão, 100 µL foram transferidos para um tubo contendo 9,9 mL de

caldo MH, sendo que 10 µL foram colocados em cada poço contendo as diluições do PPy solúvel.

Fig. 2.1: Microplaca para a determinação da CBM



Fonte: Elaborada pelo autor

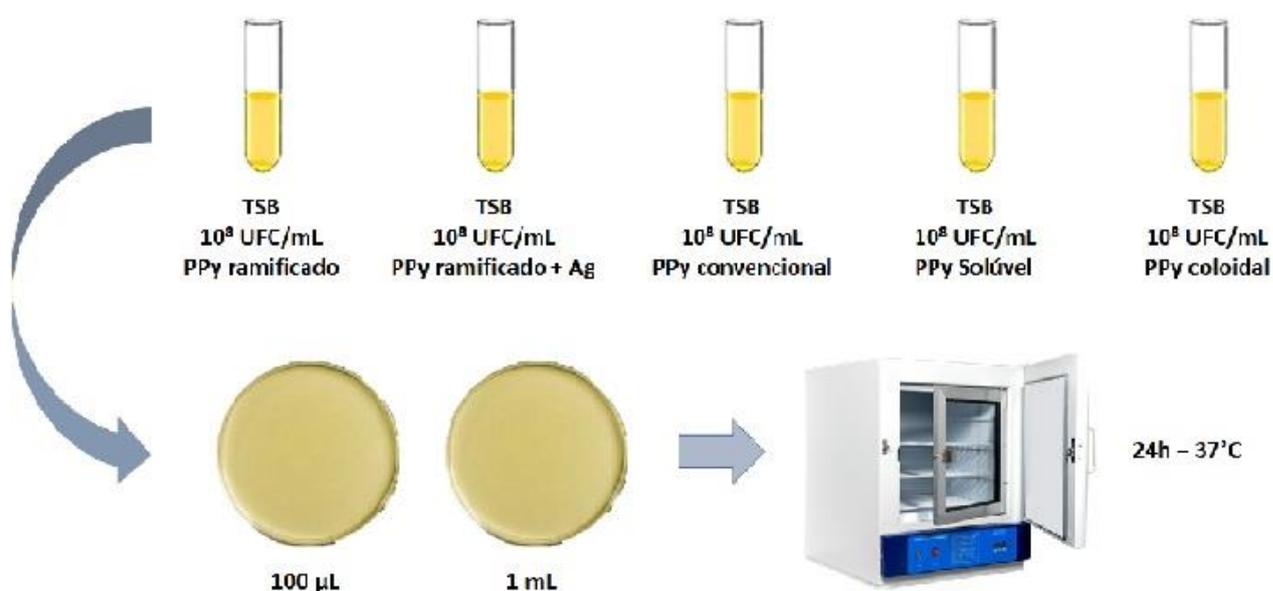
A microplaca foi incubada a 37 °C durante 24 h. Posteriormente, com auxílio de um replicador multicanal, o conteúdo de cada poço da microplaca foi inoculado em placas contendo Ágar Mueller Hinton, incubando-as novamente por mais 24 h a 28°C, para determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM), considerada a menor concentração das soluções em estudo capaz de causar a morte do inóculo. Como controle negativo (-) foram utilizados quatro poços com o caldo MH e, como controle positivo (+), foram utilizados quatro poços com o caldo MH e o inóculo bacteriano.

### 2.2.2 Determinação do tempo de morte e contagem de colônias para o PPy solúvel

Para a determinação do menor tempo para a morte dos três tipos de bactérias, foram colocados em um tubo de ensaio 5 mL de TSB (tryptic soy broth) e uma concentração de bactérias de  $10^8$  UFC. Após a homogeneização da solução bacteriana, 2 mg/mL do PPy solúvel foi adicionado ao tudo, assim como os demais tipos de polipirrol sintetizados em tubos diferentes. Em seguida, alíquotas de 100 µL e 1 mL foram removidas dos tubos em intervalo de tempo (1 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min e 240 min) e colocadas

em placas de petri contendo plate count agar (PCA). A placas foram mantidas a 37 °C durante 24 h. Após o tempo necessário as colônias foram contadas e a curva de morte foi obtida plotando um gráfico UFC versus tempo (t). O esquema completo é apresentado na Fig. 2.2.

Fig. 2.2: Determinação do tempo de morte do PPy para *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae*



Fonte: Elaborada pelo autor

### 2.3 Caracterização do PPy solúvel

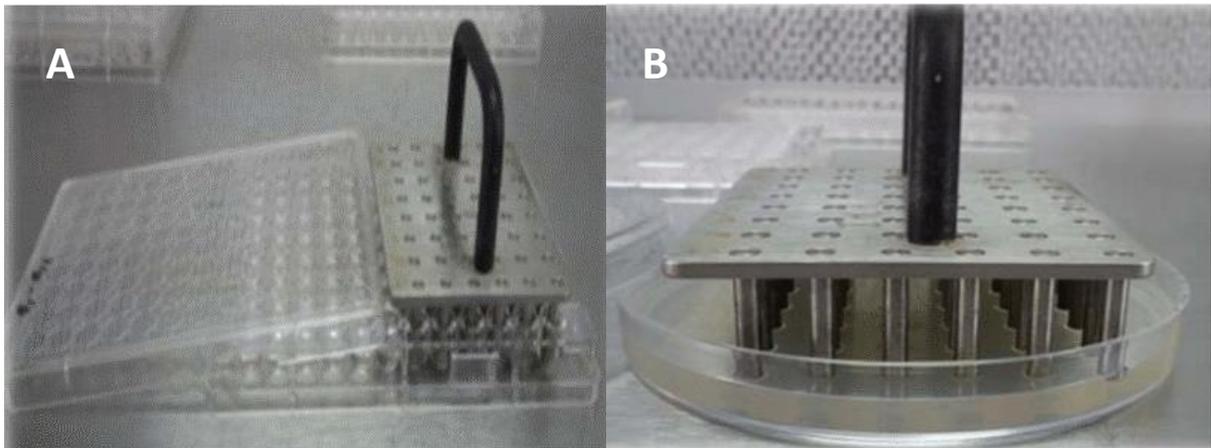
A estrutura do material foi caracterizada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (método KBr) usando um espectrômetro IR Prestige-21 da Shimadzu® e o tamanho de partículas e potencial zeta foram medidos em um Zetasizer – ZS90 Malvern®.

## 2.4 Resultados e discussão

### 2.4.1 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

Para a determinação da CBM, após 24 h a 37 °C de incubação da microplaca contendo a solução bacteriana (*E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*), foi utilizado um replicador multicanal (Fig. 2.3a) para a distribuição das soluções em uma placa de petri contendo o meio nutritivo para a o crescimento do microrganismo (Fig. 2.3b).

Fig. 2.3. A) Coleta de 10 µL da solução bacteriana + PPy solúvel e B) distribuição da solução bacteriana + PPy solúvel em placa de petri com TSA.



Fonte: Elaborada pelo autor

Após o carimbo no meio nutritivo a placa de petri foi incubada a 37 °C durante 24 h. Passado o tempo foi possível determinar o valor da CBM através do crescimento das bactérias remanescentes (Fig. 2.4).

Fig. 2.4. Crescimento de bactérias remanescentes após 24 h de incubação a 37 °C.



Fonte: Elaborada pelo autor

É importante ressaltar que a CBM só pode ser determinada após a diluição do polipirrol em água (1:1, 1:2, 1:3) devido ao seu potencial antibacteriano, zerando o número de bactérias remanescentes.

Com uma concentração de 2 mg/mL de PPy solúvel não foi possível determinar o valor de CBM para as bactérias por inibir o crescimento de todas elas, sendo assim necessário fazer diluições de 1:1, 1:2 e 1:3. Após a diluição do PPy em água, sucessivas diluições foram realizadas para a determinação da CBM. Para diluições 1:1, como observado na tabela 2, a menor concentração para a morte das bactérias em estudo é de 62,5 µg/mL. Para diluições de 1:2 o valor de CBM para todas as bactérias é de 62,5 µg/mL. E para diluição de 1:3 o valor de CBM para a *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae* é de 41,6 µg/mL.

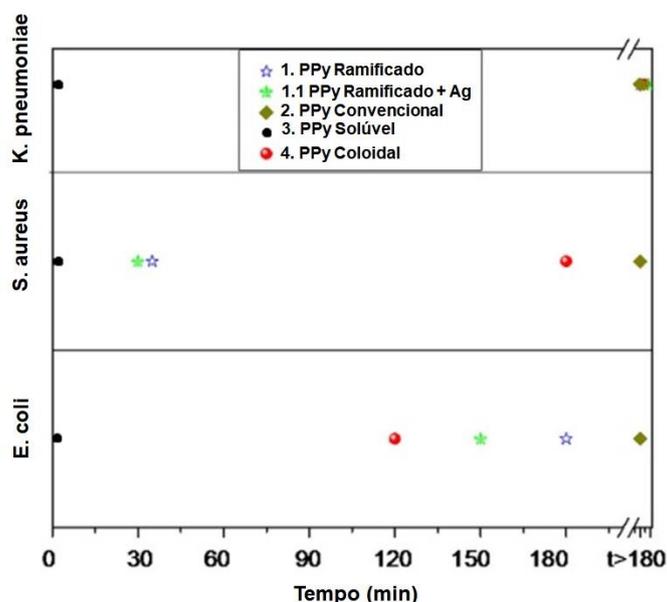
#### 2.4.2 Determinação do tempo de morte e contagem de colônias para os diferentes tipos de PPy solúvel

Baseado nos valores de CBM do polipirrol em diferentes bactérias, nós estabelecemos o valor de 2 mg/mL (2 x CBM) como uma concentração padrão aplicada nos experimentos para a determinação do tempo característico de morte (cinética de morte das bactérias).

Após separados quinze tubos de ensaio (para testes com um material e cepas diferentes) contendo TSB e a solução bacteriana, foi adicionado em tubos diferentes, cinco tipos de PPy sintetizados de maneiras distintas, são eles o PPy ramificado, PPy ramificado/Ag, PPy convencional, PPy solúvel (PPy solúvel) e PPy/Ag coloidal. Em seguida, alíquotas de 100 µL e 1 mL foram removidas dos tubos nos tempos entre 1 min a 240 min, colhendo sempre a solução em intervalos de 30 min e plaqueando-as em meio PCA. Após 24 h e a uma temperatura de 37 °C pode-se então fazer a contagem de colônias remanescentes.

Os resultados na Fig. 2.5 (tempo característico de morte da bactéria em contato com diferentes agentes antibacteriano) indicam que a melhor atuação na atividade antibacteriano foi observada para o polipirrol solúvel. Em um período mínimo de interação (da ordem de 1 min) inibe o crescimento das bactérias *E. coli*, *K. pneumoniae* e *S. aureus*.

Fig. 2.5 Tempo de morte característico de bactéria após variação no tempo de exposição à diferentes agentes antibacterianos.



Fonte: Elaborada pelo autor

No caso da *K. pneumoniae*, o PPy solúvel retorna contagem desprezível de bactérias remanescentes. Este resultado faz com que o PPy solúvel seja o único candidato com potencial para eliminação completa da bactéria. Se considerado a ação dos diferentes tipos de PPy sobre a *S. aureus*, é possível ordenar a atividade antibacteriana da seguinte maneira: PPy altamente solúvel > PPy ramificado + Ag > PPy ramificado > PPy coloidal > PPy convencional.

Estes resultados confirmam que o tamanho das nanopartículas de PPy (Fig. 2.7) representam o principal parâmetro para a atividade antibacteriana dos sistemas.

O desenvolvimento de estruturas altamente ramificadas decoradas com nanopartículas de prata e dispersão coloidal de PPy/Ag apresentam um grau intermediário de importância na eliminação definitiva de bactéria do meio com tempo de morte característico no intervalo de 30 min à 120 min.

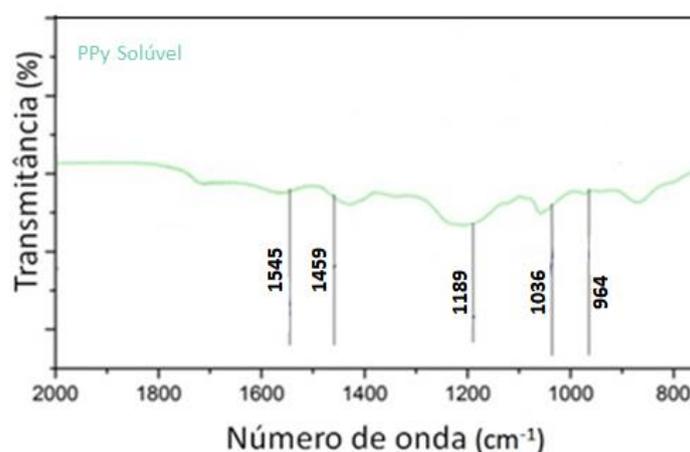
A resposta dos sistemas 1 e 1.1 contra *S. aureus* está de acordo com os resultados apresentados por Anitha e colaboradores (ANITHA, S. et al., 2013). Neste trabalho, os autores reportam que a atividade antibacteriana é forte contra *S. aureus* em comparação com *E. coli*. A melhora na atividade antibacteriana tem sido associada à morfologia correspondente. A estrutura típica da *S. aureus* é caracterizada por multicamadas de peptidoglicano e alto grau de porosidade que facilita a difusão de nanopartículas e a interação com a estrutura polimérica para subsequente ruptura. Por outro lado, a parede celular da *E. coli* (estrutura mais complexa) minimiza a difusão de nanopartículas e conseqüentemente reduz a atividade antibacteriana do material. Apesar desta desvantagem conformacional, a incorporação de nanopartículas no compósito polimérico contribui para atividade bactericida contra bactérias gram positiva e gram negativa, como visto na cinética de tempo de morte.

Finalmente, o polipirrol convencional apresenta uma limitação relativa a contagem de bactérias que permanecem ativas após um longo tempo de interação (da ordem de 240 min). O desempenho dos agentes bactericidas revela que todo processo de morte celular depende do tamanho de partículas seguido pela eficiente adsorção de nanopartículas na superfície das células bacterianas.

### 2.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier

O espectro de FTIR (mostrado na Fig. 2.6) revela a assinatura característica do polipirrol a partir das bandas localizadas em torno de 1545, (1459 e 1189), 1036 e 960  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes à vibração de alongamento da ligação C=C, vibração de alongamento C-N, banda de vibração planar da ligação C-N e torção planar da ligação C=C do anel do pirrol, correspondente (HAZARIKA, J.; KUMAR, A., 2013) (HAN, D.X.et al., 2005) (UPADHYAY, J. ; KUMAR, A., 2013) (XING, S.X. ; ZHAO, G.K., 2007) (YANG, X.M.;LI, L.; YAN, F., 2010). Os picos confirmam que a eficiência da polimerização do polipirrol.

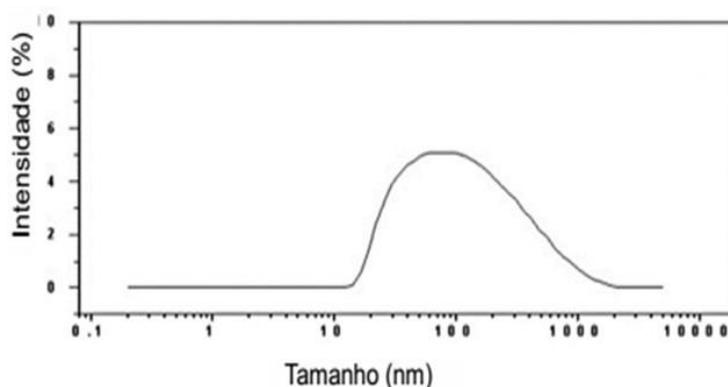
Fig. 2.6. Espectro de FTIR do polipirrol solúvel (PPy solúvel) .



Fonte: Elaborada pelo autor

Os experimentos de DLS retornam uma distribuição de diâmetro para o PPy altamente solúvel (sistema #3) na ordem de  $72,39 \text{ nm} \pm 3,17 \text{ nm}$ , como mostrado na Fig. 2.7.

Fig. 2.7. Distribuição de tamanho do PPy solúvel



Fonte: Elaborada pelo autor

Esses resultados corroboram com os resultados de tempo de morte determinados para o PPy solúvel (polipirrol solúvel), pois o tamanho de sua partícula está relacionado com seu grande potencial antibacteriano. Por possuir uma maior área superficial há um maior contato do polipirrol com a parede celular bacteriana.

Esse grande potencial antibacteriano do PPy solúvel apresenta grandes vantagens quando se comparado a outros materiais antibacterianos. O tempo de morte do PPy solúvel para os três tipos de bactérias testado ressalta essa afirmação, pois ele é capaz de zerar o número de bactérias, de uma concentração de  $10^8$  UFC, em menos de 1 min. Baseado nesse grande potencial antibacteriano e fácil síntese do PPy solúvel, aplicações rápidas através do desenvolvimento de dispositivos contra bactérias gram positivas e gram negativas podem ser desenvolvidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Kang, T.S., et al. Electrically conducting polypyrrole fibers spun by electrospinning. *Synthetic Metals*, v. 153, n. 1-3, p. 61-64, 2005.
- [2] Anitha, S., et al. Optical, bactericidal and water repellent properties of electrospun nanocomposite membranes of cellulose acetate and ZnO (vol 87, pg 1065, 2012). *Carbohydrate Polymers*, v. 97, n. 2, p. 855-855, 2013.
- [3] Hazarika, J.; Kumar, A. Controllable synthesis and characterization of polypyrrole nanoparticles in sodium dodecylsulphate (SDS) micellar solutions. *Synthetic Metals*, v. 175, p.155-162, 2013.
- [4] Han, D.X., et al. Reversed micelle polymerization: a new route for the synthesis of DBSApolyaniline nanoparticles. *Colloids and Surfaces a- Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 259, n. 1-3, p. 179-187, 2005.
- [5] Upadhyay, J.; Kumar, A. Structural, thermal and dielectric studies of polypyrrole nanotubes synthesized by reactive self degrade template method. *Materials Science and Engineering BAdvanced Functional Solid-State Materials*, v. 178, n. 15, p. 982-989, 2013.
- [6] Xing, S.X. ; Zhao, G.K. Morphology, structure, and conductivity of polypyrrole prepared in the presence of mixed surfactants in aqueous solutions. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 104, n. 3, p. 1987-1996, 2007.
- [7] Yang, X.M.; LI, L. ; YAN, F. Polypyrrole/silver composite nanotubes for gas sensors. *Sensors and Actuators B-Chemical*, v. 145, n. 1, p. 495-500, 2010.

---

# CAPÍTULO 3

---

## Lenços e dispositivos vestíveis antibacterianos

Lenços e dispositivos vestíveis antibacterianos prometem novos materiais multifuncionais com uma ampla gama de aplicações em sistemas de curativos. Baseado nessas perspectivas foram desenvolvidos lenços de EDGT revestidos com PPy, sensores de movimentos vesíveis de PU/CNT/PPy e linhas de algodão/PPy aplicados como antibacteriano.

### 3. Materiais e métodos

#### 3.1 Produção de lenços antibacterianos

##### 3.1.2 Produção de tolhas de Eudragit® L100 e Eudragit® L100/PEO

Para a produção dos lenços foi necessário, inicialmente, o preparo das soluções poliméricas de Eudragit® L100 e Eudragit® L100/PEO. A solução para o desenvolvimento dos lenços de Eudragit® L100 foi feita dissolvendo 1,2 g de EDGT em 6 mL de álcool etílico. Para os lenços de Eudragit® L100/PEO, 0,75 g do polímero Eudragit® L100 e 0,10 g de polímero PEO foram dissolvidos em uma mistura de 4 mL de etanol e 0,5 mL de água. A solução permaneceu sob agitação por 45 min.

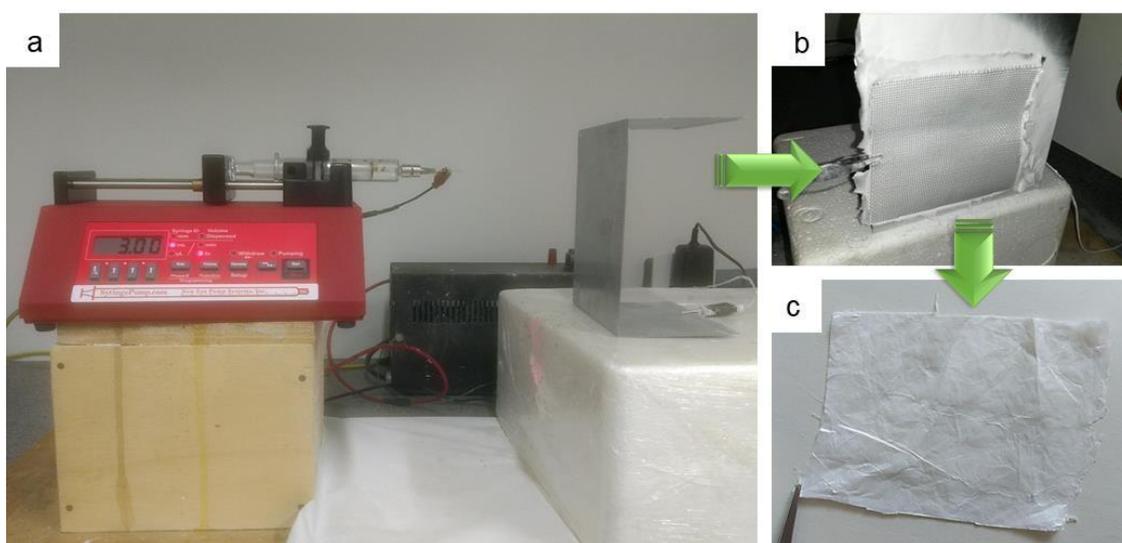
A obtenção dos lenços de EDGT L100 e EDGT L100/PEO, foi possível a partir da técnica de eletrofiação. Os lenços foram obtidos através do acúmulo de nanofibras que são formadas a partir do momento em que uma solução polimérica em uma seringa é ejetada formando uma gota na ponta da agulha. Uma tensão elétrica é aplicada, e no momento em que a força elétrica superar a tensão superficial da gota, essa sofrerá um estiramento em direção a um coletor carregado eletricamente. Durante a trajetória do jato, da ponta da agulha até o coletor, o solvente será evaporado e o polímero solidificado, formando assim nanofibras.

Após a dispersão dos polímeros, as soluções resultantes foram inseridas numa seringa de 5 mL conectada a uma bomba de infusão (Modelo 101 - Kd Científico). Para as fibras de EDGT, a agulha foi conectada a uma fonte de alta tensão de 12 kV gerando um campo elétrico entre a ponta da agulha e o coletor, disposto a 20 cm de distância e um fluxo 10  $\mu$ L/min. A solução foi

preparada a partir da mistura de 3,75 mL de álcool etílico com 1,25 mL de água. Ao solvente (álcool+água) foram dissolvidos 0,15 g de PEO e 0,25 g de EDGT, formando assim uma solução de EDGT/PEO.

Como coletor, foi usado uma placa de metal retangular coberta por uma folha de alumínio. A configuração para a produção de fibras foi disposta horizontalmente para inibir a deposição de gotículas no alvo, como mostrado na Fig. 3.

Fig. 3: Aparato experimental durante a preparação das fibras. (a) Aparelho de eletrofiação em funcionamento (b) coletor (c) fibra produzida.



Fonte: Elaborada pelo autor

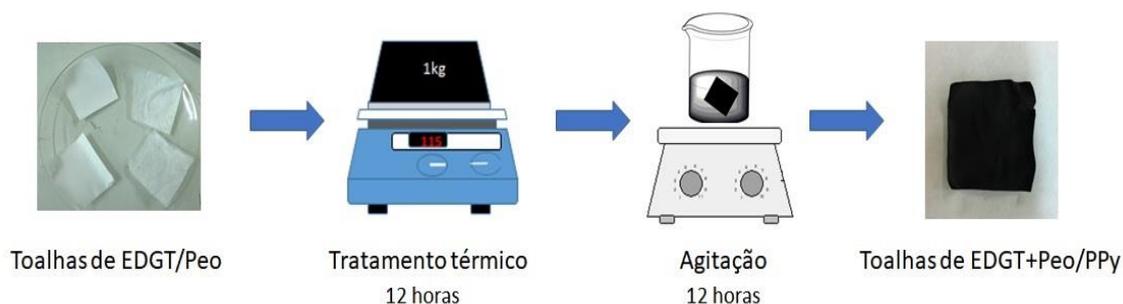
Após o processo de eletrofiação, os lenços foram secos à temperatura ambiente durante 8 h a 1 atm. Ao término da secagem os lenços foram submetidos a um tratamento térmico, onde os mesmos foram fixados entre duas placas de metal e colocados em uma placa aquecedora sob 1 kg a 115 °C durante 12 h.

### 3.1.3 Polimerização dos lenços de Eudragit® L100 e Eudragit® L100/PEO

Após a secagem e o tratamento térmico, os lenços foram cortados numa dimensão de 2,5 cm x 2,5 cm, então deu-se início ao processo de polimerização. Uma solução de HCl (1 M) foi preparada, e em 25 mL dessa solução foram adicionados 35  $\mu$ L de pirrol. Essa mistura ficou, aproximadamente, 10 min sob agitação. Em seguida os lenços de EDGT e EDGT/PEO foram mergulhados, cada uma em recipientes diferentes, e ficaram sob agitação durante 45 min.

Após o tempo de agitação foram preparadas duas soluções oxidantes de  $\text{FeCl}_3$  e APS. Foram dissolvidos 0,082 g em 25 mL de HCl (1 M) e 0,114 g de APS em 25 mL de HCl (1 M). Em seguida as soluções oxidantes foram lentamente gotejadas, durante agitação, nas soluções contendo os lenços de EDGT, EDGT/PEO e o Py. Todos os sistemas continuaram em agitação por mais 12 h. Ao final da polimerização obtivemos lenços de EDGT ( $\text{FeCl}_3$ ), EDGT (APS), EDGT/PEO ( $\text{FeCl}_3$ ) e EDGT/PEO (APS). Esses foram lavados com água destilada e secas a temperatura ambiente. A Fig. 3.1 mostra o processo de polimerização.

Fig. 3.1: Processo de polimerização dos lenços de EDGT/PEO



Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.1.4 Ensaios microbiológicos para os lenços antibacterianos

#### 3.1.4.1 Contagem de colônias

O poder antibacteriana dos lenços produzidos foi determinado através da limpeza na superfície de placas de aço inoxidável (5 cm x 5 cm). As placas foram autoclavadas, lavadas com álcool 70 % e expostas à luz ultravioleta durante 20 min. Com auxílio de uma alça de platina, três a cinco colônias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) foram transferidos para um tubo de ensaio e suspenso em solução salina padronizada a 0,5 na escala McFarland. Após esterilizadas, 100 µL da solução bacteriana foi distribuída, com a ajuda de um swab, sob a superfície da placa de metal. Em seguida o processo de limpeza das bactérias foi realizado com os lenços de EDGT/PPy (FeCl<sub>3</sub>), EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (FeCl<sub>3</sub>) e EDGT/PEO/PPy (APS) passando-as apenas uma vez sobre a superfície contaminada.

Depois de dois min do procedimento de limpeza, carimbos das placas foram realizados sobre a superfície do PCA (Fig. 3.2). As placas carimbadas foram incubadas a 37 °C durante 24 h.

Fig. 3.2: 1. Solução bacteriana de *S. aureus*; 2. Distribuição de *S. aureus* em superfície de metal; 3. Limpeza das placas com lenços antibacterianos; 4 e 5. Carimbo de superfície metálica em meio nutritivo (PCA).

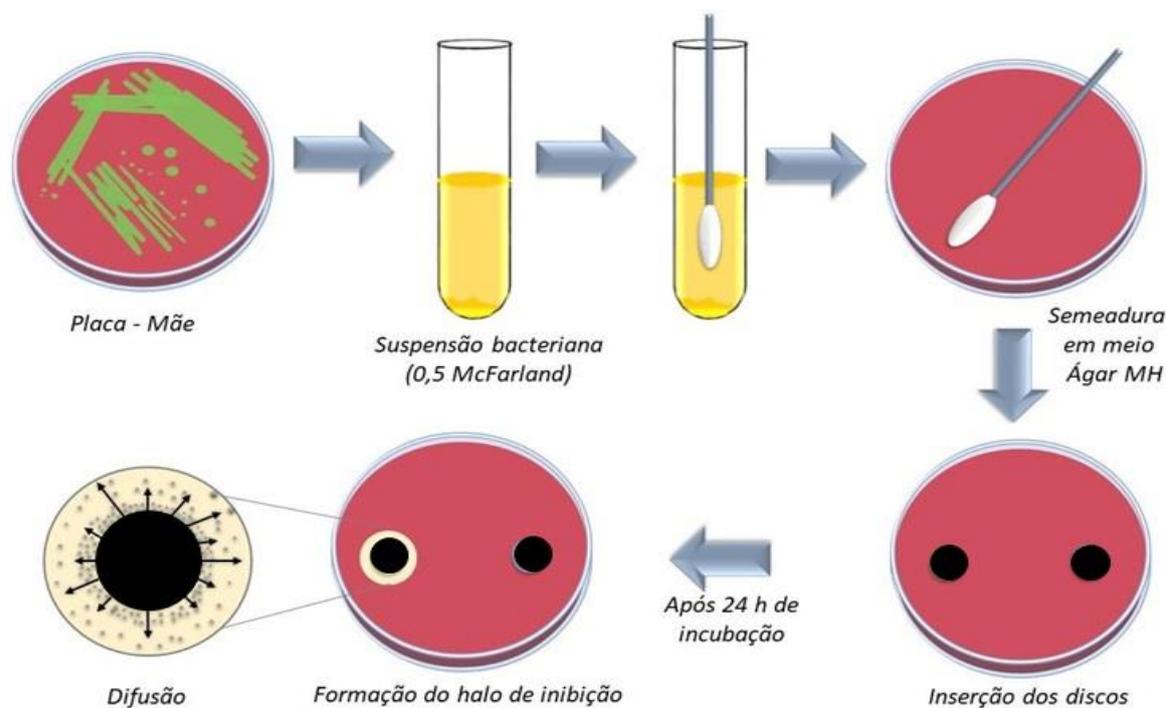


Fonte: Elaborada pelo autor

#### 3.1.4.2 Teste de difusão em ágar

Os testes referentes ao método de difusão em ágar foram realizados seguindo as recomendações da Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2013). O inóculo bacteriano da gram-positiva *S. aureus* (ATCC 25923) foi preparado a partir de uma cultura mantida em ágar a 4 °C. Em seguida uma solução bacteriana de concentração de  $10^8$  foi preparada, e com a ajuda de um swab essa solução foi distribuída em uma placa de petri contendo Ágar Muller Hinton. Ao final do procedimento houve a inserção dos lenços de EDGT/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ), EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ) e EDGT/PEO/PPy (APS) cortadas em forma de discos. Por fim, incubou-se a 37 °C durante 24 h. Tal procedimento é descrito pela ilustração na Fig. 3.3.

Fig. 3.3: Esquema do procedimento experimental do teste de difusão em ágar.



Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.1.5 Caracterização dos lenços

A distribuição de fibras e o nível de cobertura do PPy nas fibras foi explorado a partir de imagens de MEV obtidos de microscopia eletrônica de varredura (Vega 3XM Tescan em aceleração da tensão de 20 kV). A estrutura do material foi caracterizada pelo espectro FTIR (método KBr) utilizando um sistema IR-Prestige 21 Shimadzu. A Impedância de fibras foi caracterizada na frequência faixa de 100 Hz a 1 MHz usando um potenciostato/galvanostato Metrohm Autolab AUT302N e um porta-amostra Solartron 12962.

## 3.2 Desenvolvimento de sensores de movimento

### 3.2.1 Preparação das amostras de poliuretano (PU) e deposição de nanotubos de carbono (CNT)

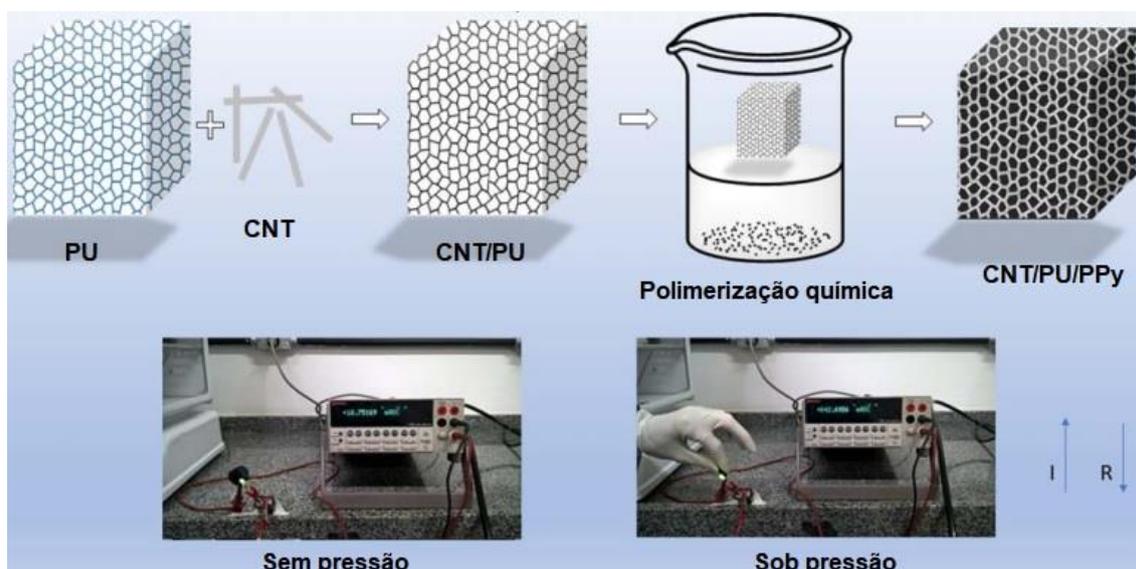
Esponjas comerciais de poliuretano foram cortadas em dimensões de 7 cm x 2 cm x 0,5 cm. Em seguida foram lavadas no sonicador com água e com álcool etílico durante 15 min (esse processo foi repetido por três vezes). Após a lavagem, as esponjas estavam prontas para receber os nanotubos de carbono. Para o preparo da solução de CNT, 0,2 g de nanotubos de carbono e 2 g de dodecilbenzenosulfonato de sódio (SDBS) foram solubilizados em 200 mL de água descrita por Xie et al. (XIE et al., 2012). Essa mistura foi sonicada até a total solubilização dos solutos, aproximadamente 35 min.

Após preparada a solução de CNT, as esponjas foram imersas e levadas ao sonicador por 15 min. Após sonicadas, foram secas na estufa (90 °C) e depois lavadas com água destiladas. Esse procedimento foi repetido por cinco vezes para que houvesse a total deposição de nanotubos na matriz de poliuretano. Ao final do procedimento as esponjas foram secas a temperatura ambiente. Esse procedimento é mostrado na Fig. 3.4.

### 3.2.2 Deposição de polipirrol em esponjas de PU e PU/CNT

A polimerização nas esponjas de PU e PU/CNT com PPy foi feita análoga ao procedimento 3.1.3 deste capítulo, porém utilizamos como oxidante do PPy apenas o  $\text{FeCl}_3$ , e o tempo de síntese foi de 24 h. Passado o tempo, as esponjas foram lavadas com água destilada e secas a temperatura ambiente. Por fim, obtivemos duas amostras polimerizadas, PU/PPy e PU/CNT/PPy. O processo geral de incorporação de nanotubos de carbono e polimerização química na esponja de poliuretano é mostrado na Fig. 3.5. A influência da pressão na resposta elétrica é ilustrada a partir de um circuito contendo uma bateria conectada a um sensor PPy/CNT/PU e um LED. Na ausência de esforço mecânico, a corrente é limitada em 18,7 mA. Sob pressão, seu valor é de 42,1 mA, revelando a baixa resistência do sensor.

Fig. 3.5. Vista esquemática da incorporação de CNTs, polimerização de PPy em esponja PU e princípio de atuação do dispositivo sob pressão.



Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.2.3 Ensaios de detecção de movimentos corporais

Os ensaios de detecção dos movimentos do corpo foram realizados pela montagem das amostras (PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy) de 7 cm x 2 cm x 0,5 cm em diferentes articulações do corpo (cotovelo, joelho e dedo) (Fig. 3.6) de um dos membros de nosso grupo de pesquisa. As garras ligadas em um multímetro foram fixadas nas extremidades das amostras, separadas por uma distância de 7 cm, para medição da variação da resistência de acordo com as flexões feitas por cada parte do corpo.

Fig. 3.6: Fixação de espumas de PU em partes do corpo



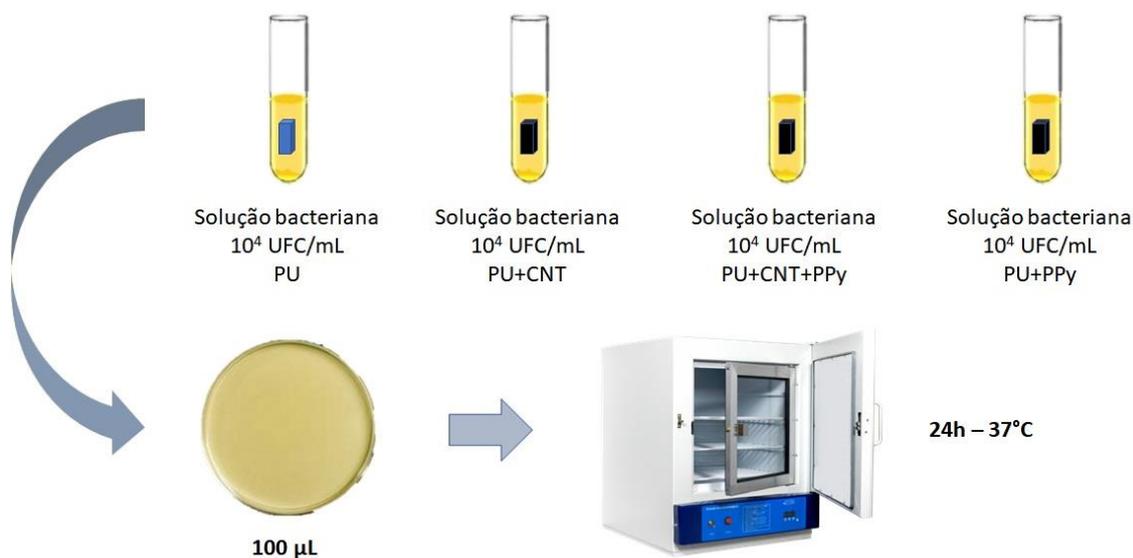
Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.2.4 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS PARA SENSORES DE MOVIMENTO

#### 3.2.4.1 CONTAGEM DE COLÔNIAS

A primeira forma de determinar a ação antimicrobiana das esponjas de PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy foi adicionando um pedaço de cada material de dimensões 7 cm x 2 cm x 0,5 cm em diferentes tubos de ensaios contendo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 1388) e *Escherichia coli* (ATCC 25992) com concentração de  $10^4$  UFC. As amostras ficaram imersas em nove tubos de ensaio, sendo as três amostras mergulhadas nas três soluções bacteriana. Após o contato durante 6 h, foram coletados 100  $\mu$ L e transferidos para placas de petri contendo PCA. As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h. O procedimento descrito é resumido na Fig. 3.7.

Fig. 3.7 Determinação do tempo de morte para as esponjas de PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy



Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.2.4.2 Difusão em ágar

Outra forma de determinar a ação antibacteriana dos sensores de pressão é utilizar o teste de difusão em ágar. Esse foi realizado de maneira análoga ao procedimento 3.1.4.2. Após a distribuição da solução bacteriana no meio contido em placas de petri, discos de PU/CNT, PU/PPy e PU/CNT/PPy foram adicionados as placas, e essas foram incubadas a 37 °C durante 24 h.

### 3.2.5 Caracterização das amostras de PU/CNT, PU/PPY e PU/CNT/PPY

Todas as imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram adquiridas usando um microscópio eletrônico de varredura (Vega 3XM Tescan). Espectros Raman foram obtidos com um LabRAM HR Evolution (Horiba Jobin Yvon, França), com excitação a 532 nm. A resposta elétrica dos sensores piezoresistivos foi caracterizada de duas pontas utilizando um multímetro Minipa ET-2402A. Os ensaios de compressão foram realizados em uma máquina universal eletromecânica EMIC modelo DL 10000 (Brasil) que forneceu pressão

compressiva para os compósitos sob teste. As curvas de corrente-tensão foram realizadas utilizando uma fonte de alimentação CC HY3003-3 (Polyterm) e um multímetro ET-2402A (Minipa) em uma configuração de dois pontos em que amostras modificadas de PU de 2 cm foram dispostas entre dois terminais de uma fonte de energia em série com um amperímetro. Um voltímetro foi colocado em paralelo com a configuração experimental para aquisição de dados I–V.

### 3.3 Fibras de algodão com ação antibacteriana

Para a preparação das fibras com ação antibacteriana, foram escolhidas fibras de algodão como matriz para a deposição dos materiais que lhes conferem tal característica. O início do processo se deu através do revestimento da fibra com nanotubos de carbono, esse procedimento é análogo à deposição de CNT nas espumas de PU (3.3.1). Após o revestimento com CNT, as fibras, agora de CNT/Algodão, foram lavadas com água e secas a temperatura ambiente.

Para conferir o poder antibacteriano das fibras algodão e CNT/Algodão, utilizou-se a polimerização *in situ* e a polimerização interfacial, dopando as fibras com PPy.

A polimerização *in situ* foi realizada de maneira análoga ao procedimento 3.2.2.

A polimerização interfacial é iniciada preparando duas soluções distintas. Na solução 1, 0,251 g de ácido canforsulfônico (ACS) foram dissolvidos em 3 mL de água ultrapura. Em seguida 0,175 g de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foram adicionados a solução de ACS, essa mistura ficou sob agitação e a 40°C durante 40 min para garantir a total solubilização do  $\text{FeCl}_3$ . Percorrido o tempo de 40 min, as soluções foram esfriadas a temperatura ambiente, e a elas foram adicionadas as fibras puras de algodão e CNT/Algodão (em béqueres distintos), em seguida, resfriada até a sua solidificação.

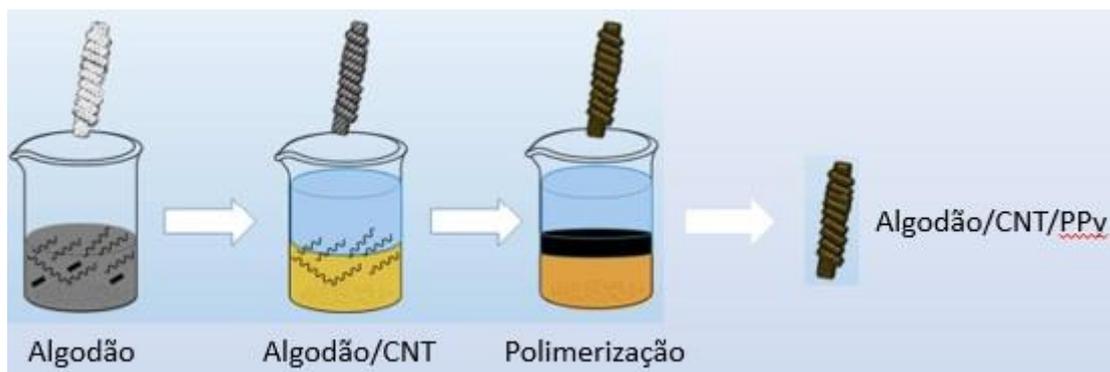
A solução 2 foi preparada adicionando 50  $\mu\text{L}$  de pirrol em 3 mL de hexano ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ). Essa solução foi resfriada até 3 °C.

Após o resfriamento das soluções 1 e 2, a segunda solução foi gotejada lentamente na primeira solução e levadas a uma temperatura de 3 °C durante 3 h. Após esse tempo as fibras foram lavadas com água destilada e secas a

temperatura ambiente. O procedimento mencionado é resumido na Fig. 3.8 logo abaixo.

Ao final das duas polimerizações (*in situ* e interfacial) obteve-se amostras de algodão/PPy, algodão/CNT/PPy, algodão/I-PPy e algodão/CNT/I-PPy.

Fig. 3.8: Polimerização das fibras de algodão



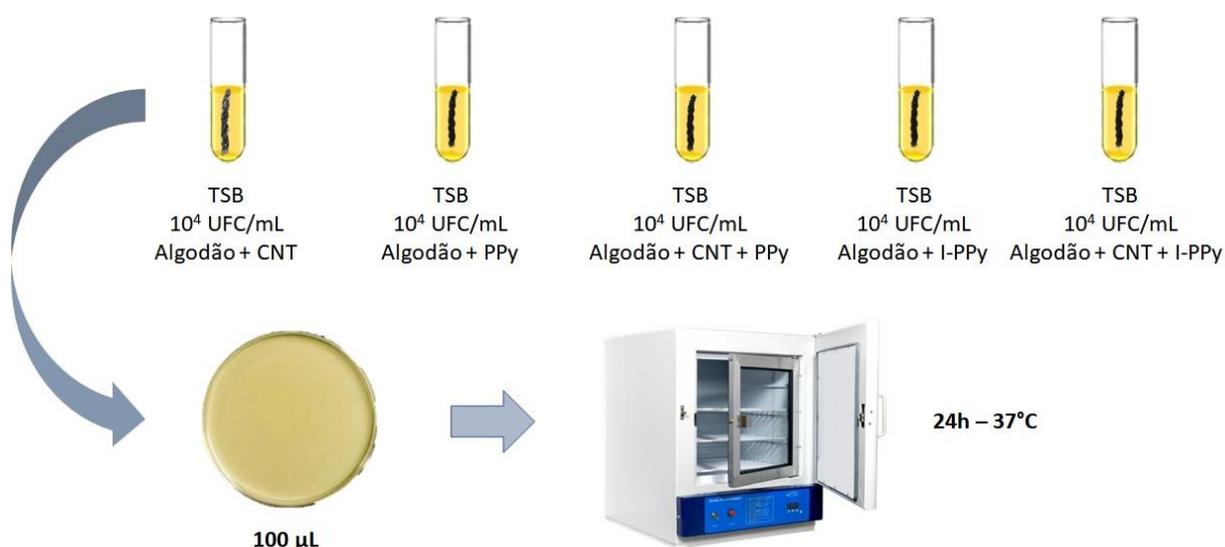
Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.3.1 Ensaio microbiológicos para fibras de algodão com ação antibacteriana

### 3.3.2 Contagem de colônias

Após a produção de fibras de algodão/CNT, algodão/PPy, algodão/CNT/PPy, algodão/I-PPy e algodão/CNT/I-PPy pedaços de 5 cm foram cortados e mergulhados em tubos de ensaio contendo uma solução bacteriana de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) com concentração  $10^4$  UFC. Os tubos ficaram sob agitação durante 4h para a determinação do tempo de morte. Passado o respectivo tempo, alíquotas de 100  $\mu$ L foram retiradas de cada tudo e colocadas em placas de petri contendo o meio necessário para o crescimento das colônias. As placas foram levadas a estufa (37 °C) e permaneceram durante 24 h, Fig. 3.9.

Fig. 3.9 Determinação do tempo de morte para as linhas de algodão/CNT, algodão/PPy, algodão/CNT/PPy, algodão/I-PPy e algodão/CNT/I-PPy



Fonte: Elaborada pelo autor

### 3.3.3 Difusão em ágar

A técnica de disco-difusão foi realizada unindo as extremidades das linhas de algodão/CNT, algodão/PPy, algodão/CNT/PPy, algodão/I-PPy e algodão/CNT/I-PPy, sob forma de discos. Esses foram colocados em placas de petri contendo *S. aureus* distribuídos em MH ágar (metodologia análoga ao procedimento 3.5.2.2). Ao final as placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h.

### 3.4 Técnicas de caracterização para as fibras de algodão

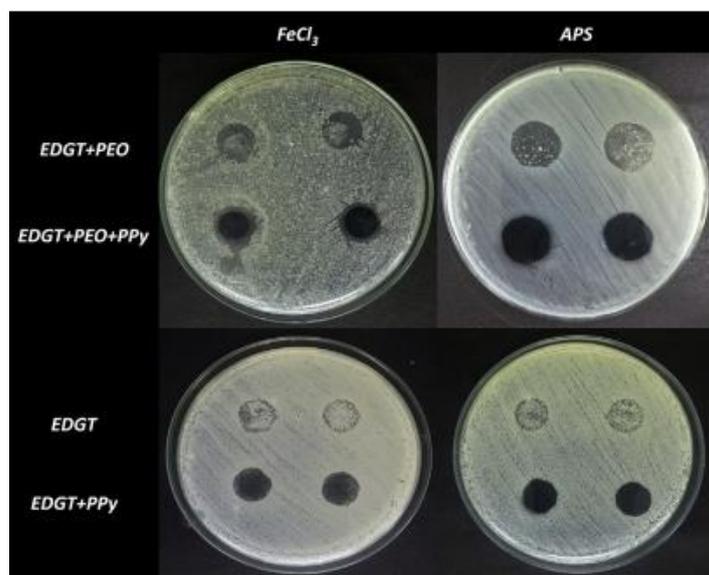
Micrografias foram adquiridas por microscopia eletrônica de varredura (Vega 3XM Tescan a uma tensão de aceleração de 5 kV) com deposição de uma fina camada de ouro na superfície das fibras e espectros Raman foram realizados em um espectrômetro Raman (Labram Aramis-Horiba Jobin Yvon) na faixa de  $500\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$  com excitação a 532 nm de um laser He-Ne.

### 3.5 Resultados e discussão

#### 3.5.1 Atividade antibacteriana para os lenços

A Fig. 3.10 mostra a zona de inibição de *S. aureus* para diferentes lenços, identificados por legendas (à esquerda e ao topo). As amostras foram testadas em duplicata (cada linha horizontal em uma placa de Petri caracterizou a repetição do experimento correspondente). Como podemos ver, a comparação de fibras carregadas com PPy e fibras puras revela que a introdução de polipirrol nos lenços afeta a integridade do material, que permanece intacto durante o experimento, retornando à atividade antibacteriana (como visualizado pela leve zona de inibição ao redor dos discos). Discos de EDGT e EDGT/PEO são degradados em meio TSA e (observa-se o desenvolvimento de bactérias no meio residual na superfície das fibras, confirmando que a atividade antibacteriana pode ser atribuída ao polipirrol, preparada usando ambos, APS e FeCl<sub>3</sub>). Em geral, a atividade antibacteriana do PPy está associada à redução da difusão do material ativo para a superfície (processo visualizado a partir da redução do halo de inibição devido à forte interação química estabelecida entre o polipirrol e a matriz de sustentação), caracterizando uma vantagem em termos de dispersão do agente antibacteriana.

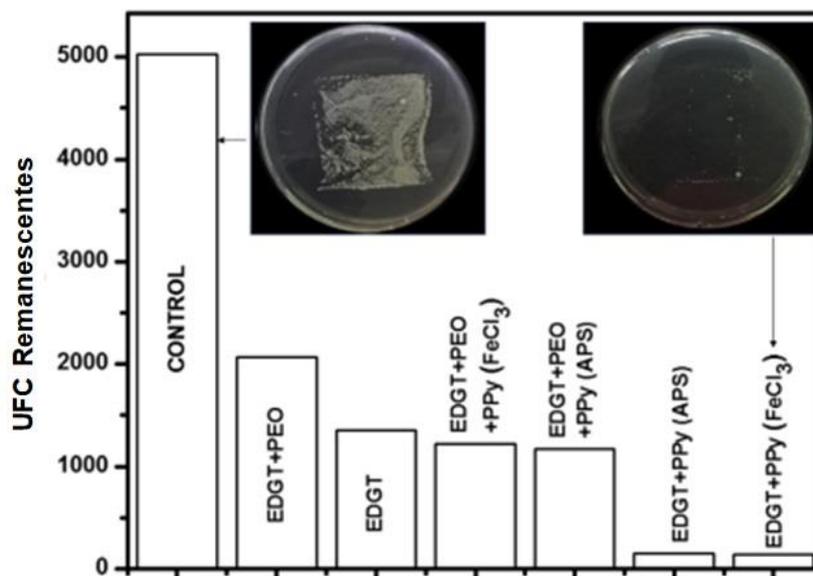
Fig. 3.10. Halos de inibição formados pelos lenços de EDGT, EDGT/PEO, EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (FeCl<sub>3</sub>) e EDGT/PPy (FeCl<sub>3</sub>).



Fonte: Elaborada pelo autor

A análise quantitativa da atividade antibacteriana de diferentes lenços foi realizada a partir do procedimento de limpeza em superfície de aço inoxidável seguido de carimbos direto da superfície em placas de ágar para posterior determinação de UFC. A imagem da Fig. 3.11 revelam a UFC restante em duas condições extremas (um experimento de controle e nenhuma limpeza em comparação com o efeito da limpeza de lenços no número final de bactérias na superfície contaminada). Os dados da Fig. 3.11 confirmam a eficiência de diferentes toalhetes em termos de UFC remanescente após o procedimento de limpeza na superfície de teste.

Fig. 3.11. Colônias de *S. aureus* remanescentes em meio de cultura após a limpeza de placas de metal com diferentes lenços.



Fonte: Elaborada pelo autor

Como esperado, foram incontáveis o número de bactérias no experimento de controle. Após o uso das toalhas puras (EDGT e EDGT/PEO) uma ligeira redução de *S. auerus* é verificada, e uma eficiência ainda maior na limpeza das placas é claramente identificada após o uso dos lenços revestidas com PPy. Foi observado que as amostras de EDGT/PEO/PPy reduz o número de bactérias em comparação com EDGT/PEO enquanto EDGT/PPy reduz a UFC restante quando comparado com os lenços de EDGT puro. O sistema mais eficaz (EDGT/PPy (FeCl<sub>3</sub>)) na remoção bacteriana resultou de uma taxa de polimerização mais regular, na qual a interação EDGT/PPy reduz a zona de inibição e otimiza a ação local do polipirrol, caracterizando esta toalha altamente condutora como um potencial inteligente para aplicação biológica.

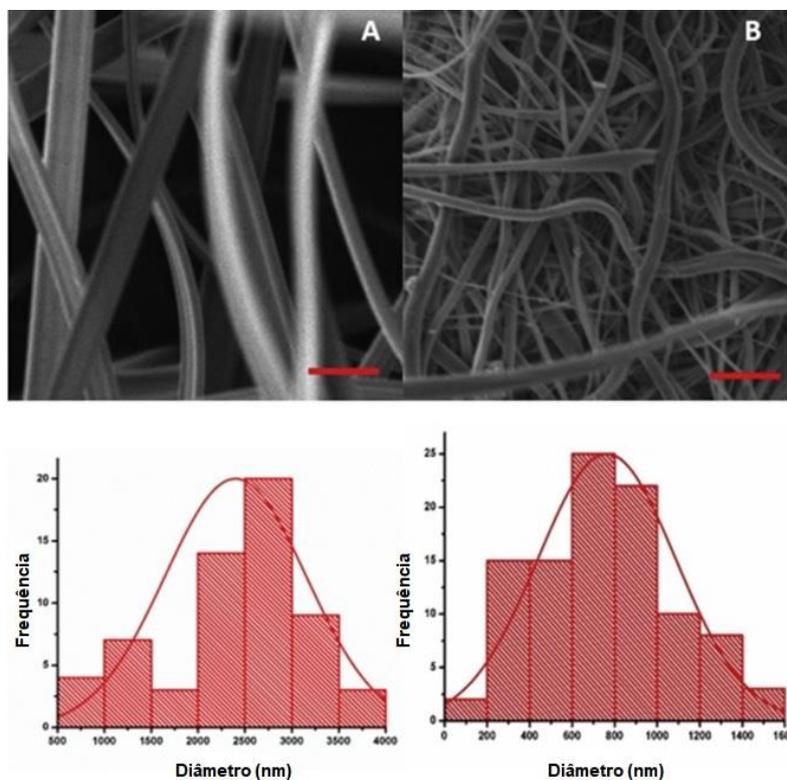
### 3.5.2 Morfologia e análise estrutural dos lenços

O Eudragit L-100 é um copolímero versátil que possui porções de ácido metacrílico em um mar de monômero de metacrilato. Este ácido metacrílico fornece uma carga superficial aniônica rica e possibilita a formação de complexos com moléculas catiônicas ou macromoléculas como polímeros condutores. Baseando-se nessa informação, preparamos fibras eletrofiadas de EDGT puro e, em seguida, fibras de EDGT/PEO para melhorar a estabilidade

das membranas. As fibras resultantes de EDGT são mostradas na micrografia (3.12a), confirmando que uma concentração de 20% p/v proporciona os enredamentos de polímero sem defeitos. No entanto, as fibras exibem uma estrutura em forma de fita devido à rápida evaporação do solvente à medida que a fibra formada atinge o coletor (Koombhongse S I., 2001).

Estas amostras de EDGT puras (Fig. 3.12a) são caracterizadas pela distribuição regular de fibras poliméricas planas sem pérolas ao longo da estrutura e diâmetro de  $(2,40 \pm 0,75)$  mm. Entre outras características das fibras EDGT, pode-se observar que elas não tem interligação entre si, isso dá às esteiras de EDGT uma estrutura parecida com um algodão-doce, onde ao pegá-las tendem a se desgastar. Para manipula-las adequadamente (corte, dobra, etc.), as fibras de EDGT foram aquecidas sob uma pressão de  $10 \text{ N/cm}^2$  por 12 h a  $115 \text{ }^\circ\text{C}$ . As fibras EDGT/PEO (como mostrado na Fig. 3.12b) são caracterizadas como uma estrutura mais complexa de fibras tubulares na qual é possível identificar grupos de fibras com duas distribuições distintas de diâmetros  $(0,76 \pm 0,32)$  mm. Vale ressaltar que a incorporação de PEO em solução reduz o diâmetro das fibras em comparação com as fibras puras de EDGT, como resultado da interação entre os polímeros (ligação de H estabelecida entre os componentes) (Xiang F. et al., 2015) (Grkovic M. et al., 2017). A incorporação de PEO no EDGT reduz o diâmetro e melhora suas propriedades mecânicas, neste caso, nenhum pós-tratamento térmico é necessário. Esta melhoria mecânica pode ser atribuída à interação de PEO com EDGT que ajuda a criar interligações entre as fibras como consequência da ligação de hidrogênio entre o oxigênio do PEO e o grupo carboxila do EDGT (Xiang F. et al., 2015).

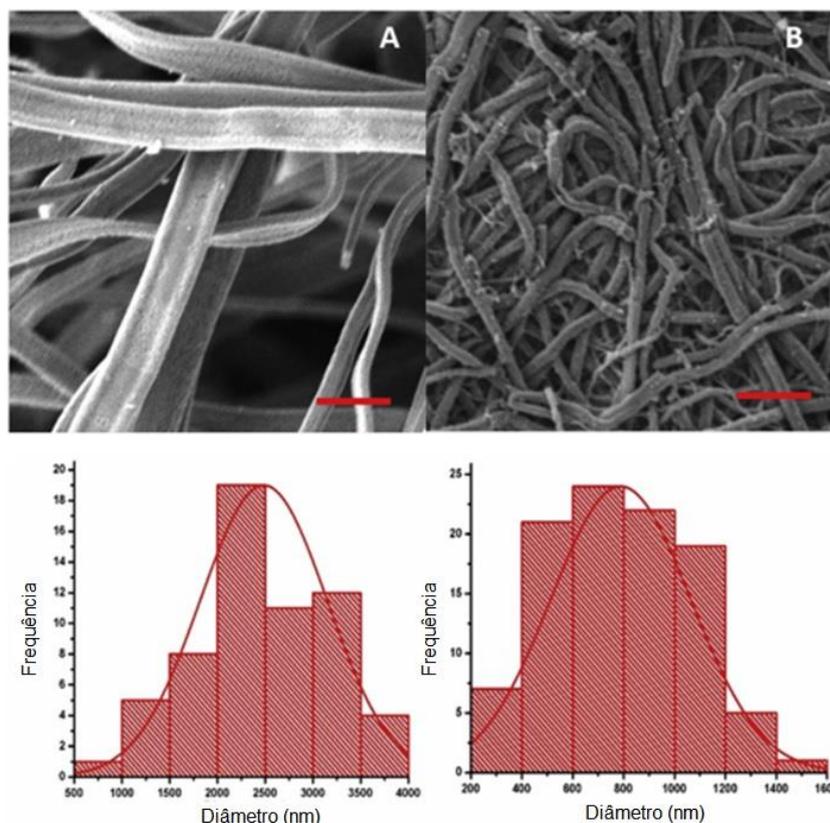
Fig. 3.12. Imagens do MEV de fibras de EDGT puro (A) e fibras EDGT/PEO (B) com histograma correspondente a distribuição de tamanho abaixo de cada Fig. (barra de escala de 5  $\mu\text{m}$  em todas as imagens).



Fonte: Elaborada pelo autor

Uma vez que os lenços eletrofiados foram desenvolvidas e caracterizadas, as modificamos através da polimerização química *in situ* do pirrol. Diferentemente de outros trabalhos, os lenços de EDGT e EDGT/PEO não requerem condicionamento físico (plasma de ar, exposição UV, entre outros) ou tratamentos químicos (sulfonação) para incorporar os polímeros condutores (Alcaraz-Espinoza JJ. et al., 2015) (Müller K. et al., 2006), devido à presença de grupos carboxílicos ao longo da superfície das fibras que fornecem uma alta energia superficial. A incorporação do PPy nos dois diferentes lenços (EDGT e EDGT/PEO) exibiram uma forte dependência com a natureza do oxidante e da matriz. Na Fig. 3.13a pode-se observar que a polimerização de PPy com o  $\text{FeCl}_3$  foi mais uniforme cobrindo toda a superfície dos lenços de EDGT.

Fig. 3.13. Imagens do MEV de fibras de EDGT/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ) (A) e EDGT/PEO/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ) (B) com histograma correspondente de distribuição de tamanho abaixo de cada Fig. (barra de escala de 5  $\mu\text{m}$  em todas as imagens).

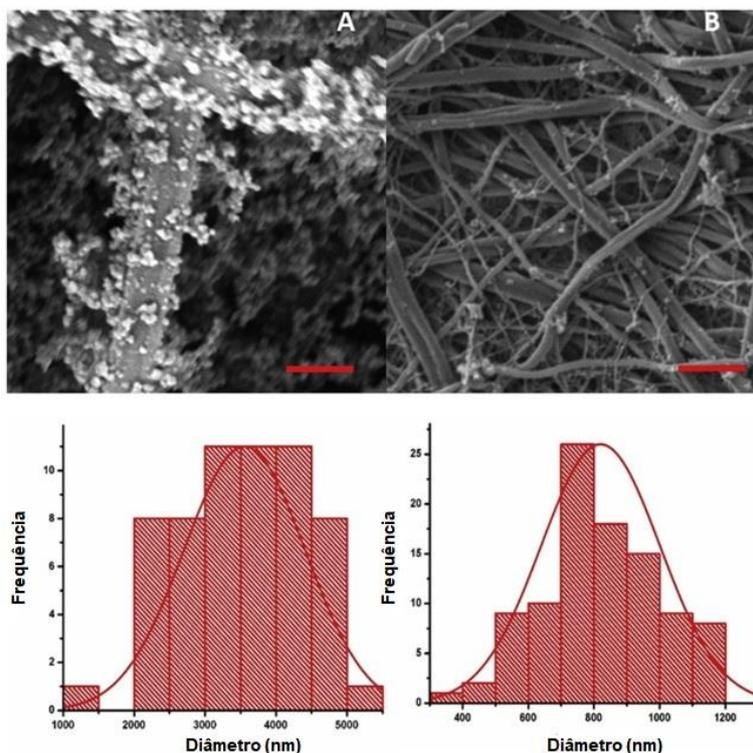


Fonte: Elaborada pelo autor

Por outro lado, as fibras de EDGT polimerizadas com APS exibiram uma alta taxa de polimerização e um crescimento desordenado induzido pelo APS que favorece o crescimento subsequente de grãos ao longo da amostra (Fig. 3.14a). Como resultado, o diâmetro das fibras cobertas por PPy usando APS como oxidante foi da ordem de  $(3,57 \pm 0,86)$  mm enquanto  $\text{FeCl}_3$  resultou em fibras cobertas mais homogêneas com diâmetro de  $(2,48 \pm 0,66)$  mm. O fenômeno anterior também foi observado para as fibras EDGT/PEO, mas não de maneira tão expressiva para as com APS. Neste caso, as fibras EDGT/PEO polimerizadas com  $\text{FeCl}_3$  experimentaram uma pequena variação no diâmetro  $(0,83 \pm 0,19)$  mm (ver Fig. 3.14b) enquanto as fibras com APS retornaram o

diâmetro de  $(0,79 \pm 0,27)$  mm (mostrado na Fig. 3.14b), caracterizando um processo não homogêneo de cobertura de polipirrol estabelecido pelo APS.

Fig. 3.14. Imagens do MEV de fibras de EDGT/PPy (APS) (A) e EDGT/PEO/PPy (APS) (B) com histograma correspondente de distribuição de tamanho abaixo de cada Fig. (barra de escala de 5  $\mu\text{m}$  em todas as imagens).



Fonte: Elaborada pelo autor

A estrutura de fibras puras (EDGT e EDGT/PEO) e estruturas cobertas com PPy foi representada a partir do espectro de FTIR (mostrado na Fig. 3.15).

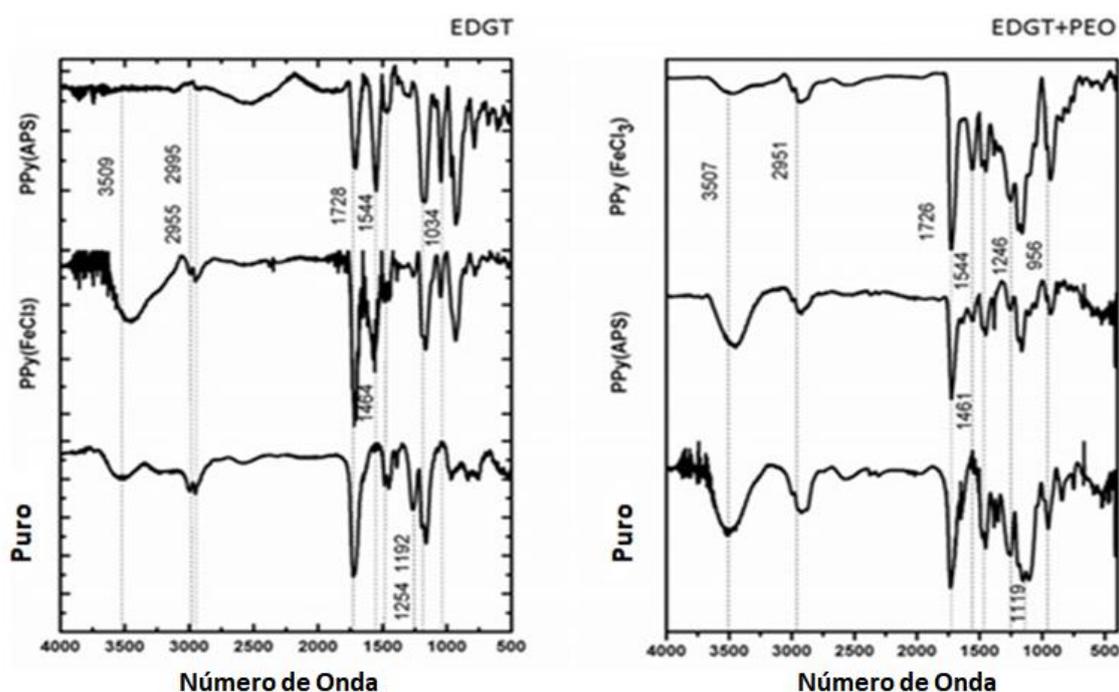
Em relação aos grupos característicos de EDGT nas fibras, é possível identificar picos a  $3509\text{ cm}^{-1}$  (atribuído à forma livre de ácido carboxílico),  $2995$  e  $2955\text{ cm}^{-1}$  (vibração CHx),  $1728\text{ cm}^{-1}$  (vibração fortes de éster carboxílico) e vibrações de éster a  $1254$  e  $1192\text{ cm}^{-1}$  (banda de estiramento de CO para éster e ácido carboxílico) (Gonzalez M. et al., 2018) (Lin SY. et al., 1995).

Os modos de vibração de alongamento de -C-O-C- a  $1119\text{ cm}^{-1}$  e vibração de alongamento OH a  $3507\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídos à estrutura de PEO na

fibra EDGT/PEO caracterizando uma superposição de picos de PEO e EDGT como mostrado na Fig. 3.15 (Zaroni M. et al., 2008).

No que diz respeito à assinatura de polipirrol em fibras eletrofiadas, foram detectados picos característicos de polímero condutor a  $1544\text{ cm}^{-1}$  (vibração de estiramento C=C),  $1464$  e  $1192\text{ cm}^{-1}$  (vibração de estiramento C-N),  $1034\text{ cm}^{-1}$  (C-H em vibração plana) e dobra C=C do anel pirrol a  $956\text{ cm}^{-1}$  (ver Fig. 3.15) (DA SILVA., 2016).

Fig. 3.15. Espectros de FTIR de EDGT/PPy (APS), EDG/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ) e EDGT puro (esquerda) e espectros de FTIR de EDGT/PEO/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ), EDGT/PEO/PPy (APS) e EDGT puro e PEO (direita).



Fonte: Elaborada pelo autor

Conforme relatado na literatura (Qi GJ., 2012), a razão entre a área (na absorção do espectro de FTIR) do modo de alongamento antissimétrico do anel de polipirrol ( $1544\text{ cm}^{-1}$ ) e o modo simétrico (a  $1464\text{ cm}^{-1}$ ) reflete o grau de conjugação. O comprimento da conjugação diminui com o aumento ( $A_{1544}/A_{1464}$ ) (menor  $A_{1544}/A_{1464}$  os valores correspondem ao nível de condutividade mais elevado da camada de polipirrol). Foram verificados valores de  $A_{1544}/A_{1464} = 2,66$  e  $1,78$  para amostras preparadas usando APS como oxidante (EDGT/PPy e

EDGT/PEO/PPy, respectivamente). Valores correspondentes de 1,187 e 1,134 foram obtidos para amostras preparadas com  $\text{FeCl}_3$  (EDGT/PPy e EDGT/PEO/PPy), indicando que o cloreto férrico favorece valores mais altos de comprimento de conjugação. Devido à relação direta entre o comprimento de conjugação e o nível de condutividade, é possível inferir que o  $\text{FeCl}_3$  otimiza o transporte elétrico nas fibras resultantes em comparação com o APS.

### 3.5.3 Caracterização elétrica

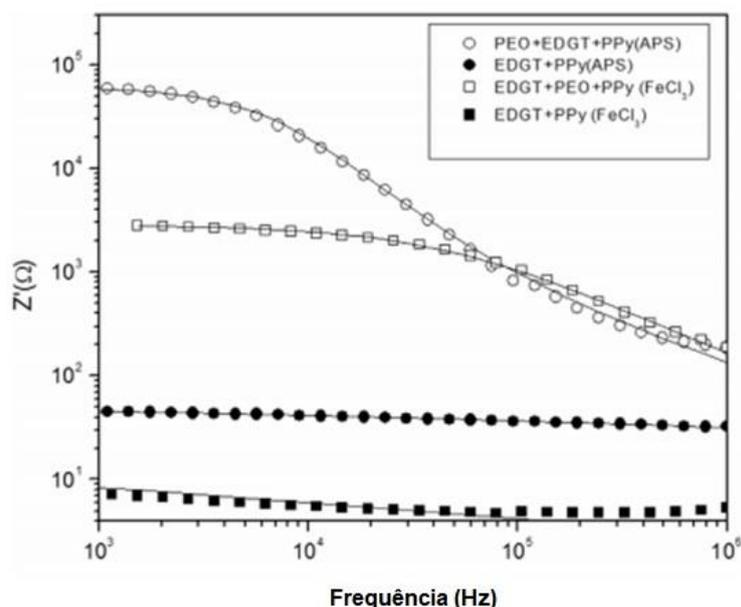
O potencial de oxidação do  $\text{FeCl}_3$  (menor do que o correspondente ao APS) associado à redução da taxa de polimerização tende a favorecer os mecanismos de transporte intra acinares / inter-cadeias do polipirrol. Em termos de transporte intra-cadeias, o comprimento da conjugação desempenha um papel fundamental no nível de impedância dos filmes poliméricos (Qi GJ., 2012).

O efeito correspondente pode ser medido por impedância elétrica por comparação direta da parte real da impedância de diferentes amostras, caracterizando o grau de distribuição das cadeias poliméricas condutoras (superfície e granel) na estrutura.

A impedância média ao longo do sentido transversal dos lenços resultantes demonstra um nível extremamente alto de impedância para fibras puras (EDGT e EDGT/PEO) - parte real da impedância ( $Z'$ ) na ordem de  $10^8 \Omega$ , como esperado.

A polimerização do polipirrol em fibras eletrofiadas resulta em forte variação no nível de impedância. Como mostrado na Fig. 3.16, as fibras de EDGT/PEO/PPy (APS) retornam a impedância  $Z'$  na ordem de 60 k $\Omega$  (no limite de baixa frequência) enquanto a impedância de EDGT/PEO/PPy ( $\text{FeCl}_3$ ) é reduzida para valores em ordem de 3 k $\Omega$ .

Fig. 3.16. Espectro de impedância das fibras de EDGT/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (APS), EDGT/PEO/PPy (FeCl<sub>3</sub>) e EDGT/PPy (FeCl<sub>3</sub>).



Fonte: Elaborada pelo autor

Em comparação com fibras EDGT, é possível identificar que o nível mais baixo de impedância na região de baixa frequência é verificado para amostras de EDGT/PPy (FeCl<sub>3</sub>) e 7 Ω seguido de EDGT/PPy (APS) é da ordem de 50 Ω. Esta ordem está de acordo com os resultados relatados anteriormente pelos espectros de FTIR e morfologia (imagens no MEV). A alta condutividade de amostras preparadas com FeCl<sub>3</sub> tem sido associada a baixa taxa de polimerização e perfil de cobertura polimérica superior com baixo nível de agregação de grãos poliméricos observados em ambos os suportes (EDGT e EDGT/PEO) em associação com maior comprimento de conjugação.

A comparação do nível de impedância de amostras preparadas usando condições correspondentes e diferentes suportes poliméricos ( $Z_{EDGT/PEO} > Z_{EDGT}$ ) pode ser justificada pela interação ligação de H estabelecida entre PEO e EDGT. Ele reduz os locais disponíveis (COO<sup>-</sup>) para ligação química com PPy, que também age como um dopante, contribuindo para reduzir a variação na impedância do EDGT/PEO em comparação com a matriz de EDGT pura. Estes resultados são confirmados tanto pelo espectro FTIR quanto pela forte redução no diâmetro das fibras, conforme detectado nas imagens do MEV.

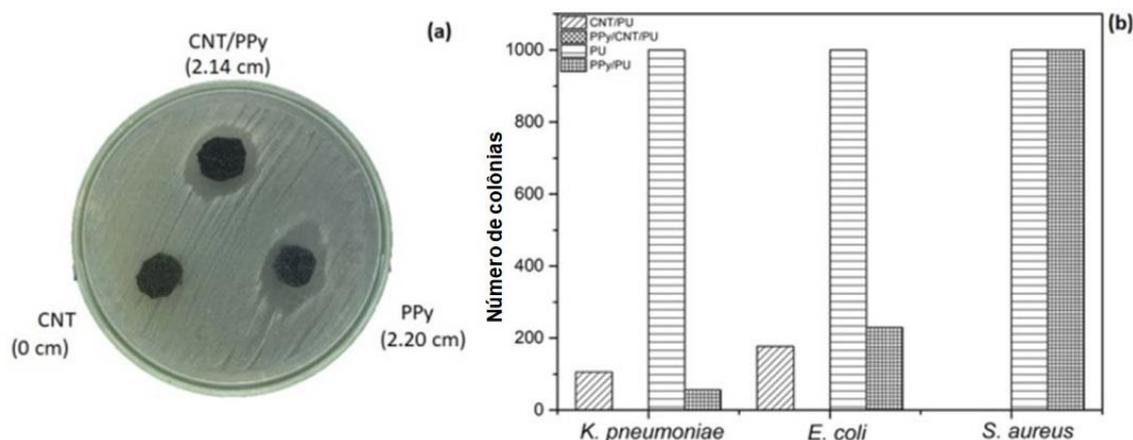
### 3.5.4 Atividade antibacteriana das esponjas de PU/CNT, PU/PPY e PU/CNT/PPY

A atividade sinérgica estabelecida entre PPy e CNTs favorece não apenas a aplicação como dispositivos piezorresistivos, mas oferece uma plataforma importante para o uso como protótipo de curativo. Trabalhos anteriores explorados em nosso grupo revelaram a atividade do PPy como importante agente antibacteriano (LEE, J. et al., 2006) (LI, M. et al., 2013). A incorporação desses materiais em uma superfície altamente porosa potencializa o efeito antibacteriano, permitindo que a detecção de movimento pode estar associada ao tratamento de feridas.

A técnica de disco difusão indica o efeito do crescimento dos microorganismos, enquanto a técnica de diluição seriada oferece informações do potencial antibacteriano. Na Fig. 3.17 (a), pode-se observar que as amostras PPy/PU e PPy/CNT/PU apresentaram halo de inibição de 2,20 e 2,14 cm, respectivamente. Enquanto a esponja CNT/PU apresenta halo de inibição desprezível. Estes resultados confirmam que espécies difusivas presentes no polipirrol contribuem para a forte atividade antibacteriana de amostras à base de PPy contra *S. aureus*.

A comparação de colônias viáveis sob a ação de compósitos (como agentes antibacterianos) [Fig. 3.17 (b)] revela que o poliuretano (PU) puro apresenta atividade insignificante contra bactérias (colônias incontáveis em ágar). A atividade de componentes isolados (CNT/PU e PPy/PU) reduz o número de colônias nos meios, enquanto os resultados mais expressivos dizem respeito à atividade do compósito PPy/CNT/PU: colônias remanescentes desprezíveis de *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*.

Fig. 3.17. Halo de inibição de colônias de *S. aureus* sob ação de compósitos (a) e número remanescente de colônias após interação de compósitos com solução salina de *E. coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae* (b).



Fonte: Elaborada pelo autor

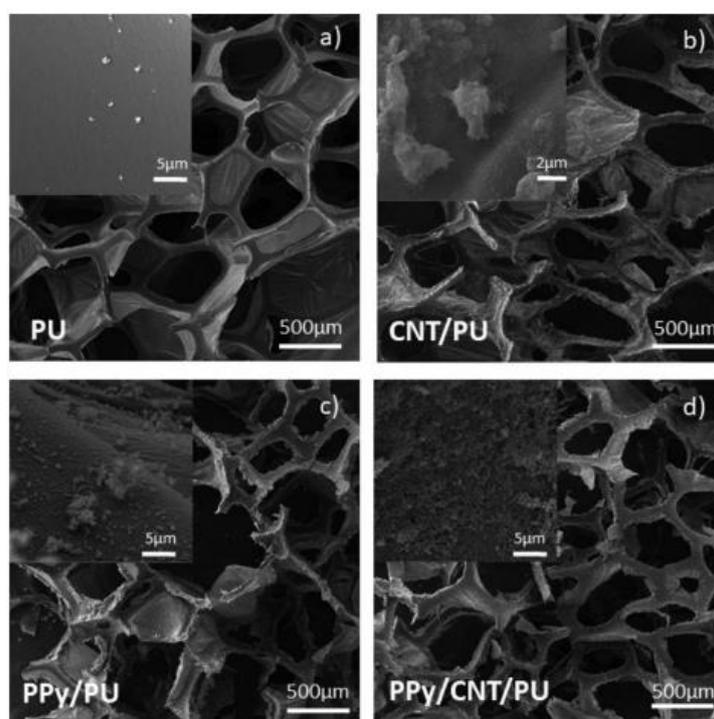
A atividade antibacteriana dos compósitos pode ser explicada pela difusão de espécies aniônicas ( $\text{Cl}_2$ ) e pelo nitrogênio ativo de PPy que atuam de maneira semelhante aos sais quaternários de amônio (VARESANO et al., 2009) e aminas, rompendo a parede celular. Este comportamento mostrou-se mais eficaz contra bactérias gram-negativas (*E. coli* e *K. pneumoniae*); no entanto, a desvantagem é superada pela presença de NTCs que contribuem com a lise das paredes microbianas e da membrana bacteriana do microrganismo (CHEN et al., 2013). Desse modo, os compósitos propostos demonstraram a vantagem sinérgica dos componentes que tiveram um efeito benéfico para a atividade antibacteriana em microrganismos associados a doenças de pele, respiratórias e intestinais, representando uma vantagem adicional na produção de dispositivos vestíveis multifuncionais.

### 3.5.5 Morfologia e análise estrutural das esponjas

A esponja de poliuretano possui estrutura microporosa com abundância de cavidades para adesão dos preenchedores, permitindo que a flexibilidade típica do elastômero possa estar associada às propriedades intrínsecas dos materiais

incorporados. Imagens do MEV na Fig. 3.18 (a – d) revelam que a porosidade intrínseca da esponja é preservada, mesmo após a impregnação com CNT e polimerização de PPy. Na inserção da Fig. 3.18 (a), esponja PU pura, pode-se notar que a superfície é lisa e não apresenta nenhuma característica morfológica. Como visto na inserção da Fig. 3.18 (b), é possível observar o CNT disperso e alguns agregados de CNTs que foram progressivamente aderidos nas paredes da estrutura microporosa da esponja de PU. A polimerização química resulta em um revestimento de PPy em toda a superfície da esponja de poliuretano, seguido pelo crescimento de aglomerados de PPy, modificando a textura da PU [inserção Fig. 3.18 (c)]. A alta área superficial disponível de PU recoberta por camada PPy oferece condições adequadas para a criação de alta densidade de microtrincas sob estiramento. A morfologia do compósito PPy/CNT/PU [inserção da Fig. 3.18 (d)] é caracterizada por revestimento homogêneo de polímero sobre suporte (PU coberto com CNT).

Fig. 3.18. Micrografias do MEV de (a) PU puro, (b) CNT/PU, (c) PPy/PU, e (d) compósitos PPy/CNT/PU.

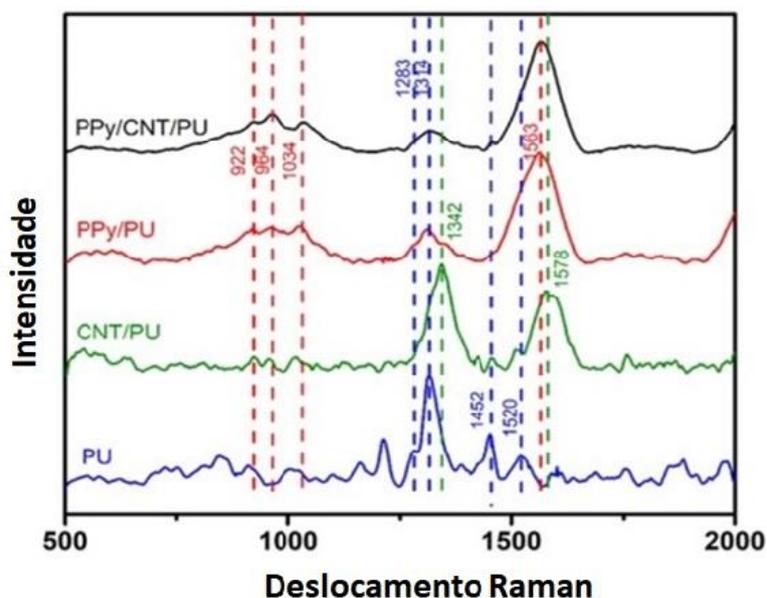


Fonte: Elaborada pelo autor

A estrutura e grau de interação (CNT e PPy) e suporte (PU) foram representados por espectros Raman como mostrado na Fig. 3.19. A presença de polipirrol é confirmada a partir de picos de  $922\text{ cm}^{-1}$  e  $964\text{ cm}^{-1}$  que são atribuídos aos estados polaron e bipolaron. Os picos de  $1034\text{ cm}^{-1}$  e  $1563\text{ cm}^{-1}$  são as assinaturas típica das vibrações do alongamento de C-H e C=C, respectivamente (ADAMS, A. P., et al, 1999) (LUO, L. et al., 2016) (OLIVEIRA, H. P. DE et al., 2013). A banda observada em  $1314\text{ cm}^{-1}$  corresponde ao modo de deformação do alongamento C-C de PPy (PARNELL, S. et al., 2003). Picos característicos identificados em espectro de poliuretano são atribuídos as vibrações de alongamento C-N a  $1283\text{ cm}^{-1}$ , o modo de torção  $\text{CH}_2$  a  $1314\text{ cm}^{-1}$ , vibração de flexão N-H a  $1520\text{ cm}^{-1}$  e pico característico de isocianato (alongamento simétrico a  $1452\text{ cm}^{-1}$ ) (QUARESIMIN, M. et al., 2015) (SÁ, S. F. DE et al., 2016).

O espectro do composto CNT/PU é caracterizado pela assinatura típica de todos os materiais de carbono  $\text{sp}^2$  com vibração no plano da ligação C-C (banda G) a  $1578\text{ cm}^{-1}$  e banda D induzida por desordem a  $1342\text{ cm}^{-1}$  (SANTOS, M. J. L. et al., 2007) devido à presença de nanotubos de carbono na superfície do PU. No entanto, todos os picos correspondentes de PPy/CNT/PU sofreram uma mudança para um número de onda mais alto; este fenômeno foi atribuído a uma interação eficaz entre CNTs e PPy como indicado acima. A mudança para números de onda mais baixos ou mais altos no espectro Raman está relacionada à ligação química de moléculas em compósitos e depende do comprimento da ligação química correspondente. É relatado na literatura que a mudança para um número de onda mais elevado do espectro Raman de PPy/CNT (por comparação com amostras de PPy) pode ser devido às possíveis interações de ligações  $\pi$ - $\pi$  não covalentes estabelecidas entre cadeias de polipirrol e nanotubos de carbono (SHAKOOR, A. et al. 2016).

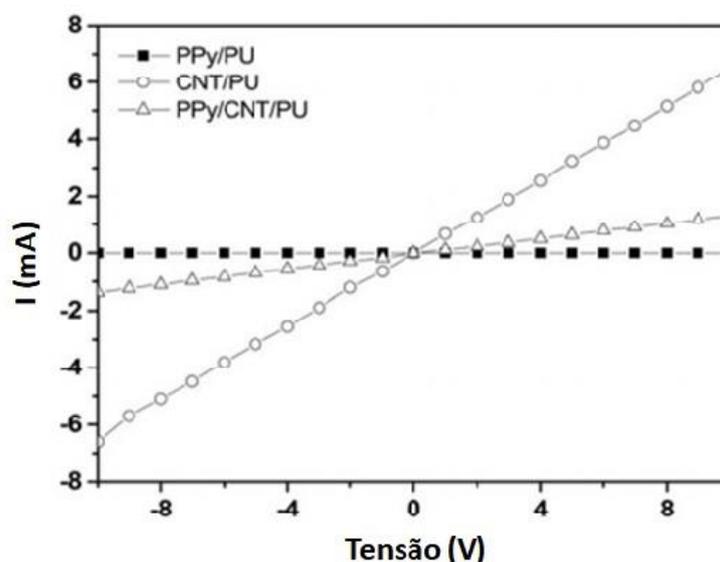
Fig. 3.19 Espectro Raman de amostras preparadas em esponjas de PU.



Fonte: Elaborada pelo autor

Para elucidar a importância da incorporação de CNT nos sensores de pressão resultantes, realizamos ensaios de corrente-tensão em amostras para comparação das respostas elétricas de diferentes sistemas (PPy/PU, PPy/CNT/PU e CNT/PU) (Fig. 3.20). Como mostrado, a condutividade (proporcional à inclinação na curva I-V) da amostra de PPy/PU é menor do que outros sistemas (CNT/PU e PPy/CNT/PU) indicando que a incorporação e a seguinte interação estabelecida pelo CNT e pelo PPy fornecem um material com alta condutividade em comparação com o PPy puro - valores correspondentes de condutividade: ( $\sigma_{\text{PPy/PU}} = 1,12 \times 10^{-7} \text{ S/cm}$ ;  $\sigma_{\text{CNT/PU}} = 2,57 \text{ mS/cm}$ ;  $\sigma_{\text{PPy/CNT/PU}} = 0,54 \text{ mS/cm}$ ).

Fig. 3.20. Curvas de corrente-tensão de PPy/PU, CNT/PU e PPy/CNT/PU



Fonte: Elaborada pelo autor

Wang et al. relataram o desenvolvimento de compósitos polipirrol/poliuretano condutivos (WANG, Y. et al., 2008). A matriz de PU é carregada com iodo e exposta ao vapor de pirrol. Os autores otimizaram a condição de preparo e verificaram o melhor nível de condutividade na ordem de  $10^{-5}$  S/cm (VARESANO, A. et al., 2009). A condição otimizada de preparo retornou amostras com condutividade de  $10^{-5}$  S/cm (WEI, X. et al., 2017). A comparação direta com a literatura revela que a condutividade de nossas amostras representa um importante tópico a ser considerado no projeto de novos dispositivos, pois suas propriedades elétricas representam parâmetros extremamente relevantes para o desenvolvimento dos sensores de pressão (LUO et al., 2016). Com base nessas informações, podemos considerar que a incorporação de CNT é extremamente importante para uso como sensor de pressão.

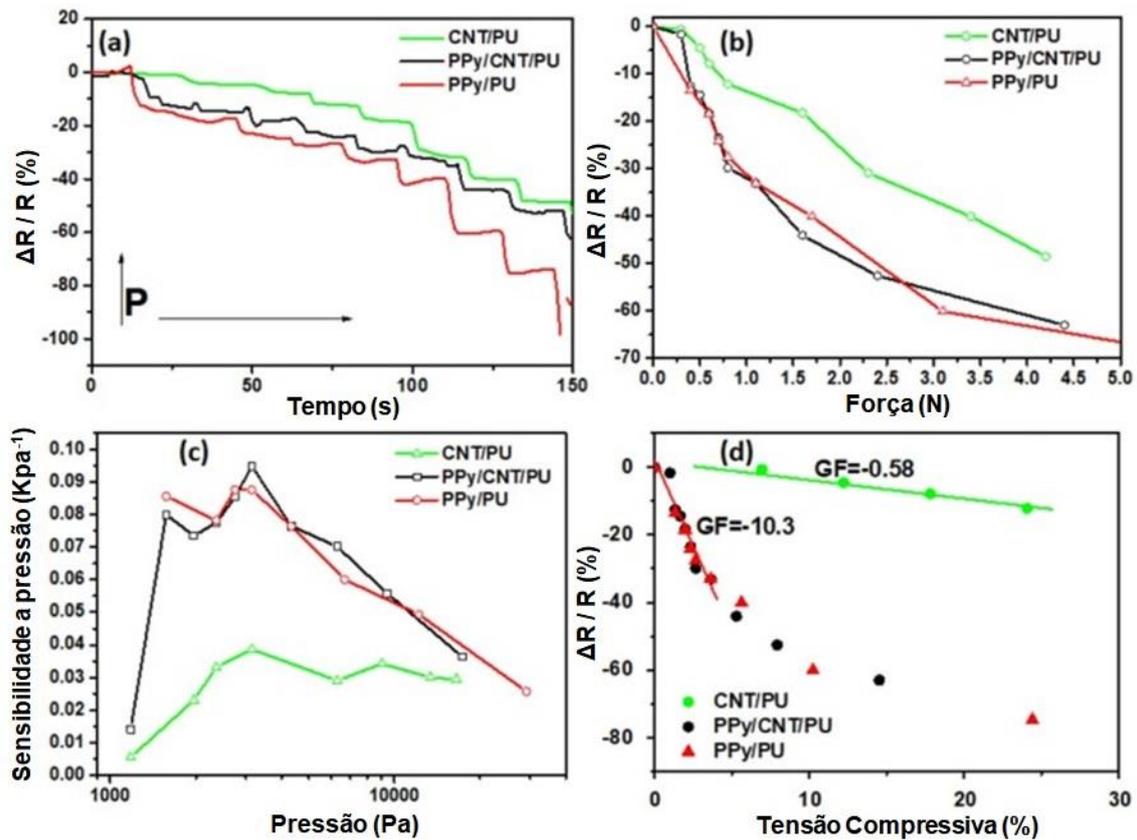
Os testes de compressão em esponja de PU modificada por intervalo de tempo fixo estão resumidos na Fig. 3.21. Os resultados mostrados na Fig. XX (a) indicam que o aumento da pressão de compressão retorna redução na resistência elétrica dos compósitos nesta ordem: PPy/PU > PPy/CNT/PU > CNT/PU. Vale ressaltar que o alto grau de estabilidade de resistência à pressão específica é observado para a amostra CNT/PU, enquanto a resistência da

amostra PPy/PU mostra uma pequena variação na pressão fixa. A dependência da resistência com a força de compressão correspondente [Fig. 3.21 (b)] revela um comportamento quase linear para a amostra CNT/PU enquanto que um decaimento exponencial é observado para as amostras PPy/PU e PPy/CNT/PU. Note que ambas as curvas (PPy/PU e PPy/CNT/PU) tendem a uma convergência, devido à forte influência do PPy na resposta global do compósito.

A sensibilidade de pressão dos dispositivos é definida como  $S = (\Delta R / R_0) / P$ , onde  $P$  é a pressão aplicada no dispositivo. A Fig. 3.21 (c) mostra a dependência da sensibilidade à pressão com pressão compressiva no dispositivo. Apesar de todo comportamento observado nas curvas, o máximo do valor  $S$  na mesma pressão (propriedade do elastômero), o nível de sensibilidade na pressão fixa depende da composição. O melhor desempenho é alcançado para a amostra PPy/CNT/PU com uma variação máxima e global de 0,01 a 0,09  $\text{kPa}^{-1}$ . Observa-se baixa mudança na variação global da sensibilidade para o sensor CNT/PU, uma vantagem típica para a ampla faixa de uso dos sensores de pressão baseados em CNT. Por outro lado, os sistemas baseados em PPy apresentam um forte decréscimo na sensibilidade acima deste valor crítico, caracterizando o processo de degradação refletido nos mecanismos de transporte do revestimento de polímero sob pressão.

Estes mecanismos são confirmados a partir dos valores calculados do fator de calibre ( $GF = (\Delta R / R_0) / (\Delta L / L)$ ), onde  $\Delta R / R_0$  representa a variação de resistência e  $\Delta L / L$  é a deformação de compressão. Os resultados na Fig. 3.21 (d) indicam que  $GF$  mais alto é atingido para amostras baseadas em PPy em baixa pressão, enquanto forte sensibilidade decrescente é observada em regiões de alta tensão, confirmando que uma degradação progressiva é a principal causa no  $GF$  nas de amostras à base de PPy na região de maior deformação.

Fig. 3.21. (a) Variação da resistência de compósitos sob condições de aumento de pressão (0–10 kPa); (b) variação de resistência de compósitos em função da força aplicada; (c) sensibilidade à pressão dos compósitos em função da pressão; (d) Curvas de força de calibre de compósitos.



Fonte: Elaborada pelo autor

A resposta de compósitos a diferentes deflexões mecânicas com ciclos repetidos de alongamento, torção e flexão está resumida na Fig. 3.22.

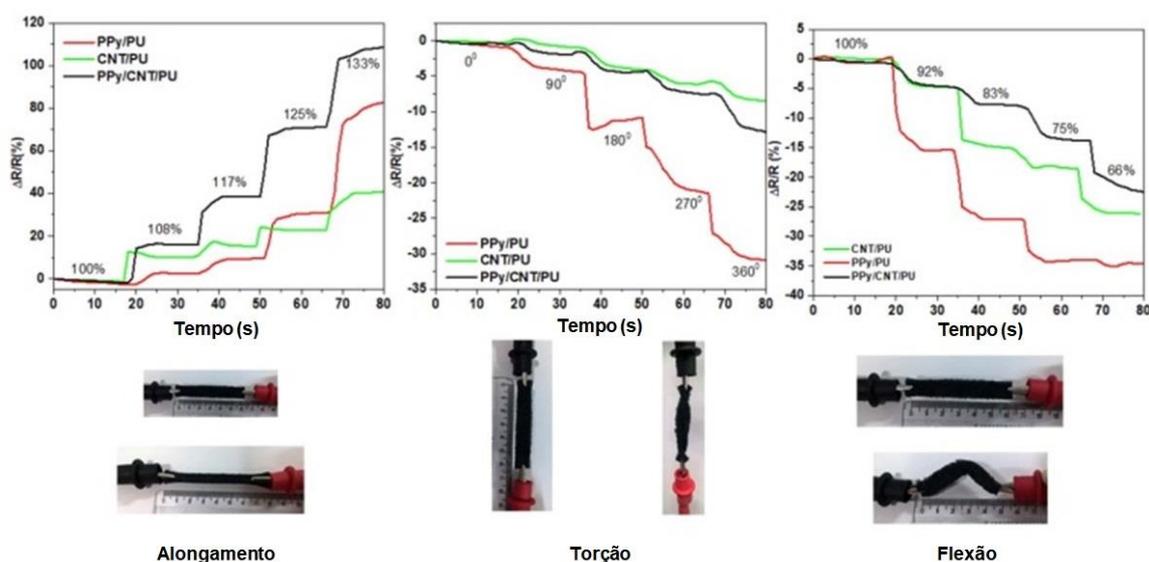
Como esperado, uma variação positiva na resistência é observada sob o alongamento. A maior variação na resposta elétrica foi observada para a amostra PPy/CNT/PU com um aumento de 2x na resistência, seguida pela esponja PPy/PU (0,8x) e CNT / PU (0,4x).

A forte variação na resistência de amostras à base de PPy pode estar associada à formação de vias de microtrincas sob estiramento, caracterizando a redução progressiva das vias atuais em camadas condutoras sob esforço mecânico.

Sob esforço de torção, a variação na resistência é negativa em resposta a um esforço do tipo compressivo. Novas vias atuais são criadas devido à percolação de corrente ao longo de novas rotas criadas a partir do contato de espécies condutivas. O processo de dobragem caracteriza um esforço de compressão com redução no caminho livre para circulação de corrente ao longo

da amostra. Em ambos os casos, a maior variação é observada para amostras contendo PPy, enquanto a menor variação é atribuída a CNT/PU. É consequência da menor variação na resistência de amostras à base de CNT sob pressão em comparação com amostras à base de polipirrol, de acordo com os valores observados de fator de calibre e sensibilidade à pressão, discutidos anteriormente.

Fig. 3.22. Variação de resistência sob esforços mecânicos repetidos de alongamento, torção e flexão em compósitos.



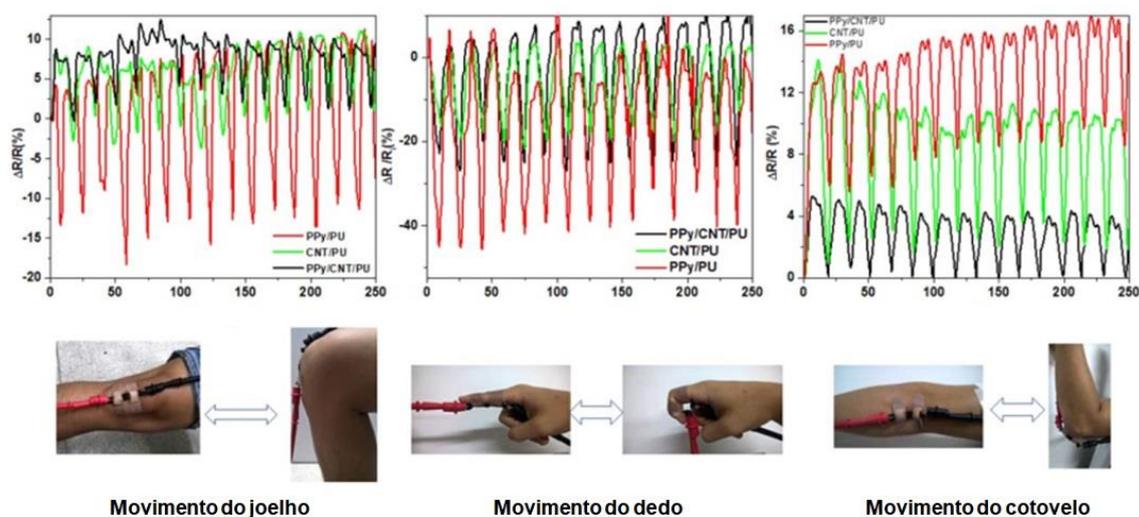
Fonte: Elaborada pelo autor

Além do valor do  $\Delta R$ , a ciclabilidade - a resposta de compostos a repetidos ciclos de esforços montados em diferentes partes do corpo - retorna informações importantes sobre processos irreversíveis.

Por analogia com resultados anteriores, é possível associar a resistência crescente ao esforço de alongamento, enquanto a redução na resistência está associada à compressão.

Na Fig. 3.23, o movimento do cotovelo, um típico processo de alongamento, resulta em uma variação positiva na resistência para todos os dispositivos. Em termos de variação máxima de resistência do compósito sob alongamento, é possível identificar a ordem PPy/CNT/PU > PPy/PU > CNT/PU.

Fig. 3.23. Resposta elétrica de compósitos dispostos como detectores de movimento humano montados em articulações do joelho, dedos e cotovelo.



Fonte: Elaborada pelo autor

No entanto, o valor de referência para compósitos baseados em PPy ( $\Delta R$  sob pressão insignificante) é deslocado para valores mais altos, caracterizando a degradação sob ciclos de deformação repetidos (redução na sensibilidade do material). Em comparação com outros sistemas, a amostra CNT/PU apresentou redução na variação de resistência, enquanto o sistema mais estável foi o compósito PPy/CNT/PU.

Além disso, o comportamento relatado CNT/PU (sob ciclos repetidos) pode ser combinado com o comportamento do polipirrol para produzir um dispositivo mais estável em que a formação irreversível de microtrincas (microcraks) é contornada pela criação de percolações devido à dispersão de nanotubos de carbono na superfície do poliuretano.

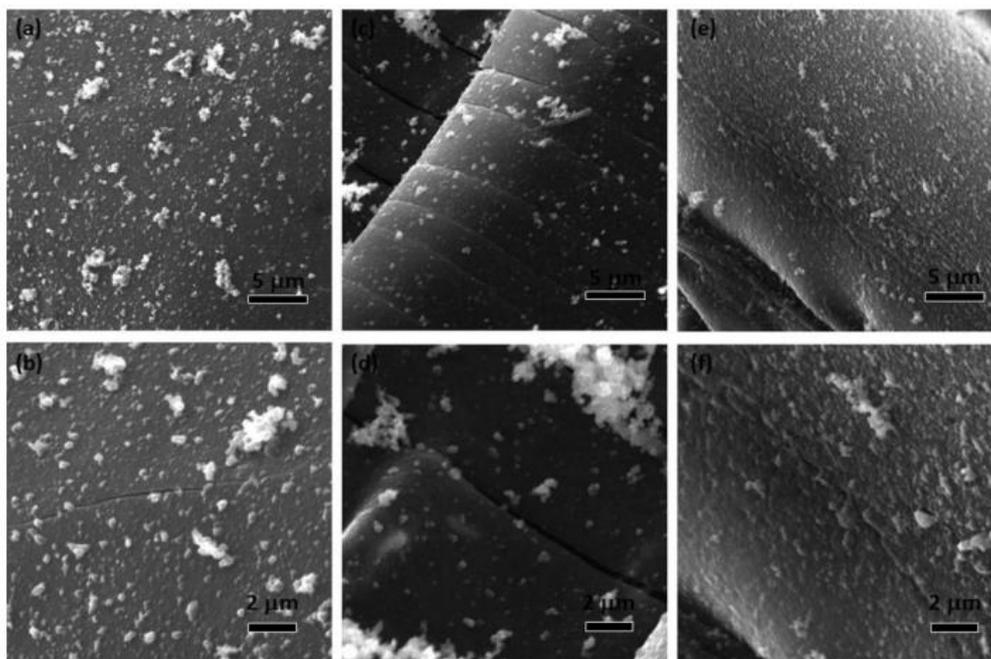
A variação negativa da resistência é observada a partir do movimento do dedo (um mecanismo de compressão). De acordo com dados previamente relatados, a maior variação na resistência é observada para amostras de PPy/PU associadas a um rápido deslocamento na linha de base, devido aos efeitos da formação de microtrincas na estrutura dos dispositivos. Variação correspondente é observada para amostras contendo PPy/PU e PPy/CNT/PU com variação típica na ordem de 40% sob deformação máxima. O movimento do joelho

retornou baixa variação na resistência para o sensor PPy/PU (variação máxima na ordem de 5%) e uma forte diminuição na resistência na condição de pressão mínima, caracterizando uma desvantagem para amostras preparadas com o polipirrol puro. O máximo em mudanças de resistência é observado para o sistema PPy/CNT/PU.

O processo de formação de microtrincas em amostras baseadas em PPy foi caracterizado a partir de micrografias das amostras de PPy/PU em três condições específicas: sob repouso na ausência de esforços mecânicos prévios, sob alongamento e sob repouso após vários esforços de alongamento. Como representado na Fig. 3.24 (a) (x 5 kx) e XX (b) (x 10 kx) a camada de polímero é coberta por grãos de polipirrol. Sob estiramento, uma alta densidade de microtrincas pode ser observada na camada de polímero [Figs. 3.24 (c) (x 5 kx) e XX (d) (x 10 kx)]. Em repouso e após sucessivos ciclos de alongamento, observa-se uma superfície áspera nas Fig. 3.24 (e) (5kx) e XX (f) (10kx), indicando que a formação de microtrincas pode ser considerada como um processo reversível na faixa de baixo grau de deformação.

Os resultados superiores observados para PPy/CNT/PU sob uso repetido de amostras indicam que a influência da formação típica de microtrincas irreversíveis de PPy é contornada por mecanismos de transporte de nanotubos incorporados, fornecendo uma combinação adequada de materiais para uso como sensores de pressão.

Fig. 3.24. Micrografias da superfície de PPy / PU x 5 kx (a) e x 10 kx (b) preparadas conforme PPy / PU x 5 kx (c) e x 10 kx (d), amostra PPy / PU após 20 alongamentos ciclos x 5 kx (e) e x 10 kx (f).



Fonte: Elaborada pelo autor

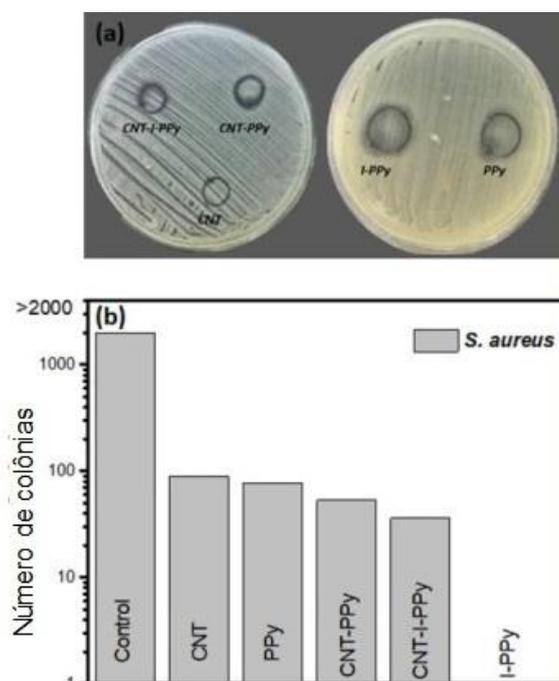
### 3.5.6 Análises antibacteriana das fibras de algodão

Como tecidos eletrônicos vestíveis estão em contato direto com a pele e experimentam várias mudanças de temperatura, umidade e contato, eles são propensos a desenvolver bactérias e favorecer doenças ou maus odores. A este respeito, a maioria dos aditivos antibacterianos implica a utilização de partículas de metal que não é uma condição favorável devido a possível lixiviação e subsequente contaminação do ambiente. Recentemente, propusemos o uso de PPy como um agente antibacteriano livre de metal, cuja atividade antibacteriana é atribuída às cargas positivas ao longo das cadeia polimérica (polaron e bipolaron), que atraem bactérias, provocando a morte pela ruptura da parede celular (Trung, V. Q. et al., 2013) (Varesano, A. et al., 2015) (El Jaouhari, A. et al., 2017) (Varesano, A. et al., 2009). Assim, o nível de dopagem, o tipo de contra-íon e a morfologia (Da Silva FAG. et al., 2016) estão diretamente relacionados ao efeito antibacteriano de o material resultante. Assim, espera-se uma forte atividade das amostras altamente dopadas produzidas pela polimerização interfacial sobre a atividade antibacteriana.

Os resultados dos experimentos de difusão de disco (mostrados na Fig. 3.25 (a) revelaram um halo de inibição insignificante, como observado para amostras preparadas com CNT, enquanto que as mais pronunciadas são observadas para amostras de CNT/PPy, indicando a difusão de algumas espécies ( $Cl^-$ ) que contribuem à sua atividade antibacteriana em associação com espécies carregadas positivamente em cadeias poliméricas.

A unidade formadora de colônias (UFC) remanescente, devido à ação de diferentes compósitos, é expressa na Fig. 3.25b. Como esperado, o experimento de controle - ausência de agente antibacteriano retornou um número incontável de colônias. A incorporação de fios de algodão modificados inibe o crescimento bacteriano na seguinte ordem (número de UFC): CNT > PPy > CNT-PPy > CNT-I-PPy > I-PPy.

Fig. 3.25. (a) Imagens halo de inibição de amostras contra *S. aureus* e (b) CFU restante de *S. aureus* após tratamento com diferentes compósitos.



Fonte: Elaborada pelo autor

O resultado mais importante foi observado para a amostra I-PPy que atingiu 100% de redução bacteriana (*Staphylococcus aureus*), revelando que o nível de

dopagem observado na polimerização interfacial produziu um promissor sistema de atividade antibacteriana. Atribuímos a efetividade da I-PPy a uma baixa polimerização que permitiu a incorporação gradual do ACS, afetando o nível de dopagem. Além disso, a estrutura granular do I-PPy oferece uma maior área superficial disponível para adesão e morte de bactérias, o que confere um UFC desprezível para amostras I-PPy.

A combinação desses resultados (e respectivas aplicações) corrobora que o composto CNT-I-PPy representa um sistema promissor que associa aquecimento elétrico efetivo com propriedades de armazenamento de energia e boa atividade antibacteriana.

### 3.5.7 Análise morfológica e estrutural

Fios de algodão comercial como modelo para a deposição de componentes eletroativos, a fim de obter um material elétrico multifuncional em combinação com as excelentes propriedades dos têxteis. No entanto, nos concentramos em um fio e não em um tecido, porque um fio simplifica a sua incorporação em roupas comuns, costurando-o em pontos estratégicos.

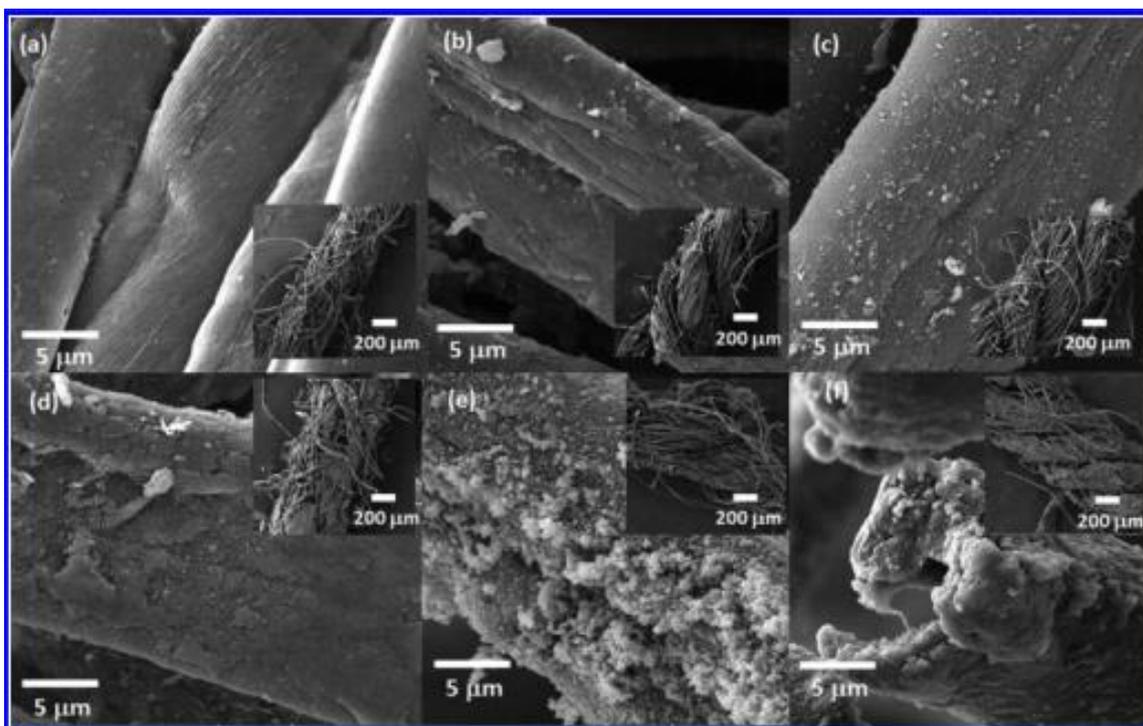
Primeiro, a morfologia dos fios de algodão foi investigada por microscopia eletrônica de varredura. Como se pode observar na Fig. 3.26a, o fio de algodão possui um diâmetro médio de 500  $\mu\text{m}$  e é composto de múltiplas fibras de algodão individuais com uma estrutura de fita e um diâmetro médio de  $(13 \pm 3)$   $\mu\text{m}$ . No passo seguinte, a incorporação de MWCNTs por um método de imersão e secagem assistida por banho ultra-sônico foi conseguida sem romper a micromorfologia do fio como observado na Fig. 3.26b. A única mudança substancial experimentada pelo fio ocorreu na superfície das fibrilas de algodão, pois os MWCNTs formaram uma rede interconectada contínua ao longo das fibras de algodão, produzindo um aumento na rugosidade da superfície. A razão para a adsorção de MWCNTs reside no pré-tratamento de MWCNTs em solução ácida (agentes oxidantes), o que conferiu vários grupos funcionais (Osswald, S. et al., 2007), grupos carboxílicos, hidroxila e epóxi, capazes de interagir por ligação de hidrogênio com os grupos hidroxílicos das cadeias de poli-glicose das microfibrilas de algodão.

Após a inclusão de MWCNTs nos fios de algodão, nós polimerizamos PPy neles por duas metodologias diferentes, a polimerização química *in situ* e uma síntese química interfacial. Na Fig. 3.26 c, é apresentado o fio de algodão modificado com PPy pelo método de polimerização *in situ*, onde é possível observar uma deposição homogênea ao longo das fibras de algodão com a presença de pequenos aglomerados. Por outro lado, a polimerização *in situ* de PPy nos fios previamente modificados com MWCNTs (Fig. 3.26 d) apresentou um revestimento PPy mais denso quando comparado com o PPy em fios de algodão puros. Para entender isso, é necessário considerar dois fatos, primeiro a melhoria da superfície do produto dos fios da inclusão de MWCNTs e sua atividade química. Como discutimos acima, os MWCNTs oferecem a possibilidade de formar pontes de hidrogênio, neste caso com Py, mas além disso, eles podem interagir com Py via empilhamento  $\pi$ - $\pi$  devido à natureza aromática dos MWCNTs. Além disso, como a polimerização de Py envolve a liberação de elétrons, é possível que os oligômeros PPy e MWCNTs formem um complexo de transferência de carga durante a polimerização, o que também favorece a deposição de PPy.

É apresentado na Fig. 3.26e o fio de algodão resultante do método de polimerização interfacial; as fibras exibiram uma superfície mais rugosa do que em casos anteriores. As fibras de algodão apresentaram um revestimento formado por pequenas partículas, o que corresponde à morfologia típica exibida pelo PPy. Os fios modificados com MWCNTs (Fig. 3.26f) apresentaram a mesma morfologia do caso anterior, mas um revestimento denso devido ao efeito descrito dos MWCNTs na polimerização do PPy. O aumento resultante na quantidade de PPy como a mudança na morfologia pode ser atribuído ao método de polimerização interfacial em ambos os casos. A esse respeito, ao contrário da polimerização *in situ*, a formação de PPy ocorre na interface entre a água e o hexano e não no volume. Em particular, em nosso sistema, o fio de algodão atuou como parte da fase aquosa, devido à sua hidrofiliçidade, absorvendo pela capilaridade a maior parte da solução aquosa de  $\text{FeCl}_3$  e ACS. Assim, quando a fase orgânica, contendo o Py, é adicionada, cria-se uma interface com o fio de algodão, ocorrendo a polimerização do PPy nas fibras. Além disso, quando comparado com a polimerização *in situ*, este processo produziu uma quantidade

escassa ou nula de PPy na interface água, sendo mais pontual e consequentemente aumentando a massa efetiva de PPy nos fios.

Fig. 3.26. Imagens do MEV de (a) Algodão, (b) CNT, (c) PPy, (d) CNT-PPy, (e) I-PPy, e (f) CNT-I-PPy.

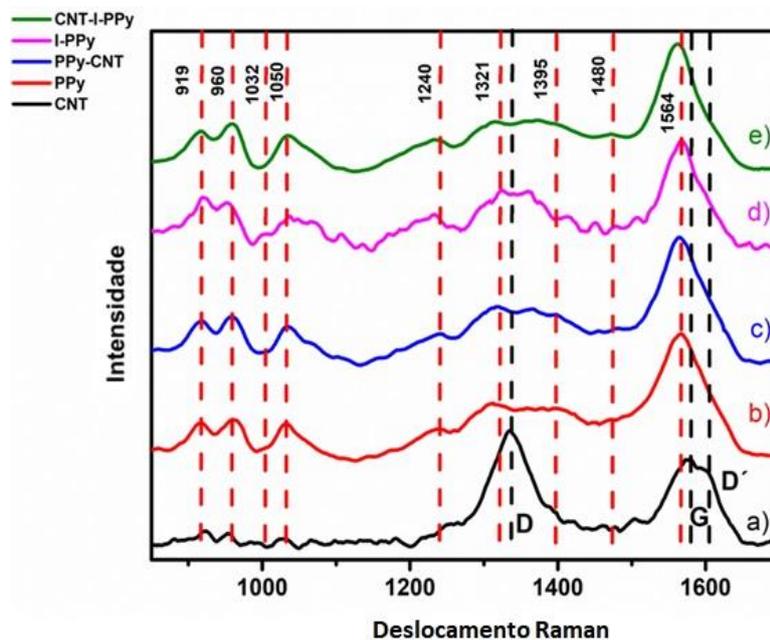


Fonte: Elaborada pelo autor

Uma vez que a morfologia tenha sido revelada por MEV, temos que corroborar a inclusão de MWCNTs no fio, a síntese de PPy e suas alterações estruturais associadas às metodologias empregadas. Como ferramenta para essa tarefa, empregamos espectroscopia Raman, pois esta técnica é não destrutiva e fornece a impressão digital vibracional de materiais que permite identificá-los e caracterizá-los. É apresentado na Fig. 3.27 os espectros Raman de todas as amostras. O espectro correspondente para o fio de algodão modificado com os MWCNTs (Fig. 3.27a) exibe três bandas a 1335, 1572 e 1590  $\text{cm}^{-1}$ , o que corresponde às bandas D, G e D dos MWCNTs, respectivamente. A banda D está relacionada com a desordem estrutural do carbono amorfo, enquanto a banda G corresponde às vibrações tangenciais no alongamento

plano das ligações C-C dentro das folhas de grafeno (Bokobza, L. et al., 2012). No caso dos MWCNTs, como eram funcionalizados, D' banda apareceu indicando um grau de desordem, defeitos estruturais ou intercalação de espécies químicas entre as paredes gráficas (Osswald, S. et al., 2007). Normalizamos os espectros em relação à banda D e calculamos a razão ID/IG, pois esse parâmetro é utilizado para avaliar a densidade de desordem das paredes do tubo (Jorio, A. et al., 2010) revelando um valor de 1,7 o que corrobora que os MWCNTs possuem uma quantidade considerável de defeitos devido ao tratamento de funcionalização. Assim, através desta análise, confirmamos a inclusão bem sucedida do MWCNT no fio de algodão e revelamos as características dos mesmos.

Fig. 3.27. Espectro Raman de amostras: (a) CNT, (b) PPy, (c) CNT-PPy, (d) I-PPy e (e) CNT-I-PPy.



Fonte: Elaborada pelo autor

As curvas b-e na Fig. 3.27 correspondem aos fios de algodão com PPy. Em todos eles, é possível identificar o PPy com modificações sutis devido as diferentes sínteses e condições do procedimento empregado. Todos os espectros apresentam bandas em 919 (anel de deformação associada com

dication (bipolaron)), 960 (anel em deformação plana associada a cátion (polaron)). O pico em  $1032\text{ cm}^{-1}$  mostra a vibração característica referente a deformação no plano gerado pelas ligações entre os átomos de carbono e hidrogênio. Em  $1050\text{ cm}^{-1}$  a vibração está relacionada com a distorção do plano formado entre a ligação simétrica dos átomos de carbono e dos de hidrogênio ocasionados pelo radical cátion. O pico em  $1240\text{ cm}^{-1}$  está associado com a distorção do plano formado pelas ligações assimétricas entre carbono e hidrogênio. Os modos de vibrações referentes aos picos em 1321, 1364, 1395  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídos ao alongamento do anel aromático do PPy. O pico  $1480\text{ cm}^{-1}$  faz referência a vibração da cadeia polimérica. Por fim, o pico em  $1564\text{ cm}^{-1}$  está associado ao alongamento da ligação dupla entre os carbonos devido a sobreposição de bandas ocasionadas pelo radical cátion e o dicátion. É possível observar que os espectros para PPy-CNT e CNT-I-PPy apresentam um pequeno deslocamento para menor número de onda devido a uma interação  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis de benzeno dos CNTs e o anel aromático do pirrol (Gu, Z. et al., 2010) (Dauginet-De Pra, L. et al., 2005). Para identificar as principais diferenças das amostras, a relação de dois pares de bandas ( $917\text{ cm}^{-1}/959\text{ cm}^{-1}$  e  $1561\text{ cm}^{-1}/1472\text{ cm}^{-1}$ ) foi comparada para cada síntese. A relação de intensidade das bandas em  $917\text{ cm}^{-1}/959\text{ cm}^{-1}$  está relacionada ao bipolaron e ao polaron, respectivamente, e indica o grau de dopagem (Gupta, S., 2012) enquanto a relação de  $1561\text{ cm}^{-1}/1472\text{ cm}^{-1}$  indica o comprimento de conjugação relativo (Demoustier-Champagne, S. et al., 1999) (Dauginet-De Pra, L. et al., 2005). A razão de conjugação ( $1561\text{ cm}^{-1}/1472\text{ cm}^{-1}$ ) para PPy, CNT-PPy, I-PPy e CNT-I-PPy revelaram valores de 2,9, 3,3, 3,2 e 3,3, respectivamente. A relação acima indicou que o comprimento de conjugação foi máximo para as amostras que incorporam MWCNTs e o mínimo para PPy. Considerando o grau de dopagem, a relação bipolaron / polaron retornou valores de 0,85, 0,9, 0,9 e 1,11 para PPy, CNT-PPy, I-PPy e CNT-I-PPy, respectivamente. A partir dessas informações, podemos concluir que a amostra de PPy apresentou a estrutura mais desordenada e uma baixa quantidade de portadores de carga (bipolarons), enquanto a amostra I-PPy apresentou características mais equilibradas com uma alta quantidade de bipolarons e um considerável nível de conjugação comparável para aqueles com MWCNTs.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] XIE, X. et al. Environmental Science Carbon nanotube-coated macroporous sponge for microbial fuel cell electrodes. *Energy & Environmental Science*, v. 5, p. 5265–5270, 2012.
- [2] Alcaraz-Espinoza JJ, Chavez-Guajardo AE, Medina-Llamas JC, Andrade CAS, de Melo CP. Hierarchical composite polyaniline(electrospun polystyrene) fibers applied to heavy metal remediation. *ACS Appl Mater Interfaces*, v. 7, n. 13, p. 7231-7240, 2015.
- [3] Müller K, Quinn JF, Johnston APR, Becker M, Greiner A, Caruso F. Polyelectrolyte functionalization of electrospun fibers. *Chem Mater*, v. 18, n. 9, p. 2397-2403, 2006.
- [4] Gonzalez M, Galano A, Rieumont J, Lopez T, Dupeyron D, Albaran L. Drugmatrix interactions in nanostructured materials containing acetyl salicylic acid using an enteric polymer as a coating. *J Phys Chem C*, v. 112, n. 51, p. 2022-2026, 2018.
- [5] Lin SY, Liao CM, Hsiue GH. A reflectance FTIR-DSC microspectroscopic study of the nonisothermal kinetics of anhydreneformation in Eudragit L-100 films. *Polym Degrad Stab*, v. 47, n. 2, p. 299-303, 1995.
- [6] Zaroni M, Ramos DT, Murakami FS, Carvalho MAS, Janissek PR, Andreazza IF, et al. Thermal behavior and interaction studies of theophylline with various excipients. *Lat Am J Pharm*, v. 27, n. 2, p. 191-196, 2008.
- [7] da Silva FAG, Queiroz JC, Macedo ER, Fernandes AWC, Freire NB, da Costa MM, et al. Antibacterial behavior of polypyrrole: the influence of morphology and additives incorporation. *Mater Sci Eng C-Mater. Biol Appl*, v. 62, p. 317-322, 2016.
- [8] Qi GJ, Huang LY, Wang HL. Highly conductive free standing polypyrrole films

prepared by freezing interfacial polymerization. *Chem Commun*, v. 48, n. 66, p. 8246-8248, 2012.

[9] LEE, J. et al. Carboxylic Acid-Functionalized Conductive Polypyrrole as a Bioactive Platform for Cell Adhesion. p. 1692–1695, 2006.

[10] LI, M. et al. Stretchable Conductive Polypyrrole / Polyurethane ( PPy / PU ) Strain Sensor with Netlike Microcracks for Human Breath Detection. 2013.

[11] VARESANO, A. et al. Multifunctional cotton fabrics. *Synthetic Metals*, v. 159, p. 1082–1089, 2009.

[12] CHEN, H. et al. Broad-Spectrum Antibacterial Activity of Carbon Nanotubes to Human Gut Bacteria. *Nano Micro Small*, v. 9, n. 16, p. 2735–2746, 2013.

[13] ADAMS, A. P.; SANTACHI, E. M.; MELLENCAMP, M. A. Antibacterial Properties of a Silver Chloride-Coated Nylon Wound Dressing. p. 219–225, 1999.

[14] LUO, L. et al. Spiral of Silence in Social Networks : A Data-driven Approach. p. 980–984, 2016.

[15] OLIVEIRA, H. P. DE et al. Antimicrobial activity of silver nanoparticles synthesized by the fungus *Curvularia inaequalis*. v. 12, n. 20, p. 2917–2923, 2013.

[16] PARNELL, S.; MIN, K.; CAKMAK, M. Kinetic studies of polyurethane polymerization with Raman spectroscopy. v. 44, p. 5137–5144, 2003.

[17] QUARESIMIN, M. et al. Multifunctional polymer nanocomposites with enhanced mechanical and anti-microbial properties. *Composites Part B*, 2015.

[18] SÁ, S. F. DE et al. A new insight into polyurethane foam deterioration – the use of Raman microscopy for the evaluation of long-term storage conditions. n. December 2015, 2016.

- [19] Santos, M. J. L.; BROLO, A. G.; GIROTTO, E. M. Study of polaron and bipolaron states in polypyrrole by in situ Raman spectroelectrochemistry. v. 52, p. 6141–6145, 2007.
- [20] Shakoor, A. et al. DIELECTRIC PROPERTIES OF POLYPYRROLE MULTI-WALLED CARBON. v. 11, n. 4, p. 1145–1153, 2016.
- [21] Wang, Y.; Sotzing, G. A.; Weiss, R. A. Preparation of Conductive Polypyrrole / Polyurethane Composite Foams by In situ Polymerization of Pyrrole. n. 8, p. 2574–2582, 2008.
- [22] LUO, L. et al. Spiral of Silence in Social Networks : A Data-driven Approach. IEEE 2016, p. 980–984, 2016.
- [23] Trung, V. Q. Layers of Inhibitor Anion–Doped Polypyrrole for Corrosion Protection of Mild Steel. In Materials Science Advanced Topics; InTech, p. 143-174, 2013.
- [24] Varesano, A.; Vineis, C.; Tonetti, C.; Mazzuchetti, G.; Bobba, V. Antibacterial property on Gram-positive bacteria of polypyrrole-coated fabrics. J. Appl. Polym. Sci, v. 132, n. 12, p. 1-6, 2015.
- [25] El Jaouhari, A.; El Asbahani, A.; Bouabdallaoui, M.; Aouzal, Z.; Filotas, D.; Bazzaoui, E.; Nagy, L.; Nagy, G.; Bazzaoui, M.; Albourine, A.; Hartmann, D. Corrosion resistance and antibacterial activity of electrosynthesized polypyrrole. Synth. Met, v. 226, p. 15–24, 2017.
- [26] Varesano, A.; Aluigi, A.; Florio, L.; Fabris, R. Multifunctional cotton fabrics. Synth. Met, v. 159, n. 11, p. 1082–1089, 2009.
- [27] da Silva, F. A. G., Jr.; Queiroz, J. C.; Macedo, E. R.; Fernandes, A. W. C.; Freire, N. B.; da Costa, M. M.; de Oliveira, H. P. Antibacterial behavior of polypyrrole: The influence of morphology and additives incorporation. Mater. Sci. Eng., C, v. 62, p. 317–322, 2016.

[28] Osswald, S.; Havel, M.; Gogotsi, Y. Monitoring oxidation of multiwalled carbon nanotubes by Raman spectroscopy. *J. Raman Spectrosc*, v. 38, n. 6, p. 728–736, 2007.

[29] Bokobza, L.; Zhang, J. Raman spectroscopic characterization of multiwall carbon nanotubes and of composites. *eXPRESS Polym. Lett*, v. 6, p. 601–608, 2012.

[30] Jorio, A.; Ferreira, E. H. M.; Moutinho, M. V. O.; Stavale, F.; Achete, C. A.; Capaz, R. B. Measuring disorder in graphene with the G and D bands. *Phys. Status Solidi B*, v. 247, n. 11, p. 2980–2982, 2010.

[31] Gu, Z.; Li, C.; Wang, G.; Zhang, L.; Li, X.; Wang, W.; Jin, S. Synthesis and characterization of polypyrrole/graphite oxide composite by in situ emulsion polymerization. *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys*, v. 48, n. 12, p. 1329–1335, 2010.

[32] Dauginet-De Pra, L.; Demoustier-Champagne, S. Investigation of the electronic structure and spectroelectrochemical properties of conductive polymer nanotube arrays. *Polymer*, v. 46, n. 5, p. 1583–1594, 2005.

[33] Gupta, S. Template-free synthesis of conducting-polymer polypyrrole micro/nanostructures using electrochemistry. *Appl. Phys. Lett.* v. 63108, n. 2014, p. 1–4, 2012.

[34] Demoustier-Champagne, S.; Stavaux, P.-Y. Effect of Electrolyte Concentration and Nature on the Morphology and the Electrical Properties of Electropolymerized Polypyrrole Nanotubules. *Chem. Mater*, v. 11, n. 3, p. 829–834, 1999.

[35] Dauginet-De Pra, L.; Demoustier-Champagne, S. Investigation of the electronic structure and spectroelectrochemical properties of conductive polymer nanotube arrays. *Polymer*, v. 46, n. 5, p. 1583–1594, 2005.

---

# CAPÍTULO 4

---

Efeito do campo elétrico externo na  
atividade antibacteriana do polipirrol

O desenvolvimento de eletrodos altamente condutivos com potencial de aplicação como agentes antibacterianos são protótipos promissores para sistemas inteligentes de curativos nos quais a aplicação de um campo elétrico pode ser explorada como uma estratégia adicional aplicada para o controle rápido de infecções da pele. Nesse capítulo mostraremos a atividade antibacteriana típica de compósitos baseados em PPy/nanotubos de carbono e PPy/grafite que foi explorada em diferentes suportes (poliuretano e lixa) e reforçada por estimulação elétrica direta de baixa intensidade (0 V, 1 V e 2 V).

#### 4.1 Materiais e métodos

##### 4.1.2 Síntese das amostras de PU/PPY e PU/CNT/PPY

Inicialmente esponjas comerciais de PU com dimensões de 7 cm x 2 cm x 0,5 cm foram levadas ao sonicador com água e com álcool etílico durante 15 min para garantir a limpeza das mesmas (esse processo foi repetido por três vezes). Após lavadas e secas, dois tipos de esponjas seriam obtidas. A primeira amostra produzida foi a esponja de PU/PPy. Para a síntese o PU foi mergulhado numa solução de HCl (1M) contendo 35 µL de pirrol. Essa ficou sob agitação durante 45 min. Passado o tempo, foi adicionado, gota a gota, a mistura anterior uma solução de FeCl<sub>3</sub> (0,082g de FeCl<sub>3</sub> em 25 mL de HCl (1M)). Essa solução ficou sob agitação 24 h. Passado o tempo de polimerização, as esponjas foram retiradas e lavadas com água ultra pura três vezes e secas a temperatura ambiente. Para o preparo da segunda amostra, PU/CNT/PPy, uma solução de CNT foi preparada segundo Xie et al, (XIE et al., 2012) onde 0,2 g de nanotubos de carbono e 2 g de dodecilbenzenosulfonato de sódio (SDBS) foram adicionados em 200 mL de água e sonicada até a total solubilização dos solutos, aproximadamente 35 min. Em seguida, após obter esponjas de PU/CNT, essas foram polimerizadas de maneira análoga as esponjas de PU/PPy, ao final pode-se obter amostras de PU/CNT/PPy.

#### 4.1.3 Síntese das amostras de papel lixa/ PPy (SP/PPy) e papel lixa/ grafite/PPy (SP/ Grap/PPy)

A polimerização interfacial do PPy foi utilizada por ser mais eficiente na deposição de PPy em papel lixa.

A polimerização interfacial é iniciada preparando duas soluções distintas. Na primeira (solução 1), 0,251 g de ácido canforsulfônico (ACS) foram dissolvidos em 3 mL de água ultrapura. Em seguida 0,175 g de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) foram adicionados a solução de ACS, essa mistura ficou sob agitação e a 40 °C durante 40 min para garantir a total solubilização do  $\text{FeCl}_3$ . Percorrido o tempo de 40 min, às soluções foram adicionadas cortes de papel lixa de 1 cm x 2 cm e em seguida resfriadas até a sua solidificação.

Uma segunda solução (solução 2) foi preparada adicionando 50  $\mu\text{L}$  de pirrol em 3 mL de hexano ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ ). Essa solução foi resfriada até 3 °C.

Após o resfriamento das soluções 1 e 2, a segunda solução foi gotejada lentamente na primeira solução e levadas a uma temperatura de 3 °C durante 3 h. Após esse tempo as fibras foram lavadas com água ultra pura e secas a temperatura ambiente.

Uma segunda amostra (SP/ Grap/ PPy) foi preparada adicionando grafite a partir da abrasão sucessiva de um lápis 8B até atingir uma condição de invariância na resistência superficial do papel coberto - camada uniforme de grafite. A polimerização seguiu os mesmos passos do sistema SP/PPy, considerando que o SP/Grap foi imerso em solução aquosa em substituição à amostra de SP.

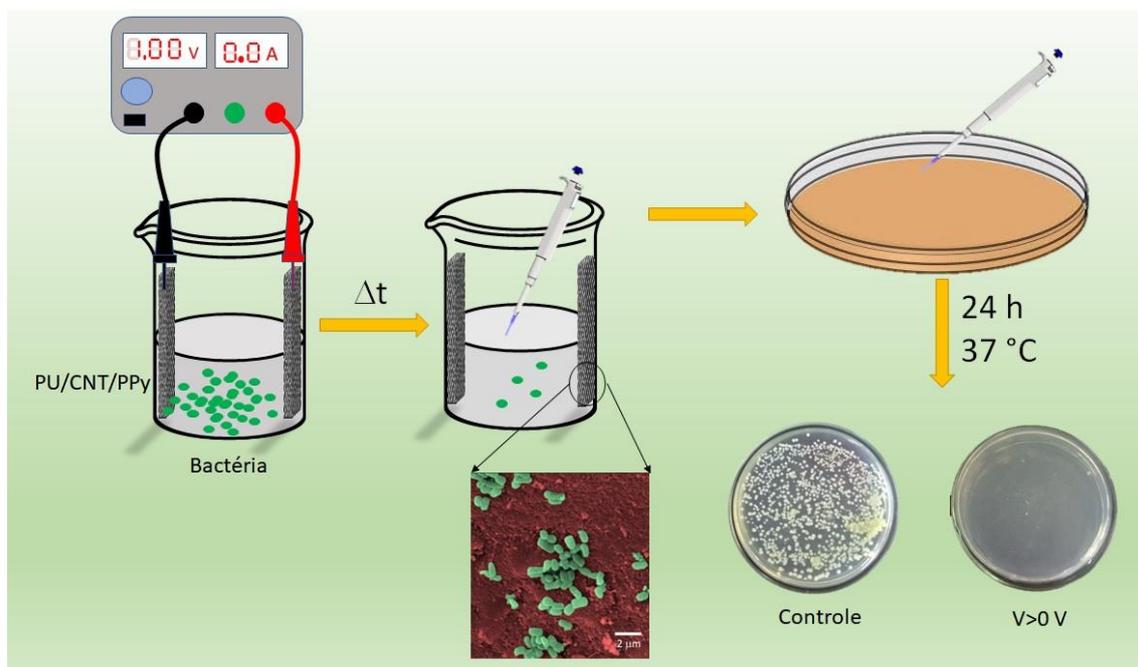
#### 4.1.4 Ensaio microbiológicos

#### 4.1.5 Contagem de colônias

Para a avaliação do efeito do campo elétrico contra *S. aureus* e *E. coli* utilizando as amostras preparadas, inicialmente com auxílio de uma alça de platina, três a cinco colônias das bactérias citadas foram transferidos para tubos de ensaio distintos e suspenso em solução salina padronizada à 0,5 na escala McFarland, correspondendo a  $10^8$  UFC. Após suspensas, diluições sucessivas

foram feitas, para as duas soluções bacterianas, até a concentração de  $10^6$  UFC. Em seguida 20 mL da solução de *S. aureus* foi transferida para um béquer de 50 mL contendo as amostras, essas foram fixadas opostas uma da outra na parede do recipiente. Os eletrodos estavam conectados a uma fonte de tensão externa que forneceu  $V = 0$  V,  $V = 1$  V e  $V = 2$  V. Aliquotas de 100  $\mu$ L foram retiradas do béquer contendo as amostras produzidas em intervalos de tempo de XX e tensão de 0 V. O mesmo procedimento foi realizado com tensões de 1 V e 2 V. Os ensaios com *E. coli* foram feitos de maneira análoga aos de *S. aureus*. A Fig. 4 resume o procedimento descrito.

Fig. 4 Ensaio para contagem de colônias após tratamento com campo elétrico.



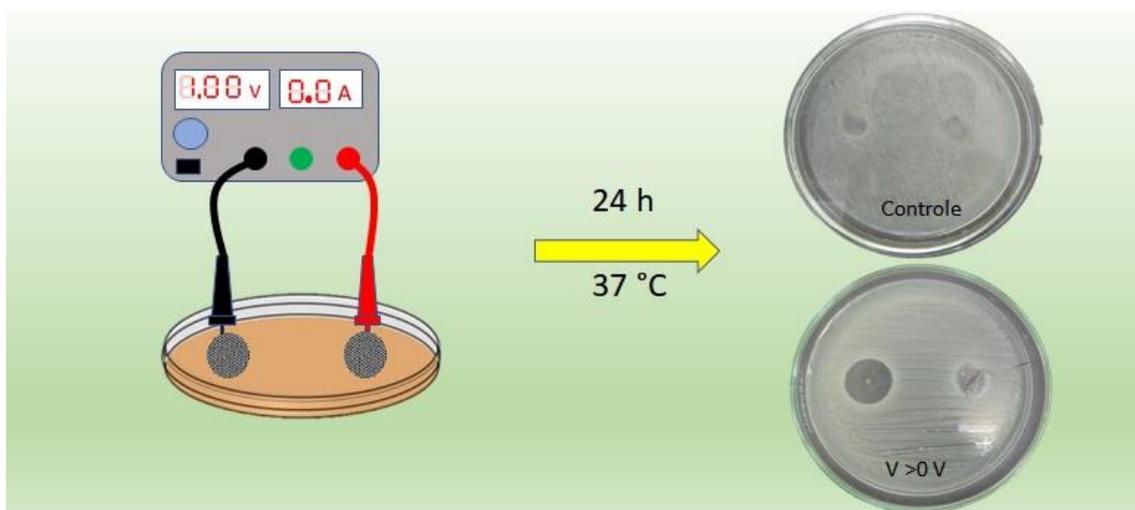
Fonte: Elaborada pelo autor

#### 4.1.6 Técnica de difusão em disco

O inóculo bacteriano *S. aureus* (ATCC 25923) e da gram-negativa *E. coli* (ATCC 25922) foram preparados a partir de uma cultura mantida em ágar a 4°C. Em seguida uma solução bacteriana de concentração de  $10^8$  UFC foi preparada, e com a ajuda de um swab essa solução foi distribuída em uma placa de petri

contendo ágar muller hinton. Ao final do procedimento houve a inserção das espumas de PU/PPy, PU/CNT/PPy (ambas cortadas em forma de disco) e das amostras de SP/PPy e SP/Grap/PPy. As amostras foram conectadas a uma fonte de tensão externa que forneceu  $V = 0\text{ V}$ ,  $V = 1\text{ V}$  e  $V = 2\text{ V}$  e incubadas a  $37\text{ }^\circ\text{C}$  durante 24 h. Tal procedimento é descrito pela ilustração na Fig. 4.1.

Fig. 4.1 Representação da configuração experimental para medição do halo de inibição.



Fonte: Elaborada pelo autor

#### 4.2 Caracterização das amostras

A microscopia eletrônica de varredura (Vega 3XM Tescan na aceleração de 5kV) foi usada para aquisição de imagens de MEV. A resposta elétrica (voltametria cíclica e espectroscopia de impedância) dos compósitos foi caracterizada a partir de um autolab PGSTAT 302N (Metrohm), ambos os sistemas experimentais (PU / CNT / PPy e SP / Grap / PPy) em uma configuração de dois eletrodos. A tensão externa foi fornecida por uma fonte de alimentação HY3003-3 (Polyterm). Os espectros Raman foram adquiridos em um espectrômetro Raman (Labram Aramis-Horiba Jobin Yvon) na faixa de  $400\text{-}2000\text{cm}^{-1}$  com excitação a 532nm (laser He Ne - 2,5mW). Os espectros de UV-vis foram medidos em um espectrofotômetro Hach DR5000.

### 4.3 Resultados e discussão

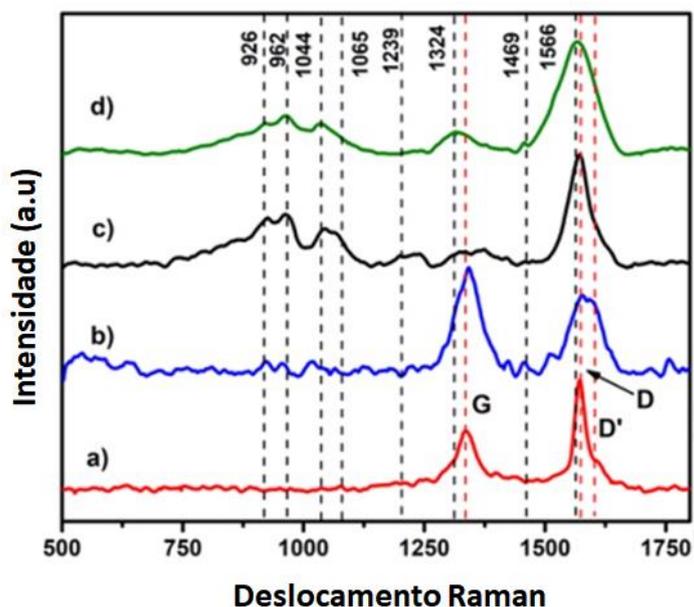
Compósitos de PPy e alótropos de carbono com diferentes morfologias foram sintetizados com sucesso, permitindo-nos estudar o efeito de tais configurações na inativação bacteriana. O primeiro compósito continha uma esponja PU porosa, tipicamente empregada na confecção de curativos para feridas que produzem grandes quantidades de exsudatos, o que requer troca de oxigênio e movimento. No segundo compósito, a estratégia consistiu no desenvolvimento de uma superfície semi-plana com traços de lápis de grafite e PPy em um SP que nos permitiu estudar de forma mais simples a interação entre materiais e microorganismos. Em ambos os casos, alótropos de carbono e baixa concentração de PPy foram empregados para produzir amostras condutoras capazes de melhorar a adesão do PPy e a condutividade elétrica para explorar suas propriedades eletroquímicas na atividade antibacteriana.

#### 4.3.1 Espectroscopia Raman para as amostras dos eletrodos à base de PU e SP.

Através da análise por espectroscopia Raman, determinamos a inclusão de alótropos de carbono nas matrizes, composição química e características particulares de compósitos como o grau de dopagem. Na Fig. 4.2, os espectros de SP/Grap (a) e PU/CNT (b) correspondem aos PU e SP modificados. Pode-se observar duas bandas proeminentes exibidas em torno de  $1336\text{ cm}^{-1}$  e  $1536\text{ cm}^{-1}$  correspondentes às bandas D e G que respondem pela desordem estrutural e pelo domínio  $sp^2$  e C=C, respectivamente (J.J. Alcaraz-Espinoza et al., 2018) (F.A. da Silva Jr. et al., 2018). A principal diferença nos espectros está relacionada à intensidade da banda D e G. A razão  $I_D / I_G$  for para sistemas correspondentes é 1,14 para PU/CNT e 0,62 para SP/Grap, o que concorda com uma estrutura molecular de grafita altamente ordenada e com uma estrutura defeituosa e desordenada de CNTs. É importante notar que, no caso de Grap, uma possível indicação é que a abrasão mecânica produz menos grafeno e expõe mais arestas de grafeno. Além disso, o CNT-PU exibiu a banda D em torno de  $1590\text{ cm}^{-1}$ , essa banda é uma indicação de um considerável número de defeitos, provavelmente devido ao pré-tratamento ácido. Em geral, as matrizes

modificadas não exibiram bandas fortes de PU ou SP. Uma vez avaliada a incorporação de derivados de carbono, modificamos as matrizes por dois processos diferentes, um processo químico *in situ* para o PU/CNT e polimerização interfacial para SP/Grap. No caso do PU/CNT, o método químico *in situ* foi adequado devido à alta área de superfície que é capaz de cobrir e pela capacidade demonstrada de preservar a porosidade intrínseca da esponja. No caso do SP/Grap, uma polimerização interfacial foi realizada: esta técnica produz finos filmes que podem ser facilmente aderidos à superfície do Grap sem interromper o quadro original. É apresentado na Fig. 4.2 os espectros correspondentes de SP/Grap/PPy (c) e PU/CNT/PPy (d), onde pode-se observar a impressão característica de PPy, entretanto, como as metodologias empregadas são diferentes, diferenças sutis podem ser identificadas. Em ambos os compósitos pode-se identificar bandas em torno de 926, 962, 1044, 1065, 1324, 1496, 1566  $\text{cm}^{-1}$ . O pico em 926 e 962 correspondem a deformação associada ao anel aromático causado pelos bipolarons e polarons, respectivamente. Em 1065  $\text{cm}^{-1}$  a vibração está relacionada com a distorção do plano formado entre a ligação simétrica dos átomos de carbono e dos de hidrogênio ocasionados pelo radical cátion. Em 1324  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído ao alongamento do anel aromático do PPy. O pico 1496  $\text{cm}^{-1}$  faz referência a vibração da cadeia polimérica, e o pico em 1566  $\text{cm}^{-1}$  está associado ao alongamento da ligação dupla entre os carbonos devido a sobreposição de bandas ocasionadas pelo radical cátion e o dicátion (J.J. Alcaraz-Espinoza et al., 2018) (Z. Gu et al., 2010). A razão de intensidade das bandas 926  $\text{cm}^{-1}$ /962  $\text{cm}^{-1}$  revelou um valor de 0,93 e 0,80 para SP/Grap/PPy e PU/CNT/PPy, respectivamente. A maior proporção de SP / Grap / PPy indica uma alta concentração de portadores de carga quando comparada à polimerização *in situ* (Z. Gu et al., 2010).

Fig. 4.2. Espectro Raman de eletrodos à base de poliuretano (PU) e lixa (SP) (puros e disposto em compósito com PPy): (a) SP / Grap; (b) PU / CNT; (c) SP / Grap / PPy e (d) PU / CNT / PPy.



Fonte: Elaborada pelo autor

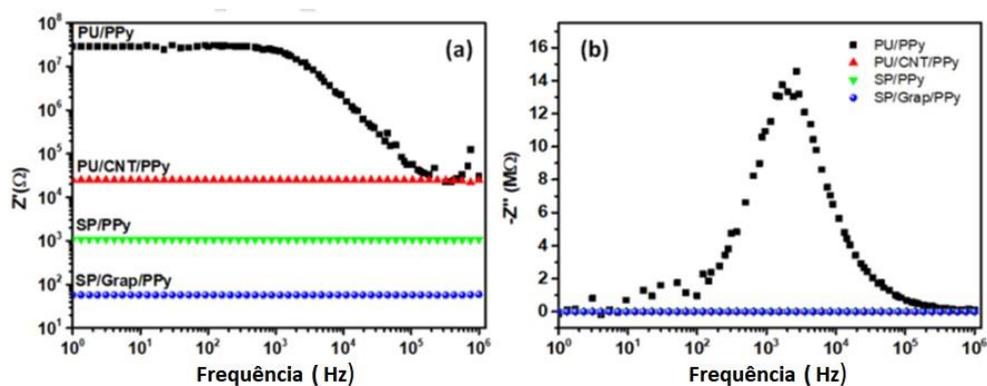
Além de uma deposição uniforme dos componentes em matrizes, para usá-los como eletrodos para o desenvolvimento de materiais sensíveis ao campo elétrico (condição adequada para materiais ativos redox), uma alta condutividade elétrica de compósitos é um requisito importante. É crítico alcançar uma corrente razoável em associação com o baixo campo externo, como observado em compostos de derivados de carbono e em PPy flexíveis (R.M. Lima et al., 2018) (J.J. Alcaraz-Espinoza et al., 2018) (F.A. da Silva Jr. et al., 2018)

#### 4.3.2 Caracterização elétrica

Com este objetivo, a resposta elétrica de eletrodos poliméricos foi caracterizada por espectroscopia de impedância. Essa análise nos permitiu estudar a influência dos alótropos de carbono na resposta elétrica global dos compósitos usados como eletrodos. As partes real e imaginária da impedância para diferentes amostras (PU/CNT/PPy, PU/PPy, SP/PPy e SP/Grap/PPy) são comparadas na Fig. 4.3a e b, respectivamente. Como podemos ver que a

deposição direta de PPy em PU resulta em uma amostra com alta impedância ( $Z'$  na ordem de  $25\text{ M}\Omega$ ) em uma baixa faixa de frequência. Quando comparado com a amostra correspondente, mas com PPy depositado em PU/CNT, é possível identificar uma forte redução no nível geral de impedância que atinge valores na ordem de  $25\text{ k}\Omega$  na região de baixa frequência. Apesar desta forte redução na impedância (3 ordens de magnitude), foi anteriormente observado que a polimerização interfacial retorna compostos altamente condutores para diferentes aplicações (R.M. Lima et al., 2018). Como podemos ver na Fig. 4.3a, a impedância de SP/PPy é da ordem de  $120\ \Omega$ . Como esperado, a polimerização interfacial de PPy em grafite resulta em amostras muito condutoras - como a impedância de SP/Grap/PPy é da ordem de  $58\ \Omega$ , representando o melhor nível de condutividade. Com base na relação de Kramers-Kronig (P. Agarwal et al., 1995) (aplicada na parte real da impedância para prever erros em dados experimentais de parte imaginária) é possível confirmar que a variação mínima na parte real da impedância induz uma variação desprezível na parte imaginária da impedância - como pode ser visto na Fig. 4.3b - (característica de amostras altamente condutoras) - enquanto a alta impedância da amostra PU/PPy é seguida por um pico de relaxamento bem definido na parte imaginária - Fig. 4.3b. Para entender a forte variação do nível de impedância nas amostras, é preciso considerar as características moleculares e morfológicas de cada compósito.

Fig. 4.3 Parte real (a) e parte imaginária (b) da impedância de eletrodos (comparação de espectros na presença e ausência de camada ativa à base de carbono): (SP/PPy e SP/Grap/PPy) e (PU/PPy e PU/CNT/PPy).



Fonte: Elaborada pelo autor

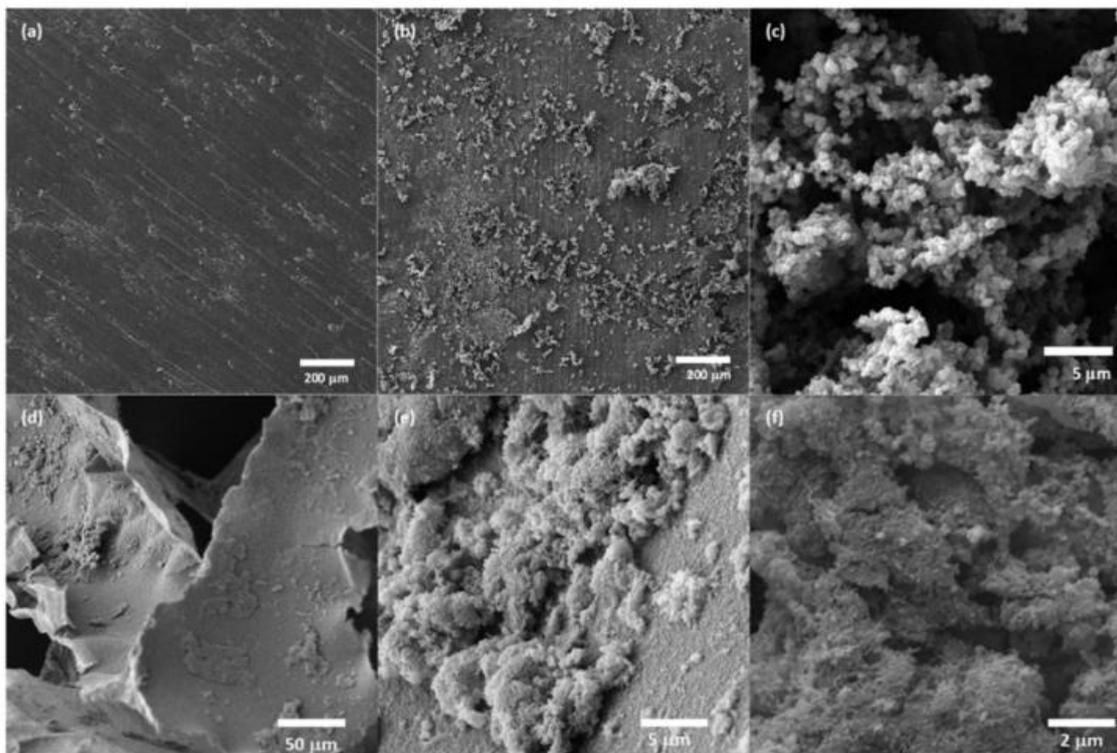
Em termos dos aspectos moleculares, como observado pela espectroscopia Raman, os compósitos produzidos pela metodologia interfacial apresentaram maior concentração de portadores de carga (bipolarons) se comparados aos *in situ* devido às características particulares de síntese (agente dopante e cinética de reação).

#### 4.3.3 Análise morfológica

Em relação aos aspectos morfológicos, o método de polimerização interfacial produz filmes que facilitam o transporte de carga no nível molecular inter e intra. Em contraste, a porosidade intrínseca das esponjas e as descontinuidades impedem o transporte da carga. Para obter uma melhor visão sobre as características morfológicas dos compósitos, exploramos as amostras por MEV. Na Fig. 4.4a, é mostrada a efetiva dispersão do grafite na lixa pela metodologia abrasiva. O filme resultante apresenta uma superfície lisa que reduz a rugosidade. A polimerização interfacial de PPy na superfície de SP/Grap resulta em uma fina camada polimérica uniforme sobre grafite com pequenos agregados devido ao processo contínuo de polimerização (Fig. 4.4b). Os agregados são conformados por grãos de tamanho sub-micrométrico, o que é típico para PPy como apresentado na Fig. 4.4c.

Para amostras baseadas em PU, é possível observar que a estrutura porosa do poliuretano oferece uma alta área de superfície para deposição de PPy. Como observado para amostras à base de lixa, a etapa inicial de polimerização cobre a superfície por uma camada fina de PPy, seguido por um passo de crescimento de grânulos de polímero condutor, como mostrado na Fig. 4.4 d, e e f - dispostos como agregados de grãos.

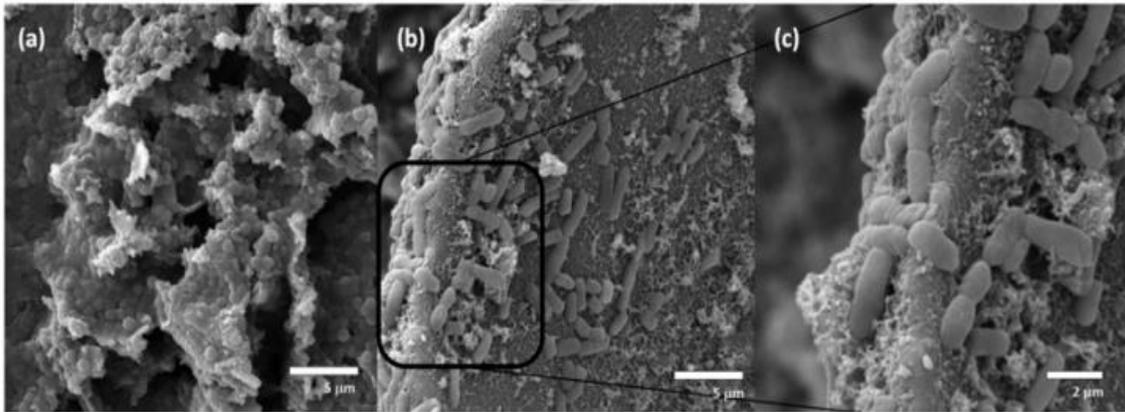
Fig 4.4. Imagens do MEV de eletrodos (a) SP / Grap; (b) e (c) SP / Grap / PPy com diferentes magnificações; (d) eletrodo de poliuretano recoberto por uma fina camada de PPy (e) e (f) agregados de PPy na camada de suporte PU / CNT.



Fonte: Elaborada pelo autor

Antes de realizar os ensaios antibacterianos, é importante analisar a interação entre bactérias e compósitos. Foram imersas amostras do compósito PU/CNT/PPy em meio de cultura bacteriana inoculado com *S. aureus* e *E. coli* por 24 h a 37 °C. Na Fig. 4.5, apresentamos as micrografias de áreas selecionadas de amostras de PU/CNT/PPy expostas a bactérias *S. aureus* e *E. coli*, onde é possível identificar a estrutura densa de bactérias nas formas planctônica e biofilmes (mostrada na Fig. 4.5a para *S. aureus* e Fig. 4.5b e c para *E. coli*).

Fig. 4.5. Imagens de eletrodos PU/CNT/PPy cobertos por biofilmes de *S. aureus* (a) e *E. coli* ((b) e (c)).



Fonte: Elaborada pelo autor

Para entender a interação entre polímeros e bactérias, deve-se considerar a carga do PPy e das bactérias, que são positivas e negativas, respectivamente. A origem da carga negativa em bactérias é um resultado da composição química em sua membrana que contem proteínas e ácidos teicóicos (A. El Jaouhari et al., 2017) (A. Varesano et al., 2013) (M.A. Salam et al., 2017) (E. Ju et al., 2013) (J. Upadhyay et al., 2015) (D.Q. Le et al., 2015) (S. Tokonami et al., 2012). Entretanto, a carga catiônica do polímero é o produto de cadeias poliméricas insaturadas balanceadas por um contra-ânion, que dá origem aos portadores de carga polarons e bipolarons gerados durante a polimerização oxidativa do PPy.

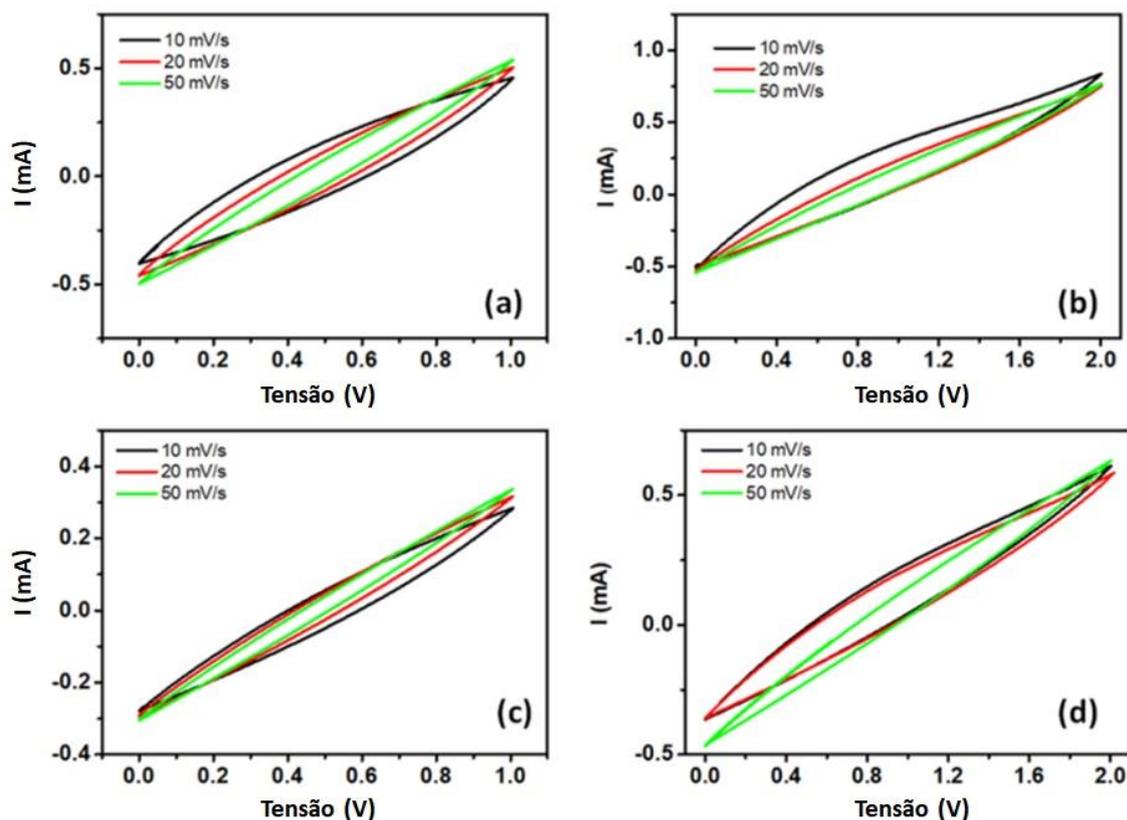
Sob tais condições, uma interação eletrostática entre os componentes ocorre e provoca uma possível ruptura da membrana externa e citoplasmática, resultando na morte celular (F. Siedenbiedel et al., 2012). No entanto, como a interação eletrostática não é seletiva, outras espécies iônicas presentes no meio de cultura ou excretadas pelas células mortas poderiam formar complexos, que contribuem para a incrustação da superfície do PPy. Dessa maneira, o desenvolvimento de um biofilme é possível, uma vez que a maioria das espécies adsorvidas fornece locais de ligação específicos para proteínas de superfície de células planctônicas (C. Blaszykowski et al., 2014), como na maioria das superfícies antibacterianas não-lixiviantes (S.B. Lee et al., 2004).

Portanto, é razoável supor que, ao controlar o estado de oxidação do PPy, seja possível melhorar sua atividade antibacteriana. A este respeito, uma forma exata de controlar o estado de oxidação é através da aplicação de um campo elétrico externo de modo a estabelecer um estado oxidado ou reduzido. Para

estudar o efeito do campo elétrico na atividade antibacteriana do PPy, foram utilizados dois eletrodos idênticos. Então, estabelecemos uma célula eletroquímica imergindo esses eletrodos em um meio de cultura a uma distância fixa e aplicamos três diferentes níveis de campo elétrico com uma fonte de tensão ( $V = 0\text{ V}$ ), ( $V = 1\text{ V}$ ) e ( $V = 2\text{ V}$ ), realizando duas séries diferentes de ensaios qualitativos e quantitativos. Os ensaios qualitativos consistiram na determinação dos halos de inibição em função do tipo de compósito e da resistência do campo elétrico, enquanto experimentos quantitativos implicaram a contagem de células viáveis em função do campo elétrico composto e do tempo de ação do campo externo.

O voltamograma correspondente de SP/Grap/PPy (a amostra mais condutora) em solução salina é apresentado na Fig. 4.6, na qual é comparada a resposta do eletrólito em diferentes tensões (0-1 V - Fig. 4.6a e 0-2 V - Fig. 4.6b) na presença de *E. coli* ( $10^6$  UFC) - com correspondentes tensão de 0-1 V - Fig. 4.6c e 0-2V - Fig. 4.6d. Esse resultado é esperado para uma célula simétrica à medida que os picos de oxidação e redução dos respectivos eletrodos de PPy são superpostos, um comportamento típico de PPy em eletrólitos neutros como solução salina. Por outro lado, não observamos nenhum processo irreversível associado à hidrólise da água ou oxidação de qualquer componente. Este fato pode estar associado à resistência intrínseca dos eletrodos de PPy e à separação entre eles na configuração celular que permitiu uma sobretensão em todo o circuito.

Fig. 4.6. Voltamogramas de eletrodos de SP/ Grap/ PPy em solução salina a diferentes taxas de varredura (10 mV/ s, 20 mV/ s e 50 mV/ s) para solução salina pura em diferentes tensões (0-1 V - a e 0-2 V - b) e na presença de *E. coli* ( $10^6$  CFU) - com correspondentes tensão de 0-1 V - c e 0-2 V - d.



Fonte: Elaborada pelo autor

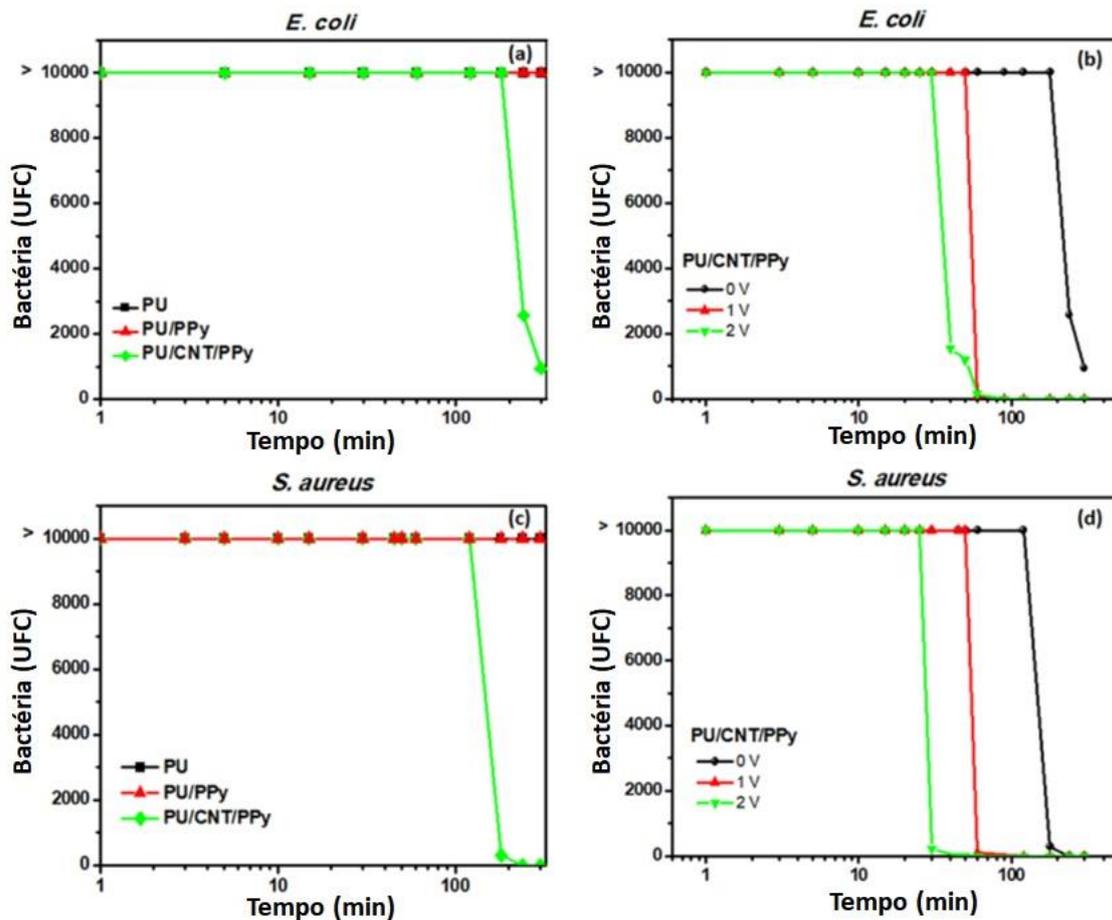
#### 4.3.4 Análises antibacteriana

##### 4.3.4.1 Tempo de morte de *S. aureus* e *E. coli* com 0 V, 1 V e 2 V.

Para quantificar a atividade antibacteriana dos eletrodos e a influência do campo elétrico no processo global, a contagem de colônias viáveis foi fornecida para amostras incubadas a 37 °C por 24 h em meio líquido após o estímulo de campo elétrico em diferentes intervalos de tempo ( $0\text{min} < t < 300\text{min}$ ). Na Fig. 4.7a e c, mostramos a influência de eletrodos no número de UFC de *E. coli* e *S. aureus* na ausência de campo elétrico. Como esperado, verificou-se atividade antibacteriana insignificante na resposta de suporte (PU). Além disso, uma invariância na UFC foi observada para a amostra de PU/PPy na escala de tempo de 300min. No entanto, o sistema PU/CNT/PPy retornou um número reduzido de células de *E. coli* viáveis em torno de 240 min (ver Fig. 4.7a), caracterizando uma aplicação promissora como agente antibacteriano. Os experimentos correspondentes com *S. aureus* seguiram o mesmo comportamento, mas o

compósito PU/CNT/PPy exibiu um tempo mais curto de 180min (ver Fig. 4.7c). Com base nesses achados, analisamos a resposta do eletrodo mais promissor (PU/CNT/PPy) sob influência de diferentes níveis de campo elétrico. As curvas da Fig. 4.7b e d confirmam que o limite para a atividade antibacteriana é em função do campo elétrico, uma vez que o tempo necessário para inibir o crescimento bacteriano é reduzido para 60min para *E. coli* ( $V = 2V$ ) e 30min para *S. aureus* ( $V = 2V$ ).

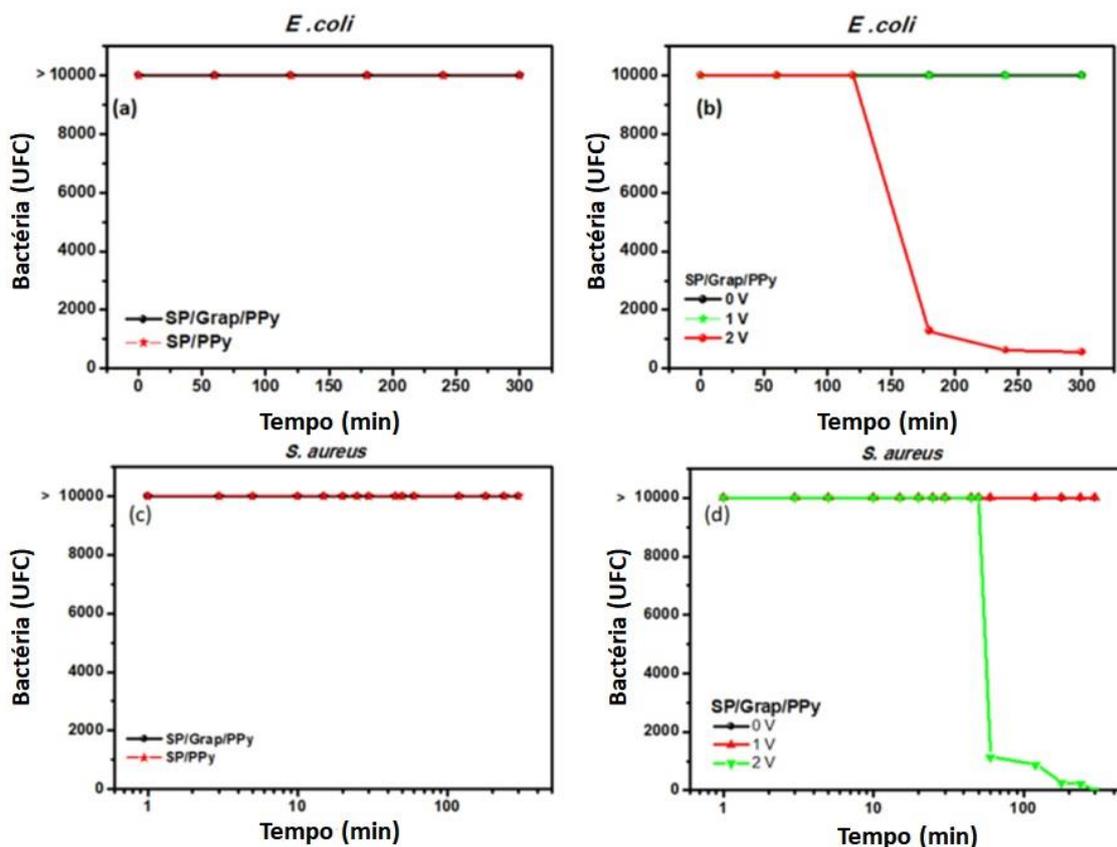
Fig. 4.7 (a) Colônias remanescente de *E. coli* em função do tempo de tratamento com PU, PU/PPy e PU/CNT/PPy na ausência de campo elétrico; (b) Influência de campo elétrico nas colônias remanescentes de *E. coli* tratadas com PU/CNT/PPy em crescente tensão; (c) Colônias remanescente de *S. aureus* em função do tempo de tratamento com PU, PU/PPy e PU/CNT/PPy na ausência de campo elétrico; (d) Influência de campo nas colônias restantes de *S. aureus* tratadas com PU/CNT/PPy em aumento de tensão.



Fonte: Elaborada pelo autor

Os resultados dos ensaios correspondentes realizados com os eletrodos de lixa confirmaram uma atividade antibacteriana menor ou nula para SP/Grap/PPy e SP/PPy contra *E. coli* (Fig. 4.8a) e *S. aureus* (Fig. 4.8c) na ausência de campo elétrico. Apesar desses resultados, estabelecemos o eletrodo SP/Grap/PPy como a amostra mais adequada a ser explorada em associação com o campo elétrico, devido às suas propriedades elétricas superiores (menor impedância dos eletrodos). Os resultados na Fig.4.8b e d correspondem à atividade de SP/Grap/PPy sob um campo elétrico contra *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Foi observado que a tensão de pelo menos 2V é necessária para atingir um tempo limiar antibacteriano da ordem de 150 min para *E. coli* e 60 min para *S. aureus*. Este fato pode estar associado à baixa impedância do SP/Grap/PPy que favorece uma alta corrente na célula durante o tratamento.

Fig. 4.8. (a) Colônias remanescente de *E. coli* em função do tempo de tratamento com SP/PPy e SP/Grap/PPy na ausência de campo elétrico; (b) Influência de campo nas colônias remanescentes de *E. coli* tratadas com SP/Grap/PPy em tensão crescente; (c) Colônias remanescente de *S. aureus* em função do tempo de tratamento com SP/PPy e SP/Grap/PPy na ausência de campo elétrico; (d) Influência de campo nas colônias remanescentes de *S. aureus* tratadas com SP/Grap/PPy no aumento da tensão.



Fonte: Elaborada pela autor

Para se ter uma ideia melhor de seu valor, medimos a resistência geral da célula com ambos os compósitos em reatores - na ausência de bactérias. A célula com SP/Grap/PPy revelou um valor de 4.80 k $\Omega$  enquanto a célula PU/CNT/PPy atingiu um valor na ordem de 7,94 k $\Omega$ . A diferente atividade exibida pelos compósitos é racionalizada pela morfologia de cada compósito.

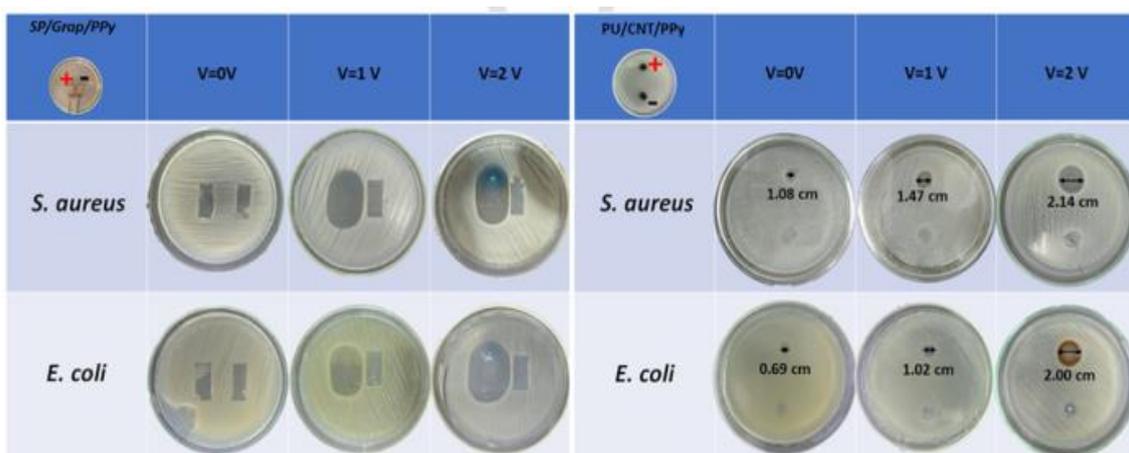
Os compósitos de esponja de PU possuem uma área superficial maior que a área limitada de SP/Grap/PPy, conseqüentemente uma maior quantidade de PPy e muito acesso para o meio aquoso. Em relação à eficácia contra bactérias, os compósitos PPy exibiram um melhor desempenho contra bactérias Gram-positivas, que podem estar associadas à ausência de membrana externa que simplifica a inativação.

#### 4.3.4.2 Testes de disco difusão

Os ensaios qualitativos (halos de inibição) foram realizados para amostras de PU/ CNT/ PPy e SP/ Grap/ PPy aplicadas contra *S. aureus* e *E. coli* em função

da intensidade de campo elétrico. Os resultados estão resumidos na Fig. 4.9. Em geral, o diâmetro do halo de inibição cresce com o aumento da força de campo ( $0 \text{ V/cm} < E < 0.5 \text{ V/cm}$ ), estabelecendo uma dependência da resposta do campo, esse comportamento é comum para compostos e bactérias. No entanto, o diâmetro do halo aumentou apenas para o ânodo (PPy oxidado), enquanto no cátodo permanece quase inalterável como na ausência de campo elétrico. Pode ser associado a diferentes mecanismos; no entanto, o grau de oxidação do PPy parece desempenhar um papel importante devido a um fornecimento constante de cargas positivas. Em contrapartida, o estado reduzido do polímero permite um contato mínimo com bactérias, neste caso, espera-se que as células bacterianas (espécies carregadas negativamente) sejam afastadas do cátodo em resposta a forças eletrostáticas e aceleradas em direção ao ânodo. Consequentemente, facilita o acesso de espécies negativamente carregadas em direção à superfície do PPy, melhorando sua atividade antibacteriana, com posterior ruptura e morte celular bacteriana. Além disso, espécies difusivas são aceleradas na direção oposta, favorecendo o aumento do halo de inibição.

Fig. 4.9 Halos de inibição de SP/Grap/PPy (a) e PU/CNT/PPy (b) contra *S. aureus* e *E. coli* sob ação do campo elétrico.



Fonte: Elaborada pelo autor

Um aspecto importante a ser relatado aos sistemas poliméricos antibacterianos acionados eletricamente refere-se à modulação no estado redox

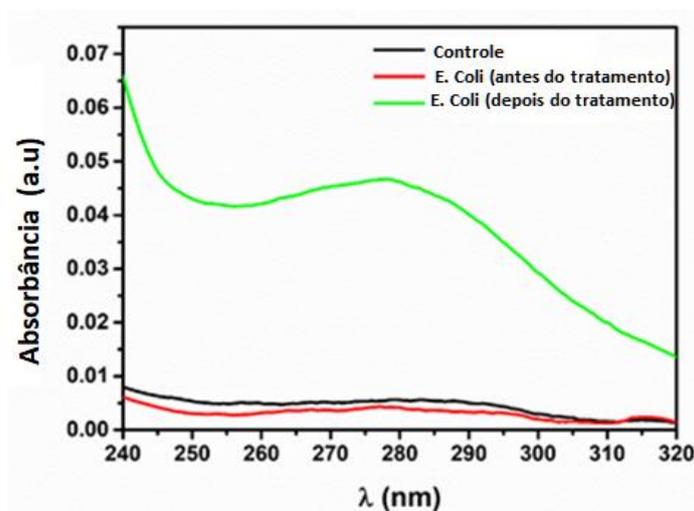
resultante. Se considerado um ensaio eletroquímico com eletrodos simétricos de polímeros condutores imersos em um eletrólito, é possível controlar o grau de oxidação/ redução dos eletrodos. Neste caso, os ânions migram para o ânodo para compensar a oxidação da cadeia polimérica, enquanto os cátions são transportados para o cátodo para preservar o equilíbrio de carga. Supõe-se que o PPy e as bactérias (com uma membrana carregada negativa) podem formar um complexo eletrostático de maneira semelhante aos polímeros catiônicos. A carga catiônica associada ao PPy está diretamente relacionada ao seu estado oxidado e deslocalizada em várias unidades monoméricas. A carga positiva pode estar presente na forma de cátions radicais (polarons) ou dication (bipolarons). Assim, as espécies catiônicas podem ser moduladas eletroquimicamente pela aplicação de um viés de tensão capaz de reduzir ou oxidar o PPy e conseqüentemente aumentar suas propriedades antibacterianas. Em um reator eletroquímico contendo bactérias e eletrodos de PPy, as células dispersas de bactérias tendem a ser progressivamente atraídas para a superfície do ânodo que fornece locais renováveis para a transferência de elétrons bacterianos. Além disso, contra-íons da estrutura polimérica migram em direção ao cátodo, criando halos de inibição dependentes do campo elétrico. Do ponto de vista discutido, é razoável supor que, controlando o estado de oxidação do PPy, é possível melhorar a sua atividade antibacteriana.

Mecanismos típicos de atividade antibacteriana de alguns materiais são baseados em processos disruptivos de membrana ((A.J. Mason et al., 2006) (Y. Wu et al., 2016), nos quais a interação de bactérias e material afeta a integridade da membrana e causa a lise bacteriana, provocando o vazamento de componentes intracelulares. A integridade das paredes celulares pode ser mapeada por microscopia eletrônica de transmissão ou por técnicas alternativas (como a técnica de absorção UV-vis) que explora a absorção de luz de componentes liberados de células em particular, a região UV (na faixa de 200–300nm) recebe atenção especial devido às características de pico de absorção de DNA/RNA (260nm / 280nm) (J.d.A. Barbosa et al., 2019) e proteínas (185–320nm) (S. Prasad et al., 2017).

Com base nisso, medimos a solução salina bacteriana antes e após o tratamento através de UV-Vis na região para identificar a presença de componentes intracelulares após o tratamento de bactérias com campo elétrico

(SP/ Grap/ PPy sob potencial de 2V por 2h). Os resultados apresentados na Fig. 4.10 confirmam a presença de componentes intracelulares após o tratamento (por comparação com o controle negativo - solução salina e solução bacteriana não tratada) - pico característico a 280 nm.

Figura 4.10 Espectro de UV-Vis para *E. coli* após tratamento de 2 V



Fonte: Elaborada pelo autor

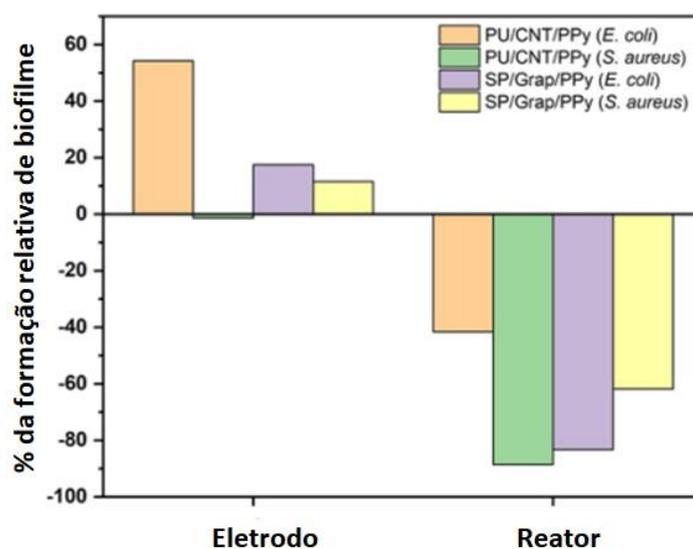
Esses resultados são evidências diretas de que os mecanismos de inibição bacteriana são baseados no rompimento da membrana, seguido pela liberação de componentes intracelulares para a solução.

#### 4.3.4.3 Atividade antibiofilme

Outro ponto a ser abordado refere-se à influência dos eletrodos nas propriedades de adesão do biofilme. Para avaliar a influência das camadas ativas (PPy/CNT e Grap/PPy) na formação de biofilme (eletrodos e reator) comparamos o % de adesão de biofilme em eletrodos e reator com os efeitos resultantes de eletrodos puros. Os resultados na Fig. 4.11 revelam que a incorporação de compósitos baseados em PPy afeta positivamente a formação de biofilme sobre eletrodos (apenas se observa variação insignificante em termos de experimento de controle para biofilmes de *E. coli* no sistema PU/CNT/PPy) - em todos os outros sistemas, foi observado o aumento da concentração

de biofilme. Isso reflete a carga positiva geral de eletrodos e a interação eletrostática de microrganismos em direção à sua superfície.

Fig. 4.11 Aumento da aderência relativa do biofilme em eletrodos e reatores em relação ao grau de formação de biofilme em eletrodos puros (poliuretano e lixa).



Fonte: Elaborada pelo autor

Para confirmar esta hipótese, foi realizada a contagem de *E. coli* viável em eletrodos de SP/Grap/PPy após o tratamento (2V por 2h). Os valores observados foram 125 UFC dispostos em eletrodo positivo enquanto 12 UFC foram dispostos em eletrodo negativo. Por outro lado, esse processo favorece um forte efeito inibitório da formação de biofilme no reator, chegando a uma redução na ordem de 90% para o *S. aureus*. Esses valores negativos confirmam que as propriedades antibiofílicas são vantagens adicionais para compósitos baseados em PPy.

O efeito antibacteriano intrínseco dos eletrodos é ativado pela interação eletrostática entre PPy e bactérias, favorecendo a redução na formação de biofilme nas paredes do reator, enquanto baixo campo elétrico controla o nível de oxidação do PPy e melhora a atividade antibacteriana dos eletrodos resultantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] XIE, X. et al. Environmental Science Carbon nanotube-coated macroporous sponge for microbial fuel cell electrodes. *Energy & Environmental Science*, v. 5, p. 5265–5270, 2012.
- [2] J.J. Alcaraz-Espinoza, H.P. de Oliveira, Flexible supercapacitors based on a ternary composite of polyaniline/polypyrrole/graphite on gold coated sandpaper, *Electrochim. Acta*, v. 274, p. 200–207, 2018.
- [3] F.A. da Silva Jr, C.M. de Araújo, J.J. Alcaraz-Espinoza, H.P. de Oliveira, Toward flexible and antibacterial piezoresistive porous devices for wound dressing and motion detectors, *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* V. 56, p. 1063–1072, 2018.
- [4] Z. Gu, C. Li, G. Wang, L. Zhang, X. Li, W. Wang, S. Jin, Synthesis and characterization of polypyrrole/graphite oxide composite by in situ emulsion polymerization, *J. Polym. Sci. B Polym. Phys.* v. 48, p. 1329–1335, 2010.
- [5] R.M. Lima, J.J. Alcaraz-Espinoza, F.A. da Silva Jr, H.P. de Oliveira, Multifunctional wearable electronic textiles using cotton fibers with polypyrrole and carbon nanotubes, *ACS Appl. Mater. Interfaces*. v. 10, p. 13783–13795, 2018.
- [6] P. Agarwal, M.E. Orazem, L.H. Garcia-Rubio, Application of measurement models to impedance spectroscopy III. Evaluation of consistency with the Kramers-Kronig relations, *J. Electrochem. Soc.* v. 142, p. 4159–4168, 1995.
- [7] A. El Jaouhari, A. El Asbahani, M. Bouabdallaoui, Z. Aouzal, D. Filotás, E. Bazzaoui, L. Nagy, G. Nagy, M. Bazzaoui, A. Albourine, Corrosion resistance and antibacterial activity of electrosynthesized polypyrrole, *Synth. Met.* v. 226, p. 15–24, 2017.

- [8] A. Varesano, C. Vineis, A. Aluigi, F. Rombaldoni, C. Tonetti, G. Mazzuchetti, Antibacterial efficacy of polypyrrole in textile applications, *Fibers Polym.* v. 14, p. 36–42, 2013.
- [9] M.A. Salam, A.Y. Obaid, R.M. El-Shishtawy, S.A. Mohamed, Synthesis of nanocomposites of polypyrrole/carbon nanotubes/silver nano particles and their application in water disinfection, *RSC Adv.* v. 7, p. 16878–16884, 2017.
- [10] E. Ju, Z. Li, M. Li, K. Dong, J. Ren, X. Qu, Functional polypyrrole–silica composites as photothermal agents for targeted killing of bacteria, *Chem. Commun.* v. 49, p. 9048–9050, 2013.
- [11] J. Upadhyay, A. Kumar, B. Gogoi, A. Buragohain, Antibacterial and hemolysis activity of polypyrrole nanotubes decorated with silver nanoparticles by an in-situ reduction process, *Mater. Sci. Eng. C.* v. 5, p. 8–13, 2015.
- [12] D.Q. Le, M. Takai, S. Suekuni, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of an observation platform for bacterial activity using polypyrrole flms doped with bacteria, *Anal. Chem.* v. 87, p. 4047–4052, 2015.
- [13] S. Tokonami, K. Saimatsu, Y. Nakadoi, M. Furuta, H. Shiigi, T. Nagaoka, Vertical immobilization of viable bacilliform bacteria into polypyrrole flms, *Anal. Sci.* v. 28, p. 319-319, 2012.
- [14] F. Siedenbiedel, J.C. Tiller, Antimicrobial polymers in solution and on surfaces: overview and functional principles, *Polymers.* v. 4, p. 46–71, 2012.
- [15] C. Blaszykowski, S. Sheikh, M. Thompson, Biocompatibility and antifouling: is there really a link?, *Trends Biotechnol.* v. 32, p. 61–62, 2014.
- [16] S.B. Lee, R.R. Koepsel, S.W. Morley, K. Matyjaszewski, Y. Sun, A.J. Russell, Permanent, nonleaching antibacterial surfaces. 1. Synthesis by atom transfer radical polymerization, *Biomacromolecules.* v. 5, p. 877–882, 2004.

- [17] A.J. Mason, C. Gasnier, A. Kichler, G. Prévost, D. Aunis, M.-H. Metz-Boutigue, B. Bechinger, Enhanced membrane disruption and antibiotic action against pathogenic bacteria by designed histidine-rich peptides at acidic pH, *Antimicrob. Agents Chemother.* v. 50, p. 3305–3311, 2006.
- [18] Y. Wu, J. Bai, K. Zhong, Y. Huang, H. Qi, Y. Jiang, H. Gao, Antibacterial activity and membrane-disruptive mechanism of 3-p-trans-coumaroyl-2-hydroxyquinic acid, a novel phenolic compound from pine needles of *Cedrus deodara*, against *Staphylococcus aureus*, *Molecules.* v. 21, p. 1084, 2016.
- [19] J.d.A. Barbosa, C.A. de França, J.J.d.S. Gouveia, G.V. Gouveia, M.M. da Costa, H.P. de Oliveira, Eudragit E100/poly (ethylene oxide) electrospun fibers for DNA removal from aqueous solution, *J. Appl. Polym. Sci.* p. 474-479, 2019.
- [20] S. Prasad, I. Mandal, S. Singh, A. Paul, B. Mandal, R. Venkatramani, R. Swaminathan, Near UV-visible electronic absorption originating from charged amino acids in a monomeric protein, *Chem. Sci.* v. 8, p. 5416–5433, 2017.

---

# CAPÍTULO 5

---

## Conclusões e perspectivas

Através dos estudos da atividade antibacteriana do polipirrol desenvolvida nesta tese, provamos através de todos os ensaios realizados que o polipirrol é um forte candidato no tratamento de doenças causadas por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*. Os resultados obtidos para todas as amostras revestidas com PPy foram eficientes na morte de bactérias gram positivas e gram negativas.

Resultados referentes ao tempo de morte do PPy solúvel para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* mostraram-se promissores para o desenvolvimento de novos dispositivos produzidos a base de nanopartículas de PPy, visto que com menos de 1 min não houve o crescimento de colônias remanescentes. Este processo é favorecido pela interação eletrostática estabelecida entre as nanopartículas de polipirrol e a parede celular bacteriana, causando a lise celular e conseqüentemente a morte da bactéria.

A eficiência da incorporação do PPy em dispositivos vestíveis (lenços de EDGT, esponjas de poliuretano e fibras de algodão) com o objetivo de serem aplicados como um agente antibacteriano foi investigada nesse trabalho. A incorporação do polipirrol em matrizes de EDGT/PEO mostraram-se eficientes na limpeza de placas de metal contaminadas com *Staphylococcus aureus* reduzindo significativamente a UFC. O uso do material eletrofiado favorece a distribuição homogênea do polímero ao longo da matriz e melhora a atividade devido aos sítios ativos disponíveis para adsorção física de bactérias (dispostas na superfície), podendo desta forma serem utilizadas na limpeza em superfícies hospitalares, higienização cirúrgica e curativos. Já a incorporação do polipirrol em matrizes de poliuretano revestidas com nanotubos de carbono revelaram ser importantes para o desenvolvimento de novos materiais multifuncionais, como protótipos de curativos e detectores de movimento humano com propriedades antibacterianas contra *S. aureus*, *E. coli* e *K. pneumoniae*. E a partir do revestimento do fio de algodão com nanotubos de carbono e polipirrol foi possível o desenvolvimento de uma linha condutora que pode ser aplicada como um dispositivo vestível com capacidade antibacteriana contra *S. aureus*.

Sendo o polipirrol um polímero condutor, provamos que seu potencial antimicrobiano é aumentado quando aplicamos baixas tensões (1V e 2V), utilizando como eletrodo esponjas de PU dopadas com CNT e PPy e lixas de papel com grafite e PPy, em bactérias gram positivas (*S. aureus*) e gram

negativas (*E. coli*). Estes resultados são precedentes para o desenvolvimento de dispositivos biomédicos baseados em polímeros eficientes que empregam tratamento elétrico e para o desenvolvimento de tratamentos inovadores para a remoção de bactérias.

Como perspectivas desse trabalho é necessário para aplicações biológicas a realização dos testes de toxicidade do PPy solúvel já que através dos experimentos realizados as nanopartículas de PPy mostraram total eficiência contra as bactérias testadas. Revelando um grande potencial para o desenvolvimento de dispositivos e medicamentos à base de PPy.

Os próximos estudos referentes ao efeito bioelétrico do PPy em bactérias é variar da tensão aplicada entre 1 V e 2 V em esponjas de PU/CNT/PPy avaliando a tensão mínima aplicada na inibição de biofilmes de *S. aureus* crescidos em materiais biológicos.

## **Produções decorrentes desta tese**



## Antibacterial behavior of polypyrrole: The influence of morphology and additives incorporation



Fernando A.G. da Silva Jr.<sup>a</sup>, Jefferson C. Queiroz<sup>a</sup>, Ericleiton R. Macedo<sup>a,b</sup>, Antonio W.C. Fernandes<sup>a</sup>, Naiana B. Freire<sup>a</sup>, Mateus M. da Costa<sup>a</sup>, Helinando P. de Oliveira<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Vale do São Francisco, 48902-300 Juazeiro, Bahia, Brazil

<sup>b</sup> Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Petrolina, 56302-320, Pernambuco, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 17 December 2015

Received in revised form 12 January 2016

Accepted 26 January 2016

Available online 28 January 2016

#### Keywords:

Polymer composites

Antibacterial activity

Polypyrrole

Nanocomposite

### ABSTRACT

The antibacterial behavior of polypyrrole (PPy) depends on a diversity of structural parameters such as surface area, aggregation level and additives (metal nanoparticles) incorporation. This paper summarizes the influence of different preparation procedures of PPy on action of resulting antibacterial composite against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. The bactericidal action has been assigned to morphology (size of polypyrrole nanoparticles). The electrostatic interaction established between polymer nanoparticles and bacteria provokes the bacterial cell death and returns advantages in comparison with conventional composites of polypyrrole decorated with metal nanoparticles.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.



## Synthesis and characterization of highly conductive polypyrrole-coated electrospun fibers as antibacterial agents



Fernando A.G. da Silva Jr., Jose J. Alcaraz-Espinoza, Mateus M. da Costa, Helinando P. de Oliveira\*

*Institute of Materials Science, Federal University of São Francisco Valley, 48920-310 Juazeiro, BA, Brazil*

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 24 November 2016

Received in revised form

20 March 2017

Accepted 29 July 2017

Available online 31 July 2017

#### Keywords:

Polypyrrole

Nanofibers

Bactericidal

*Staphylococcus aureus*

### ABSTRACT

Electrically conductive and antibacterial material was prepared via *in situ* chemical polymerization of polypyrrole on electrospun fibers of Eudragit L-100 and Eudragit L-100/polyethylene oxide, providing an “all-polymer” template for adsorption and removal of *Staphylococcus aureus* from surfaces. The optimization in the bactericidal activity of resulting wipes depends on type and concentration of oxidizing agent which affects the morphology and electrical properties of resulting material. We report the optimization provided by ferric chloride (oxidant) on bactericidal activity of wipes of Eudragit L-100/polypyrrole electrospun fibers. Promising results for *S. aureus* removal confirm the potential application of this polymeric material.

© 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## Toward Flexible and Antibacterial Piezoresistive Porous Devices for Wound Dressing and Motion Detectors

Fernando A. G. da Silva Jr., Clisman M. S. de Araújo, Jose J. Alcaraz-Espinoza, Helinando P. de Oliveira 

Institute of Materials Science, Federal University of Sao Francisco Valley, Juazeiro, BA 48920-310, Brazil  
Correspondence to: H. P. de Oliveira (E-mail: helinando.oliveira@univasf.edu.br)

Received 8 February 2018; accepted 24 April 2018; published online 00 Month 2018

DOI: 10.1002/polb.24626

**ABSTRACT:** Wearable and antibacterial porous devices are promising new multifunctional materials with a wide range of applications in wound dressing and human motion monitoring systems. The deposition of carbon nanotubes and polypyrrole coating on conventional elastomers (polyurethane) is a single-step procedure that results in a low-cost, highly conductive, and flexible piezoresistive material with pressure sensitivity of  $0.09 \text{ kPa}^{-1}$ , Gauge Factor of  $-10.3$ , high stability in response to different mechanical efforts and reversible netlike microcracks formation under moderate stretching deformation. The

resulting porous material provides direct detection of simple movements from human joints (knee, finger, and elbow) and intrinsic antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Escherichia coli*. © 2018 Wiley Periodicals, Inc. *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.* **2018**, *00*, 000–000

**KEYWORDS:** antibacterial; carbon nanotubes; motion detector; piezoresistive; polypyrrole

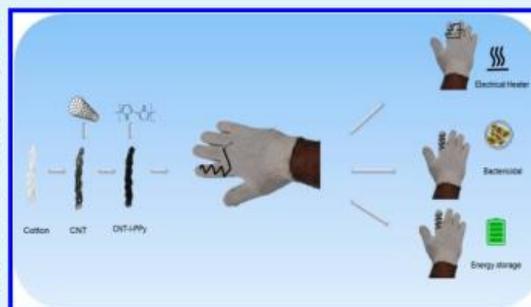
## Multifunctional Wearable Electronic Textiles Using Cotton Fibers with Polypyrrole and Carbon Nanotubes

Ravi M. A. P. Lima, Jose Jarib Alcaraz-Espinoza,<sup>✉</sup> Fernando A. G. da Silva, Jr., and Helinando P. de Oliveira\*<sup>✉</sup>

Institute of Materials Science, Federal University of São Francisco Valley, 48920-310, Juazeiro, Bahia, Brazil

**ABSTRACT:** Multifunctional wearable electronic textiles based on interfacial polymerization of polypyrrole on carbon nanotubes/cotton fibers offer advantages of simple and low-cost materials that incorporate bactericidal, good electrochemical performance, and electrical heating properties. The high conductivity of doped polypyrrole/CNT composite provides textiles that reaches temperature on order of 70 °C with field of 5 V/cm, superior electrochemical performance applied as electrodes of supercapacitor prototypes, reaching capacitance in order of 30 F g<sup>-1</sup> and strong bactericidal activity against *Staphylococcus aureus*. The combination of these properties can be explored in smart devices for heat and microbial treatment on different parts of body, with incorporated storage of energy on textiles.

**KEYWORDS:** supercapacitors, bactericidal, joule heating component, polypyrrole, textile





## Influência do polipirrol e dos níveis de salinidade na formação de biofilme em *Aeromonas* spp.<sup>1</sup>

Isabelle Caroline Pires<sup>2\*</sup>, Naiana B. Freire<sup>2</sup>, Antônio W.C. Fernandes<sup>2</sup>,  
Renata F.S. Souza<sup>2</sup>, Fernando A.G. Silva Jr<sup>2</sup>, Helinando P. Oliveira e Mateus M. Costa<sup>2</sup>

**ABSTRACT.** Pires I.C., Freire N.B., Fernandes A.W.C., Souza R.F.S., Silva Jr F.A.G., Oliveira H.P. & Costa M.M. 2018. [Influence of polypyrrole and salinity levels on biofilm formation in *Aeromonas* spp.]. Influência do polipirrol e dos níveis de salinidade na formação de biofilme em *Aeromonas* spp. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 38(8):1528-1536. Laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Rodovia BR-407 Km 12, Lote 543, Projeto de Irrigação Nilo Coelho, C1, Petrolina, PE 56300-000, Brazil. E-mail: [isabellecpires@hotmail.com](mailto:isabellecpires@hotmail.com)

Bacteria of the genus *Aeromonas* are highly disseminated pathogens in the aquatic environment, responsible for great economic losses in the pisciculture of several countries. They are opportunistic microorganisms and their pathogenicity is linked to some virulence factors, such as biofilm formation. Saline stress is one of the factors that favor the formation of these colonies and, consequently, the increase of infections. These infections, when associated with biofilm, are even more resistant to antimicrobials. In this context, polypyrrole stands out as an antimicrobial alternative because it has several therapeutic attributes and does not present toxicity to organisms. Thus, the objective of this study was to evaluate the susceptibility profile and the biofilm formation capacity of *Aeromonas* spp. associated with different levels of salinity and polypyrrole. The antibacterial activity of the isolates was determined and motility assays were performed with bacteria bearing the *fla* gene. The ability of sodium chloride and polypyrrole to interfere with biofilm formation has also been demonstrated. The results were evidenced with scanning electron microscopy. Concentrations of 2 and 3% of NaCl inhibited bacterial motility. In the biofilm formation, 83% of the bacterial isolates induced production at the concentration of 0.25%. Polypyrrole caused the death of all the isolates tested at the concentration of 125µg/mL. In addition, this compound decreased bacterial motility at concentrations of 0.25 to 3%, and no biofilm was produced. These results show that the different levels of NaCl influence in the formation of the biofilm favoring the persistence of the infection. This study also highlighted the potential of polypyrrole as a bactericidal agent, being an effective alternative to antimicrobial drugs for the treatment of infections caused by *Aeromonas* spp.

**INDEX TERMS:** Biofilm, *Aeromonas* spp., gene *fla*, motility, pisciculture, aquaculture, polymer, resistance, bacterioses.



## Low intensity electric field inactivation of Gram-positive and Gram-negative bacteria via metal-free polymeric composite



Fernando A.G. da Silva Jr., Jose Jarib Alcaraz-Espinoza, Mateus M. da Costa, Helinando P. de Oliveira\*

*Institute of Materials Science, Federal University of Sao Francisco Valley, 48920-310 Juazeiro, BA, Brazil*

### ARTICLE INFO

**Keywords:**

Polypyrrole  
Antibacterial  
Bacterial inactivation  
Biofilm

### ABSTRACT

The adhesion of pathogenic bacteria in medical implants and surfaces is a health-related problem that requires strong inhibition against bacterial growth and attachment. In this work, we have explored the enhancement in the antibacterial activity of metal free-based composites under external electric field. It affects the oxidation degree of polypyrrole-based electrodes and consequently the antibacterial activity of the material. A conductive layer of carbon nanotubes (graphite) was deposited on porous substrate of polyurethane (sandpaper) and covered by polypyrrole, providing highly conductive electrodes characterized by intrinsic antibacterial activity and reinforced by electro-enhanced effect due to the external electric field. The bacterial inhibition of composites was monitored from counting of viable cells at different voltage/time of treatment and determination of biofilm inhibition on electrodes and reactors. The external voltage on electrodes reduces the threshold time for complete bacterial inactivation of PPy-based composites to values in order of 30 min for *Staphylococcus aureus* and 60 min for *Escherichia coli*.



**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2018 014066 3

**Dados do Depositante (71)**

---

Depositante 1 de 1

**Nome ou Razão Social:** FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SAO  
FRANCISCO

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 05440725000114

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** AV JOSÉ DE SÁ MANIÇOBA S/N, CENTRO

**Cidade:** Petrolina

**Estado:** PE

**CEP:** 56304917

**País:** Brasil

**Telefone:** 87 21016793

**Fax:** 87 21019765

**Email:** nit@univasf.edu.br; vivianni.santos@gmail.com

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 10/07/2018 às  
16:13, Petição 870180059574

**Dados do Pedido**

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** LOÇÃO PARA TRATAMENTO DE DERMATITE EM CÃES E GATOS

**Resumo:** A presente patente de invenção refere-se à utilização de nanopartículas de polímeros condutores como elementos ativos em loções para tratamento de dermatite em cães e gatos. A elevada área superficial das nanopartículas produzidas em associação com o poder antibacteriano do polipirrol são aplicáveis em infecções superficiais em pequenos animais (cães e gatos), de forma a representar uma alternativa ao uso de nanopartículas metálicas (ouro ou prata) para o tratamento.

**Figura a publicar:** 1

**Dados do Pedido**

**Dados do Pedido**

**Dados do Pedido**

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 10/07/2018 às 16:13, Petição 870180059574

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

**Número do Processo:** BR 10 2019 005903 6

**Dados do Depositante (71)**

---

**Depositante 1 de 1**

**Nome ou Razão Social:** FUNDACAO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SAO  
FRANCISCO

**Tipo de Pessoa:** Pessoa Jurídica

**CPF/CNPJ:** 05440725000114

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Jurídica:** Instituição de Ensino e Pesquisa

**Endereço:** AV JOSÉ DE SÁ MANIÇOBA S/N, CENTRO

**Cidade:** Petrolina

**Estado:** PE

**CEP:** 56304917

**País:** Brasil

**Telefone:** 87 21016793

**Fax:** 87 21019765

**Email:** nit@univasf.edu.br; vivianni.santos@gmail.com

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 25/03/2019 às  
19:31, Petição 870190028614

## Dados do Pedido

---

**Natureza Patente:** 10 - Patente de Invenção (PI)

**Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):** SISTEMA ANTIBACTERIANO NANOESTRUTURADO À BASE DE POLÍMEROS CONDUTORES E PRATA PARA CONTROLE DE BIOFILMES DE SUPERBACTERIAS

**Resumo:** SISTEMA ANTIBACTERIANO NANOESTRUTURADO À BASE DE POLÍMEROS CONDUTORES E PRATA PARA CONTROLE DE BIOFILMES DE SUPERBACTERIAS A presente patente de invenção refere-se a um sistema antibacteriano que inclui nanopartículas de prata e polipirrol. O sistema desenvolvido apresenta-se como material para remoção de *Acinetobacter baumannii* e na interferência na formação do biofilme, que faz dos isolados testados fortes produtores a moderados produtores de biofilme, mostrando atividade antibiofilme.

**Figura a publicar:** 01

---

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 25/03/2019 às 19:31, Petição 870190028614

Petição 870190028614, de 25/03/2019, pág. 2/15