

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA

Mayko Born Machado

Avaliação do potencial antimicrobiano do polipirrol em filmes de  
poli(ácido láctico)

Porto Alegre, 2020.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

Mayko Born Machado

Avaliação do potencial antimicrobiano do polipirrol em filmes de poli(ácido láctico)

Trabalho de conclusão apresentado junto à atividade de ensino “Projeto Tecnológico - QUI” do Curso de Química Industrial, como requisito parcial para a obtenção do grau em Química Industrial.

Prof. Dr. Douglas Gamba  
Orientador

Dra. Fernanda Cortez Lopes  
Coorientadora

Porto Alegre, 2020.

## RESUMO

A resistência antimicrobiana, causada pela utilização de antibióticos, é causa de grande preocupação para a saúde de toda a população mundial. A perda de eficácia de medicamentos convencionais acaba por levar casos de infecção a terem um maior nível de complicações e de fatalidade, de modo que é necessário buscar novos meios para evitar esta resistência, com alternativas ao uso de antibióticos, e, também, combater os micro-organismos já resistentes. Desta maneira, com base na existência da eficácia de certos polímeros na atuação contra fungos e bactérias, este trabalho apresenta um estudo de três diferentes sínteses do polipirrol (PPy) para aplicação em filmes de poli(ácido láctico) (PLA) com o objetivo de inibir o crescimento bacteriano de *Staphylococcus aureus* e o crescimento fúngico de *Candida albicans*. As sínteses consistiram em alterar a dopagem do PPy a fim de verificar sua influência na inibição do crescimento dos micro-organismos, havendo sido preparados PPy sem dopagem, PPy dopado com ácido p-toluenossulfônico (p-TSA) e PPy dopado com nanopartículas de prata (AgNP). Todos os polímeros sintetizados e filmes preparados passaram por caracterizações através de análises instrumentais, como análise termogravimétrica (TGA), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (XRD) e espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier (ATR-FTIR), apresentando os resultados característicos esperados. Os filmes testados apresentaram resultados de inibição da adesão tanto para *C. albicans* quanto para *S. aureus*, entretanto é inconclusiva a atividade do PPy para este fim, sendo necessários mais estudos para sua confirmação.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, polipirrol, poli(ácido láctico), biopolímeros, antibacteriano, antifúngico.

## ABSTRACT

Antimicrobial resistance, caused by the use of antibiotics, is an issue of great concern for the health of the entire world population. The loss of efficacy of conventional drugs ends up leading cases of infection to have a higher level of complications and fatality, so it is necessary to look for new ways to avoid this resistance, with alternatives to the use of antibiotics, and to fight already resistant microorganisms. Thus, based on the existence of the efficacy of certain polymers in acting against fungi and bacteria, this work presents a study of three different polypyrrole (PPy) syntheses for application in polylactic acid (PLA) films in order to inhibit bacterial growth of *Staphylococcus aureus* and the fungal growth of *Candida albicans*. The syntheses consisted of altering the doping agents of PPy in order to verify its influence in inhibiting the growth of microorganisms, having been prepared PPy without doping, PPy doped with p-toluenesulfonic acid (p-TSA) and PPy doped with silver nanoparticles (AgNP). All synthesized polymers and prepared films underwent characterizations through instrumental analyzes, such as thermogravimetric analysis (TGA), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD) and attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR), presenting the expected characteristic results. The tested films showed adhesion inhibition results for both *C. albicans* and *S. aureus*, however PPy activity for this purpose is inconclusive, and further studies are needed to confirm it.

Keywords: antimicrobial activity, polypyrrole, polylactic acid, biopolymers, antibacterial, antifungal.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição dos filmes. ....	23
Tabela 2 - Massas de monômero utilizadas, dos produtos das reações e de PPy obtido para cada método e rendimento das reações. ....	30
Tabela 3 - Perdas de massa dos polímeros sintetizados e respectivas temperaturas com maior taxa perda de massa. ....	30
Tabela 4 - Ângulo de surgimento dos picos na XRD. ....	33
Tabela 5 - Relação entre os números de onda dos picos de cada composto. ....	35
Tabela 6 - Espessura média (EM) dos filmes e desvio padrão (DP) das medidas. ....	39
Tabela 7 - Perdas de massa dos filmes preparados e suas respectivas temperaturas com maior taxa de perda de massa. ....	40
Tabela 8 - Valores obtidos para $T_g$ e $T_m$ a partir dos dois ciclos de aquecimento das análises de DSC para os filmes preparados. ....	44
Tabela 9 - Custos dos materiais para as sínteses dos PPy. ....	49
Tabela 10 - Custos de produção dos filmes. ....	50
Tabela 11 - Custos dos equipamentos para a produção dos filmes. ....	50

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Provável mecanismo de reação de polimerização do pirrol.....	15
Figura 2 - Metodologias empregadas para a obtenção do polímero polipirrol com três diferentes dopantes.....	27
Figura 3 - Meio reacional do produto de M3 após cinco dias de reação. Em destaque, a presença de pequenos agregados de partículas de prata.....	28
Figura 4 - Aglomerados de PPy/AgNP com prata incrustada.....	29
Figura 5 - Termogramas de TGA para os polímeros sintetizados.....	31
Figura 6 - Padrões comparativos de XRD para os polímeros (a) PPy/FeCl <sub>3</sub> , (b) PPy/p-TSA e (c) PPy/AgNP.....	32
Figura 7 - Termogramas obtidos por DSC de para os dois ciclos de aquecimento (C1 e C2) das amostras de PPy/p-TSA e PPy/AgNP.....	34
Figura 8 - Espectros de infravermelho dos polímeros PPy/FeCl <sub>3</sub> , PPy/p-TSA e PPy/AgNP.....	35
Figura 9 - Imagens dos primeiros filmes de (a) HEC-PPy/FeCl <sub>3</sub> e (b) PLA-PPy/FeCl <sub>3</sub> preparados como testes.....	37
Figura 10 - Imagens dos filmes após a evaporação do solvente e secagem em estufa: (a) M2 PLA10, (b) M2 PLA25 e (c) M2 PLA50.....	38
Figura 11 - Termogramas dos filmes M2 PLA10 e M2 PLA25.....	40
Figura 12 - Termograma dos filmes PLA branco e PLA+SPAN.....	41
Figura 13 - Comparação entre os termogramas de DSC para os ciclos 1 e 2 dos filmes (a) PLA branco e (b) PLA+SPAN, respectivamente.....	42
Figura 14 – Termogramas de DSC do segundo ciclo de aquecimento para os filmes contendo (a) PPy/FeCl <sub>3</sub> e (b) PPy/p-TSA em comparação ao PLA+SPAN, isento de PPy.....	44
Figura 15 - Comparação entre os espectros de infravermelho obtidos por refletância total atenuada entre os filmes PLA e PLA+SPAN.....	45
Figura 16 - Comparação entre os espectros de infravermelho para os filmes contendo a) 10 mg de PPy, b) 25 mg de PPy e c) 50 mg de PPy obtidos pelos diferentes métodos de síntese.....	46
Figura 17 - Resultados do ensaio de inibição da adesão bacteriana da <i>S. aureus</i> ...47	
Figura 18 - Resultados do ensaio de inibição da adesão fúngica de <i>C. albicans</i> .....	48

## LISTA DE ABREVIATURAS

AgNP: nanopartículas de prata

APS: persulfato de amônio

PHA: polihidroxialcanoatos

PLA: poli(ácido láctico)

PPy: polipirrol

p-TSA: ácido p-toluenossulfônico

## LISTA DE SIGLAS

C1: ciclo 1

C2: ciclo 2

DP: desvio padrão

DSC: calorimetria exploratória diferencial

EM: espessura média

FTIR: espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier

HEC: hidroxietil celulose

INPI: Instituto Nacional da Propriedade Industrial

LB: Luria Bertani

M1: método 1

M2: método 2

M3: método 3

OMS: Organização Mundial da Saúde

SAMR: *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

SDS: dodecil sulfato de sódio

T<sub>g</sub>: temperatura de transição vítrea

TGA: análise termogravimétrica

T<sub>m</sub>: temperatura de fusão

UFC: unidades formadores de colônia

UV: ultravioleta

WIPO: *World Intellectual Property Organization*

## Sumário

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1 Resistência antimicrobiana: situação atual e alternativas</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2 Atividade antimicrobiana de polímeros</b> .....	<b>13</b>
2.2.1 Polímeros catiônicos .....	14
2.2.1.1 Polipirrol como agente antimicrobiano.....	14
2.2.1.2 Dopagem do PPy e seu efeito na atuação contra bactérias .....	16
<b>3 IMPACTO TECNOLÓGICO</b> .....	<b>17</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
<b>4.1 Objetivo geral</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>19</b>
<b>5 METODOLOGIA</b> .....	<b>20</b>
<b>5.1 Materiais</b> .....	<b>20</b>
<b>5.2 Síntese do PPy</b> .....	<b>20</b>
5.2.1 Método 1 - FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O (M1) .....	20
5.2.2 Método 2 - APS/p-TSA (M2) .....	21
5.2.3 Método 3 - AgNO <sub>3</sub> /SDS (M3) .....	22
<b>5.3 Preparo dos filmes de PLA</b> .....	<b>23</b>
<b>5.4 Caracterizações</b> .....	<b>24</b>
5.4.1 Espessura dos filmes .....	24
5.4.2 Análise termogravimétrica (TGA) .....	24
5.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) .....	24
5.4.1 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier (ATR-FTIR) .....	25
5.4.2 Difração de raios X (XDR) .....	25
5.4.3 Atividade antibacteriana .....	25

5.4.4 Atividade antifúngica .....	26
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>6.3 Síntese e caracterização do PPy .....</b>	<b>27</b>
6.3.1 Observações referentes às reações.....	27
6.3.2 Rendimento das reações .....	29
6.3.3 Análise termogravimétrica .....	30
6.3.4 Difração de raios X.....	31
6.3.5 Calorimetria exploratória diferencial.....	33
6.3.6 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier.....	34
<b>6.4 Preparo e caracterização dos filmes.....</b>	<b>36</b>
6.4.1 Testes iniciais e preparo dos filmes .....	36
6.4.2 Espessura dos filmes .....	38
6.4.3 Análise termogravimétrica.....	39
6.4.4 Calorimetria exploratória diferencial.....	41
6.4.5 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier.....	45
6.4.6 Atividade antibacteriana.....	46
6.4.7 Atividade antifúngica .....	48
<b>7 CUSTOS .....</b>	<b>49</b>
<b>8 CONCLUSÕES .....</b>	<b>51</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>52</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com a utilização de antibióticos, inclusive de forma incorreta ou desnecessária, tem havido um crescente aumento da resistência de micro-organismos patógenos a estes agentes antimicrobianos. Este aumento de resistência causa, dentre outras consequências, o aumento de casos fatais de infecções em todo o planeta. Desta maneira, torna-se imprescindível a busca por novos meios de combate a micro-organismos, tanto para evitar o aumento da resistência microbiana quanto para desenvolver a capacidade de combate a micro-organismos já resistentes.

Alguns dos possíveis meios de combate a micro-organismos incluem a utilização de polímeros. Então, partindo-se do princípio da existência da eficácia de alguns polímeros catiônicos como bactericidas e agentes antibiofilme, procurou-se preparar filmes poliméricos contendo diferentes quantidades de um polímero catiônico: o polipirrol (PPy). Para a seleção da base do filme foram efetuados alguns testes e, devido à sua disponibilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade foi selecionado o poli(ácido láctico) (PLA).

Os polímeros preparados através de diferentes métodos, bem como os filmes, foram caracterizados físico-quimicamente através de análises instrumentais, como infravermelho (IV) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Ainda, os filmes foram submetidos a testes microbiológicos a fim de verificar sua eficiência na inibição do crescimento de micro-organismos selecionados.

Os filmes de PLA/PPy preparados atuariam como uma barreira física para micro-organismos em lesões cutâneas e/ou em embalagens de produtos, com o PPy sendo responsável pela atividade antimicrobiana e antibiofilme, auxiliando no combate a micro-organismos resistentes, evitando o uso de antibióticos e a propagação de infecções.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Resistência antimicrobiana: situação atual e alternativas

Os antibióticos são um recurso precioso capaz de visar especificamente as infecções bacterianas. Desde a descoberta acidental da penicilina, em 1928, os antibióticos têm sido designados como "medicamentos milagrosos", ajudando a salvar centenas de milhões de pessoas. Atualmente, o uso de antibióticos é bastante amplo e engloba quase todos os aspectos da nossa sociedade, incluindo os cuidados de saúde, a indústria alimentícia e a agricultura. Isto torna difícil imaginar um mundo desprovido de substâncias tão fundamentais (Hall, 2020). No entanto, as bactérias continuam a desenvolver mecanismos de resistência ao uso de antibióticos. A resistência antimicrobiana foi classificada como uma das dez maiores ameaças à saúde mundial (ARANDA, 2019). Em um estudo realizado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em vinte e dois países, as bactérias *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Salmonella spp* foram as que, mais comumente, apresentaram resistência a antibióticos (OMS, 2018). As bactérias resistentes a antibióticos, também conhecidas como superbactérias, são responsáveis pela morte de cerca de 700 mil pessoas por ano e estima-se que em 2050 este número possa chegar a 10 milhões de mortes anuais (WILLYARD, 2017). Ainda, a *S. aureus* resistente à meticilina (SAMR) é a bactéria causadora de infecções da pele mais comum nos Estados Unidos (DHAR, 2019).

Outro cenário que causa preocupação está relacionado a doenças causadas por fungos, as quais ameaçam não apenas o fornecimento mundial de alimentos, mas também são responsáveis por milhares de infecções em humanos, tanto nos países em desenvolvimento como nos desenvolvidos (XUE, 2020). As doenças fúngicas variam muito em gravidade, desde relativamente pequenas infecções da pele e das mucosas, a severas infecções com risco de vida que afetam múltiplos órgãos. Sintomas de doenças fúngicas são muitas vezes semelhantes aos de outras infecções, resultando não só em atrasos no diagnóstico e tratamento, mas também em despesas médicas desnecessárias (Benedict, 2019). Nos Estados Unidos, estima-se um custo de U\$ 7,2 bilhões com despesas médicas relacionadas a

doenças fúngicas. Dentre as espécies de fungos mais comuns a afetarem a saúde humana podem-se citar as do tipo *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus*. Particularmente, o fungo *Candida albicans* é bastante conhecido como um “parceiro” intrínseco da microbiota humana. Entretanto, este mesmo micro-organismo também é um agente primário causador de infecções na corrente sanguínea e que podem ameaçar a vida de um paciente. Assim como para as bactérias, fungos também podem desenvolver resistência a antifúngicos, como é o caso de algumas espécies de *Candida* de gêneros diferentes das *albicans* que estão apresentando níveis preocupantes de resistência às drogas utilizadas atualmente (XUE, 2020).

O surgimento de micro-organismos resistentes está muito relacionado ao uso indevido e/ou incompleto de medicamentos que os combatem, como antibióticos, antifúngicos, antivirais ou antiparasíticos. Como resultado, estes agentes patógenos irão gradualmente se adaptando a estes compostos e, por fim, adquirindo resistência a eles. Além disso, os efeitos destes compostos são apenas temporários, sendo requisitadas novas aplicações para a manutenção do efeito (Rai, 2009). No intuito de reduzir a utilização e dosagem de antimicrobianos, se faz necessário encontrar novas alternativas que possam atuar de forma antecipada no combate a estes micro-organismos, a fim de evitar que adquiram resistência aos tratamentos mais eficazes conhecidos atualmente.

Alguns exemplos que vêm sendo estudados são as utilizações de anticorpos (PALLIYIL et al., 2014), de probióticos, de vacinas (KOTZAMPASSI; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, 2012) e, para o caso de prevenção e tratamento de infecções cutâneas, de filmes poliméricos na forma de curativos. Estes materiais podem atuar na liberação controlada de medicamentos incorporados ao polímero (KENAWY et al., 2002a) ou mesmo como princípio ativo, como no caso de polímeros modificados ou eletrofiados (KENAWY; ABDEL-FATTAH, 2002) e também de alguns polímeros catiônicos, como a quitosana (MATICA et al., 2019).

Além do combate a infecções já instaladas, em um mundo onde todos os tipos de produtos podem chegar a qualquer lugar, existe também uma preocupação com a propagação de micróbios através de bens e produtos. Desta maneira, torna-se importante diminuir o crescimento microbiano em equipamentos e produtos, principalmente em alimentos embalados. Dois dos métodos mais amplamente

pesquisados neste sentido são os filmes e os revestimentos poliméricos. (OGUNSONA et al., 2020).

## 2.2 Atividade antimicrobiana de polímeros

Agentes antimicrobianos poliméricos, quando comparados a outros meios de prevenção e tratamento de infecções cutâneas, possuem algumas vantagens, como serem não-voláteis, não permearem a pele e serem, de maneira geral, quimicamente estáveis. Ainda, eles oferecem a possibilidade de aumentar a eficiência de alguns agentes antimicrobianos já existentes e, desta maneira, têm sido vistos como uma alternativa a tratamentos convencionais para certos tipos de infecções (KENAWY et al., 2002a; KENAWY; WORLEY; BROUGHTON, 2007).

Uma das maneiras mais convencionais para a utilização de polímeros com atividade antimicrobiana é em forma de filmes, e estes podem ser desenvolvidos para diversas formas de atuação contra micro-organismos, sendo mais comumente utilizados para a liberação controlada de medicamentos (*drug delivery*) (NOEL et al., 2008), sofrendo a adição de algum componente, como nanopartículas de prata (AgNP), que seja capaz de inibir o desenvolvimento de bactérias (KRAŚNIEWSKA; GALUS; GNIEWOSZ, 2020) ou tendo suas características alteradas para que atuem diretamente no combate às infecções, como o PLA eletrofiado (BI et al., 2020).

Dentro desta perspectiva, o PLA vem sendo largamente estudado, tanto no meio acadêmico quanto no meio industrial, como estabilizador e carregador de vários tipos de moléculas. Como exemplo para utilização na área da medicina, tem-se a membrana de PLA contendo carvacrol, que tem a capacidade de reduzir a produção dos biofilmes de *S. aureus* e de *C. albicans* em até 90 % após exposição de 144 h (SCAFFARO et al., 2018). A redução dos biofilmes é importante, pois cerca de 80 % das infecções no corpo humano lhes são associadas, além de que têm a função de proteger os micro-organismos neles presentes, tornando-os de 10 a 1.000 vezes mais resistentes a agentes antimicrobianos do que suas contrapartes planctônicas (DAVIES, 2003; MAH et al., 2003).

Também tem ganhado evidência a aplicação de filmes de PLA com atividade antimicrobiana para embalagens de alimentos (SCAFFARO et al., 2018), já tendo

sido demonstrada a eficácia de filmes de PLA contendo Proallium® contra *Enterobacteriaceae*, bactérias aeróbias, leveduras e mofos em alfaces (LLANA-RUIZ-CABELLO et al., 2016).

### 2.2.1 Polímeros catiônicos

Sendo que muitos tecidos biológicos são sensíveis a estímulos e campos elétricos, os polímeros condutores têm chamado a atenção para várias aplicações nas áreas da biologia e da medicina. Alguns exemplos são a utilização para engenharia de tecidos, próteses neurais, biossensores (GUIMARD; GOMEZ; SCHMIDT, 2007) e tratamento de lesões cutâneas (KHAN et al., 2020). Ainda, como meio de evitar a formação de biofilmes, têm sido estudados diversos compostos de caráter catiônico, dentre eles surfactantes (SIMÕES; PEREIRA; VIEIRA, 2005), peptídeos (DIAZ et al., 2016) e polímeros (KHAN et al., 2020).

Além da possibilidade de evitar e combater a formação de biofilmes, polímeros catiônicos podem também atuar na eliminação de bactérias planctônicas (TAKAHASHI; NADRES; KURODA, 2017). O modo de atuação de polímeros catiônicos para a eliminação de agentes microbianos segue as seguintes etapas elementares (KENAWY et al., 2002b):

- a) Adsorção à superfície da célula bacteriana;
- b) Difusão através da parede da célula;
- c) Ligação à membrana citoplasmática
- d) Ruptura da membrana citoplasmática;
- e) Liberação dos constituintes do citoplasma, como DNA e RNA;
- f) Morte da célula.

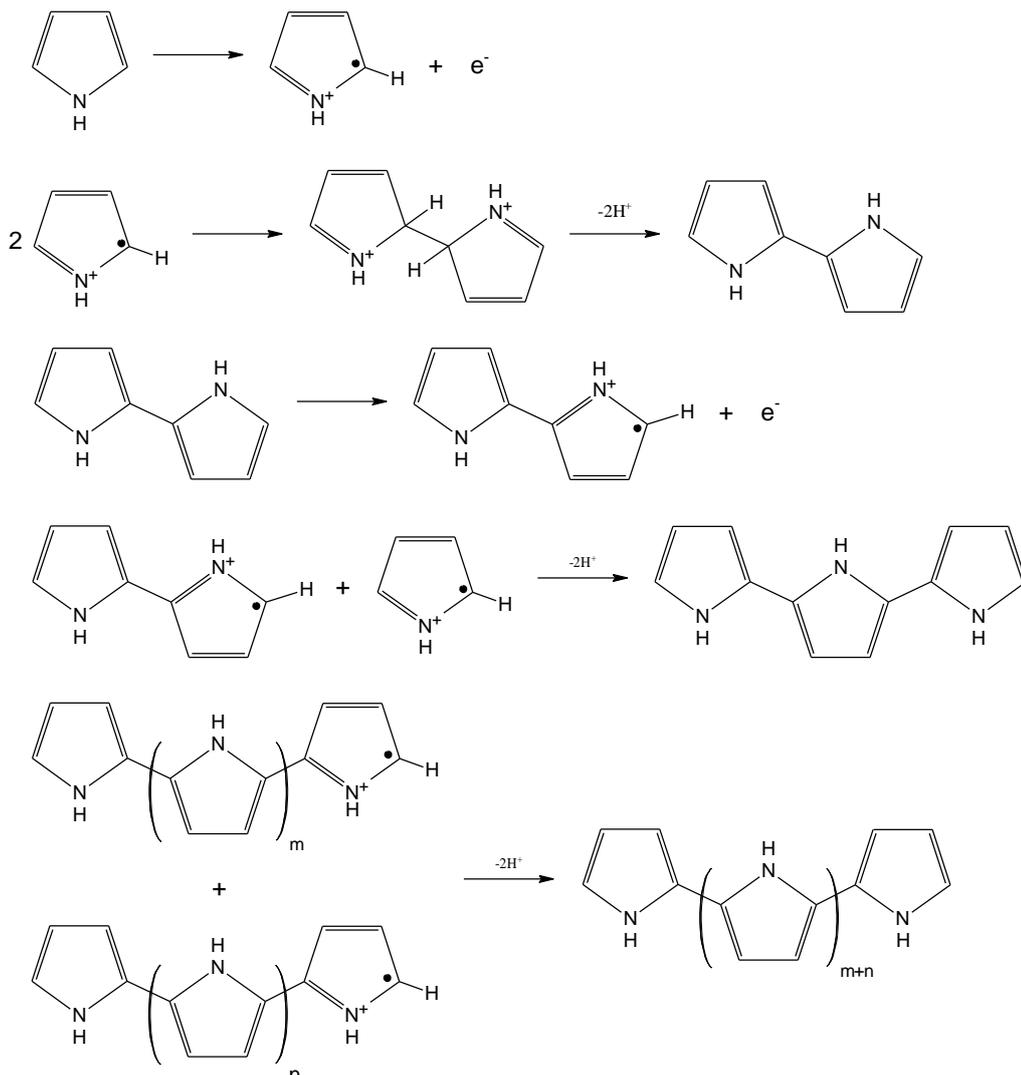
#### 2.2.1.1 Polipirrol como agente antimicrobiano

O PPy possui cargas positivas em sua cadeia principal, sendo classificado como um polímero catiônico (LI; BAI; SHI, 2009). Dentre os polímeros condutores com ligações duplamente conjugadas recentemente estudados, ele tem chamado atenção devido à facilidade da sua síntese, boa estabilidade ao ambiente e condutividade mais alta que de muitos outros polímeros condutores (CHOUGULE et

al., 2011). Além destas características, sua citocompatibilidade o torna também um dos biomateriais mais pesquisados (GUIMARD; GOMEZ; SCHMIDT, 2007).

A síntese do PPy, com seu mecanismo genericamente representado na figura 1, ocorre através da polimerização oxidativa do pirrol (LI; BAI; SHI, 2009), podendo ser efetuada com a utilização de diversos agentes oxidantes e em diferentes meios. Uma das maneiras mais comuns de preparo em laboratório é em meio aquoso com a utilização de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) como oxidante, podendo ser utilizado também um tensoativo, como o P123 (RAYNALD et al., 2019). Alternativamente, podem ser empregados agentes oxidantes como o persulfato de amônio (APS) (ALVA et al., 2016) e o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) (KIANI; NOURIZAD; NOSRATI, 2018; LIU et al., 2015).

Figura 1 - Provável mecanismo de reação de polimerização do pirrol.



Fonte: TAN; GHANDI, 2013.

Em meio às aplicações do PPy na área biológica está a sua potencial ação antimicrobiana, que tem sido estudada na forma de revestimentos tanto para tecidos, chegando a uma eficácia de 100 % na eliminação de bactérias (SANCHEZ RAMIREZ et al., 2019; VARESANO et al., 2013), como para outros materiais, como o aço carbono. Neste último caso o revestimento polimérico, além da função bactericida, induz a uma maior resistência à corrosão (NAUTIYAL et al., 2018).

A atuação do PPy como bactericida se dá, provavelmente, através do mecanismo comum aos polímeros catiônicos citado anteriormente (SANCHEZ RAMIREZ et al., 2019).

#### 2.2.1.2 Dopagem do PPy e seu efeito na atuação contra bactérias

Além da utilização em sua forma original, o PPy pode ser dopado a fim de alterar suas propriedades, incluindo a eficiência contra micro-organismos (LIU et al., 2015). Um dos exemplos mais amplamente estudados é a dopagem com ácido p-toluenossulfônico (p-TSA), que pode ser realizada durante polimerização oxidativa através da utilização de APS como agente oxidante, formando o sistema PPy/p-TSA (ALVA et al., 2016). Outro exemplo de dopagem do PPy é com nanopartículas de prata (AgNP). Neste caso a polimerização oxidativa ocorre com a utilização de  $\text{AgNO}_3$  como agente oxidante e o dodecil sulfato de sódio (SDS) como emulsificante, formando AgNP durante a reação, tendo como resultado o PPy/AgNP, que apresenta atividade bactericida contra a *E. coli* (KIANI; NOURIZAD; NOSRATI, 2018; LIU et al., 2015).

### 3 IMPACTO TECNOLÓGICO

Polímeros com propriedades antimicrobianas não são uma novidade no mercado, sendo produzidos por diversas empresas, como a francesa Novacel, que produz um filme transparente de poliolefinas com eficiência microbicida de até dez dias (NOVACEL, 2007), ou a SCS, dos Estados Unidos, que produz o revestimento microRESIST® à base de parileno, principalmente utilizado em equipamentos médicos (SCS, 2018). Apesar disso, estima-se que este mercado cresça de US\$ 37 bilhões em 2020 para US\$ 60 bilhões em 2025 (MARKETSANDMARKETS, 2020).

Outro mercado que tem crescido é o de polímeros biodegradáveis, com a BASF, por exemplo, realizando e intensificando pesquisas neste ramo há mais de trinta anos (BASF, [s.d.]). Dois dos mais promissores destes polímeros são os polihidroxicanoatos (PHA) e o PLA, havendo para este segundo uma capacidade produtiva de mais de 360.000 t em 2019 e 2020 (JEM; TAN, 2020).

Com o objetivo do projeto de produzir um filme de PLA contendo um aditivo com potencial antimicrobiano, realizou-se a pesquisa de patentes relacionadas a este fim nas bases de dados INPI (Instituto Nacional da Propriedade Intelectual), Derwent Innovation Index e WIPO (*World Intellectual Property Organization*) Patentscope. Os termos buscados foram “poli(ácido láctico) antimicrobiano” (“*antimicrobial polylactic acid*”), “polipirrol antimicrobiano” (“*antimicrobial polypyrrole*”) e “poli(ácido láctico) polipirrol” (“*polylactic acid polypyrrole*”).

Na base INPI não foram encontrados resultados para nenhum dos termos pesquisados. Já as bases Derwent e WIPO apresentaram, respectivamente, 48 e 83 resultados para os termos “*antimicrobial polylactic acid*”, 0 e 3 resultados para “*antimicrobial polypyrrole*” e 5 e 14 resultados para “*polylactic acid polypyrrole*”, retornando esta última pesquisa dois resultados considerados relevantes para este trabalho:

1. CN109485888 - POLYLACTIC ACID-POLYPYRROLE COMPOSITE ANTIBACTERIAL FILM AND PREPARATION METHOD THEREOF
2. CN109369941 - POLYLACTIC ACID-POLYPYRROLE/SILVER COMPOSITE ANTIBACTERIAL FILM AND PREPARATION METHOD THEREOF

A primeira patente é referente a um filme antibacteriano composto por PLA e PPy, enquanto a segunda trata de um filme semelhante, mas com adição de prata, ambos assuntos aqui abordados. Entretanto, como as patentes estão em mandarim, não foi possível verificar as semelhanças ou divergência com este trabalho.

Desta maneira, através da utilização do PLA e do PPy, que são dois materiais pouco explorados em conjunto para este fim, visa-se a ampliação da gama de possibilidades para o combate a infecções e propagação micro-organismos com a utilização de polímeros

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo geral

O objetivo central deste trabalho tecnológico é investigar se filmes produzidos com poli(ácido láctico) e contendo polipirrol em sua composição são capazes de apresentar alguma atividade antimicrobiana contra fungos e bactérias.

### 4.2 Objetivos específicos

- a) A partir do objetivo central estabelecido, a primeira prioridade deste trabalho foi sintetizar o polipirrol utilizando diferentes metodologias. Todas as sínteses foram realizadas via polimerização oxidativa do pirrol, empregando como reagentes oxidantes o cloreto de ferro (III) hexahidratado ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), persulfato de amônio (APS) em combinação com o ácido p-toluenossulfônico (p-TSA) e nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) em combinação com dodecil sulfato de sódio (SDS);
- b) Caracterização dos polímeros sintetizados;
- c) Preparação e caracterização dos filmes contendo PLA/PPy/ $\text{FeCl}_3$ , PLA/PPy/p-TSA e PLA/PPy/AgNP;
- d) Avaliação das propriedades antimicrobianas contra fungos e bactérias dos filmes preparados.

## 5 METODOLOGIA

### 5.1 Materiais

- a) Acetona P.A., Anidrol;
- b) Nitrato de prata P.A./ACS, Cennabras;
- c) Água deionizada;
- d) Persulfato de amônio, Acros Organics;
- e) Clorofórmio P.A., Synth;
- f) Cloreto férrico hexahidratado P.A., Anidrol;
- g) Pirrol 98 %, Sigma-Aldrich;
- h) Poli(ácido láctico) (PDLLA), Natural Works,  $M_w = 160.000 \text{ g.mol}^{-1}$ ;
- i) Surfactante mono-oleato de sorbitol (SPAN 80), Sigma-Aldrich;
- j) Ácido p-tolueno sulfônico; Dinâmica.

### 5.2 Síntese do PPy

#### 5.2.1 Método 1 - $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (M1)

O polipirrol (PPy) produzido por M1 consistiu na polimerização oxidativa do pirrol utilizando o  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  como agente oxidante, tendo como produto o PPy/ $\text{FeCl}_3$ .

Para esta reação foram solubilizados 0,967 g (14,4 mmol) de pirrol 98 % em 20 mL de água deionizada e, separadamente, 7,2 g (26,6 mmol) de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  P.A. em 20 mL de água deionizada. Sob agitação, a solução de pirrol foi vertida sobre a solução de cloreto férrico. A formação do precipitado de PPy/ $\text{FeCl}_3$  foi imediata. O meio reacional foi mantido sob agitação por 24 h à temperatura ambiente. Após o término da agitação, o precipitado e o sobrenadante obtidos foram transferidos para um tubo cônico tipo Falcon de 50 mL e centrifugados durante 10 min a 4.400 rpm em

centrífuga (*Hettich Universal 320*). O sobrenadante foi descartado e ao tubo Falcon foram adicionados aproximadamente 30 mL de água deionizada a 80 °C. Esta suspensão de água, polipirrol e resíduos foi submetida a tratamento com ultrassom a uma amplitude de 80 %, com pulsos *on/off* de 5 s, por um período de 2 min em um ultrasonicador (*Branson W-450D*), a fim de desagregar as partículas de PPy/FeCl<sub>3</sub> e eliminar possíveis contaminantes presos entre elas. O tubo foi centrifugado novamente nas mesmas condições e o sobrenadante foi descartado. O processo lavagem com sonicação seguida de centrifugação foi repetido mais duas vezes.

A fim de eliminar possíveis resquícios de compostos orgânicos e auxiliar na secagem do PPy/FeCl<sub>3</sub>, o material foi submetido a lavagem com acetona P.A. seguida de centrifugação (4.400 rpm por 10 min em centrífuga *Hettich Universal 320*) e descarte do sobrenadante por duas vezes. O produto obtido nesta reação foi submetido a secagem em estufa a 60 °C por 24 h.

### 5.2.2 Método 2 - APS/p-TSA (M2)

Com o objetivo de produzir o PPy dopado com p-TSA (PPy/p-TSA), utilizou-se como oxidante o persulfato de potássio (APS) (ALVA et al., 2016). Foram dissolvidos, separadamente, 0,677 g (10,1 mmol) de pirrol 98 % em 15 mL de água deionizada, 0,95 g (5,5 mmol) de p-TSA em 10 mL de água deionizada e 1,14 g (5,0 mmol) de APS em 10 mL de água deionizada. Cada uma das soluções foi borbulhada com fluxo de nitrogênio por um período de 5 min a fim de remover o oxigênio dissolvido nelas.

Em um banho de gelo adicionou-se, sob agitação magnética, a solução de p-TSA à solução de pirrol e, lentamente, foi adicionada a solução de APS ao meio reacional, sendo notado em seguida o início da reação através da precipitação do PPy/p-TSA. Este sistema foi mantido sob agitação durante 4 h à temperatura ambiente. Ao final da reação, o precipitado e o sobrenadante obtidos foram transferidos para um tubo cônico tipo Falcon de 50 mL, centrifugados (4.400 rpm por 10 min em centrífuga *Hettich Universal 320*) e o sobrenadante foi descartado. Com o intuito de lavar o PPy/p-TSA obtido, adicionaram-se cerca de 30 mL de água deionizada ao tubo cônico, que foi agitado manualmente e, novamente, centrifugado nas mesmas condições, sendo descartado o sobrenadante. O processo de lavagem

com água deionizada foi repetido mais duas vezes. A fim de eliminar possíveis resquícios de compostos orgânicos e auxiliar na secagem do PPy/p-TSA, o material foi submetido a lavagem com acetona P.A. seguida de centrifugação (4.400 rpm por 10 min em centrífuga *Hettich Universal 320*) e descarte do sobrenadante por duas vezes. O produto obtido nesta reação foi submetido a secagem em estufa a 60 °C por 24 h.

### 5.2.3 Método 3 - AgNO<sub>3</sub>/SDS (M3)

Para a síntese do PPy/AgNP utilizou-se como agente oxidante o próprio AgNO<sub>3</sub>, e, a fim de emulsificar o meio reacional, foi utilizado o tensoativo dodecilsulfato de sódio (SDS) (BOBER et al., 2014).

Dissolveram-se 5,8 g (31,14 mmol) de AgNO<sub>3</sub> em 20 mL de água deionizada e, separadamente, 1,00 g (14,5 mmol) de pirrol e 0,2 g (0,7 mmol) de SDS em 10 mL de água deionizada. A solução de AgNO<sub>3</sub> foi submetida a um banho de gelo e mantida sob agitação, enquanto adicionava-se lentamente a ela a solução de pirrol/SDS. O meio reacional foi mantido sob agitação, protegido da luz e em banho de gelo por quatro horas e, em seguida, mantido à temperatura ambiente, ainda protegido da luz, por cinco dias.

O precipitado e o sobrenadante obtidos foram transferidos para um tubo cônico tipo Falcon de 50 mL, centrifugados (4.400 rpm por 10 min em centrífuga *Hettich Universal 320*) e o sobrenadante foi descartado. Adicionaram-se cerca de 30 mL de água deionizada a 80 °C ao tubo contendo o precipitado e este sistema foi sonificado por 2 min a uma amplitude de 80 %, com pulsos *on/off* de 5 s em um ultrasonicador (*Branson W-450D*), com o objetivo de desagregar as partículas de PPy/AgNP e remover possíveis resquícios de impurezas presos entre elas. Após a sonicação, o tubo foi centrifugado (4.400 rpm por 10 min em centrífuga *Hettich Universal 320*) e o sobrenadante descartado. O processo de adição de água quente seguido de sonicação e centrifugação foi executado mais duas vezes. O precipitado foi, por duas vezes, lavado com acetona P.A. e centrifugado (4.400 rpm por 10 min), com posterior descarte do sobrenadante, a fim de eliminar possíveis resquícios de compostos orgânicos e auxiliar na secagem do PPy/AgNP. O produto obtido desta reação foi submetido a secagem em estufa a 60 °C por 24 h.

### 5.3 Preparo dos filmes de PLA

Todos os filmes foram preparados através da técnica de *solvent casting*, que consiste na dissolução do polímero constituinte do filme em um solvente apropriado juntamente com os demais aditivos, sua transferência para um molde e a evaporação do solvente, formando um filme ou alguma forma geométrica (LIAO et al., 2002). A base para a preparação dos filmes foi constituída de 5 % (m/v) de PLA e 1 % (m/v) de mono-oleato de sorbitol (SPAN 80), como emulsificante e plastificante (GIRDTHEP et al., 2011), em relação ao volume de solvente utilizado.

A nove tubos tipo Falcon de 50 mL foram adicionados 1,5 g de PLA e 30 mL de clorofórmio P.A, sendo a oito deles adicionados também 300 mg de SPAN 80. Procedeu-se à dissolução do PLA no solvente com leve aquecimento e, após, adicionou-se a cada um dos tubos a quantidade definida de PPy, conforme a tabela 1. Como o polipirrol não é solúvel em clorofórmio, obteve-se uma suspensão deste polímero no solvente contendo o PLA e o SPAN 80.

Tabela 1 - Composição dos filmes.

Filme	PPy	Quantidade (mg)	Polisorbato 80
PLA branco	-	-	Não
PLA+SPAN	-	-	Sim
M1 PLA10	PPy/FeCl <sub>3</sub>	10	Sim
M1 PLA25	PPy/FeCl <sub>3</sub>	25	Sim
M1 PLA50	PPy/FeCl <sub>3</sub>	50	Sim
M2 PLA10	PPy/p-TSA	10	Sim
M2 PLA25	PPy/p-TSA	25	Sim
M2 PLA50	PPy/p-TSA	50	Sim
M3 PLA50	PPy/AgNP	50	Sim

Cada um dos tubos com adição de PPy foi sonificado (amplitude de 80 % e pulsos *on/off* de 5 s por 2 min em equipamento ultrasonicador *Branson W-450D*) a fim de melhor dispersar o polímero, insolúvel no meio. O conteúdo dos tubos foi, então, vertido sobre placas de Petri de cerca de 13 cm de diâmetro. Este processo foi seguido da lenta evaporação do solvente à temperatura ambiente, resultando na formação dos filmes. A fim de remover alguma quantidade remanescente de solvente, todos os filmes foram também secos em estufa a 50 °C por 24 horas.

## 5.4 Caracterizações

### 5.4.1 Espessura dos filmes

A espessura dos filmes foi medida em triplicata em três posições aleatórias, utilizando micrômetro *Mitutoyo IP65*. Foi calculada a média aritmética das três medidas, bem como seu desvio padrão, a fim de determinar a espessura de cada filme.

### 5.4.2 Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi utilizada para verificar o padrão de degradação térmica tanto do polipirrol obtido através dos métodos M1, M2 e M3, quanto dos filmes preparados, além de verificar a composição aproximada das amostras. Esta análise consistiu no acondicionamento de cerca de 5 a 10 mg de cada amostra de PPy (M1, M2 e M3) e entre 10 mg a 15 mg de cada amostra de filme em um porta-amostra de platina. As corridas foram realizadas com uma taxa de aquecimento de 20 °C min<sup>-1</sup>, de 25 °C a 800 °C, com fluxo de nitrogênio. Todas as análises foram realizadas em equipamento Q50 TGA (*TA Instruments*).

### 5.4.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Todos os filmes e polímeros sintetizados foram caracterizados por DSC em um equipamento modelo Q20 DSC (*TA Instruments*). Os polímeros de polipirrol foram analisados em painéis de alumínio herméticos, enquanto que os filmes preparados foram analisados em painéis de alumínio padrão. Cada amostra, consistindo de 5 mg a 10 mg, foi submetida a dois ciclos de aquecimento, variando de -40 °C a 180 °C para os filmes e de -40 °C a 200 °C para os PPy's puros, com rampa de aquecimento/resfriamento de 20 °C min<sup>-1</sup> e sob fluxo de nitrogênio.

#### 5.4.1 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier (ATR-FTIR)

Os filmes e os polímeros PPy/FeCl<sub>3</sub>, PPy/p-TSA e PPy/AgNP foram caracterizados através de espectroscopia ATR-FTIR em aparelho modelo *Nicolet 6700* com número de varreduras de 64 vezes, resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, no modo ATR equipado com cristal de germânio. As varreduras ocorreram na janela de 4.000 cm<sup>-1</sup> a 700 cm<sup>-1</sup>.

Previamente à análise em FTIR, os filmes foram prensados a uma temperatura de 180 °C e a uma pressão de 20 kN para diminuir sua espessura e melhorar o sinal do equipamento. Já os polímeros obtidos através de M1, M2 e M3 foram dispersos em brometo de potássio, macerados em gral de ágata e, posteriormente, compactados em placas a fim de possibilitar a leitura da transmitância.

#### 5.4.2 Difração de raios X (XDR)

As análises de difração de raios X foram realizadas em equipamento *Rigaku Ultima IV* operando com tubo de Cu e K $\alpha$ -médio. As varreduras ocorreram em um ângulo 2 $\theta$  de 5 ° a 80 °. Foram analisados somente os polímeros PPy/FeCl<sub>3</sub>, PPy/p-TSA e PPy/AgNP, tomando-se amostras de cerca de 10 mg de cada um deles.

#### 5.4.3 Atividade antibacteriana

A bactéria *S. aureus* ATCC 25923 foi cultivada em caldo Luria Bertani (LB) a 37 °C, pelo período da noite. A partir deste cultivo foi preparada uma suspensão bacteriana em caldo LB que foi padronizada em espectrofotômetro a 600 nm em 0,5 na escala McFarland (1,5 x 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônias/mL), obtendo uma densidade óptica entre 0,08 e 0,1. Os filmes foram esterilizados em luz ultravioleta (UV) dentro de fluxo laminar vertical por 15 minutos cada lado. Os filmes foram incubados com 1 mL da suspensão bacteriana por 24 horas a 37 °C, incluindo dois brancos, um deles contendo apenas PLA e o outro contendo PLA e SPAN 80. Além disso, foi realizado um controle sem a presença do filme. O experimento foi realizado em triplicata. Após o tempo de incubação, os filmes foram retirados do

meio de cultura de forma asséptica e foram transferidos para 2 mL de solução salina estéril (cloreto de sódio 0,85 %). Os filmes em solução salina foram submetidos a banho ultrassom por 5 minutos para promover a liberação das bactérias aderidas ao filme. A solução salina contendo as bactérias foi diluída seriadamente com salina em placas de 96 poços (20  $\mu$ L da suspensão e 180  $\mu$ L de salina) e as diluições foram plaqueadas em ágar LB até diluição  $10^{-8}$ . As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas e as colônias foram contabilizadas para a determinação das Unidades Formadoras de Colônia por mL.

#### 5.4.4 Atividade antifúngica

A levedura *C. albicans* C022 foi utilizada para o ensaio antifúngico. *C. albicans* foi cultivada em caldo Sabouraud a 28 °C, pelo período da noite. A suspensão da levedura foi quantificada em câmara de Neubauer em microscópio óptico, sendo preparada uma suspensão com  $10^4$  células por mL. Os filmes foram esterilizados da mesma forma descrita acima e incubados a 28 °C por 24 horas. Os filmes foram também submetidos a sonicação após o término da incubação e as diluições (até  $10^{-6}$ ) foram plaqueadas em ágar Sabouraud por 24 h a 28 °C. As unidades formadoras de colônia por mL foram determinadas da mesma forma descrita acima. Os protocolos foram baseados em (MARTINELLI et al., 2017), com adaptações.

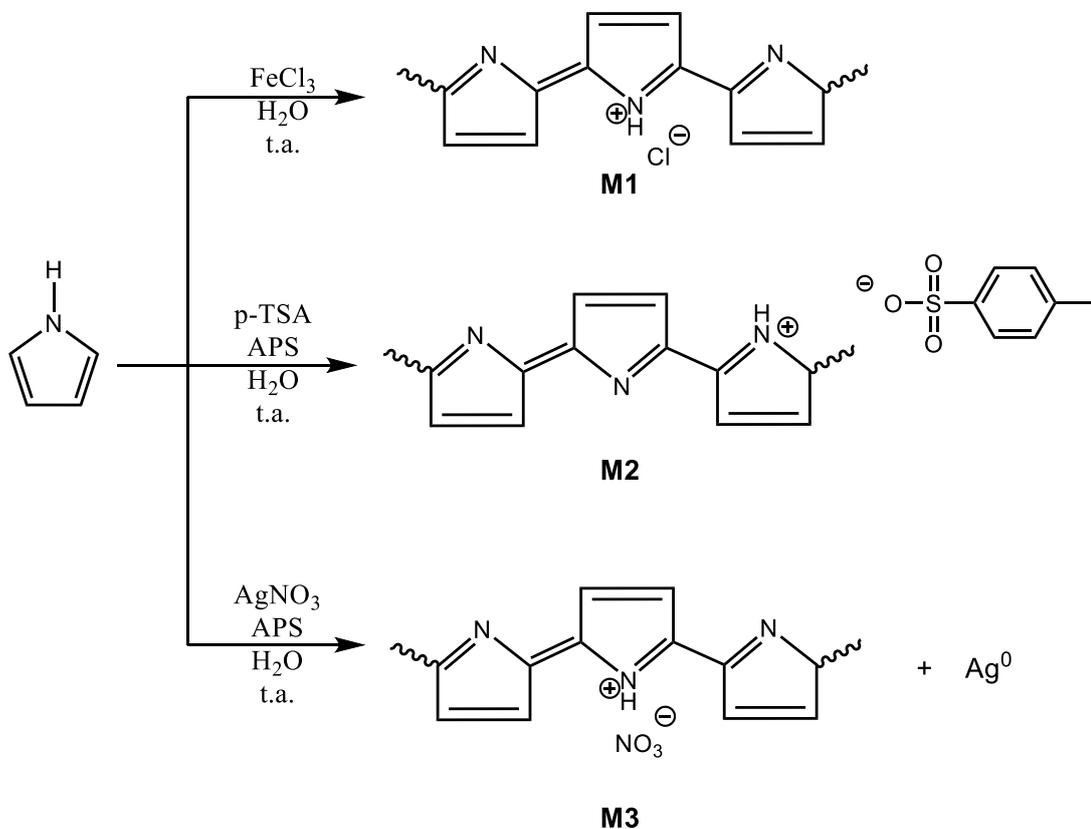
## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.3 Síntese e caracterização do PPy

#### 6.3.1 Observações referentes às reações

A síntese do polipirrol foi realizada utilizando três metodologias distintas. A partir do pirrol, diferentes oxidantes foram usados a fim de se obter polímeros estruturalmente semelhantes, mas diferindo na dopagem (contra íons) de cada um (Figura 2). Como este trabalho visa investigar a possível propriedade antimicrobiana do polipirrol, três dopagens diferentes foram realizadas a fim de verificar se diferenças nestas propriedades poderiam ser identificadas.

Figura 2 - Metodologias empregadas para a obtenção do polímero polipirrol com três diferentes dopantes.



As reações realizadas com os métodos M1 e M2 apresentaram formação imediata de PPy, evidenciada pelo pronto surgimento de um sólido de coloração escura no meio reacional. Já a reação do M3 não teve este mesmo comportamento, apresentando turbidez com particulados de aspecto metálico após a combinação dos reagentes e permanecendo inalterada pelas quatro horas iniciais do processo em que o meio reacional foi mantido sob agitação e em banho de gelo. Depois de cinco dias na ausência de luz e à temperatura ambiente, sem agitação, foi possível observar a formação de um precipitado preto semelhante ao M1 e ao M2, além de se notar partículas de prata dispersas no meio, conforme figura 3.

Figura 3 - Meio reacional do produto de M3 após cinco dias de reação. Em destaque, a presença de pequenos agregados de partículas de prata.



Ainda, o produto da reação segundo M1, após sofrer lavagem somente com água à temperatura ambiente seguida de lavagem com acetona P.A., apresentou uma massa cerca de cinco vezes superior à esperada. Desta maneira procedeu-se à lavagem com utilização de água a 80 °C seguida de sonicação, a fim de desagregar as partículas de PPy/FeCl<sub>3</sub> que, porventura, aprisionassem impurezas em seu interior e facilitar a dissolução e remoção destas impurezas. Como medida de precaução, realizou-se o mesmo procedimento para a lavagem do PPy/AgNP obtido através de M3.

Após a secagem, o produto PPy/FeCl<sub>3</sub> apresentou-se na forma de um pó preto e fino, sem aglomerados aparentes; já o produto PPy/p-TSA apresentou-se como um pó preto com alguns aglomerados chegando a cerca de 3 mm; e o produto PPy/AgNP apresentou-se como um pó fino e preto com alguns aglomerados contendo partículas de prata visíveis, que são observadas na figura 4.

Figura 4 - Aglomerados de PPy/AgNP com prata incrustada.



### 6.3.2 Rendimento das reações

Como é apresentado na tabela 2, a quantidade de produto obtido das reações foi maior do que a quantidade de monômero adicionada ao meio reacional em M1 e M3. O rendimento expresso na tabela foi calculado através da equação 1

$$R(\%) = \frac{M_{\text{mono}}}{M_{\text{pol}}} \times 100 \% \quad (1)$$

onde  $M_{\text{mono}}$  é a massa do monômero medida antes de sua dissolução em água,  $M_{\text{pol}}$  é a massa de PPy após os processos de lavagem e secagem e  $R(\%)$  é o rendimento da reação em porcentagem.

Tabela 2 - Massas de monômero utilizadas, dos produtos das reações e de PPy obtido para cada método e rendimento das reações.

Método	Pirrol (g)	Produto (g)	PPy (g)	Rendimento (%)
M1	0,9670	0,9724	0,9724	100
M2	0,6769	0,6194	0,6194	91
M3	0,9670	4,0836	0,49	50

Para M3, como o objetivo era produzir um polímero contendo AgNP, era esperada a obtenção de um produto com massa superior à massa de monômero utilizada. Então, para calcular o rendimento da reação de polimerização deste método, utilizou-se como base o resultado da TGA do PPy/AgNP, que indica que este composto apresenta aproximadamente 12 % de PPy e 88 % de prata. Desta maneira, tem-se que a massa total de PPy contida no PPy/AgNP é de aproximadamente 0,49 g. Como não houve indícios de presença de ferro para M1 na análise de DRX, se considerou que este composto não estava presente no produto PPy/FeCl<sub>3</sub>.

### 6.3.3 Análise termogravimétrica

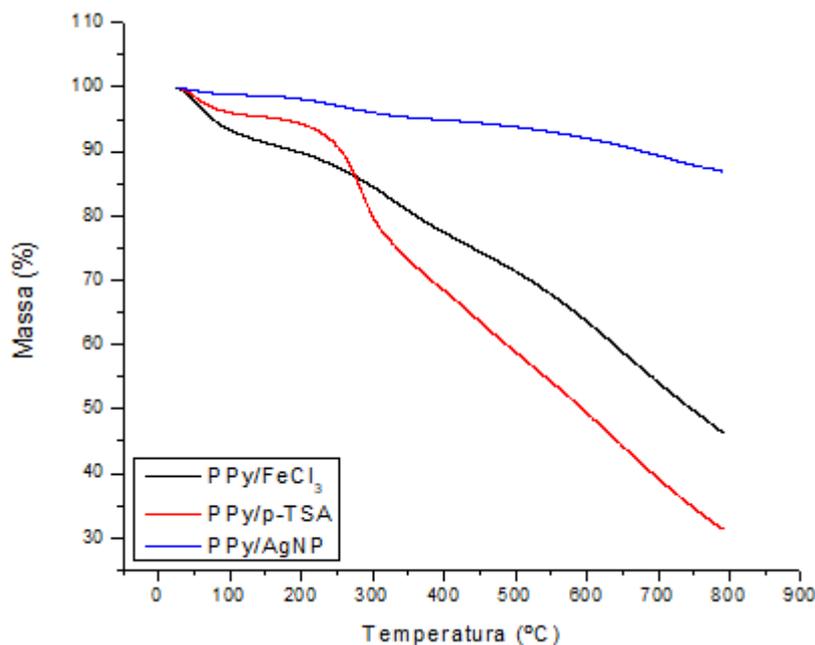
As amostras de polipirrol sintetizadas foram submetidas a análises de termogravimetria a fim de determinar seu perfil de degradação térmica, bem como ter algum indício de sua composição. Na figura 5 é possível visualizar o perfil de degradação térmica para os polímeros sintetizados.

Na tabela 3 são apresentados os valores de perda de massa e temperaturas de degradação média para as amostras de polipirrol.

Tabela 3 - Perdas de massa dos polímeros sintetizados e respectivas temperaturas com maior taxa perda de massa.

Analito	Perda de massa (%)			T (°C)		
	Primeira	Segunda	Terceira	Primeira	Segunda	Terceira
PPy/FeCl <sub>3</sub>	6,66	15,55	31,69	52,1	326,6	617,1
PPy/p-TSA	4,69	17,74	46,37	51,6	282,7	663,2
PPy/AgNP	1,17	3,41	8,53	83,8	232,2	672,6

Figura 5 - Termogramas de TGA para os polímeros sintetizados.



Em todos os polímeros foram observados três eventos de degradação térmica, conforme evidenciado tanto pela figura 5 quanto pelos dados da tabela 3. A primeira perda de massa presente nos três polímeros é atribuída à presença tanto do solvente acetona, usado para a lavagem final dos polímeros, quanto à presença de umidade. A partir de cerca de 220 °C passa a ocorrer a degradação da cadeia do PPy. Acima desta temperatura (> 290 °C) inicia-se o processo de decomposição das unidades de polipirrol, liberando C, H e N (BATTOOL et al., 2012).

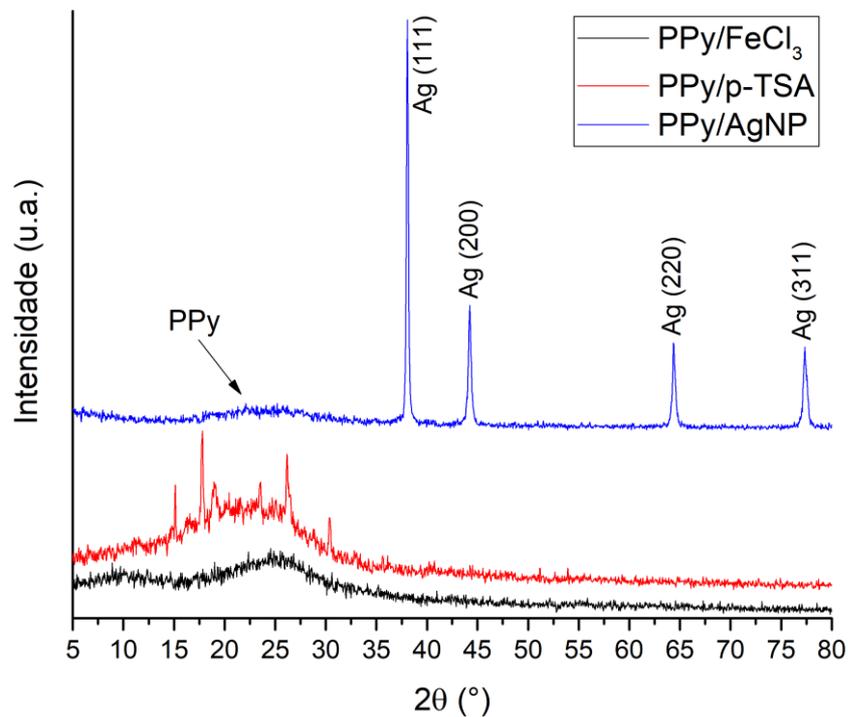
Devido à alta quantidade de prata presente no PPy/AgNP é possível verificar sua menor perda de massa em relação ao PPy/FeCl<sub>3</sub> e ao PPy/p-TSA. A partir do termograma, figura 5, infere-se que a quantidade do polímero no PPy/AgNP é de cerca de 12 %, já desconsideradas as presenças de umidade e solventes, sendo os outros 88 % constituídos de partículas de prata.

#### 6.3.4 Difração de raios X

Em razão da dificuldade de solubilização do polímero polipirrol para a realização de análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, as amostras sintetizadas foram submetidas a análises de raios-X a fim de se obter um

comparativo com dados da literatura. Na figura 6 são apresentados os padrões de raios-X para os polímeros sintetizados.

Figura 6 - Padrões comparativos de XRD para os polímeros (a) PPy/FeCl<sub>3</sub>, (b) PPy/p-TSA e (c) PPy/AgNP.



Conforme pode ser observado na figura 6, é possível verificar a presença de um pico alargado referente ao PPy por volta de  $2\theta=24^\circ$ , o que era esperado com base em dados observados em trabalhos publicados (ALVA et al., 2016; BATOOL et al., 2012). A presença deste pico alargado indica que o polipirrol não possui arranjos cristalinos, ou seja, trata-se de um polímero amorfo.

Conforme observado na figura 6 e expresso na tabela 4, para a amostra PPy/AgNP podem-se notar os picos característicos de AgNP devidos aos planos de reflexão (111), (200), (220) e (311) (EL-SAYED et al., 2019), indicando sua presença no composto analisado.

Tabela 4 - Ângulo de surgimento dos picos na XRD.

Ângulo ( $^{\circ}$ )	PPy/FeCl <sub>3</sub>	PPy/p-TSA	PPy/AgNP
$2\theta^1$	10,05	22,54	24,35
$2\theta^2$	24,55	15,1	38,05
$2\theta^3$	-	17,8	44,25
$2\theta^4$	-	26,15	64,35
$2\theta^5$	-	30,4	77,35

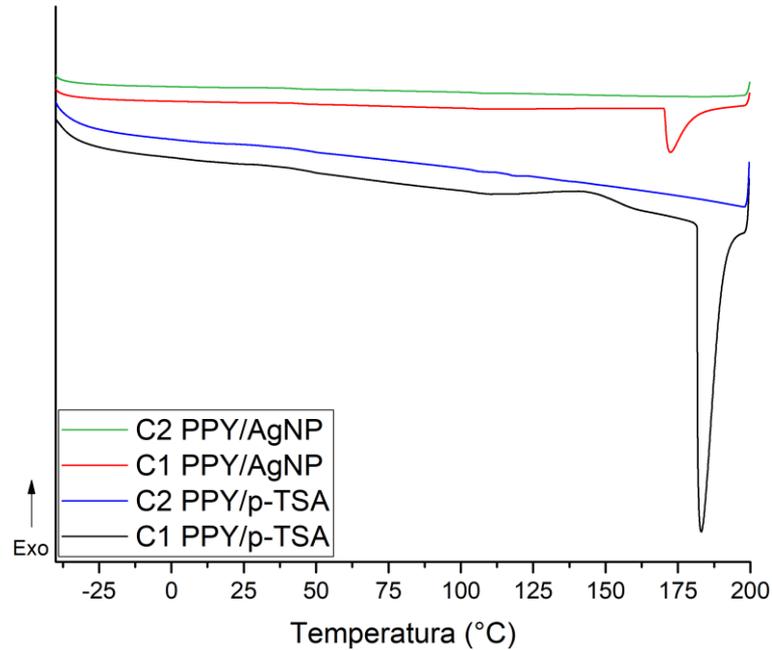
Por fim, não foi possível determinar a origem dos picos estreitos presentes na amostra PPy/p-TSA.

### 6.3.5 Calorimetria exploratória diferencial

O comportamento térmico dos diferentes polipirróis sintetizados foi avaliado por DSC. De acordo com Yussuf e colaboradores (YUSSUF et al., 2018), a fusão do PPy ocorre por volta de 280 °C e sua temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) é de cerca de 90 °C.

Conforme apresentado na figura 7, não foi possível identificar a  $T_g$  para nenhuma das amostras analisadas, em ambos os ciclos de aquecimento. Além disso, para as amostras PPy/p-TSA e PPy/AgNP foram identificados dois picos endotérmicos durante o primeiro ciclo de aquecimento, entre 170-185 °C, os quais não estão presentes no segundo ciclo. Este resultado nos leva a afirmar que este evento térmico não corresponde à fusão do polímero, mas possivelmente à presença de algum contaminante não identificado. Para que fosse possível verificar a temperatura de fusão dos polímeros, seria necessário elevar a temperatura final da análise, o que não pode ser realizado em função da limitação de uso do equipamento de DSC.

Figura 7 - Termogramas obtidos por DSC de para os dois ciclos de aquecimento (C1 e C2) das amostras de PPy/p-TSA e PPy/AgNP.

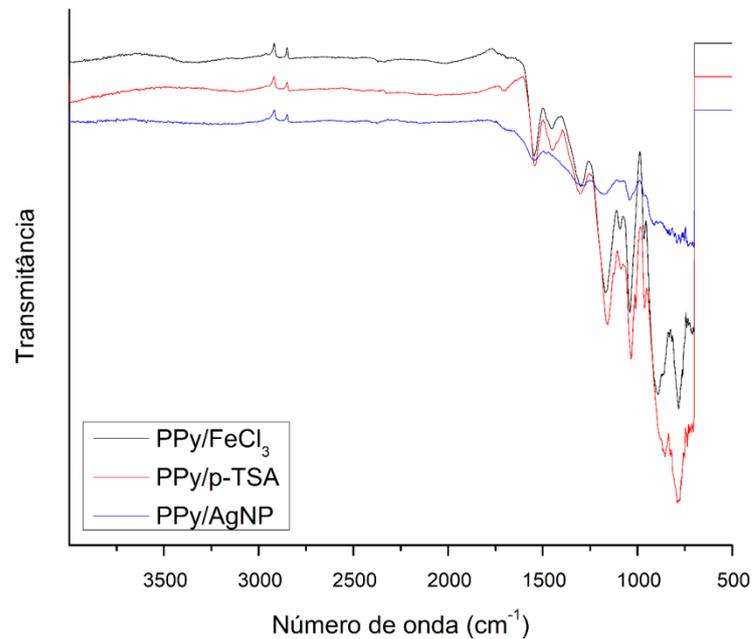


As curvas de DSC do PPy/FeCl<sub>3</sub> não estão representadas, pois a amostra não manifestou qualquer transição em nenhum dos ciclos.

#### 6.3.6 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier

Observando-se os espectros sobrepostos dos polímeros sintetizados (figura 8) nota-se a existência de diferenças entre os espectros dos produtos dos três métodos de síntese do PPy, principalmente do PPy/AgNP em relação aos outros dois.

Figura 8 - Espectros de infravermelho dos polímeros PPy/FeCl<sub>3</sub>, PPy/p-TSA e PPy/AgNP.



Entretanto, ao serem comparadas as bandas, conforme a tabela 5, é possível verificar que a maior parte delas é encontrada nos três produtos.

Tabela 5 - Relação entre os números de onda dos picos de cada composto.

Bandas de FTIR (cm <sup>-1</sup> )			Grupo
PPy/FeCl <sub>3</sub>	PPy/p-TSA	PPy/AgNP	
709	-	727	C-H dobramento
780	785	787	C-H dobramento
892	856	909	C=C dobramento
964	964	967	C=C dobramento
1039	1028	1038	C-H dobramento
1169	1158	1171	C-N estiramento
1298	1304	1293	C-N estiramento
1449	1448	1480	C-N estiramento
1546	1541	1548	C=C estiramento
1697	1700	1686	Não identificado
2015	2018	-	Não identificado
-	-	2120	Não identificado
2337	-	2372	Não identificado
3342	-	3293	N-H estiramento

Fonte: (MERCCK, 2019)

A aparente grande diferença das bandas do PPy/AgNP em relação ao PPy/FeCl<sub>3</sub> e ao PPy/p-TSA se deve, provavelmente, a uma perda de resolução causada pela pequena massa de PPy nele presente, já que foi tomada uma amostra de cerca de 10 mg de cada produto, mas o PPy/AgNP continha somente aproximadamente 12 % de polímero.

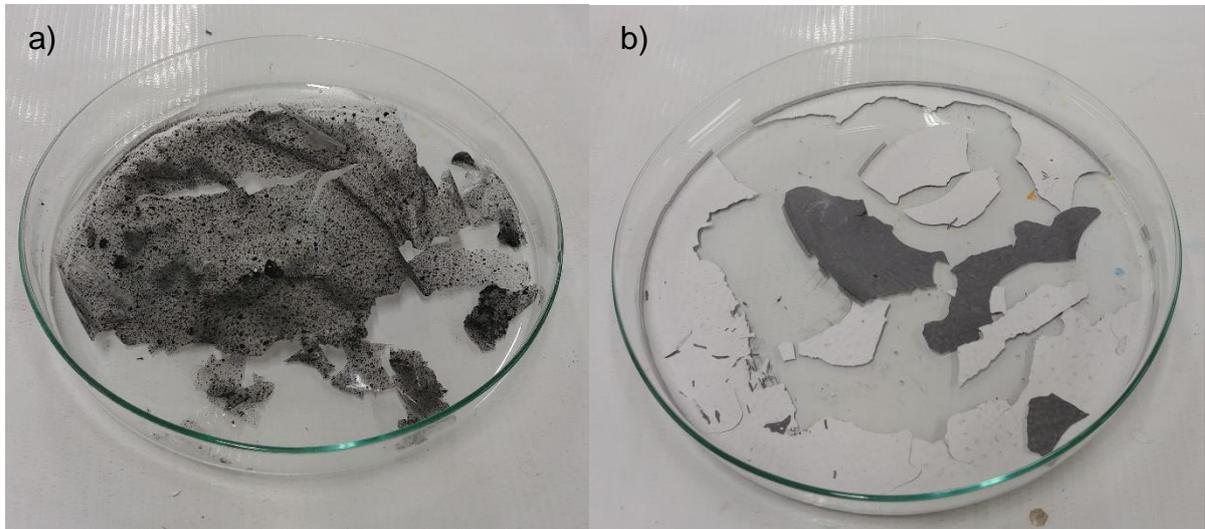
Ademais, é importante ressaltar que estão presentes em todos os compostos as bandas características do PPy, sendo por volta de 1545 cm<sup>-1</sup> a banda referente ao estiramento C=C, por volta 1450 cm<sup>-1</sup> e 1170 cm<sup>-1</sup> as bandas referentes ao estiramento C–N, por volta de 1035 cm<sup>-1</sup> as bandas referentes ao dobramento angular C–H, e por volta de 960 cm<sup>-1</sup>, as referentes ao dobramento angular C=C do anel do pirrol (DA SILVA et al., 2016), indicando que todas as sínteses tiveram sucesso em obter o produto de interesse.

## 6.4 Preparo e caracterização dos filmes

### 6.4.1 Testes iniciais e preparo dos filmes

Os testes iniciais consistiram na produção de filmes com hidroxietil celulose (HEC) em água com a adição do PPy e de filmes de PLA em clorofórmio com a adição do PPy, mas sem a utilização do plastificante SPAN 80, ambos através do método de *solvent casting*. Como pode ser observado na figura 9, estes testes não apresentaram bons resultados, ocorrendo má dispersão do PPy em ambos os filmes, sendo no filme de HEC a ocorrência de heterogeneidade excessiva com acúmulos pontuais e no filme de PLA, a decantação do PPy.

Figura 9 - Imagens dos primeiros filmes de (a) HEC-PPy/FeCl<sub>3</sub> e (b) PLA-PPy/FeCl<sub>3</sub> preparados como testes.

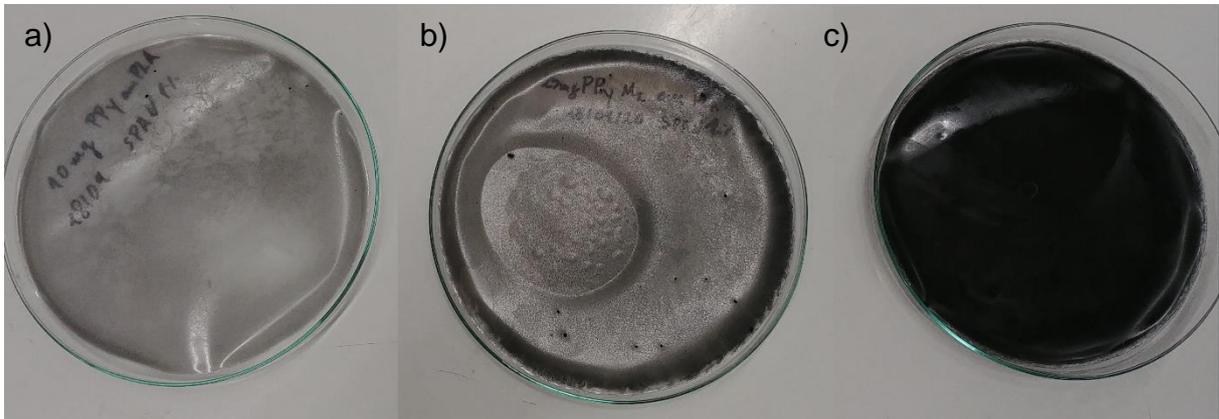


Com base nestes resultados, optou-se por adicionar o SPAN 80 aos filmes, o que melhorou a dispersão do PPy no PLA, mas impossibilitou a produção do filme de HEC devido ao excesso de espuma formado em razão da presença deste emulsificante. Assim, o trabalho continuou apenas com a preparação de filmes de PLA.

Os filmes de PLA foram, então, preparados com composições de PPy de 10 mg, 25 mg e 50 mg e 5 % m/v de PLA. Ainda foi investigada a variação da quantidade de SPAN 80 adicionada, sendo testadas soluções com 0,5 % m/v, 1 % m/v e 2 % m/v. Contudo, o filme que apresentou melhor dispersão do PPy no PLA foi aquele contendo 1 % m/v de SPAN 80, desta maneira, sendo definida a quantidade de plastificante a ser incorporada a todos os filmes que seriam produzidos.

Na figura 10 podem ser visualizados alguns dos filmes preparados e utilizados nos ensaios que serão discutidos a seguir.

Figura 10 - Imagens dos filmes após a evaporação do solvente e secagem em estufa: (a) M2 PLA10, (b) M2 PLA25 e (c) M2 PLA50.



Como pode ser observado na figura acima, à medida em que foram incorporadas quantidades maiores de polipirrol os filmes adquiriram tonalidades mais escuras. A exceção foi o filme M3 PLA50 que apresentou um aspecto semelhante às amostras M1 PLA10 e M2 PLA10. Isto ocorreu porque, de acordo com o resultado obtido por TGA, apenas 12 % da amostra PPy/AgNP é constituída do polímero polipirrol, sendo o restante referente à prata. Além do aspecto visual, esta também foi uma das razões para não terem sido preparados filmes com quantidades inferiores a 50 mg para esta amostra. Filmes com quantidades acima de 50 mg para PPy/AgNP também não foram preparados pelo fato de que o alto teor de prata poderia interferir ainda mais nos resultados microbiológicos a serem investigados.

#### 6.4.2 Espessura dos filmes

Os filmes foram caracterizados com relação à sua espessura, a fim de verificar se possíveis diferenças de valores poderiam interferir nos ensaios microbiológicos. Na tabela 6 são apresentados os valores da espessura média (EM) e do desvio padrão (DP) das medidas efetuadas.

Tabela 6 - Espessura média (EM) dos filmes e desvio padrão (DP) das medidas.

PPy	Filme	EM (mm)	DP (mm)
---	PLA branco	0,117	0,005
---	PLA+SPAN	0,107	0,006
PPy/FeCl <sub>3</sub>	M1 PLA10	0,085	0,004
PPy/FeCl <sub>3</sub>	M1 PLA25	0,098	0,002
PPy/FeCl <sub>3</sub>	M1 PLA50	0,117	0,004
PPy/p-TSA	M2 PLA10	0,111	0,007
PPy/p-TSA	M2 PLA25	0,093	0,002
PPy/p-TSA	M2 PLA50	0,115	0,003
PPy/AgNP	M3 PLA50	0,100	0,002

A partir dos valores contidos na tabela 6 foi verificada uma pequena variação de espessura entre os diferentes filmes, o que pode estar relacionado às diferenças de diâmetro entre os moldes (placas de Petri) utilizados. Entretanto, apesar desta diferença observada, a variação entre as medidas foi considerada como muito baixa, o que mostra uma boa uniformidade de espessura dos filmes preparados.

#### 6.4.3 Análise termogravimétrica

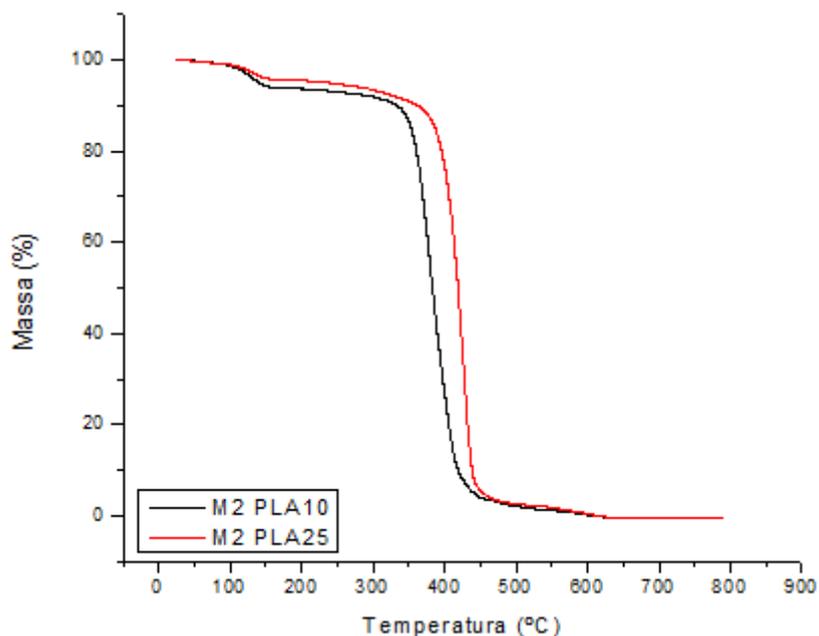
O perfil de degradação térmica dos filmes também foi investigado através de análises de TGA. Como pode ser notado pela tabela 7, não houve grande variação de perfil dos termogramas para os filmes, ocorrendo a maior diferença entre M2 PLA10 e M2 PLA25, representados na figura 11. Apesar da diferença nas temperaturas de degradação, o perfil observado permanece semelhante.

Tabela 7 - Perdas de massa dos filmes preparados e suas respectivas temperaturas com maior taxa de perda de massa.

Filme	Perda de massa (%)		T (°C)	
	Primeira	Segunda	Primeira	Segunda
PLA branco	93,63	---	418,57	---
PLA+SPAN	94,98	---	364,85	---
M1 PLA10	93,33	2,16	424,00	617,82
M1 PLA25	91,59	3,56	405,46	608,52
M1 PLA50	93,42	3,72	416,87	624,38
M2 PLA10	90,69	3,05	379,25	587,90
M2 PLA25	92,46	2,73	426,57	608,03
M2 PLA50	91,65	3,67	424,75	644,16
M3 PLA50	94,04	1,43	376,82	588,46

A primeira perda de massa, referente a solventes e umidade e ocorrida por volta dos 100 °C não foi considerada nesta tabela.

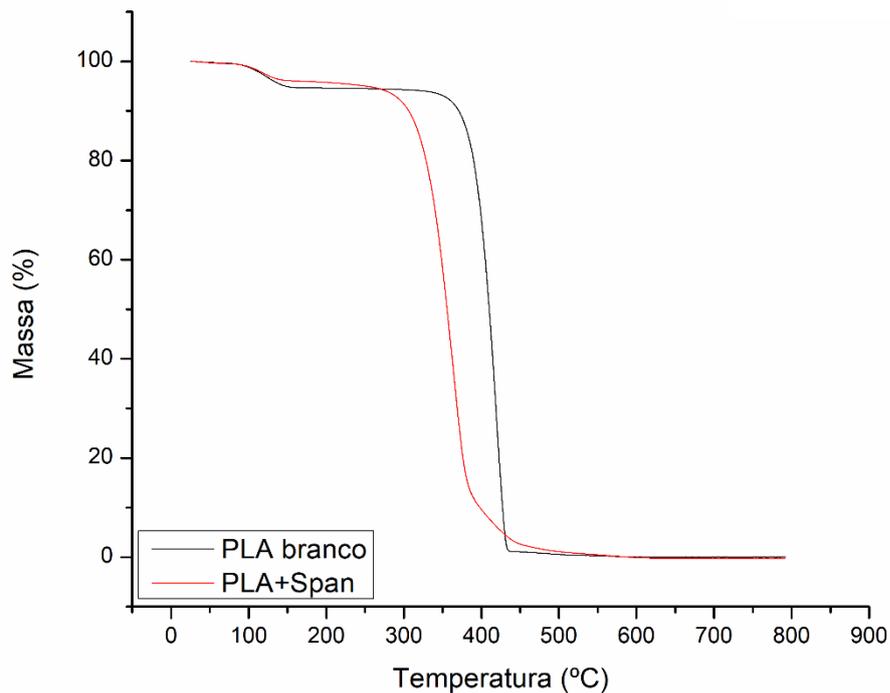
Figura 11 - Termogramas dos filmes M2 PLA10 e M2 PLA25.



Com relação aos filmes PLA branco e PLA+SPAN, pode-se notar uma influência da presença do plastificante SPAN 80. Os termogramas para estas amostras, apresentados na figura 12, mostram que houve uma diferença expressiva no perfil de degradação para estes filmes, e suportados pelos valores contidos na

tabela 7. A presença do SPAN 80 induziu uma aceleração da degradação térmica para este filme. Observações semelhantes podem ser feitas com os filmes M2 PLA10 e M3 PLA 50. Apesar destas observações, não foi encontrada uma justificativa que possa ser usada para explicar este comportamento.

Figura 12 - Termograma dos filmes PLA branco e PLA+SPAN.

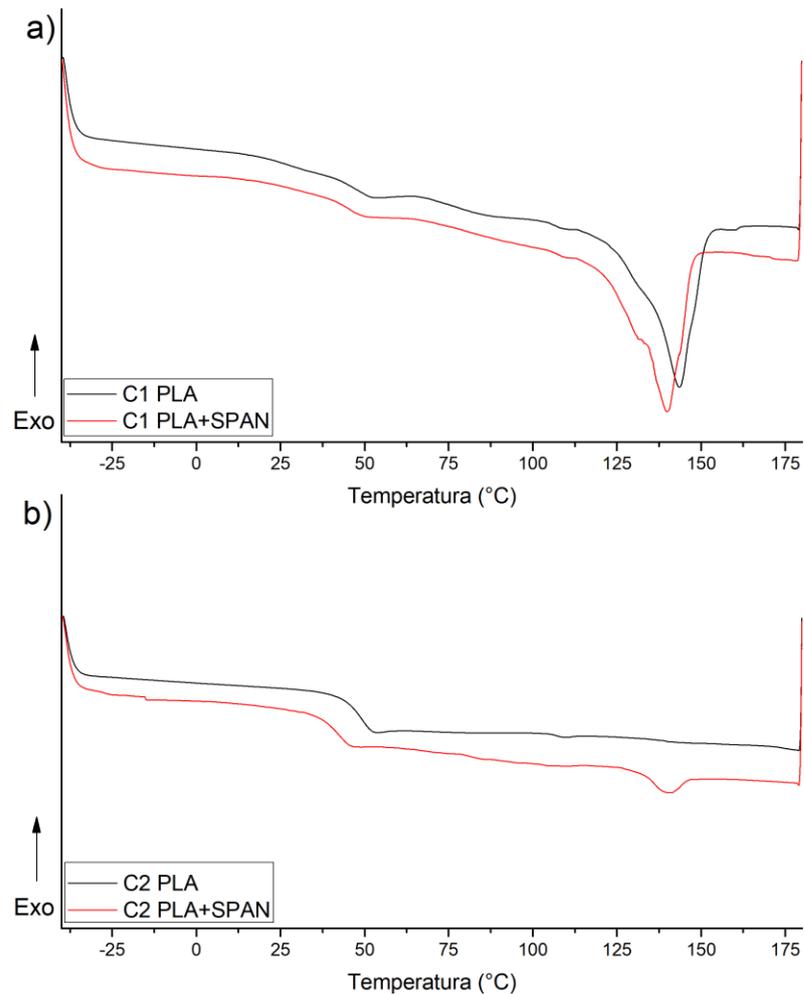


#### 6.4.4 Calorimetria exploratória diferencial

O comportamento térmico dos filmes de PLA contendo ou não o polipirrol adicionado foi avaliado por DSC. As análises realizadas tiveram o intuito de verificar possíveis mudanças na temperatura de transição vítrea para os filmes de PLA, tanto pela adição do emulsificante/plastificante SPAN 80, como pela adição do PPy. O poli(ácido láctico) utilizado tem um caráter completamente amorfo e, desta forma, não seria esperado o surgimento de transições de fusão para este polímero.

Inicialmente, foi avaliado o possível efeito da adição de SPAN 80 à solução de polímero para a preparação dos filmes de PLA. Na figura 13 estão apresentados os termogramas para os filmes de PLA contendo ou não o SPAN 80 na sua composição, em ambos os ciclos de aquecimento da análise de DSC.

Figura 13 - Comparação entre os termogramas de DSC para os ciclos 1 e 2 dos filmes (a) PLA branco e (b) PLA+SPAN, respectivamente.



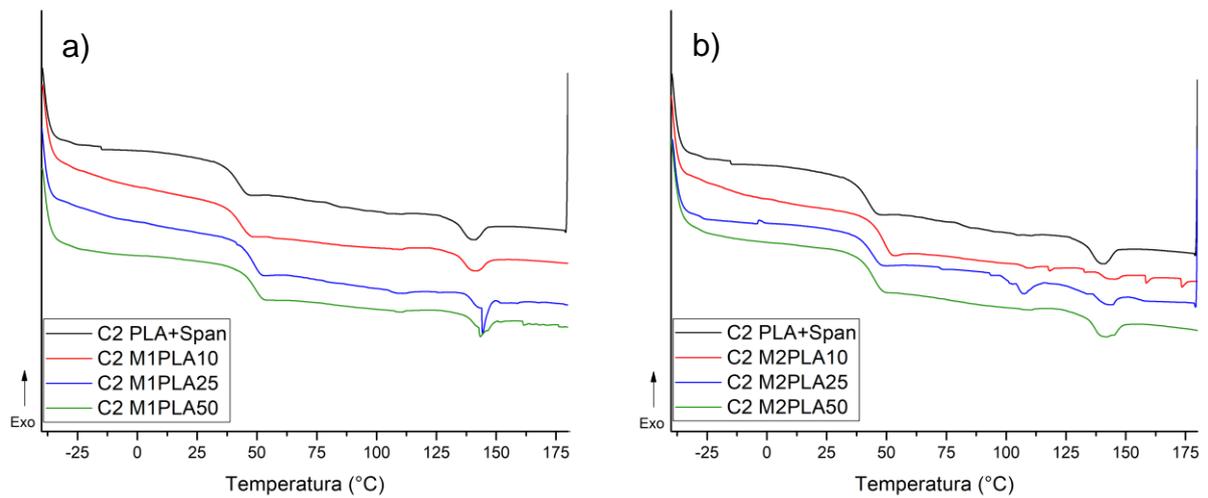
No termograma da figura 13a, referente ao primeiro ciclo de aquecimento, são observadas duas transições. A primeira, em cerca de 45 °C é atribuída à temperatura de transição vítrea, temperatura na qual as cadeias de um polímero adquirem mobilidade. Este resultado está próximo ao encontrado na literatura para este polímero, o qual pode variar entre 45-60°C dependendo da sua massa molar (CONG, 2007). Por outro lado, a análise mostrou ainda um evento de fusão do polímero, próximo a 140 °C e dentro do observado em outros trabalhos (NETTI, 2014). Como mencionado acima, não era esperado que transições de primeira ordem, como a fusão, ocorressem com este PLA, em razão da sua natureza amorfa. Contudo, a observação deste processo de fusão está associada à composição deste polímero que, apesar de ser denominado como PDLLA (ou seja, contém ambos os isômeros D e L do ácido lático na sua estrutura), possui uma alta proporção de

isômeros L- (cerca de 92 %, segundo dados do fabricante). Esta alta proporção de um dos isômeros permite que, sob determinados tratamentos térmicos (cura), como a própria secagem dos filmes na estufa, os segmentos da cadeia do polímero formados pelo isômero L- se organizem de modo a formar regiões cristalinas. Assim, ao ser aquecido durante a análise de DSC foi observada a fusão destes cristais, que provavelmente se formaram durante os processos tanto de evaporação lenta do solvente quanto pela secagem em estufa a 50 °C.

Com relação aos termogramas da figura 13b, referentes ao segundo ciclo de aquecimento da análise de DSC, se observa primeiramente que não há mais um pronunciado pico de fusão para as amostras. Como durante o ciclo de resfriamento imposto não há tempo das cadeias se organizarem para novamente formarem regiões cristalinas, no segundo aquecimento não foi evidenciado um evento de fusão para o PLA branco. Contudo, se observa uma pequena transição na região de fusão do PLA para a amostra PLA+SPAN. O surgimento desta transição pode estar relacionado à presença do próprio SPAN 80, o qual poderia estar induzindo à formação de pequenas regiões cristalinas durante o processo de resfriamento e/ou aquecimento da amostra. Outro fato a ser observado é a evidente diminuição da  $T_g$  com a adição do SPAN ao polímero, pois ao formar os filmes o SPAN 80 ficará acondicionado entre as cadeias de PLA, diminuindo a interação entre estas. Assim, uma vez que as cadeias terão menos interações intermoleculares entre si, a energia necessária para que as cadeias do polímero adquiram mobilidade será menor, resultando em um menor valor de  $T_g$ .

Os filmes com adição de PPy não tiveram seus perfis de DSC alterados em relação ao filme PLA+SPAN, como pode ser observado na figura 14 (segundo ciclo de aquecimento). Todos eles apresentaram tanto a temperatura de transição vítrea quanto a temperatura de fusão observadas para o filme PLA+SPAN.

Figura 14 – Termogramas de DSC do segundo ciclo de aquecimento para os filmes contendo (a) PPy/FeCl<sub>3</sub> e (b) PPy/p-TSA em comparação ao PLA+SPAN, isento de PPy.



Segundo os dados obtidos através dos termogramas e mostrados na tabela 8, a presença do PPy nos filmes levou a um aparente aumento na  $T_g$ . Entretanto, este aumento foi maior para algumas amostras (M1 PLA50, M2 PLA10) do que para outras (M1 PLA10, M2 PLA50). Assim, não foi possível encontrar um padrão que pudesse relacionar o aumento com a adição de PPy em diferentes quantidades.

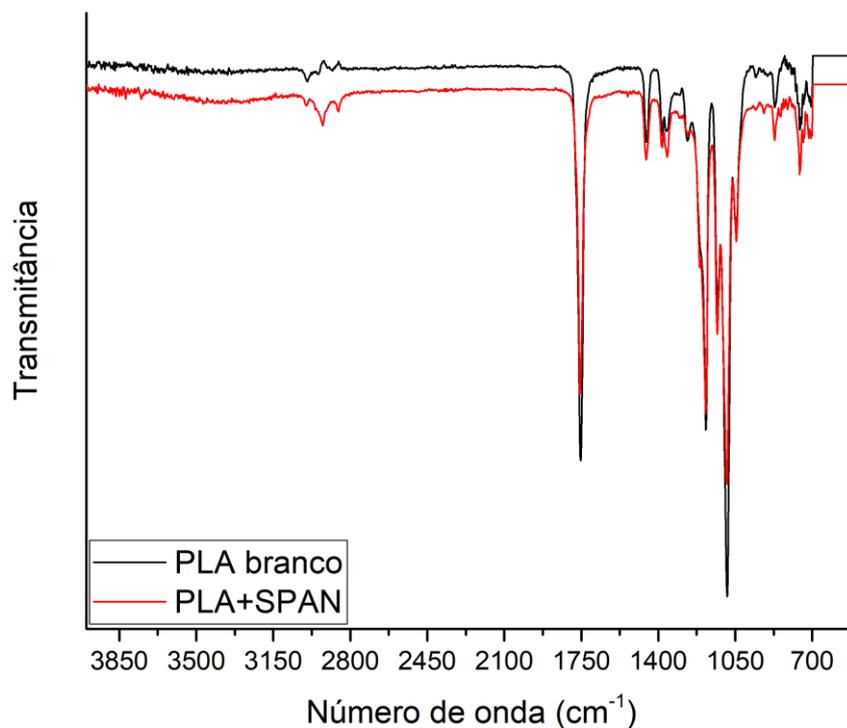
Tabela 8 - Valores obtidos para  $T_g$  e  $T_m$  a partir dos dois ciclos de aquecimento das análises de DSC para os filmes preparados.

Amostra	PPy	C1		C2	
		$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)	$T_g$ (°C)	$T_m$ (°C)
PLA branco	---	46,7	143,5	49,3	---
PLA+SPAN	---	45,6	140	42,2	139,1
M1 PLA10	PPy/FeCl <sub>3</sub>	46,6	140,9	43,2	139,5
M1 PLA25	PPy/FeCl <sub>3</sub>	45,1	136,5 / 144,0	48,3	142,4 / 144,3
M1 PLA50	PPy/FeCl <sub>3</sub>	45,2	134,1 / 143,0	49,0	142,5 / 143,2
M2 PLA10	PPy/p-TSA	47	136,5 / 144,4	48,8	143,2
M2 PLA25	PPy/p-TSA	49,6	139,0	47,3	139,7
M2 PLA50	PPy/p-TSA	49,7	140,0	45,0	141,0
M3 PLA50	PPy/AgNP	46,1	132,1 / 142,2	45,8	142,2

#### 6.4.5 Espectroscopia de infravermelho de refletância total atenuada com transformada de Fourier

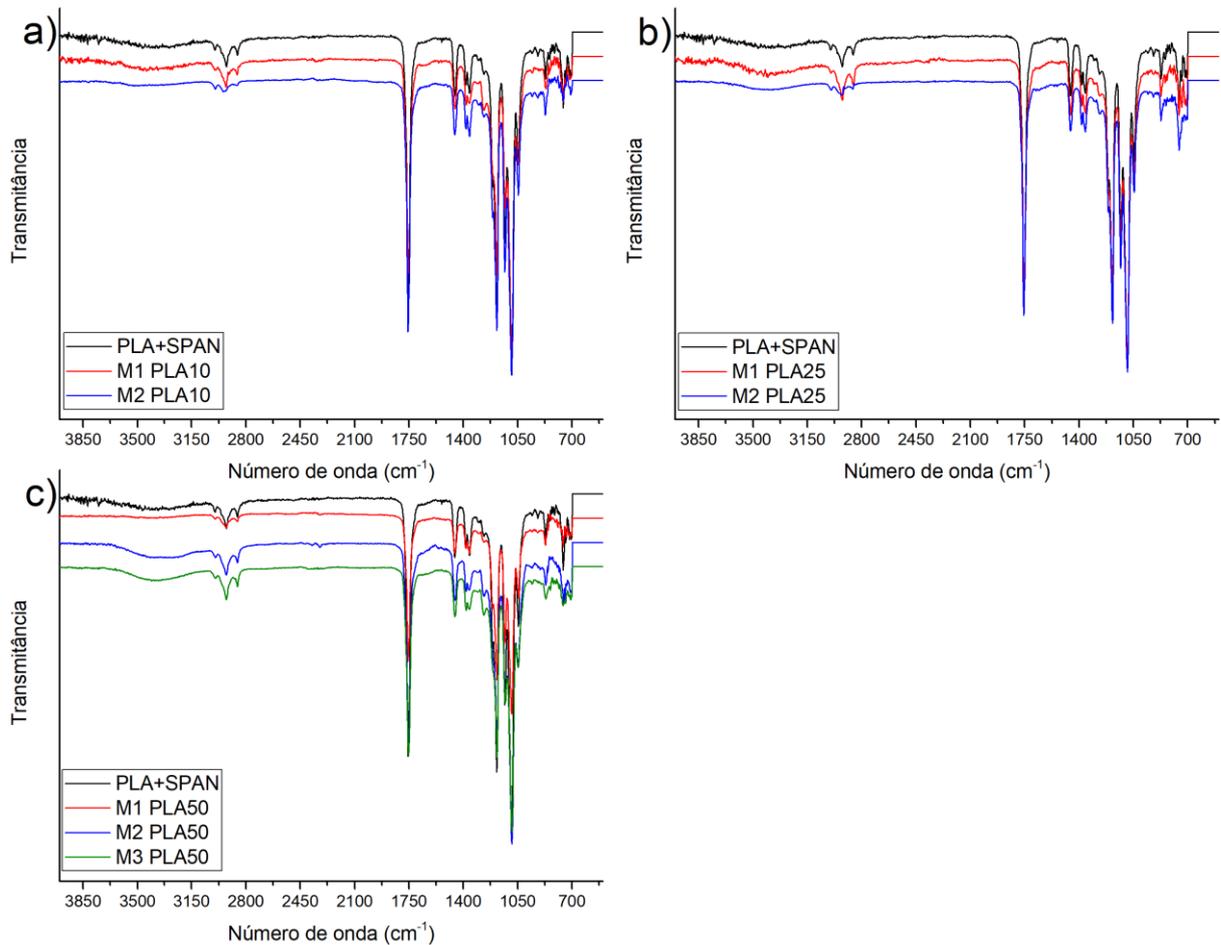
A análise de infravermelho foi utilizada a fim de verificar possíveis mudanças na composição dos filmes. Um comparativo inicial entre as duas amostras de PLA sem o polímero polipirrol pode ser verificado no espectro da figura 15. A diferença observável nesta comparação está em cerca de  $3380\text{ cm}^{-1}$ , onde aparece uma banda alargada referente ao estiramento O–H das hidroxilas do surfactante para o filme PLA+SPAN. Além deste, ainda podemos destacar a intensa banda em  $1750\text{ cm}^{-1}$ , resultante do estiramento da ligação carbonila de éster das unidades repetitivas da cadeia do PLA (MERCK, 2019).

Figura 15 - Comparação entre os espectros de infravermelho obtidos por refletância total atenuada entre os filmes PLA e PLA+SPAN.



Os espectros dos filmes contendo PPy não apresentaram grandes variações entre si, e também em relação ao filme PLA+SPAN, como pode ser observado nas figuras 16a-c, indicando que a adição do PPy não interferiu na transmitância dos filmes contendo PLA e SPAN 80, provavelmente devido a sua baixa quantidade em relação aos outros componentes.

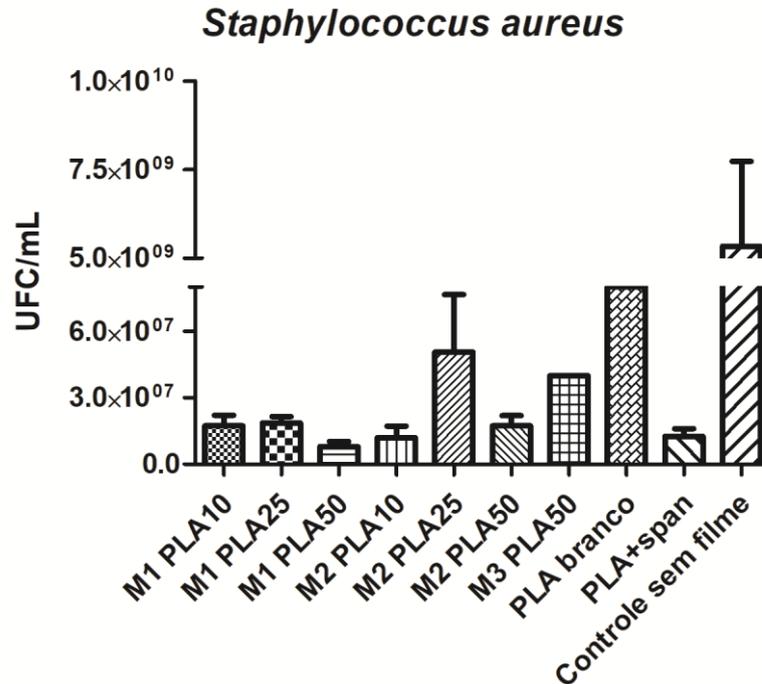
Figura 16 - Comparação entre os espectros de infravermelho para os filmes contendo a) 10 mg de PPy, b) 25 mg de PPy e c) 50 mg de PPy obtidos pelos diferentes métodos de síntese.



#### 6.4.6 Atividade antibacteriana

Os filmes preparados foram testados contra *S. aureus* ATCC 25923, que é uma importante causadora de infecções hospitalares. Os resultados da inibição de adesão bacteriana estão expressos na figura 17 na forma de Unidades Formadoras de Colônia por mL (UFC/mL).

Figura 17 - Resultados do ensaio de inibição da adesão bacteriana da *S. aureus*.

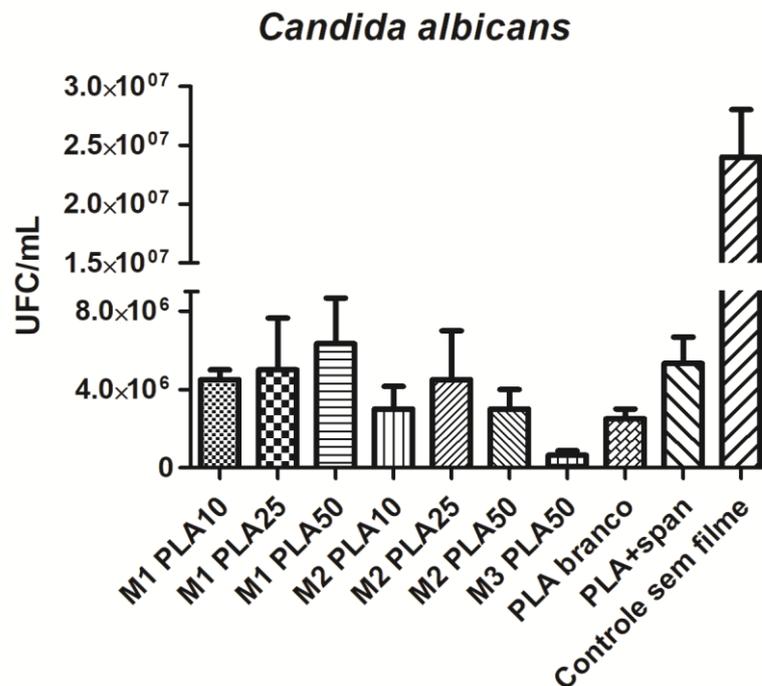


*S. aureus* teve sua adesão inibida em todos os filmes testados, incluindo o PLA branco e o PLA+SPAN, que são isentos de PPy. A inibição da adesão bacteriana mais eficiente ocorreu nos filmes contendo SPAN 80. Dessa forma, aparentemente o SPAN utilizado foi mais importante em evitar a adesão de *S. aureus* do que o próprio PPy. O SPAN 80 é um tensoativo e isso pode levar à interferência na adesão microbiana nos filmes. Treter e colaboradores reportaram a inibição do crescimento bacteriano em superfícies de poliestireno contendo SPAN 80 na concentração de 0,5 %, levando a uma redução de aproximadamente 76 % do crescimento de *Staphylococcus epidermidis* (TRETER et al., 2014). Ueda e colaboradores relataram a diminuição da adesão de *S. aureus* resistente à metilina na presença de Polissorbato 80, também conhecido como Tween 80, que é um tensoativo não iônico como o SPAN 80. Houve uma menor adesão ao plástico, ao tecido dérmico e ao silicone na presença de Tween 80, diminuindo a formação de biofilme bacteriano. Os autores propuseram o uso de Tween 80 como soluções de lavagens de feridas e a incorporação em materiais, como cateteres, na concentração de 0,05 %, que foi efetivo na inibição do biofilme e não foi citotóxico para as células testadas no estudo (UEDA et al., 2019). Mais estudos são necessários para avaliar o efeito do PPy sobre *S. aureus* sem o efeito pronunciado do SPAN 80.

#### 6.4.7 Atividade antifúngica

Para a verificação da atividade antifúngica, os filmes foram testados contra a levedura *C. albicans* C022, sendo os resultados expressos na figura 18.

Figura 18 - Resultados do ensaio de inibição da adesão fúngica de *C. albicans*



Todos os filmes testados apresentaram certa inibição da adesão em relação ao controle sem a presença de filme, sendo o maior deles referente ao M3 PLA50, que contém nanopartículas de prata. Contudo a amostra contendo apenas PLA também apresentou uma pronunciada inibição da adesão fúngica, indicando que no estudo contra *C. albicans* o efeito do SPAN 80 não foi tão pronunciado quanto no estudo anterior. A amostra contendo nanopartículas de prata apresentou uma menor adesão em relação ao controle contendo PLA e isso pode ser explicado pela ação antifúngica da prata. Nanopartículas de prata são conhecidas inibidoras da adesão fúngica, inibindo a formação do biofilme de *C. albicans*. Alguns trabalhos na literatura demonstram essa propriedade (KIM et al., 2009; LARA et al., 2015). As nanopartículas de prata atuam inibindo a formação de biofilme fúngico pela inibição da parede celular de *C. albicans*. Mais estudos são necessários para avaliar a propriedade do PPy para a inibição da adesão de *C. albicans*.

## 7 CUSTOS

A fim de realizar a estimativa de custos de produção dos filmes, foram selecionados aqueles contendo a maior quantidade de PPy, M1 PLA50, M2 PLA50 e M3 PLA50, e foram buscados os valores dos reagentes, solventes e equipamentos utilizados para sua elaboração. Foram considerados filmes de 132 cm<sup>2</sup>.

Os custos para a produção dos PPys estão dispostos na tabela 9. Os valores dos reagentes foram obtidos no catálogo da Sigma-Aldrich.

Tabela 9 - Custos dos materiais para as sínteses dos PPy.

PPy	Reagente	Custo (R\$/kg)	Quantidade (g)	Custo do reagente (R\$)
PPy/FeCl <sub>3</sub>	Acetona	111,00	47	5,22
	Clorofórmio	51,00	20	1,02
	FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	684,00	7,2	4,92
	Pirrol	4794,20	0,05	4,64
PPy/p-TSA	Acetona	111,00	47	5,22
	APS	374,00	1,14	0,43
	Clorofórmio	51,00	20	1,02
	Pirrol	4794,20	0,05	4,64
	p-TSA	185,00	0,95	0,18
PPy/AgNP	Acetona	111,00	47	5,22
	Clorofórmio	51,00	20	1,02
	AgNO <sub>3</sub>	2590,00	5,8	15,02
	Pirrole	4794,20	0,967	4,64
	SDS	733,00	0,2	0,15

Com base nas informações da tabela 9 e na quantidade produzida de cada polímero, tem-se que os custos totais por quilograma do PPy/FeCl<sub>3</sub>, do PPy/p-TSA e do PPy/AgNP são, respectivamente, R\$ 11.725,12, R\$ 11.428,51 e R\$ 5.300,55.

A tabela 10 apresenta os custos de produção de cada filme, relacionados com as quantidades de material utilizadas. O valor do PLA foi obtido através de breve busca em sites de exportação e importação, sendo tomado o maior valor encontrado para o PLA comercial.

Tabela 10 - Custos de produção dos filmes.

Filme	Material	Custo (R\$/kg)	Quantidade (g)	Custo do material (132 cm <sup>2</sup> ) (R\$)	Custo do filme (R\$/m <sup>2</sup> )
M1 PLA50	PLA	20,00	1,5	0,03	147,00
	Clorofórmio	51,00	20	1,02	
	PPy/FeCl <sub>3</sub>	11.725,12	0,05	0,59	
	SPAN 80	1.018,00	0,3	0,30	
M2 PLA 50	PLA	20,00	1,5	0,03	145,50
	Clorofórmio	51,00	20	1,02	
	PPy/p-TSA	11.428,51	0,05	0,57	
	SPAN 80	1.018,00	0,3	0,30	
M3 PLA50	PLA	20,00	1,5	0,03	122,00
	Clorofórmio	51,00	20	1,02	
	PPy/AgNP	5.300,55	0,05	0,26	
	SPAN 80	1.018,00	0,3	0,30	

Quanto aos equipamentos importados, os custos foram obtidos nas moedas de origem e convertidos em reais com a adição de impostos de importação utilizando o Simulador do Tratamento Tributário e Administrativo das Importações da Receita Federal, disponível em <<http://www4.receita.fazenda.gov.br/simulador/>>, e as taxas de câmbio do dia 06/11/2020. O custo da centrífuga *Hettich Universal 320* foi encontrado em catálogo do fabricante, sendo de 2 880,00 €, e o custo do ultrassonicador *Branson W450-D* foi encontrado em catálogo da distribuidora Marshal Scientific, US\$ 3 450,00.

Além destes equipamentos, foram também utilizados balança analítica e agitador magnético com aquecimento, cujos custos foram averiguados em catálogo da distribuidora 7lab. Os custos de todos os equipamentos podem ser verificados na tabela 11.

Tabela 11 - Custos dos equipamentos para a produção dos filmes.

Equipamento	Custo (R\$)
Agitador magnético	1.877,00
Balança analítica	5.987,00
Centrífuga	23.310,00
Ultrassonicador	24.186,00
Total:	55.360,00

## 8 CONCLUSÕES

Com base nas caracterizações realizadas por TGA, DRX e ATR-FTIR, conclui-se que foi possível sintetizar o PPy através da polimerização oxidativa do pirrol pelos três métodos abordados neste trabalho. Além disso, os filmes preparados apresentaram as características esperadas de filmes de PLA, havendo pouca interferência dos aditivos, sendo marcada a presença, principalmente, do SPAN 80.

Ao se avaliar a capacidade de inibição de *S. aureus*, percebeu-se que todos os filmes apresentaram resultados positivos, inclusive o PLA branco e o PLA+SPAN, sendo que este segundo obteve um dos melhores resultados de inibição. A presença de prata no filme M3 PLA50 não aparentou melhorar a inibição em relação aos outros filmes, cabendo ressaltar que a adição de 50 mg de PPy/AgNP em sua produção o levou a conter cerca de 6 mg de PPy e de 44 mg de prata. Ainda, a característica comum de todos os filmes com melhor desempenho inibidor de adesão de *S. aureus* é a presença do SPAN 80, o que pode indicar que este componente teve um efeito antibacteriano mais acentuado do que o do próprio PPy

Quanto aos ensaios para inibição de adesão de *C. albicans*, também todos os filmes apresentaram atividade inibitória, entretanto nota-se a diminuição da eficiência de inibição com a adição de PPy/FeCl<sub>3</sub>, de PPy/p-TSA e de SPAN 80 aos filmes. Para este micro-organismo, os filmes que apresentaram melhores resultados foram o PLA branco e o M3 PLA50, sendo este último provavelmente devido à presença de AgNP em sua composição, que possui comprovada ação antifúngica.

Por fim, apesar de todos os filmes terem apresentado resultados positivos para a inibição do crescimento dos micro-organismos avaliados, é inconclusivo o efeito do PPy, em suas três formas analisadas, de maneira que são necessários mais estudos para confirmar suas propriedades antimicrobianas.

## REFERÊNCIAS

- ALVA, S. et al. Synthesis and Characterization of Toluene Sulfonic Acid (Tsa)-Doped Polypyrrole Nanoparticles: Effects of Dopant Concentrations. **International Journal of Innovation in Mechanical Engineering and Advanced Materials**, v. 2, n. 1, p. 1–9, 2016.
- ARANDA, S. **Ten threats to global health in 2019**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/feature-stories/ten-threats-to-global-health-in-2019>>. Acesso em: 20 set. 2020.
- BASF. **How certified biodegradable plastics contribute to Circular Economy**. Disponível em: <[https://plastics-rubber.basf.com/global/en/performance\\_polymers/fpgs/fpg\\_biodegradable\\_plastics.html?at\\_medium=sl&at\\_campaign=PM\\_PRB\\_GLOB\\_EN\\_Biopolymers\\_TRA\\_CROSS&at\\_term=biopolymer&at\\_creation=Search\\_Google\\_SERP\\_Biopolymers-General-Global-EN&at\\_platform=>](https://plastics-rubber.basf.com/global/en/performance_polymers/fpgs/fpg_biodegradable_plastics.html?at_medium=sl&at_campaign=PM_PRB_GLOB_EN_Biopolymers_TRA_CROSS&at_term=biopolymer&at_creation=Search_Google_SERP_Biopolymers-General-Global-EN&at_platform=>)>. Acesso em: 7 nov. 2020.
- BATOOL, A. et al. Synthesis of polypyrrole/zinc oxide composites and study of their structural, thermal and electrical properties. **Synthetic Metals**, v. 161, n. 23–24, p. 2753–2758, 2012.
- BI, H. et al. In vitro and in vivo comparison study of electrospun PLA and PLA/PVA/SA fiber membranes for wound healing. **Polymers**, v. 12, n. 4, 2020.
- BOBER, P. et al. Biocomposites of Nanofibrillated cellulose, polypyrrole, and silver nanoparticles with electroconductive and antimicrobial properties. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 10, p. 3655–3663, 2014.
- CHOUGULE, M. A. et al. Synthesis and Characterization of Polypyrrole (PPy) Thin Films. **Soft Nanoscience Letters**, v. 01, n. 01, p. 6–10, 2011.
- CONG, S. Properties of polylactic acid fiber based polymers and their correlation with composition. **Proceedings of 2007 International Conference on Advanced Fibers and Polymer Materials, ICAFPM 2007**, v. 1, p. 8–11, 2007.
- 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.
- DAVIES, D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 2, p. 114–122, 2003.
- DHAR, A. D. **Overview of Bacterial Skin Infections - Skin Disorders - Merck Manuals Consumer Version**. Disponível em: <<https://www.merckmanuals.com/home/skin-disorders/bacterial-skin-infections/overview-of-bacterial-skin-infections>>. Acesso em: 20 set. 2020.
- DIAZ, M. et al. Antimicrobial Activity of Cationic Antimicrobial Peptides against Gram-Positives: Current Progress Made in Understanding the Mode of Action and the Response of Bacteria. **Frontiers in Cell and Developmental Biology | www.frontiersin.org**, v. 4, p. 111, 2016.
- EL-SAYED, N. S. et al. Development of electrical conducting nanocomposite based on carboxymethyl cellulose hydrogel/silver nanoparticles@polypyrrole. **Synthetic**

**Metals**, v. 250, n. March, p. 104–114, 2019.

GIRDTHEP, S. et al. Effect of Tween 80 on the Mechanical and Thermal Properties of Solution-Cast Blends of Poly ( lactic acid ) and Cellulose Acetate Butyrate Films. **International Conference on Chemistry and Chemical Process**, v. 10, p. 95–100, 2011.

GUIMARD, N. K.; GOMEZ, N.; SCHMIDT, C. E. Conducting polymers in biomedical engineering. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 32, n. 8–9, p. 876–921, 2007.

JEM, K. J.; TAN, B. The development and challenges of poly (lactic acid) and poly (glycolic acid). **Advanced Industrial and Engineering Polymer Research**, v. 3, n. 2, p. 60–70, 2020.

KENAWY, E. R. et al. Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(ethylene-co-vinylacetate), poly(lactic acid), and a blend. **Journal of Controlled Release**, v. 81, n. 1–2, p. 57–64, 2002a.

KENAWY, E. R. et al. Biologically active polymers. V. Synthesis and antimicrobial activity of modified poly(glycidyl methacrylate-co-2-hydroxyethyl methacrylate) derivatives with quaternary ammonium and phosphonium salts. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 40, n. 14, p. 2384–2393, 15 jul. 2002b.

KENAWY, E. R.; ABDEL-FATTAH, Y. R. Antimicrobial properties of modified and electrospun poly(vinyl phenol). **Macromolecular Bioscience**, v. 2, n. 6, p. 261–266, 2002.

KENAWY, E. R.; WORLEY, S. D.; BROUGHTON, R. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: A state-of-the-art review. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 5, p. 1359–1384, 2007.

KHAN, F. et al. Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 185, n. July 2019, p. 110627, 2020.

KIANI, G.; NOURIZAD, A.; NOSRATI, R. In-situ Chemical Synthesis of Polypyrrole/Silver Nanocomposite for the Use as a Room Temperature Ammonia Gas Sensor. **Fibers and Polymers**, v. 19, n. 10, p. 2188–2194, 2018.

KIM, K. J. et al. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. **BioMetals**, v. 22, n. 2, p. 235–242, 2009.

KOTZAMPASSI, K.; GIAMARELLOS-BOURBOULIS, E. J. Probiotics for infectious diseases: More drugs, less dietary supplementation. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, n. 4, p. 288–296, 2012.

KRAŚNIEWSKA, K.; GALUS, S.; GNIEWOSZ, M. **Biopolymers-based materials containing silver nanoparticles as active packaging for food applications—A review** *International Journal of Molecular Sciences*, 2020.

LARA, H. H. et al. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: An ultrastructural study. **Journal of Nanobiotechnology**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2015.

LI, C.; BAI, H.; SHI, G. Conducting polymer nanomaterials: Electrosynthesis and applications. **Chemical Society Reviews**, v. 38, n. 8, p. 2397–2409, 2009.

LIAO, C. J. et al. Fabrication of porous biodegradable polymer scaffolds using a solvent merging/particulate leaching method. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 59, n. 4, p. 676–681, 2002.

LIU, F. et al. Synthesis of polypyrrole nanocomposites decorated with silver nanoparticles with electrocatalysis and antibacterial property. **Composites Part B: Engineering**, v. 69, p. 232–236, 2015.

LLANA-RUIZ-CABELLO, M. et al. Development of PLA films containing oregano essential oil (*Origanum vulgare* L. *virens*) intended for use in food packaging. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, v. 33, n. 8, p. 1374–1386, 2016.

MAH, T. F. et al. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. **Nature**, v. 426, n. 6964, p. 306–310, 2003.

MARKETSANDMARKETS. **Antimicrobial Plastics Market by Type (Commodity Plastics, Engineering Plastics, and High Performance Plastics), Application (Packaging, Automotive, Consumer Goods, Medical and Healthcare, and Building & Construction), Region - Global Forecast to 2025**. Disponível em: <<https://www.marketsandmarkets.com/Market-Reports/antimicrobial-plastic-market-20591555.html>>. Acesso em: 7 nov. 2020.

MARTINELLI, A. H. S. et al. Soybean ubiquitous urease with purification facilitator: An addition to the moonlighting studies toolbox. **Process Biochemistry**, v. 53, p. 245–258, 2017.

MATICA, M. A. et al. Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 23, p. 1–33, 2019.

MERCK. **IR Spectrum Table & Chart**. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/ir-spectrum-table.html#ir-table-by-compound>>.

NAUTIYAL, A. et al. High performance polypyrrole coating for corrosion protection and biocidal applications. **Applied Surface Science**, v. 427, p. 922–930, 2018.

NETTI, P. A. Biomedical Foams for Tissue Engineering Applications. In: **Biomedical Foams for Tissue Engineering Applications**. [s.l.: s.n.]. p. 163–187.

NOEL, S. P. et al. **Chitosan films: A potential local drug delivery system for antibiotics**. Clinical Orthopaedics and Related Research. **Anais...**2008

NOVACEL. **Antimicrobial Film**. Disponível em: <<http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ply&AN=986895&site=ehost-live&scope=site>>. Acesso em: 7 nov. 2020.

OGUNSONA, E. O. et al. **Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review****Applied Materials Today**Elsevier Ltd, , 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100473>>

OMS. **High levels of antibiotic resistance found worldwide, new data shows**. Disponível em: <<https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/en/>>. Acesso em: 20 set. 2020.

PALLIYIL, S. et al. High-Sensitivity Monoclonal Antibodies Specific for Homoserine Lactones Protect Mice from Lethal *Pseudomonas aeruginosa* Infections. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 2, p. 462–469, 2014.

RAYNALD, R. et al. Polypyrrole/poly(lactic acid) nanofibrous scaffold cotransplanted with bone marrow stromal cells promotes the functional recovery of spinal cord injury in rats. **CNS Neuroscience and Therapeutics**, v. 25, n. 9, p. 951–964, 2019.

SANCHEZ RAMIREZ, D. O. et al. Antibacterial properties of polypyrrole-treated fabrics by ultrasound deposition. **Materials Science and Engineering C**, v. 102, n. October 2018, p. 164–170, 2019.

SCAFFARO, R. et al. Antimicrobial additives for poly(lactic acid) materials and their applications: current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 18, p. 7739–7756, 2018.

SCS. **SCS microRESIST** ®. Disponível em: <<https://scscoatings.com/parylene-coatings/medical-coatings/antimicrobial-coating/>>. Acesso em: 7 nov. 2020.

SIMÕES, M.; PEREIRA, M. O.; VIEIRA, M. J. Action of a cationic surfactant on the activity and removal of bacterial biofilms formed under different flow regimes. **Water Research**, v. 39, n. 2–3, p. 478–486, 2005.

TAKAHASHI, H.; NADRES, E. T.; KURODA, K. Cationic Amphiphilic Polymers with Antimicrobial Activity for Oral Care Applications: Eradication of *S. mutans* Biofilm. **Biomacromolecules**, v. 18, n. 1, p. 257–265, 2017.

TAN, Y.; GHANDI, K. **Kinetics and mechanism of pyrrole chemical polymerization** *Synthetic Metals*, 2013.

TRETER, J. et al. Washing-resistant surfactant coated surface is able to inhibit pathogenic bacteria adhesion. **Applied Surface Science**, v. 303, p. 147–154, 2014.

UEDA, Y. et al. Inhibitory effects of polysorbate 80 on MRSA biofilm formed on different substrates including dermal tissue. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019.

VARESANO, A. et al. Antibacterial efficacy of polypyrrole in textile applications. **Fibers and Polymers**, v. 14, n. 1, p. 36–42, 2013.

WILLYARD, C. Drug-resistant bacteria ranked. **Nature**, v. 543, p. 15, 2017.

YUSSUF, A. et al. Synthesis and Characterization of Conductive Polypyrrole: The Influence of the Oxidants and Monomer on the Electrical, Thermal, and Morphological Properties. **International Journal of Polymer Science**, v. 2018, 2018.