



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro de Tecnologia e Ciências  
Instituto de Química

Ana Lucia da Conceição dos Santos

**Síntese, caracterização e avaliação de materiais  
poliméricos com propriedades bactericidas**

Rio de Janeiro  
2009

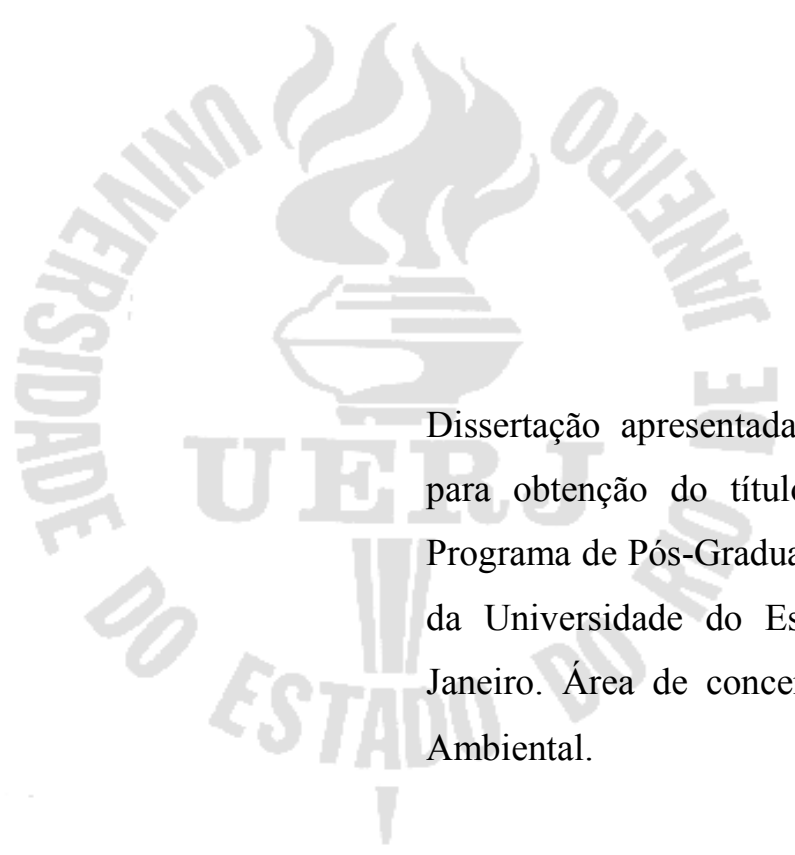
# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ana Lucia da Conceição dos Santos

**Síntese, caracterização e avaliação de materiais poliméricos com propriedades bactericidas**



Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Química Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria

Rio de Janeiro

2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

S237 Santos, Ana Lucia da Conceição dos  
Síntese, caracterização e avaliação de materiais poliméricos com  
propriedades bactericidas./ Ana Lucia da Conceição dos Santos. –  
2009.  
145 f.  
  
Orientador: Luiz Claudio de Santa Maria.  
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de  
Janeiro, Instituto de Química.  
  
1. Agentes antibacterianos – Teses. 2. Materiais porosos – Teses.  
3. Prata – Teses. I. Santa Maria, Luiz Claudio de. II. Universidade do  
Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. III. Título.

CDU 579.8

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou  
parcial desta tese.

---

Assinatura

---

Data

Ana Lucia da Conceição dos Santos

**Síntese, caracterização e avaliação de materiais poliméricos com propriedades bactericidas**

Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Química Ambiental.

Aprovada em \_\_\_\_\_

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria (Orientador)  
Departamento de Química Orgânica da UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Christina Amorim Moreira Leite  
Departamento de Química Orgânica da UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Viviane Gomes Teixeira  
Instituto de Química da UFRJ

Rio de Janeiro  
2009

## DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho às pessoas mais importantes de minha vida:  
meus pais,  
Franciso (*In memoriam*) e Thereza,  
e minha avó Filomena, pelo exemplo de luta,  
determinação e persistência na conquista de  
suas metas.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de demonstrar a minha gratidão a todos com quem pude contar na realização deste trabalho:

- Primeiramente, agradeço a Deus, por ter permitido mais uma conquista em minha vida, por ter me sustentado, dando-me equilíbrio, entendimento e perseverança para superar os obstáculos.
- Ao meu orientador prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria, pelos conhecimentos transmitidos, pela oportunidade, confiança, atenção, paciência, dedicação, apoio e exemplo de profissionalismo.
- Aos meus familiares pelo apoio, paciência, compreensão, incentivo, além do carinho de sempre, possibilitando que eu concluísse mais esta etapa da minha formação acadêmica.
- Ao meu namorado André, pelo seu apoio nas horas de desânimo e cansaço, pelas palavras de estímulo e pelo amor e carinho que me fizeram encontrar paz e repouso em meio às turbulências.
- À amiga Aline Sol com quem muito aprendi e compartilhei momentos de alegrias e angústias durante este período, pela amizade, companheirismo, incentivo, idéias e sugestões que muito ajudaram e contribuíram no desenvolvimento dos experimentos.
- Às amigas Adriana Azedias e Karine Pires pelo apoio e amizade desde a época da graduação.
- Às professoras Viviane Gomes Teixeira e Márcia Amorim por aceitarem o convite para participar da banca examinadora.
- A todos os colegas do Laboratório de Tecnologia Ambiental pela agradável convivência e grandiosas trocas de experiências.
- Aos alunos: Camila Lopes e Philippe Campos pelo comprometimento, esforço, ajuda, amizade e dedicação, e Leandro Alexandre pela amizade e ajuda com a montagem da aparelhagem das sínteses e com os problemas de informática.
- À técnica do laboratório de Tecnologia Ambiental Maria de Los Dolores Josefa Fernandez Ferreira pelo carinho, atenção e ajuda necessária no laboratório.
- Ao Departamento de Tecnologia de Processos Bioquímicos: Prof. Fábio Merçon, Prof<sup>ª</sup>. Márcia Gonçalves e aos técnicos de laboratório Flávia e Veiga.

- À Rita Maria Pinho Sá do Laboratório de Caracterização Instrumental I (IQ/UERJ) pelas análises de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR).
- À Lorna do Laboratório de Caracterização Instrumental I (IQ/UERJ) pelas análises termogravimétricas (TGA).
- Ao Eduardo Castello Branco do Laboratório de Caracterização Instrumental II (IQ/UERJ) pelas análises de ASAP.
- À Prof<sup>a</sup>. Márcia Amorim e às alunas Flavia e Lessandra pela ajuda na microscopia ótica.
- Ao José Luiz Mazzei do Laboratório de Mutagênese Ambiental do IBRAG/UERJ pelo auxílio no tratamento estatístico dos dados experimentais.
- À Prof<sup>a</sup>. Dra. Wang Shu Hui do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.
- Ao Prof. Dr. Hernane S. Barud do Instituto de Química da UNESP pelas análises de microscopia eletrônica de varredura e difração de raios-X e pelo fornecimento das membranas de celulose.
- À Embrapa Solos pela análise elementar.
- A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Química pela contribuição em minha formação acadêmica.
- Aos colegas do curso de Mestrado em Química.
- Aos colegas do Laboratório de Química de Polímeros pela convivência e ajuda mútua.
- À secretária da Pós- Graduação, Marize, pelos esclarecimentos, atenção e por toda a ajuda prestada sempre que solicitada.
- Aos funcionários do IQ-UERJ e da biblioteca do IQ-UERJ.
- À Luciana Cunha pelas sugestões apresentadas para o enriquecimento deste trabalho.
- À CAPES, FAPERJ, CNPQ e UERJ, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ser realizado.
- A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização desta dissertação, muito obrigada!



Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência (M.Sc.).

## **Síntese, caracterização e avaliação de materiais poliméricos com propriedades bactericidas**

Ana Lucia da Conceição dos Santos  
Maio 2009

Orientador: Prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria

### **RESUMO**

Nesta dissertação, foram preparados materiais poliméricos com atividade bactericida a partir de copolímeros de estireno (Sty) e divinilbenzeno (DVB) e de celulose bacteriana. Três copolímeros à base de Sty e DVB foram sintetizados através da técnica de polimerização em suspensão aquosa. Os copolímeros foram preparados com diferentes estruturas porosas, por meio da variação da composição do sistema diluente. Um copolímero comercial macrorreticulado, Amberlite® XAD4, de elevada área superficial, também foi usado neste estudo com o objetivo de comparar sua estrutura polimérica e seu desempenho com o dos copolímeros sintetizados. Os copolímeros de Sty-DVB foram caracterizados por meio da densidade aparente, área específica, diâmetro médio de poros, volume de poros, microscopias ótica e eletrônica de varredura, grau de inchamento, espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica e análise elementar. Os copolímeros de Sty-DVB foram modificados quimicamente através da reação de nitração, seguida da reação de redução do grupo nitro a amino e posterior reação de diazotação e hidrólise do grupo sal de diazônio. Os copolímeros modificados contendo os grupos  $-NH_2$  e  $-OH$  foram utilizados como suporte para a ancoragem das nanopartículas de prata. As partículas de prata foram obtidas pela redução dos íons  $Ag^+$  empregando-se cloridrato de hidroxilamina como redutor e PVP como protetor de colóide. O teor de prata impregnada foi determinado pelo método volumétrico. A celulose bacteriana (BC) foi empregada como uma matriz para impregnação de nanopartículas de prata. Membranas de BC foram impregnadas com solução aquosa de  $AgNO_3$ , a seguir foi realizada a redução dos íons  $Ag^+$  com três diferentes agentes redutores (hidrazina, hidroxilamina e ácido ascórbico) empregando ou não protetor de colóide (PVP ou gelatina). As membranas de BC/ $Ag^0$  obtidas foram caracterizadas por difração de raios-X, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura. A capacidade bactericida dos copolímeros de Sty-DVB, dos copolímeros funcionalizados e impregnados com prata e das membranas de BC/ $Ag^0$  foi avaliada através do método da contagem em placa contra suspensões de *Escherichia coli*, em diferentes concentrações ( $10^3$  a  $10^7$  células/mL). Foi observado que os copolímeros de origem e os copolímeros modificados contendo os grupos  $-NO_2$  e  $-NH_2$  não apresentaram atividade bactericida contra suspensões de *E. coli* em nenhuma concentração. Por outro lado, os copolímeros modificados contendo o grupo  $-OH$  apresentaram alguma atividade bactericida, embora abaixo do esperado devido à baixa incorporação de hidroxilas fenólicas. Os copolímeros modificados impregnados com Ag apresentaram maior ação bactericida do que os copolímeros modificados, o que comprova que a ação bactericida é devida às partículas de prata ancoradas nos copolímeros. Os copolímeros

modificados contendo o grupo –OH impregnados com Ag mesmo possuindo menores teores de prata apresentaram maior ação bactericida do que os copolímeros modificados contendo o grupo –NH<sub>2</sub> impregnados com Ag. A maior ação bactericida pode ser atribuída à combinação da atividade bactericida das partículas de prata com a atividade dos grupos hidroxilas fenólicas mesmo que estes grupos estejam pouco incorporados nos copolímeros. Os compósitos de BC/Ag<sup>0</sup> exibiram atividade bactericida contra *E. coli* que foi atribuída à ação das nanopartículas de prata obtidas quando foi empregada a hidroxilamina como agente redutor e a gelatina como protetor de colóide.

Palavras-chave: atividade bactericida; materiais poliméricos; prata

Abstract of Dissertation presented to Programa de Pós-graduação em Química of the Instituto de Química of the Universidade do Estado do Rio de Janeiro, as partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.).

## **Synthesis, characterization and evaluation of polymeric materials with bactericidal properties**

Ana Lucia da Conceição dos Santos

May 2009

Dissertation Supervisor: Prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria

### **ABSTRACT**

In this work, styrene and divinylbenzene copolymers and bacterial cellulose were employed as polymeric supports for preparing composite materials with bactericidal activity. Three copolymers based on Sty-DVB were synthesized by suspension polymerization. The copolymers were prepared by varying the solvating power of the employed diluent system aiming to obtain different porosities. The commercial copolymer Amberlite® XAD4 was also used aiming to relate its performance with the porous structure of this commercial resin and the synthesized copolymers. These copolymers were characterized by bulk density, specific area, pore average diameter, optical and scanning electronic microscopies, swelling degree, infra-red spectrometry (FTIR), thermogravimetric analysis (TG) and elemental analysis (CHN). The copolymers were modified by the nitration reaction, reduction of the nitro group and subsequent hydrolysis of the diazonium salt group. The chemical modification of copolymers was confirmed by FTIR and by the thermal profiles changes. The modification extension was determined by elemental analysis. The  $\text{Ag}^+$  ions were reduced by employing hydroxylamine as reductant and PVP as colloid protector aiming to produce silver nanoparticles anchored on the resin surface. The amount of incorporated silver was determined by titration. The bacterial cellulose (BC) was also used as a matrix for anchoring nanoparticles of silver. BC membranes were immersed in silver nitrate solution. The  $\text{Ag}^+$  ions were reduced by employing hydrazine, hydroxylamine or ascorbic acid as reductant in the presence or not of a colloid protector (PVP or gelatin). XRD analysis have confirmed Ag cubic phase on the BC/ $\text{Ag}^0$  membrane. The particles size distribution of silver nanoparticles and their morphologic features were investigated by scanning electron microscopy. The antibacterial activity of the original copolymers, the modified copolymers, the copolymers containing anchored silver particles and BC/Ag membranes was determined towards  $10^3$  to  $10^7$  cells/mL dilutions of *Escherichia coli* strain. It was noted that the original copolymers and copolymers containing  $-\text{NO}_2$  and  $-\text{NH}_2$  groups did not present bactericidal action. However, the copolymers containing  $-\text{OH}$  groups presented a considerable bactericidal activity but lower than expected due to low amount of  $-\text{OH}$  groups. The copolymers containing anchored silver particles presented higher bactericidal action than the modified copolymers, confirming that the bactericidal activity was attributed to the action of silver nanoparticles. The modified copolymers containing  $-\text{OH}$  groups and anchored silver particles exhibited higher bactericidal

action than the modified copolymers containing  $-NH_2$  groups and anchored silver particles. This highest bactericidal activity was due to the combined action of silver nanoparticles and functional group  $-OH$  of the copolymers. The composites BC/Ag<sup>0</sup> showed antibacterial activity against *Escherichia coli* that was attributed to the action of silver nanoparticles obtained when a combination of hydroxylamine as reducing agent and gelatine as protective colloid was employed.

Keywords: bactericidal activity; polymeric materials; silver

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Alvos potenciais para os agentes antimicrobianos	24
Figura 2 – Rota da síntese química do SMA-AP	28
Figura 3 – Polímeros contendo grupos hidroxila fenólica usados no estudo de Nonaka e colaboradores	29
Figura 4 – Estrutura de sais de amônio quaternário	31
Figura 5 – Estrutura do siloxano 5,5-dimetil-3-(3'-trietoxisililpropil)-hidantoína	34
Figura 6 – Estrutura do monômero 3-(3-trietoxisililpropil)-7,7,9,9-tetrametil-1,8,8-triaza-spiro[4.5]decano-2,4-diona e seu polímero	35
Figura 7 – Fotografias das placas de Agar nas quais a suspensão de <i>E. coli</i> foi tratada com PP grafitizado com PQA (superfície modificada) (a) e tratada com PP (superfície não modificada) (b)	36
Figura 8 – Estrutura química de poli[1,3-dicloro-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína]	36
Figura 9 – Estrutura de 3-alil-5,5-dimetil-hidantoína	37
Figura 10 – Estrutura de 3-(4'-vinilbenzil)-5,5-dimetil-hidantoína (VBDMH)	37
Figura 11 – Estrutura do ( <i>m</i> -fenilenoisofalamida) (Nomex®)	39
Figura 12 – Estrutura do ( <i>p</i> -fenilenotereftalamida) (Kevlar®)	39
Figura 13 – Mecanismo de desinfecção das bactérias com (a) íons OH <sup>-</sup> e (b) íons OH <sup>-</sup> e H <sup>+</sup>	41
Figura 14 – Placas de Petri inicialmente com 10 <sup>5</sup> UFC/mL de <i>E. coli</i> e incubadas com prata (a) 1 µg, (b) 6 µg, (c) 12,5 µg, (d) 50 µg e (e) 100 µg. (A) Ag <sup>+</sup> na forma de AgNO <sub>3</sub> (B) nanopartículas esféricas de prata.	46
Figura 15 – Número de colônias de <i>E. coli</i> em função da concentração de nanopartículas de prata.	49
Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura de células de <i>E. coli</i> nativas (a) e células tratadas com 50 µg.cm <sup>-3</sup> de nanopartículas de prata em meio de LB líquido por 4 h (b)	50
Figura 17 – Rotas de síntese para a celulose	54
Figura 18 – Imagem da membrana de BC (a) e da membrana de BC contendo nanopartículas de AgCl (b)	56
Figura 19 – Imagem de MEV das nanopartículas de AgCl formadas na membrana de BC	56

Figura 20 – Imagens de MEV: a) membrana de BC pura; b) membrana de BC contendo Ag; c) partículas de Ag são identificadas como pontos brancos; d) aglomerado de nanopartículas de prata envolvido pelas fibras de BC	58
Figura 21 – Curvas de TGA obtidas para membranas de BC pura e de BC-Ag	59
Figura 22 – Atividade antimicrobiana da celulose bacteriana impregnada com nanopartículas de prata contra (a) <i>Escherichia coli</i> (b) <i>Staphylococcus aureus</i>	60
Figura 23 – Metodologia de preparação dos materiais poliméricos com propriedades bactericidas	65
Figura 24 – Sistema de reação de polimerização	66
Figura 25 – Sistema de extração utilizado na purificação dos copolímeros	68
Figura 26 – Sistema reacional utilizado na modificação por reação de hidrólise do grupo sal de diazônio	75
Figura 27 – Representação esquemática da reação de polimerização do estireno com divinilbenzeno	87
Figura 28 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RA – aumento de 75 x	90
Figura 29 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RB – aumento de 75 x	90
Figura 30 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RC – aumento de 75 x	90
Figura 31 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RA – magnificação de 350 x	91
Figura 32 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RB – magnificação de 350 x	92
Figura 33 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RC – magnificação de 350 x	92
Figura 34 – Micrografias de microscopia eletrônicas de varredura dos copolímeros RA [morfologia da superfície externa (a) e interna (b)], RB [morfologia da superfície externa (c) e interna (d)], e RC [morfologia da superfície externa (e) e interna (f)] – magnificação de 5.000 x	93
Figura 35 – Espectros de absorção na região do infravermelho dos copolímeros de Sty-DVB	96
Figura 36 – Curvas de TGA dos copolímeros não modificados	97
Figura 37 – Representação esquemática da reação de nitração	99

Figura 38 – Espectro de absorção na região do infravermelho dos copolímeros nitrados	99
Figura 39 – Representação esquemática da reação de redução	100
Figura 40 – Espectro de absorção na região do infravermelho dos copolímeros modificados pela reação de redução	100
Figura 41 – Representação esquemática da reação de hidrólise	101
Figura 42 – Espectro de absorção na região do infravermelho dos copolímeros modificados pela reação de hidrólise do grupo sal de diazônio	101
Figura 43 – Curvas de TGA para o copolímero original (RA) e os copolímeros modificados (RA-NO <sub>2</sub> , RA-NH <sub>2</sub> , RA-OH)	103
Figura 44 – Curvas de TGA para o copolímero original (RB) e os copolímeros modificados (RB-NO <sub>2</sub> , RB-NH <sub>2</sub> , RB-OH)	103
Figura 45 – Curvas de TGA para o copolímero original (RC) e os copolímeros modificados (RC-NO <sub>2</sub> , RC-NH <sub>2</sub> , RC-OH)	104
Figura 46 – Curvas de TGA para o copolímero original (XAD) e os copolímeros modificados (XAD-NO <sub>2</sub> , XAD-NH <sub>2</sub> , XAD-OH)	104
Figura 47 – Interação entre os íons Ag <sup>+</sup> através do nitrogênio e oxigênio da molécula de PVP	107
Figura 48 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura da BC pura (a) e dos compósitos BC/Ag <sup>0</sup> obtidos com (b) hidrazina; (c) hidroxilamina; (d) ácido ascórbico, todos sem protetor de colóide – magnificação de 15.000x	111
Figura 49 – Representação da produção de nanopartículas de Ag na estrutura da nanofibra de celulose bacteriana	113
Figura 50 – Análise de difração de raios-X de: a) BC/Ag <sup>0</sup> preparada sem PVP b) BC/Ag <sup>0</sup> preparada com PVP	114
Figura 51 – Micrografias de MEV dos compósitos BC/Ag <sup>0</sup> obtidos sem protetor de colóide com (a) hidroxilamina; (b) hidrazina e (c) ácido ascórbico	116
Figura 52 – Micrografias de MEV dos compósitos BC/Ag <sup>0</sup> obtidos com protetores de colóide (a) com ácido ascórbico/gelatina; (b) hidroxilamina/gelatina; (c) ácido ascórbico/PVP e (d) hidroxilamina/PVP	117
Figura 53 – Resultados do ensaio de atividade bactericida para o compósito CGHX	123

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimento das reações de polimerização	88
Tabela 2 – Características físico-químicas dos copolímeros de Sty-DVB	88
Tabela 3 – Grau de inchamento dos copolímeros de Sty-DVB	94
Tabela 4 – Principais absorções observadas nos espectros de infravermelho dos copolímeros de Sty-DVB	96
Tabela 5 – Características térmicas dos copolímeros de Sty-DVB	97
Tabela 6 – Análise elementar dos copolímeros	102
Tabela 7 – Características térmicas dos copolímeros antes e após as modificações	105
Tabela 8 – Potenciais padrão de redução da prata e da hidroxilamina em meio básico	108
Tabela 9 – Teor de prata nos copolímeros	109
Tabela 10 – Potenciais padrão de redução da prata e dos redutores em meio básico	112
Tabela 11 – Teores de prata e tamanhos médios das partículas de prata nos compósitos BC/Ag	115
Tabela 12 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –OH contra suspensões de <i>E. coli</i>	119
Tabela 13 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –NH <sub>2</sub> impregnados com Ag contra suspensões de <i>E. coli</i>	119
Tabela 14 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –OH impregnados com Ag contra suspensões de <i>E. coli</i>	120
Tabela 15 – Atividade bactericida dos compósitos BC/Ag <sup>0</sup> contra suspensões de <i>E. coli</i>	122



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- A: Área específica
- ADMH: 3-alil-5,5-dimetil-hidantoína
- AP: 4-aminofenol
- ATRP: Polimerização radicalar via transferência de átomo
- BB: Brometo de butila
- BC: Cloreto de benzila
- BC: Celulose bacteriana
- CA: Acetato de celulose
- $D_{ap}$ : Densidade aparente
- DB: Brometo de dodecila
- $D_m$ : Diâmetro médio de poros
- DMAEMA: Metacrilato de dimetilaminoetil
- DRD: *Demand release disinfectants*
- DTG: Derivada termogravimétrica
- DVB: Divinilbenzeno
- FA: Fase aquosa
- FO: Fase orgânica
- FTIR: Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier
- HB: Brometo de hexadecila
- HEC: 2-hidroxietilcelulose
- HEP: n-heptano
- I: Grau de inchamento
- IERs: Resinas trocadoras de íons
- IPCD: *Insoluble polymeric contact disinfectants*
- LPS: Lipopolissacarídeo
- MEV: Microscopia eletrônica de varredura
- PAN: Poliacrilonitrila
- PBO: Peróxido de benzoíla

- PDMAEMA: Poli[metacrilato de 2-(dimetilamino)etila]
- PP: Polipropileno
- PQA: Poli(amônio quaternário)
- PSF: Polissulfona
- PVA: Poli(álcool vinílico)
- PVBC: Poli(cloreto de 4-vinilbenzila)
- PVC: Policloreto de vinila
- PVP: Polivinilpirrolidona
- QA: Quaternário de amônio
- QACs: Compostos de quaternário de amônio
- QAS: Sal de quaternário de amônio
- SACER: Resina de troca catiônica de ácido forte
- SBAER: Resina de troca aniônica de base forte
- SMA: Poli(estireno-*alt*-anidrido maleico)
- SMA-AP: Poli(estireno-*alt*-anidrido maleico) 4-aminofenol conjugado
- Sty: Estireno
- T<sub>d</sub>: Temperatura de degradação
- TEA: Trietanolamina de prata
- TGA: Análise termogravimétrica
- TOL: Tolueno
- VBDMH: 3-(4'-vinilbenzil)-5,5-dimetil-hidantoína
- V<sub>p</sub>: Volume de poros

Parte dessa Dissertação foi publicada no seguinte periódico:

- **Materials Letters**, v. 63, p. 797-799, 2009; sob o título: “Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose”.

Parte dessa Dissertação foi submetida para publicação no seguinte periódico:

- **European Polymer Journal**; sob o título: “Preparation and antibacterial activity of silver nanoparticles impregnated in bacterial cellulose”.

Parte dessa Dissertação foi apresentada no seguinte evento:

- XLVIII Congresso Brasileiro de Química – CBQ, Rio de Janeiro/RJ, 2008; sob os títulos: “Síntese, modificação e caracterização de copolímeros de estireno e divinilbenzeno” e “Síntese e caracterização de nanopartículas de prata impregnadas em celulose bacteriana”.

Durante a realização da parte experimental desta Dissertação, a autora teve a oportunidade de co-orientar os trabalhos de Iniciação Científica (PIBIC/UERJ) dos alunos relacionados abaixo, aos quais agradece suas colaborações:

- Camila Lopes Pereira da Silva, aluna do curso de Engenharia Química do IQ/UERJ.
- Philippe Campos de Oliveira, aluno do curso de Engenharia Química do IQ/UERJ.

# SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>20</b>
<b>1. OBJETIVO</b>	<b>22</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>22</b>
<b>2.1. Materiais biocidas</b>	<b>22</b>
<b>2.2. Natureza do efeito biocida</b>	<b>23</b>
<b>2.3. Polímeros biocidas</b>	<b>25</b>
2.3.1. <u>Agentes antimicrobianos ligados a polímeros</u>	<b>25</b>
2.3.2. <u>Agentes antimicrobianos imobilizados em polímeros</u>	<b>27</b>
2.3.3. <u>Polímeros catiônicos quaternizados</u>	<b>30</b>
2.3.4. <u>Revestimentos antimicrobianos</u>	<b>33</b>
2.3.5. <u>Polímeros biocidas contendo grupamentos n-haloamidas</u>	<b>36</b>
2.3.6. <u>Resinas de troca iônica</u>	<b>39</b>
<b>2.4. Prata</b>	<b>41</b>
<b>2.5. Nanopartículas de prata</b>	<b>44</b>
2.5.1. <u>Mecanismo de ação das nanopartículas de prata</u>	<b>48</b>
2.5.2. <u>Efeito do tamanho e da forma das nanopartículas de prata na atividade antimicrobiana</u>	<b>51</b>
<b>2.6. Polímeros antimicrobianos à base de prata</b>	<b>52</b>
<b>2.7. Celulose bacteriana</b>	<b>54</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>61</b>
<b>3.1. Produtos químicos</b>	<b>61</b>
<b>3.2. Materiais e equipamentos</b>	<b>63</b>
<b>3.3. Procedimentos</b>	<b>65</b>
3.3.1. <u>Síntese dos copolímeros de Sty-DVB</u>	<b>66</b>
3.3.1.1. Preparo da fase aquosa	<b>67</b>
3.3.1.2. Preparo da fase orgânica	<b>67</b>
3.3.1.3. Polimerização	<b>67</b>
3.3.1.4. Purificação dos copolímeros	<b>68</b>
3.3.2. <u>Caracterização físico-química dos copolímeros de Sty-DVB</u>	<b>69</b>
3.3.2.1. Determinação da densidade aparente	<b>69</b>
3.3.2.2. Determinação do grau de inchamento	<b>69</b>
3.3.2.3. Microscopias ótica e eletrônica de varredura	<b>70</b>

3.3.2.4. Determinação de área específica, diâmetro médio de poros e volume de poro	70
3.3.2.5. Caracterização por espectrometria de infravermelho (FTIR)	71
3.3.2.6. Análise termogravimétrica	72
3.3.2.7. Análise elementar	72
3.3.3. <u>Modificações químicas dos copolímeros</u>	72
3.3.3.1. Modificação por meio da reação de nitração	72
3.3.3.2. Modificação por meio da reação de redução do grupo nitro a amino	73
3.3.3.3. Modificação por meio da reação de diazotação e posterior hidrólise do grupo sal de diazônio	74
3.3.4. <u>Impregnação de prata nos copolímeros</u>	75
3.3.5. <u>Caracterização físico-química dos copolímeros modificados</u>	76
3.3.5.1. Caracterização por espectrometria de infravermelho (FTIR)	76
3.3.5.2. Análise termogravimétrica	76
3.3.5.3. Análise elementar	77
3.3.5.4. Análise quantitativa do teor de prata	77
3.3.6. <u>Impregnação de prata em celulose bacteriana</u>	78
3.3.7. <u>Caracterização das membranas de celulose bacteriana impregnadas com prata</u>	79
3.3.7.1. Difração de raios-X	79
3.3.7.2. Análise termogravimétrica	79
3.3.7.3. Microscopia eletrônica de varredura	80
3.3.8. <u>Avaliação da atividade bactericida dos copolímeros</u>	80
3.3.9. <u>Avaliação da atividade bactericida das membranas de celulose bacteriana impregnadas com prata</u>	83
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>86</b>
<b>4.1. Síntese e caracterização físico-química dos copolímeros de Sty-DVB</b>	<b>86</b>
4.1.1. <u>Caracterização da estrutura porosa dos copolímeros de Sty-DVB</u>	<b>88</b>
4.1.2. <u>Caracterização química dos copolímeros de Sty-DVB</u>	<b>95</b>
4.1.3. <u>Estabilidade térmica dos copolímeros de Sty-DVB</u>	<b>97</b>
<b>4.2. Funcionalização dos copolímeros de Sty-DVB com grupos hidroxila fenólica</b>	<b>98</b>
4.2.1. <u>Estabilidade térmica dos copolímeros modificados</u>	<b>102</b>
<b>4.3. Impregnação de prata nos copolímeros</b>	<b>107</b>
<b>4.4. Impregnação de prata em celulose bacteriana</b>	<b>110</b>

4.4.1. <u>Caracterização das membranas de celulose bacteriana impregnadas com prata</u>	113
4.4.1.1. Difração de raios-X	114
4.4.1.2. Análise termogravimétrica	114
4.4.1.3. Microscopia eletrônica de varredura	116
<b>4.5. Avaliação da atividade bactericida dos copolímeros</b>	<b>118</b>
<b>4.6. Avaliação da atividade bactericida das membranas de celulose bacteriana impregnadas com prata</b>	<b>122</b>
<b>5. CONCLUSÕES</b>	<b>124</b>
<b>6. SUGESTÕES</b>	<b>125</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b>	<b>126</b>
<b>ANEXO – Curvas de TGA e DTG</b>	<b>137</b>

## INTRODUÇÃO

A contaminação por microrganismos causa sérias complicações em várias áreas, particularmente em equipamentos médicos, medicamentos, produtos de higiene e de cuidados com a saúde, sistemas de purificação de água, equipamentos hospitalares, cirúrgicos e odontológicos, tecidos, embalagens e estocagem de alimentos (KENAWY *et al.*, 2007).

A exterminação segura de microrganismos é muito importante para a saúde humana (DENYER, 1995). Os biocidas químicos desempenham um importante papel na preservação de produtos tão diversos, como alimentos, bebidas, tecidos, cosméticos, medicamentos e formulações farmacêuticas, e proporcionam proteção contra deterioração em uma ampla variedade de aplicações industriais e ambientais (LU *et al.*, 2007).

Agentes antimicrobianos são materiais capazes de matar microrganismos patogênicos (KENAWY *et al.*, 2007). Atualmente, os agentes antimicrobianos mais comumente usados incluem quatro amplas categorias: os oxidantes, tais como cloro e peróxidos; os agentes eletrofilicos, tais como prata e cobre; biocidas orgânicos, tais como formaldeído; biocidas ativos catiônicos, tais como clorexidina e compostos de amônio quaternário (LU *et al.*, 2007).

Os agentes antimicrobianos de baixo peso molecular possuem muitas desvantagens, tais como a toxicidade ao meio ambiente e capacidade antimicrobiana de curto prazo devido à dificuldade no controle da taxa de difusão. Para superar os problemas associados com os agentes antimicrobianos de baixo peso molecular, grupos funcionais biocidas podem ser introduzidos nas moléculas de polímeros. O uso de polímeros antimicrobianos acentua a eficácia de alguns agentes antimicrobianos existentes e minimiza os problemas ambientais que acompanham os agentes antimicrobianos convencionais reduzindo sua toxicidade residual, aumentando sua eficiência e seletividade, e prolongando sua vida útil (KENAWY *et al.*, 2007). Agentes antimicrobianos poliméricos têm as seguintes vantagens: não são voláteis, são estáveis quimicamente, e não permeiam através da pele (LU *et al.*, 2007).

Durante as duas últimas décadas, esforços contínuos têm sido feitos para desenvolver os polímeros com função antimicrobiana (LU *et al.*, 2007). Uma área de pesquisa de polímeros que apresenta grande interesse atualmente é a de desenvolvimento de polímeros com atividade antimicrobiana, geralmente conhecidos como polímeros biocidas (KENAWY *et al.*, 2007).

Uma das metodologias mais efetivas para a preparação de polímeros antimicrobianos é a incorporação de grupos funcionais biocidas na estrutura dos polímeros. Os grupos com

atividade bactericida podem ser inseridos na matriz polimérica através de impregnação, modificação química ou pela copolimerização de monômero contendo o grupo funcional (TASHIRO, 2001). Íons metálicos ( $\text{Ag}^+$ ), sais de amônio quaternário, sulfonamidas N-cloradas e N-haloamidas têm sido usados no desenvolvimento de materiais poliméricos antimicrobianos. Os desempenhos antimicrobianos desses polímeros diferem significativamente, oferecendo vastas opções seletivas para uma ampla variedade de campos de aplicações (SUN & SUN, 2004).

Também é possível preparar polímeros antimicrobianos pela ancoragem de agentes bactericidas aos materiais poliméricos. Compósitos contendo partículas metálicas têm recebido atenção em muitos campos, tais como a separação e a purificação, catálise e tratamento de água, devido às suas propriedades físico-químicas distintas.

As partículas de prata suportadas em compósitos poliméricos reticulados combinam a alta estabilidade térmica do suporte polimérico com a propriedade antimicrobiana intrínseca da prata. Agentes antimicrobianos poliméricos baseados na prata têm recebido muita atenção não somente devido a não toxicidade da Ag às células humanas, mas também devido ao fato de ser uma tecnologia inovadora.

O polímero antimicrobiano ideal deve possuir as seguintes características: facilidade e baixo custo para ser sintetizado; estabilidade em longo prazo para uso e armazenagem na temperatura da aplicação pretendida; ser insolúvel em água para aplicação em desinfecção de água; não se decompor e/ou emitir produtos tóxicos; não ser tóxico ou irritante para manipulação; possibilidade de ser regenerado quando perder sua atividade e ser biocida para um amplo espectro de microrganismos patogênicos em curtos tempos de contato (KENAWY *et al.*, 2007).



## **1. OBJETIVO**

Esse trabalho tem como objetivo sintetizar, caracterizar e avaliar copolímeros de estireno e divinilbenzeno funcionalizados e materiais biocidas contendo nanopartículas de prata ancoradas em copolímeros de estireno e divinilbenzeno e em celulose bacteriana.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Essa parte do trabalho abordará a definição de materiais biocidas, seu mecanismo de ação, os diversos tipos de polímeros biocidas, um breve histórico sobre a prata e suas características e usos como biocida. Também serão descritas as características da celulose (um polímero natural), sua aplicação na área biomédica e seu uso como matriz para impregnação de prata.

### **2.1. MATERIAIS BIOCIDAS**

Biocida é o termo empregado coletivamente para desinfetantes, esterilizantes químicos, anti-sépticos e preservativos. Diferentemente dos antibióticos, que têm sítio de ação específico e são empregados em concentrações próximas à inibitória mínima, os biocidas apresentam espectro de ação mais amplo, apresentando vários alvos na célula microbiana para sua ação germicida. Assim, a resistência à sua ação é bem mais baixa do que a encontrada para os antibióticos. São vários os fatores que influenciam a atividade de um biocida, destacando-se concentração, pH, temperatura, tempo de exposição, natureza da superfície contaminada, presença de matéria orgânica, estabilidade química do biocida e a natureza dos microrganismos que devem ser inativados (SOUZA, 2007).

## 2.2. NATUREZA DO EFEITO BIOCIDA

Os agentes biocidas podem exercer efeitos tanto bacteriostáticos quanto bactericidas, embora o mecanismo de ação responsável por esses efeitos possa diferir. Efeitos bacteriostáticos são geralmente considerados como os que surgem de algum dano metabólico que é reversível pela remoção ou neutralização do agente, enquanto que a ação bactericida resulta de danos irreparáveis e irreversíveis à estrutura ou função vital celular (DENYER, 1995).

As etapas da interação entre o agente biocida e a bactéria surgem na seguinte seqüência: entrada na célula; migração ao alvo(s); concentração no alvo(s); dano ao alvo(s). A etapa inicial é a migração do agente biocida da fase aquosa para uma associação com a superfície da célula. Esse processo é regulado pelas características físico-químicas da célula e do agente (DENYER, 1995).

Um efeito antimicrobiano surge finalmente da interação bem sucedida do agente com seu alvo(s). Progredindo em direção a seu alvo, entretanto, o agente biocida enfrentará estruturas interferentes responsáveis, em variados graus, pelas diferentes suscetibilidades das espécies individuais de bactérias. Assim, células gram-negativas oferecem um obstáculo suplementar, a camada de lipopolissacarídeos (LPS), à penetração do agente o que as células gram-positivas não possuem. Essa estrutura tem uma influência significativa na penetração de moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, estabelecendo uma separação por peso molecular para a passagem da molécula hidrofílica através dos poros preenchidos de água e exigindo propriedades lipofílicas ótimas para o progresso dos agentes antimicrobianos hidrofóbicos (RUSSEL, 1991).

Os possíveis mecanismos de destruição microbiana estão associados com os principais aspectos estruturais de uma célula bacteriana. As regiões freqüentemente classificadas como alvo para os agentes biocidas são a parede celular, a membrana citoplasmática e o citoplasma (Figura 1).

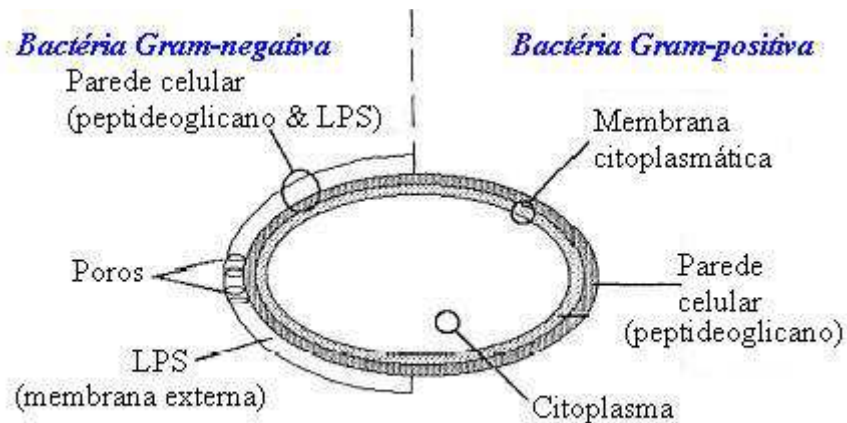


Figura 1 – Alvos potenciais para os agentes antimicrobianos (DENYER, 1995)

A região alvo mais freqüentemente citada é a membrana citoplasmática. Isso não é surpreendente dada sua função metabólica fundamental e estrutural dentro da célula, sua ampla área superficial para interação e sua (relativa) proximidade do ambiente aquoso externo (DENYER, 1995).

Os agentes biocidas rompem a membrana provocando seus efeitos através de interações diversas com essa organela, envolvendo regiões hidrofóbicas e polares da bicamada fosfolipídica e proteínas ligadas à membrana. A natureza precisa dessas interações é duvidosa, mas características-chave tais como a lipofilicidade e a deslocalização de carga implicam na partição da região hidrofóbica para fenólicos, ácidos fracos e seus ésteres, enquanto a alta afinidade dos agentes catiônicos pela membrana sugere uma forte interação com a extremidade polar da molécula carregada negativamente do grupo dos fosfolipídios e uma afinidade moderada pela cadeia hidrocarbônica longa nos compostos de sais de amônio quaternário (QACs). Mudanças no empacotamento dos fosfolipídios e a separação de fase surgem dessas interações eletrostáticas. O dano celular pode ser auxiliado possivelmente pela heterogeneidade polimérica na formulação do biocida. Para os QACs, uma sucessão de interações polar e hidrofóbica com a membrana pode determinar o progresso de eventos antibacterianos (DENYER, 1995).

## 2.3. POLÍMEROS BIOCIDAS

Os materiais poliméricos reticulados que apresentam atividade biocida pelo contato são denominados de desinfetantes poliméricos insolúveis de contato (IPCD, do inglês, *insoluble polymeric contact disinfectants*). Esses polímeros são, principalmente, resinas de troca aniônica, incluindo as resinas com grupo amônio quaternário, resinas poli-iodadas, e resinas contendo o grupo piridínio. Nesse caso, acredita-se que a interação entre os microrganismos e o polímero desinfetante ocorre através da carga negativa presente na superfície celular e as cargas positivas na superfície dos polímeros.

Os polímeros que liberam agente bactericida são denominados de desinfetantes de liberação de demanda (DRD, do inglês, *demand release disinfectants*). Nesse caso, o polímero, em contato com o meio aquoso, difunde o agente biocida que interage com os microrganismos (JANDREY, 2007).

Os polímeros biocidas têm sido divididos nas seguintes classes: materiais poliméricos contendo o grupo amônio quaternário, materiais poliméricos contendo o grupo fosfônio quaternário, contendo o grupo sulfonamida halogenada e N-haloamida polimérica. Os materiais de amônio e de fosfônio quaternários têm potencial, principalmente na área de filmes ancorados que inativam microrganismos sob contato direto, enquanto as N-haloamidas poliméricas insolúveis têm maiores potenciais como filtros biocidas para escoamento de água e ar (WORLEY & SUN, 1996).

Os materiais poliméricos possuem vantagens sobre os agentes biocidas de baixo peso molecular, porque são mais estáveis em relação à volatilização, dissolução e difusão para a superfície do material a ser protegido. Assim, esses materiais podem reduzir as perdas associadas à volatilização, decomposição fotolítica e transporte e também diminuir o risco de contaminação por exposição e manuseio (JEONG *et al.*, 2002).

### 2.3.1. AGENTES ANTIMICROBIANOS LIGADOS A POLÍMEROS

Os agentes antimicrobianos ligados a polímeros usualmente exibem suas atividades pela liberação lenta dos agentes ativos através de hidrólises. Os agentes ativos liberados dos polímeros podem ser perigosos ao meio ambiente e a proteção pode ser limitada ao longo do

tempo. Entretanto, polímeros onde os agentes ativos são ligados à cadeia polimérica via ligações hidrolisáveis podem também ser usados industrialmente contanto que os agentes biocidas liberados não sejam muito tóxicos e o tempo de proteção exigido não seja longo (JEONG *et al.*, 2002).

Tani e colaboradores (1981) propuseram um modelo hidrofílico-hidrofóbico para a hidrólise dos agentes bioativos ligados na matriz polimérica. De acordo com esse modelo, o grau de hidrofilicidade dos polímeros antimicrobianos parece ser importante para a liberação controlada dos agentes ligados na matriz polimérica. Os grupos hidrofílicos presentes em determinados segmentos da cadeia polimérica podem facilitar a liberação de agentes bioativos. Além disso, a hidrofilicidade pode afetar significativamente as interações entre os polímeros e os microrganismos (JEONG *et al.*, 2002).

O uso de compostos biocidas em polímeros sintéticos tem aumentado constantemente, pois os materiais poliméricos são amplamente usados na embalagem de alimentos, tecidos, e aplicações biomédicas tais como aparelhos médicos que podem ser facilmente colonizados por bactérias ou fungos, freqüentemente causando várias infecções e transmitindo doenças (HUANG *et al.*, 2007).

A prevenção da colonização microbiana de superfícies poliméricas pode ser alcançada pela liberação de agentes antimicrobianos fisicamente incorporados nos polímeros. Embora esses sistemas sejam úteis, suas aplicações práticas são limitadas porque perdem naturalmente sua capacidade antimicrobiana ao longo do tempo. Além disso, a liberação de agentes antimicrobianos ao meio ambiente tem o potencial para aumentar a resistência bacteriana aos biocidas. Superfícies poliméricas que não liberam agentes antimicrobianos, onde o agente antimicrobiano é fixado permanentemente na superfície através de ligação covalente, é uma estratégia alternativa atraente. Existem dados significativos na literatura em relação à preparação de superfícies antibacterianas permanentes via ligação covalente de compostos de poli (amônio quaternário) (PQA) a uma variedade de superfícies (THOME *et al.*, 2003; SAUVET *et al.*, 2003; TILLER *et al.*, 2001; LIN *et al.*, 2002; HU *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2004; CEN *et al.*, 2003; CHEN *et al.*, 2006). Dessa forma, muitos tipos de polímeros biocidas não lixiviáveis, onde partes bioativas são fixadas nos polímeros de modo permanente, têm sido investigados (SAUVET, 2000; CHEN, 2000; NURDIN, 1993).

Um exemplo de biocida lixiviável é o iodo. Sabe-se que o iodo apresenta atividade *in vitro* contra bactérias, vírus, fungos e protozoários. Embora os halogênios (cloro, bromo e iodo) apresentem baixa solubilidade em água, seu uso para desinfecção é útil. O atual interesse no uso do iodo como desinfetante tem sido estimulado pela facilidade de ancorar o

iodo em copolímeros como as resinas contendo grupo amônio quaternário. Estas resinas quando utilizadas no tratamento de água liberam o iodo ancorado garantindo alta qualidade microbiológica da água.

Jandrey e colaboradores (2004) avaliaram a ação bactericida do iodo impregnado em resinas reticuladas, à base de 2-vinilpiridina e divinil-benzeno, sobre *Escherichia coli* em meio aquoso. As resinas impregnadas com iodo foram significativamente eficazes na desinfecção de *E. coli* em altas concentrações.

### **2.3.2. AGENTES ANTIMICROBIANOS IMOBILIZADOS EM POLÍMEROS**

Como dito anteriormente, o agente antimicrobiano na forma líquida tem o problema inerente da toxicidade residual. Esse problema pode ser resolvido se o agente antimicrobiano puder ser imobilizado na superfície do substrato. Métodos de imobilização de agentes antimicrobianos em várias superfícies de substratos têm sido muito estudados. Entre as técnicas de funcionalização de superfície, as polimerizações iniciadas na superfície são extensamente usadas para adequar as propriedades superficiais dos substratos, entre as quais o efeito antibacteriano. A vantagem da imobilização sobre outros métodos de modificação de superfícies é sua resistência mecânica e química, associada com um alto grau de flexibilidade sintética em relação à introdução de uma ampla variedade de grupos funcionais (CHENG, 2005).

Existem várias metodologias de preparação de polímeros antimicrobianos a partir de agentes bioativos de baixos pesos moleculares. Um dos métodos mais comuns é a imobilização de um agente biocida no suporte polimérico (JEONG *et al.*, 2002).

Agentes antimicrobianos que contêm grupos funcionais reativos como hidroxila, carboxila ou amino podem ser covalentemente imobilizados em uma ampla variedade de polímeros (KENAWY *et al.*, 2007).

Poli(estireno-*alt*-anidrido maleico) (SMA) pode ser convenientemente usado como um intermediário na preparação de polímeros funcionais uma vez que agentes ativos contendo grupos amino ou hidroxila podem ser imobilizados no SMA via reação de abertura de anel da unidade de anidrido succínico ou maleico (JEONG *et al.*, 2002).

Jeong e colaboradores (2001) prepararam SMA e testaram sua reação de acoplamento com ácido 4-aminobenzóico e ácido 4-hidroxibenzóico. As reações de acoplamento foram

eficientes, mas as atividades antimicrobianas dos polímeros resultantes não foram satisfatórias. Em estudo posterior, Jeong e colaboradores (2002) reagiram SMA com 4-aminofenol (AP) para obter SMA-AP conjugado, como mostrado na Figura 2. AP foi escolhido como um agente ativo já que os fenóis são conhecidos por serem antimicrobianos (NAYAKA & LENKA, 1996).

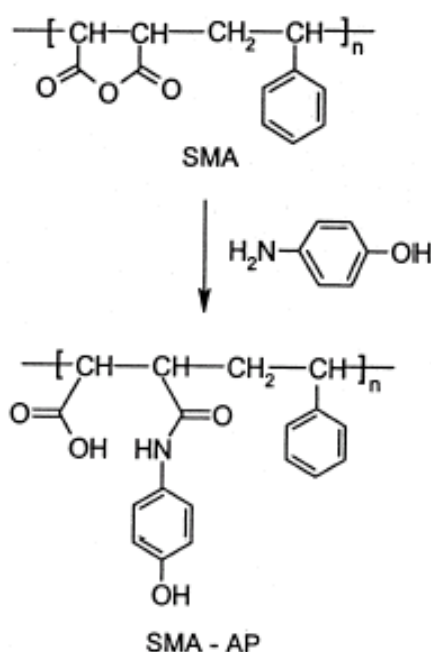


Figura 2 - Rota da síntese química do SMA-AP (JEONG *et al.*, 2002)

A atividade bactericida de SMA-AP foi investigada em relação a *E. coli* e *S. aureus*, que são bactérias gram-negativa e gram-positiva, respectivamente. SMA-AP bem como AP mostraram fortes atividades bactericidas contra os dois tipos de bactérias.

O número de células de *E. coli* que estiveram em contato com AP ou SMA-AP foi comparado com as células iniciais adicionadas, e a redução foi calculada, 100 e 95,3% respectivamente. Por outro lado, *S. aureus* nas amostras incubadas de AP e SMA-AP foi reduzida por 100 e 99,9%, respectivamente. Esses resultados indicam que a atividade bactericida de SMA-AP contra *E. coli* foi ligeiramente menor do que contra *S. aureus* sugerindo que o polímero teve mais problemas na difusão através da parede da célula da bactéria gram-negativa *E. coli* devido à barreira externa da membrana. A maior atividade

bactericida de AP pode ser principalmente devida ao fato de que AP difundiu-se mais rapidamente através das paredes da célula de bactéria do que SMA-AP (JEONG *et al.*, 2002).

A principal região alvo dos fenóis com pesos moleculares baixos parece ser a membrana citoplasmática da bactéria (DENYER, 1995; DENYER & STEWART, 1998). As resinas contendo derivados fenólicos com um, dois ou três grupos hidroxilas exibem atividades bactericidas (NONAKA *et al.*, 1997). Jeong e colaboradores (2002) afirmaram no seu estudo que a atividade bactericida era devida aos grupos hidroxilas fenólicas.

No estudo de Nonaka e colaboradores (1997), polímeros contendo grupos hidroxilas fenólicas foram preparados pela reação de copolímeros amino funcionalizados (RAAS-4G) com ácido p-hidróxibenzóico, ácido 2,4-di-hidróxibenzóico e ácido 3,4,5- tri-hidróxibenzóico (Figura 3). As atividades antibacterianas dos polímeros foram avaliadas contra *E. coli* e *S. aureus* e aumentaram na ordem do aumento do número de grupos hidroxila. As atividades foram atribuídas aos grupos hidroxilas fenólicas na resina. Entretanto, o mecanismo exato de destruição da superfície das células devido ao contato com esses polímeros não foi investigado pelos autores.

Segundo Kenawy e colaboradores (2007), os fenóis danificam as membranas celulares e ocasionam a liberação dos constituintes intracelulares. Os fenóis também causam coagulação intracelular dos constituintes citoplasmáticos, conduzindo à morte da célula ou à inibição do seu crescimento.

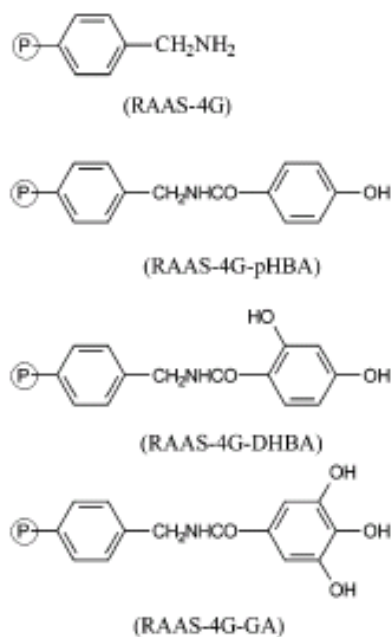


Figura 3 – Polímeros contendo grupos hidroxilas fenólicas usados no estudo de Nonaka e colaboradores (1997)



### 2.3.3. POLÍMEROS CATIÔNICOS QUATERNIZADOS

Um grande número de sais de amônio quaternário (QAS) exibe boas propriedades bactericidas. Os polímeros catiônicos quaternizados podem apresentar atividades antimicrobianas maiores do que os correspondentes compostos de menor peso molecular. Pela facilidade de recuperação, esses materiais também são vantajosos para imobilizar macromoléculas antimicrobianas em substratos sólidos (KANAZAWA *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 2000).

Cheng e colaboradores (2005) descreveram um processo simples para a preparação de microesferas poliméricas com superfícies antimicrobianas permanentes. O processo envolveu: a síntese de microesferas reticuladas de poli (cloreto de 4-vinilbenzila) (PVBC) via polimerização por suspensão, que foram chamadas de PVBC-1; a modificação das superfícies das microesferas com poli[metacrilato de 2-(dimetilamino)etila] (PDMAEMA) gerando PVBC-2; e a quaternização dos grupos amino terciários do PVBC-2 com brometos de alquila (1-bromododecano ou 1-bromo-hexano) gerando PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) e PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>).

O efeito bactericida das microesferas funcionalizadas de QAS contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi demonstrado. A permanência da atividade bactericida também foi demonstrada através de aplicações repetidas sem perda significativa de sua funcionalidade.

O trabalho de Cheng e colaboradores (2005) mostrou que as cadeias policatiônicas introduzidas na superfície das microesferas possuíam atividade bactericida desejável. A ação bactericida provavelmente surgiu da capacidade das cadeias hidrofóbicas para aumentar a permeabilidade da célula e romper as membranas celulares.

Os polímeros contendo grupos de sal de amônio ou fosfônio quaternário na cadeia lateral ou na cadeia principal são bem conhecidos como um tipo de material antimicrobiano importante (KANAZAWA, 1993, 1994; CHEN *et al.*, 2000; CAKMAK *et al.*, 2004) e, interessante, são capazes de matar bactérias resistentes a outros tipos de antibacterianos catiônicos (LEE *et al.*, 2004).

Em estudos passados, polímeros catiônicos foram obtidos principalmente pela quaternização de um polímero pré-formado (SAUVET *et al.*, 2000; BEYTH *et al.*, 2006). O estudo de Lu e colaboradores (2007) focalizou a síntese de polímeros antimicrobianos pela polimerização direta de monômeros de sal de amônio quaternário. Por isso, primeiramente foram sintetizados quatro monômeros de sal de amônio quaternário a partir de metacrilato de

dimetilaminoetila (DMAEMA) com grupos alquila de diferentes comprimentos: cloreto de benzila (BC), brometo de butila (BB), brometo de dodecila (DB) e brometo de hexadecila (HB). Baseados nesses monômeros, foram sintetizados quatro sais poliméricos de amônio quaternário com 100% de quaternização. As atividades bactericidas dos monômeros resultantes e dos polímeros relacionados foram avaliadas contra *S. aureus* (bactéria gram-positiva) e *E. coli* (bactéria gram-negativa). As estruturas dos sais de amônio quaternário obtidos são mostradas na Figura 4.

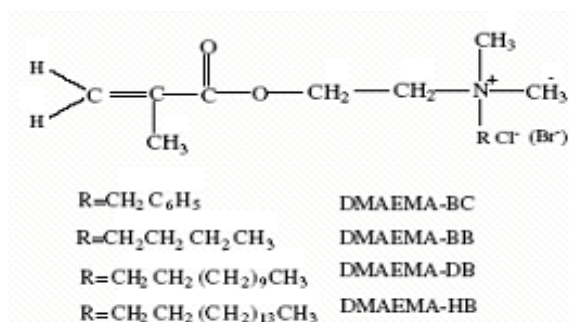


Figura 4 – Estrutura de sais de amônio quaternário (LU *et al.*, 2007)

Lu e colaboradores (2007) observaram que as atividades bactericidas dos monômeros produzidos estavam intimamente relacionadas ao número de átomos de carbono na cadeia alquílica substituída. Foi observado que quanto maior a cadeia alquílica, maior a atividade bactericida. O local alvo de pequenos agentes antibacterianos catiônicos é a membrana citoplasmática das bactérias. A longa cadeia alquílica reagiu fortemente com a membrana citoplasmática das células. Além disso, houve um aumento na interação hidrofóbica com a camada lipídica da parede da célula quando o comprimento da cadeia dos substituintes aumentou, o que acentuou as atividades antibacterianas dos compostos monoméricos.

As amostras de poli(DMAEMA-BB) e poli(DMAEMA-BC) apresentaram maiores atividades antibacterianas contra *E. coli* e *S. aureus* do que seus monômeros precursores. Geralmente, existem quatro processos elementares que são fatores chave para análise da atividade de sais poliméricos de amônio quaternário: adsorção na superfície da célula bacteriana carregada negativamente; penetração na parede da célula; ligação na membrana citoplasmática; e lesão da membrana citoplasmática.

A polimerização dos monômeros aumentou a densidade de carga positiva na espiral do polímero, que, além disso, acentuou a sua habilidade para adsorver eficientemente na

superfície bacteriana carregada negativamente. Por isso, a polimerização ajudou na promoção do processo de adsorção na superfície da célula bacteriana (LU *et al.*, 2007). Muitos estudos mostram que as atividades antibacterianas de pequenas moléculas de sais de amônio ou fosfônio quaternário são reguladas pela cadeia hidrofóbica longa que pode reagir com a membrana citoplasmática das células (KANAZAWA *et al.*, 1993). Portanto, os processos de ligação à membrana citoplasmática e lesão da membrana citoplasmática podem ser promovidos quando o comprimento da cadeia alquílica substituída aumenta. Após a polimerização, a cadeia principal resultante é uma longa cadeia hidrofóbica com muitos grupos ativos. Assim, sais poliméricos de amônio quaternário também contêm uma cadeia hidrofóbica que pode destruir a membrana citoplasmática da bactéria (LU *et al.*, 2007).

Baseado na mesma idéia esperava-se que poli(DMAEMA-DB) e poli(DMAEMA-HB) tivessem maiores atividades antibacterianas comparados com seus respectivos monômeros. Entretanto, os resultados experimentais mostraram o contrário. Esse fenômeno pode ser explicado pela não solubilização de poli(DMAEMA-DB) e poli(DMAEMA-HB) em água. Assim, os grupos funcionais antibacterianos dentro do polímero são resistentes ao contato com as bactérias na água. A baixa solubilidade não somente diminui a concentração de polímero na água, mas também reprime a disponibilidade e a penetração dos polímeros na parede da célula. Como resultado, poli(DMAEMA-DB) e poli(DMAEMA-HB) apresentaram atividade antibacteriana muito menor comparada com os monômeros correspondentes. Portanto, a solubilidade dos polímeros é um fator importante para influenciar as atividades biológicas em solução (LU *et al.*, 2007).

Popa e colaboradores (2003) sintetizaram sais de fosfônio quaternário graftizados em um copolímero insolúvel de estireno (7% de divinilbenzeno, resina do tipo gel). Os resultados experimentais mostraram que os grupos de fosfônio quaternário ligados a esse copolímero exibiram atividade antibacteriana contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). As interações eletrostáticas entre a carga positiva dos grupos fosfônio graftizados no polímero e as espécies negativamente carregadas da membrana celular desempenham um importante papel na adsorção dos centros ativos e na interrupção do crescimento das células bacterianas (DANIELS, 1980).

Pelo uso de sais de fosfônio graftizados em polímero, um número de vantagens são obtidas, em comparação com desinfetantes solúveis de menor peso: os produtos podem ser facilmente separados do meio reacional e reusados; os produtos são hidroliticamente estáveis, prevenindo a contaminação do substrato e problemas de toxicidade; e os desinfetantes

poliméricos podem ser usados em ciclos repetidos, necessitando apenas de esterilização antes do uso (POPA *et al.*, 2003).

#### **2.3.4. REVESTIMENTOS ANTIMICROBIANOS**

Por muitos anos, têm sido realizados trabalhos destinados a produzir o revestimento antimicrobiano de superfície ideal que poderia ser usado para minimizar a difusão de infecções em instalações médicas e em ambiente doméstico. Materiais biocidas têm sido misturados em tintas com essa finalidade. Contudo, tais materiais tendem a ser liberados com o tempo até que o revestimento torna-se ineficaz e não pode ser renovado (LIANG *et al.*, 2007).

A melhor escolha para um revestimento antimicrobiano de superfície é aquela na qual o componente biocida é quimicamente ligado às moléculas da superfície que constitui o revestimento. Tem sido empregada uma variedade de grupos funcionais com essa finalidade, tais como sais de amônio quaternário, fosfônio quaternário, sulfônio, além de N-haloamidas (TILLER *et al.*, 2001; WORLEY & SUN, 1996; KANAZAWA *et al.*, 1993).

Os revestimentos derivados de N-haloamidas têm muitas vantagens sobre os mencionados. Uma N-haloamida pode ser definida como um composto contendo uma ou mais ligações covalentes nitrogênio-halogênio (SUN & SUN, 2002), normalmente formado pela halogenação de grupos imida, amida ou amina (CHEN & SUN, 2006). As N-haloamidas são materiais biocidas igualmente eficazes contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, fungos, protozoários e vírus. Seu mecanismo de ação envolve transferência direta do halogênio oxidativo para as células. Essa reação de transferência pode destruir ou inibir efetivamente processos enzimáticos ou metabólicos da célula, resultando conseqüentemente na morte dos organismos (SUN & SUN, 2004). Uma vez que o oxidante ativo é o halogênio, não existe a possibilidade dos organismos desenvolverem resistência à substância. As N-haloamidas agem rapidamente na sua função de desinfecção, dentro de segundos a menos de 30 min de contato, dependendo da concentração do halogênio oxidativo na superfície. (LIANG *et al.*, 2007).

Recentemente, foi sintetizado um derivado siloxano N-cloramida (5,5-dimetil-3-(3'-trietoxisililpropil)-hidantoína, I (Figura 5). Derivados siloxanos são espécies excelentes para ligar grupos funcionais ativos a superfícies e têm sido extensivamente empregados para essa

finalidade, usando sais de amônio quaternário biocidas. O siloxano nomeado I na Figura e sua forma polimérica apresentaram atividade biocida para uma variedade de superfícies, incluindo celulose, partículas de areia, sílica gel, cerâmicas, poli(cloreto de vinila) e tintas (WILLIAMS *et al.*, 2005).

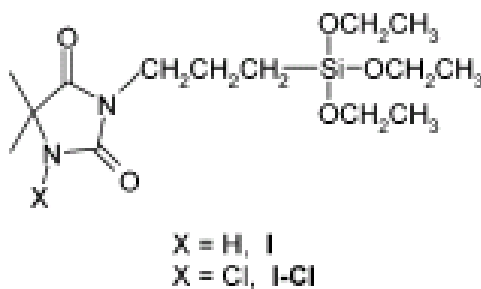


Figura 5 – Estrutura do siloxano 5,5-dimetil-3-(3'-triethoxisililpropil)-hidantoína (LIANG *et al.*, 2007)

Esse material possuía potencial comercial, porém esperava-se que um material que fosse capaz de carregar maiores quantidades de cloro, existindo por um tempo prolongado sem a necessidade de recarga, apresentaria uma maior variedade de aplicações. Essa idéia conduziu ao estudo de Liang e colaboradores (2007). Nesse trabalho o monômero 3-(3-triethoxysililpropil)-7,7,9,9-tetrametil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decano-2,4-diona (TS na Figura 6) e o seu polímero (PTS na Figura 6) foram preparados e ligados a superfícies de partículas de sílica gel e celulose. O tratamento desses materiais com soluções diluídas de hipoclorito de sódio tornou-os antimicrobianos. O cloro oxidativo imobilizado nos materiais manteve-se estável por períodos prolongados e pôde ser regenerado por exposição adicional a soluções alvejantes diluídas de cloro. Os dados apresentados mostraram que os materiais tratados foram biocidas contra bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (*Escherichia coli*).

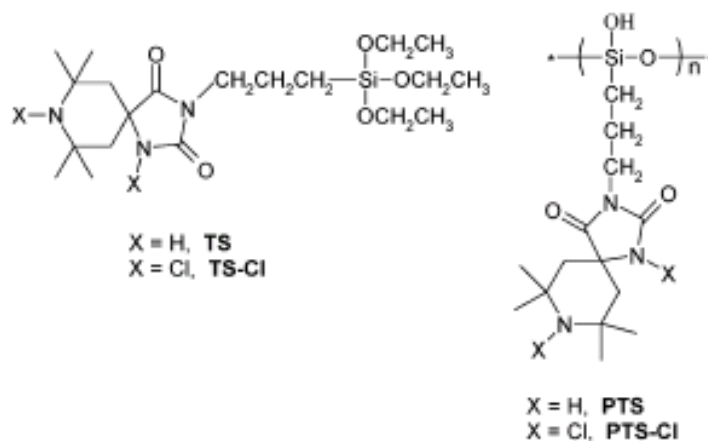


Figura 6 – Estrutura do monômero 3-(3-trietoxisililpropil)-7,7,9,9-tetrametil-1,8,8-triaza-spiro[4.5]decano-2,4-diona e seu polímero (LIANG *et al.*, 2007)

Huang e colaboradores (2007) revestiram superfícies de polipropileno (PP) com um biocida não lixiviável ligando quimicamente PQA (poli(sal de amônio quaternário)) à superfície de PP. O poli[metacrilato de 2-(dimetilamino)etila] (PDMAEMA), um precursor do PQA, foi produzido na superfície de PP via polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP). Os grupos amino terciários no PDMAEMA foram convertidos a QA (amônio quaternário) na presença de brometo de etila. O sucesso da modificação da superfície foi confirmado pelo teste de atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*. A atividade biocida das superfícies resultantes foi dependente do teor de polímeros graftizados (o número de unidades de amônio quaternário disponíveis). Com a mesma densidade de graftização, a superfície graftizada com polímeros de maior peso molecular mostrou quase 100% de eficiência, enquanto uma menor atividade biocida (85%) foi observada para a superfície graftizada com cadeias PQA menores. A Figura 7 mostra as fotografias das placas de Agar incubadas com as suspensões de bactérias tratadas com a superfície modificada e a não modificada. Colônias não foram formadas na placa incubada com a suspensão de bactérias tratada com superfície modificada (Figura 7a). A placa controle, entretanto, foi coberta com colônias de bactérias (Figura 7b) (HUANG *et al.*, 2007).

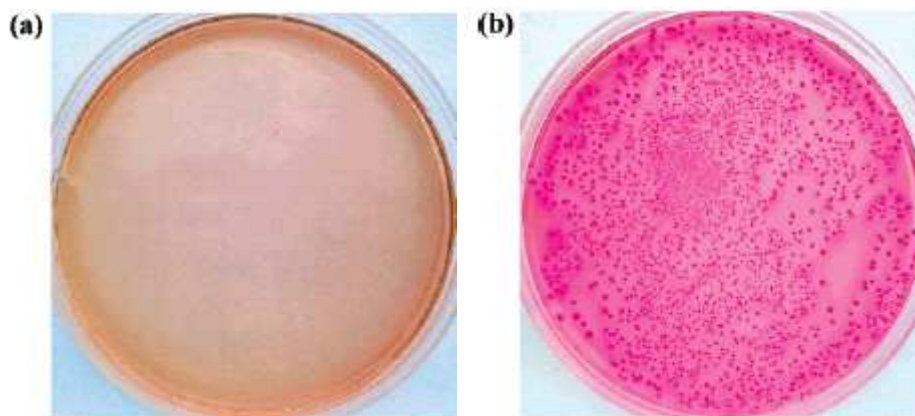


Figura 7 – Fotografias das placas de Agar nas quais a suspensão de *E. coli* foi tratada com PP graftizado com PQA (superfície modificada) (a) e tratada com PP (superfície não modificada) (b) (HUANG *et al.*, 2007)

### 2.3.5. POLÍMEROS BIOCIDAS CONTENDO GRUPAMENTOS N-HALOAMIDAS

Sun e colaboradores (1994) descreveram a preparação de um polímero biocida N-cloramida, poli(1,3-dicloro-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína) (Poli-I) (Figura 8), e sua aplicação como um filtro de água biocida. Poli-I inativou uma variedade de microrganismos em experimentos de escoamento de água com tempos de contato de 1 min, e liberou quantidades muito menores de cloro livre (menos do que 0,5 mg/L) e de materiais orgânicos potencialmente nocivos, tais como tri-halometanos (menos do que 20 µg/L) na água.

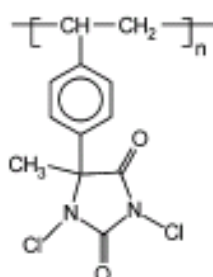


Figura 8 – Estrutura química de poli[1,3-dicloro-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína] (Poli I) (SUN *et al.*, 1994)

Sun e colaboradores (1995) preparam dois polímeros: (Poli-I) e seu análogo bromado (Poli-IB) que foram empacotados em colunas de vidro funcionando como cartuchos de filtros. Foi observado que os filtros tiveram eficácia biocida no escoamento de soluções aquosas de microrganismos (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Candida albicans*).

Recentemente, o interesse no desenvolvimento de materiais antimicrobianos conduziu à produção de vários monômeros hidantoína, tais como, 3-alil-5,5-dimetil-hidantoína (ADMH) e 3-(4'-vinilbenzil)-5,5-dimetil-hidantoína (VBDMH), mostrados nas Figuras 9 e 10, respectivamente. Ambos os monômeros foram empregados em graftizações em materiais têxteis e copolimerizações com acetato de vinila, metacrilato de metila e acrilonitrila e introduziram com sucesso funções biocidas nos materiais (SUN & SUN, 2002).

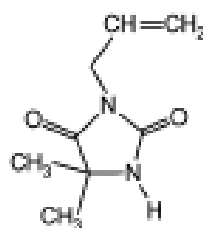


Figura 9 – Estrutura de 3-alil-5,5-dimetil-hidantoína (ADMH) (SUN & SUN, 2002)

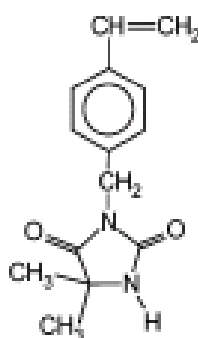


Figura 10 – Estrutura de 3-(4'-vinilbenzil)-5,5-dimetil-hidantoína (VBDMH) (SUN & SUN, 2002)

Sun & Sun (2002) sintetizaram copolímeros com estireno e divinilbenzeno usando monômeros vinílicos de hidantoína: VBDMH e ADMH. Os copolímeros obtidos foram tratados com uma solução de cloro contendo 3000 ppm de cloro ativo, com o objetivo de



transformar os grupos hidantoína em N-haloamida. As propriedades antibacterianas dos polímeros halogenados foram testadas contra bactérias gram-negativa e gram-positiva, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Todas as amostras mostraram atividade antibacteriana muito maior contra *S. aureus* do que contra *E. coli*. Isso ocorreu provavelmente devido às diferenças nas estruturas dos dois tipos de bactérias: a bicamada lipídica das membranas da célula das bactérias gram-positivas é coberta por uma camada porosa de peptidoglicano, que não exclui a maioria dos agentes antimicrobianos. Por outro lado, as bactérias gram-negativas são envolvidas por duas membranas. A membrana externa serve como uma barreira de permeabilidade eficiente porque contém lipossacarídeos e poros. Assim, as bactérias gram-negativas são mais protegidas do que as gram-positivas contra agentes antimicrobianos. As eficiências antibacterianas maiores do PS-co-VBDMH do que as do PS-co-ADMH foram resultantes do muito maior conteúdo de cloro ativo das amostras de PS-co-VBDMH.

Chen e colaboradores (2003) tinham como objetivo o desenvolvimento de biocidas inéditos derivados de N-haloamidas. Os polímeros N-haloamidas desenvolvidos possuíam atributos vantajosos tais como a habilidade para imobilizar altas concentrações de cloro, possibilitando rápidas atividades biocidas, capacidade de regeneração sobre exposição a halogênio aquoso livre após a carga inicial ser esgotada, e a liberação de quantidades muito menores de cloro livre corrosivo na água (menos de 1 mg/L). As pérolas cloradas foram testadas para atividade biocida contra *Staphylococcus aureus* (bactéria gram-positiva) e, em alguns casos, *Escherichia coli* (bactéria gram-negativa) contidas em água.

O estudo de Chen e colaboradores (2003) mostrou que pérolas biocidas de poli (estireno-hidantoína) podem ser preparadas com diferentes cargas de cloro. A carga de cloro nas pérolas foi controlada por ajustes no pH, na natureza e na concentração do agente de cloração, e nos tempos de reação. As pérolas dicloradas são úteis nas aplicações em desinfecção de água, como pequenas colunas de filtro contendo as pérolas que matam microrganismos e vírus após poucos segundos de contato. As pérolas monocloradas, que são menos caras e possivelmente mais convenientes para preparar, encontram aplicação na desinfecção de sistemas de água de recirculação, tais como piscinas e torres de refrigeração.

A cloração direta dos polímeros contendo nitrogênio, como as poliamidas, deveria resultar em estruturas N-haloamidas nos grupos amida, mas pouco sucesso foi alcançado na preparação de N-haloamidas estáveis. Entretanto, a simplicidade desse método estimulou a exploração de poliamidas aromáticas. Poliamidas aromáticas, tais como (*m*-fenileno-isoftalamida) (Nomex<sup>®</sup>) e (*p*-fenileno-tereftalamida) (Kevlar<sup>®</sup>) (Figuras 11 e 12) são

importantes materiais fibrosos devido a sua alta resistência e módulo bem como sua estabilidade térmica e química. Sun & Sun (2004) descobriram que Nomex<sup>®</sup> poderia ser prontamente clorado por tratamento com solução aquosa diluída de hipoclorito de sódio. Os tecidos resultantes apresentaram altas atividades antibacterianas, duráveis e renováveis contra bactérias gram-negativa e gram-positiva. A cloração do Kevlar<sup>®</sup> em condições similares resultou em sério dano ao tecido. O tratamento de Kevlar<sup>®</sup> com cloro provocou a hidrólise das ligações amida. O Kevlar<sup>®</sup> clorado não mostrou atividade antibacteriana significativa provavelmente devido ao baixo conteúdo de cloro ativo nos tecidos, e/ou a baixa estabilidade de cloro ativo.

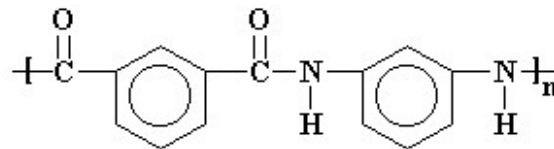


Figura 11 – Estrutura do (*m*-fenilenoisofalamida) (Nomex<sup>®</sup>) (SUN & SUN, 2004)

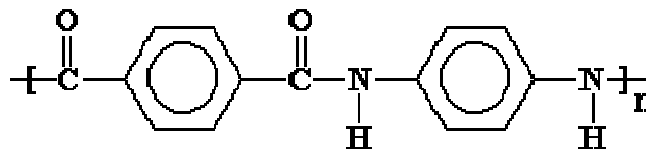


Figura 12 – Estrutura do (*p*-fenilenotereftalamida) (Kevlar<sup>®</sup>) (SUN & SUN, 2004)

### 2.3.6. RESINAS DE TROCA IÔNICA

As resinas de troca iônica (IERS) são materiais normalmente constituídos de uma matriz polimérica, com uma estrutura macromolecular reticulada irregular (sistema tridimensional de cadeias de hidrocarbonetos). Essa matriz pode apresentar grupos funcionais, tais como:  $\text{-SO}_3^-$ ,  $\text{-COO}^-$ ,  $\text{-PO}_3^{2-}$ , constituindo assim resinas de troca catiônica ou apresentar grupos funcionais carregados positivamente, tais como, amônio quaternário (SOUZA, 2007).

As resinas de troca iônica são indispensáveis para a produção de água ultrapura. IERs mostram alta eficácia na desmineralização e podem ser usadas repetidamente por tratamento de regeneração. A reação de troca iônica ocorre com a troca entre contra-íons tais como  $H^+$  ou  $OH^-$  na superfície das IERs e vários íons em solução. Os contra-íons também funcionam como um ácido ou uma base. Recentemente, têm sido usadas em catálise e empacotamento aproveitando as vantagens de suas propriedades ácidas ou básicas. Assim, a procura pelas IERs não é limitada ao tratamento de água industrial (MATSUDA *et al.*, 1996).

Sato e colaboradores (1984) relataram a desinfecção de *Escherichia coli* usando resinas de troca iônica nas formas de  $H^+$  e  $OH^-$  como um “desinfetante” prático para águas residuárias. A resina de troca aniônica de base forte (SBAER) de amônio quaternário na forma de  $OH^-$  usada no seu estudo tinha macroporos suficientes para encapsular integralmente células de *E. coli*. O efeito da desinfecção foi causado pela captura da *E. coli* nos poros em contato com íons  $OH^-$  concentrados na superfície dos poros.

Matsuda e colaboradores (1996) descreveram a desinfecção da bactéria gram-negativa *Pseudomonas stutzeri* com resinas de troca iônica. Um leito simples de resina de troca aniônica de base forte (SBAER) na forma de  $OH^-$  mostrou capacidade de desinfecção. Entretanto, uma resina de troca catiônica de ácido forte (SACER) na forma de  $H^+$  não foi ativa. A adsorção das bactérias nas SBAERs ocorreu principalmente devido à atração eletrostática entre SBAERs carregadas positivamente e as bactérias carregadas negativamente. Uma vez que as SBAERs carregadas positivamente na forma de  $Cl^-$  não têm efeito bactericida, íons  $OH^-$  foram utilizados para desinfecção. As SBAERs acrílicas na forma de  $OH^-$  foram mais eficazes na desinfecção do que as SBAERs estirênicas. Um leito misto de SBAERs na forma de  $OH^-$  e de SACERs na forma de  $H^+$  também desinfetou bactérias mais efetivamente.

As bactérias são desinfetadas nas superfícies das SBAERs do seguinte modo. As bactérias são adsorvidas nas SBAERs por forças atrativas eletrostáticas e interações hidrofílicas, e são então inativadas pelos íons  $OH^-$  nos estados concentrados, correspondendo a solução com  $pH > 12$ , como mostrado na Figura 13 (a).

O efeito da desinfecção é diretamente dependente das propriedades da superfície das IERs e das bactérias. As superfícies das bactérias são negativamente carregadas, enquanto as superfícies das SBAERs e SACERs têm cargas positivas e negativas, respectivamente. Por isso, as bactérias são adsorvidas muito mais eficazmente na SBAER. As superfícies das SBAERs acrílicas são mais hidrofílicas do que as das SBAERs estirênicas. Isso promove a interação hidrofílica entre as resinas e as bactérias, que têm mais superfícies hidrofílicas como

resultado da formação de agregados. Como resultado, as SBAERs acrílicas mostram um efeito bactericida mais eficaz do que as SBAERs estirênicas. Além disso, o efeito da desinfecção do leite misto é mais forte do que do leite simples de SBAERs. A bactéria liga-se ao  $H^+$  na superfície das SACERs e ao  $OH^-$  nas SBAERs como mostrado na Figura 13 (b). Isso contribui para o acentuado efeito de desinfecção (MATSUDA *et al.*, 1996).

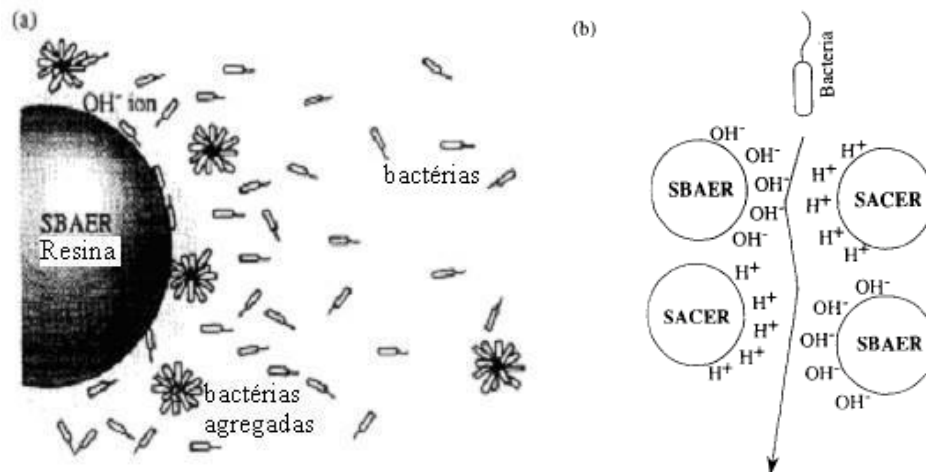


Figura 13 – Mecanismo de desinfecção das bactérias com (a) íons  $OH^-$  e (b) íons  $OH^-$  e  $H^+$  (MATSUDA *et al.*, 1996)

## 2.4. PRATA

O metal prata e seus compostos são bem conhecidos por terem fortes efeitos de inibição e bactericidas, bem como um amplo espectro de atividades antimicrobianas. Íons prata agem contra bactérias de diversas maneiras: interagem com os grupos tiol de enzimas e proteínas que são importantes para a respiração bacteriana e para o transporte de substâncias através da membrana celular e dentro da célula; ligam-se à parede da célula bacteriana alterando a função da sua membrana celular. Dessa forma, o metal prata e seus compostos são eficazes na prevenção de infecções em fermentos. Prata metálica é convertida lentamente em íons prata no nosso sistema fisiológico e interage com células bacterianas, assim íons prata não estarão em quantidade suficientemente elevada para causar danos às células humanas normais (MANEERUNG *et al.*, 2008).

A prata tem a vantagem de possuir uma ampla atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e ser pouco suscetível ao desenvolvimento de resistência bacteriana (IP *et al.*, 2006).

A prata é bem conhecida por exibir forte citotoxicidade em relação a uma variedade de microrganismos. Compostos de prata que liberam prata de forma controlada são atualmente investigados para várias aplicações. A prata possui um efeito oligodinâmico. Os íons prata são capazes de causar um efeito bacteriostático (inibição do crescimento) e até mesmo um efeito bactericida.

Sabe-se que os íons prata e seus compostos são altamente tóxicos aos microrganismos mostrando fortes efeitos biocidas em mais de 16 espécies de bactérias, incluindo *E. coli*. Assim, os íons prata, como um componente antibacteriano, têm sido usados na formulação de compósitos para resinas dentárias, fibras trocadoras de íons e no revestimento de equipamentos médicos (SONDI e SALOPEK-SONDI, 2004).

Dentre os diferentes agentes antimicrobianos, a prata tem sido extensivamente estudada e usada desde tempos antigos para combater infecções e prevenir a proliferação de microrganismos. As propriedades antibacteriana, antifúngica e antiviral dos íons prata, dos compostos de prata e das nanopartículas de prata têm sido amplamente pesquisadas. A prata não é tóxica para os seres humanos em mínimas concentrações. Os microrganismos não desenvolvem resistência à prata como no caso dos antibióticos, uma vez que a prata ataca uma ampla variedade de alvos nos microrganismos (RAI *et al.*, 2009).

A prata é um biocida durável (persistente) com estabilidade a altas temperaturas e volatilidade muito baixa comparada a outros agentes biocidas usuais, tais como o cloro, o bromo e o iodo (SANTA MARIA *et al.*, 2007).

A prata é bem conhecida por exibir forte toxicidade para uma ampla variedade de microrganismos. Por esta razão, compostos baseados em prata têm sido extensivamente usados em muitas aplicações bactericidas. É possível mencionar alguns exemplos de aplicações, tais como: compósitos inorgânicos com uma taxa de liberação lenta de prata que são atualmente usados como conservantes em uma variedade de produtos; novos compostos baseados em microesferas de sílica gel que contêm um complexo de tiosulfato de prata, que são misturadas aos plásticos para proporcionar proteção antibacteriana durável. Compostos de prata têm também sido usados na área médica para tratar queimaduras e uma variedade de infecções (MORONES *et al.*, 2005).

Compósitos de prata têm aplicações em muitas indústrias, tais como, a aeroespacial, a de revestimento de superfícies e para uso hospitalar. Pesquisas indicam que a prata também é

eficaz em sistemas de purificação para desinfecção de água ou ar. Entretanto, a fim de tornar o uso da prata mais econômico, existe uma necessidade de minimizar os custos do uso de prata em aplicações potenciais sem perder suas funcionalidades (THIEL *et al.*, 2007).

Produtos contendo prata são numerosos mundialmente, principalmente como agente biocida ou antimicrobiano. No tratamento de água, desinfetantes baseados em prata e cobre são usados em sistemas de distribuição de água em hotéis e hospitais para controlar agentes infecciosos (por exemplo, *Legionella*). A prata juntamente com o cobre, é comumente usada para inibir crescimento de bactérias e fungos em granjas. A prata é usada para esterilizar água reciclada a bordo da estação espacial MIR e em ônibus espaciais da NASA. Unidades de purificação de água contendo filtros de carvão ativado contendo prata juntamente com resinas de troca iônica são populares em residências nos Estados Unidos. No México, Microdyn®, uma gelatina de prata coloidal, é vendida em supermercados para se desinfetar vegetais e água potável.

Outros produtos contendo prata continuam a ser desenvolvidos. Johnson Matthey Chemicals desenvolveram um composto inorgânico para uso como preservante em cosméticos, produtos de higiene e similares. No Japão, um novo composto (Amenitop®, microesferas de sílica gel contendo um complexo de tiosulfto e prata) é misturado em plásticos para proporcionar proteção antibacteriana durável (GUPTA & SILVER, 1998).

Além da indústria médica, tecidos impregnados com prata são também usados na fabricação de equipamentos esportivos, como por exemplo, sacos de dormir e meias esportivas (SILVER, 2003).

O efeito bactericida dos íons prata nos microrganismos é muito bem conhecido, entretanto, o mecanismo bactericida é somente entendido parcialmente. Tem sido proposto que o íon prata interage fortemente com os grupos tiol das enzimas vitais e as inativa. Evidências experimentais sugerem que o DNA perde sua capacidade de replicação uma vez que a bactéria tenha sido tratada com íons prata. Outros estudos têm mostrado mudanças estruturais evidentes na membrana celular bem como a formação de pequenos grânulos com densidade eletrônica formados pela prata e o enxofre (MORONES *et al.*, 2005). O alvo das nanopartículas de prata é a membrana bacteriana que conduz a desestabilização do potencial da membrana plasmática e a diminuição dos níveis de ATP (trifosfato de adenosina), resultando na morte da célula (THIEL *et al.*, 2007).

Feng e colaboradores (2000) descreveram um estudo mecanístico da inibição dos íons prata em dois tipos de bactérias, *E. coli* e *S. aureus*. Pela avaliação comparativa dos efeitos dos íons prata em ambos os organismos, os autores sugeriram o possível mecanismo de ação

dos íons prata. Os íons prata entram nas células bacterianas penetrando através da parede celular e conseqüentemente modificam o DNA para a forma condensada que reage com o grupo tiol das proteínas e resulta na morte da célula.

Compostos de prata têm sido explorados por suas propriedades medicinais por séculos. Atualmente, a prata está ressurgindo como uma opção de tratamento viável para infecções encontradas em queimaduras, feridas abertas e úlceras crônicas (ATIYEH *et al.*, 2007).

Muitos estudos têm sugerido mecanismos possíveis envolvendo a interação dos íons prata com macromoléculas biológicas. Íons prata trocam o cátion ( $H^+$ ) dos grupos sulfidril e tiol, inativando as proteínas, diminuindo a permeabilidade da membrana e causando a morte da célula (FENG *et al.*, 2000).

## **2.5. NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

A Química e a Física na escala nanométrica têm experimentado um desenvolvimento enorme na última década conduzindo ao aparecimento de um novo campo interdisciplinar, denominado nanociência. A preparação de nanopartículas com tamanho, formato e composição controladas é de importância científica e tecnológica fundamental. As nanopartículas freqüentemente exibem propriedades químicas e físicas muito interessantes que são quantitativamente e qualitativamente diferentes dos seus respectivos materiais em escala macromolecular e das espécies atômicas e moleculares das quais elas derivaram (CAVICCHIOLI *et al.*, 2005).

Partículas inorgânicas de tamanho nanométrico e seus compósitos apresentam propriedades físicas e químicas singulares e representam uma classe única de materiais no desenvolvimento de compostos inéditos que podem ser usados em numerosas aplicações físicas, biológicas, biomédicas e farmacêuticas.

O estudo de nanomateriais bactericidas é particularmente oportuno considerando o recente aumento de novas linhagens de bactérias resistentes aos mais potentes antibióticos. Isto tem estimulado pesquisas na atividade dos íons prata e dos compostos baseados em prata, incluindo as nanopartículas de prata (MORONES *et al.*, 2005).

A nanotecnologia possibilita expandir a área superficial das partículas de prata acentuadamente (SONG *et al.*, 2006). Os íons pratas demonstram-se úteis e eficazes em

aplicações bactericidas, mas devido às suas propriedades únicas, as nanopartículas apresentam uma alternativa razoável para o desenvolvimento de novos bactericidas (MORONES *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2007).

O desenvolvimento de novas linhagens de bactérias resistentes aos antibióticos comuns tornou-se um sério problema de saúde pública; portanto, existe um forte incentivo para o desenvolvimento de novos bactericidas (MORONES *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2007).

Alguns agentes antimicrobianos são extremamente irritantes e tóxicos e existe um grande interesse na descoberta de metodologias para formular novos tipos de materiais biocidas seguros. Estudos anteriores mostraram que formulações antimicrobianas na forma de nanopartículas poderiam ser usadas como materiais bactericidas eficazes (SONDI e SALOPEK-SONDI, 2004). Recentemente, Kablunde e colaboradores (2002) demonstraram que nanopartículas de óxidos metálicos altamente reativos exibem excelente ação biocida contra bactérias gram-positivas e gram-negativas. Dessa forma, a preparação, a caracterização, a modificação de superfície e a funcionalização de nanopartículas inorgânicas abrem a possibilidade de formulação de uma nova geração de materiais bactericidas.

Devido às suas propriedades químicas e físicas exclusivas (área específica maior e uma maior fração de átomos na superfície) as nanopartículas de prata revelam-se como uma alternativa para o desenvolvimento de novos agentes antibacterianos (RAI *et al.*, 2009). Estas propriedades conduzem a uma atividade antimicrobiana mais acentuada comparada à da prata metálica (MANEERUNG *et al.*, 2008). As nanopartículas de prata têm encontrado diversas aplicações: na impregnação em tecidos, na confecção de ataduras para ferimentos, em revestimentos para equipamentos médicos, etc. Recentemente as nanopartículas de prata têm sido empregadas na fabricação de novos materiais baseados em matrizes poliméricas para aplicações médicas e biotecnológicas (JUNG *et al.*, 2009). A vantagem do uso de nanopartículas de prata para a impregnação é que existe uma liberação contínua dos íons prata acentuando a eficácia antimicrobiana (RAI *et al.*, 2009).

De um ponto de vista prático, o método de redução química de soluções aquosas é o mais adequado para a obtenção de nanopartículas e dispersões coloidais de prata (SANTA MARIA *et al.*, 2007).

O método da redução química envolve a redução de sais metálicos na presença de agente protetor adequado, que é necessário para o controle do crescimento dos colóides metálicos durante a aglomeração. Geralmente, polímeros sintéticos tais como gelatina, polivinilpirrolidona (PVP) e poli(álcool vinílico) (PVA) são usados como agentes protetores (SANTA MARIA *et al.*, 2007).



A literatura destaca que muitos parâmetros são determinantes para o tamanho e a morfologia destas partículas metálicas. Além disso, pesquisadores têm também descoberto que a concentração e o tipo dos agentes estabilizantes, bem como a concentração dos cátions e o tempo reacional, tem um impacto notável na morfologia das partículas. Fundamentalmente, a morfologia e o tamanho das nanopartículas são bastante suscetíveis ao tipo e à concentração do agente redutor e ao suporte polimérico empregado durante a sua preparação (SANTA MARIA *et al.*, 2007).

Pal e colaboradores (2007) investigaram as propriedades antibacterianas de nanopartículas de prata de formatos diferenciados contra a bactéria gram-negativa *Escherichia coli*. A Figura 14 mostra o número de colônias crescidas na presença de diferentes quantidades de  $\text{AgNO}_3$  e de nanopartículas esféricas de prata quando 100  $\mu\text{L}$  de amostra foi aplicada em cada placa. Uma quantidade de 6  $\mu\text{g}$  de nanopartículas esféricas preveniu quase completamente o crescimento bacteriano (Figura 14 B). Quando foram utilizadas quantidades de prata (na forma de  $\text{AgNO}_3$ ) maiores do que 12,5  $\mu\text{g}$ , observou-se 100% de inibição do crescimento bacteriano (Figura 14 A).

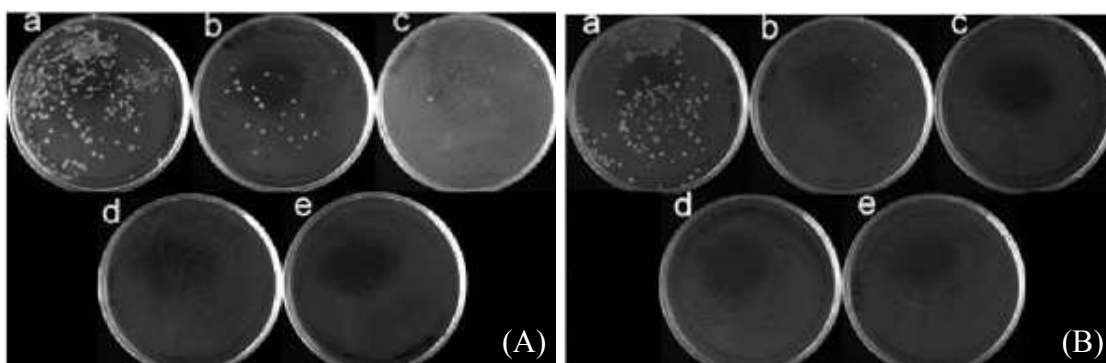


Figura 14 – Placas de Petri inicialmente com 105 UFC/mL de *E. coli* e incubadas com prata (a) 1  $\mu\text{g}$ , (b) 6  $\mu\text{g}$ , (c) 12,5  $\mu\text{g}$ , (d) 50  $\mu\text{g}$  e (e) 100  $\mu\text{g}$ . (A)  $\text{Ag}^+$  na forma de  $\text{AgNO}_3$   
(B) nanopartículas esféricas de prata (PAL *et al.*, 2007)

Pesquisas intensas têm sido desenvolvidas sobre materiais antibacterianos contendo várias substâncias orgânicas e inorgânicas. Dentre eles, a prata e os íons prata são bem conhecidos por terem fortes efeitos de inibição e bactericidas, bem como um amplo espectro de atividades antimicrobianas e vem, portanto sendo utilizados como revestimentos de equipamentos médicos. Embora vários revestimentos usando sais de prata ou prata metálica

tenham sido relatados, eles têm demonstrado, em alguns casos, resultados clínicos desapontadores. A impregnação de polímeros com prata surge como uma alternativa para conduzir a materiais promissores com atividade antimicrobiana aumentada (SEGALA *et al.*, 2006).

Morones e colaboradores (2005) estudaram o efeito de nanopartículas de prata na faixa de 1-100 nm contra 4 tipos de bactérias gram-negativas: *E. coli*, *V. cholera*, *P. aeruginosa* e *S. typhus*. Os autores aplicaram técnicas de microscopia eletrônica de varredura para estudar o mecanismo pelo qual as nanopartículas de prata interagem com estas bactérias. Várias concentrações de nanopartículas de prata (0, 25, 50, 75 e 100  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) foram testadas contra cada tipo de bactéria. Os resultados indicaram que as propriedades bactericidas das nanopartículas de prata são dependentes do tamanho, uma vez que somente as nanopartículas com diâmetro de 1-10 nm apresentaram interação direta com as bactérias.

Muitas aplicações utilizando nanopartículas de prata como agente antimicrobiano têm sido usadas por muitos anos. Existem também pesquisas contínuas sendo realizadas para o aperfeiçoamento das aplicações atuais bem como o desenvolvimento de novos produtos contendo estas nanopartículas. Uma das aplicações mais amplamente usadas e conhecidas da prata e das nanopartículas de prata é na área médica. Preparações contendo prata, tais como, pomadas contendo sulfadizina de prata, têm sido usadas para prevenir infecções em queimaduras e ferimentos abertos. A eficácia de cremes tópicos contendo prata conduziu ao desenvolvimento de ataduras e curativos revestidos com prata para tratamento de lesões severas e traumáticas (BECKER, 1999).

Panaceck e colaboradores (2006) encontraram alta atividade antimicrobiana e bactericida de nanopartículas de prata em bactérias gram-positivas e gram-negativas. A atividade antibacteriana foi dependente do tamanho das nanopartículas, as nanopartículas de 25 nm possuíram maiores atividades antibacterianas. As nanopartículas foram tóxicas a células bacterianas em concentrações menores que 1,69 de  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de Ag.

Jun e colaboradores (2007) descreveram que nanofibras de poli(álcool vinílico) (PVA) impregnadas com nanopartículas de prata apresentaram propriedade antibacteriana eficiente contra *E. coli* e *S. aureus*, 97,87% e 99,12%, respectivamente e podem ser usadas para a preparação de ataduras para ferimentos.

Kim e colaboradores (2007) relatam o uso de nanopartículas de prata para o controle de infecções ocorridas devido a microrganismos. A eficiência antimicrobiana foi testada contra *E. coli* e *S. aureus*. A inibição bacteriana foi mais efetiva em relação a *E. coli* devido à estrutura da sua membrana.

Kumar e colaboradores (2008) investigaram um método não prejudicial ao meio ambiente para a síntese de tintas contendo nanopartículas de metal. A tinta apresentou excelente atividade antimicrobiana contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e no futuro esta tinta poderá ser usada como um revestimento antimicrobiano eficiente para proteger inúmeras superfícies, tais como madeira, vidro, paredes, etc.

### **2.5.1. MECANISMO DE AÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

As nanopartículas de prata mostram propriedade antimicrobiana eficiente comparada a outros sais devido à sua área superficial extremamente maior, que proporciona melhor contato com os microrganismos. As nanopartículas conseguem ligar-se à membrana celular e penetrá-la. A membrana da célula bacteriana contém proteínas que possuem enxofre na sua estrutura e as nanopartículas de prata interagem com estas proteínas bem como com os compostos que contém fósforo, como o DNA. As nanopartículas de prata preferem atacar a cadeia respiratória, a divisão celular, finalmente conduzindo à morte da célula. As nanopartículas de prata liberam íons prata nas células bacterianas o que acentua sua atividade bactericida (RAI *et al.*, 2009).

O mecanismo pelo qual as nanopartículas de prata são capazes de penetrar na bactéria não é totalmente entendido, mas um estudo de SONDI e SALOPEK-SONDI (2004) sugere que no caso da *E. coli* tratada com nanopartículas de prata as mudanças causadas na morfologia podem produzir um aumento significativo na sua permeabilidade e afetar o transporte adequado através da membrana plasmática. No estudo de Morones e colaboradores (2005) este mecanismo pôde ser explicado pelo considerável número de nanopartículas de prata encontradas dentro da bactéria.

Como estabelecido pela teoria de ácidos e bases moles e duros, a prata tenderá a ter uma afinidade para reagir com compostos de fósforo e enxofre. Sabe-se que a membrana das bactérias contém muitas proteínas contendo enxofre; estas podem ser sítios preferenciais para as nanopartículas de prata. Por outro lado, as nanopartículas encontradas dentro da célula também tenderão a reagir com outras proteínas contendo enxofre no interior da célula, bem como com os compostos contendo fósforo tais como o DNA. Para concluir, as mudanças na morfologia apresentadas pela bactéria bem como o possível dano causado pelas

nanopartículas de prata que reagiram com o DNA afetarão a bactéria em processos, tais como cadeia respiratória e divisão celular, causando finalmente a morte da célula (MORONES *et al.*, 2005).

Em estudo realizado por SONDI e SALOPEK-SONDI (2004), foi constatado que a presença de nanopartículas de prata na concentração de  $10 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  inibiu o crescimento de *E.coli* em 70%. Uma concentração de  $50\text{-}60 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  causou 100% de inibição no crescimento bacteriano. A Figura 15 mostra o número de colônias de *E. coli* em função da concentração das nanopartículas de prata.

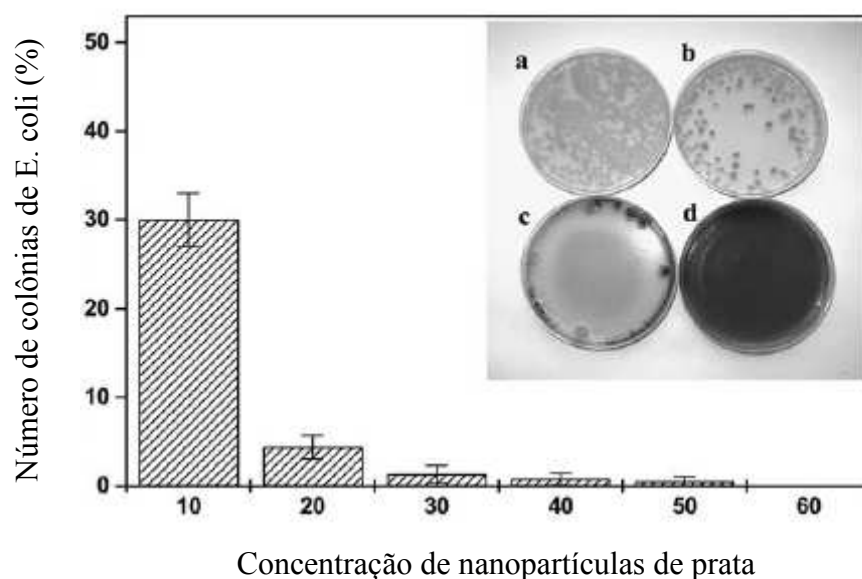


Figura 15 – Número de colônias de *E. coli* em função da concentração de nanopartículas de prata. A fotografia acima à direita mostra placas contendo diferentes concentrações de nanopartículas de prata: (a) 0, (b) 10, (c) 20 e (d)  $50 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  (SONDI & SALOPEK-SONDI, 2004)

Neste mesmo estudo, a microscopia eletrônica de varredura foi usada para avaliar a morfologia da superfície das células de *E. coli* nativas e tratadas com as nanopartículas de prata. As células bacterianas tratadas com nanopartículas de prata foram significativamente alteradas e apresentaram maiores danos, que foram caracterizados pela formação de “buracos” na parede celular das bactérias. A Figura 16 (a) mostra as células de *E. coli* não tratadas com

nanopartículas de prata e a Figura 16 (b) mostra as células de *E. coli* tratadas com  $50 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  de nanopartículas de prata por 4h.

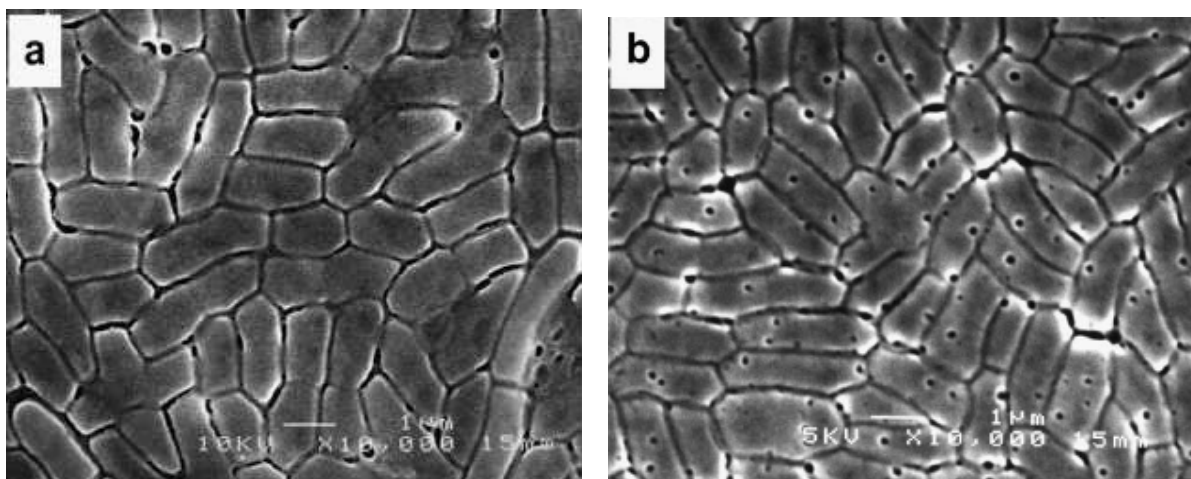


Figura 16 – Microscopia eletrônica de varredura de células de *E. coli* nativas (a) e células tratadas com  $50 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  de nanopartículas de prata em meio de LB líquido por 4 h (b) (SONDI & SALOPEK-SONDI, 2004)

O mecanismo de ação inibitória de íons prata nos microorganismos é parcialmente conhecido. Acredita-se que o DNA perde a capacidade de replicação e proteínas celulares tornam-se inativadas no tratamento com íons prata (FENG *et al.*, 2000). Foi também verificado que ligações de íons prata com grupos funcionais de proteínas resultam na desnaturação de proteínas (SPADARO *et al.*, 1974). Existem relatos na literatura, que mostram que a atração eletrostática entre células bacterianas carregadas negativamente e nanopartículas carregadas positivamente é crucial para a atividade de nanopartículas como materiais biocidas (STOIMENOV *et al.*, 2002; HAMOUDA & BAKER, 2000).

## 2.5.2. EFEITO DO TAMANHO E DA FORMA DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

O tamanho das nanopartículas sugere que ter uma área superficial maior torna melhor o contato com as células bacterianas, portanto, partículas menores terão maior porcentagem de interação do que partículas maiores. As nanopartículas de tamanhos menores que 10 nm interagem com as bactérias e produzem efeitos eletrônicos, que acentuam a reatividade das nanopartículas. Assim, está confirmado que o efeito bactericida das nanopartículas é dependente do seu tamanho (MORONES *et al.*, 2005).

Vegea e Zimon (2006) sintetizaram nanopartículas de prata pela redução de solução de nitrato de prata com borohidreto de sódio. As nanopartículas de prata foram estabilizadas pela adição de gelatina. Este aditivo previne substancialmente a agregação das nanopartículas de prata e reduz o tamanho médio das partículas (de 3-17 nm).

Song e colaboradores (2006) sintetizaram nanopartículas de prata coloidal, utilizando polivinilpirrolidona (PVP) como agente estabilizante. Foram sintetizadas nanopartículas de cerca de 5 nm de tamanho que mostraram excelentes atividades antibacterianas contra *S. typhi*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *M. tuberculosis*. Três tipos de mecanismos antimicrobianos foram observados:

- Plasmólise, a separação do citoplasma da parede da célula bacteriana, foi observada na bactéria gram-negativa *E. coli*;
- A síntese da célula bacteriana foi inibida em *S. aureus*;
- As nanopartículas de prata encontradas no citoplasma da bactéria *M. tuberculosis* podem ter induzido distúrbios metabólicos.

Os mecanismos de ação antimicrobiana foram diferentes de acordo com a espécie de bactéria.

## 2.6. POLÍMEROS ANTIMICROBIANOS À BASE DE PRATA

Compósitos metálicos têm recebido amplo interesse em muitos campos, tais como processos de adsorção separação e purificação, catálise e tratamento de água, que é atribuído às suas propriedades físico-químicas distintas. Atualmente, o melhor desempenho destes materiais compósitos é alcançado pela adequação de sua estrutura no alcance de tamanho micro. Uma metodologia versátil é usada para produzi-los na presença de um suporte sólido, como por exemplo, materiais poliméricos (SANTA MARIA *et al.*, 2007).

Materiais sólidos porosos baseados em copolímeros reticulados são de importância prática para o uso como suporte principalmente devido às suas boas propriedades mecânicas e térmicas, à sua estrutura com poros interconectados, poros pequenos e ampla área superficial. A fim de otimizar as vantagens destes materiais porosos, um método promissor é introduzir grupos funcionais por meio de modificação química adequada de um polímero matriz ou usar um polímero que contém unidades monoméricas funcionais. A produção de partículas metálicas coloidais com morfologia e tamanho controlados é de significativa importância devido à intensa dependência das propriedades físicas e químicas destas partículas nos seus formatos e tamanhos.

As partículas de prata suportadas em compósitos poliméricos reticulados combinam a alta estabilidade térmica do suporte polimérico com a propriedade antimicrobiana intrínseca da prata. Agentes antimicrobianos baseados na prata têm recebido muita atenção não somente devido a não toxicidade da Ag às células humanas, mas também devido ao fato de ser uma tecnologia inovadora (SANTA MARIA *et al.*, 2007).

Santa Maria e colaboradores (2007) empregaram duas resinas comerciais reticuladas (Amberlite® GT73 e Amberlite® IRC478) para a ancoragem de prata. Os grupos -SH e -N(CH<sub>2</sub>COOH)<sub>2</sub> presentes nestas resinas foram usados como quelantes para os íons Ag<sup>+</sup>. Os íons Ag<sup>+</sup> foram reduzidos com três agentes redutores: hidrazina, hidroxilamina e formaldeído em pH alcalino. A atividade antimicrobiana dos compósitos resina/Ag foi determinada contra *E. coli*. As resinas contendo partículas de prata foram completamente bactericidas dentro de poucos minutos devido à ação combinada da prata e os grupos funcionais presentes nas resinas.

Dois novos produtos comerciais entraram na indústria médica nos Estados Unidos: Acticoat®, um tecido polimérico de polietileno revestido com nanopartículas de prata que libera íons prata e nanopartículas, e Silverlon®, um tecido feito de fibras de poliamida

revestido com prata. Outra aplicação amplamente usada são artefatos médicos e implantes preparados com polímeros impregnados com prata (SILVER, 2003). Cateteres revestidos e impregnados com polímeros contendo prata têm sido desenvolvidos com o objetivo de evitar a adesão de bactérias e a formação de biofilmes em procedimentos cirúrgicos. Recentemente, materiais impregnados com prata têm sido implantados como válvulas cardíacas (COOK *et al.*, 2000; COSTERTON *et al.*, 1999).

A prevenção de crescimento microbiano tornou-se altamente importante na indústria têxtil. As fibras naturais e sintéticas usadas para a fabricação de tecidos carecem de propriedades antimicrobianas. Por anos, compostos orgânicos tais como compostos aromáticos halogenados foram empregados como agentes antibacterianos em processos de acabamento de tecidos. Entretanto, estes compostos são poluentes ambientais altamente tóxicos. Para substituição de tais compostos, pesquisadores estão investigando continuamente os efeitos das nanopartículas de prata na fabricação de tecidos. YEO & JEONG (2003) estudaram o efeito bactericida de fibras nanocompósitas de polipropileno e prata. Polipropileno (PP) é um dos materiais sintéticos mais usados na indústria têxtil. É mais barato e mais resiliente do que a maioria das outras fibras. PP é um material empregado para a fabricação de muitos produtos de consumo doméstico e em aplicações sanitárias que necessitam de atividade antibacteriana, embora o PP sozinho não apresente propriedades antimicrobianas. Portanto, os autores desenvolveram uma fibra nanocompósita de polipropileno com nanopartículas de prata que mostraram propriedades antibacterianas excelentes contra *S. aureus* (gram-positiva) e *K. pneumoniae* (gram-negativa), mesmo quando baixas concentrações de prata foram usadas. As propriedades mecânicas do PP não foram afetadas pela adição das nanopartículas de prata.

HONG e colaboradores (2006) realizaram pesquisas sobre o efeito antibacteriano de nanofibras de poli(álcool vinílico) (PVA) contendo nanopartículas de prata. PVA é um polímero biocompatível que é solúvel em água. O estudo do comportamento antimicrobiano das nanofibras de PVA/Ag foi realizado com as bactérias *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Os autores concluíram que as nanofibras compósitas de PVA/Ag exibiram forte atividade antimicrobiana e poderiam ser usadas em tecidos para aplicação nas áreas médica e de cuidados com a saúde devido à sua biocompatibilidade.

Lala e colaboradores (2007) realizaram um estudo comparativo usando três diferentes nanofibras (CA, PAN e PVC) usadas puras, como controle, e com várias quantidades de  $\text{AgNO}_3$ , sendo tratadas com radiação UV conduzindo à formação de nanopartículas de prata. Estes materiais foram testados contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Todas as nanofibras



contendo 5% de  $\text{AgNO}_3$  exibiram atividade bactericida, enquanto as nanofibras controle (sem Ag) não possuíram nenhuma ação.

## 2.7. CELULOSE BACTERIANA

A celulose é um polímero linear de unidades de  $\beta$ -(1,4)-D-glicose (Figura 17) (TEERI *et al.*, 2007). A celulose biossintetizada pelas bactérias *Acetobacter xylinum* e *Gluconacetobacter xylinus* exibe propriedades únicas quando comparada com a celulose de origem vegetal (KLEMM *et al.*, 2001). A celulose bacteriana (BC) é produzida como membranas altamente hidratadas livres de lignina e hemicelulose, apresentando maior peso molecular e maior cristalinidade, numa estrutura reticulada ultrafina. Como consequência destas propriedades especiais, este material apresenta um grande número de aplicações na indústria (de papel, têxtil e alimentícia) e como biomaterial em cosméticos e na medicina (KLEMM *et al.*, 2005). Uma das áreas mais promissoras para aplicação da BC como biomaterial é a sua utilização como substituta temporária da pele fragilizada no tratamento de ferimentos, queimaduras e úlceras.

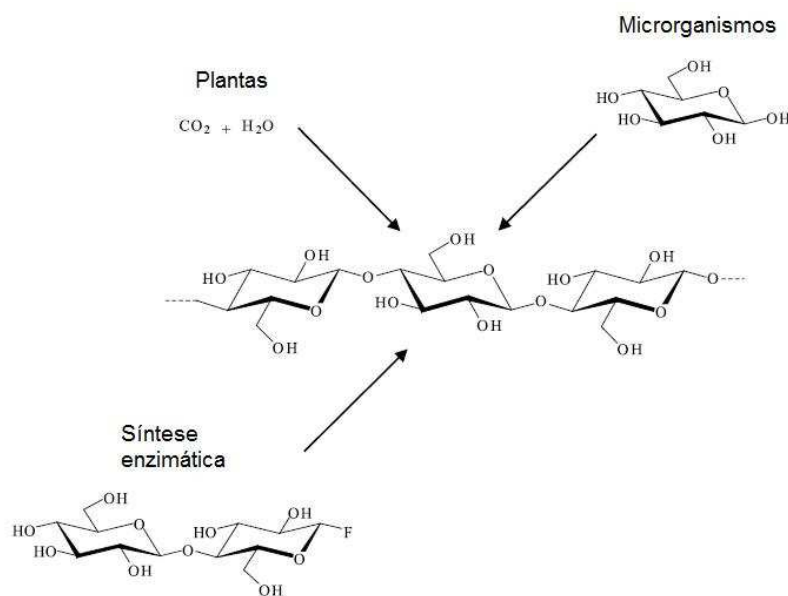


Figura 17 – Rotas de síntese para a celulose (TEERI *et al.*, 2007)

A celulose é completamente biocompatível e aplicações potenciais interessantes já têm surgido na área de cuidados com a saúde, incluindo sistemas cicatrizantes para ferimentos e produtos como pele artificial. Celulose bacteriana pode também ser sintetizada em formatos definidos, tais como microtubos com cavidades que podem ser usados para substituir vasos sanguíneos em operações cirúrgicas. Implantes tubulares feitos de celulose bacteriana com alto teor de água são flexíveis e elásticos, mas mantêm um formato constante. Eles são estáveis, resistentes à pressão e podem ser facilmente suturados em tecidos biológicos. Celulose bacteriana nativa vem sendo recentemente apresentada como um material estrutural biocompatível com boas propriedades mecânicas e com potencial para a aplicação na construção de cartilagens e vasos sanguíneos (TEERI *et al.*, 2007). Devido à sua excelente capacidade para conter água, materiais baseados em celulose têm aplicações interessantes como materiais biocompatíveis que podem ser usados em contato com o organismo humano, incluindo tecidos de sustentação e implantes, ataduras, revestimentos biocompatíveis e formulações que liberam medicamentos.

Devido às suas propriedades químicas e estruturais, a celulose bacteriana pode também ser considerada como uma matriz hidrofílica ideal para a impregnação de metais (BARUD *et al.*, 2008). A celulose bacteriana é uma matriz interessante para promover a nucleação e o crescimento de nanopartículas inorgânicas, produzindo desta forma, uma nova classe de nanocompósitos (JUNG *et al.*, 2009). Entre os diferentes metais possíveis de serem impregnados nas membranas de celulose bacteriana, a prata tem atraído interesse devido às suas propriedades antibacterianas bem conhecidas. Esta propriedade antibacteriana já vem sendo explorada comercialmente em aplicações como tecidos antibacterianos para prevenir infecções e tratar ferimentos de queimaduras (BARUD *et al.*, 2008).

Hu e colaboradores (2008) impregnaram nanopartículas de AgCl em celulose bacteriana pela imersão da membrana de BC numa solução de nitrato de prata. Cloreto de sódio foi usado para reagir com o íon prata ( $\text{Ag}^+$ ) adsorvido dentro da BC para formar nanopartículas de AgCl. A microscopia eletrônica de varredura e a difratometria de raios-X foram utilizadas para mostrar a formação e o crescimento das nanopartículas de AgCl na matriz de BC e estudar a natureza cristalográfica das partículas. O conteúdo de umidade e a atividade antibacteriana da membrana de celulose contendo AgCl foram investigados.

A Figura 18 mostra a imagem de uma membrana de BC pura e de uma membrana de BC contendo nanopartículas de AgCl. Comparada com a membrana de BC matriz (de coloração branca leitosa translúcida), a membrana modificada apresenta coloração branca

opaca, que mostra que a impregnação das nanopartículas de AgCl trouxe uma mudança na forma macroscópica da membrana.



Figura 18 – Imagem da membrana de BC (a) e da membrana de BC contendo nanopartículas de AgCl (b) (HU *et al.*, 2008)

A imagem de MEV apresentada na Figura 19 mostra as nanopartículas de AgCl formadas na membrana de BC, que sugere a formação de nanopartículas na superfície e na estrutura porosa das fibras da BC. A imagem mostra claramente as nanopartículas de AgCl bem dispersas na membrana de BC. As nanopartículas parecem ter um tamanho de alguns décimos de micrômetros.

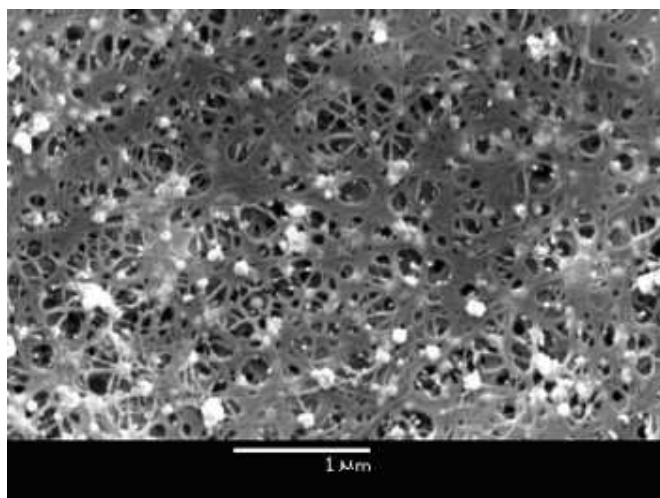


Figura 19 – Imagem de MEV das nanopartículas de AgCl formadas na membrana de BC (HU *et al.*, 2008)

A atividade bactericida das membranas de BC impregnadas com nanopartículas de AgCl contra *E. coli* foi determinada pelo método da difusão de disco. Foi encontrado que as amostras exibiram um halo de inibição de 2 mm. Nenhum halo de inibição foi observado com a BC pura como controle. Isto demonstra claramente que a atividade antimicrobiana é devida somente às nanopartículas de AgCl impregnadas na BC.

A membrana de BC contendo nanopartículas de AgCl foi testada contra *E. coli* e *S. aureus*, nenhum crescimento bacteriano foi obtido no controle de esterilidade. Após 24 h de incubação, houve uma redução de 100% nas células viáveis de *E. coli* e *S. aureus* na membrana contendo nanopartículas de AgCl. Para a BC pura, não houve redução no número de células viáveis; do contrário, houve um acréscimo de 36,0% e 45,3% no número de células viáveis de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Estes resultados demonstram que membrana de BC contendo nanopartículas de AgCl tem boa atividade antimicrobiana tanto para *E. coli* (gram-negativa) quanto para *S. aureus* (gram-positiva).

No trabalho de Barud e colaboradores (2008), foram preparadas membranas de BC contendo nanopartículas de Ag. A preparação das nanopartículas de Ag foi realizada através da decomposição de complexos de trietanolamina de prata (TEA). Imagens de microscopia eletrônica de varredura e padrões de difração de raios-X conduzem a observação de partículas metálicas esféricas com diâmetro médio de 8 nm bem adsorvidas nas fibras da BC.

Uma visão geral da superfície das membranas de BC-Ag-TEA é apresentada na Figura 20 (b). As membranas apresentam a superfície com morfologia regular e a Figura 20 (c) mostra claramente as partículas esféricas de prata (pontos brancos) dispersas na membrana de BC. As partículas nanométricas aparecem também como enormes aglomerados e a Figura 20 (d) mostra um aglomerado esférico de partículas de Ag envolvido pelas fibras de BC. Partículas de prata menores que compõem o aglomerado também são observadas adsorvidas na superfície das fibrilas.

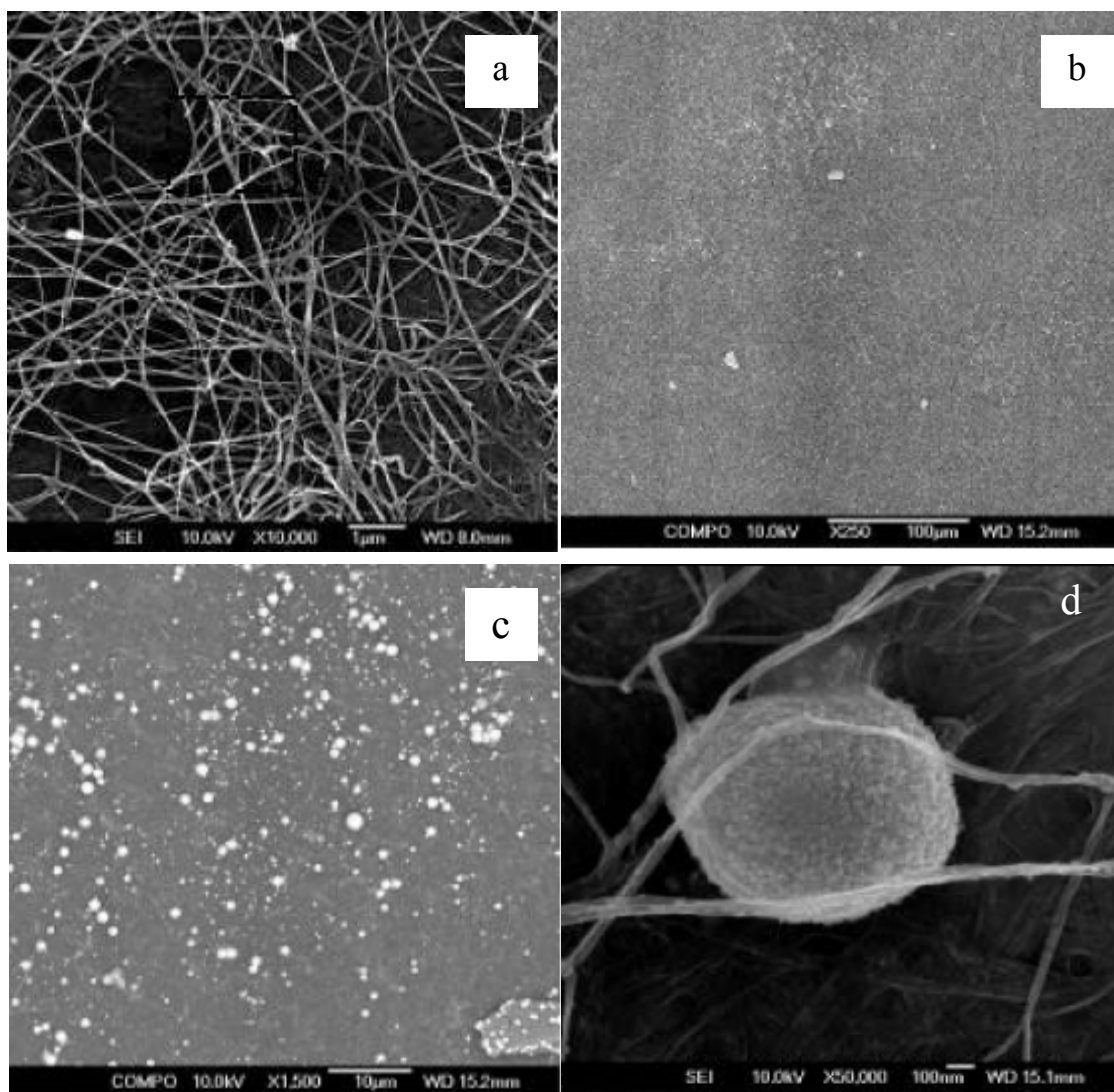


Figura 20 – Imagens de MEV: a) membrana de BC pura; b) membrana de BC contendo Ag; c) partículas de Ag são identificadas como pontos brancos; d) aglomerado de nanopartículas de prata envolvido pelas fibras de BC (BARUD *et al.*, 2008)

A Figura 21 mostra curvas de termogravimetria obtidas para membranas de BC e BC-Ag. A degradação térmica da BC ocorre em dois estágios localizados em aproximadamente, 330°C e 460°C. A massa residual (21%) obtida para temperaturas acima de 600°C está relacionada às partículas de prata.

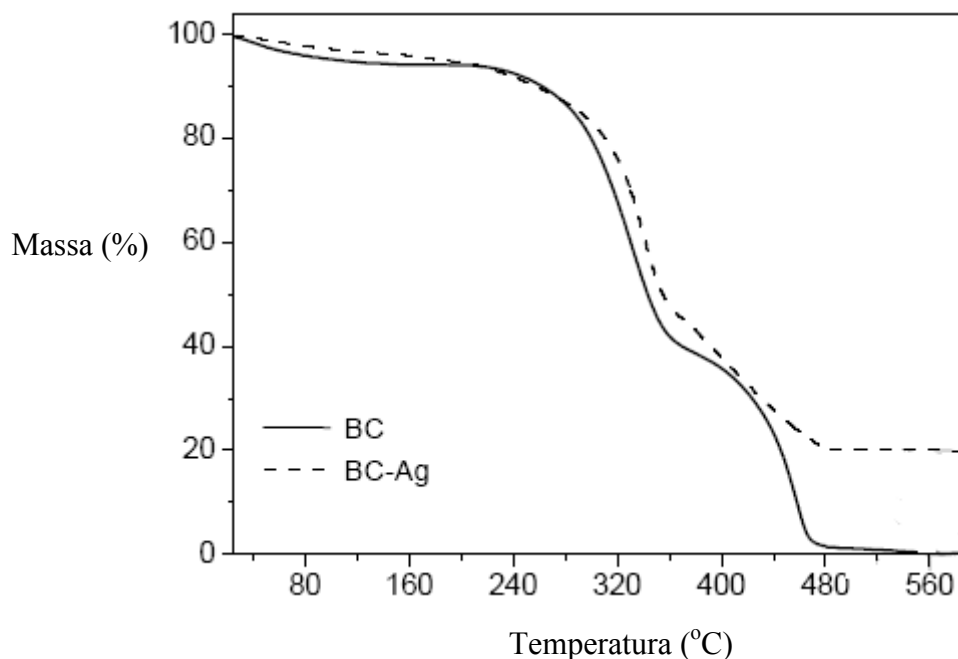


Figura 21 – Curvas de TGA obtidas para membranas de BC pura e de BC-Ag (BARUD *et al.*, 2008)

A formação das nanopartículas de Ag nas fibras de BC pode ser explicada pela interação com os grupos hidroxila da celulose. A difusão de íons prata hidratados  $[Ag(H_2O)_2]^+$  na matriz de celulose bacteriana conduz à coordenação com os diferentes grupos hidroxila da celulose. Em geral é necessária a utilização de diferentes agentes redutores (radiação UV, boro hidreto de sódio, hipofosfito, entre outros). No trabalho de Barud e colaboradores (2008) a interação adicional com TEA conduziu a um mecanismo de redução mais complexo. As moléculas de TEA agem simultaneamente como forte agente redutor e um bom agente quelante para os íons prata, influenciando a nucleação e o crescimento da partícula e o seu tamanho.

MANEERUNG e colaboradores (2008) impregnaram nanopartículas de prata em celulose bacteriana pela imersão de BC em solução de nitrato de prata. Borohidreto de sódio foi usado para reduzir o íon prata ( $Ag^+$ ) adsorvido dentro da BC em nanopartículas de prata metálica ( $Ag^0$ ). A distribuição do tamanho das nanopartículas de prata foi investigada por microscopia eletrônica de varredura. A formação das nanopartículas foi evidenciada por difração de raios-X. A celulose bacteriana impregnada com nanopartículas de prata exibiu forte atividade antimicrobiana contra *E. coli* e *S. aureus*.

A atividade antibacteriana da celulose bacteriana impregnada com nanopartículas de prata foi determinada por dois métodos. Pelo método da difusão de disco, a BC impregnada com Ag exibiu um halo de inibição de 2 mm e 3,5 mm, respectivamente para *E. coli* e *S. aureus* (Figuras 22 (a) e (b)). Nenhum halo de inibição foi observado com a BC pura como controle. No método de contagem de colônias formadas, após 48 h de incubação, na celulose bacteriana impregnada com nanopartículas de prata houve uma redução de 99,7% e 99,9% no número de células viáveis de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. Para a BC pura não houve redução, pelo contrário, houve um acréscimo de 34,6% e 40,7% na contagem de células viáveis de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente.

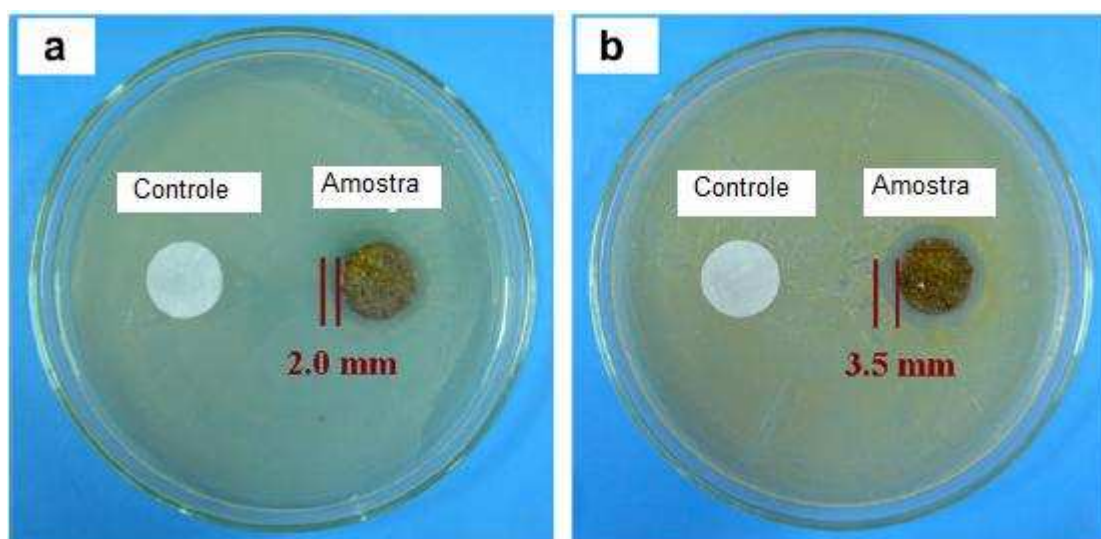


Figura 22 – Atividade antimicrobiana da celulose bacteriana impregnada com nanopartículas de prata contra (a) *Escherichia coli* (b) *Staphylococcus aureus* (MANEERUNG *et al.*, 2008)

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Nessa parte do trabalho, serão descritos todos os equipamentos e materiais utilizados, bem como a metodologia aplicada na realização dos experimentos executados.

#### 3.1. PRODUTOS QUÍMICOS

A cepa bacteriana e os principais reagentes e solventes utilizados na elaboração desta Dissertação são listados a seguir:

- Cepa de *Escherichia coli*, OH5d(k12) – fornecida pelo Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro
- Acetona – procedência: Proquimios A.C.S.; grau de pureza: P.A.
- Ácido ascórbico – procedência: Merck, grau de pureza: P.A.
- Ácido clorídrico – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Ácido nítrico – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Ácido sulfúrico – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Álcool etílico - procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Amberlite® XAD4 (resina polimérica) – procedência: Rohm and Haas, grau de pureza: comercial.
- Bacto Agar – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Bacto extrato de células autocatalisadas de levedura – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Bacto triptona – digestão pancreática de caseína – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Bicarbonato de sódio – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Celulose bacteriana – procedência: Fibrocel Produtos Biotecnológicos Ltda.
- Cloreto de alumínio puríssimo hexahidratado – procedência: Proquimios, grau de pureza: P.A.
- Cloreto de amônio – procedência: Proquimios, grau de pureza: P.A.



- Cloreto de estanho (II) – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Cloreto de sódio – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Cloreto de sódio cristalizado – procedência: Proquimios, grau de pureza: P.A.
- Cloridrato de hidroxilamina – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- 1,2-dicloro-etano – procedência: Synth, grau de pureza: P.A.
- 1,4-dioxano – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- DVB – procedência: Nitriflex, grau de pureza: comercial.
- Estireno – procedência: Petroflex, grau de pureza: comercial.
- Gelatina – procedência: Oetker Produtos alimentícios Ltda., grau de pureza: comercial.
- Hidróxido de sódio – procedência: Proquimios, grau de pureza: P.A.
- 2-hidroxietilcelulose – procedência: Dow Comercial, grau de pureza: comercial.
- Iodeto de potássio – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- N-heptano – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- N, N-dimetilformamida – procedência: Merck, grau de pureza: P.A.
- Nitrato de prata – procedência: Merck, grau de pureza: P.A.
- Nitrito de sódio – procedência: Merck, grau de pureza: P.A.
- Peróxido de benzoíla – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Polivinilpirrolidona – procedência: Fluka, grau de pureza: P.A.
- Sulfato de hidrazina – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Tiocianato de Potássio – procedência: Vetec Química fina Ltda, grau de pureza: P.A.
- Tolueno – procedência: Quimex, grau de pureza: P.A.

Todos os reagentes citados acima foram utilizados como recebidos.

### 3.2. MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Além dos equipamentos e vidrarias tradicionais usados em laboratório, foram utilizados nesta Dissertação os seguintes aparelhos e materiais:

- Agitador mecânico – IKA Labortechnik – modelo RW20.n
- Agitador de soluções – Phoenix modelo AP 56
- Analisador automático de adsorção física de nitrogênio – Micromeritics, modelo ASAP 2020
- Análise elementar – PerkinElmer CHNS/O Analyser 2400 Serie II (1)
- Analisador termogravimétrico (TGA) – TA Instruments, modelo Q50 V6.4 Build 193.
- Analisador termogravimétrico (TGA) – TA Instruments, modelo SDT 2960. (2)
- Autoclave vertical – Phoenix modelo AV-50
- Balança analítica Marte – modelo AL 500 C com precisão de décimo de miligrama
- Bloco digestor – Nova técnica
- Câmara de fluxo laminar
- Controlador de temperatura – IKA
- Difratorômetro de raios-X – Siemens Kristalloflex (2)
- Espectrofotômetro visível – Femto modelo 600S
- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier Perkin Elmer – modelo Spectrum One
- Estufa para incubação - DeLeo equipamentos para laboratórios
- Estufa para esterilização e secagem – Odontobrás
- Estufa Quimis
- Incubadora de bancada com agitação – Nova técnica modelo CT 712
- Microscópio eletrônico de varredura Philips, modelo XL-30. (3)
- Microscópio eletrônico de varredura com detetor de elétrons retroespalhados, modelo JSM 6330 F. (4)
- Microscópio ótico Olympus, modelo Bx60 acoplado com máquina fotográfica, modelo SC 35.

- Peneirador – Bertel
- Placa de aquecimento e agitação - IKA RH-KT/C
- Transformador variador de voltagem – STP

O autor agradece às seguintes instituições que permitiram a utilização de seus equipamentos durante a realização desta dissertação:

- (1) Embrapa Solos
- (2) Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista (UNESP)
- (3) Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP).
- (4) Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)

### 3.3. PROCEDIMENTOS

A preparação dos materiais poliméricos com propriedades bactericidas envolveu a seguinte metodologia que será descrita a seguir:

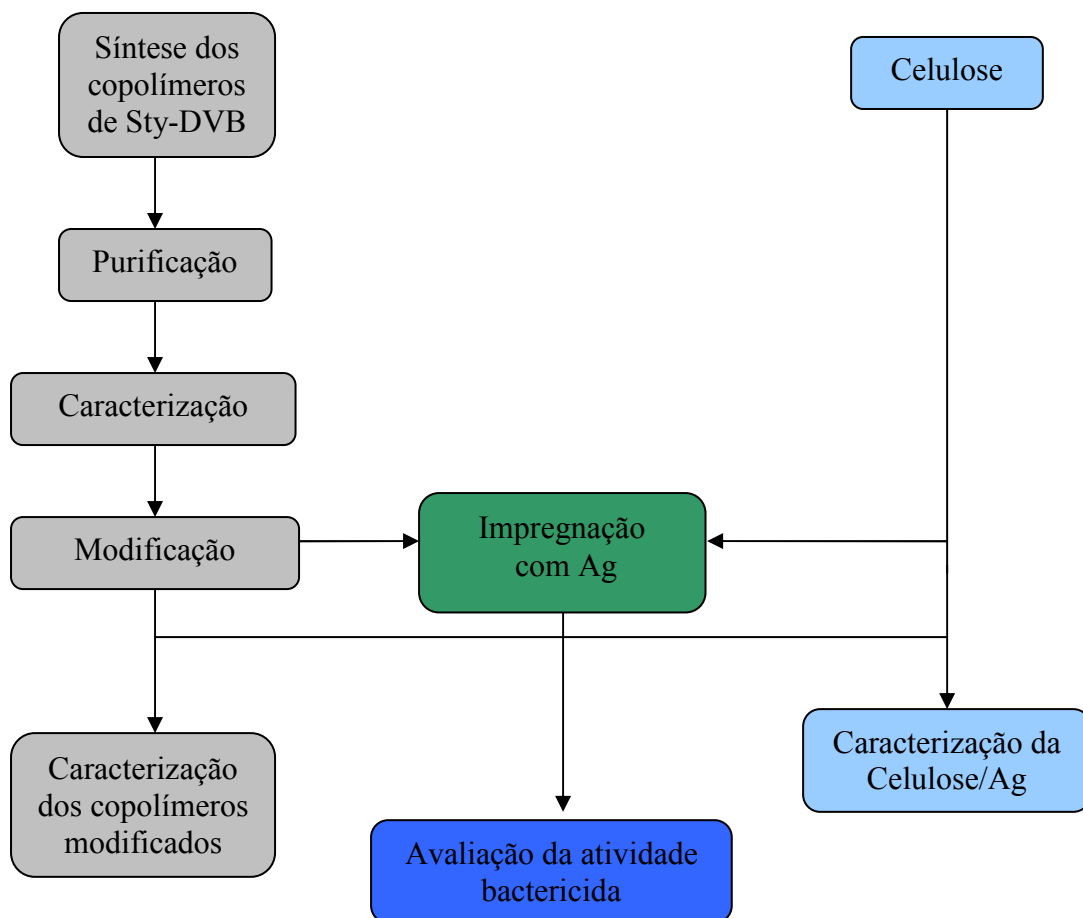


Figura 23 – Metodologia de preparação dos materiais poliméricos com propriedades bactericidas

### 3.3.1. SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB

Foram sintetizados três (03) copolímeros à base de Sty e DVB através da técnica de polimerização em suspensão aquosa via radical livre, alterando-se o teor dos diluentes (agentes porogênicos) n-heptano e tolueno. A mistura diluente n-heptano/tolueno foi empregada nas proporções 90:10, 60:40 e 0:100 (v/v). A concentração do iniciador PBO (1% em relação ao número total de mols dos monômeros) e dos agentes de suspensão (gelatina 0,2% p/v, 2-hidroxietilcelulose 0,15 % p/v e cloreto de sódio 2% p/v, em relação ao volume de água), o teor de monômeros, a relação entre a fase aquosa e a orgânica (3:1), o tempo (24 h) e a temperatura de reação (75°C) mantiveram-se constantes em todas as sínteses.

O sistema reacional foi constituído por um balão de três bocas de 1000 mL, equipado com condensador de bolas adaptado a um selo de óleo, agitador mecânico, termômetro e banho de silicone ligado a um transformador de voltagem (Figura 24).



Figura 24 – Sistema de reação de polimerização

### **3.3.1.1. PREPARO DA FASE AQUOSA**

A fase aquosa (FA) foi preparada de modo que seu volume final correspondesse a três vezes o volume da fase orgânica (FO). No preparo da fase aquosa, pesaram-se 0,725 g de 2-hidroxietilcelulose (HEC) (0,1% p/v), que foram previamente dissolvidos em água à temperatura ambiente. A dissolução da HEC foi conduzida em placa agitadora por 24 horas. Separadamente, 0,967 g de gelatina comercial incolor (0,2% p/v) foram dissolvidos em água a 40°C por 30 minutos. Após completa dissolução dos dois agentes de suspensão, ambos foram misturados e a estes foi adicionado cloreto de sódio (2% p/v em relação à fase aquosa).

A solução final foi então transferida para um balão de três bocas equipado com um agitador mecânico, ajustado para proporcionar uma velocidade de agitação de 360 rpm.

### **3.3.1.2. PREPARO DA FASE ORGÂNICA**

A fase orgânica (FO) foi preparada separadamente por dissolução do iniciador PBO na mistura monomérica constituída de 0,5 mol de estireno e 0,05 mol de divinilbenzeno à temperatura ambiente, e posterior adição dos diluentes n-heptano e tolueno nas proporções 90:10, 60:40 e 0:100 (v/v).

### **3.3.1.3. POLIMERIZAÇÃO**

A fase orgânica foi adicionada lentamente ao reator de polimerização, já contendo a fase aquosa, sob agitação mecânica à temperatura ambiente. O sistema reacional foi mantido nessas condições por 10 minutos para que houvesse dispersão da fase orgânica na fase aquosa. Após este período, o sistema foi aquecido a 75°C, por meio de um banho de silicone termostaticado, sob agitação de 360 rpm por 24 h. Ao final da reação, as pérolas de copolímero obtidas foram separadas por filtração.

#### 3.3.1.4. PURIFICAÇÃO DOS COPOLÍMEROS

A purificação dos copolímeros é necessária para que sejam eliminados resíduos de monômeros que possam estar presentes no material. As pérolas dos copolímeros obtidos foram lavadas com água destilada previamente aquecida a 70°C. Em seguida, as pérolas foram colocadas em cartuchos de papel de filtro e transferidas para um sistema de extração Soxhlet (Figura 25) para purificação com acetona, cujo objetivo foi retirar qualquer resíduo de monômero, iniciador e diluentes, que estivessem ainda presente. Após essa extração, as pérolas foram secas em estufa a 60°C por 24 h.

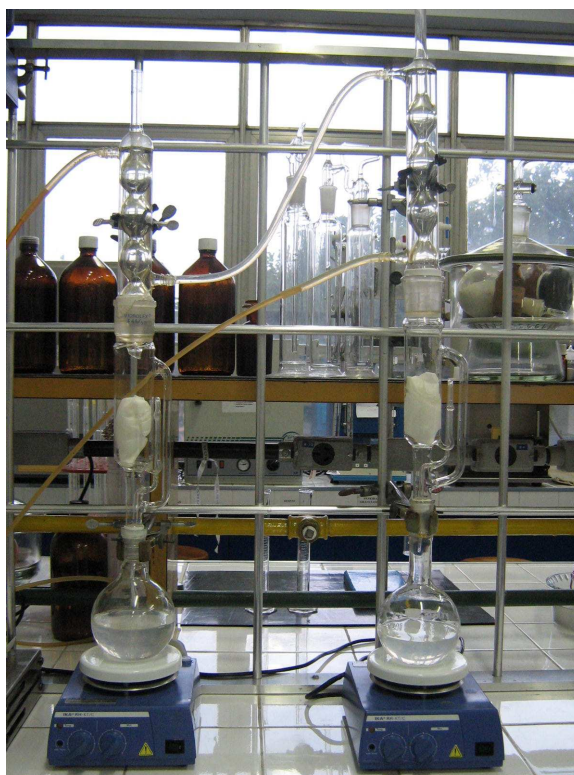


Figura 25 – Sistema de extração utilizado na purificação dos copolímeros

### **3.3.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB**

Amostras dos copolímeros de Sty-DVB sintetizados foram caracterizadas de acordo com a densidade aparente, grau de inchamento, microscopia ótica e eletrônica de varredura, estrutura porosa no estado seco, espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica e análise elementar.

#### **3.3.2.1. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE**

O procedimento utilizado na determinação da densidade aparente ( $d_{ap}$ ) é uma adaptação do método ASTM D1895 (1969), utilizado na indústria de catalisadores e polímeros particulados. Esse método vem sendo utilizado para determinação de densidade aparente (RABELO, 1993).

Foi empacotado, em provetas de 10 mL, com precisão de 0,1 mL, um volume de 10 mL de amostra seca com auxílio de um bastão de vidro emborrachado. A massa de copolímero empacotada é medida através da diferença de massa entre a proveta com amostra empacotada e vazia. O procedimento foi repetido três vezes para a obtenção da média de valores. A densidade aparente foi calculada de acordo com a equação (1):

$$d_{ap} = m/v \quad (1)$$

Onde:

$d_{ap}$  = densidade aparente ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )

$m$  = massa da amostra (g)

$v$  = volume do leito da amostra ( $\text{cm}^3$ )

#### **3.3.2.2. DETERMINAÇÃO DO GRAU DE INCHAMENTO**

Os inchamentos percentuais em volume dos copolímeros em vários solventes foram determinados em provetas de 10 mL, com precisão de 0,1 mL, onde foram empacotados cerca de 3 mL de copolímero seco (RABELO, 1993). O leito de amostra foi nivelado com auxílio



de um bastão de vidro emborrachado para se realizar a leitura do volume inicial ( $V_i$ ). Em seguida, adicionou-se lentamente pela parede da proveta, o solvente até a marca de 10 mL. A proveta foi novamente submetida à vibração para compactação do leito de amostra e a eliminação de bolhas de ar. Após 24 horas, verificou-se o volume final ( $V_f$ ). O grau de inchamento (I) foi calculado pela equação (2):

$$I = (V_f - V_i) 100 / V_i \quad (2)$$

Onde:

I = inchamento (%)

$V_i$  = volume do leito do copolímero seco ( $\text{cm}^3$ )

$V_f$  = volume do leito do copolímero em contato com solvente após 24 horas ( $\text{cm}^3$ )

### **3.3.2.3. MICROSCOPIAS ÓTICA E ELETRÔNICA DE VARREDURA**

A morfologia e o aspecto ótico dos copolímeros foram avaliados através de lupa estereoscópica com câmera digital acoplada, onde as amostras, sem nenhum tratamento prévio, foram observadas e fotografadas em lâminas de vidro.

Através de microscópio eletrônico de varredura foram observadas a superfície externa e a estrutura interna das pérolas dos copolímeros. As pérolas foram coladas em suporte metálico com fita adesiva dupla face. Em seguida, as superfícies das amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro. A voltagem de aceleração foi de 20 kV.

### **3.3.2.4. DETERMINAÇÃO DE ÁREA ESPECÍFICA, DIÂMETRO MÉDIO DE POROS E VOLUME DE PORO**

A área específica (A), o volume total de poros ( $V_p$ ) e o diâmetro médio de poros ( $D_m$ ) foram determinados por meio de dados de adsorção de nitrogênio a diferentes pressões relativas na temperatura do nitrogênio líquido, em um aparelho automático de adsorção física.

A área específica foi calculada com o auxílio da equação (3) desenvolvida por Brunauer, Emmett e Teller (BET). O volume total de poros e o diâmetro médio dos poros

foram determinados pelo método BJH. Por serem conduzidos somente no estado seco, o método BET e BJH medem somente os poros fixos (RIQUEZA *et al.*, 2004).

$$\frac{P}{a(P_o - P)} = \frac{1}{a_m C} + \left[ \frac{C - 1}{a_m C} \cdot \frac{P}{P_o} \right] \quad (3)$$

Onde:

$a$  = quantidade de nitrogênio adsorvido à temperatura  $T$  (mmol/g);

$a_m$  = quantidade necessária de nitrogênio para cobrir a superfície do adsorvente com uma monocamada;

$P_o$  = pressão de saturação do nitrogênio líquido;

$P$  = pressão atmosférica reduzida;

$C$  = constante do sistema.

### **3.3.2.5. CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO (FTIR)**

Os espectros de infravermelho dos copolímeros sintetizados foram obtidos em espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier – Perkin Elmer Spectrum One. Os copolímeros foram macerados em gral de ágata e secos em estufa a 110°C por 1 h. Em seguida, cerca de 1 mg da amostra foi diluída com aproximadamente 300 mg de KBr, previamente macerado e seco em estufa. A amostra e o KBr foram misturados em gral de ágata e a mistura foi prensada em forma de pastilha. Os espectros foram registrados no intervalo de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.3.2.6. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA**

Este tipo de análise busca verificar a estabilidade térmica da amostra (perda ou ganho de massa em função da temperatura). Uma quantidade pequena da amostra foi colocada em um porta-amostra de alumina e aquecida a 700°C, numa taxa de aquecimento de 20°C.min<sup>-1</sup>, em atmosfera de nitrogênio, sob fluxo de 100 mL.min<sup>-1</sup>. A perda de massa da amostra foi continuamente monitorada, durante o aquecimento e registrada em um gráfico de perda de massa em função da temperatura.

### **3.3.2.7. ANÁLISE ELEMENTAR**

Os copolímeros sintetizados foram submetidos à análise elementar após serem macerados em gral de ágata e secos em estufa a 100°C durante 24 h. Cerca de 10 mg de amostra foram pesados em cápsula de estanho e lançada em um tubo de combustão através do qual flui uma corrente de hélio.

### **3.3.3. MODIFICAÇÕES QUÍMICAS DOS COPOLÍMEROS**

Os copolímeros de Sty-DVB foram modificados por meio da reação de nitração, seguida da reação de redução do grupo nitro a amino e da reação de hidrólise do grupo sal de diazônio. Posteriormente, os copolímeros modificados foram impregnados com prata. Os procedimentos realizados nestas reações de modificação são descritos a seguir.

#### **3.3.3.1. MODIFICAÇÃO POR MEIO DA REAÇÃO DE NITRAÇÃO**

Adicionaram-se 5 g de copolímero ao balão de três bocas. Posteriormente adicionaram-se 20 mL de 1,2-dicloroetano para o inchamento do copolímero, deixando-se em repouso durante 24 h. Preparou-se uma solução contendo 23 mL de ácido nítrico concentrado

(65%) e 20 mL de ácido sulfúrico concentrado (98%), vertendo-se o ácido sulfúrico lentamente sobre o ácido nítrico. Depois de preparada a solução sulfonítrica, a mesma foi transferida para um funil de adição, para que fosse adicionada lentamente ao balão de três bocas, contendo o copolímero previamente inchado em 1,2-dicloroetano na temperatura ambiente. Após completa adição da mistura sulfonítrica, a temperatura foi elevada para 80°C e a reação foi conduzida por 4 h. Depois, o aquecimento foi interrompido e o meio reacional deixado tomar a temperatura ambiente.

Adicionaram-se pequenas quantidades de etanol ao conteúdo do balão para diluir o sistema. O copolímero nitrado (coloração caramelada) contendo 1,2-dicloroetano foi transferido para um funil contendo papel de filtro e foi então lavado com cerca de 100 mL de etanol e com água destilada gelada. O líquido recolhido após filtração foi misturado com um pouco de água formando uma solução de dupla fase para posteriormente decantação e o 1,2-dicloroetano ser posto no rejeito apropriado. O copolímero foi então lavado exaustivamente com 1 L de água destilada a uma temperatura em torno de 50°C. Finalmente, o copolímero foi lavado com acetona (cerca de 150 mL) e seco a uma temperatura de 60-70°C durante 24 h.

### **3.3.3.2. MODIFICAÇÃO POR MEIO DA REAÇÃO DE REDUÇÃO DO GRUPO NITRO A AMINO**

Adicionaram-se 2 g de copolímero nitrado anteriormente, a um balão de três bocas. Posteriormente, foram adicionados 20 mL de água destilada (inchamento do copolímero), deixou-se em repouso durante 24 h. Foi preparada uma solução contendo 3,2 g de SnCl<sub>2</sub> e 20 mL de HCl concentrado. O HCl foi vertido sobre o SnCl<sub>2</sub> obtendo-se uma suspensão de coloração branca. Depois de preparada, a solução foi vertida no balão contendo o copolímero previamente inchado em água na temperatura ambiente. Após completa adição, a temperatura foi elevada para 100°C, durante 24 horas. Após 24 h de reação foram acrescentados mais 20 mL de solução de 3,2 g de SnCl<sub>2</sub> em ácido clorídrico concentrado e a reação foi conduzida por mais 24 h. O aquecimento foi interrompido e deixou-se o meio reacional tomar a temperatura ambiente. Posteriormente, adicionou-se água destilada, filtrou-se o copolímero e o sobrenadante foi neutralizado para posterior descarte. O copolímero já filtrado foi lavado com cerca de 500 mL de água destilada na temperatura ambiente. O copolímero foi vertido

para um erlenmeyer contendo 100 mL de uma solução de NaOH 0,5 M. O erlenmeyer foi tampado com filme plástico e deixado em repouso durante 24 h. A seguir o copolímero foi filtrado e lavado com 1 L de água destilada quente (60-70°C), até pH próximo de 6. Finalmente, o copolímero foi lavado com 150 mL de acetona e seco na estufa a 60-70°C por 24 h.

### **3.3.3.3. MODIFICAÇÃO POR MEIO DA REAÇÃO DE DIAZOTAÇÃO E POSTERIOR HIDRÓLISE DO GRUPO SAL DE DIAZÔNIO**

Para um erlenmeyer pequeno munido de termômetro, foi transferido cerca de 1 g de copolímero aminado e 10 ml de dioxano. Após 30 minutos, acrescentaram-se 2 mL de ácido clorídrico concentrado e 5 mL de água destilada. Usando banho de gelo/sal grosso, o sistema foi resfriado até a temperatura de pelo menos 5°C (temperatura ideal = 0°C).

Procedeu-se à diazotação com adição de uma solução previamente preparada de 1 g de nitrito de sódio em 5 mL de água. Esta adição foi feita o mais lentamente possível. Esta solução aquosa de nitrito foi previamente resfriada em banho de gelo/sal. Durante toda adição da solução aquosa gelada de nitrito de sódio, a mistura foi mantida sob forte agitação manual. A reação liberou calor e como sal de diâzonio formado era instável em temperaturas elevadas, não se deixou que a temperatura se elevasse acima de 10°C.

Deixou-se o sistema tomar a temperatura ambiente. A seguir, o sistema foi aquecido em um banho a 50°C e adicionaram-se lentamente, com auxílio de um funil de adição, 100 mL de solução aquosa de NaOH a 1M. O sistema foi mantido sob aquecimento por cerca de 1 h (Figura 26). Depois, deixou-se o sistema atingir a temperatura ambiente. Procedeu-se à filtração e à lavagem do copolímero com 1 L de água quente (cerca de 65°C). O copolímero foi deixado em contato com 100 mL de solução aquosa de HCl a 1M até o dia seguinte. Procedeu-se à lavagem do copolímero com água destilada até pH próximo de 6.

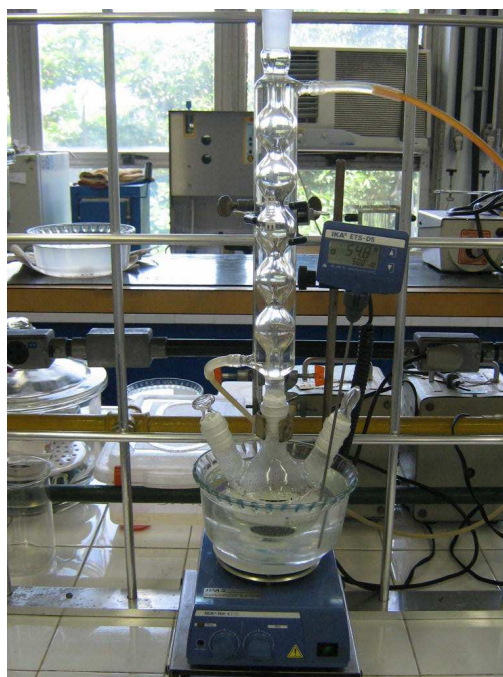


Figura 26 – Sistema reacional utilizado na modificação por reação de hidrólise do grupo sal de diazônio

### 3.3.4. IMPREGNAÇÃO DE PRATA NOS COPOLÍMEROS

Os copolímeros modificados contendo os grupos  $-NH_2$  e  $-OH$  foram tratados com solução aquosa de  $AgNO_3$  4% m/v por 24 h. Foram pesados 1 g de cada copolímero, que posteriormente foram deixados em contato com 25 ml de solução aquosa de nitrato de prata. Foram adicionadas algumas gotas de  $HNO_3$  concentrado para reduzir o pH e, conseqüentemente, prevenir a hidrólise do sal de prata. As pérolas de copolímero impregnadas com  $AgNO_3$  foram filtradas e lavadas com água destilada e deionizada. A lavagem foi conduzida até teste negativo com solução aquosa de NaCl a 1% p/v no filtrado. Após a filtração e a lavagem, o íon  $Ag^+$  foi reduzido com hidroxilamina. As soluções aquosas do agente redutor foram preparadas de acordo com a descrição a seguir.

Em um béquer, foram dissolvidos 0,4 g de PVP a 4% m/v em 10 ml de água deionizada. Após a dissolução, acrescentaram-se 2 g de cloridrato de hidroxilamina à solução. O pH foi corrigido por meio da adição de gotas de solução aquosa de NaOH 1M até pH aproximadamente 12. A solução redutora foi transferida para um funil de adição. Em outro béquer, o copolímero foi suspenso em 20 ml de água deionizada. Esta suspensão foi resfriada

em um banho de gelo. Acrescentou-se gota a gota a solução redutora sobre a suspensão. Após 1 h de contato, as pérolas ficaram escuras e foram lavadas exaustivamente com água destilada, 20 ml de acetona e secas em estufa a 60°C por 12 h.

### **3.3.5. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS MODIFICADOS**

Amostras dos copolímeros de Sty-DVB modificados foram caracterizadas de acordo com o grau de inchamento, microscopia ótica e eletrônica de varredura, espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica, análise elementar e análise quantitativa do teor de prata.

#### **3.3.5.1. CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO (FTIR)**

Os espectros de infravermelho dos copolímeros modificados foram obtidos em espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier – Perkin Elmer Spectrum One. Os copolímeros foram macerados em gral de ágata e secos em estufa a 110°C por 1 h. Em seguida, cerca de 1 mg da amostra foi diluída com aproximadamente 300 mg de KBr, previamente macerado e seco em estufa. A amostra e o KBr foram misturados em gral de ágata e a mistura foi prensada em forma de pastilha. Os espectros foram registrados no intervalo de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **3.3.5.2. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA**

Este tipo de análise busca verificar a estabilidade térmica da amostra (perda ou ganho de massa em função da temperatura). Uma quantidade pequena da amostra foi colocada em um porta-amostra de alumina e aquecida a 700°C, numa taxa de aquecimento de 20°C.min<sup>-1</sup>,

em atmosfera de nitrogênio, sob fluxo de 100 mL.min<sup>-1</sup>. A perda de massa da amostra foi continuamente monitorada, durante o aquecimento e registrada em um gráfico de perda de massa em função da temperatura.

### **3.3.5.3. ANÁLISE ELEMENTAR**

Os copolímeros modificados foram submetidos à análise elementar após serem macerados em gral de ágata e secos em estufa a 100°C durante 24 h. Cerca de 10 mg de amostra foram pesados em cápsula de estanho e lançada em um tubo de combustão através do qual flui uma corrente de hélio.

### **3.3.5.4. ANÁLISE QUANTITATIVA DO TEOR DE PRATA**

A determinação do teor de prata incorporada nos copolímeros foi realizada com o emprego do método da argentometria. As seguintes soluções foram preparadas previamente:

- Solução aquosa de AgNO<sub>3</sub> (0,01 M): o sal AgNO<sub>3</sub> foi triturado e seco em estufa a 150°C por 2 horas. Deixou esfriar em dessecador e pesaram-se cerca de 0,85 g. A solução foi preparada dissolvendo-se o sal em água destilada. Foram adicionados 0,5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado para evitar a hidrólise do íon Ag<sup>+</sup>. A solução foi então transferida para balão de 500 mL e avolumou-se com água destilada e, em seguida, a solução foi guardada em frasco escuro e rotulada.
- Solução aquosa de KSCN (0,01 M): foram pesados 0,4 g do sal que foi dissolvido em água destilada e transferido para um balão de 500 mL, avolumou-se com água destilada.
- Solução aquosa de HNO<sub>3</sub> (6 M): foram transferidos 208 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado para balão de 500 mL, avolumou-se com água destilada.

Em um erlenmeyer, pesou-se 0,1 g de cada copolímero em um erlenmeyer e se transferiram 15 mL de solução 6 M de HNO<sub>3</sub>. O erlenmeyer foi aquecido brandamente, colocando-se um funil na boca, até dissolução total da prata. Durante a digestão do copolímero, foi observada a evolução de vapores castanhos (vapores nitrosos). Foi observado,



ao final da digestão, que as pérolas tornaram-se claras, evidenciando a dissolução da prata. Acrescentaram-se 25 mL de água destilada, ebulindo até completa expulsão dos vapores nitrosos. Deixou-se esfriar e o conteúdo do erlenmeyer foi transferido para um balão de 100 mL, completou-se o volume com água destilada e homogeneizou-se. Foram pipetados 25 mL desta solução para um erlenmeyer de 250 mL e titulou-se com solução padrão de tiocianato de potássio 0,01 M, empregando solução saturada de sulfato de ferro III amoniacal como indicador.

Foram realizadas quatro titulações e calculou-se o volume médio gasto nas titulações. O teor de prata encontrado em cada copolímero foi calculado através da equação (4):

$$\%Ag = \frac{V_{SCN} \times M_{SCN} \times me_{Ag} \times 100}{P_{amostra} \times 25/100} \quad (4)$$

Onde:

$\%Ag$  = Teor de prata dos copolímeros (%)

$V_{SCN}$  = volume médio de tiocianato

$M_{SCN}$  = molaridade da solução de tiocianato

$me_{Ag}$  = miliequivalente da prata

$P_{amostra}$  = peso da amostra

### 3.3.6. IMPREGNAÇÃO DE PRATA EM CELULOSE BACTERIANA

Amostras de 3 g de membrana de celulose bacteriana foram imersas em 100 mL de solução aquosa de  $AgNO_3$  a  $0,06 \text{ mol.L}^{-1}$ , acidificada com  $HNO_3$ , à temperatura ambiente, por 24 h. A seguir as amostras impregnadas com íons  $Ag^+$  foram lavadas com água destilada a  $45^\circ C$  até teste negativo em solução aquosa de  $NaCl$  a 1% p/v. A celulose bacteriana (BC) impregnada com íons  $Ag^+$  (BC/ $Ag^+$ ) foi tratada com solução aquosa de um agente redutor contendo ou não um protetor de colóide. Os agentes redutores foram empregados em soluções aquosas contendo 0,2% p/v de PVP ou gelatina.

Para cada 2 g de celulose impregnada com  $Ag^+$  imersa em 30 mL de solução aquosa de PVP ou gelatina (0,2 % p/v), foram adicionados 30 mL de solução aquosa de um agente redutor ( $NH_2NH_2$ ,  $NH_2OH$  ou  $C_6H_8O_6$ ) numa concentração de  $0,06 \text{ mol.L}^{-1}$  com pH entre 13 e 14 contendo PVP ou gelatina a 0,2 % p/v. Essa adição foi realizada em banho de gelo

(temperatura próxima a 5°C) durante 15 minutos e a mistura foi mantida em contato com a solução à temperatura ambiente durante 1h protegida da luz. Após o processo de redução, a celulose bacteriana (BC) impregnada com íons  $\text{Ag}^+$  (BC/ $\text{Ag}^+$ ) tornou-se escura (BC/ $\text{Ag}^0$ ). A amostra reduzida foi exaustivamente lavada com água destilada e deionizada até teste negativo em solução de NaCl 1% (p/v).

### **3.3.7. CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADAS COM PRATA**

As nanopartículas de prata impregnadas em celulose bacteriana foram caracterizadas por difração de raios-X, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura.

#### **3.3.7.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X**

Padrões de difração de raios-X da prata obtida e impregnada na celulose foram obtidos em um difratômetro Siemens Kristalloflex, usando radiação de  $\text{Cu K}\alpha$  a 40 kV e 15 mA (ângulo  $2\theta$ ).

#### **3.3.7.2. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA**

A análise termogravimétrica foi conduzida usando amostras secas em um equipamento SDT 2960 da TA Instrumentos. Uma quantidade pequena da amostra foi colocada em um porta-amostra de alumina e aquecida de 40 a 600°C, numa taxa de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>, em atmosfera de nitrogênio, sob fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup>. A perda de massa da amostra foi continuamente monitorada, durante o aquecimento e registrada em um gráfico de perda de massa em função da temperatura. O conteúdo de prata dos compósitos BC/Ag foi estimado dos resíduos.

### 3.3.7.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Através de microscópio eletrônico de varredura com detetor de elétrons retro-espalhados foram observadas a superfície externa e a estrutura interna das membranas de BC e dos compósitos BC/Ag<sup>0</sup> obtidos com e sem protetores de colóide. As superfícies das amostras foram recobertas com uma espessa camada de carbono.

### 3.3.8. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DOS COPOLÍMEROS

A avaliação da capacidade de redução do número de células viáveis pelos materiais estudados foi conduzida em triplicata junto à suspensão de *Escherichia coli*, OH5d(k12), segundo a metodologia descrita por JANDREY e colaboradores (2004). A metodologia empregada foi a da determinação do número de células viáveis utilizando a técnica de contagem em placa.

As seguintes soluções e meios foram preparados para desenvolver os ensaios de atividade bactericida:

- Solução salina 0,9%: em erlenmeyer, 2,7 g de NaCl foram dissolvidos em 300 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.
- Meio LB (Luria-Bertani) líquido: em erlenmeyer foram dissolvidos 1 g de NaCl, 1 g de Bacto triptona (digestão pancreática da caseína), 0,5 g de Bacto extrato de levedura, em 100 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.
- Meio LB (Luria-Bertani) sólido: em erlenmeyer foram dissolvidos 3 g de NaCl, 3 g de Bacto triptona (digestão pancreática da caseína), 1,5 g de Bacto extrato de levedura e 4,5 g de Bacto Agar para preparo de culturas, em 300 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.

Os seguintes materiais foram preparados em ambiente estéril (cabine de fluxo laminar):

- Meio de cultura: foi pipetada uma alíquota de 100 µL de cultura pré-preparada e armazenada no freezer de *Escherichia coli*, a qual foi transferida para erlenmeyer estéril de 50 mL contendo 10 mL de meio LB líquido. A cultura foi mantida em incubadora a 37°C com

agitação a 120 rpm durante uma noite, até a fase exponencial de crescimento de cerca de  $2-3 \times 10^9$  células/mL.

- Microtubos com solução salina para diluição: os microtubos de 1,5 mL estéreis foram distribuídos em estante apropriada, aos quais foram adicionados 900  $\mu$ L de solução salina 0,9% estéril com auxílio de pipetador automático. Em seguida, os microtubos foram fechados e transferidos para um frasco de vidro identificado.

- Placas com meio LB solidificado com Agar: O meio LB com Agar foi vertido imediatamente após ser autoclavado em placas de Petri estéreis. Após solidificação as placas foram invertidas e mantidas em estufa incubadora a 37°C durante uma noite. As placas foram espalhadas sobre a bancada e descartadas as placas em que ocorreu alguma contaminação. As placas foram identificadas para o ensaio, com o tipo de bactéria, o código da amostra e a concentração da suspensão de bactérias, utilizando-se três placas para cada concentração de microrganismo.

- Colunas com amostra de copolímero: os tubos de polipropileno estéreis de 50 mL foram identificados com o nome da amostra e colocados em estante. Em cabine de fluxo laminar, a seringa de 1 mL foi colocada em tubo de ensaio estéril de 13 mm. Para suportar a amostra dentro da seringa de 1 mL foi inserida uma pérola de vidro (2 mm de diâmetro) estéril na extremidade inferior da seringa, com auxílio de pinça esterilizada na chama do bico de Bunsen. Em seguida, o êmbolo foi recolocado na seringa. A seringa foi transferida para dentro do tubo de polipropileno de 50 mL, o qual foi fechado e então pesado. Após a pesagem, a seringa foi suportada em tubo de ensaio e o êmbolo retirado. Foram adicionados na seringa aproximadamente 0,2 mL de copolímero. O êmbolo foi recolocado na seringa, compactando a amostra. Colocou-se a seringa com amostra no tubo de polipropileno novamente e o conjunto foi pesado. A massa de amostra de cada copolímero foi determinada por diferença.

- Tubos com solução salina para diluição das bactérias: os tubos de polipropileno tipo Falcon de 15 mL com tampa foram identificados com as concentrações de células/mL ( $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$ ) e colocados em estante. Foram preenchidos seis tubos com 9000  $\mu$ L de solução salina 0,9% estéril. No primeiro tubo ( $10^7$ ), foram adicionados mais 900  $\mu$ L de salina com auxílio de pipetador automático.

- Estantes com microtubos e tubos de ensaio: os microtubos contendo 900  $\mu$ L de salina foram separados e identificados para diluição das soluções de cultura de concentração  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  células/mL. Foi preparada e identificada uma estante com tubos de ensaio para descarte e recolhimento das alíquotas eluídas no ensaio de sobrevivência.

O procedimento para o ensaio de atividade bactericida envolve os seguintes passos que foram executados em cabine de fluxo laminar:

- Suspensão de bactérias: uma alíquota de 100  $\mu\text{L}$  da cultura preparada na véspera foi transferida para o tubo de 15 mL contendo 9900  $\mu\text{L}$  de solução salina, homogeneizada em agitador de tubos. Este tubo tem concentração de  $10^7$  células/mL. Deste tubo, foi retirada uma alíquota de 1000  $\mu\text{L}$  e transferida para tubo de 15 mL contendo 9000  $\mu\text{L}$  de salina, o qual foi agitado obtendo uma suspensão com concentração de  $10^6$  células/mL. Esta seqüência de diluição foi repetida para obter as suspensões com concentração de  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  células/mL.
- Ensaio de eluição: sobre a mesma coluna contendo 0,2 mL de amostra foram eluídos 2000  $\mu\text{L}$  (4 porções de 500  $\mu\text{L}$ ) de solução salina estéril. Posteriormente, 1500  $\mu\text{L}$  (3 porções de 500  $\mu\text{L}$ ) das soluções contendo *E. coli* em diferentes concentrações na seguinte seqüência:  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^7$  células/mL foram sucessivamente eluídos através da coluna. Os 500  $\mu\text{L}$  iniciais de cada solução, usados para condicionamento das amostras, foram descartados, recolhendo-se o volume restante em tubo de ensaio estéril. Cada eluição foi desenvolvida durante 1 a 2 min (taxa de eluição  $\cong 0,75$  mL/min).
- Diluição das soluções eluídas e inoculação: após a eluição através do leito de copolímero, a suspensão de *E. coli* foi apropriadamente diluída em solução salina estéril. As diluições foram feitas de 1:10 partindo-se de 100  $\mu\text{L}$  em microtubos contendo 900  $\mu\text{L}$  de salina estéril, homogeneizando em agitador de tubos. As diluições foram repetidas até obter uma suspensão contendo aproximadamente  $2 \times 10^3$  células/mL, cuja alíquota de 100  $\mu\text{L}$  foi transferida para placa de Petri contendo meio nutriente LB solidificado com Bacto Agar. No caso da solução salina, foram aplicadas alíquotas de 400  $\mu\text{L}$  na placa. Para cada concentração, foram preparadas três placas para contagem.
- Incubação: as unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas manualmente após 24 h de incubação das placas a  $37^\circ\text{C}$  em estufa incubadora. A média dos resultados foi corrigida pelo fator de diluição apropriado e o resultado foi expresso como unidade formadora de colônia por mililitro.
- Ensaio de estabilidade química: Neste experimento, utilizaram-se os mesmos materiais e meios de cultura descritos anteriormente. Foram utilizados neste ensaio alíquotas de 450  $\mu\text{L}$  de solução salina inicial (que não foi passada pelas colunas) e de salinas que foram eluídas pelas colunas. As alíquotas foram colocadas em tubos de ensaio, e foi adicionado em cada um 50  $\mu\text{L}$  de suspensão de *E. coli* com concentração de  $10^4$  células/mL previamente

homogeneizada. Os tubos de ensaio foram fechados, homogeneizados em agitador de tubos, e a suspensão foi deixada em contato por 2 minutos. Após o tempo de contato retirou-se uma alíquota de 100 µL dispensando-a em placa contendo meio nutritivo solidificado com Agar. À placa, foram adicionadas pérolas de vidro para espalhar a alíquota sobre o meio. Em seguida, inverteu-se a placa, a qual foi mantida em estufa incubadora 37°C por 24 h.

A redução do número de células viáveis obtida através dos ensaios de atividade bactericida foi estimada pelo decréscimo de bactérias, calculada através da equação (5) :

$$\text{Ação} = [(UFC_i - UFC_f) / UFC_i] \times 100 \quad (5)$$

Onde:

Ação = redução do número de células viáveis (%)

UFC<sub>i</sub> = unidades formadoras de colônias iniciais

UFC<sub>f</sub> = unidades formadoras de colônias após a eluição através das pérolas de copolímeros

A análise estatística dos resultados foi realizada usando Teste *t*-Student e/ou Análise da Variância (ANOVA) (BEIGUELMAN, 2002; CALLEGARI-JACQUES, 2003).

### **3.3.9. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADAS COM PRATA**

A avaliação da atividade bactericida das membranas de celulose bacteriana impregnadas com nanopartículas de prata foi conduzida em triplicata junto à suspensão de *Escherichia coli*, OH5d(k12).

As seguintes soluções e meios foram preparados para desenvolver os ensaios de atividade bactericida:

- Solução salina 0,9%: em erlenmeyer, 2,7 g de NaCl foram dissolvidos em 300 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.
- Meio LB (Luria-Bertani) líquido: em erlenmeyer foram dissolvidos 1 g de NaCl, 1 g de Bacto triptona (digestão pancreática da caseína), 0,5 g de Bacto extrato de levedura, em 100 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.

- Meio LB (Luria-Bertani) sólido: em erlenmeyer foram dissolvidos 3 g de NaCl, 3 g de Bacto triptona (digestão pancreática da caseína), 1,5 g de Bacto extrato de levedura e 4,5 g de Bacto Agar para preparo de culturas, em 300 mL de água. A solução foi autoclavada a 120°C por 20 min.

O procedimento para o ensaio de atividade bactericida foi executado como descrito a seguir:

Uma alíquota de 100 µL da cultura preparada na véspera foi transferida para um tubo de 15 mL contendo 9900 µL de meio LB (Luria-Bertani) líquido e homogeneizada em agitador de tubos. Este tubo tem concentração de  $10^7$  células/mL. Deste tubo, foi retirada uma alíquota de 1000 µL e transferida para tubo de 15 mL contendo 9000 µL de salina, o qual foi agitado obtendo uma suspensão com concentração de  $10^6$  células/mL. Esta seqüência de diluição foi repetida para obter a suspensão com concentração de  $10^5$  células/mL.

Alíquotas de 1000µL da suspensão com concentração de  $10^5$  células/mL foram transferidas para tubos de ensaio estéreis numerados e identificados contendo as amostras: tubo 1 – celulose bacteriana sem inóculo; tubo 2 – celulose bacteriana com inóculo; tubo 3 – composto celulose/Ag sem inóculo e tubo 4 – composto celulose/Ag com inóculo.

Os 4 tubos foram incubados em shacker a 37°C com agitação a 120 rpm durante 24 h. Após o tempo de incubação, o conteúdo de cada tubo de ensaio foi transferido para 4 erlenmeyers estéreis, também numerados de 1 a 4. A cada erlenmeyer foi adicionado 50 mL de solução salina 0,9% e o mesmo foi agitado.

Uma alíquota de 100 µL foi retirada de cada erlenmeyer e transferida para um microtubo de 1,5 mL contendo 900 µL de salina, o qual foi agitado. Deste tubo foi retirada uma alíquota de 100 µL e transferida para um microtubo de 1,5 mL contendo 900 µL de salina. Esta seqüência de diluição foi repetida por mais duas vezes.

Foram obtidas 4 diluições. De cada diluição, foi transferida uma alíquota de 100 µL para placa de Petri contendo meio nutriente LB solidificado com Bacto Agar. Para cada diluição foram preparadas 3 placas para contagem. À placa foram adicionadas pérolas de vidro para espalhar a alíquota sobre o meio.

As unidades formadoras de colônias (UFC) foram contadas manualmente após 24 h de incubação das placas a 37°C em estufa incubadora. A média dos resultados foi corrigida pelo fator de diluição apropriado e o resultado foi expresso como unidade formadora de colônia por mililitro.

A redução do número de células viáveis obtida através dos ensaios de atividade bactericida foi estimada pelo decréscimo de bactérias, calculada através da equação (6):

$$\text{Ação} = [(UFC_i - UFC_f) / UFC_i] \times 100 \quad (6)$$

Onde:

Ação = redução do número de células viáveis (%)

$UFC_i$  = unidades formadoras de colônias iniciais

$UFC_f$  = unidades formadoras de colônias após o ensaio

A análise estatística dos resultados foi realizada usando Teste *t*-Student e/ou Análise da Variância (ANOVA) (BEIGUELMAN, 2002; CALLEGARI-JACQUES, 2003).



## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No desenvolvimento desse trabalho, foram empregados dois tipos diferentes de materiais poliméricos: copolímeros sintetizados à base de estireno e divinilbenzeno e um polímero natural (celulose bacteriana).

A preparação dos materiais poliméricos com propriedades bactericidas estudados envolveu a síntese de copolímeros que foram posteriormente funcionalizados e impregnados com prata e o emprego da celulose bacteriana como uma matriz para impregnação de nanopartículas de prata. Assim, foram obtidos diferentes materiais que foram avaliados quanto à sua atividade bactericida.

Para facilitar a compreensão do leitor, os resultados obtidos neste trabalho serão subdivididos em 4 tópicos:

- Discussão dos resultados referentes à síntese e caracterização dos copolímeros de Sty-DVB;
- Estabelecimento da metodologia de funcionalização dos copolímeros de Sty-DVB com grupos hidroxilas fenólicas e de impregnação desses materiais com prata coloidal;
- Estabelecimento da metodologia de impregnação de prata nas membranas de celulose;
- Avaliação bactericida dos diferentes materiais poliméricos obtidos.

### **4.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB**

Os três copolímeros à base de Sty e DVB foram sintetizados através da técnica de polimerização em suspensão aquosa via radical livre. A Figura 27 mostra uma representação esquemática da reação de polimerização do estireno com divinilbenzeno.

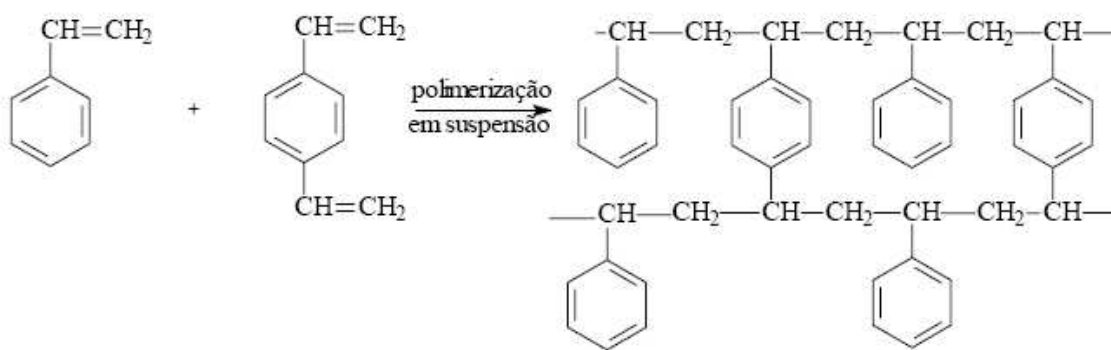


Figura 27 – Representação esquemática da reação de polimerização do estireno com divinilbenzeno

O objetivo deste trabalho é obter materiais poliméricos com atividade bactericida. A capacidade bactericida de copolímeros de Sty-DVB funcionalizados está relacionada não apenas ao tipo e ao teor de grupos funcionais bactericidas introduzidos, mas também às características de porosidade dos copolímeros de partida. Assim, foram preparados copolímeros com diferentes estruturas porosas, por meio da variação das condições de síntese, mais especificamente da variação da composição diluente.

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi escolhido um sistema diluente constituído de n-heptano e/ou tolueno que, por meio da variação da sua proporção na fase monomérica, levasse à formação de copolímeros com poros de tamanhos diferenciados. Os diluentes, também chamados de agente porogênicos, podem ser solvatantes e não-solvatantes. Em geral, diluentes solvatantes (também chamados bons solventes) para as cadeias poliméricas produzem estruturas pouco porosas e diluentes não-solvatantes (também chamados de maus solventes) produzem estruturas porosas, com poros de elevado diâmetro (COUTINHO & RABELO, 1992). O uso de misturas diluentes contendo diferentes proporções desses dois tipos de solventes permite a obtenção de estruturas com tamanhos de poros intermediários. O efeito de cada um desses solventes, ou das suas misturas irá depender da combinação com os outros parâmetros de síntese, mais especificamente, o teor de DVB e o grau de diluição.

Além dos copolímeros sintetizados foi usado neste estudo um copolímero comercial macrorreticulado, Amberlite® XAD4, de elevada área superficial. O objetivo de utilizar este copolímero é ter mais uma opção de estrutura polimérica porosa e comparar seu desempenho com o dos copolímeros sintetizados.

A polimerização é uma reação de adição na qual a massa total de monômeros corresponde a 100% de rendimento. Assim, o rendimento da reação foi calculado por meio da

soma das massas de todos os monômeros utilizados na síntese em relação à massa de copolímero obtido. A Tabela 1 mostra o rendimento das reações. Os valores obtidos indicam que a incorporação dos monômeros foi elevada para o copolímero RB, enquanto que para os copolímeros RA e RC os rendimentos foram mais baixos o que pode explicado por perdas durante os processos de lavagem, purificação e transferência.

Tabela 1 – Rendimento das reações de polimerização

<b>Copolímero</b>	<b>Hep/Tol (v/v)</b>	<b>Rendimento (%)</b>
RA	90:10	70,2
RB	60:40	94,9
RC	0:100	87,5

Hep/Tol: proporções de n-heptano (Hep) e tolueno (Tol) na mistura diluente

#### 4.1.1. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA POROSA DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB

A porosidade dos copolímeros sintetizados usando diferentes composições diluentes (RA, RB e RC) e do copolímero comercial foi avaliada por meio de determinação da densidade aparente, área específica, volume de poros e diâmetro médio de poros. Os resultados são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Características físico-químicas dos copolímeros de Sty-DVB

<b>Copolímeros</b>	<b>Hep/Tol (v/v)</b>	<b>d<sub>ap</sub> (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>A (m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>V<sub>p</sub> (cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>D<sub>m</sub> (Å)</b>
RA	90:10	0,55	2,1	0,021	204,6
RB	60:40	0,69	n.d.	n.d.	n.d.
RC	0:100	0,69	n.d.	n.d.	n.d.
XAD	-	0,28	893,5	1,372	54,8

d<sub>ap</sub> = densidade aparente; A= área específica; V<sub>p</sub>= volume de poros fixos; D<sub>m</sub> = diâmetro médio de poros; Hep = n-heptano; Tol = tolueno; n.d. = não determinado

Os resultados da Tabela 2 mostram que o copolímero RA sintetizado utilizando o sistema diluente n-heptano/tolueno com proporção de 90:10 apresentou maior porosidade do que os outros copolímeros sintetizados. O copolímero RA apresentou menor valor de  $d_{ap}$  e maior valor de área específica.

Os copolímeros RB e RC apresentam características de porosidade bastante próximas, como o valor de  $d_{ap}$ . A área específica, o volume de poros fixos e o diâmetro médio de poros desses copolímeros são tão pequenos que não puderam ser determinados pelo método utilizado.

Esta diferença de porosidade está relacionada com o teor de diluentes n-heptano (não-solvante) e tolueno (solvante) empregados nas sínteses. O copolímero obtido com maior teor de n-heptano (RA) apresentou menor valor de densidade aparente, indicando que este é o copolímero de maior porosidade, uma vez que quanto maior o tamanho de poros, menor será a densidade aparente, pois menor será a massa ocupada por unidade de volume.

O baixo valor de densidade aparente para o copolímero XAD comprova que o mesmo é bastante poroso, sendo ainda mais poroso que o copolímero RA sintetizado.

A porosidade é definida pela análise do conjunto de valores de área específica e diâmetro médio de poros. A diminuição do poder solvante da mistura diluente resulta em aumento do diâmetro médio do poro do copolímero. De um modo geral, quando a área específica diminui observa-se um aumento do diâmetro, e quando aumenta o volume médio de poros ocorre uma diminuição no valor de densidade aparente (RABELO, 1994; TEIXEIRA, 2001). Às vezes, estas relações não são observadas devido à natureza dos poros não ser uniforme, uma vez que estes podem ser cilíndricos com profundidades variadas ou podem ser cônicos ou apresentar o diâmetro de abertura menor do que na sua extensão (TEIXEIRA, 2001).

As Figuras 28, 29 e 30 apresentam as micrografias de microscopia ótica dos copolímeros RA, RB e RC, respectivamente, no aumento de 75 x. Como pode ser observado, todos os copolímeros sintetizados apresentaram morfologia esférica. Cabe ressaltar que ocorreu coalescência das partículas, como pode ser notado nas imagens. Algumas pérolas dos copolímeros formados apresentam-se aglomeradas umas às outras. Foram utilizados agentes estabilizadores de suspensão (gelatina e 2-hidroxietilcelulose) nas reações de polimerização, mas os mesmos não conseguiram diminuir a tensão interfacial entre as gotas de monômero e a água, o que promoveria assim a dispersão das gotas e evitaria a adesão de partículas parcialmente polimerizadas durante o curso da reação.



Figura 28 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RA – aumento de 75 x



Figura 29 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RB – aumento de 75 x



Figura 30 – Micrografia de microscopia ótica do copolímero RC – aumento de 75 x

O copolímero RA, obtido a partir de uma mistura dos diluentes n-heptano e tolueno (90:10), apresentou pérolas de aspecto opaco a translúcido. Como o copolímero RA é mais poroso do que os outros dois, sua estrutura é heterogênea, possuindo duas fases distintas constituídas de aglomerados com poros, que atuam como refratoras da luz resultando em uma aparência opaca (Figura 29) ao contrário das estruturas homogêneas características de copolímero do tipo gel que apresentam uma só fase, o que permite a passagem da luz, conferindo transparência ao material. Para o copolímero RB, obtido a partir de uma mistura dos diluentes n-heptano e tolueno (60:40), são observadas pérolas translúcidas. Enquanto que, quando foi utilizado somente o tolueno como diluente (solvente com elevado poder solvatante), o copolímero obtido (RC) apresentou pérolas brilhantes e transparentes.

A microscopia eletrônica de varredura é uma valiosa ferramenta para a avaliação da estrutura porosa dos copolímeros. Essa técnica possibilita a visualização do tamanho e da distribuição dos agregados de microesferas na superfície das pérolas dos copolímeros e a avaliação de aspectos da textura, rugosidade e integridade física do material. Normalmente, quanto mais porosa a estrutura do copolímero, maior é a irregularidade da superfície externa e a heterogeneidade da estrutura interna da pérola (RIQUEZA, 2004). As Figuras 31, 32 e 33 apresentam as micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos copolímeros RA, RB e RC, respectivamente, em uma magnificação de 350 x.

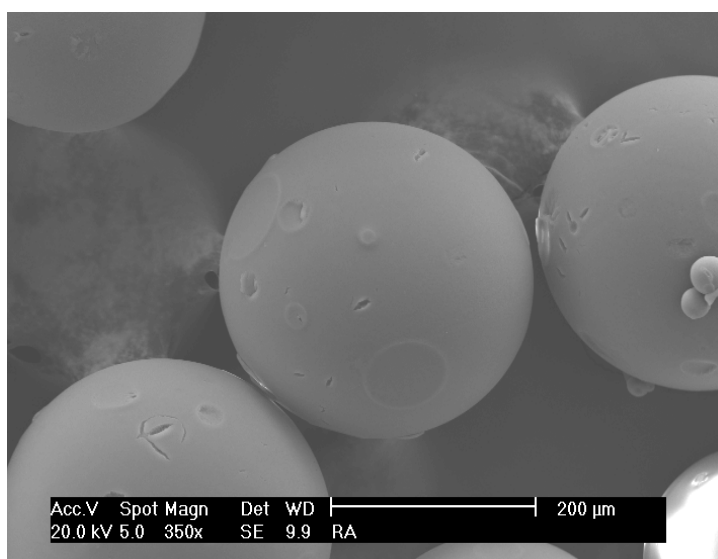


Figura 31 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RA – magnificação de 350 x

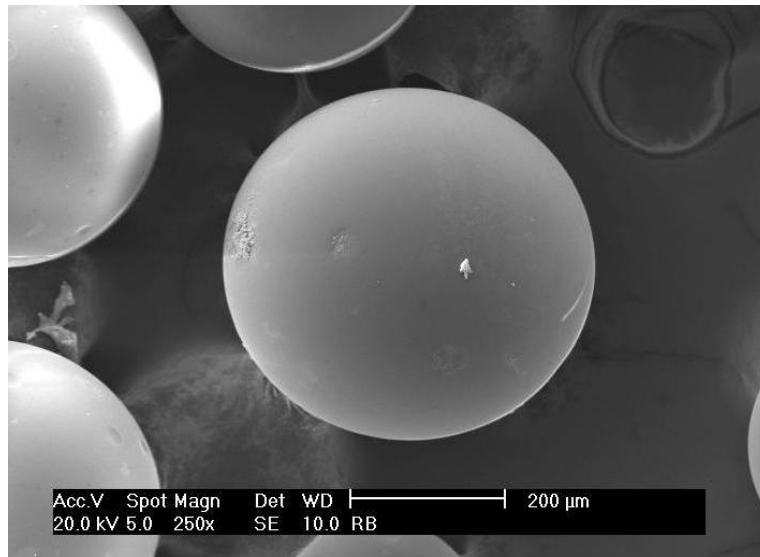


Figura 32 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RB –  
magnificação de 350 x

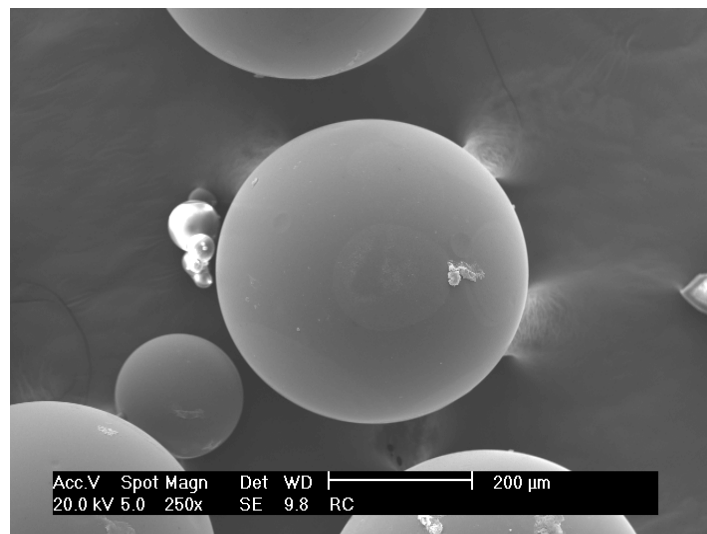


Figura 33 – Micrografia de microscopia eletrônica de varredura do copolímero RC –  
magnificação de 350 x

O copolímero RA apresentou superfície externa menos homogênea apresentando algumas fendas como pode ser visualizado nas Figuras 31 e 34 (a). Observa-se que as superfícies externa e interna são rugosas, características de material de tamanho de poros grandes, como pode ser observado nas Figuras 34 (a) e (b).

Na imagem do copolímero RB, observa-se que o mesmo ainda apresenta rugosidade nas suas superfícies externa e interna, mas comparando-se com o copolímero RA é uma rugosidade menos acentuada, como pode ser verificado nas Figuras 34 (c) e (d).

O copolímero RC apresentou as superfícies externa e interna homogêneas. Observa-se uma superfície externa lisa, com poros pequenos e regularmente distribuídos no seu interior, como mostra as micrografias das Figuras 34 (e) e (f).

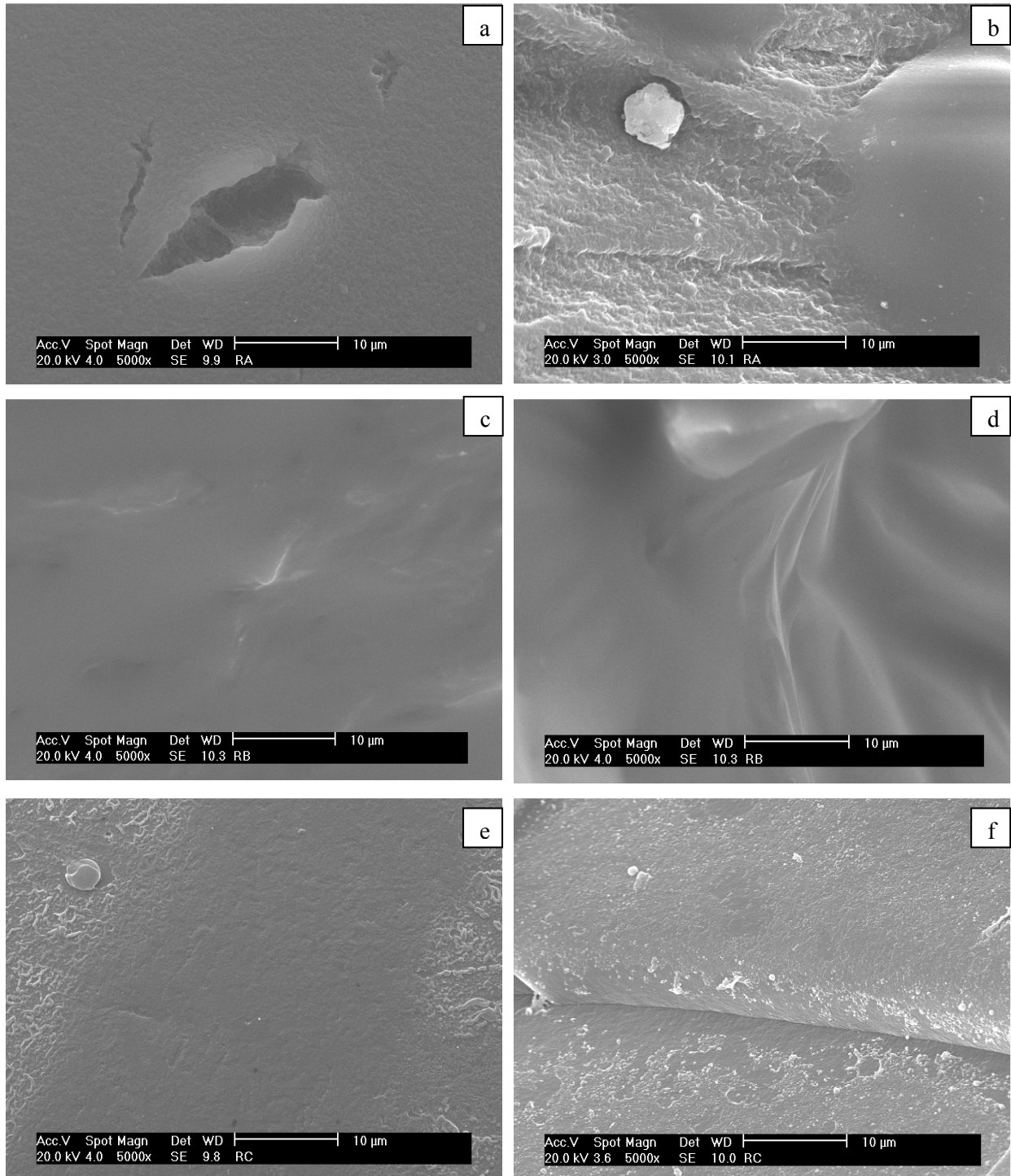


Figura 34 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos copolímeros RA [morfologia da superfície externa (a) e interna (b)], RB [morfologia da superfície externa (c) e interna (d)], e RC [morfologia da superfície externa (e) e interna (f)] – magnificação de 5000x



O grau de inchamento de copolímeros de estireno e divinilbenzeno em solventes de diferentes afinidades pelo polímero oferece uma ideia quantitativa da rigidez da cadeia polimérica e do teor de parte gel que compõe o material.

A Tabela 3 apresenta os resultados dos graus de inchamento dos copolímeros de Sty-DVB nos solventes: 1,2-dicloroetano, 1,4-dioxano, n-heptano, tolueno e água. O grau de inchamento de um copolímero pode ser avaliado para qualquer solvente. A escolha do 1,2-dicloroetano e do 1,4-dioxano como solventes deveu-se ao fato dos mesmos serem utilizados como solventes para as reações de modificações nos copolímeros.

Tabela 3 – Grau de inchamento dos copolímeros de Sty-DVB

<b>Copolímeros</b>	<b>Hep/Tol (v/v)</b>	<b>I<sub>1,2-dicloroetano</sub> (%)</b>	<b>I<sub>1,4-dioxano</sub> (%)</b>	<b>I<sub>tolueno</sub> (%)</b>	<b>I<sub>n-heptano</sub> (%)</b>
RA	90:10	233	217	nd	nd
RB	60:40	217	143	93	0
RC	0:100	217	130	140	0
XAD	-	50	33	47	38

nd: não determinado

Os copolímeros apresentaram maiores valores de inchamento em bons solventes (1,2-dicloroetano, 1,4-dioxano e tolueno). Estes solventes, por possuírem bastante afinidade pelos copolímeros de Sty-DVB, conseguem preencher os poros e inchar também a sua parte gel. O inchamento em um bom solvente para o polímero, ocorre devido à solvatação dos núcleos, das microesferas e de seus aglomerados e também das cadeias internucleares. Enquanto que os menores valores de inchamento em mau solvente (n-heptano) que possui baixa afinidade pelos copolímeros, devem-se somente ao preenchimento dos poros fixos e um pequeno inchamento pela solvatação das cadeias lineares internucleares. A diferença entre os graus de inchamento nesses dois tipos de solventes determina o quanto o material possui de parte gel.

Materiais que possuem uma maior fração gel, como é o caso dos copolímeros sintetizados, tendem a apresentar valores mais altos de inchamento em bons solventes. As moléculas de solvente se difundem para o interior das pérolas afastando as cadeias poliméricas (solvatação), resultando na expansão de volume do polímero, devido ao inchamento dos núcleos poliméricos.

Dentre os copolímeros estudados, o copolímero XAD apresentou baixos valores de grau de inchamento em todos os solventes empregados. Esses menores valores comprovam

que o copolímero XAD é bastante poroso e macrorreticulado, apresentando muitas ligações cruzadas. Em contato com os solventes, só houve o preenchimento dos poros das pérolas sem ocorrer expansão volumétrica das cadeias, pois as mesmas não podem se expandir devido ao alto grau de reticulação que torna sua estrutura rígida.

Os resultados de densidade aparente, grau de inchamento, área específica, diâmetro médio de poro e volume de poro, além das microscopias ótica e eletrônica de varredura indicam que as condições de síntese utilizadas levaram, portanto, à obtenção de copolímeros com diferentes características porosas.

#### **4.1.2. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB**

A caracterização dos copolímeros sintetizados foi realizada de forma qualitativa, empregando-se a espectrometria de infravermelho, cujo objetivo foi identificar as bandas de absorção características destes materiais. Na Figura 35, são observados os espectros de absorção na região do infravermelho dos três copolímeros de Sty-DVB sintetizados com porosidades diferentes (RA, RB e RC) que apresentaram as bandas de absorção descritas na Tabela 4 (SILVERSTEIN & WEBSTER, 2000).

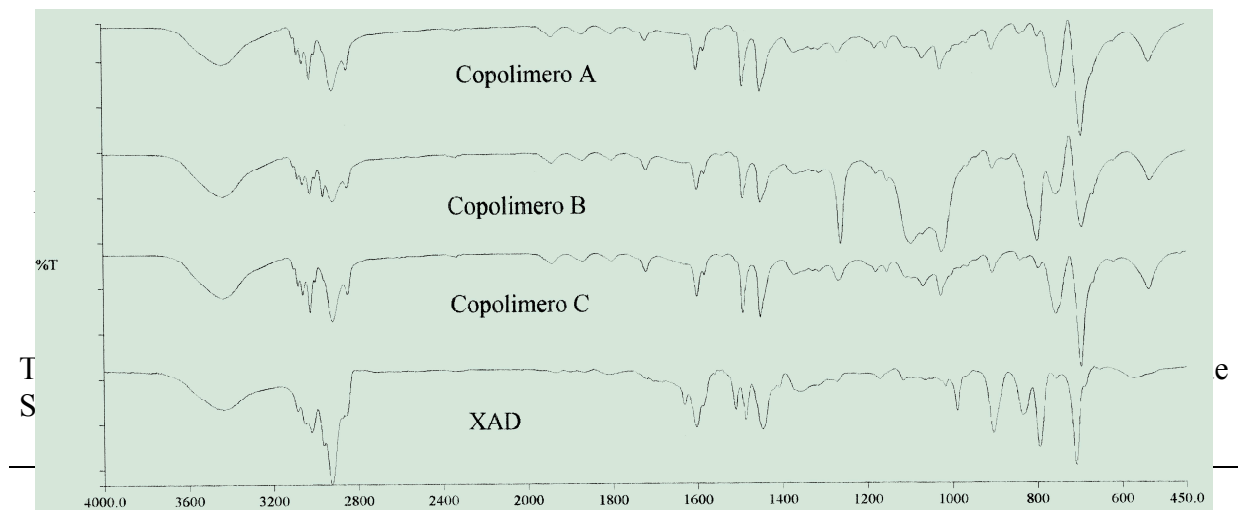
As mesmas bandas foram observadas nos espectros dos três copolímeros, pois os mesmos são constituídos dos mesmos grupamentos químicos e tipos de ligação, diferindo somente na porosidade. Enquanto que para o copolímero XAD, são observadas bandas características de grupo carbonila, indicando que este copolímero contém outros grupos funcionais na sua estrutura.

RA

RB

RC

XAD XAD



cm <sup>-1</sup>	δ (OH)
3436	
3100 a 3000	δ (C-H) de anel aromático
2926	v <sub>a</sub> (C-H) do grupo CH <sub>2</sub>
2853	v <sub>s</sub> (C-H) do grupo CH <sub>2</sub>
2000 a 1650	Harmônicas
1600 a 1585	δ (C=C) de anel aromático
1500 a 1400	
1300 a 1000	γ <sub>p</sub> (C-H) de anel aromático
904	γ <sub>fp</sub> do grupo vinil
900 a 675	γ <sub>fp</sub> (C-H) de anel aromático
600 a 420	γ <sub>fp</sub> (C=C) de anel aromático

δ = deformação axial; γ = deformação angular; v<sub>a</sub> = estiramento assimétrico; v<sub>s</sub> = estiramento simétrico; p = no plano; fp = fora do plano

### 4.1.3. ESTABILIDADE TÉRMICA DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB

A estabilidade térmica dos copolímeros de Sty-DVB foi avaliada por termogravimetria (TG). A análise termogravimétrica é definida como um processo contínuo que envolve a medida da variação de massa de uma amostra em função da temperatura (varredura de temperatura) (LUCAS *et al.*, 2001). Os resultados dessa análise mostram que os copolímeros sintetizados e o copolímero comercial apresentaram apenas um estágio de degradação (Figura 36).

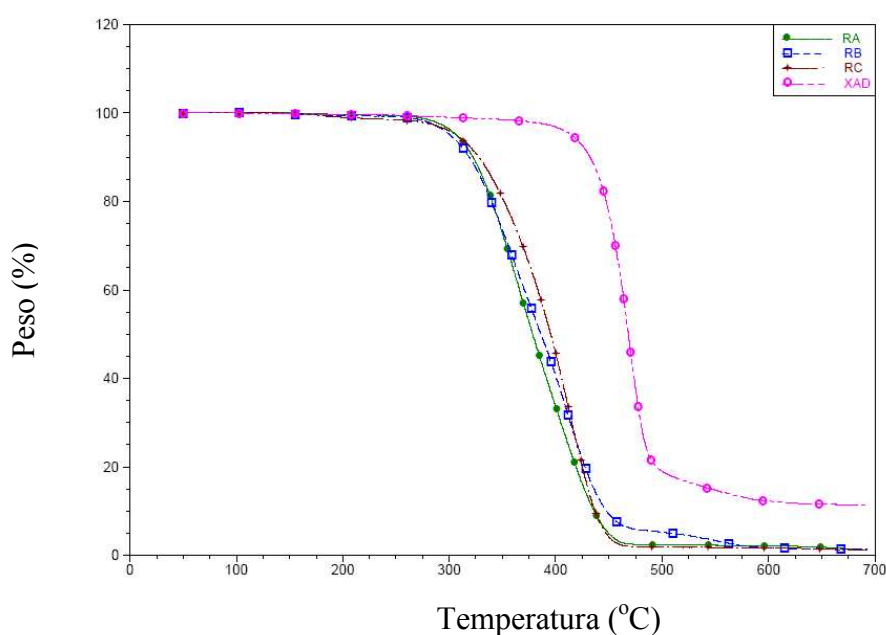


Figura 36 – Curvas de TGA dos copolímeros de Sty-DVB

A Tabela 5 apresenta os valores das temperaturas de degradação obtidas das curvas de TGA para os copolímeros não modificados.

Tabela 5 – Características térmicas dos copolímeros de Sty-DVB

Copolímeros	$T_{on\ set}$ (°C)	$T_d$ (°C)	Teor de resíduo (%)
RA	318,5	365,5	1,25
RB	322,6	362,8	1,40
RC	349,9	413,8	1,16
XAD	442,4	469,7	11,34

$T_{on\ set}$  = temperatura inicial de degradação;  $T_d$  = temperatura de degradação na derivada

As temperaturas iniciais de degradação ( $T_{onset}$ ) para os copolímeros sintetizados foram bastante próximas, sendo um pouco menor para o copolímero RA que é um pouco mais poroso do que os outros dois (Tabela 5). O copolímero XAD é o mais poroso entre todos os copolímeros, mas o mesmo iniciou a sua degradação em temperaturas mais elevadas, porque, nesse caso, o seu grau de reticulação, que é mais elevado do que os outros copolímeros, está influenciando a sua degradação. O alto grau de reticulação torna sua estrutura mais rígida fazendo com que o material apresente maior resistência térmica comparado aos outros três. As curvas de TGA/DTG individuais para cada amostra encontram-se no Anexo.

Para os copolímeros RA, RB e RC, o teor de material inorgânico não degradado que corresponde a coque e resíduos inorgânicos foi muito pequeno, o que significa que 99% do material que foi degradado era orgânico. Os valores bem próximos de teor de resíduo mostram que os copolímeros sintetizados apresentam a mesma composição química.

## **4.2. FUNCIONALIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS DE STY-DVB COM GRUPOS HIDROXILA FENÓLICA**

De acordo com referências da literatura (KENAWY *et al.*, 2007; JEONG *et al.*, 2001, 2002; PARK *et al.*, 2001; NONAKA *et al.*, 1997; NAYAKA & LENKA, 1996), polímeros contendo grupos hidroxila fenólica exibem atividade bactericida. Dessa forma, para obter polímeros com esses grupos, procurou-se estabelecer a seguinte metodologia para incorporação dos grupos hidroxila fenólica aos copolímeros de Sty-DVB. A funcionalização dos copolímeros foi realizada através da reação de nitração, seguida da reação de redução do grupo nitro a amino e posterior hidrólise do grupo sal de diazônio.

Após o processo de funcionalização dos copolímeros de Sty-DVB por meio da reação de nitração, foi possível observar uma mudança na coloração das pérolas dos copolímeros, que eram brancas e passaram a apresentar uma coloração caramelada, evidenciando a ocorrência da reação. Nessa reação, utilizou-se 1,2-dicloroetano como solvente de inchamento dos copolímeros. Esse solvente teve a função de inchar os núcleos poliméricos, expandindo os poros, facilitando assim o acesso do agente de nitração aos anéis benzênicos internos da matriz polimérica. A Figura 37 mostra uma representação esquemática da reação de nitração.

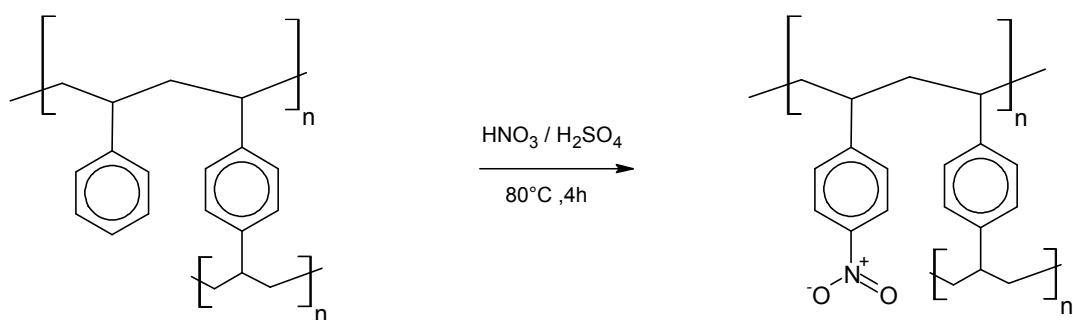


Figura 37 – Representação esquemática da reação de nitração

As modificações químicas dos polímeros foram acompanhadas qualitativamente por meio da técnica de espectrometria na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). O acompanhamento das reações de modificação dos polímeros foi feito pela observação do surgimento de bandas de absorção características dos grupos inseridos e pelo desaparecimento das bandas dos grupos precursores.

Através da análise de FTIR, observou-se que a reação de nitração foi bem sucedida, devido à presença de algumas bandas de absorção que são características do grupo  $-\text{NO}_2$  em  $1560\text{ cm}^{-1}$  e  $1345\text{ cm}^{-1}$ , correspondentes às deformações axiais assimétrica e simétrica do grupo  $-\text{NO}_2$ . Foi também observada uma banda em  $837\text{ cm}^{-1}$  atribuída à deformação axial da ligação C-N (Figura 38).

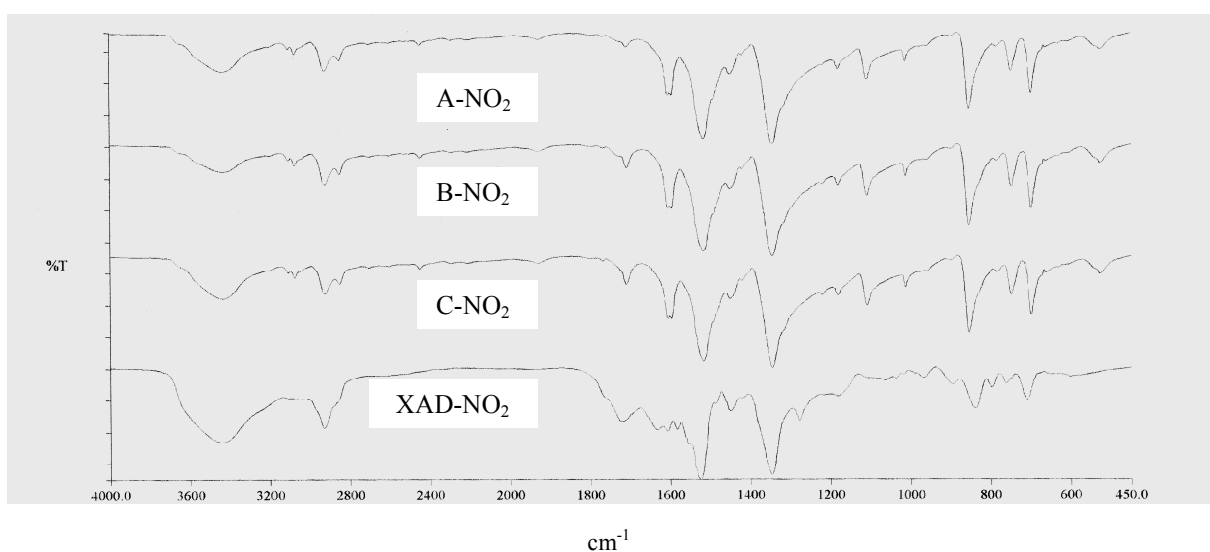


Figura 38 – Espectros de absorção na região do infravermelho dos copolímeros nitrados

Os copolímeros nitrados sofreram um processo de modificação por meio da reação de redução do grupo nitro a amino. Após este processo, foi possível observar uma mudança na coloração das pérolas, que apresentavam uma coloração caramelada e passaram a apresentar uma coloração avermelhada, evidenciando a ocorrência da reação. A Figura 39 mostra uma representação esquemática da reação de redução.

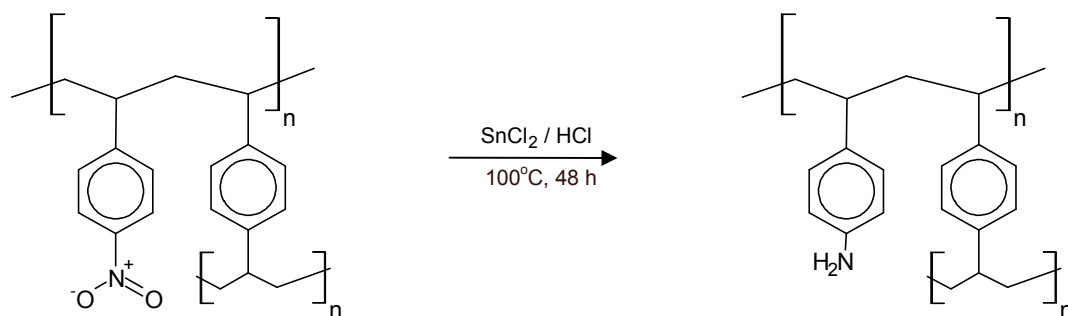


Figura 39 – Representação esquemática da reação de redução

Através da análise de espectrometria de infravermelho, observou-se que a reação de redução foi bem sucedida, devido à presença de algumas bandas de absorção que são características do grupo -NH<sub>2</sub> na região de 3350 a 3150 cm<sup>-1</sup> referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica. Bandas de deformação angular foram observadas na região de 1650 a 1580 cm<sup>-1</sup>. Foram também observadas bandas na região de 1340 a 1250 cm<sup>-1</sup> atribuídas às deformações axiais da ligação C-N (Figura 40).

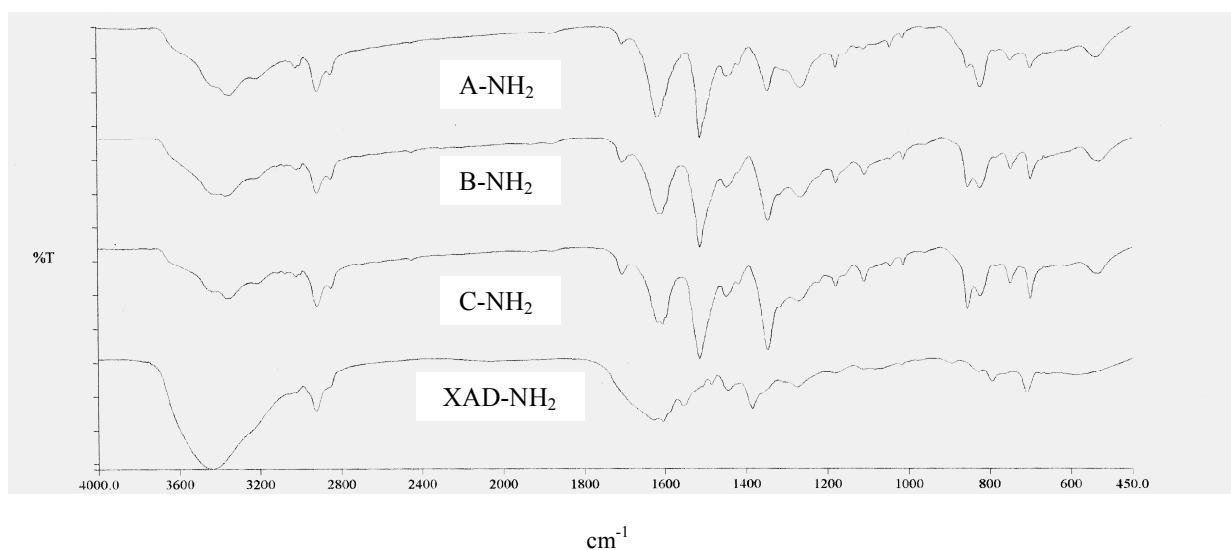


Figura 40 – Espectro de absorção na região do infravermelho dos copolímeros modificados pela reação de redução

Após a reação de redução do grupo nitro a amino, foi realizada a reação de diazotização dos copolímeros seguida de reação de hidrólise do grupo sal de diazônio, cuja representação esquemática encontra-se na Figura 41. O espectro dos copolímeros contendo grupos hidroxila fenólica exibiu bandas largas na região de 3550 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ . Foram observadas bandas na região de 1420 a 1330  $\text{cm}^{-1}$  referentes à deformação angular da ligação O-H e na região de 1260 a 1000  $\text{cm}^{-1}$  referentes à deformação axial da ligação C-O, respectivamente (Figura 42).

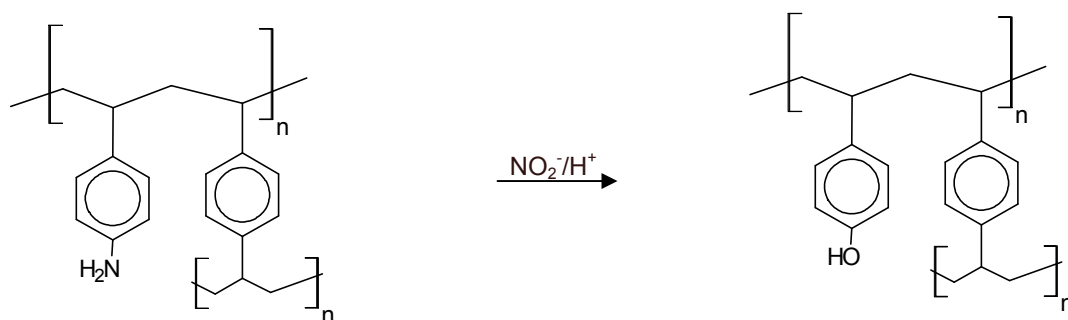


Figura 41 – Representação esquemática da reação de hidrólise

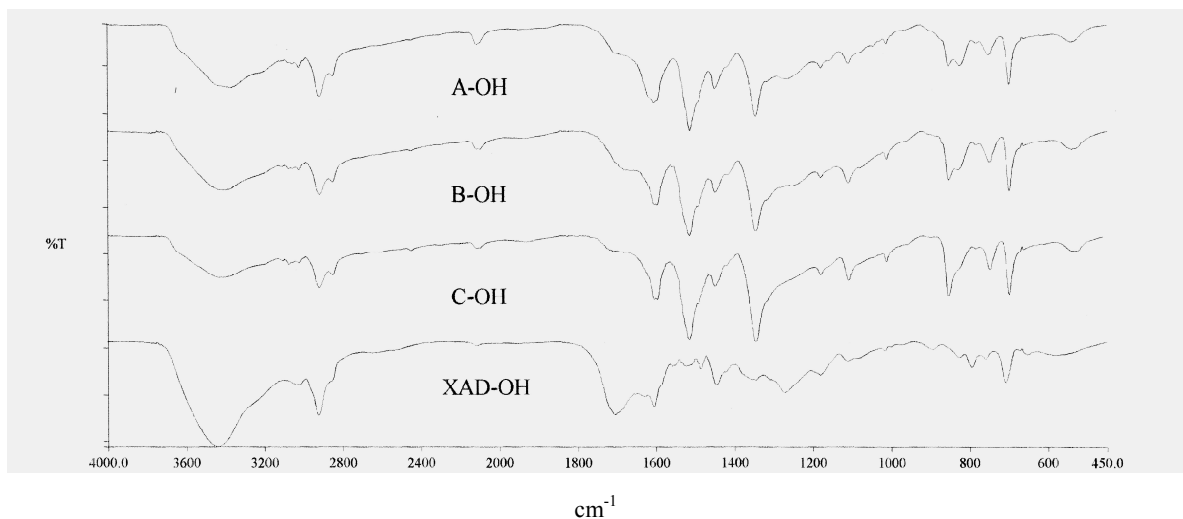


Figura 42 – Espectro de absorção na região do infravermelho dos copolímeros modificados pela reação de hidrólise do grupo sal de diazônio



O aspecto quantitativo das reações de modificação foi avaliado pelos resultados de análise elementar dos copolímeros. Através da determinação da composição química dos copolímeros de partida e dos copolímeros modificados, foi possível comprovar de forma quantitativa o sucesso das reações de modificação. A Tabela 6 mostra os resultados da análise elementar dos copolímeros não-modificados e modificados.

Tabela 6 – Análise elementar dos copolímeros

<b>Copolímero</b>	<b>Teor de C (%)</b>	<b>Teor de H (%)</b>	<b>Teor de N (%)</b>
RA	88,63	7,61	0,18
A-NO <sub>2</sub>	62,55	4,45	9,27
A-NH <sub>2</sub>	78,51	6,88	10,91
RB	86,00	7,65	0,17
B-NO <sub>2</sub>	61,12	4,44	9,25
B-NH <sub>2</sub>	63,38	4,90	9,26
RC	89,73	7,54	0,19
C-NO <sub>2</sub>	62,21	4,56	9,16
C-NH <sub>2</sub>	63,17	4,43	9,19

Os valores de teor de nitrogênio obtidos da análise elementar confirmam que as reações de modificações ocorreram. Os copolímeros nitrados apresentaram valores de teor de nitrogênio significativos. Para os copolímeros contendo o grupamento –NH<sub>2</sub> os valores de teor relativo de nitrogênio foram maiores do que os copolímeros nitrados, o que evidencia a ocorrência da reação de redução do grupo nitro a amino.

#### **4.2.1. ESTABILIDADE TÉRMICA DOS COPOLÍMEROS MODIFICADOS**

Os copolímeros modificados foram caracterizados por análise termogravimétrica para avaliar sua estabilidade térmica e comparar com a estabilidade dos copolímeros originais. As curvas de TGA realizadas para os copolímeros RA, RB, RC e XAD originais e modificados podem ser observadas nas Figuras 43, 44, 45 e 46 , respectivamente. As curvas de TGA e DTG individuais para cada copolímero modificado encontram-se no Anexo.

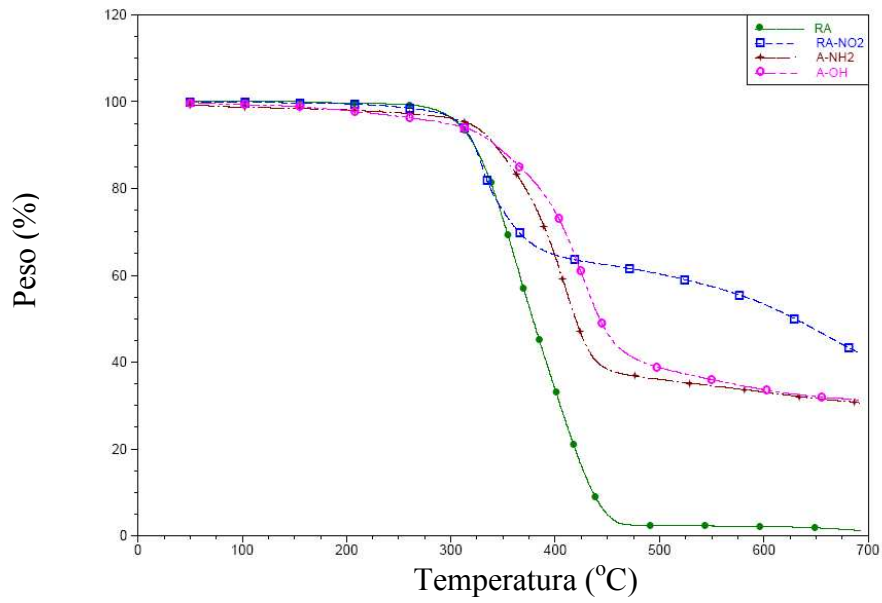


Figura 43 – Curvas de TGA para o copolímero original (RA) e os copolímeros modificados (A-NO<sub>2</sub>, A-NH<sub>2</sub>, A-OH)

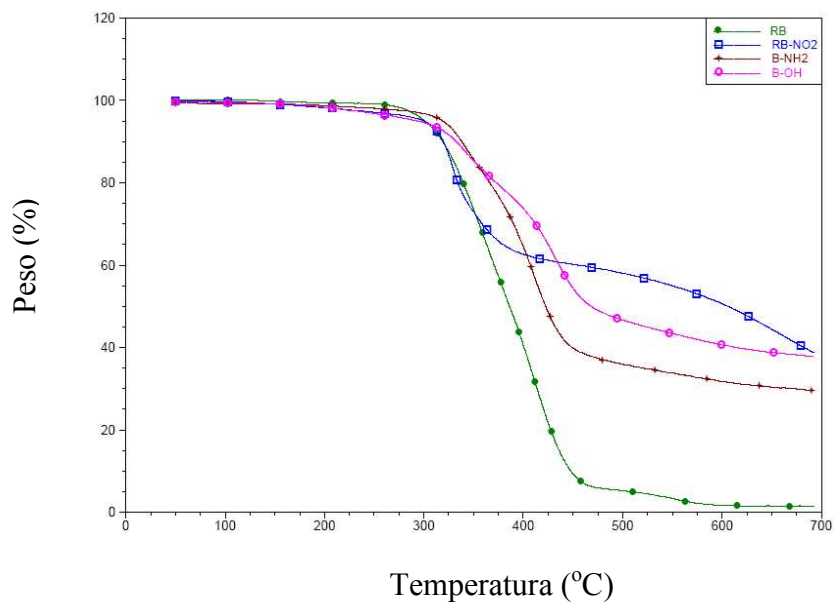


Figura 44 – Curvas de TGA para o copolímero original (RB) e os copolímeros modificados (B-NO<sub>2</sub>, B-NH<sub>2</sub>, B-OH)

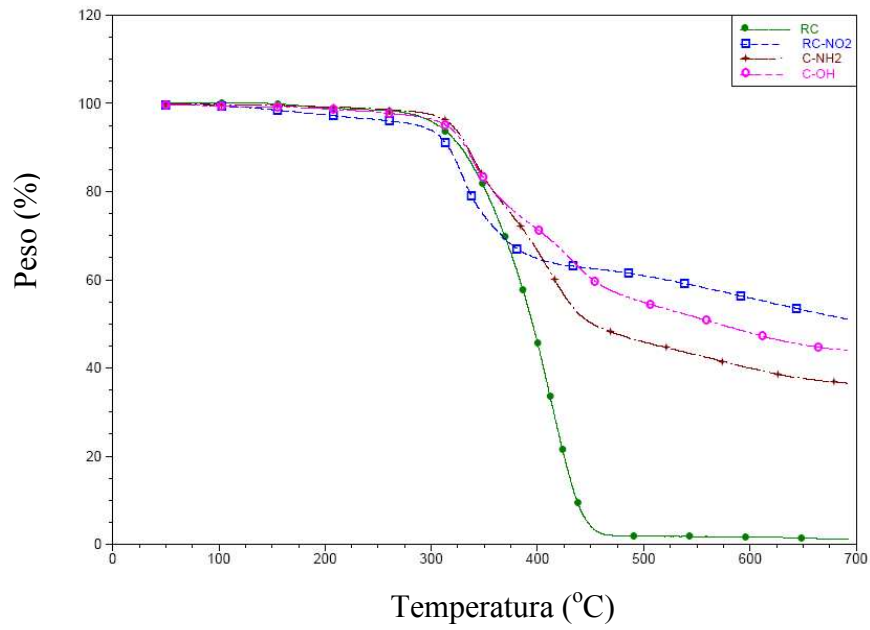


Figura 45 – Curvas de TGA para o copolímero original (RC) e os copolímeros modificados (C-NO<sub>2</sub>, C-NH<sub>2</sub>, C-OH)

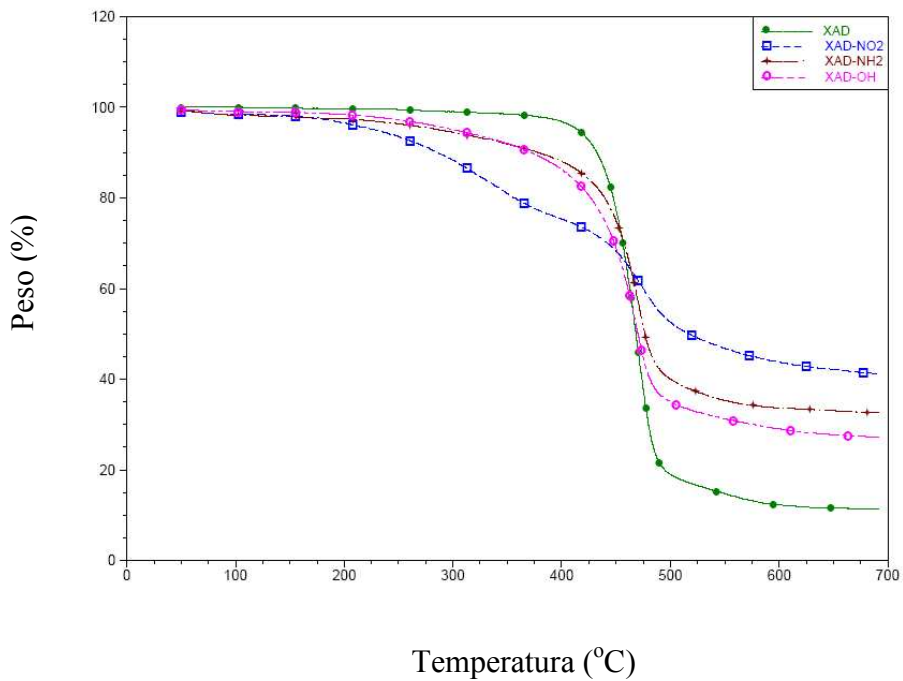


Figura 46 – Curvas de TGA para o copolímero original (XAD) e os copolímeros modificados (XAD-NO<sub>2</sub>, XAD-NH<sub>2</sub>, XAD-OH)

As curvas de TGA mostradas acima e os resultados apresentados na Tabela 7 mostram claramente que os perfis de decomposição térmica dos copolímeros modificados são bastante diferentes quando comparados com os dos copolímeros não-modificados. Esses resultados revelam que a estabilidade térmica dos copolímeros foi significativamente alterada pelas reações de modificação, demonstrando que a introdução dos grupos  $-NO_2$ ,  $-NH_2$  e  $-OH$  alterou a estabilidade térmica dos copolímeros originais.

Tabela 7 – Características térmicas dos copolímeros antes e após as modificações

<b>Copolímeros</b>	<b>T<sub>onset</sub></b> <b>(°C)</b>	<b>Td<sub>1</sub></b> <b>(°C)</b>	<b>Td<sub>2</sub></b> <b>(°C)</b>	<b>Teor de</b> <b>resíduo (%)</b>
RA	318,5	365,5	-	1,25
RB	322,6	362,2	-	1,40
RC	349,9	413,8	-	1,16
XAD	442,4	469,7	-	11,34
A-NO <sub>2</sub>	315,1	333,7	-	50,53
B-NO <sub>2</sub>	314,2	332,9	-	42,66
C-NO <sub>2</sub>	314,3	332,7	-	45,80
XAD-NO <sub>2</sub>	444,8	474,2	-	41,11
A-NH <sub>2</sub>	358,2	410,1	-	30,63
B-NH <sub>2</sub>	350,7	338,1	410,2	29,53
C-NH <sub>2</sub>	316,7	338,1	415,1	36,54
XAD-NH <sub>2</sub>	437,2	470,6	-	32,55
A-OH	372,3	425,3	-	31,31
B-OH	315,0	338,4	434,0	37,87
C-OH	315,6	337,2	435,5	44,06
XAD-OH	427,4	468,9	-	27,15

T<sub>on set</sub> = temperatura inicial de degradação; Td = temperatura de degradação na derivada

As análises termogravimétricas também são uma ferramenta para confirmar que as reações de modificação foram bem sucedidas, pois se o perfil de decomposição mudou é porque houve a inserção dos grupos característicos das reações de modificação na matriz polimérica.

A partir das curvas de TGA apresentadas anteriormente e dos dados da Tabela 8 pode-se observar a diferença no comportamento térmico dos copolímeros de acordo com o grupo funcional presente na sua estrutura. Os copolímeros nitrados apresentaram menor estabilidade térmica do que os copolímeros originais, pois os mesmos iniciaram sua degradação em temperaturas mais baixas ( $T_{onset}$ ) do que os copolímeros originais e estes valores de temperatura foram bem próximos para os três tipos de copolímero (A-NO<sub>2</sub>, B-NO<sub>2</sub> e C-NO<sub>2</sub>).

Entre os copolímeros contendo grupo -NH<sub>2</sub>, os copolímeros A-NH<sub>2</sub>, B-NH<sub>2</sub> e C-NH<sub>2</sub> apresentaram maior estabilidade térmica do que os copolímeros de partida, pois os mesmos começaram a ser degradados em temperaturas mais altas ( $T_{onset}$ ), também pode ser observado que a curva de degradação dos copolímeros B-NH<sub>2</sub> e C-NH<sub>2</sub> foi bastante diferente, mostrando que a decomposição ocorreu em duas etapas.

Fazendo o mesmo tipo de análise em relação aos copolímeros contendo grupos hidroxila fenólica, verifica-se que o copolímero A-OH foi mais estável termicamente do que o copolímero original (RA) e que os copolímeros B-OH e C-OH foram menos estáveis, suas temperaturas iniciais de degradação foram bem próximas entre si e os mesmos foram degradados em dois estágios.

Os copolímeros modificados derivados do copolímero XAD apresentaram comportamento diferenciado em relação aos copolímeros modificados derivados dos copolímeros sintetizados. Esse comportamento indica que além das reações de modificação pretendidas podem ter ocorrido outras reações químicas com os grupos funcionais presentes nos copolímero XAD (identificados pelo espectro de FTIR) que não são os mesmos grupamentos químicos presentes nos copolímeros sintetizados. O copolímero XAD-NO<sub>2</sub> não apresentou alteração no seu comportamento térmico em relação ao copolímero matriz (XAD), as temperaturas iniciais de degradação para os dois copolímeros foram bem próximas. Enquanto que para os copolímeros XAD-NH<sub>2</sub> e XAD-OH são observadas menores temperaturas iniciais de degradação, o que indica que as modificações tornaram os materiais menos resistentes termicamente.

Pode-se observar também que, para todos os copolímeros modificados, ocorreu um aumento no teor de resíduo em relação aos copolímeros de partida.

### 4.3. IMPREGNAÇÃO DE PRATA NOS COPOLÍMEROS

Com o objetivo de potencializar o poder bactericida, os copolímeros modificados contendo os grupos  $-NH_2$  e  $-OH$  foram utilizados como suporte para a ancoragem das nanopartículas de prata. Esperava-se que os grupos presentes nos copolímeros fossem suficientemente complexantes para os íons  $Ag^+$ . As partículas de prata foram obtidas pela redução dos íons  $Ag^+$  empregando-se cloridrato de hidroxilamina como redutor (equação 7) e PVP como protetor de colóide. O PVP tem grande afinidade por metais, pois possui dois pontos de coordenação (N e O), permitindo a interação com os íons prata (ZHANG et al., 1996), como mostrado na Figura 47. Essa complexação pode causar um afastamento das partículas por estabilização estérea. Este protetor de colóide foi utilizado para conduzir a reação de redução dos íons  $Ag^+$  sobre a matriz polimérica de forma controlada.

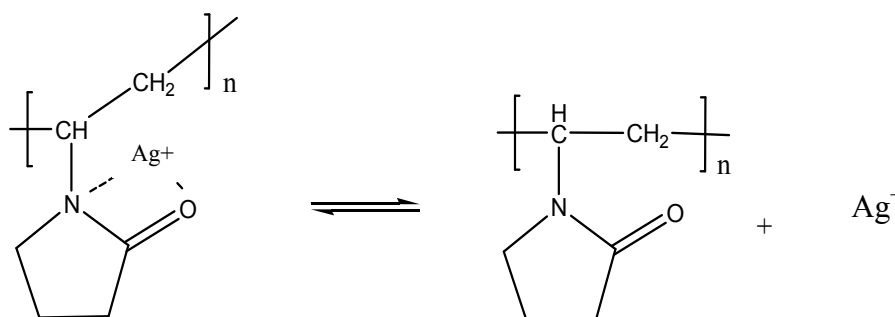
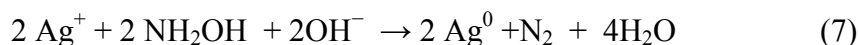


Figura 47 – Interação entre os íons  $Ag^+$  através do nitrogênio e oxigênio da molécula de PVP (COUTO, 2006)

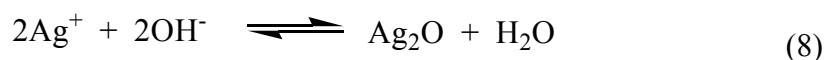
A redução foi conduzida em pH alcalino ( $pH = 12$ ), pois o potencial padrão de redução da hidroxilamina é mais baixo que o dos íons  $Ag^+$  nessa condição de pH (Tabela 8).

Tabela 8 – Potenciais padrão de redução da prata e da hidroxilamina em meio básico (CHOU & REN, 2000)

Reação química	$E^{\circ}/V$ vs. NHE à 25°C
$Ag^+ + 1e \rightarrow Ag^0$	- 0.8
$N_2 + 4H_2O + 2e \rightarrow 2 NH_2OH + 2OH^-$	- 1.055

CHOU & REN (2000) verificaram que a adição de íons  $OH^-$  tem um importante papel na reação de redução de íons metálicos. A presença de íons  $OH^-$  catalisa a reação de redução de íons metálicos, ou seja, os íons  $OH^-$  são capazes de diminuir a barreira energética da reação de redução. Quando íons  $OH^-$  estão presentes, a redução da prata aumenta espontaneamente e essa redução é proporcional à quantidade de íons  $OH^-$  adicionados ao sistema reacional conduzindo à precipitação de  $AgOH$  e, conseqüentemente, produzindo  $Ag_2O$ .

Quando somente  $NaOH$  é adicionado à solução aquosa de  $AgNO_3$ , obtém-se apenas um precipitado de  $Ag_2O$  puro. Entretanto, se um agente redutor é também adicionado, obtém-se prata pura. É possível que na fase inicial desse processo de síntese alguma pequena quantidade de  $Ag_2O$  possa ser formada como mostrado pela equação 8 :



Este precipitado de  $Ag_2O$  pode agir como um núcleo para produção imediata de prata coloidal, diminuindo a barreira energética de sua formação. O termo autocatálise foi usado por HUANG e colaboradores (1993) para descrever a redução de prata na presença de  $Ag_2O$  em meio alcalino. É possível que a redução dos íons  $Ag^+$  ocorra na superfície do  $Ag_2O$  inicialmente formado. Assim, para iniciar o processo de deposição do metal em materiais dielétricos e outros não-catalíticos (resinas poliméricas), é necessário que esta superfície seja modificada por meio da nucleação de  $Ag_2O$  formando núcleos catalíticos. Esse processo é conhecido como ativação de superfície (VASKELIS *et al.*, 2005).

A Tabela 9 apresenta o teor de prata nos copolímeros obtidos.

Tabela 9 – Teor de prata nos copolímeros

Copolímeros	Teor de prata (% m/m)*
A-NH <sub>2</sub> /Ag	1,22
B-NH <sub>2</sub> /Ag	4,95
C-NH <sub>2</sub> /Ag	3,62
XAD-NH <sub>2</sub> /Ag	5,87
A-OH/Ag	1,12
B-OH/Ag	1,29
C-OH/Ag	1,07
XAD-OH/Ag	6,93

\* determinado por titulação (erro = 0,1%)

Como pode ser observado pelos resultados apresentados, o teor de prata nos copolímeros dependeu do tipo de grupo funcional presente na estrutura polimérica usada como suporte. Os copolímeros XAD-NH<sub>2</sub>/Ag e XAD-OH/Ag originados do copolímero comercial apresentaram os maiores teores de prata entre todos os copolímeros estudados, sendo este teor maior para o copolímero XAD-OH/Ag. Entre os copolímeros impregnados originados dos copolímeros sintetizados, os maiores teores de prata foram obtidos para os copolímeros contendo o grupo –NH<sub>2</sub>. Esse resultado pode ser atribuído às diferenças na capacidade dos grupos –NH<sub>2</sub> e –OH de interagir com os íons Ag<sup>+</sup> formando ligações coordenadas. Essa diferença pode ser explicada pelo conceito ácido-base de Pearson (HSAB, *hard-soft acid-base*). Pearson classificou os ácidos e bases de Lewis em ácidos e bases duros e moles. As principais características dos ácidos e bases moles são o elevado tamanho, a baixa relação carga/raio e a alta polarizabilidade, enquanto que os ácidos e bases duros são pequenos e suas nuvens eletrônicas não sofrem distorções significativas (CUNHA *et al.*, 2007). Ácidos moles como os íons Ag<sup>+</sup> formam preferencialmente complexos de coordenação mais estáveis quando se ligam a bases moles. O íon OH<sup>-</sup> é considerado uma base dura e o grupo –NH<sub>2</sub> é tido como uma base de fronteira, ou seja, apresenta características intermediárias entre uma base mole e uma base dura. Dessa forma, os copolímeros contendo os grupos –NH<sub>2</sub> interagem melhor com os íons Ag<sup>+</sup> sendo melhores quelantes para os íons Ag<sup>+</sup> do que os copolímeros contendo o grupo –OH.

Os baixos teores de prata obtidos para os copolímeros A-OH/Ag, B-OH/Ag e C-OH/Ag também podem ser justificados pela provável baixa incorporação de grupos hidroxilas fenólicas durante a funcionalização dos copolímeros. Esses copolímeros, por serem menos porosos do que o copolímero XAD, podem ter alcançado menores graus de funcionalização.



As características de porosidade do suporte influenciam drasticamente a extensão das reações de modificação bem como a localização dos grupos funcionais, pois a reação de funcionalização de uma matriz sólida é controlada por processo difusivo (CUNHA *et al.*, 2007). Segundo SANTA MARIA e colaboradores (2007), a ancoragem das partículas de prata nas superfícies interna e externa das pérolas dos copolímeros é influenciada pela porosidade dos copolímeros. Um copolímero com estrutura porosa permite o acesso e a difusão de íons  $\text{Ag}^+$  e do agente redutor às regiões mais internas alcançando os grupos funcionais no interior das pérolas. Além de uma estrutura porosa favorável, a maior capacidade de complexação de um copolímero também é influenciada por um alto teor de grupos quelantes acessíveis (COUTINHO *et al.*, 1999; MONDAL & DAS, 2004). Isso justifica a maior incorporação de Ag observada para os copolímeros XAD-NH<sub>2</sub>/Ag e XAD-OH/Ag originados do copolímero comercial, que é o copolímero mais poroso utilizado neste estudo.

#### **4.4. IMPREGNAÇÃO DE PRATA EM CELULOSE BACTERIANA**

A preparação de compósitos BC/Ag<sup>0</sup> foi avaliada pela redução dos íons  $\text{Ag}^+$  na presença ou ausência de protetor de colóide. A fim de investigar a influência do tipo de protetor de colóide e de agente redutor, as reações de redução foram conduzidas nas mesmas condições (concentrações dos reagentes, temperatura, velocidade de adição do redutor e pH). Foram empregados três diferentes agentes redutores (hidrazina, hidroxilamina e ácido ascórbico) na presença ou não de protetor de colóide (PVP e gelatina).

As membranas BC/Ag<sup>0</sup> foram nomeadas de acordo com o agente redutor empregado.

Membranas homogêneas de coloração cinza foram obtidas em todas as reduções. A Figura 48 mostra imagens de MEV da membrana de celulose bacteriana pura e as membranas obtidas da redução do íon  $\text{Ag}^+$  com NH<sub>2</sub>OH, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> e C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O sem agente protetor de colóide.

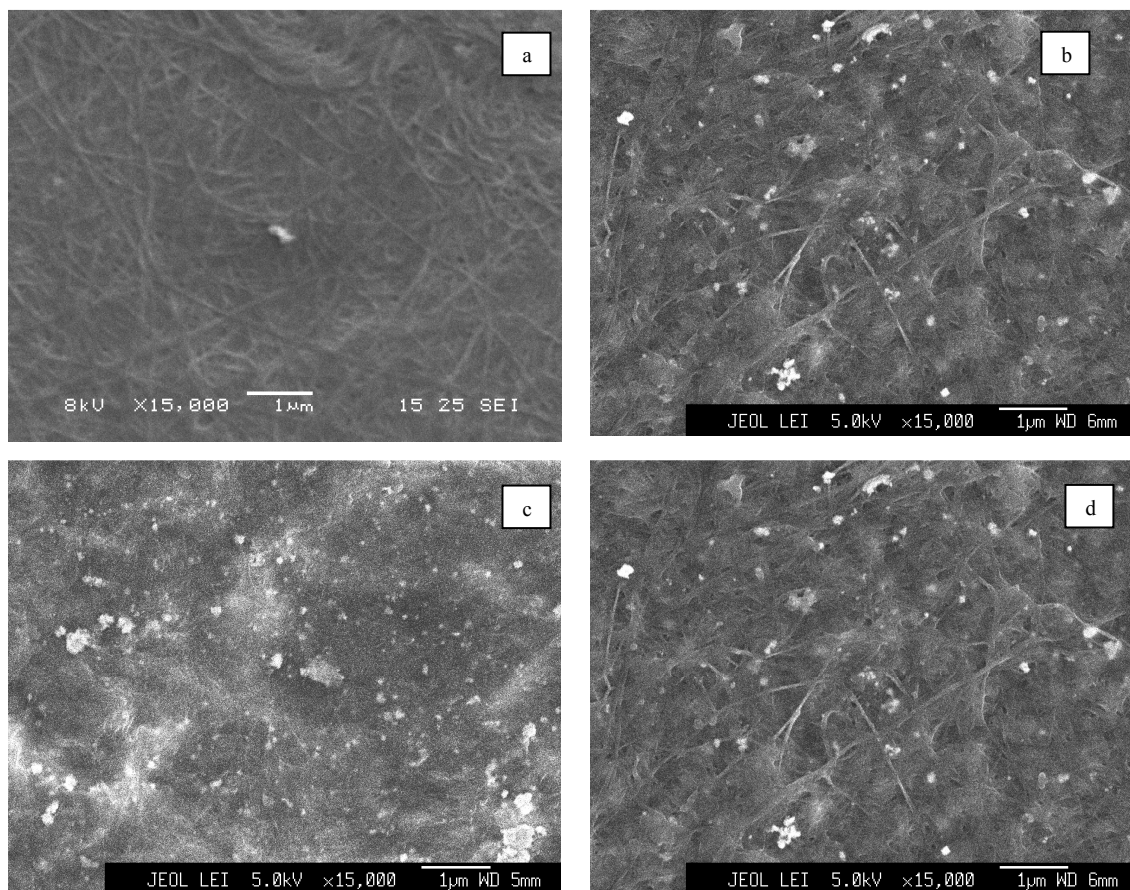


Figura 48 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura da BC pura (a) e dos compósitos BC/Ag<sup>0</sup> obtidos com (b) hidrazina; (c) hidroxilamina; (d) ácido ascórbico, todos sem protetor de colóide – magnificação de 15.000 x

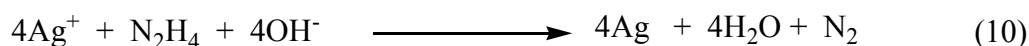
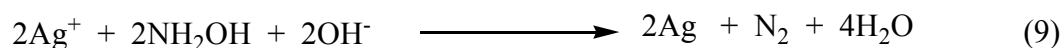
Todos os redutores empregados foram capazes de reduzir os íons Ag<sup>+</sup> a Ag<sup>0</sup> sob as condições reacionais estudadas neste trabalho. Os potenciais redox dos três agentes redutores listados na Tabela 10 são mais negativos do que o dos íons prata, o que sugere que o íon Ag<sup>+</sup> poderia ser reduzido a Ag<sup>0</sup> por qualquer um dos três agente redutores (em pH alcalino, em torno de 13).

Tabela 10 – Potenciais padrão de redução da prata e dos redutores em meio básico (CHOU & REN, 2000)

Reação química	$E^{\circ}/V$ vs. NHE à 25°C
$Ag^+ + 1e^- \rightarrow Ag^0$	- 0.8
$N_2 + 4H_2O + 4e^- \rightarrow N_2H_4 + 4OH^-$	- 1.16
$N_2 + 4H_2O + 2e^- \rightarrow 2NH_2OH + 2OH^-$	- 1.055
$C_6H_6O_6 + 2H_2O + 2e^- \rightarrow C_6H_8O_6 + 2OH^-$	- 0.847

$C_6H_8O_6$  = ácido ascórbico

De acordo com as equações 9, 10 e 11, o processo de obtenção das nanopartículas de prata segue as reações seguintes e é conduzido em meio aquoso:



Como mostrado na Figura 49, a celulose bacteriana é um polissacarídeo rico em átomos de oxigênio. Interações eletrostáticas podem acontecer entre os íons  $Ag^+$  e os átomos de oxigênio ricos em elétrons da matriz de celulose bacteriana. A Figura 49 mostra uma representação esquemática do procedimento de preparação de membranas de celulose bacteriana revestidas com nanopartículas de Ag.

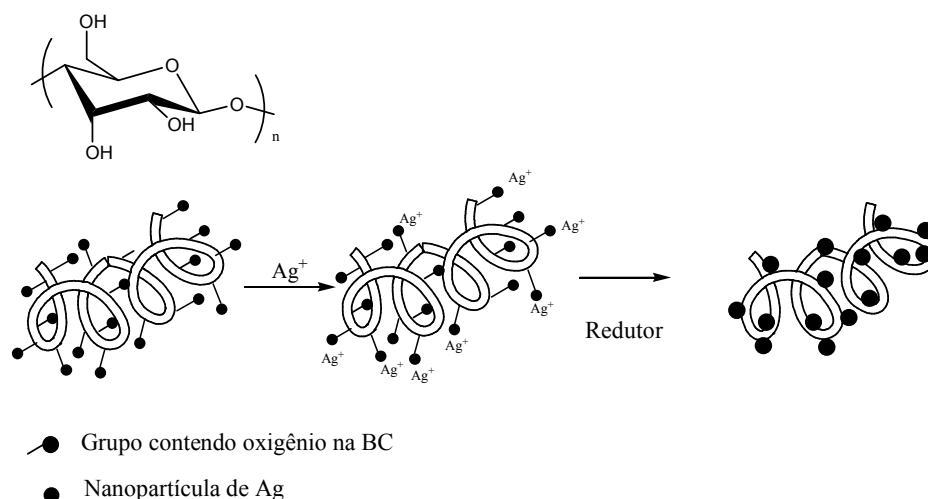


Figura 49 – Representação da produção de nanopartículas de Ag na estrutura da nanofibra de celulose bacteriana

A nanofibra de celulose carregada negativamente atrai os íons  $\text{Ag}^+$  via interações eletrostáticas e, assim os íons  $\text{Ag}^+$  são mantidos estáveis e uniformemente distribuídos na superfície da nanofibra de celulose. Quando as nanofibras de celulose contendo os íons  $\text{Ag}^+$  são imersas em uma solução de agente redutor na presença de um protetor de colóide (PVP ou gelatina), os íons  $\text{Ag}^+$  são reduzidos a partículas de  $\text{Ag}^0$ , que são estabilizadas nos sítios seletivos da superfície da celulose bacteriana sem coagularem (HE *et al.*, 2003).

#### 4.4.1. CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADAS COM PRATA

As nanopartículas de prata impregnadas em celulose bacteriana foram caracterizadas utilizando-se as técnicas de difração de raios-X, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura, cujos resultados são apresentados e discutidos a seguir.

#### 4.4.1.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

A técnica de difração de raios-X foi empregada para confirmar a formação das partículas de prata nas membranas de BC.

Difrações de raios-X de membranas de BC impregnadas com partículas de prata com e sem protetores de colóide (Figura 50) confirmam a formação das partículas de prata na membrana de BC. A fase cúbica da Ag foi claramente identificada dos picos de difração em 38,1; 44,3; 64,4 [planos cristalográficos (111) e (200), (220), respectivamente], indicando que as partículas de prata têm uma estrutura cúbica de face centrada (CFC).

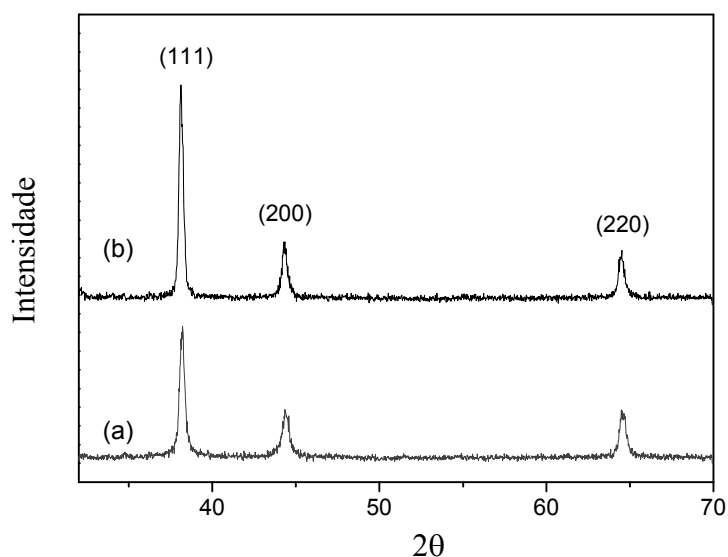


Figura 50 – Análise de difração de raios-X de: a) BC/Ag<sup>0</sup> preparada sem PVP, b) BC/Ag<sup>0</sup> preparada com PVP

#### 4.4.1.2. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

A Tabela 11 mostra os valores de tamanho médio das partículas de prata medidos por análise microscópica e os conteúdos de prata estimados dos resíduos obtidos da termogravimetria.

Tabela 11 – Teores de prata e tamanhos médios das partículas de prata nos compósitos BC/Ag

Compósito	Descrição das amostras	Ag (%) <sup>a</sup>	Varição de tamanho médio de partícula (nm) <sup>b</sup>
C0AA	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> sem protetor de colóide	25,0	70-100
C0HZ	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> sem protetor de colóide	22,4	> 100
C0HX	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> OH sem protetor de colóide	11,3	> 100
CGAA	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> e gelatina	19,6	50-70
CGHZ	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> e gelatina	4,9	40-60
CGHX	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> OH e gelatina	7,8	30-50
CPAA	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> e polivinilpirrolidona	6,0	20-50
CPHZ	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> e polivinilpirrolidona	4,9	80-100
CPHX	BC/Ag <sup>0</sup> obtida com NH <sub>2</sub> OH e polivinilpirrolidona	8,0	70-100

BC/Ag<sup>0</sup> = membrana baseada em celulose bacteriana contendo partículas de prata; C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> = ácido ascórbico;

<sup>a</sup>Estimado do resíduo da termogravimetria; <sup>b</sup>determinado por análise microscópica

De um modo geral, as partículas de prata obtidas na presença de protetores de colóide (principalmente com a gelatina) foram menores do que as obtidas sem protetores (COAA), (COHZ) e (COHX), indicando que estes agentes foram capazes de controlar o crescimento da partícula de prata. A presença de agentes protetores na síntese de nanopartículas em solução se faz necessária para estabilizar as partículas, evitando que elas se agreguem e cresçam descontroladamente (COUTO, 2006). Como mostrado na Tabela 12, partículas de prata de menores tamanhos foram obtidas quando a gelatina foi empregada do que com o PVP, indicando que a gelatina foi o melhor agente para controlar o tamanho das partículas. A proteção desempenhada pela gelatina no processo de formação das partículas de prata está relacionada à sua estrutura que contém muitos grupos –COOH e –NH<sub>2</sub>. Os pares de elétrons não ligantes dos átomos de oxigênio e nitrogênio podem ocupar dois orbitais sp dos íons prata para formar um complexo. Esse complexo de coordenação entre os íons prata e a gelatina promove uma nucleação das partículas. (YIWEI *et al.*, 2007; RUJITANAROJ *et al.*, 2008; ZHANG *et al.*, 1996)

A interação de moléculas orgânicas (PVP e gelatina) com os íons metálicos (coordenação) e a superfície metálica (fenômeno de sorção) produz uma camada coloidal

protetora, impedindo a aglomeração dessas partículas. É possível que não houvesse quantidade suficiente de PVP para recobrir toda a superfície das partículas. Por isso, não foi possível uma proteção adequada das partículas de prata para prevenir sua aglomeração.

#### 4.4.1.3. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As imagens de micrografias de MEV para os compósitos BC/Ag<sup>0</sup> obtidos sem protetores de colóide (Figura 51) revelam nanopartículas de prata não esféricas e não homogêneas ancoradas nas microfibrilas da BC. Estas imagens sugerem que BC é capaz de estabilizar nanopartículas de prata em sua nanoestrutura.

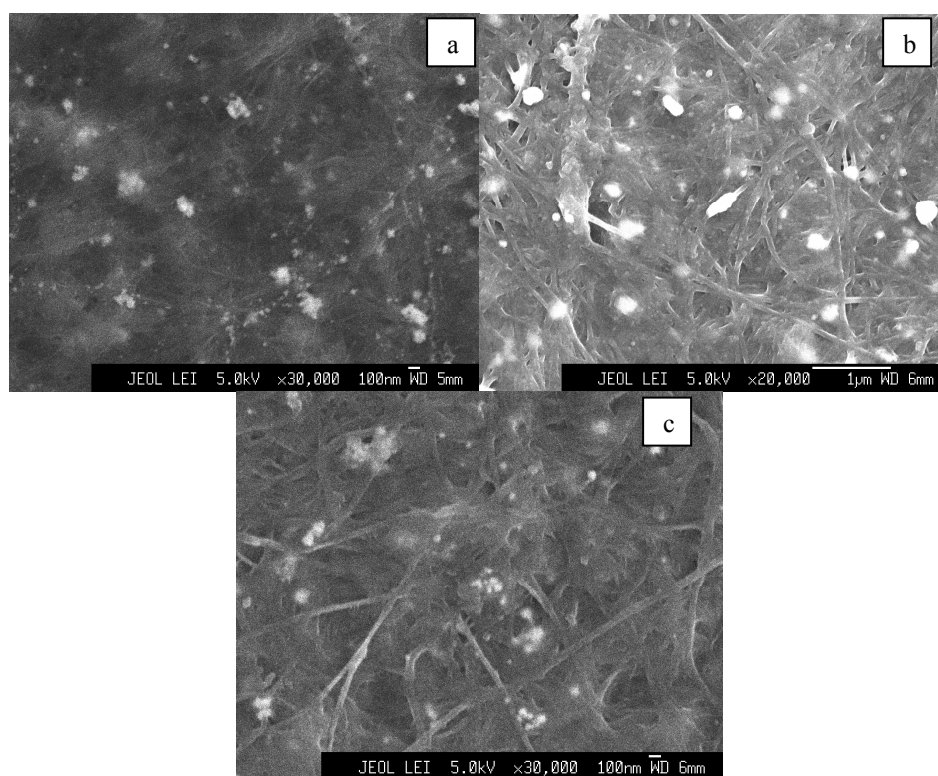


Figura 51 – Micrografias de MEV dos compósitos BC/Ag<sup>0</sup> obtidos sem protetor de colóide com (a) hidroxilamina; (b) hidrazina e (c) ácido ascórbico

A Figura 52 mostra micrografias de MEV de alguns compostos de prata produzidos na membrana de BC usando diferentes agentes redutores e protetores de colóide. Uma visão geral das membranas compostas mostra nanopartículas de prata nas suas superfícies.

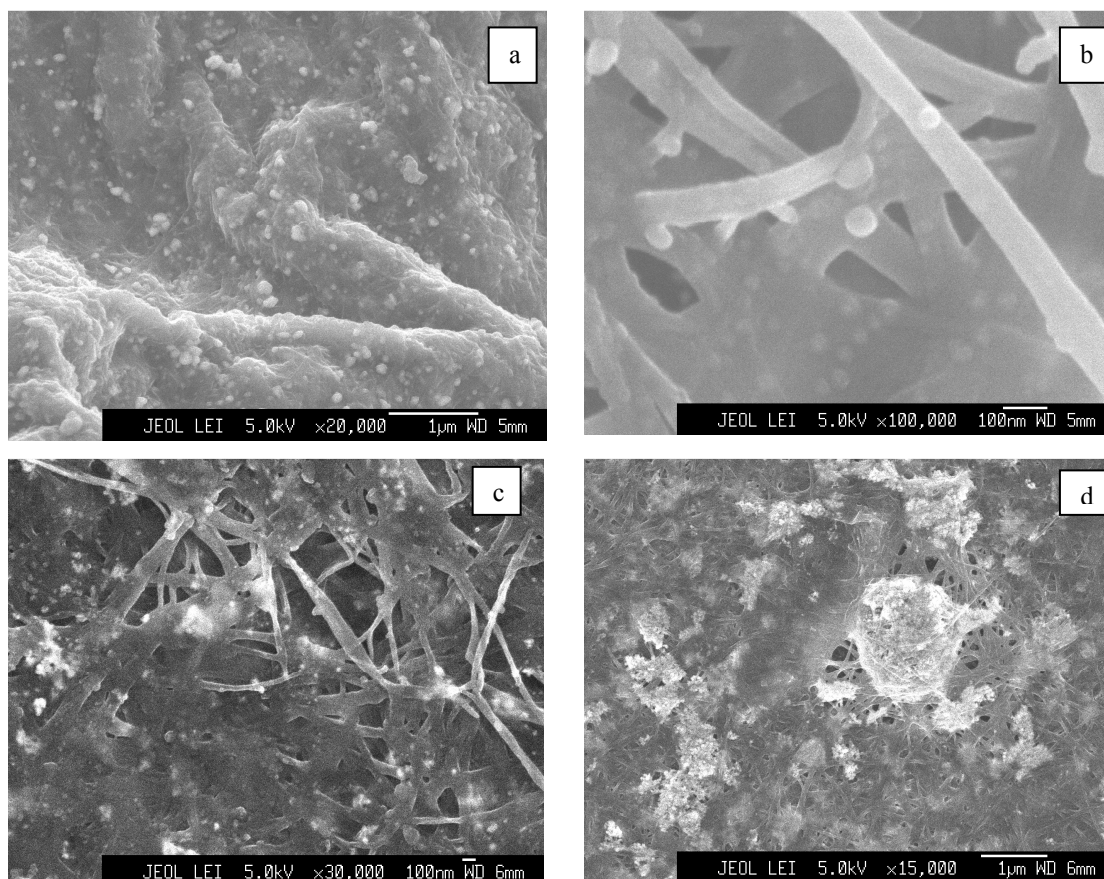


Figura 52 – Micrografias de MEV dos compostos BC/Ag<sup>0</sup> obtidos com protetores de colóide (a) com ácido ascórbico/gelatina; (b) hidroxilamina/gelatina; (c) ácido ascórbico/PVP e (d) hidroxilamina/PVP

De acordo com a Figura 52, as nanopartículas de prata na superfície das membranas de BC apresentam duas características diferentes. É possível observar nanopartículas de prata arredondadas dispersas aleatoriamente nas superfícies dos compostos BC/Ag<sup>0</sup> preparados pela redução com ácido ascórbico e hidroxilamina na presença de gelatina (Figuras 52a e 52b, respectivamente).

Por outro lado, um perfil diferente de partículas de prata foi observado nos compostos preparados com PVP como protetor de colóide com os mesmos agentes redutores (Figuras



52c e 52d). Nesse caso, são observados aglomerados de partículas de prata maiores do que 100 nm sem morfologia definida. A formação de aglomerados indica que ocorreu coalescência, devido provavelmente à ação ineficaz do PVP, que não protegeu as partículas metálicas adequadamente, o que possibilitou a sua aglutinação.

As regiões de prata metálica e BC foram analisadas por detector de elétrons retroespalhados. Uma vez que o contraste nesse tipo de formação de imagem é obtido pelas diferenças de densidade eletrônica dos elementos na amostra, foi possível distinguir a distribuição de prata nas microfibras da BC.

A análise micrográfica das estruturas internas e da superfície externa do compósito BC/Ag<sup>0</sup> obtido da redução da Ag<sup>+</sup> na presença de gelatina (amostra CGHX) ilustrada na Figura 52b, mostra nitidamente partículas de prata com características morfológicas arredondadas. Esta micrografia mostra claramente que o protetor de colóide (gelatina) teve um importante papel na prevenção da coalescência e no controle do tamanho das partículas de prata no compósito CGHX comparado com os compósitos preparados sem protetor.

#### **4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DOS COPOLÍMEROS**

Os copolímeros sintetizados (RA, RB e RC), o copolímero comercial XAD, os copolímeros modificados e os copolímeros modificados impregnados com Ag<sup>0</sup> foram avaliados quanto à sua atividade bactericida através de ensaio em coluna contendo as pérolas de copolímero por onde foram percoladas suspensões de *E. coli* de concentrações conhecidas, sendo realizada posteriormente a contagem em placa do número de células viáveis.

Todos os testes de atividade bactericida foram conduzidos em triplicatas. As médias obtidas para os experimentos de atividade bactericida foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e teste t-Student ao nível de 5% de significância.

Os copolímeros sintetizados, o copolímero comercial, os copolímeros modificados contendo o grupo –NO<sub>2</sub> e os copolímeros modificados contendo o grupo –NH<sub>2</sub> foram avaliados e não apresentaram atividade bactericida em qualquer das concentrações estudadas.

Os resultados de avaliação bactericida para os copolímeros modificados contendo o grupo –OH são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –OH contra suspensões de *E. coli*

[ <i>E. coli</i> ] <sup>a</sup> (cél/mL)	Atividade bactericida <sup>b</sup> (%)			
	A-OH <sup>c</sup>	B-OH <sup>d</sup>	C-OH <sup>e</sup>	XAD-OH <sup>f</sup>
3 x 10 <sup>3</sup>	47	9	7	58
3 x 10 <sup>4</sup>	48	12	6	27
3 x 10 <sup>5</sup>	43	5	3	0
3 x 10 <sup>6</sup>	34	12	7	0
3 x 10 <sup>7</sup>	42	0	0	0
Estabilidade com 10 <sup>4</sup>	0	0	0	0

Desvio padrão= 5% UFC (unidade formadora de colônia); <sup>a</sup>Concentração da suspensão de *E. coli*, <sup>b</sup>atividade bactericida > 14% (ação significativa, p < 0,05); massa do material: <sup>c</sup>m = 124 mg; <sup>d</sup>m = 146 mg; <sup>e</sup>m = 130 mg; <sup>f</sup>m = 93 mg

Esses resultados mostram que os copolímeros modificados contendo o grupo –OH apresentaram alguma atividade bactericida, embora abaixo do esperado. De acordo com dados da literatura, copolímeros contendo grupos hidroxila fenólica exibem atividade bactericida (KENAWY *et al.*, 2007; JEONG *et al.*, 2001, 2002; PARK *et al.*, 2001; NONAKA *et al.*, 1997; NAYAKA & LENKA, 1996). O resultado obtido para os copolímeros estudados pode ser justificado pela baixa incorporação de grupos hidroxila fenólica nas reações de modificação. O copolímero A-OH apresentou leve ação bactericida até a concentração de 10<sup>7</sup> células/mL, os copolímeros B-OH e C-OH não apresentaram ação significativa e o copolímero XAD-OH apresentou leve ação bactericida até a concentração de 10<sup>4</sup> células/mL.

Os resultados de avaliação bactericida para os copolímeros modificados e impregnados com Ag são apresentados nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –NH<sub>2</sub> impregnados com Ag contra suspensões de *E. coli*

[ <i>E. coli</i> ] <sup>a</sup> (cél/mL)	Atividade bactericida <sup>b</sup> (%)			
	A-NH <sub>2</sub> /Ag <sup>c</sup>	B-NH <sub>2</sub> /Ag <sup>d</sup>	C -NH <sub>2</sub> /Ag <sup>e</sup>	XAD-NH <sub>2</sub> /Ag <sup>f</sup>
3 x 10 <sup>3</sup>	51	90	66	100
3 x 10 <sup>4</sup>	40	43	49	100
3 x 10 <sup>5</sup>	33	41	41	100
3 x 10 <sup>6</sup>	22	37	37	100
3 x 10 <sup>7</sup>	0	0	0	0
Estabilidade com 10 <sup>4</sup>	0	2	0	4

Desvio padrão= 5% UFC (unidade formadora de colônia); <sup>a</sup>Concentração da suspensão de *E. coli*, <sup>b</sup>atividade bactericida > 14% (ação significativa, p < 0,05); massa do material: <sup>c</sup>m = 162 mg; <sup>d</sup>m = 164 mg; <sup>e</sup>m = 178 mg; <sup>f</sup>m = 127 mg

Tabela 14 – Atividade bactericida e estabilidade química dos copolímeros modificados contendo o grupo –OH impregnados com Ag contra suspensões de *E. coli*

[ <i>E. coli</i> ] <sup>a</sup> (cél/mL)	Atividade bactericida <sup>b</sup> (%)			
	A-OH/Ag <sup>c</sup>	B-OH/Ag <sup>d</sup>	C-OH/Ag <sup>e</sup>	XAD-OH/Ag <sup>f</sup>
3 x 10 <sup>3</sup>	82	100	100	100
3 x 10 <sup>4</sup>	66	100	100	100
3 x 10 <sup>5</sup>	69	100	100	100
3 x 10 <sup>6</sup>	55	100	100	100
3 x 10 <sup>7</sup>	48	94	76	92
Estabilidade com 10 <sup>4</sup>	1	0	4	0

Desvio padrão= 5% UFC (unidade formadora de colônia); <sup>a</sup>Concentração da suspensão de *E. coli*, <sup>b</sup>atividade bactericida > 14% (ação significativa, p < 0,05); massa do material: <sup>c</sup>m = 154 mg; <sup>d</sup>m = 155 mg; <sup>e</sup>m = 139 mg; <sup>f</sup>m = 104 mg

Comparando-se os resultados das Tabelas 13 e 14 com os apresentados anteriormente, pode-se observar que houve diferenças significativas entre as atividades bactericidas dos copolímeros modificados e dos copolímeros modificados impregnados com Ag, o que comprova que a ação bactericida é devida às partículas de prata ancoradas nos copolímeros. De um modo geral, os copolímeros modificados contendo o grupo –NH<sub>2</sub> impregnados com Ag, mesmo contendo maiores teores de prata, apresentaram menor ação bactericida do que os copolímeros modificados contendo o grupo –OH impregnados com Ag. Esse resultado indica que possivelmente nesses copolímeros com maior teor de prata, mesmo utilizando protetor de colóide, as partículas podem ter se aglomerado o que ocasionou uma distribuição heterogênea de partículas de Ag na superfície das pérolas dos copolímeros. Isso pode ter prejudicado a ação bactericida desses copolímeros. Segundo SANTA MARIA e colaboradores (2008) e SOUZA (2007), quando as partículas estão aglomeradas, podem causar o bloqueio de alguns poros dos copolímeros, impedindo o acesso das suspensões de *E. coli* ao interior das pérolas. Dessa forma, as bactérias não podem entrar em contato com as partículas de prata de forma efetiva, diminuindo assim a atividade bactericida. Também existe uma relação da atividade bactericida com o tamanho das partículas. É provável que, neste caso, possam ter sido produzidas partículas de maiores tamanhos. De acordo com alguns autores (MORONES *et al.*, 2005; PANACECK *et al.*, 2006), a prata só apresenta ação bactericida efetiva quando está na forma de nanopartículas, pois este tamanho proporciona melhor interação com a membrana citoplasmática dos microrganismos.

Além disso, para os copolímeros modificados contendo o grupo –OH impregnados com Ag, a maior ação bactericida pode ser atribuída também pela combinação da atividade

bactericida das partículas de prata com a atividade dos grupos hidroxilas fenólicas mesmo que estes grupos estejam incorporados nos copolímeros em baixas concentrações.

Os resultados da Tabela 13 mostram que a ação bactericida dos copolímeros A-NH<sub>2</sub>/Ag, B-NH<sub>2</sub>/Ag e C-NH<sub>2</sub>/Ag foram equivalentes apesar dos valores diferentes de teores de prata de cada um dos copolímeros. O copolímero XAD-NH<sub>2</sub>/Ag apresentou excelente atividade bactericida até a concentração de 10<sup>6</sup> células/mL.

Pelos resultados apresentados na Tabela 14, observa-se uma excelente atividade bactericida para os copolímeros B-OH/Ag, C-OH/Ag e XAD-OH/Ag em todas as concentrações estudadas. O copolímero A-OH/Ag apresentou ação bactericida menos acentuada do que os outros três copolímeros. Como explicado anteriormente, existe uma relação entre a distribuição das partículas de prata, o tamanho e a morfologia dessas partículas na ação bactericida. Essa menor ação bactericida do copolímero A-OH/Ag pode ser justificada por uma provável distribuição heterogênea das partículas na superfície das pérolas ou pelos maiores tamanhos e morfologia inadequada das partículas de prata obtidas. Quanto menor o tamanho das nanopartículas maior será a área superficial o que tornará melhor o contato com as células bacterianas. Portanto, haverá maior porcentagem de interação das nanopartículas com os microrganismos do que partículas maiores (MORONES *et al.*, 2005).

O ensaio de estabilidade química foi realizado sobre o efluente, indicando propriedades de desprendimento sobre o mesmo veículo em que foram estudadas as ações bactericidas e simulando um sistema de desinfecção. Esse ensaio indicou que não houve desprendimento de resíduos com propriedades bactericidas a partir dos copolímeros de partida, dos copolímeros modificados e dos derivados destes impregnados com Ag. Portanto, as ações observadas nos resultados de todos os ensaios microbiológicos com suspensões nas concentrações de 10<sup>3</sup> a 10<sup>7</sup> células/mL não se devem ao desprendimento de agentes bactericidas dos copolímeros e sim dos agentes (grupos funcionais e Ag) fixados aos mesmos.

#### 4.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DAS MEMBRANAS DE CELULOSE BACTERIANA IMPREGNADAS COM PRATA

Os compósitos de BC/Ag<sup>0</sup> (C0HX, CPHX e CGHX) foram avaliados quanto à sua atividade bactericida através de ensaio contra suspensões de *E. coli* de concentrações conhecidas, sendo realizada posteriormente a contagem em placa do número de células viáveis. Os resultados são sumarizados na Tabela 15.

Tabela 15 – Atividade bactericida dos compósitos BC/Ag contra suspensões de *E. coli*

[ <i>E. coli</i> ] <sup>a</sup> (cél/mL)	Atividade bactericida <sup>b</sup> (%)		
	C0HX	CPHX	CGHX
10 <sup>3</sup>	17	24	100
10 <sup>4</sup>	10	20	100
10 <sup>5</sup>	8	15	100
10 <sup>6</sup>	0	0	100
10 <sup>7</sup>	0	0	100

Desvio padrão= 5% UFC (unidade formadora de colônia); <sup>a</sup>Concentração da suspensão de *E. coli*, <sup>b</sup>atividade bactericida > 14% (ação significativa, p < 0,05); C0HX = compósito sem protetor de colóide e reduzido com hidroxilamina; CPHX = compósito preparado com PVP como protetor de colóide e reduzido com hidroxilamina; CGHX = preparado com gelatina como protetor de colóide e reduzido com hidroxilamina

Como pode ser observado, o compósito CGHX exibiu a maior atividade bactericida, uma vez que a porcentagem de redução de UFC foi de 100% até a concentração de 10<sup>7</sup> células/mL. A Figura 53 mostra os resultados do ensaio de atividade bactericida para esse compósito.

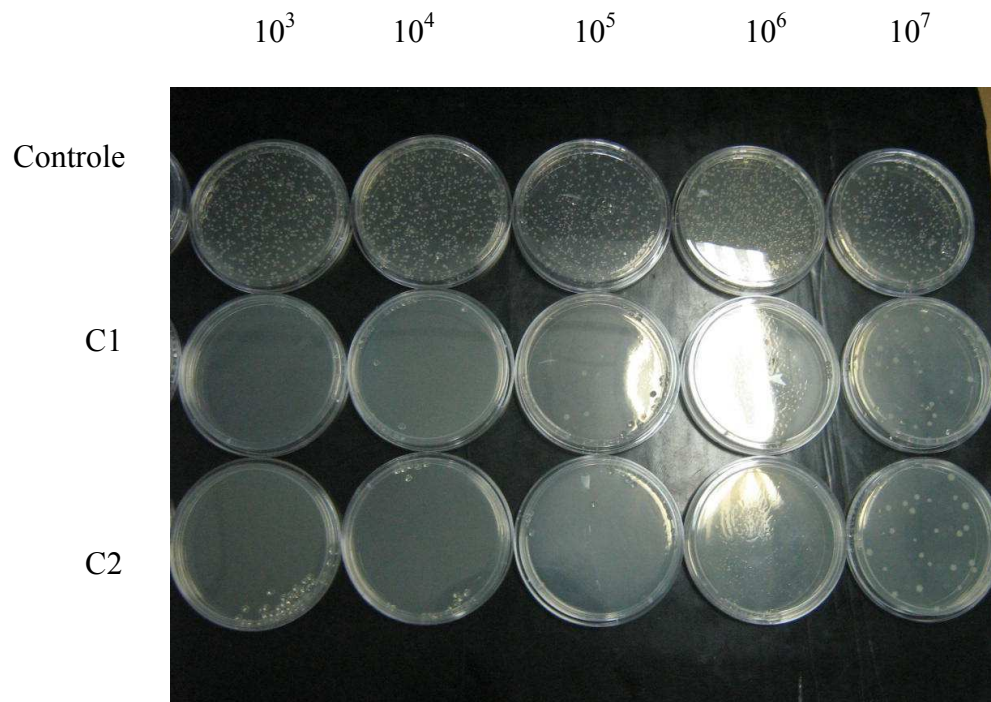


Figura 53 – Resultados do ensaio de atividade bactericida para o compósito CGHX

Os compósitos C0HX e CPHX mesmo contendo maiores teores de prata (11,3% e 8,0%, respectivamente) apresentaram menor atividade bactericida (de 8 a 17% de atividade para o compósito C0HX e de 15 a 24% para o compósito CPHX) do que o compósito CGHX. Além de a atividade ser muito baixa, a mesma só foi observada até a concentração de  $10^5$  cél/mL). Essa discrepância pode ser justificada pela grande diferença no tamanho das partículas de prata dos compósitos. O compósito CGHX, que apresentou menor tamanho de partícula (de 30 a 50 nm), apresentou a maior ação bactericida.

Os resultados indicaram que as propriedades bactericidas dos compósitos foram dependentes do tamanho das nanopartículas de prata. É provável que somente as partículas de prata com tamanhos menores (escala nano) devem ter apresentado interação direta com as bactérias.

## 5. CONCLUSÕES

- As condições de síntese utilizadas permitiram a obtenção de copolímeros à base de STY-DVB com características morfológicas distintas.
- As metodologias empregadas para realizar as reações de modificação química nos copolímeros foram bem sucedidas, embora algumas das modificações possam não ter ocorrido com o grau de extensão esperado.
- A produção de copolímeros contendo partículas de prata metálica ancoradas pôde ser realizada de forma relativamente simples utilizando-se como agente redutor a hidroxilamina na presença de PVP como protetor de colóide. Foi verificado que a porosidade e o grupamento funcional influenciaram na ancoragem das partículas de prata.
- Os copolímeros não-modificados, o copolímero comercial e os copolímeros modificados contendo os grupos  $-\text{NO}_2$  e  $-\text{NH}_2$  não apresentaram ação bactericida, enquanto que os copolímeros modificados contendo os grupos  $-\text{OH}$  apresentaram leve ação bactericida. Os respectivos copolímeros modificados após a impregnação com prata apresentaram excelente atividade bactericida. A atividade bactericida dos copolímeros foi dependente do grupo funcional presente na sua estrutura e do tamanho e da distribuição das partículas de prata ancoradas na superfície das pérolas dos copolímeros.
- Membranas compósitas de  $\text{BC}/\text{Ag}^0$  com nanopartículas de prata de diversos tamanhos, morfologia e distribuição puderam ser sintetizadas a partir da impregnação das membranas de BC com solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  e posterior redução dos íons  $\text{Ag}^+$  por diferentes agentes redutores (hidrazina, hidroxilamina e ácido ascórbico) na presença ou não de protetores de colóide (PVP e gelatina).
- A atividade bactericida dos compósitos  $\text{BC}/\text{Ag}^0$  foi dependente do tamanho das nanopartículas de prata. Entre os compósitos estudados, o compósito CGHX obtido utilizando-se a hidroxilamina como agente redutor e a gelatina como protetor de colóide apresentou forte ação bactericida.

## 6. SUGESTÕES

- Sintetizar um copolímero com características de porosidade mais próximas do copolímero XAD. Para isso, variar outros parâmetros de síntese, como o teor de DVB e o grau de diluição.
- Determinar de forma quantitativa a extensão de cada reação de modificação.
- Estudar as melhores condições reacionais para garantir a máxima funcionalização dos copolímeros em cada etapa.
- Realizar as microscopias ótica e eletrônica de varredura dos copolímeros modificados para verificar se as reações de modificações alteraram a morfologia das pérolas.
- Determinar a capacidade de troca iônica dos copolímeros contendo grupos hidroxilas fenólicas.
- Avaliar por microscopia eletrônica de varredura, a morfologia, o tamanho e a distribuição das partículas de prata ancoradas nas superfícies interna e externa dos copolímeros impregnados.
- Realizar ensaios microbiológicos nos outros compósitos BC/Ag<sup>0</sup> (C0AA, CPAA, CGAA, C0HX, CPHZ, CGHZ).



## 7. REFERÊNCIAS

- ASTM D1895-69 – Apparent Density, Bulk Factor and Pourability of Plastic Materials.
- ATIYEH, B.S.; COSTAGLIOLA, M.; HAYEK, S.N.; DIBO, S.A. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature. **Burns**, v. 33, p. 139-148, 2007.
- BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.
- BARUD, H.S.; BARRIOS, C.; REGIANE, T.; MARQUES, R.F.C.; VERELST, M.; DEXPERT-GHYS, J.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S.J.L. Self-supported silver nanoparticles containing bacterial cellulose membranes. **Materials Science & Engineering C**, v. 28, p. 515-518, 2008.
- BECKER, R. O. Silver ions in the treatment of local infections. **Metal-Based Drugs**, v. 6, p.297-300, 1999.
- BEIGUELMAN, B.A. **Curso prático de bioestatística**. 5<sup>a</sup> ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002.
- BEYTH, N.; YUDOVIN-FARBER, I.; BAHIR, R.; DOMB, A.J.; WEISS, E.I. Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. **Biomaterials**, v. 27, n. 21, p. 3995-4002, 2006.
- BRANDUP, J.; IMMERGUT, E.H.; GRULKE, E.A. **Polymer Handbook**, 4a ed. New York: John Wiley, 1999.
- CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003.
- ÇAKMAK, I.; ULUKANLI, Z.; TUZCU, M.; KARABUGA, S.; GENCTAV, K. Synthesis and characterization of novel antimicrobial cationic polyelectrolytes. **European Polymer Journal**, v. 40, n.10, p. 2373-2379, 2004.
- CAVICCHIOLI, M.; VARANDA, L.C; ANTONIO C. MASSABNI, A.C.; MELNIKOV, P. Silver nanoparticles synthesized by thermal reduction of a silver(I)–aspartame complex in inert atmosphere. **Materials Letters**, v. 59, p. 3585 – 3589, 2005.
- CEN, L.; NEOH, K.G.; KANG, E.T. Surface functionalization technique for conferring antibacterial properties to polymeric and cellulosic surfaces. **Langmuir**, v. 19, n. 24, p. 10295-10303, 2003.

- CHEN, C. Z.; BECK-TAN, N. C.; DHURJATI, P.; DYK, T. K. V.; LAROSSA, R. A.; COOPER, S. L. Quaternary Ammonium Functionalized Poly(propylene imine) Dendrimers as Effective Antimicrobials: Structure-Activity Studies. **Biomacromolecules**, v.1, n. 3, p.473-480, 2000.
- CHEN, Y.; WORLEY, S. D.; KIM, J.; WEI, C.-I.; CHEN, T. Y.; SUESS, J.; KAWAI, H.; WILLIAMS, J. F. . Biocidal polystyrenehydantoin beads.2. Control of chlorine loading. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 23, p. 5715-5720, 2003.
- CHEN, K.-S.; KU, Y.-A.; LIN, H.-R.; YAN, T.-R.; SHEU, D.-C.; CHEN, T.-M. Surface grafting polymerization of N-vinyl-2-pyrrolidone onto a poly(ethylene terephthalate) nonwoven by plasma pretreatment and its antibacterial activities. **Journal of Applied Polymer Science**, v.100, n.1, p. 803-809, 2006.
- CHEN, Z.; SUN, Y. N-Halamine based antimicrobial additives for polymers: preparation, characterization, and antimicrobial activity. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 45, p. 2634-2640, 2006.
- CHENG, Z.; ZHU, X.; SHI, Z.L.; NEOH, K.G.; KANG, E.T. Polymer microspheres with permanent antibacterial surface from surface-initiated atom transfer radical polymerization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 44, n. 18, p. 7098-7104, 2005.
- CHOU, K.S.; REN, C.Y. Synthesis of nanosized silver particles by chemical reduction method. **Materials Chemistry and Physics**, v. 64, p. 241-246, 2000.
- COOK, G.; COSTERTON, J.W.; DAROUICHE, R.O. Direct confocal microscopy studies of the bacterial colonization in vitro of a silver-coated heart valve sewing cuff. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 13, p. 169–173, 2000.
- COOPER, S. L.; GRAPSKI, J. A. Synthesis and characterization of non-leaching biocidal polyurethanes. **Biomaterials**, v. 22, n. 16, p. 2239-2246, 2001.
- COSTERTON, J.W. In vivo efficacy of silver- coated (silzone) infection-resistant polyester fabric against a biofilm-producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis* - Response. **Journal of heart valve disease**, v. 8 , n. 3, p. 346-346, 1999.
- COUTINHO, F.M.B; RABELO, D. Influência do sistema diluente dos monômeros nas propriedades dos copolímeros à base de estireno e divinilbenzeno obtidos através de polimerização em suspensão. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, p.34-37, 1992.
- COUTINHO, F.M.B.; REZENDE, S.M.; BARBOSA, C.C.R. Resinas quelantes amidoxímicas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, out/dez, 1999.

- COUTO, G.G. Nanopartículas de níquel: síntese, caracterização, propriedades e estudo de sua utilização como catalisadores na obtenção de nanotubos de carbono. 2006. 151f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- CUNHA, L.; GOMES, A.S.; COUTINHO, F.M.B.; TEIXEIRA, V.G. Principais rotas de síntese de resinas complexantes de mercúrio. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, n. 2, p. 145-157, 2007.
- DANIELS, S.L. in: G. Gitton, K.C. Marshall (Eds.). **Adsorption of Microorganism to Surfaces**. New York, 1980, p. 7.
- DAVIES, R.V.; KENNEDY, J.; LANE, E.S.; WILLIAMS, J.L. Syntheses of metal complexing polymers. IV. Polymers containing miscellaneous functional groups. **Journal of Appl. Chem.**, July, 1959.
- DENYER, S.P. Mechanisms of action of antibacterial biocides. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 36, p. 227-245, 1995.
- DENYER, S.P.; STEWART, G.S.A.B. Mechanisms of action of disinfectants. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 41, p.261-268, 1998.
- FENG, Q.L.; CHEN, G.Q.; CUI, F.Z.; KIM, T.N.; KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. **Journal of Biomedic Materials**, v. 52, p. 662-668, 2000.
- GAO, B.; SANXIONG, H.; GUO, J.; WANG, R. Preparation and antibacterial character of a water-insoluble antibacterial material of grafting polyvinylpyridinium on silica gel. **Materials Letters**, v. 61, n. 3, p. 877-883, 2007.
- GUPTA, A.; SILVER, S. Silver as a biocide: Will resistance become a problem? **Nature biotechnology**, v. 16, p.888, 1998.
- GUYOT, A; BARTHOLIN, M. Design and properties of polymers as materials for fine. chemistry. **Progress in Polymer Science**, v. 8, p. 277-332, 1982.
- HAMOUDA, T.; BAKER, J.R. Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric Gram-negative bacilli **Journal of Applied Microbiology**, v. 89, n. 3, p. 397-403, 2000.
- HE, J.; KUNITAKE, T.; NAKAO, A. Facile in situ synthesis of noble metal nanoparticles in porous cellulose fibers. **Chem. Mater.**, v. 15, n. 23, p. 4401-4406, 2003.
- HONG, K.H.; PARK, J.L.; SUL, I.H. Preparation of antimicrobial poly(vinyl alcohol) nanofibers containing silver nanoparticles. **Journal of Polymer Science Part B – Polymer Physics**, v. 44, n. 17, p. 2468-2474, 2006.

- HU, F. X.; NEOH, K. G.; CEN, L.; KANG, E. T. Antibacterial and antifungal efficacy of surface functionalized polymeric beads in repeated applications. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 89, p. 474-484, 2005.
- HU, W.; CHEN, S.; LI, X.; SHI, S.; SHEN, W.; ZHANG, X.; WANG, H. In situ synthesis of silver chloride nanoparticles into bacterial cellulose membranes. **Materials Science & Engineering C**, v. 29, n. 4, p. 1216-1219, 2008.
- HUANG, Z.Y.; MILLS, G.; HAJEK, B. Silver particles in basic 2-propanol. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, n. 44, p.11542- 11550, 1993.
- HUANG, J.; MURATA, H.; KOEPEL, R.R.; RUSSEL, A.J., MATYJASZEWSKI, K. Antibacterial polypropylene via surface-initiated atom transfer radical polymerization. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 5, p. 1396-1399, 2007.
- IP, M.; LUI, S.L.; POON, V.K.M.; LUNG, I. Antimicrobial activities of silver dressings: an in vitro comparison. **Journal of Medical Microbiology**, v. 55, p. 59-63, 2006.
- JANDREY, A.C. **Desenvolvimento de resinas à base de 2-vinil-piridina contendo iodo e sua avaliação como agente bactericida**. 2007. 154 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro.
- JANDREY, A.C.; AGUIAR, A.P.; AGUIAR, M.R.M.P.; SANTA MARIA, L.C.; MAZZEI, J.L.; FELZENSZWALB, I. Iodine-poly(2-vinylpyridine-co-styrene-co-divinylbenzene) charge transfer complexes with antibacterial activity. **European Polymer Journal**, v. 43, p. 4712-4718, 2007.
- JANDREY, A.C.; SANTA MARIA, L.C.; AGUIAR, A.P.; AGUIAR, M.R.M.P.; MAZZEI, J.L.; FELZENSZWALB, I. Iodine bactericidal action adsorbed in 2-vinylpyridine copolymer networks. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, p.972-976, 2004.
- JEONG, J.-H. ; BYOUN, Y.-S.; LEE, Y.-S. Chemical modification of poly(styrene-alt-maleic anhydride) with antimicrobial 4-aminobenzoic acid and 4-hydroxybenzoic acid. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.7, n. 5, p.310-315, 2001.
- JEONG, J.-H. ; BYOUN, Y.-S.; LEE, Y.-S. Poly(styrene-alt-maleic anhydride)-4-aminophenol conjugate: synthesis and antibacterial activity. **Reactive & Functional Polymers**, v. 50, n. 3, p. 257-263, 2002.
- JUN, J.; YUAN-YUAN, D.; SHAO-HAI, W.; SHAO-FENG, Z.; ZHONG-YI, W. Preparation and characterization of antibacterial silver-containing nanofibers for wound dressing applications. **Journal of US-China Med Sci**, v. 4, n. 2, p. 52-54, 2007.

- KANAZAWA, A.; IKEDA, T.; ENDO, T. Polymeric Phosphonium Salts as a Novel Class of Cationic Biocides. III. Immobilization of Phosphonium Salts by Surface Photografting and Antibacterial Activity of the Surface- Treated Polymer Films. **J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.**, v.31, n. 6, p.1467-1472, 1993.
- \_\_\_\_\_. Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. X. Antibacterial activity of filters incorporating phosphonium biocides. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 54, n. 9, p.1305-1310, 1994.
- KAWABATA, N. Capture of micro-organisms and viruses by pyridinium-type polymers and application to biotechnology and water purification. **Progress in Polymer Science**, v. 17, p. 1-34, 1992.
- 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.
- KIM, B.R.; ANDERSON, J.E.; MUELLER, S.A.; GAINES, W.A.; KENDALL, A.M. Literature review-efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems. **Water Research**, v. 36, n. 18, p. 4433-4444, 2002.
- KIM, J.; WEI, C. I.; WILLIAMS, J. F.; CHEN, J.; LI, Y. Novel N-Halamine Siloxane Monomers and Polymers for Preparing Biocidal Coatings. **Surf. Coat. Int. Part B: Coat. Trans.**, v. 88, p. 93-99, 2005.
- KIM, J.; KUK, E.; YU, K.N.; KIM, J.H.; PARK, S.J.; LEE, H.J. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomed Nanotechnol Biol Med**, v. 3, p. 95-101, 2007.
- KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; UDHARDT, U.; MARSCH, S. Bacterial synthesized cellulose – artificial blood vessels for microsurgery. **Progress in Polymer Science**, v. 26, p. 1561-1603, 2001.
- KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H.; BOHN, A. Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie Int.**, v. 44, p. 3358-3393, 2005.
- KLIBANOV, A. M.; MILOVIC, N. M.; WANG, J.; LEWIS, K. Immobilized N-alkylated polyethylenimine avidly kills bacteria by rupturing cell membranes with no resistance developed . **Biotechnology and Bioengineering**, v. 90, n. 6, p. 715-722, 2005.
- KONIECZNY, K. Disinfection of surface and ground waters with polymeric ultrafiltration membranes. **Desalination**, v. 119, p. 251-258, 1998.
- KRISHNAN, S.; WARD, R. J.; HEXEMER, A.; SOHN, K. E.; LEE, K. L.; ANGERT, E. R.; FISCHER, D. A.; KRAMER, E. J.; OBER, C. K. Surfaces of fluorinated pyridinium block copolymers with enhanced antibacterial activity. **Langmuir**, v. 22, n. 26, p. 11255-11266, 2006.

- KUMAR, A.; VEMULA, P.K.; AJAYAN, P.M.; JOHN, G. Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil. **Nature Materials**, v. 7, n. 3, p. 236-241, 2008.
- KURT, P.; WOOD, L.; OHMAN, D.E.; WYNNE, K.J. Highly effective contact antimicrobial surfaces via polymer surface modifiers. **Langmuir**, v. 23, n.9, p. 4719-4723, 2007.
- JUNG, R.; KIM, Y.; KIM, H.; JIN, H. Antimicrobial properties of hydrated cellulose membranes with silver nanoparticles. **Journal of Biomaterials Science**, v. 20, p. 311-324, 2009.
- LALA, N.L.; RAMASESHAN, R.; BOJUN, L.; SUNDARRAJAN, S.; BARHATE, R.S.; YING-JUN, L.; RAMAKRISHNA. Fabrication of nanofibers with antimicrobial functionality used as filters – Protection against bacterial contaminants. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 97, n. 6, p. 1357-1365, 2007.
- LEE, S. B.; KOEPEL, R. R.; MORLEY, S. W.; MATYJASZEWSKI, K.; SUN, Y. J.; RUSSELL, A. J. Permanent, Nonleaching Antibacterial Surfaces. 1. Synthesis by Atom Transfer Radical Polymerization. **Biomacromolecules**, v. 5, n. 3, p. 877-882, 2004.
- LIANG, J.; BARNES, K.; AKDAG, A.; WORLEY, S.D.; LEE, J.; BROUGHTON, R.M.; HUANG, T. –S. Improved antimicrobial siloxane. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 46, p. 1861-1866, 2007.
- LIN, J.; QIU, S. Y.; LEWIS, K.; KLIBANOV, A. M. Bactericidal properties of flat surfaces and nanoparticles derivatized with alkylated polyethylenimines. **Biotechnology Progress**, v.18, n. 5, p. 1082-1086, 2002.
- LU, G.; WU, D.; FU, R. Studies on the synthesis and antibacterial activities of polymeric quaternary ammonium salts from dimethylaminoethyl methacrylate. **Reactive & Functional Polymers**, v. 67, p. 355-366, 2007.
- LUCAS, E.F.; SOARES, B.G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de polímeros – Determinação de peso molecular e análise térmica**. 1<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: E-papers, 2001. 366p.
- MANEERUNG, T.; TOKURA, S.; RUJIRAVANIT, R. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, p. 43-51, 2008.
- MARQUES, P.A.A.P.; NOGUEIRA, H.I.S.; PINTO, R.J.B.; NETO, C.P.; TRINDADE, T. **Silver-bacterial cellulosic sponges as active SERS substrates**. *Journal of Raman Spectroscopy*, v. 39, p. 439-443.

- MATSUDA, N.; AGUI, W.; OGINO, K.; KAWASHIMA, N.; WATANABE, T.; SAKAI, H.; ABE, M. Disinfection of viable *Pseudomonas stutzeri* in ultrapure water with ion exchange resins. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, v. 7, p. 91-100, 1996.
- MONDAL, B.C.; DAS, A.K. Functionalized chelatin resins for selective sorption of metal ions: an overview. **Journal of Indian Chem. Soc.**, v. 81, p. 95-110, 2004.
- MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J.L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J.B.; RAMIREZ, J.T.; YACAMAN, M.J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, p. 2346-2353, 2005.
- NAYAKA, P.L.; LENKA, S. Antibacterial resins, in: J.C. Salamone (Ed.). **Polymeric Materials Encyclopedia**. v. 1, CRC Press, Boca Raton, FL, 1996, pp. 264–269.
- NONAKA, T.; UEMURA, Y. ; OHSE, K. ; JYONO, K. ; KURIHARA, S. Preparation of resins containing phenol derivatives from chloromethylstyrene-tetraethyleneglycol dimethacrylate copolymer beads and antibacterial activity of resins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 66, n. 8, p.1621-1630, 1997.
- NURDIN, N.; HELARY, G.; SAUVET, G. Biocidal polymers active by contact. II. Biological evaluation of polyurethane coatings with pendant quaternary ammonium salts. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 50, n. 4, p. 663-670, 1993.
- OH, M.T.; HA, C.S.; CHO, W.J. Synthesis and biocidal activities of polymer. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 54, n.7, p.859-866, 1994.
- OKAY, O. Macroporous copolymer networks. **Progress in Polymer Science**, v. 25, p. 711-779, 2000.
- PAL, S.; KYUNG, Y.; SONG, J.M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticles? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. **Applied an Environmental Microbiology**, v. 73, p. 1712-1720, 2007.
- PANACEK, A; KVITEK, L; PRUCEK, R, KOLAR, M.; VECEROVA, R.; PIZUROVA, N. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization and their antibacterial activity. **J. Phys Chem**, v. 110, n. 33, p. 16248-16253, 2006.
- PANANGALA, V. S.; LIU, L.; SUN, G.; WORLEY, S. D.; MITRA, A. Inactivation of Rotavirus by New Polymeric Water Disinfectants. **J. Virol. Methods**, v. 66, n. 2, p. 263-268, 1997.
- PARK, E.-S.; MOON, W.-S.; SONG, M.-J.; KIM, M.-N.; CHUNG, K.-H.; YOON, J.-S. Antimicrobial activity of phenol and benzoic acid derivatives. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 47, n. 4, p. 209-214, 2001.

- POPA, A.; DAVIDESCU, C.M.; TRIF, R.; ILIA, G.; ILIESCU, S.; DEHELEAN, G. Study of quaternary 'onium' salts grafted on polymers: antibacterial activity of quaternary phosphonium salts grafted on 'gel-type' styrene-divinylbenzene copolymers. **Reactive & Functional Polymers**, v. 55, p. 151-158, 2003.
- RABELO, D. Formação da estrutura porosa em copolímeros à base de estireno e divinilbenzeno. 1993. 140f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Instituto de Macromoléculas Professora Eloísa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- RABELO, D.; COUTINHO, F.M.B. Structure and properties of styrene-divinylbenzene copolymers. II. Mixtures of different diluents with heptane as pore forming agents. **Polymer Bulletin**, v. 33, p. 487-491, 1994.
- RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as new generation os antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 76-83, 2009.
- RIQUEZA, E.C.; SANTA MARIA, L.C.; AGUIAR, M.R.M.P.; AGUIAR, A.P. Microscopic characterization of porosity and chemical modification of acrylonitrile copolymer networks. **Materials Letters**, v. 58, p. 502-506, 2004.
- RUJITANAROJ, P.; PIMPHA, N.; SUPAPHOL, P. Wound-dressing materials with antibacterial activity from electrospun gelatin fiber mats containing silver nanoparticles. **Polymer**, v. 49, p. 4723-4732, 2008.
- RUSSELL, A. D. Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and food and pharmaceutical preservatives. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 71, p. 191-201, 1991.
- SANTA MARIA, L.C., SANTOS, A.L.C.; OLIVEIRA, P.C.; BARUD, H.S.; MESSADEQ, Y.; RIBEIRO, S.J.L. Synthesis and characterization of silver nanoparticles impregnated into bacterial cellulose. **Materials Letters**, v. 63, p. 797-799, 2009.
- SANTA MARIA, L.C., SOUZA, J.D.C., AGUIAR, M.R.M.P., WANG, S.H., MAZZEI, J.L., FELZENSZWALB, I., AMICO, S.C. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 107, p. 1879–1886, 2008.
- SANTA MARIA, L.C.D.; AGUIAR, M.R.M.P.; COSTA, M.A.S.; VALLE, A.S.S.; SOARES, J.M.; SOUZA, J.D.C.; WANG, S.H. Synthesis of composite based on submicron sized silver particles hosted on microspheres of surface-functional porous crosslinked copolymer networks. **Materials Letters**, v. 61, p. 2993–2999, 2007.
- SATO, T.; TANAKA, T.; SUZUKI, T. Disinfection of Escherichia coli by using surface characteristics of H<sup>+</sup> e OH<sup>-</sup> form ion exchange resins. **Denki Kagaku**, v. 52, p. 272-275, 1984.



- SAUVET, G.; DUPOND, S.; KAZMIERSKI, K.; CHOJNOWSKI, J. Biocidal polymers active by contact. V. Synthesis of polysiloxanes with biocidal activity. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 75, n. 8, p. 1005-1012, 2000.
- SAUVET, G.; FORTUNIAK, W.; KAZMIERSKI, K.; CHOJNOWSKI, J. Amphiphilic block and statistical siloxane copolymers with antimicrobial activity. **J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.**, v. 41, p. 2939-2948, 2003.
- SEGALA, K.; DUTRA, R.L.; OLIVEIRA, E.N.; ROSSI, L.M.; MATOS, J.R.; PAULA, M.M.S.; FRANCO, C.V. Characterization of poly-*{trans-[RuCl<sub>2</sub>(vpy)<sub>4</sub>]-styrene-4-vinylpyridine}* impregnated with silver nanoparticles in non aqueous medium. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 17, n. 8, 1679-1682, 2006.
- SEONG, H.-S.; WHANG, H. S.; KO, S.-W. Synthesis of a Quaternary Ammonium Derivative of Chito-Oligosaccharide as Antimicrobial Agent for Cellulosic Fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 76, n. 14, p. 2009-2015, 2000.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. Identificação espectroscópica de compostos orgânicos, 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000, 387p.
- SILVER, S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 341-353, 2003.
- SONDI, I.; SALOPEK-SONDI, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 275, p. 177-182, 2004.
- SONG, H.Y.; KO, K.K.; OH, I.H.; LEE, B.T. Fabrication of silver nanoparticles and their antimicrobial mechanisms. **European Cells and Materials**, v. 11, suppl. 1, p.58, 2006.
- SOUZA, J.D.C. **Materiais compósitos baseados em resinas reticuladas contendo nanopartículas de prata**. 2007. 82f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.
- SPADARO, J.A.; BERGER, T.J.; BARRANCO, S.D. Antibacterial effect of silver electrodes with weak direct-current. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 6, n. 5, p. 637-642, 1974.
- STOIMENOV, P.K.; KLINGER, R.L.; MARCHIN, G.L.; KLABUNDE, K.J. Metal oxide nanoparticles as bactericidal agents. *Langmuir*, v. 18, p. 6679-6686, 2002.
- SUN, G.; WHEATLEY, W. B.; WORLEY, S. D. A New Cyclic N-Halamine Biocidal Polymer. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 33, p.168-170, 1994.

- SUN, G.; ALLEN, L.C.; LUCKIE, E.P.; WHEATLEY, W.B.; WORLEY, S.D. Disinfection of water by N-halamine biocidal polymers. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 34, p. 4106-4109, 1995.
- SUN, Y.; SUN, G. Synthesis, characterization, and antibacterial activities of novel N-halamine polymer beads prepared by suspension copolymerization. **Macromolecules**, v. 35, p. 8909-8912, 2002.
- \_\_\_\_\_. Novel refreshable N-halamine polymeric biocides: Grafting hydantoin-containing monomers onto high performance fibers by a continuous process. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 88, n. 4, p. 1032-1039, 2003.
- \_\_\_\_\_. Novel refreshable N-halamine polymeric biocides: N-chlorination of aromatic polyamides. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 43, p. 5015-5020, 2004.
- TANI, N.; VANDRESS, M.; ANDERSON, J.M. in: D.H. Lewis (Ed.). **Controlled Release of Pesticides and Pharmaceuticals**. Plenum Press, New York, 1981.
- TASHIRO, T. Antibacterial and bacterium adsorbing macromolecules. **Macromolecular Material and Engineering**, v. 286, n. 2, p. 63-87, 2001.
- TEERI, T.T.; BRUMER, H.; DANIEL, G.; GATENHOLM, P. Biomimetic engineering of cellulose-based materials. **Trends in Biotechnology**, v.25, p. 299-306, 2007.
- TEIXEIRA, V.G.; COUTINHO, F.M.B. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.
- THIEL, J.; PAKSTIS, L.; RAFFI, M.; NI, C.; POCHAN, D.J.; SHAH, S.I. Antibacterial properties of silver-doped titania. **Antibacterial Surfaces**, v. 3, n. 5, p. 799-803 , 2007.
- THOME, J.; HOLLANDER, A.; JAEGER, W.; TRICK, I.; OEHR, C. Ultrathin antibacterial polyammonium coatings on polymer surfaces. **Surf. Coat. Technol.**, v. 174-175, p. 584-587, 2003.
- TILLER, J. C.; LIAO, C. J.; LEWIS, K.; KLIBANOV, A. M. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.98, p. 5981-5985, 2001.
- VEGERA, A.V.; ZIMON, A.D. Synthesis and physicochemical properties of silver nanoparticles stabilized by acid gelatin. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 79, n. 9, p. 1403-1406, 2006.
- WAYMAN, M.; SALAMAT, H.; DEWAR, E. J. Chlorine Exchange Resins. **Can. J. Chem. Eng.**, v. 46, p. 282-287, 1968.

- WILLIAMS, J. F.; SUESS, J.; SANTIAGO, J.; CHEN, Y.; WANG, J.; WU, R.; WORLEY, S. D. Antimicrobial Properties of Novel N-Halamine Siloxane Coatings. **Surf. Coat. Int. Part B: Coat. Trans.**, v. 88, p.35-39, 2005.
- WORLEY, S. D.; WILLIAMS, D. E. Halamine Water Disinfectants. **Crit.Rev. Environ. Contrl.**, v. 18, p.133-175, 1988.
- WORLEY, S. D.; SUN, G. Biocidal Polymers. **Trends in Polymer Science**, v.4, p. 364-370, 1996.
- YEO, S.Y.; JEONG, S.H. Preparation and characterization of polypropylene/silver nanocomposite fibers. *Polymer International*, v. 52, p. 1053-1057, 2003.
- YIWEI, A.; YUNXIA, Y.; SHUANGLONG, Y.; LIHUA, D.; GUORONG, C. Preparation of spherical silver particles for solar cell electronic paste with gelatin protection. **Materials Chemistry and Physics**, v. 104, p. 158-161, 2007.
- ZHANG, Z.; ZHAO, B.; HU, L. PVP protective mechanism of ultrafine silver powder synthesized by chemical reduction processes. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 121, p. 105-110, 1996.

## **ANEXO – Curvas de TGA e DTG**

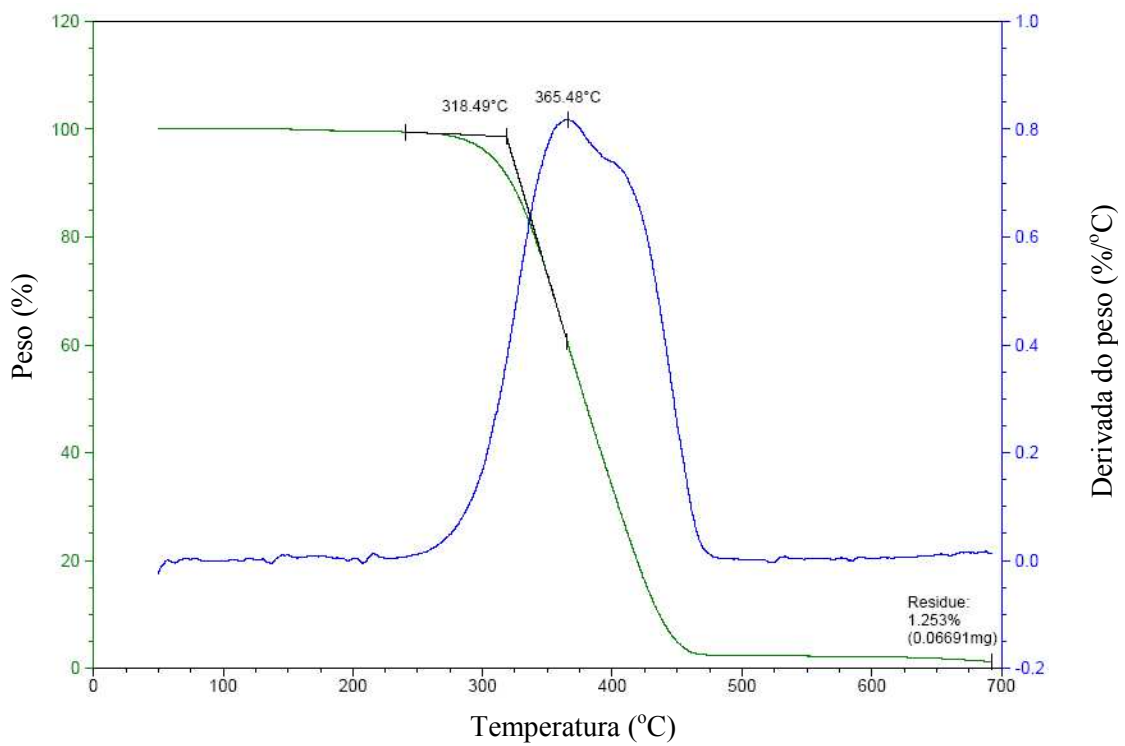


Figura A.1 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero RA

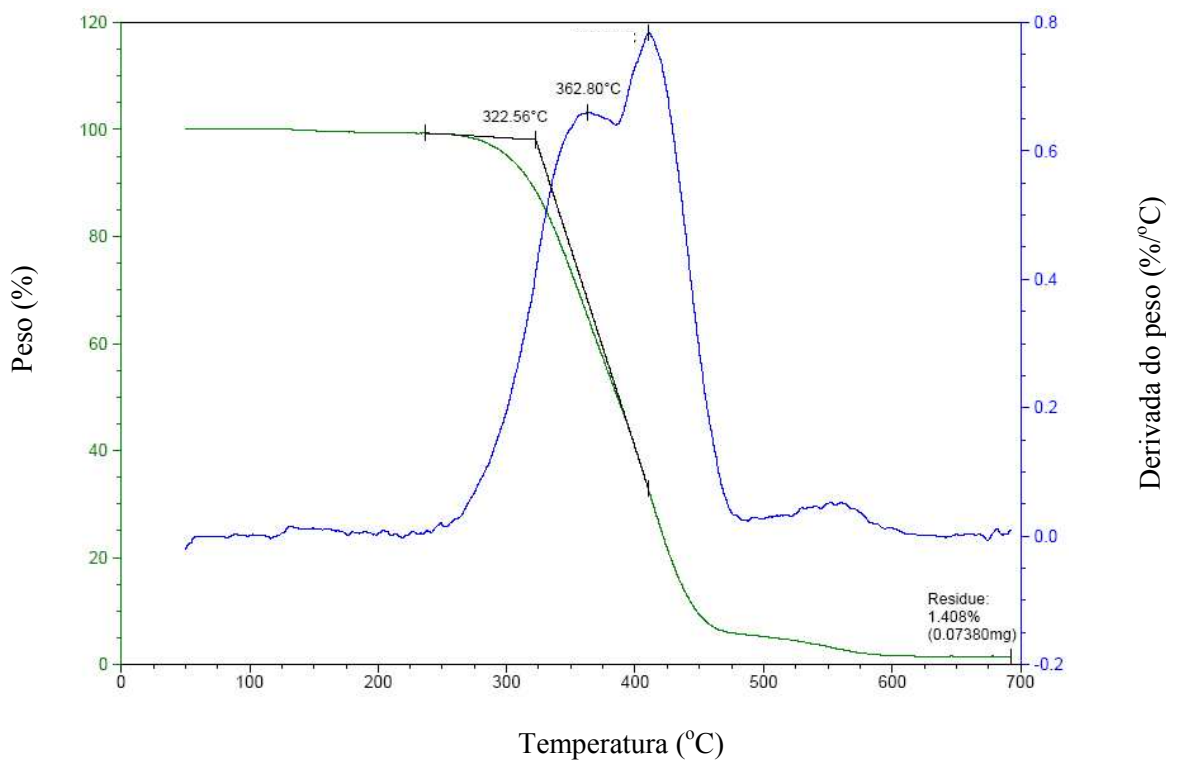


Figura A.2 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero RB

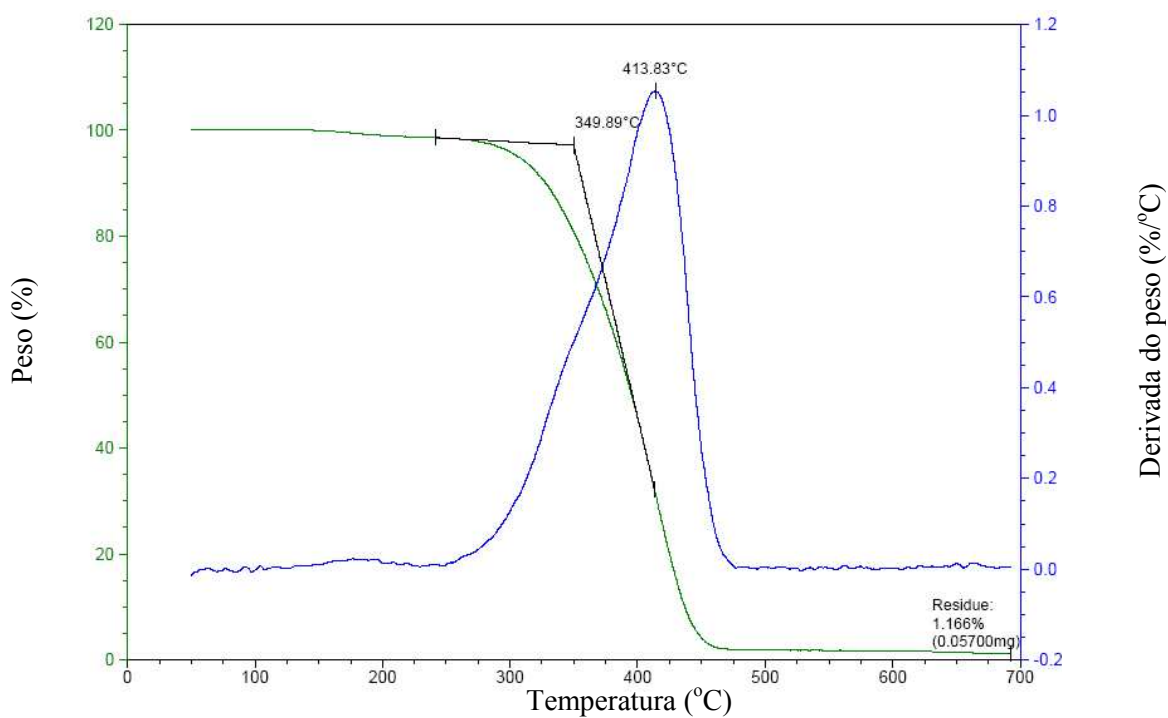


Figura A.3 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero RC

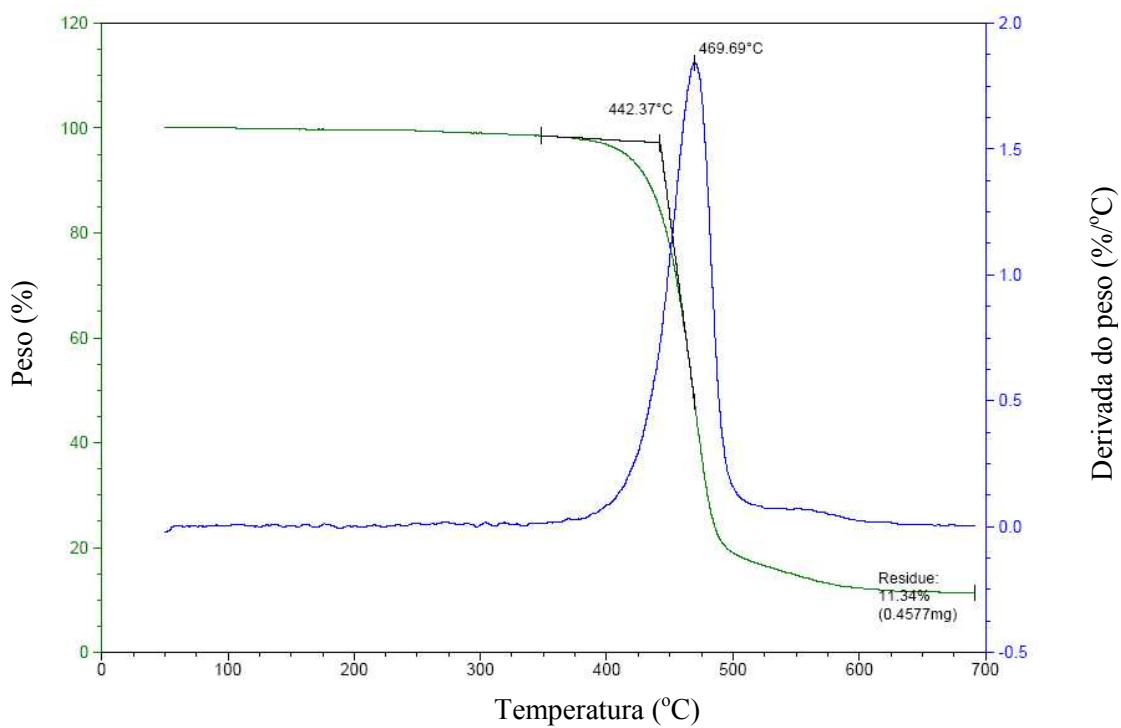


Figura A.4 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero XAD

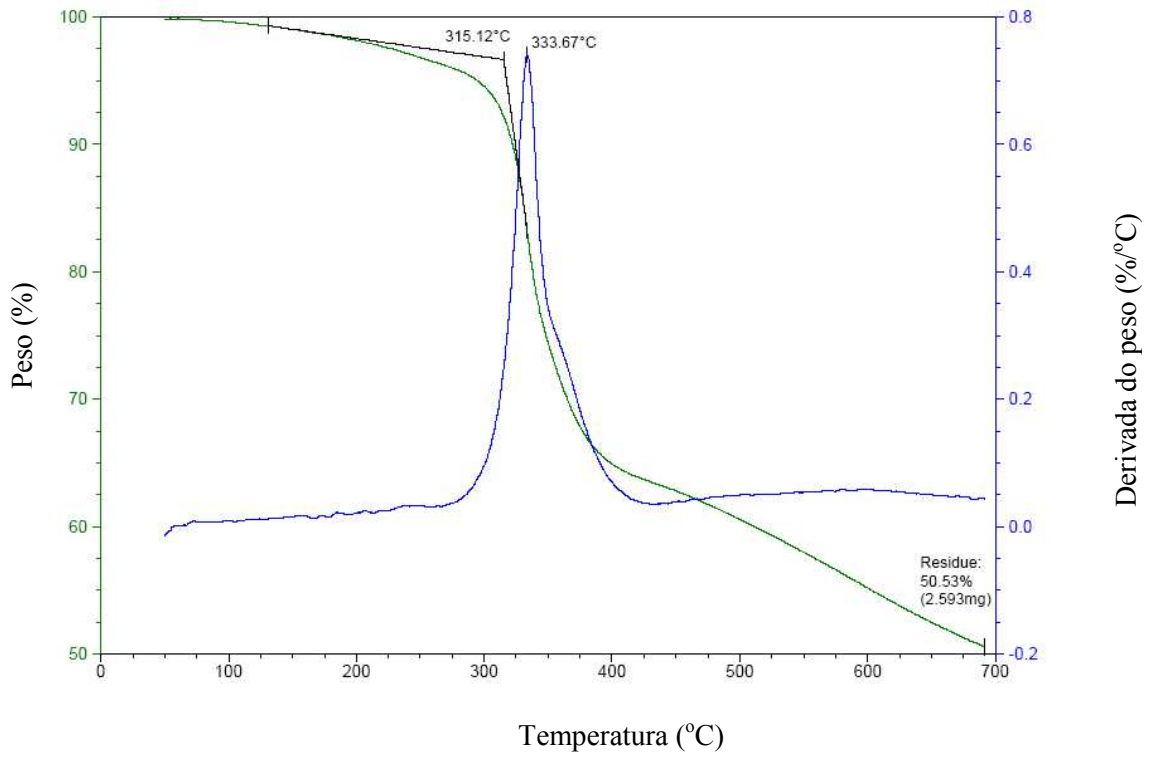


Figura A.5 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero A-NO<sub>2</sub>

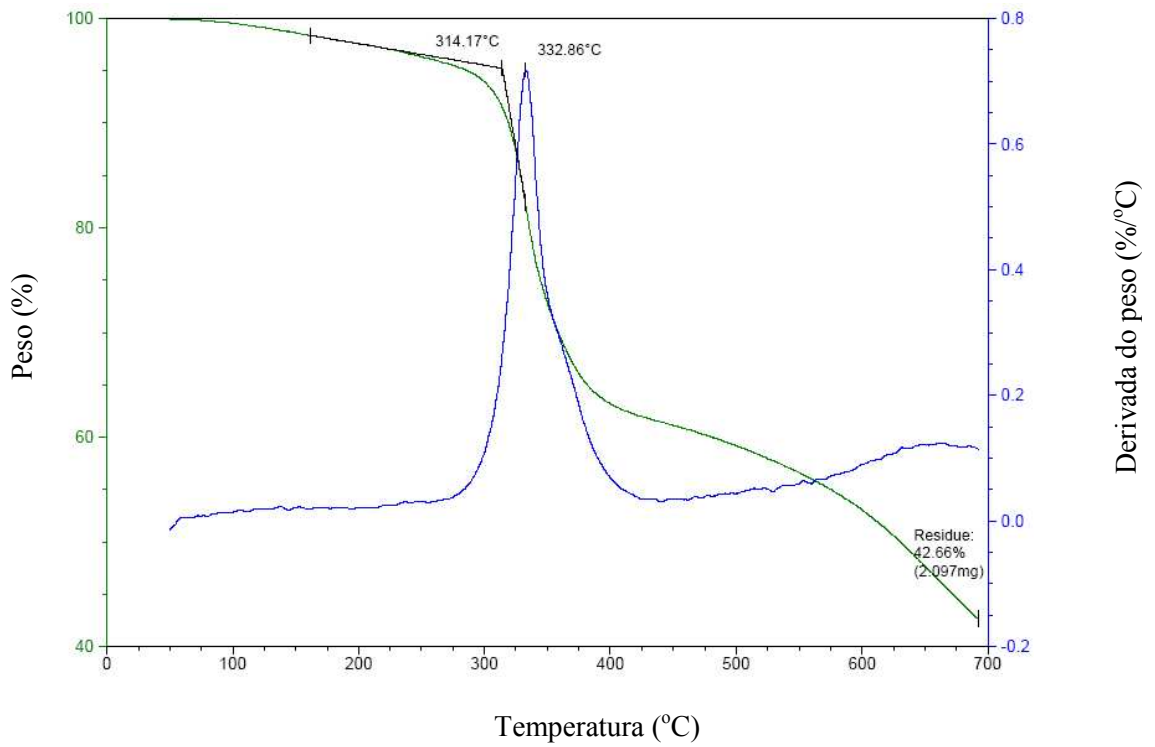


Figura A.6 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero B-NO<sub>2</sub>

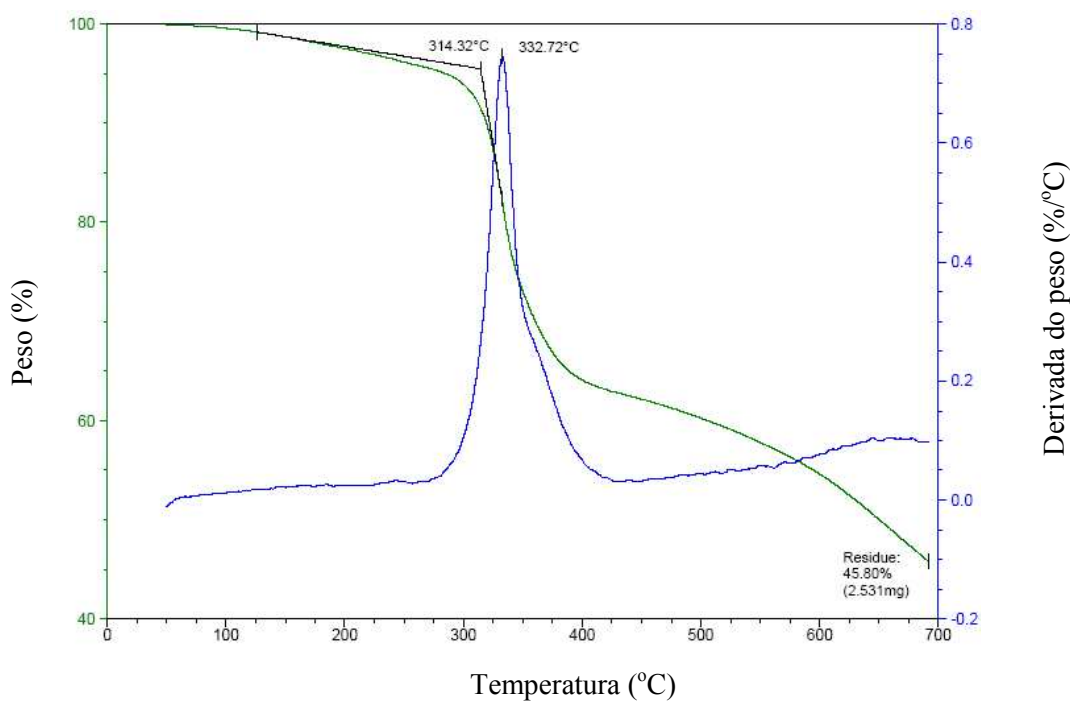


Figura A.7 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero C-NO<sub>2</sub>

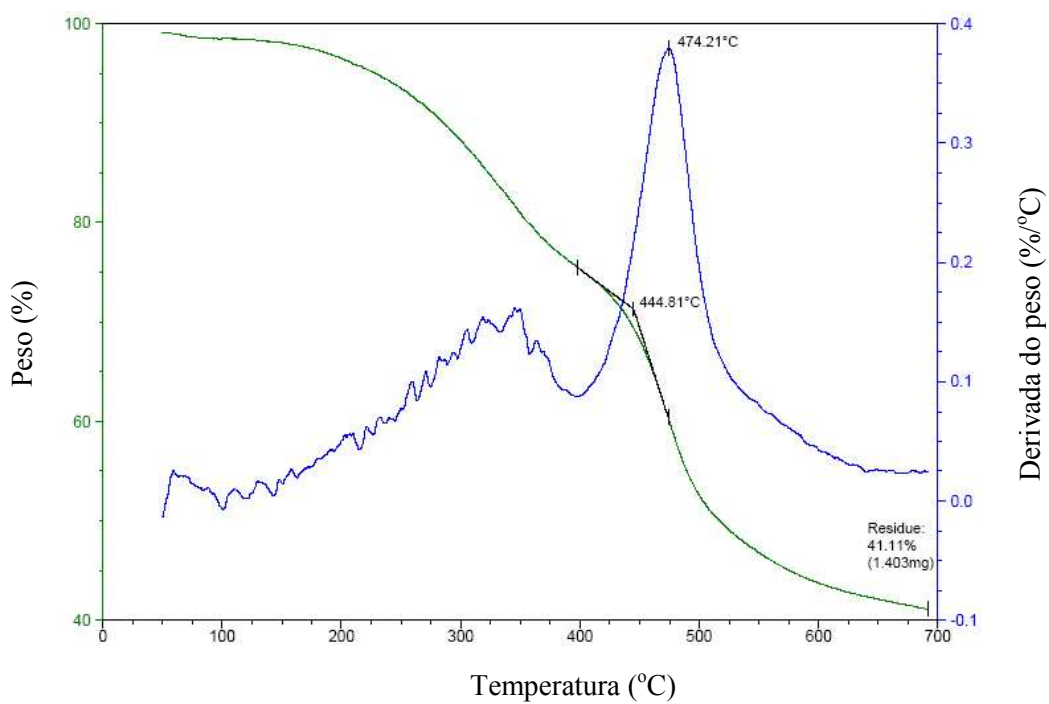


Figura A.8 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero XAD-NO<sub>2</sub>



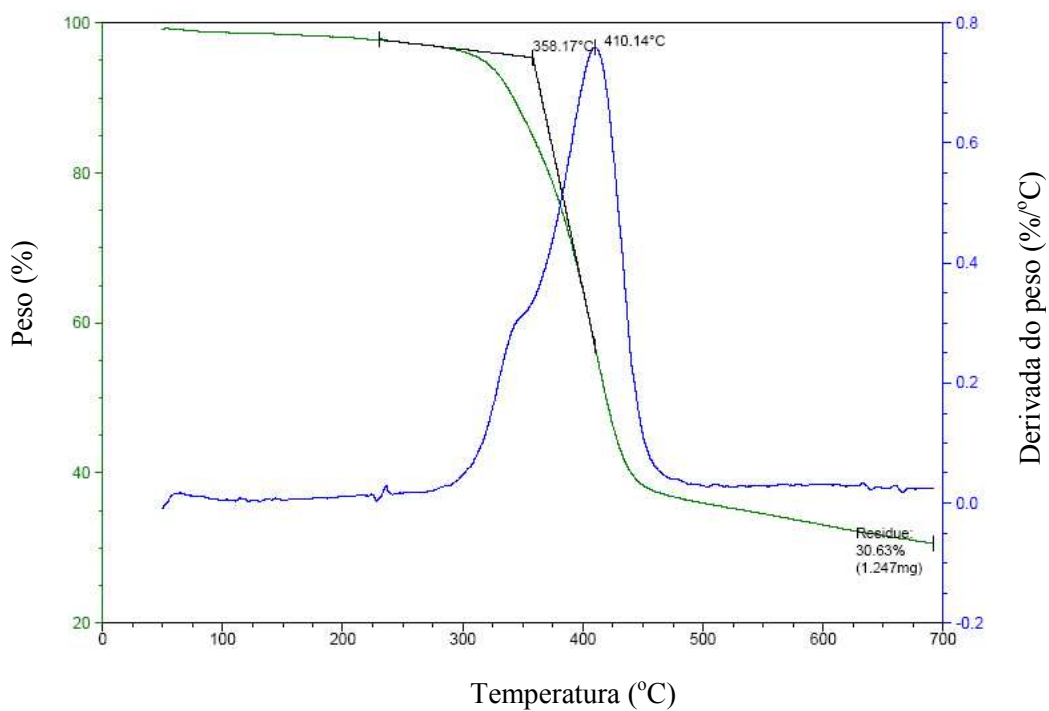


Figura A.9 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero A-NH<sub>2</sub>

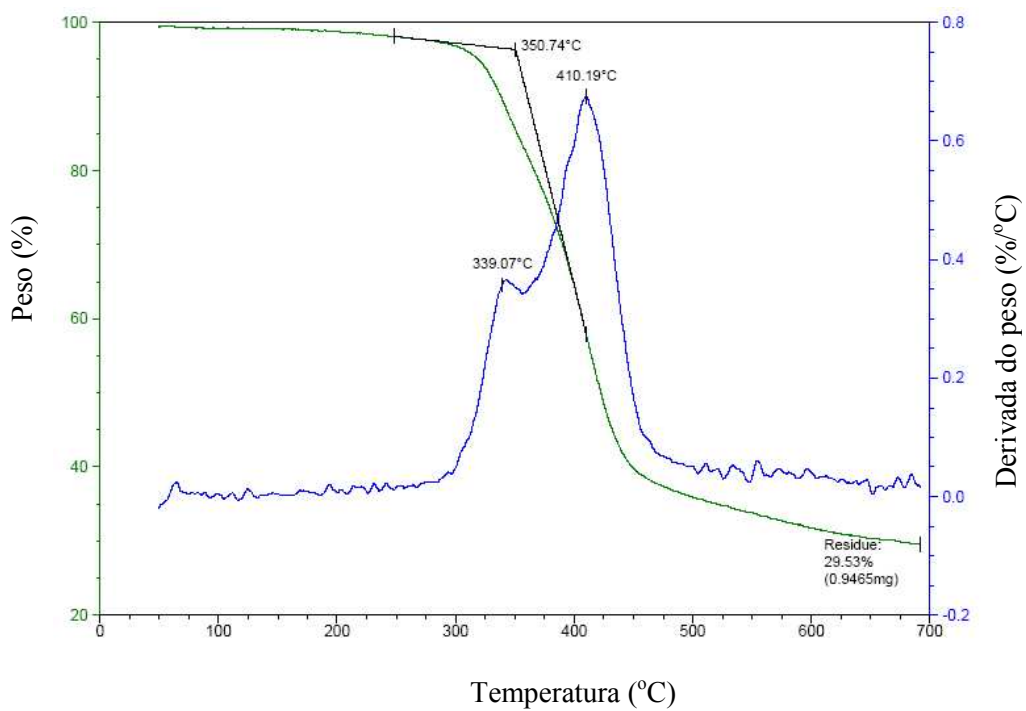


Figura A.10 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero B-NH<sub>2</sub>

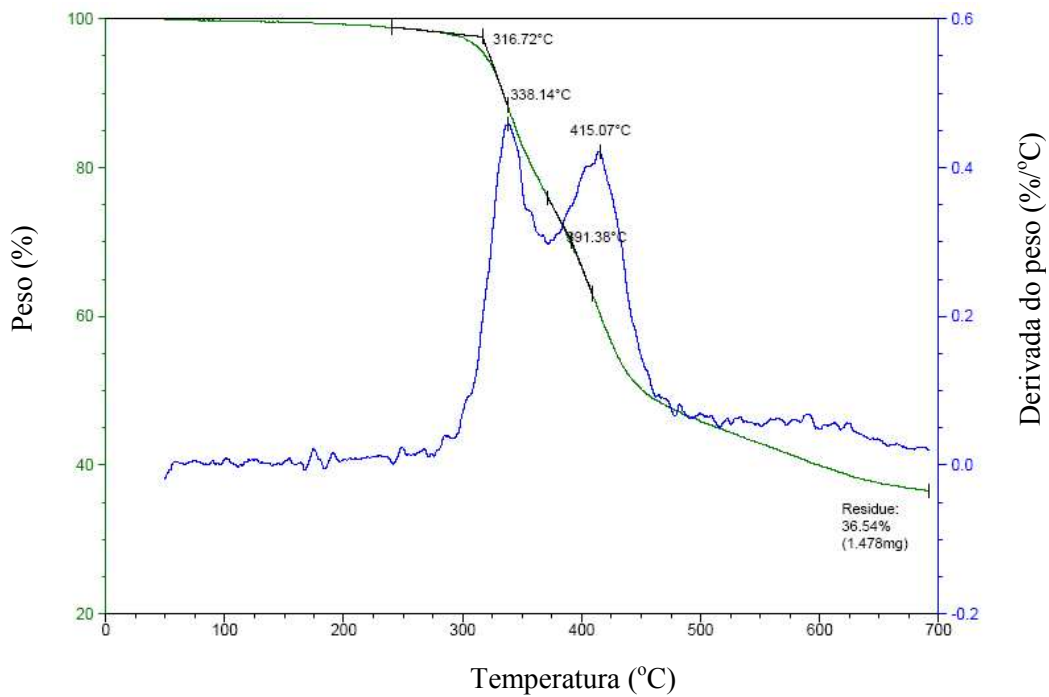


Figura A.11 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero C-NH<sub>2</sub>

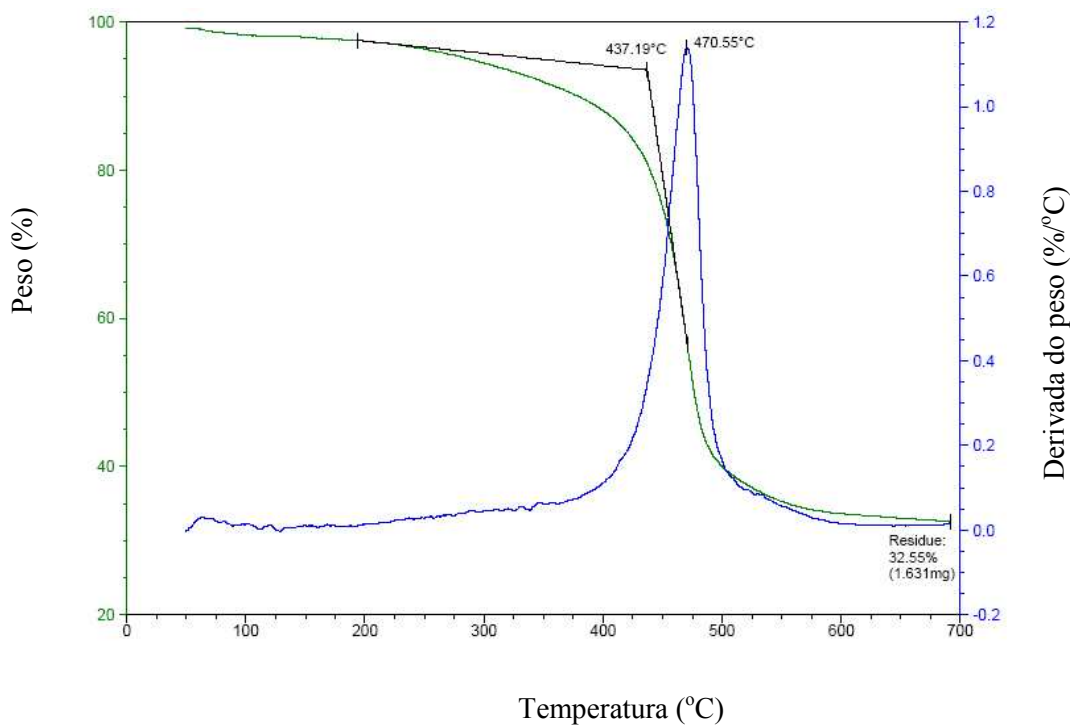


Figura A.12 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero XAD-NH<sub>2</sub>

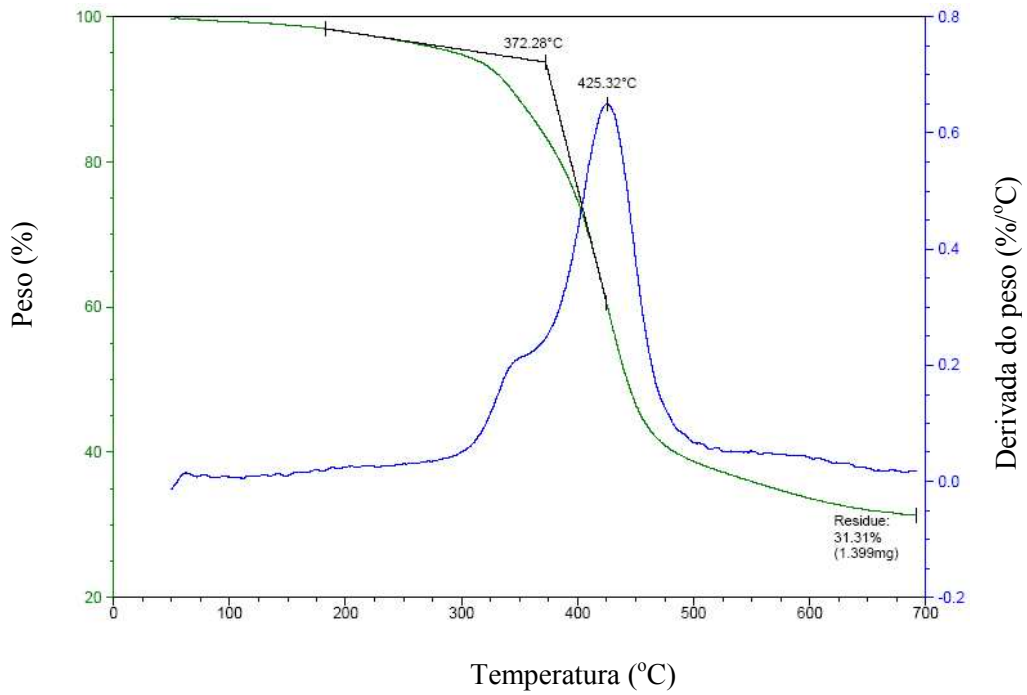


Figura A.13 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero A-OH

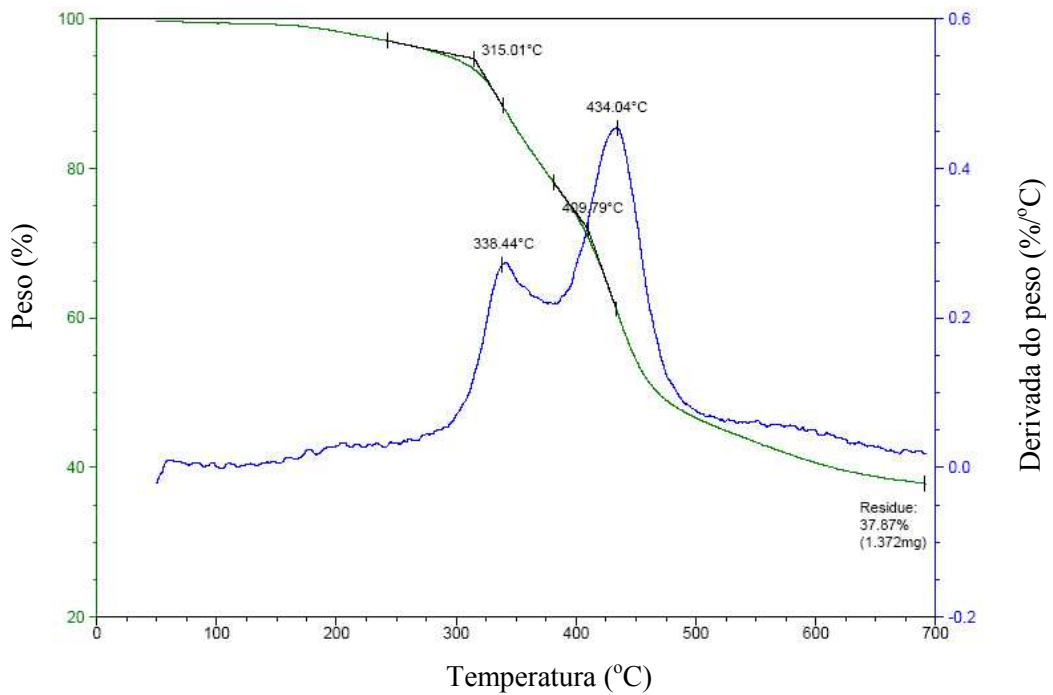


Figura A.14 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero B-OH

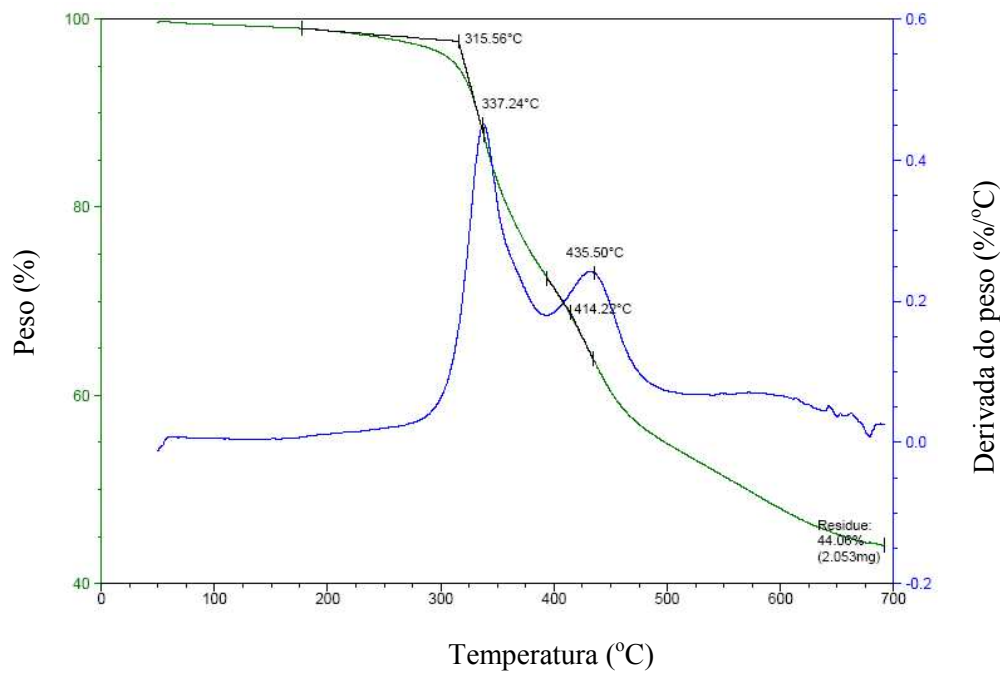


Figura A.15 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero C-OH

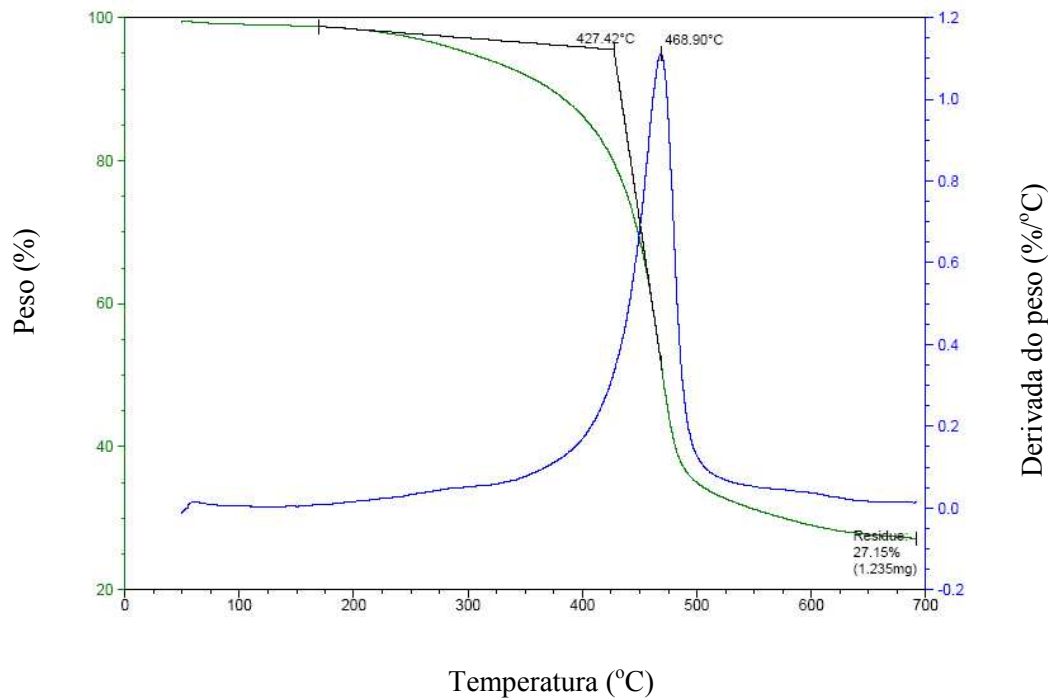


Figura A.16 – Curvas de TGA e DTG para o copolímero XAD-OH

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)