



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

Aline Sol da Silva Valle

**Síntese, caracterização e avaliação da capacidade bactericida de  
copolímeros à base de 2-vinilpiridina funcionalizados**

Rio de Janeiro  
2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Aline Sol da Silva Valle

**Síntese, caracterização e avaliação da capacidade bactericida de copolímeros à base de 2-vinilpiridina funcionalizados**

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.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr. Mônica Regina da Costa Marques

Rio de Janeiro

2009

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

V181	<p>Valle, Aline Sol da Silva. Síntese, caracterização e avaliação da capacidade bactericida de copolímeros à base de 2-vinilpiridina funcionalizado. / Aline Sol da Silva Valle. - 2009. 117 f.</p> <p>Orientador : Mônica Regina da Costa Marques. Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Química.</p> <p>1. Polímeros - Teses. 2. Agentes antibacterianos – Teses. 3. Copolímeros – Teses. I. Marques, Mônica Regina da Costa. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Química. III. Título.</p> <p>541.6</p>	CDU
------	---	-----

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

---

Assinatura

---

Data

Aline Sol da Silva Valle

**Síntese, caracterização e avaliação da capacidade bactericida de copolímeros à base de  
2-vinilpiridina funcionalizados**

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.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Mônica Regina da Costa Marques (Orientadora)  
Departamento de Química Orgânica da UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz Claudio de Santa Maria  
Departamento de Química Orgânica da UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Luciana da Cunha Costa  
Departamento de Química Orgânica da UERJ

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Edwin Gonzalo Azero Rojas  
Departamento de Ciências Naturais da UNIRIO

Rio de Janeiro  
2009

## **DEDICATÓRIA**

A todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho, em especial à minha família por todo amor e compreensão.

## AGRADECIMENTOS

- A Deus, por estar sempre ao meu lado, tanto nos momentos de dificuldades como nos de alegria, por trazer a paz ao meu coração nos momentos de tribulações, por ter permitido que eu chegasse até aqui, me ajudando a superar todas as barreiras. A Ele toda honra e toda glória.
- Aos que tanto amo, meus pais Vera e Jorge, minhas irmãs Daniele e Vanessa, por todo apoio, amor e colaboração.
- Ao meu namorado Rodrigo pelo carinho, amor, dedicação, atenção e por sempre me compreender.
- A minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Mônica Regina da Costa Marques pela orientação, oportunidade, confiança, amizade e por acreditar em mim.
- A querida amiga Ana Lucia, com quem tive o prazer de trabalhar e dividir o espaço no laboratório; pelos momentos de alegrias e tristezas que juntas dividimos a cada reação que dava certo ou errado; por sempre poder contar com seu ombro amigo.
- Ao Prof. Luiz Claudio de Santa Maria pelos esclarecimentos, orientação e amizade.
- Aquela a quem posso chamar de anjo, Luciana da Cunha, pela atenção, dedicação, amizade, paciência, pelo apoio e conhecimentos transmitidos e por acreditar em mim.
- A amiga e aluna de iniciação científica Camila Lopes, pela amizade e dedicação, por ser uma aluna com quem sempre pude contar e confiar.
- Às amigas Adriana Azedias e Karine Pires pelo apoio e amizade desde a época da graduação.
- Aos alunos de iniciação científica Philippe Campos, Felipe, Leandro, Dominique e Lusiana.

- Aos amigos do Laboratório de Tecnologia Ambiental: Dolores, Simone Simplício, Maria Elena, Sílvio, Eduardo, Soraia, Alexandre, Érica e Luciana.
- Ao Departamento de Tecnologia de Processos Bioquímicos: Prof. Fábio Merçon, Prof<sup>a</sup>. Márcia Gonçalves e aos técnicos de laboratório Flávia e Veiga.
- Ao amigo José Luiz Mazzei do Laboratório de Mutagênese Ambiental do IBRAG/UERJ pelos esclarecimentos e auxílio no tratamento estatístico dos dados experimentais.
- Aos professores Luiz Claudio de Santa Maria, Edwin Gonzalo Azero Rojas e à professora Luciana da Cunha Costa por aceitarem o convite para participar da banca examinadora.
- À Rita Maria Pinho Sá do Laboratório de Caracterização Instrumental I (IQ/UERJ) pelas análises de espectrometria na região do infravermelho (FTIR).
- À Lorna do Laboratório de Caracterização Instrumental I (IQ/UERJ) pelas análises termogravimétricas (TGA).
- Ao Dr. Daniel Vidal Pérez da Embrapa Solos pelas análises de CHN.
- Ao Eduardo Castello Branco do Laboratório de Caracterização Instrumental II (IQ/UERJ) pelas análises de ASAP.
- À Prof<sup>a</sup>. Márcia Amorim, Flávia e Lessandra pelo auxílio nas análises de microscopia ótica.
- À prof<sup>a</sup>. 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 corpo docente do curso de Pós-graduação em Química.

- Aos colegas do curso de Mestrado em Química.
- À secretária da Pós- Graduação, Marize e aos funcionários do IQ-UERJ e da biblioteca do IQ-UERJ.
- À CAPES, FAPERJ, CNPQ e UERJ, pelos auxílios concedidos.
- A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho, muito obrigada!

## RESUMO

Neste trabalho, dois copolímeros à base de 2-vinilpiridina (2Vpy), estireno (Sty) e divinilbenzeno (DVB) foram sintetizados empregando a técnica de polimerização em suspensão aquosa via radical livre. Os copolímeros com diferentes características morfológicas foram preparados variando a composição da mistura diluente, constituída por tolueno e n-heptano, solventes solvatantes e não solvatantes para as cadeias poliméricas. A caracterização estrutural desses materiais foi feita através de medidas de área específica, volume de poros, diâmetro médio de poros e densidade aparente. Além disso, esses materiais foram avaliados por microscopia ótica e eletrônica de varredura, por espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), análise termogravimétrica (TGA) e análise elementar. Os copolímeros Sty-DVB-2Vpy foram modificados quimicamente através de reação de quaternização das unidades de 2Vpy usando dois reagentes: iodeto de metila e acrilonitrila. A quaternização dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy foi confirmada através de espectroscopia de infravermelho, pelo aparecimento das bandas de absorção características do íon peridíneo e do grupo nitrila e também pela análise do comportamento térmico. Os produtos dessas reações foram submetidos à avaliação da capacidade bactericida através do método de contagem em placas contra suspensão de *Escherichia coli*. O copolímero do tipo gel quaternizado com iodeto de metila apresentou a maior ação bactericida registrada, com eficiência até a concentração de  $10^4$  células/mL. Contudo, a maioria dos materiais quaternizados não apresentou ação biocida significativa. Com o objetivo de maximizar a atividade bactericida dos materiais preparados, os copolímeros quaternizados e não quaternizados foram impregnados com iodo por meio de duas metodologias: em solução e em fase vapor. O teor de iodo incorporado foi quantificado por análise gravimétrica. Foi possível observar que os copolímeros quaternizados e impregnados com iodo se mostraram mais eficientes como agentes bactericidas que os copolímeros não funcionalizados impregnados com iodo. De uma forma geral, foi possível perceber que a ação bactericida dos polímeros é fruto da associação entre as suas características de porosidade, o grau de quaternização alcançado e o teor de iodo incorporado. Para efeito de comparação foram feitos também ensaios bactericidas com uma resina comercial à base de Sty-DVB com grupo amônio quaternário, VP OC 1950. Os testes mostraram que a resina comercial não possui atividade bactericida. A impregnação de iodo a essa resina comercial forneceu um material com ação biocida semelhante à do copolímero do tipo gel, quaternizado com iodeto de metila e impregnado com iodo.

Palavras-chave: polímeros biocidas, copolímeros de estireno-divinilbenzeno-vinilpiridina, tratamento de águas, quaternização, iodo.

## ABSTRACT

In this work two 2-Vinylpyridine-Styrene-Divinylbenzene copolymers with different porosity degrees were synthesized by aqueous suspension polymerization in the presence of diluent mixtures formed by toluene (solvating solvent) and n-heptane (nonsolvating solvent) in different proportions. Their structural characteristics were characterized by determination of surface area, average pore diameter and pore volume by BET/BJH, bulk density, optical and electron microscopies. In addition the chemical morphology those materials were characterized by FT-IR, elemental analysis and thermogravimetry. The pyridine units were quaternized using two reagents: methyl iodide and acrylonitrile. Those reactions were confirmed by FT-IR, the presence of characteristics bands of piridinium ion and nitrile group was used as a qualitative indication of the quaternizations reactions. The extension of those modifications was also evaluated by thermogravimetry. The antibacterial activities of the quaternized materials were determined towards  $10^3$  to  $10^7$  cells/mL dilutions of the auxotrophic (OHd5 – k-12) *Escherichia coli* strain. The gel type copolymer quaternized with methyl iodide presented the better bactericidal action, with significant efficiency until  $10^4$  cells/mL, however most quaternized copolymers did not present significant bactericidal action. In order to maximize the bactericidal performance, the modified and unmodified copolymers were impregnated with iodine using two different methods: solution and vapor. The iodine incorporation was quantified by gravimetry. It was observed that the copolymers quaternized and impregnated with iodine presented higher biocidal action than the unmodified copolymers impregnated with iodine. It was verified that the biocidal action the polymers is a result of three contributions: porous characteristics of the supports, quaternization degree and iodine incorporation degree. The bactericidal performance of a commercial resin with quaternary ammonium groups, VP OC 1950, was also evaluated. The tests showed that the commercial resin did not present bactericidal efficiency. That resin impregnated with iodine presented bactericidal action similar to gel type copolymer quaternized with methyl iodide and impregnated with iodine.

**Key Words:** Biocidal polymers, styrene-divinylbenzene-vinylpyridine copolymers, wastewater treatment, iodine, impregnation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Etapas de síntese das pérolas de poly1-Cl.....	31
Figura 2	Efeito do teor do grupo piridínico do poli(brometo de N-benzil-4-vinilpiridina) no coeficiente de remoção de <i>E. coli</i> .....	33
Figura 3	Estrutura da resina polimérica à base de amônio quaternário insolúvel..	35
Figura 4	Eficiência antibacteriana dos polímeros graftizados com diferentes grupos amônio em função do tempo de contato.....	35
Figura 5	Penetração do grupo amônio dentro da célula bacteriana.....	36
Figura 6	Processo de preparação das microsferas com superfície bactericida permanente.....	37
Figura 7	Decréscimo do número de células viáveis, em função do tempo de contato de células <i>E. coli</i> com as microsferas de PVBC-1, PVBC-3 (R= C <sub>12</sub> H <sub>25</sub> ) e PVBC-3 (R= C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> ).....	38
Figura 8	Atividade antibacteriana em função da massa de QPVpAM/SiO <sub>2</sub> .....	39
Figura 9	Atividade antibacteriana de QPVpAM/SiO <sub>2</sub> com diferentes graus de graftização em função do tempo de contato.....	40
Figura 10	Efeito do agente de quaternização na atividade antibacteriana.....	41
Figura 11	Rota de síntese química do SMA-AP.....	42
Figura 12	Reação da síntese dos copolímeros à base de 2-vinilpiridina e estireno reticulados com divinilbenzeno.....	47
Figura 13	Esquema do reator de polimerização em suspensão aquosa.....	48
Figura 14	Espectro de FTIR dos copolímeros A e B à base de 2-vinilpiridina.....	59
Figura 15	Micrografias de microscopia ótica dos copolímeros com 75x de magnitude; a) Copolímero A (30% de n-heptano); b) Copolímero B (50% de n-heptano).....	63
Figura 16	Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos copolímeros com 5000x de magnitude; a) copolímero A (30% de n-heptano); b) copolímero B (50% de n-heptano).....	64
Figura 17	Curvas de TGA (a) e DTG (b) dos copolímeros de partida A e B.....	66

Figura 18	Síntese do N-benzil-N,N-dimetiloctano-1-brometo de amônio.....	68
Figura 19	Reação de quaternização do nitrogênio das unidades de piridina dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy com iodeto de metila.....	68
Figura 20	Espectro de infravermelho do copolímero B e seu derivado quaternizado 1B (em pequena escala).....	69
Figura 21	Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com iodeto de metila em grande escala (1B).....	70
Figura 22	Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímero B e de seu derivado quaternizado com iodeto de metila (1B).....	71
Figura 23	Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com iodeto de metila (1A).....	72
Figura 24	Curvas de TGA (a) e DTG do copolímero (b) A e de seu derivado quaternizado com iodeto de metila (1A).....	73
Figura 25	Reação de quaternização do nitrogênio das unidades de piridina dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy com acrilonitrila.....	74
Figura 26	Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à reação de quaternização com acrilonitrila.....	75
Figura 27	Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à segunda tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila por 24h.....	76
Figura 28	Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à de reação de quaternização com acrilonitrila por 48h.....	77
Figura 29	Espectro de infravermelho do copolímero B submetido á reação de quaternização com acrilonitrila por 72h.....	78
Figura 30	Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com acrilonitrila em grande escala (2B).....	79
Figura 31	Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímero B e de seu derivado quaternizado com acrilonitrila (2B).....	80
Figura 32	Espectro de infravermelho do copolímero A submetido a reação de quaternização com acrilonitrila.....	81
Figura 33	Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à segunda tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila.....	82
Figura 34	Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à terceira tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila.....	83

Figura 35	Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à quarta tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila.....	83
Figura 36	Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com acrilonitrila em grande escala (2A).....	84
Figura 37	Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímero A e de seu derivado quaternizado com acrilonitrila (2A).....	86
Figura 38	Grau de inchamento dos copolímeros de partida (A e B) e de seus derivados quaternizados (1A e 1B: iodeto de metila; 2A e 2B: acrilonitrila) em água.....	87

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Contagem de microrganismos em relação ao fluxo de água após passar pela coluna.....	29
Tabela 2	Eficiência bactericida das pérolas de poly1-Cl e poly1-Br.....	32
Tabela 3	Efeito do grau de reticulação da resina quaternizada com brometo de benzila no coeficiente de remoção de <i>Escherichia coli</i> .....	34
Tabela 4	Redução do número de células de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> após 24h em contato com AP e SMA-AP.....	42
Tabela 5	Parâmetros de síntese dos copolímeros à base de Sty-DVB-2Vpy.....	49
Tabela 6	Principais absorções no espectro de infravermelho dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy.....	60
Tabela 7	Teor de nitrogênio incorporado aos copolímeros.....	61
Tabela 8	Caracterização da porosidade dos copolímeros sintetizados.....	62
Tabela 9	Grau de inchamento dos copolímeros.....	65
Tabela 10	Características térmicas dos copolímeros sintetizados.....	67
Tabela 11	Ação bactericida dos copolímeros de partida contra suspensão de <i>E. coli</i> .....	88
Tabela 12	Ação bactericida dos copolímeros A e B quaternizados com iodeto de metila contra suspensão de <i>E. coli</i> .....	88
Tabela 13	Ação bactericida dos copolímeros A e B quaternizados com acrilonitrila contra suspensão de <i>E. coli</i> .....	89
Tabela 14	Grau de impregnação de iodo nos copolímeros quaternizados e não quaternizados.....	91
Tabela 15	Ação bactericida dos copolímeros impregnados com iodo contra suspensão de <i>E. coli</i> .....	93
Tabela 16	Ação bactericida da resina comercial (VP OC 1950) e de seus derivados impregnados com iodo contra suspensão de <i>E. coli</i> .....	96

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASAP	Analisador Automático de Adsorção Física Micromeritics
AIBN	Azo-bis-isobutironitrila
ATRP	Polimerização radicalar via transferência de átomo
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
Copolímero Sty-DVB-2Vpy	Copolímero à base de 2-vinilpiridina, estireno e divinilbenzeno
Copolímero A	Copolímero do tipo gel
Copolímero 1A	Copolímero A quaternizado com iodeto de metila
Copolímero 2A	Copolímero A quaternizado com acrilonitrila
Copolímero B	Copolímero mesoporoso
Copolímero 1B	Copolímero B quaternizado com iodeto de metila
Copolímero 2B	Copolímero B quaternizado com acrilonitrila
$d_{ap}$	Densidade aparente
D	Diâmetro médio de poros
DRD	Demand release disinfectants
DVB	Divinilbenzeno
DTG	Derivada termogravimétrica
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ETA	Estação de tratamento de água
FA	Fase aquosa
FO	Fase orgânica
FTIR	Espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier
HEC	2-Hidroxietilcelulose
Hep	Heptano
I	Grau de inchamento
IPCD	Insoluble polymeric contact disinfectants
MMA	Metacrilato de metila
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MO	Microscopia ótica
MPS	Metacriloilpropila
OMS	Organização Mundial de Saúde

ONU	Organização das Nações Unidas
poly1-Br	poli[1,3-dibromo-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína]
poly1-Cl	poli[1,3-dicloro-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína]
PP	Polipropileno
PVBC	poli(cloreto de 4-vinilbenzil)
PVpAM	poli(4vinilpiridina-co-acrilamida)
S	Área específica
SPD	Subprodutos da desinfecção
Sty	Estireno
T <sub>d</sub>	Temperatura de degradação
TGA	Análise termogravimétrica
THM	tri-Halometanos
Tol	Tolueno
V	Volume de poros
VAZO 67	2,2'-azo-bis (2-metil-butanonitrila)
2Vpy	2-Vinilpiridina

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1	<b>OBJETIVO</b> .....	19
1.1	<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	19
2	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	20
2.1	<b>Recurso Hídrico</b> .....	20
2.2	<b>Desinfecção de águas</b> .....	22
2.3	<b>Mecanismo de ação biocida</b> .....	23
2.4	<b>Agentes desinfetantes</b> .....	25
2.5	<b>Processos alternativos de desinfecção</b> .....	27
2.6	<b>Polímeros biocidas</b> .....	28
3	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	44
3.1	<b>Produtos químicos</b> .....	44
3.2	<b>Equipamentos</b> .....	45
3.3	<b>Procedimentos</b> .....	47
3.3.1	<u>Síntese dos copolímeros à base de 2-vinilpiridina</u> .....	47
3.3.2	<u>Caracterização físico-química dos copolímeros</u> .....	49
3.3.2.1	Determinação da densidade aparente.....	49
3.3.2.2	Determinação da área específica, diâmetro médio do poro e volume do poro..	50
3.3.2.3	Microscopia ótica e eletrônica de varredura.....	50
3.3.2.4	Grau de inchamento.....	51
3.3.2.5	Análise elementar.....	51
3.3.2.6	Análise espectrofotométrica na região do infravermelho.....	52
3.3.2.7	Análise termogravimétrica.....	52
3.3.3	<u>Modificação química dos copolímeros</u> .....	52
3.3.3.1	Quaternização das unidades de piridina com iodeto de metila.....	52
3.3.3.2	Quaternização das unidades de piridina com acrilonitrila.....	53
3.3.4	<u>Caracterização físico-química dos copolímeros modificados</u> .....	54
3.3.5	<u>Impregnação de iodo nos copolímeros sintetizados e seus derivados quaternizados</u> .....	54
3.3.6	<u>Avaliação da capacidade de redução do número de células viáveis</u> .....	55

4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	58
4.1	<b>Síntese e caracterização dos copolímeros à base de 2-vinilpiridina</b> .....	58
4.1.1	<u>Síntese e caracterização química</u> .....	58
4.1.2	<u>Caracterização da estrutura física</u> .....	61
4.1.3	<u>Estabilidade térmica dos copolímeros</u> .....	65
4.2	<b>Modificação química dos copolímeros à base de vinilpiridina</b> .....	67
4.2.1	<u>Modificação dos copolímeros com iodeto de metila</u> .....	67
4.2.1.1	Modificação do copolímero poroso B.....	68
4.2.1.2	Modificação do copolímero gel A.....	72
4.2.2	<u>Modificação dos copolímeros com acrilonitrila</u> .....	74
4.2.2.1	Modificação do copolímero poroso B.....	74
4.2.2.2	Modificação do copolímero gel A.....	81
4.3	<b>Avaliação da atividade bactericida</b> .....	87
4.4	<b>Impregnação de iodo nos copolímeros quaternizados e não quaternizados</b> .....	90
4.5	<b>Avaliação da atividade bactericida dos copolímeros impregnados com iodo</b> .....	92
4.6	<b>Avaliação da atividade bactericida da resina comercial VP OC 1950</b> .....	95
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	98
6	<b>SUGESTÕES</b> .....	100
7	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	101
	<b>ANEXO 1:</b> Espectros de infravermelho.....	106
	<b>ANEXO 2:</b> Curvas de TGA e DTG.....	112

## INTRODUÇÃO

Grande parte das atividades humanas necessita de água para se realizarem, portanto a água é um recurso ambiental essencial à vida.

Regiões urbanas produzem grandes volumes de águas residuárias de origem doméstica. Esgotos não tratados degradam rios e lagos próximos a essas regiões. No Brasil somente 20% dos esgotos municipais são tratados, produzindo um vasto processo de eutrofização de rios, represas e lagos naturais e águas costeiras (Tundisi, 2003).

Além dos problemas de degradação ambiental, os esgotos, quando lançados sem tratamento nos corpos hídricos, podem ser também responsáveis por muitas doenças denominadas doenças de veiculação hídrica. Essas doenças podem ser causadas por bactérias, fungos, vírus, protozoários e helmintos (Borsoi & Torres, 1997).

Segundo a Organização Mundial de Saúde - OMS, cerca de 85% das doenças conhecidas são de veiculação hídrica. Existem muitas informações sobre os efeitos dos recursos hídricos superficiais e subterrâneos deteriorados sobre a saúde humana. Há diversas doenças de veiculação hídrica que são conseqüências de organismos que tem um ciclo de vida de alguma forma relacionado com águas. Estas doenças, em Continentes como América Latina, África e no Sudoeste da Ásia, matam mais pessoas que todas as outras doenças em conjunto (Tundisi, 2003).

Os processos de desinfecção têm como objetivo a destruição ou inativação de organismos patogênicos ou de outros organismos indesejáveis capazes de produzir doenças. Dessa forma a desinfecção de águas de abastecimento e esgotos sanitários é condição imprescindível para o controle de doenças veiculadas pela água (Meyer, 1994).

Há mais de um século, o cloro exerce a função de desinfetar água de consumo, contribuindo para a manutenção de sua qualidade microbiológica (Souza, 2006). No entanto, o uso do cloro como principal desinfetante de água de abastecimento, promove a formação de subprodutos da desinfecção (SPD) (Iconomopoulou et al., 2005). Os primeiros SPD detectados e estudados foram associados com o cloro, embora, atualmente, seja consenso que todos os oxidantes os produzem (Souza, 2006).

Assim, assegurar desinfecção adequada e limitar a formação de subprodutos é o grande desafio da indústria de água. O processo de desinfecção que seria o “ideal” ainda é muito questionado (Souza, 2006). Nesse contexto, pesquisas sobre processos de desinfecção alternativos despertam interesse e são realizadas em todo mundo.

Materiais poliméricos com atividade antimicrobiana têm sido desenvolvidos, durante os últimos anos, dado o crescente interesse na área da saúde (Iconomopoulou et al., 2005). Estes são, geralmente, conhecidos como polímeros biocidas.

O uso de polímeros biocidas oferece grande vantagem em relação aos agentes antimicrobianos habitualmente utilizados por serem desinfetantes insolúveis, que podem inativar, matar ou remover microrganismos por simples contato, sem passar qualquer reagente para a solução a ser desinfetada. Dessa forma, sua aplicação e recuperação é facilitada (Li et al., 2000).

Dentre os desinfetantes com essas características estão os materiais constituídos por polímeros reticulados, denominados de desinfetantes poliméricos insolúveis de contato (*IPCD*, do inglês, *insoluble polymeric contact disinfectants*), que possuem cátions ou outras cargas positivas na superfície. Estes polímeros são, principalmente, resinas de troca aniônica, incluindo as resinas que possuem grupos amônio quaternário, resinas macroporosas e macrorreticulares, resinas de políiodo e polieletrólitos insolúveis (Li et al., 2000).

Uma outra classe de polímeros biocidas é denominada de desinfetante de liberação de demanda (*DRD*, do inglês, *demand release disinfectants*). Neste caso, a matriz polimérica, em contato com meio aquoso, difunde o agente antimicrobiano que entra em contato com os microrganismos presentes no meio (Li et al., 2000).

O uso de materiais poliméricos com atividade antimicrobiana, no processo de desinfecção de água, evita problemas ambientais como a produção de compostos e subprodutos indesejáveis, provenientes das reações entre a matéria orgânica e os produtos químicos utilizados, e que geram danos à saúde humana (Kenawy, 2007).

## 1. OBJETIVO

Considerando que polímeros contendo cargas positivas em sua superfície funcionam como bons agentes biocidas, o objetivo desta dissertação de mestrado é sintetizar polímeros à base de Sty-DVB-2Vpy, modificá-los quimicamente por meio de reação de quaternização e/ou impregnação com iodo, caracterizar os materiais obtidos e avaliá-los quanto à sua capacidade bactericida. Procurou-se ao longo deste trabalho estabelecer uma correlação entre as características morfológicas dos suportes poliméricos, o grau de funcionalização e a capacidade biocida destes polímeros.

### 1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Sintetizar dois copolímeros à base de 2-vinilpiridina, com graus de porosidades diferenciados, variando o poder de solvatação da mistura diluente;
- 2) Modificar os copolímeros obtidos por meio de reação de quaternização das unidades de piridina, usando os seguintes reagentes: iodeto de metila e acrilonitrila;
- 3) Avaliar a capacidade bactericida dos copolímeros quaternizados usando suspensão de *Escherichia coli* com diferentes concentrações;
- 4) Impregnar iodo nos copolímeros quaternizados e não quaternizados, utilizando as seguintes metodologias: impregnação com iodo na presença de solvente e impregnação com iodo em fase vapor;
- 5) Verificar a influencia da morfologia e do grau de quaternização no teor de iodo incorporado aos copolímeros;
- 6) Avaliar a capacidade bactericida dos copolímeros impregnados com iodo usando suspensão de *Escherichia coli* com diferentes concentrações;
- 7) Verificar a relação entre a morfologia, o grau de quaternização e o teor de iodo incorporado sobre a capacidade bactericida dos copolímeros produzidos;
- 8) Comparar a atividade bactericida dos copolímeros produzidos com uma resina comercial do tipo amônio quaternário.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nesta seção, serão mostrados os principais agentes desinfetantes utilizados na desinfecção de águas contaminadas por microrganismos patogênicos. Dando ênfase a apresentação de polímeros biocidas, como um material alternativo para descontaminação de águas.

### 2.1. RECURSO HÍDRICO

Todas as formas de vida existentes na Terra dependem da água para sobreviver. Os usos mais comuns e freqüentes dos recursos hídricos são: água para uso doméstico, irrigação, uso industrial e hidroeletricidade. De 1900 a 2000, o uso total da água no planeta aumentou dez vezes (de 500 km<sup>3</sup>/ano para aproximadamente 5.000 km<sup>3</sup>/ano) (Tundisi, 2003).

Apesar de a maior parte da superfície da Terra ser coberta por água, somente 3% da água do planeta está disponível como água doce. Desses 3%, cerca de 75% estão congelados nas calotas polares, em estado sólido, 10% estão confinados nos aquíferos, portanto, a disponibilidade dos recursos hídricos no estado líquido é de aproximadamente 15% desses 3% (Biard, 2005). A qualidade da água também é um fator determinante na disponibilidade dos recursos hídricos, pois a contaminação de mananciais contribui para o aumento da escassez deste recurso (Braga, 2006).

Dados fornecidos pela Organização das Nações Unidas (ONU) mostram que mais de 20 países já sofrem com a falta de água, e que um bilhão de pessoas não têm acesso a um adequado abastecimento de água. Além disso, as estimativas da ONU mostram que nos próximos 25 anos, cerca de 2,5 bilhões de pessoas viverão em lugares de seca crônica. Mesmo em regiões onde estes recursos são abundantes, como é o caso do Brasil, os principais centros urbanos já sofrem com a falta de água. Contudo, apenas 10% dos países afetados sofrem escassez quantitativa de água. No restante, os problemas comprometendo a disponibilidade de água são de caráter qualitativo. A situação tende a ficar insustentável na medida em que se retira mais água ou se polui mais rápido do que a capacidade natural de recuperação dos mananciais. Nesse sentido, aproximadamente 60 a 80% da água utilizada pelo homem retorna

contaminada aos ecossistemas aquáticos. Dessa forma, a questão da disponibilidade da água não deve ser analisada apenas de forma quantitativa, mas também qualitativa (Merten, 2002).

As principais fontes de contaminação dos recursos hídricos são: esgotos de cidades sem tratamento que são lançados em rios e lagos; aterros sanitários que afetam os lençóis freáticos; os defensivos agrícolas que escoam com a chuva sendo arrastados para os rios e lagos; os garimpos que lançam produtos químicos, como o mercúrio, em rios e córregos e as indústrias que utilizam os rios como carreadores de seus resíduos tóxicos. (Bettega et al., 2006).

É fundamental que os recursos hídricos apresentem condições físicas, químicas e biológicas adequadas à sua utilização pelos organismos. O controle da poluição da água torna-se necessário para assegurar e manter níveis de qualidade compatíveis com sua utilização (Braga, 2006).

A Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) nº. 274/2000 afirma que a qualidade das águas doces deve ser avaliada como próprias ou impróprias devido à presença de organismos patogênicos na água originários do esgoto urbano, pois a saúde e o bem-estar humano dependem da sua condição de balneabilidade. Esta resolução foi importante porque estabelece a necessidade de que sejam criados instrumentos para avaliar a evolução da qualidade das águas, de forma que se possam assegurar as condições necessárias para sua utilização.

O recurso hídrico é também um dos fatores de dependência para o desenvolvimento econômico. Utilizada para inúmeros usos diretamente relacionados com a economia (regional, nacional e internacional), sua escassez impede o desenvolvimento de diversas regiões. Os usos múltiplos da água aceleram-se em todas as regiões, continentes e países. Esses usos múltiplos aumentam à medida que as atividades econômicas se diversificam e as necessidades de água aumentam para atingir níveis de sustentação compatíveis com as pressões da sociedade de consumo, a produção industrial e agrícola (Tundisi, 2003).

O aumento e a diversificação dos usos múltiplos, o extenso grau de urbanização e o aumento populacional resultaram em uma multiplicidade de impactos que exigem evidentemente diferentes tipos de avaliação, novas tecnologias de monitoramento e avanços tecnológicos no tratamento e gestão das águas.

Os resultados de todos esses impactos são muito severos para as populações humanas, afetando todos os aspectos da vida diária das pessoas, a economia regional e nacional e a saúde humana. Estas conseqüências podem ser resumidas em:

- Degradação da qualidade da água superficial e subterrânea.

- Aumento das doenças de veiculação hídrica e impactos na saúde humana.
- Diminuição da água disponível per capita.
- Aumento no custo da produção de alimentos.
- Impedimento ao desenvolvimento industrial e agrícola e comprometimento dos usos múltiplos.
- Aumento dos custos de tratamento de água (Tundisi, 2003).

A alteração adversa dos recursos hídricos pode contribuir para a degradação da qualidade ambiental. Já a degradação ambiental afeta, direta ou indiretamente, a saúde, a segurança e o bem-estar da população; as atividades sociais e econômicas; a fauna e a flora; as condições estéticas e sanitárias do meio; e a qualidade dos recursos ambientais (Borsoi & Torres, 1997).

## 2.2. DESINFECÇÃO DE ÁGUAS

A inexistência de sistemas de coleta de águas residuárias fomentou desde os tempos remotos a associação da água como veículo na disseminação de diversas enfermidades. Durante os períodos chuvosos, a lixiviação dos solos acarretava o carreamento de fezes humanas aos corpos d'água, consolidando a associação entre a turbidez e a perspectiva de transmissão de várias moléstias. Possivelmente, motivos estéticos tornaram a filtração e a decantação as formas mais antigas de tratamento de água para consumo humano, apenas com o objetivo de remoção de partículas suspensas e do odor (Daniel, 2001).

A invenção do microscópio, na virada para o século XVII, pelo cientista holandês Zacharias Jansen, possibilitou a descoberta de um mundo até então invisível ao homem, potencializado pelas descrições das estruturas celulares da matéria viva por Robert Hooke em 1664. No entanto, o trabalho do também holandês Anton Van Leeuwenhoek constituiu o grande marco da microbiologia. Leeuwenhoek descobriu em uma minúscula gota de água um mundo até então desconhecido, o mundo microbiológico, alertando pela primeira vez para as formas microscópicas de vida. Embora essas descobertas tenham ocorrido quase simultaneamente, pouco se avançou em termos de compreensão da natureza e da importância desses microrganismos ao longo dos 200 anos seguintes (Daniel, 2001).

Somente no século XIX a água foi reconhecida como meio de transmissão de doenças, com o trabalho do médico inglês John Snow.

Até o final do século XIX apenas duas doenças graves como a cólera e a febre tifóide eram conhecidas como doenças de veiculação hídrica. A partir da descoberta dos patogênicos baseada nos trabalhos de Louis Pasteur, Ferdinand Cohn e Robert Koch é que se tomou conhecimento de que muitas doenças podem ser causadas por microrganismos e que também muitos desses podem ser veiculados pela água.

No século XIX, com a industrialização, o rápido crescimento das cidades e a crescente demanda por água, os sistemas de distribuição começaram a ser construídos rapidamente. Entretanto, ainda eram rudimentares os conceitos sobre a qualidade da água.

Com o aumento da incidência de doenças de veiculação hídrica começaram a surgir as primeiras medidas, em grande escala, para o tratamento da água de consumo.

### 2.3. MECANISMO DE AÇÃO BIOCIDA

Os processos de desinfecção têm como objetivo a destruição ou inativação dos microrganismos patogênicos, realizados por intermédio de agentes físicos e/ou químicos (Meyer, 1994).

Cairns (1995) propôs que o processo de desinfecção deveria apresentar as seguintes características:

- Inativar todos os patogênicos, com obtenção de concentração de organismos viáveis abaixo do limite de detecção, ou em níveis que assegurem risco mínimo de transmissão de doenças;
- Ser pouco sensível à variação dos parâmetros físico-químicos da água;
- Não produzir subprodutos durante o processo de desinfecção;
- Inativar patogênicos mesmo na presença de material particulado na água;
- Apresentar custo acessível e facilidade para ser incorporado às demais etapas de tratamento em que seja inserido.
- Deve produzir concentração residual resistente na água, de maneira a constituir uma barreira sanitária contra eventual recontaminação antes do uso.

Não existe um desinfetante “ideal” para toda e qualquer situação, ou capaz de apresentar conjuntamente todas as características propostas por Cairns (1995). O que deve ocorrer é a avaliação criteriosa sobre as diversas tecnologias e processos de desinfecção existentes e escolher o processo que seja o mais eficaz, sob determinadas circunstâncias, às finalidades a que se destinam (Souza, 2006).

Os microrganismos podem sobreviver na água por várias semanas, em temperaturas próximas a 21°C e, em alguns casos, por vários meses, em baixas temperaturas (Cubillos, 1981). A sobrevivência desses organismos na água depende, não só da temperatura, mas também de outros fatores ecológicos, fisiológicos e morfológicos, tais como: pH, turbidez, oxigênio, nutrientes, competição com outros organismos, resistência a substâncias tóxicas, habilidade na formação de esporos (Rossin, 1987). A desinfecção não implica, necessariamente, na destruição completa de todas as formas vivas (esterilização), embora muitas vezes o processo de desinfecção seja levado até o ponto de esterilização.

A resistência de algumas espécies de microrganismos a desinfetantes específicos varia consideravelmente. Bactérias não-esporuladas são menos resistentes que as formadoras de esporos; formas encistadas e vírus podem ser bastante resistentes (Rossin, 1987).

O mecanismo de ação dos desinfetantes sobre os microrganismos pode se dar sob três formas:

- Destruição ou danificação da organização estrutural da célula – o desinfetante atua sobre os constituintes da parede celular, que são destruídos ou danificados, gerando disfunções na ação da membrana semipermeável. O desinfetante age, ainda, combinando-se com ácidos ribonucléicos, no interior do núcleo ou do citoplasma;
- Interferência no nível energético do metabolismo – ocorre pela inativação de enzimas, competição com substratos de enzimas etc.;
- Interferência na biossíntese e crescimento devido à combinação de vários mecanismos, como a síntese de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas ou células estruturais.

Os agentes antimicrobianos podem apresentar dois tipos de efeito distintos: bacteriostático e bactericida. O efeito é considerado bacteriostático quando há lesão metabólica que é reversível com a remoção do agente. Neste caso, o crescimento é inibido, mas não ocorre morte celular. Os agentes bacteriostáticos são freqüentemente inibidores de síntese protéica e atuam por ligação aos ribossomos. O efeito bactericida (germicida) promove a morte das células de duas maneiras principais: pela injúria de alguma estrutura física integrante da célula, ou interferindo com um ou mais processos metabólicos essenciais (Denyer, 1995).

Os efeitos tóxicos de numerosos agentes bactericidas são atribuídos a sua ação química sobre estruturas celulares, especialmente a membrana celular. A membrana celular não só preserva a integridade da célula impedindo o escoamento de constituintes citoplasmáticos para o meio externo, mas atua também no transporte ativo de nutrientes para o interior da célula. Assim, qualquer agente químico que danifique a membrana celular semipermeável, por alteração de sua estrutura físico-química, tende a produzir uma desorganização geral da fisiologia celular. Quando as propriedades seletivas da membrana se perdem, alguns dos componentes da célula, como aminoácidos, nucleotídeos, coenzimas e íons inorgânicos, escoam para fora da célula e o organismo morre. A membrana celular é em sua maioria composta de proteínas e lipídios, portanto, uma variedade de substâncias capazes de reagir com esses constituintes pode afetar suas propriedades. Entre estas, encontram-se as substâncias com atividade superficial. Esses agentes ou dissolvem os constituintes da membrana celular ou se combinam quimicamente com eles, alterando assim a superfície celular de modo a prejudicar suas funções essenciais (Stanier et al., 1969).

#### 2.4. AGENTES DESINFETANTES

A desinfecção da água pode ser obtida pela utilização de diversos meios. Durante os processos em uma estação de tratamento de água (ETA) convencional, as etapas de sedimentação, coagulação e filtração removem parte dos organismos patogênicos e outros presentes na água. Os processos específicos de desinfecção podem ser classificados como (Laubusch, 1971):

- Tratamento físico – aplicação de calor; irradiação, luz ultravioleta e outros agentes físicos;
- Íons metálicos – cobre e prata;
- Compostos alcalinos;
- Compostos tensoativos – sais quaternários de amônio ;
- Oxidantes – halogênios (cloro, bromo e iodo), dióxido de cloro, cloraminas, ozônio, peróxido de hidrogênio e permanganato de potássio.

A ação dos desinfetantes na destruição ou inativação dos microrganismos não é instantânea. Em geral, o processo se desenvolve de maneira gradativa, ocorrendo etapas físicas, químicas e bioquímicas (Meyer, 1994).

Para desinfetar a água contaminada por bactérias e vírus nocivos, especialmente aqueles que se originam da matéria fecal humana e animal, é usualmente necessária a purificação com um agente oxidante forte (Baird, 2005). Os desinfetantes químicos necessitam ser uniformemente dispersos na água, para garantir uma concentração uniforme. O mais comumente utilizado na desinfecção para produção de água de abastecimento é o cloro, líquido ou gasoso (Daniel, 2001). De acordo com fatores físico-químicos, como o pH, o cloro pode estar presente na água na forma de ácido hipocloroso (HClO) ou íon hipoclorito (ClO<sup>-</sup>), estas formas presentes na água são chamadas de cloro livre (Kim et al., 2002). O HClO possui maior poder oxidante do que o ClO<sup>-</sup>. Esse composto neutro e covalente mata microrganismos, passando facilmente através de suas membranas celulares. Além de ser efetiva, a desinfecção pelo método de cloração é relativamente barata, e o uso de pequeno excesso do produto pode fornecer água com um poder residual de desinfecção, durante seu armazenamento e fornecimento (Baird, 2005).

Contudo, o HClO não é estável na forma concentrada, não podendo portanto ser armazenado. Além disso, um inconveniente importante do uso da cloração para a desinfecção da água é a produção concomitante de substâncias orgânicas cloradas, algumas das quais são tóxicas (Baird, 2005).

A legislação brasileira, através do contido na portaria nº 518, de 25 de março de 2004, em vigência, estabelece valores máximos 100 µg/L para tri-halometanos totais como um valor máximo permissível para águas tratadas e distribuídas em redes públicas de abastecimento (BRASIL, 2004).

Todos os agentes químicos utilizados para desinfecção têm a função de controlar doenças de veiculação hídrica e inativar organismos patogênicos. Os desinfetantes químicos têm permitido melhora da qualidade de vida e diminuição da mortalidade infantil por doenças entéricas, com uma eficiência sem precedentes na história da humanidade. Por outro lado, pesquisas recentes têm mostrado que muitos desses agentes, por serem oxidantes muito fortes, podem gerar alguns subprodutos da desinfecção que, apesar da baixa concentração, podem ser danosos aos usuários de águas tratadas e ao meio ambiente (Daniel, 2001).

Esses subprodutos podem ser classificados como:

- Compostos orgânicos halogenados, como tri-halometanos, ácidos haloacéticos, halocetonas, haloacetonitrilas e outros, resultantes da cloração;

- Outros compostos orgânicos, como aldeídos, cetonas, carbono orgânico assimilável e carbono orgânico biodegradável, associado ao ozônio, ao cloro e aos processos de oxidação avançada;
- Compostos inorgânicos, como cloritos e cloratos, associados ao dióxido de cloro, gerado quando o dióxido de cloro é exposto à luz solar, e ao bromato, associado à ozonização.

## 2.5. PROCESSOS ALTERNATIVOS DE DESINFECÇÃO

Os processos alternativos de desinfecção da água, que evitam a formação de trihalometanos (THM), são aqueles que não utilizam cloro livre, tais como: cloroaminas (cloro combinado), dióxido de cloro, ozonização, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, cloreto de bromo, bromo, iodo, íon ferrato, alto pH e radiação ultravioleta (Laubusch, 1971; Santos, 1989). Desses, os processos químicos e físicos mais utilizados são as cloroaminas, o dióxido de cloro e o ozônio; e a radiação ultravioleta, respectivamente.

Embora o uso desses processos na desinfecção ofereça a vantagem de não contribuir para a formação dos THM, outros subprodutos podem ser produzidos, conforme o teor de matéria orgânica presente na água (Santos, 1989). Esses subprodutos apresentam a mesma dificuldade de remoção que os THM. Além disso, cada um dos desinfetantes apresenta outras desvantagens.

O ozônio não pode ser armazenado ou transportado porque seu tempo de vida é muito curto, deve ser gerado *in situ* mediante um processo relativamente caro que envolve descargas elétricas (20.000 volts) em ar seco. Dado que o tempo de vida das moléculas de ozônio é curto, a água purificada não tem uma proteção residual que evite contaminações futuras. A cloroamina é um desinfetante mais fraco que o cloro livre, podendo ter alguma toxicidade. O dióxido de cloro, como no caso do ozônio, não pode ser estocado, já que é explosivo em concentrações elevadas, portanto deve ser gerado *in situ*, o que acontece pela oxidação de sua forma reduzida,  $\text{ClO}_2^-$ , encontrada no sal clorito de sódio. Neste processo, algum dióxido de cloro é convertido gerando subprodutos, íons cloritos e cloratos bem como outras espécies aniônicas. A presença dessas espécies na água final tem causado problemas de saúde.

O uso da luz ultravioleta para purificar água pode se tornar complicado devido à presença de ferro dissolvido e de substâncias húmicas, pois ambos absorvem a luz, reduzindo,

assim, a quantidade disponível para desinfecção. Partículas pequenas de sólidos em suspensão na água inibem também a ação da luz UV, já que podem esconder ou absorver as bactérias, além de espalhar ou absorver a radiação.

Agentes antimicrobianos poliméricos, no entanto, têm a vantagem de serem quimicamente estáveis e não voláteis. Assim, eles podem reduzir as perdas associadas à volatilização, decomposição fotolítica e transporte; o risco de contaminação por exposição e manuseio também diminui. Além disso, o uso de polímeros biocidas minimiza impactos ambientais e problemas na saúde humana associados aos agentes antimicrobianos de baixo peso molecular (Kenawy et al., 2007).

## 2.6. POLÍMEROS BIOCIDAS

Nas três últimas décadas, pesquisas relacionadas à síntese e aplicação de polímeros para diversos usos e fins, como a prevenção de ataque microbiológico e da degradação ambiental, têm avançado significativamente (Kenawy et al., 2007).

As características necessárias para um polímero biocida ideal podem ser resumidas em (Kenawy et al., 2007):

- Síntese fácil e econômica;
- Apresentar facilidade e segurança no transporte, armazenamento, manuseio e aplicação;
- Quando aplicado à desinfecção de água não ser solúvel;
- Não decompor e nem emitir produtos tóxicos;
- Não deve ser tóxico para o homem e para os animais domésticos e não deve conferir à água cheiro e gosto que prejudique o seu consumo;
- Ser regenerado quando perder sua atividade;
- Ser biocida para um amplo espectro de organismos patogênicos em um tempo razoável.

Um método para a preparação de materiais bioativos consiste na incorporação de agentes antimicrobianos em polímeros sintéticos ou naturais; ou por meio de modificação

química ou pela copolimerização de monômero contendo os grupos funcionais, que poderão ser usados em várias aplicações (Dizman et al., 2005).

Matrizes poliméricas vêm sendo amplamente utilizadas como suportes para agentes bactericidas. Dentro desse contexto os copolímeros à base de estireno (Sty) e divinilbenzeno (DVB) merecem uma atenção especial em função, sobretudo, da facilidade com que são preparados e da possibilidade de controle da morfologia em função dos parâmetros de síntese adotados. A qualidade termodinâmica dos solventes normalmente acrescentados a fase orgânica, por exemplo, entre outros parâmetros (teor de DVB, grau de diluição, etc), altera a morfologia dos materiais produzidos. Normalmente, o uso de solventes não solvatantes promove a formação de estruturas com maior grau de porosidade ou com poros de elevado diâmetro, quando materiais porosos são comparados. A capacidade antibacteriana de polímeros reticulados depende não apenas da eficiência do grupo bactericida introduzido, mas também do teor desses grupos e da sua acessibilidade pela solução contaminada. O grau de funcionalização desses polímeros e o acesso aos grupos introduzidos estão estritamente relacionados às características morfológicas do suporte polimérico. O teor de poros e o tipo de porosidade são determinantes na distribuição dos sítios ativos bactericidas influenciando na eficiência desses materiais.

Recentemente alguns autores produziram desinfetantes poliméricos insolúveis, com o objetivo de desinfetar águas contaminadas com microrganismos patogênicos (Kenawy et al., 2007).

Uma matriz polimérica insolúvel em água, baseada em poli(metacrilato de metila-co-N-vinil-2-pirrolidona) iodado, foi sintetizada por Tyagi e colaboradores (2000). O copolímero foi sintetizado a partir dos monômeros metacrilato de metila (MMA) e N-vinil-2-pirrolidona na proporção de 1:1 (p/p), usando azo-bis-isobutironitrila (AIBN) como iniciador. A produção do copolímero iodado foi realizada através de seu tratamento com iodo molecular ressublimado a 37 °C por 24h. Sua atividade antimicrobiana foi avaliada, por meio de um sistema contendo um cartucho conectado a um regulador de fluxo de água. Uma suspensão de células microbianas, com concentração conhecida e composta por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Candida ssp*, foi inoculada no reservatório de água. A suspensão eluída através do cartucho foi analisada em intervalos regulares para avaliar a ação antimicrobiana do copolímero. A Tabela 1 mostra a contagem microbiana relacionada ao fluxo de água contaminada, antes e após a eluição através da coluna contendo o copolímero.

Tabela 1 – Contagem de microrganismos em relação ao fluxo de água após passar pela coluna (Kenawy et al., 2007)

Espécies	Células em suspensão		
	Inicial	5000L <sup>a</sup>	5000-8000L <sup>a</sup>
<i>S. aureus</i>	2x10 <sup>5</sup>	0	1±1
<i>E. coli</i>	2x10 <sup>5</sup>	0	5±2
<i>Cândida</i>	1,5x10 <sup>5</sup>	0	1±1

a) volume de água após eluição através da coluna contendo o copolímero

Os resultados da Tabela 1 indicam que o copolímero iodado permanece efetivo contra os microrganismos para um volume de até 5000L da água contaminada.

Jandrey e colaboradores (2004) avaliaram a ação bactericida do iodo impregnado em resinas reticuladas, à base de 2-vinilpiridina e divinilbenzeno (2Vpy-DVB) nas proporções molares percentuais de 40:60 e 80:20, não modificadas ou modificadas com grupo *N*-óxido. A ação sobre *Escherichia coli* em meio aquoso foi avaliada por eluição, através de colunas preenchidas com partículas das resinas. As resinas impregnadas com iodo foram significativamente eficazes na desinfecção da *E. coli* em altas concentrações.

Tan e colaboradores (2000) prepararam materiais à base de polipropileno (PP) e 4-vinilpiridina (4-Vpy). O polímero obtido foi quaternizado com os derivados halogenados: brometo de benzila, cloreto de benzila, brometo de etila, brometo de butila ou brometo de hexadecila. Os resultados de avaliação da atividade antimicrobiana mostraram que os polímeros possuem capacidade de capturar células. O polímero quaternizado com brometo de benzila removeu o maior número de células *Escherichia coli*. Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV), observou-se que a morfologia das células aderidas na superfície do polímero não se modificou. Assim, a superfície pode não ser bactericida, mas bacteriostática.

Compostos de *N*-haloamida cíclicas possuem boas propriedades bactericidas. Além da eficiente ação contra microrganismos, são estáveis mesmo variando o pH da solução, possuem habilidade de recarga após o esgotamento de sua eficiência, não é tóxico e possui baixo custo (Ahmed et al., 2008).

Diversos polímeros comerciais foram funcionalizados com o objetivo de obter-se derivados *N*-haloamida, com propriedades bactericidas sobre sua superfície. Estes incluem celulose (Sun et al., 1999; Sun et al., 2001), nylon (Sun et al., 2001; Lin et al., 2001), poli(tereftalato de etileno) (Sun et al., 2001; Lin et al., 2002), borracha kraton (Elrod et al., 2001) e várias superfícies de revestimento (Eknoian et al., 1999).

Um derivado N-haloamida desenvolvido de grande importância é o poli(estirenohidantoína) N-halogenado, devido ao seu potencial para desinfecção de água potável e por seu baixo custo. Pérolas porosas insolúveis de poli[1,3-dicloro-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína] (poly1-Cl) e de poli[1,3-dibromo-5-metil-5-(4'-vinilfenil)hidantoína] (poly1-Br), foram preparadas em três etapas por Chen e colaboradores (2003). As etapas de síntese do poly1-Cl são mostradas na Figura 1.

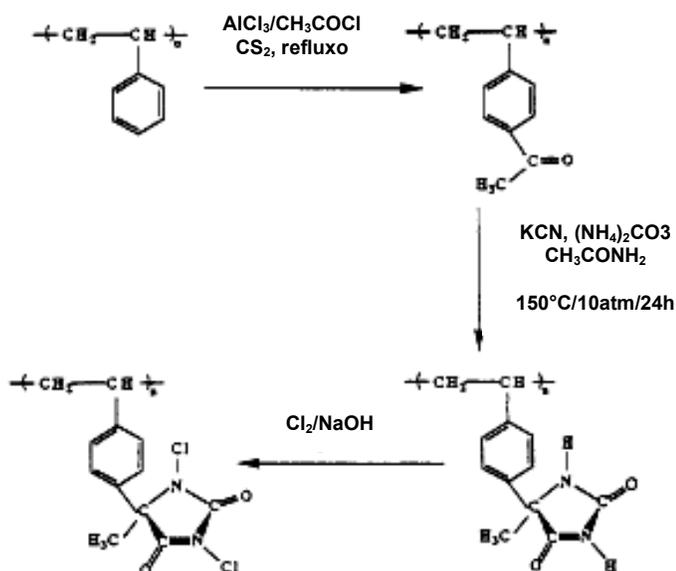


Figura 1 – Etapas de síntese das pérolas de poly1-Cl (Chen et al., 2003)

As propriedades antimicrobianas dos derivados N-haloamida poly1-Cl e poly1-Br foram examinadas contra bactérias gram-negativa e gram-positiva, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Através dos dados da Tabela 2, observa-se que as pérolas de poly1-Cl e poly1-Br exibiram forte ação bactericida contra as duas bactérias patogênicas em intervalo de tempo muito curto.

Tabela 2 – Eficiência bactericida das pérolas de poly1-Cl e poly1-Br (Chen et al., 2003)

Polímero	<i>S.aureus</i> (células/mL)			<i>E.coli</i> (células/mL)		
	Tempo de contato (s)	Inicial	Final	Tempo de contato (s)	Inicial	Final
Pérolas de poly1-Cl	1,1	6,9x10 <sup>6</sup>	0	1,1	8,5x10 <sup>6</sup>	0
Pérolas de poly1-Br	1,0	6,9x10 <sup>6</sup>	0	1,1	8,5x10 <sup>6</sup>	0

Uma amostra precursora não halogenada do polímero produziu crescimento dos microrganismos. Este resultado indica que as pérolas de poly1-Cl e poly1-Br não agiram como um material filtrante.

O mecanismo de ação bactericida das pérolas de poly1-Cl e poly1-Br não têm relação com a dissociação do halogênio livre em água, procedente ligação entre o mesmo com o nitrogênio, já que a quantidade de cloro livre detectada no efluente foi menor do que 0,1 mg/L. Chen e colaboradores (2003) sugerem que as células patogênicas são inativadas ao entrarem em contato com a superfície do polímero, pela transferência de íons halogênios aos sítios receptores da célula.

Polímeros à base de vinil-piridina quaternizados possuem cargas positivas em suas redes macromoleculares. Por esse motivo, estes polímeros insolúveis, compostos por anéis piridínicos, podem exibir propriedades na captura e isolamento de bactéria e vírus e na remoção de poluentes orgânicos de ambientes aquáticos (Li et al., 2000).

Kawabata (1992) investigou a atividade antimicrobiana de resinas quaternizadas – poli(haletos de vinilpiridina) reticulados – contra suspensões de *E.coli*, *S. typhimurium* e *S. faecalis*. Estudos relatam que houve um decréscimo considerável de células bacterianas viáveis em suspensões analisadas na presença do polímero. Durante o tratamento, o polímero capturou células com vida.

Resinas de troca aniônica de base forte do tipo poli-iodo mostraram forte ação antimicrobiana e pequena tendência em capturar células vivas. No trabalho de Kawabata (1992), no entanto, um polímero insolúvel do tipo piridínico removeu da água bactérias com vida por captura sobre sua superfície.

Uma série de experimentos foi desenvolvida para avaliar polímeros insolúveis do tipo piridínico, quanto a sua capacidade em remover microrganismos mantendo as células viáveis.

Os resultados experimentais indicaram que a remoção de células bacterianas pelo polímero não se limita a células viáveis.

Diferentes polímeros insolúveis do tipo piridínico foram usados para remover células bacterianas da água, com o propósito de avaliar a influência da estrutura polimérica sobre o coeficiente de remoção. De acordo com os resultados encontrados por Kawabata (1992), o coeficiente de remoção aumenta com o aumento no teor do grupo piridínico (Figura 2).

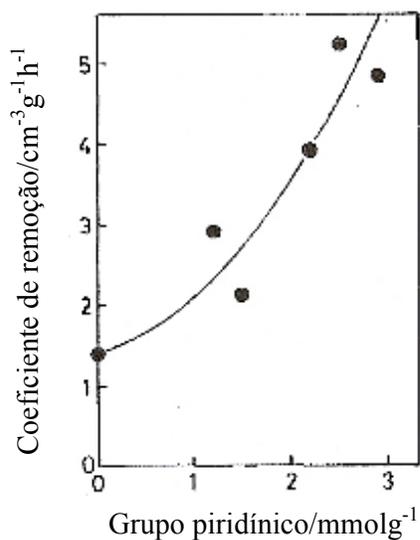


Figura 2 – Efeito do teor do grupo piridínico do poli(brometo de N-benzil-4-vinilpiridina) no coeficiente de remoção de *E. coli* (Kawabata, 1992)

Kawabata (1992) preparou resinas de poli(4-vinilpiridina) quaternizadas com brometo de benzila. A quantidade de monômeros foi variada com o objetivo de avaliar o efeito da estrutura polimérica, como grau de reticulação, contra *E. coli* (Tabela 3). As resinas poliméricas de diferentes graus de reticulação foram preparadas variando-se o teor de divinilbenzeno em substituição ao estireno, mantendo-se o teor de 4-vinilpiridina constante. Em outro procedimento variou-se o teor de 4-vinilpiridina e estireno e manteve-se constante o teor de divinilbenzeno (Tabela 3).

Tabela 3 – Efeito do grau de reticulação da resina quaternizada com brometo de benzila no coeficiente de remoção de *Escherichia coli* (Kawabata, 1992)

Conteúdo de monômero (mol%)			Grupo piridínico mmol/g	Inicial Células/mL	Coeficiente de remoção mL/gh
4-Vinilpiridina	Divinilbenzeno	Estireno			
72	28	0	2,9	4,3x10 <sup>6</sup>	4,8
72	20	8	2,9	6,9x10 <sup>7</sup>	6,9
72	10	18	2,9	1,5x10 <sup>7</sup>	7,1
72	3	25	3,1	1,5x10 <sup>7</sup>	∞ <sup>a</sup>
72	28	0	3,2	6,9x10 <sup>7</sup>	3,9
54	28	18	2,1	4,1x10 <sup>7</sup>	2,7
36	28	36	2,1	4,1x10 <sup>7</sup>	1,6

a) não foram detectadas células viáveis mesmo em um tempo de contato de 0,5h

De acordo com os resultados da Tabela 3, o coeficiente de remoção da *E. coli* aumentou com a redução do agente reticulante. Portanto, a redução no grau de reticulação do polímero favorece a capacidade do mesmo em capturar células bacterianas. Polímeros com menor grau de reticulação incham mais, aumentando sua área superficial efetiva, de modo a facilitar a capacidade do polímero em capturar células bacterianas.

Pelos resultados da Tabela 3, observa-se também que o aumento no teor de 4-vinilpiridina aumenta o coeficiente de remoção da *E. coli* (Kawabata, 1992).

Uma série de resinas à base de poliestireno reticulado clorometilado, graftizadas com aminas terciárias, foram sintetizadas com o objetivo de obter polímeros insolúveis, com diferentes grupos amônio quaternário, como agentes bactericidas. A Figura 3 mostra a estrutura da resina polimérica amônio quaternário insolúvel (Jiang et al., 2005).

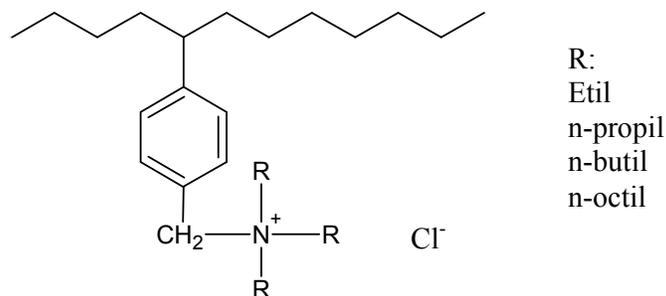


Figura 3 – Estrutura da resina polimérica à base de amônio quaternário insolúvel (Jiang et al., 2005)

A atividade antibacteriana dos polímeros reticulados macroporosos, contendo diferentes grupos amônio quaternário, foram avaliadas contra bactéria gram-positiva (*S. aureus*). O polímero graftizado com trioctilamina obteve maior eficiência bactericida seguida por tributilamina, tripropilamina e trietilamina (Figura 4).

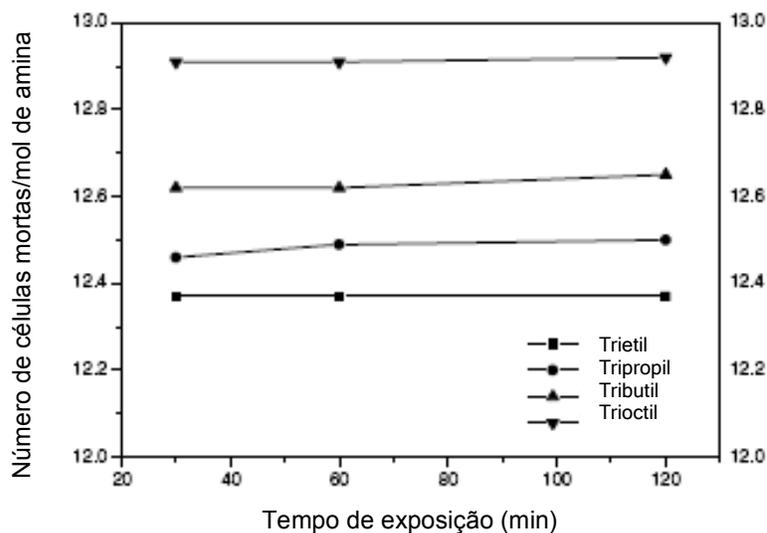


Figura 4 – Eficiência antibacteriana dos polímeros graftizados com diferentes grupos amônio em função do tempo de contato.

Concentração inicial de células viáveis =  $2 \times 10^7$  células/mL; 0,50g de polímero (Jiang et al., 2005).

Os resultados mostraram que o aumento no comprimento do grupo alquila é um fator importante na eficiência bactericida. Este fato pode ser explicado pelo aumento da hidrofobicidade do polímero e conseqüentemente de sua interação com a membrana citoplasmática (Jiang et al., 2005).

Os autores estudaram o mecanismo de ação bactericida dos polímeros de amônio quaternário insolúvel. Durante o processo biocida, parte da estrutura polimérica é difundida através da parede celular e o grupo amônio quaternário interage com a membrana citoplasmática causando a morte da bactéria (Figura 5) (Jiang et al., 2005).

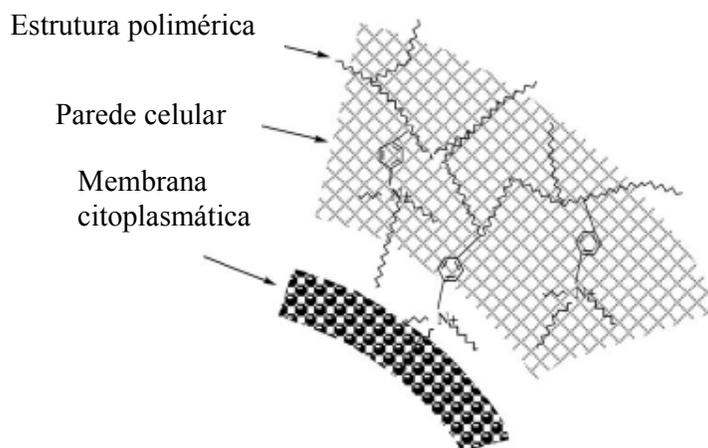


Figura 5 – Penetração do grupo amônio dentro da célula bacteriana (Jiang et al., 2005)

A polimerização iniciada na superfície de substratos utilizando a técnica de polimerização radicalar via transferência de átomo (ATRP), tem se mostrado eficiente para modificar a superfície de diferentes substratos e gerar novas aplicações para estes materiais.

Cheng e colaboradores (2005) prepararam microesferas de polímeros com superfície antimicrobiana permanente, e avaliaram sua ação bactericida contra bactérias gram-negativa (*E. coli*) e gram-positiva (*S. aureus*). O processo envolveu a síntese de microesferas de poli(cloreto de 4-vinilbenzil) reticuladas (PVBC), via polimerização em suspensão, que foram chamadas de PVBC-1. A superfície das microesferas de PVBC-1 foram graftizadas com poli(metacrilato de 2-(dimetilamino)etila) (PDMAEMA) e posterior polimerização do metacrilato de 2-(dimetilamino)etila (DMAEMA) por ATRP iniciada na superfície. Nessa

etapa o polímero modificado foi chamado de PVBC-2. Na última etapa o PVBC-2 foi quaternizado com 1-bromododecano ou 1-bromohexano gerando PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) e PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>), respectivamente, para obter microsferas poliméricas antimicrobianas. A Figura 6 mostra o esquema de síntese das microsferas com superfície bactericida permanente.

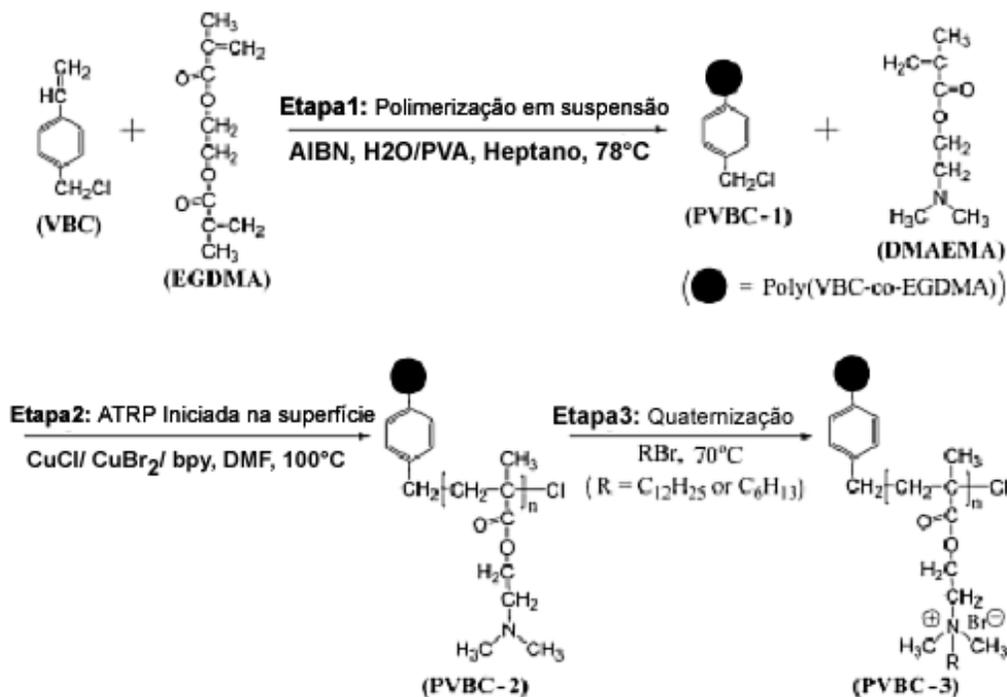


Figura 6 – Processo de preparação das microsferas com superfície bactericida permanente (Cheng et al., 2005)

As propriedades antimicrobianas dos polímeros foram investigadas pelo contato de 150 microsferas, de diâmetro médio de 550µm, com 20mL de células viáveis de bactérias em suspensão. A Figura 7 mostra o decréscimo do número de células viáveis, após o contato com as microsferas de PVBC-1, PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) e PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>) em função do tempo.

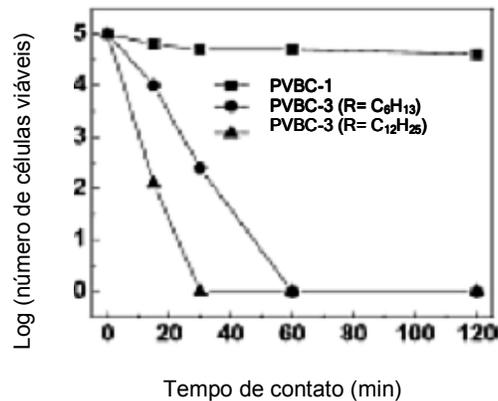


Figura 7 – Decréscimo do número de células viáveis, em função do tempo de contato de células *E. coli* com as microesferas de PVBC-1, PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) e PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>) (Cheng et al., 2005)

O número inicial de células viáveis de bactérias na suspensão foi de aproximadamente 10<sup>5</sup> células/mL. Observa-se que o número de células viáveis diminui na presença das microesferas funcionalizadas. Todas as células bacterianas foram inativadas pelas microesferas de PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) e PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>), após 30 e 60 minutos, respectivamente.

Alguns autores afirmaram que a parcela hidrofóbica da molécula tem um papel significativo na determinação da atividade antibacteriana de policátions (Cheng et al., 2005). As microesferas de PVBC-3 (R= C<sub>12</sub>H<sub>25</sub>) apresentaram atividade bactericida significativamente maior do que as de PVBC-3 (R= C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>). Esses resultados corroboram outros estudos registrados. A atividade antibacteriana, provavelmente, vem da capacidade da cadeia hidrofóbica em aumentar a permeabilidade da célula e romper a membrana celular.

A superfície original do polímero funcionalizado PVBC-3 foi recuperada, através da lavagem das microesferas com álcool, tendo como objetivo investigar a permanência da atividade antimicrobiana na superfície do polímero, seguida por uma nova exposição das microesferas de PVBC-3 em nova suspensão de células viáveis bacterianas. É provável que células bacterianas mortas acumulem-se na superfície das microesferas, através de interações hidrofóbicas. As células foram removidas pela ação do álcool, que é um solvente simples, com a restauração concomitante da atividade antimicrobiana na superfície das esferas.

Gao e colaboradores (2007) prepararam copolímero de 4-vinilpiridina e acrilamida [poli(4vinilpiridina-co-acrilamida), PVpAM]. Partículas de PVpAM/SiO<sub>2</sub> foram obtidas através da graftização do copolímero PVpAM sobre a superfície das partículas de sílica gel modificadas com 3-metacriloilpropila (MPS). O MPS contém ligações duplas polimerizáveis e foi escolhido como agente de acoplamento, para ligar quimicamente o copolímero à sílica gel. As unidades piridínicas das partículas de PVpAM/SiO<sub>2</sub> foram quaternizadas com cloreto de benzila e sulfato de dimetila. Dessa forma, foram formadas partículas compósitos funcionais de QPVpAM/SiO<sub>2</sub>, com propriedades antibacterianas e insolúvel em água.

Os compósitos funcionais de QPVpAM/SiO<sub>2</sub> apresentaram forte atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*. A Figura 8 apresenta a atividade bactericida em função da massa de QPVpAM/SiO<sub>2</sub>.

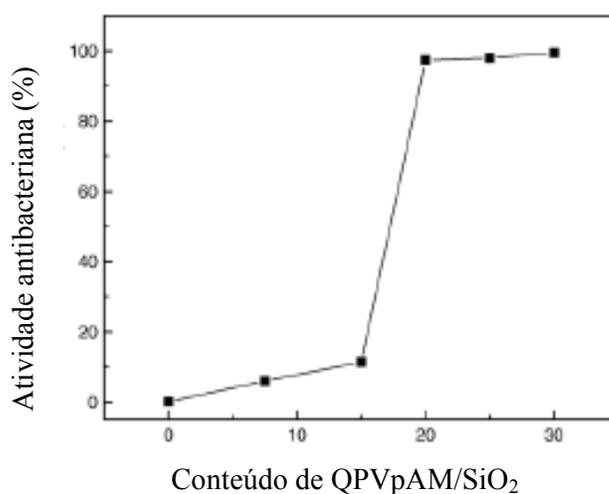


Figura 8 – Atividade antibacteriana em função da massa de QPVpAM/SiO<sub>2</sub>.

Tempo de contato: 10 min; grau de graftização da amostra: 2,3 mmol/g (Gao et al., 2007)

Os resultados demonstraram que 100% de ação bactericida foram obtidas quando uma quantidade de apenas 20 g/L de QPVpAM/SiO<sub>2</sub> é usada. A alta eficiência bactericida pode ser atribuída ao fato do grupo piridínico antibacteriano estar concentrado na superfície do material (Gao et al., 2007).

Gao e colaboradores (2007) examinaram a influência dos diferentes graus de graftização dos compósitos funcionais de QPVpAM/SiO<sub>2</sub> sobre a atividade bactericida em função de tempo.

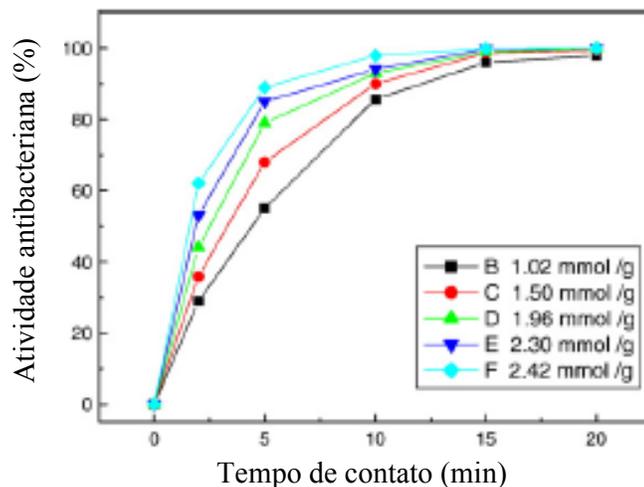


Figura 9 – Atividade antibacteriana de QPVpAM/SiO<sub>2</sub> com diferentes graus de graftização em função do tempo de contato.

Conteúdo de QPVpAM/SiO<sub>2</sub>: 25g/L (Gao et al., 2007).

Pelos resultados da Figura 9, observa-se que o aumento do grau de graftização provoca um aumento na eficiência antibacteriana do material.

O efeito do agente de quaternização foi verificado pela comparação da atividade bactericida do QPVpAM/SiO<sub>2</sub>, com mesmo grau de graftização, com cloreto de benzila e sulfato de dimetila (Figura 10) (Gao et al., 2007).

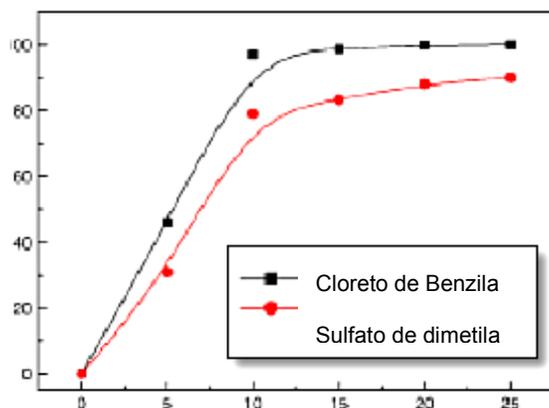


Figura 10 – Efeito do agente de quaternização na atividade antibacteriana.

Grau de graftização: 2,3mmol/g; conteúdo de QPVPAM/SiO<sub>2</sub>: 20g/L (Gao et al., 2007).

Pelos resultados da Figura 10, observa-se que o material preparado com cloreto de benzila apresenta maior atividade do que aquele preparado com sulfato de dimetila. Esta diferença pode ser atribuída à maior hidrofobicidade do grupo benzila em relação ao grupo metila presentes como substituintes nas unidades piridínicas (Gao et al., 2007).

Jeong e colaboradores (2002) prepararam polímeros funcionalizados (SMA-AP) a partir de poli(estireno-alt-anidrido maleico) (SMA) e do composto 4-aminofenol (AP), uma vez que os fenóis tem propriedades antimicrobianas.

Sua ação contra bactérias do tipo *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi avaliada. A Figura 11 mostra a reação entre o poli(estireno-alt-anidrido maleico) e o 4-aminofenol (AP) para obter o SMA-AP conjugado.

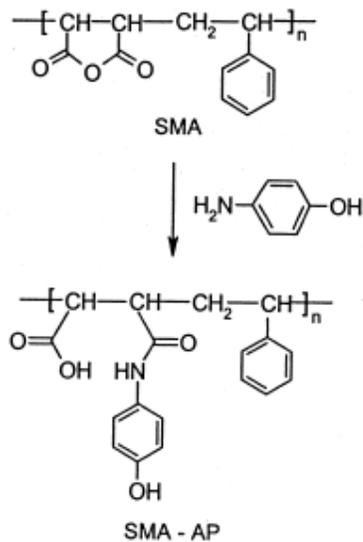


Figura 11 – Rota de síntese química do SMA-AP (Jeong et al., 2002)

Pelos resultados da Tabela 4, observa-se que o polímero funcionalizado SMA-AP e o composto 4-aminofenol (AP) apresentaram forte ação bactericida contra os dois tipos de bactérias.

Tabela 4 – Redução do número de células de *E. coli* e *S. aureus* após 24h em contato com AP e SMA-AP (Jeong et al., 2002)

Bactéria	Amostra	Redução (%)
<i>E. coli</i>	Branco	-
	AP	100 <sup>a</sup>
	SMA-AP	95,3 <sup>a</sup>
<i>S. aureus</i>	Branco	-
	AP	100 <sup>b</sup>
	SMA-AP	99,9 <sup>b</sup>

a) Concentração inicial de células viáveis =  $7,05 \times 10^7$  células/mL, b) Concentração inicial de células viáveis =  $1,75 \times 10^9$  células/mL

De acordo com os resultados da Tabela 4, observa-se que o composto AP tem ação bactericida ligeiramente superior à do SMA-AP. Este fato pode ser explicado pela facilidade do composto AP em difundir-se através da parede celular da bactéria. Além disso, a concentração de AP no polímero funcionalizado SMA-AP é de apenas, aproximadamente, 35% (Jeong et al., 2002).

Para avaliar o desprendimento de AP do SMA-AP, Jeong e colaboradores (2002) empregaram o teste de zona de inibição do SMA-AP contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*. Nenhuma zona de inibição foi observada no teste, indicando que não houve desprendimento de AP. Dessa forma, o polímero funcionalizado SMA-AP possui propriedades antibacterianas por contato sem desprender agentes ativos para meio (Jeong et al., 2002).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, são apresentados os materiais e equipamentos utilizados para a elaboração deste trabalho, bem como a metodologia empregada.

#### 3.1. PRODUTOS QUÍMICOS

O desenvolvimento desse trabalho foi realizado utilizando os reagentes listados a seguir:

- Acetona – procedência: Proquimios A.C.S.; grau de pureza: P.A.
- Ácido clorídrico – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Acrilonitrila – procedência: Nitriflex, grau de pureza: P.A.
- 2,2'-azo-bis (2-metil-butanonitrila) (AIBN) – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Álcool etílico - procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Bacto Agar (Agar powder bacteriological) – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Bacto extrato de células autocatalisadas de levedura (Yeast extract powder) – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Bacto triptona – digestão pancreática de caseína (Casein enzyme hydrolysate type I) – procedência: Himedia, grau de pureza: P.A.
- Cloreto de sódio – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Dicloro-metano – procedência: Synth, grau de pureza: P.A.
- Divinilbenzeno – procedência: Nitriflex, grau de pureza: comercial.
- Estireno – procedência: Petroflex, grau de pureza: comercial.
- Fosfato de sódio tribásico – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Gelatina – procedência: Oetker Produtos alimentícios Ltda., grau de pureza: comercial.
- 2-hidróxiethylcelulose – procedência: Dow Comercial, grau de pureza: comercial.
- Iodeto de metila – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.
- Iodeto de potássio – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Iodo ressublimado – procedência: Vetec, grau de pureza: P.A.

- Metanol – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- N-heptano – procedência: Isofar, grau de pureza: P.A.
- Tolueno – procedência: Quimex, grau de pureza: P.A.
- 2-Vinilpiridina – Nitriflex, grau de pureza: comercial.

Todos os reagentes citados acima foram utilizados como recebidos.

### 3.2. EQUIPAMENTOS

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

- Agitador mecânico – IKA Labor Technik – 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
- Autoclave vertical – Phoenix modelo AV-50
- Balança analítica Marte – modelo AL 500 C
- Câmara de fluxo laminar
- Controlador de temperatura - IKA
- 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
- Placa de aquecimento e agitação - IKA RH-KT/C
- Incubadora de bancada com agitação – Nova técnica modelo CT 712
- Microscópio eletrônico de varredura Philips, modelo XL-30 (2)

- Microscópio ótico Olympus, modelo Bx60 acoplado com máquina fotográfica, modelo SC 35

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

(1) Embrapa Solos

(2) Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo (USP).

Para o ensaio microbiológico foram usados os seguintes materiais:

- Pinça metálica
- Seringas descartáveis para tuberculina de 1 mL graduadas estéreis
- Ponteiras descartáveis 1-1000  $\mu$ L autoclaváveis para pipetadores tipo Eppendorf (azuis)
- Ponteiras descartáveis 1-200  $\mu$ L autoclaváveis para pipetadores tipo Eppendorf (amarelas)
- Pipetador automático 200-1000  $\mu$ L.
- Pipetador automático 10-200  $\mu$ L
- Bico de gás.
- Erlenmeyer de 50 mL
- Tubos de ensaio de 13 mm
- Caixa com ponteiras 200  $\mu$ L
- Caixa com ponteiras 1000  $\mu$ L
- Pérolas de vidro de cerca de 3-4 mm
- Perolas de vidro de cerca de 2 mm
- Placas de Petri de 90 mm

### 3.3. PROCEDIMENTOS

Neste tópico, será apresentada a metodologia utilizada para desenvolver a parte experimental deste trabalho.

#### 3.3.1. SÍNTESE DOS COPOLÍMEROS À BASE DE 2-VINILPIRIDINA

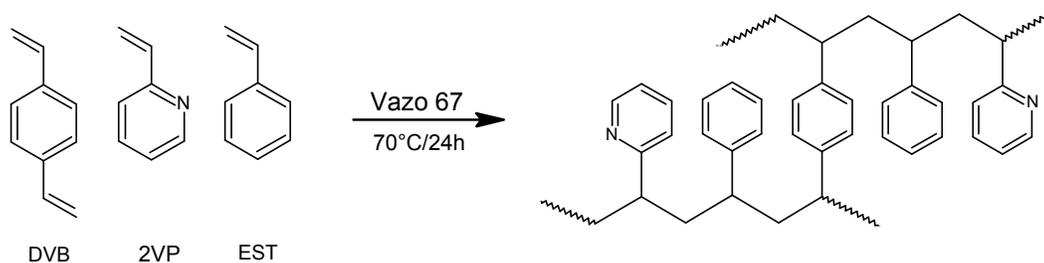
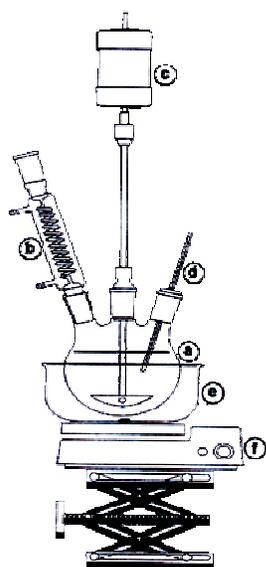


Figura 12 – Reação da síntese dos copolímeros à base de 2-vinilpiridina e estireno reticulados com divinilbenzeno

Para preparar os copolímeros com atividade bactericida, dois suportes (A e B) foram sintetizados empregando a técnica de polimerização em suspensão aquosa via radical livre. A síntese foi realizada em um sistema constituído por um balão de fundo redondo de três bocas com capacidade de 1000 mL, equipado com agitador mecânico, termômetro e um condensador de refluxo acoplado a um selo de silicone. O esquema do reator de polimerização está representado na Figura 13.



- a) Balão de fundo redondo de três bocas
- b) Condensador
- c) Agitador mecânico
- d) Termômetro
- e) Banho de óleo
- f) Placa de agitação e aquecimento

Figura 13 – Esquema do reator de polimerização em suspensão aquosa

Nessa técnica, uma fase orgânica é dispersa em uma fase aquosa. Esta fase do sistema reacional foi preparada em uma razão 5/1 (v/v) em relação ao volume da fase orgânica, nas duas reações de polimerização realizadas. A fase aquosa foi constituída por 0,3% p/v de 2-hidroxietilcelulose, previamente solubilizada em água, sob agitação magnética, por 24h à temperatura ambiente; gelatina 0,3% p/v dissolvida, no momento da reação, em água a aproximadamente 50°C sob agitação magnética e fosfato de sódio tribásico 3% p/v. Após a dissolução dos componentes, as soluções obtidas foram misturadas, compondo a fase aquosa do sistema reacional. A mistura foi mantida sob agitação até completa homogeneização à temperatura ambiente.

A fase orgânica foi preparada pela adição de  $5 \times 10^{-3}$  mol (1,08g) do iniciador (AIBN) (1% molar em relação à quantidade total molar de monômeros) a mistura de 0,5 mol de monômeros 2-vinilpiridina, estireno e divinilbenzeno à razão molar de 70/10/20. Em seguida, o sistema diluente composto por tolueno e n-heptano (100% v/v em relação à quantidade total de monômeros) foi adicionado a uma razão molar de 70/30 para a primeira reação e 50/50 para a segunda reação. As condições de reação estão resumidas na Tabela 5.

A fase orgânica foi adicionada lenta e continuamente à fase aquosa. A suspensão produzida foi mantida sob agitação de 300 rpm à temperatura ambiente. Decorridos 15 minutos, o sistema reacional foi aquecido a 70°C e mantido sob agitação por 24h. Após o

término da reação, o aquecimento foi suspenso mantendo-se a agitação até o resfriamento do sistema. As pérolas de copolímeros produzidas foram separadas por filtração e lavadas exaustivamente com água à temperatura de 60°C e, posteriormente, com acetona em extrator de Soxhlet durante 24 horas. As pérolas foram secas em estufa a 60°C por 24h.

Tabela 5 – Parâmetros de síntese dos copolímeros à base de Sty-DVB-2Vpy

Copolímeros <sup>a</sup>	Sistema diluente Tolueno/Heptano
A	70/30
B	50/50

a) Tempo de reação: 24h; Temperatura: 70°C; Razão molar entre os monômeros: 2VP/EST/DVB 70/10/20; Relação fase aquosa/fase orgânica: 5/1; Iniciador: Vazo-67 (1% molar em relação à quantidade molar de monômeros); Composição da fase aquosa: 0,3% p/v de 2-hidroxiethylcelulose, 0,3% p/v de gelatina e 3% p/v de Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

### 3.3.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS

Os copolímeros sintetizados (A e B) foram caracterizados através da densidade aparente, área específica, volume do poro, diâmetro médio do poro, grau de inchamento, microscopia ótica, espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise elementar e análise termogravimétrica.

#### 3.3.2.1. DETERMINAÇÃO DA DENSIDADE APARENTE

A determinação da densidade aparente ( $d_{ap}$ ) dos copolímeros foi realizada com base no método ASTM D1895 (1969). Em uma proveta, com capacidade de 10 mL e precisão de 0,1 mL, as amostras foram empacotadas até o volume de 10 mL com o auxílio de um bastão de vidro emborrachado. Inicialmente, a proveta foi pesada vazia e após o empacotamento da mesma com a amostra foi pesada novamente. A massa do copolímero que ocupou o volume de 10 mL foi medida pela diferença de massa entre a proveta cheia com a amostra e vazia.

Para cada amostra esse procedimento foi repetido três vezes para obter a média dos valores encontrados. A Equação 1 mostra o cálculo da densidade aparente.

$$d_{ap} = m/v$$

Equação 1

Onde:

$d_{ap}$  = densidade aparente (g/mL)

$m$  = massa da amostra (g)

$v$  = volume da amostra (mL)

### 3.3.2.2. DETERMINAÇÃO DA ÁREA ESPECÍFICA, DIÂMETRO MÉDIO DO PORO E VOLUME DO PORO

A área específica (S), o diâmetro médio (D) e o volume dos poros (V) dos copolímeros sintetizados foram determinados por fisissorção de nitrogênio através de Analisador Automático de Adsorção Física Micromeritics, modelo ASAP 2010. A área específica foi calculada de acordo com a equação de BET pela adsorção de N<sub>2</sub>, enquanto o diâmetro médio e o volume de poros foram calculados pela equação de BJH pela dessorção de N<sub>2</sub>.

### 3.3.2.3. MICROSCOPIA ÓTICA E ELETRÔNICA DE VARREDURA

Com o auxílio do microscópio ótico, as pérolas dos copolímeros sintetizados foram avaliadas quanto ao seu aspecto (opaco, transparente ou translúcido) e morfologia. As pérolas foram colocadas em lâminas de vidro, sem tratamento prévio, e examinadas através da lupa estereoscópica.

A superfície externa e a estrutura interna dos copolímeros sintetizados foram avaliadas através de microscópio eletrônico de varredura. O material analisado foi colocado em um

suporte metálico com o auxílio de fita adesiva dupla face e recoberto com fina camada de ouro. A voltagem de aceleração foi de 20kV.

#### 3.3.2.4. GRAU DE INCHAMENTO

Para determinar o grau de inchamento dos copolímeros em diferentes solventes, foram usados cilindros de 10 mL, com precisão de 0,1 mL, onde as amostras foram empacotadas até o volume de 3 mL, com o auxílio de um bastão de vidro emborrachado. Após o empacotamento, o solvente foi adicionado lentamente pela parede do cilindro até a marcação de 10 mL. O teste foi feito em duplicata. A Equação 2 mostra o cálculo do grau de inchamento (I) após 24 horas de contato das amostras com o solvente.

$$I = (V_f - V_i)100/V_i$$

Equação 2

Onde:

I = inchamento (%)

$V_i$  = volume do leite do copolímero seco (mL)

$V_f$  = volume do leite do copolímero em contato com o solvente após 24 h (mL)

#### 3.3.2.5. ANÁLISE ELEMENTAR

Os copolímeros sintetizados foram macerados em gral de ágata e secos em estufa a 100°C por 24h. Numa cápsula de estanho, foram pesados 10 mg de amostra e colocados em um tubo de combustão onde flui uma corrente de hélio.

### 3.3.2.6. ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Os espectros de infravermelho dos copolímeros sintetizados foram obtidos em Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) – Perkin Elmer. As amostras foram maceradas em gral de ágata e secas em estufa a 100°C por 1 hora. Em seguida, aproximadamente 1 mg da amostra foi diluído com 300 mg de KBr e misturados em gral de ágata. Essa mistura foi prensada em forma de pastilha. Os espectros foram registrados no intervalo de 4000 a 450  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.3.2.7. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

Para verificar a estabilidade térmica os copolímeros sintetizados foram submetidos a análise termogravimétrica (TGA). Uma pequena quantidade da amostra foi colocada num porta-amostra de alumina e aquecido 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>. Foram obtidas curvas de degradação termogravimétrica da perda de massa em função do aumento da temperatura.

### 3.3.3. MODIFICAÇÃO QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS

Os copolímeros sintetizados foram modificados através da reação de quaternização do nitrogênio presente nas unidades de vinilpiridina, com diferentes reagentes: iodeto de metila e acrilonitrila.

#### 3.3.3.1. QUATERNIZAÇÃO DAS UNIDADES DE PIRIDINA COM IODETO DE METILA

A reação de modificação química dos copolímeros (A e B) com iodeto de metila foi conduzida utilizando a razão molar entre 2VP e iodeto de metila de 1:10. Em um sistema

constituído por um balão de três bocas de 500 mL, equipado com agitador mecânico, termômetro e um condensador de refluxo acoplado a um selo de silicone (Figura 13), foram adicionados 6g de pérolas do copolímero a ser modificado. Inicialmente, as pérolas foram inchadas em metanol por 24 horas para facilitar o acesso do reagente às unidades de piridina. Após o repouso foi adicionado o de iodeto de metila. Em seguida, a temperatura foi elevada até que o sistema entrasse em refluxo (50°C). O sistema foi mantido a 50°C, sob agitação mecânica durante 24h. Ao término da reação, o aquecimento foi interrompido e esperou-se que o sistema atingisse a temperatura ambiente. O conteúdo do balão foi vertido em um funil contendo papel de filtro. As pérolas modificadas foram lavadas com água aquecida a 60°C. Por fim, as pérolas foram lavadas com porções de acetona e secas em estufa a 60-70°C por 24 horas.

### 3.3.3.2. QUATERNIZAÇÃO DAS UNIDADES DE PIRIDINA COM ACRILONITRILA

A reação de modificação química dos copolímeros (A e B) com acrilonitrila foi conduzida utilizando a razão molar entre 2VP e acrilonitrila de 1:17. Primeiramente, 6g de pérolas dos copolímeros foram inchados em metanol por 24h. Após o período de inchamento, a reação foi conduzida em um sistema constituído por um balão de três bocas de 500 mL, equipado com agitador mecânico, termômetro e um condensador de refluxo acoplado a um selo de silicone (Figura 13). Ao sistema, foram adicionados lentamente a acrilonitrila e a solução etanólica ácida (de acordo com o descrito nos resultados e discussão). O sistema foi mantido sob agitação a 70°C durante o tempo de 72h. Ao término da reação, o aquecimento foi interrompido e esperou-se que o sistema atingisse a temperatura ambiente. O conteúdo do balão foi vertido em um funil contendo papel de filtro. As pérolas modificadas foram lavadas com água aquecida a 60°C. Por fim, as pérolas foram lavadas com acetona e secas em estufa a 60-70°C por 24 horas.

### 3.3.4. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS MODIFICADOS

Os copolímeros modificados (1A, 2A, 1B, 2B) foram caracterizados por espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e análise termogravimétrica, de acordo com os métodos descritos anteriormente.

### 3.3.5. IMPREGNAÇÃO DE IODO NOS COPOLÍMEROS SINTETIZADOS E SEUS DERIVADOS QUATERNIZADOS

Os copolímeros sintetizados à base de 2VP (A e B) e seus derivados com grupo quaternário de nitrogênio (1A, 2A, 1B, 2B) foram impregnados com iodo através de duas metodologias distintas.

Metodologia I – Impregnação na presença de solvente: foi preparada uma solução metanólica de iodo a 2%. 50 mL desta solução foi deixada em contato com 1g de pérolas de copolímero durante 72 horas sob agitação em shaker. Após o tempo de contato o copolímero impregnado foi lavado com 3000 mL de água a 60°C em um funil de vidro contendo papel de filtro. Após a lavagem, as pérolas foram mantidas em estufa a 100°C até peso constante.

Metodologia II – Impregnação em fase vapor: o sistema de impregnação a vapor foi constituído por um tubo de vidro de duas bocas, no qual foi acoplada a uma das bocas uma coluna de vidro sinterizado e na outra a uma mangueira com saída de nitrogênio. Ao final da coluna foi conectada uma mangueira com funil de vidro, o qual foi colocado sobre um béquero contendo solução de tiosulfato de sódio a 1%. Ao tubo de vidro, foi adicionado o iodo, em seguida, foi adicionado 1g de pérolas a coluna. O fluxo de nitrogênio tem como objetivo forçar a passagem dos vapores de iodo do tubo até a coluna. Este sistema foi mantido em aquecimento até a passagem de todo o iodo pelo copolímero, aproximadamente 4h. Posteriormente, as pérolas foram lavadas com 3000 mL de água quente e secas em estufa a 100°C, onde foram mantidas até peso constante.

O teor de iodo incorporado aos copolímeros foi quantificado por análise gravimétrica.

### 3.3.6. AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE REDUÇÃO DO NÚMERO DE CÉLULAS VIÁVEIS

Os ensaios para avaliar a capacidade bactericida dos copolímeros sintetizados e modificados quimicamente foram realizados utilizando suspensão de *Escherichia coli* (OHd5 – k-12) nas concentrações de  $10^3$  a  $10^7$  células/mL. Através da técnica de contagem em placas, foi determinado o número de células viáveis. Os ensaios foram conduzidos em triplicata.

A seguir, estão descritos as soluções e meios, bem como os materiais necessários para o desenvolvimento dos ensaios microbiológicos:

- Solução salina 0,9%: 2,7g de NaCl foram dissolvidos em 300 mL de água destilada.
- Meio LB (Luria-Bertani) líquido: 3g de NaCl, 3g de Bacto triptona (digestão pancreática de caseína), 1,5 mL de Bacto extrato de células autolisadas de levedura (YNB) foram dissolvidos em 300 mL de água destilada.
- Meio LB (Luria-Bertani) sólido: a composição do meio sólido é semelhante a do meio líquido, com adição de 4,5g Bacto agar para uso geral no preparo de culturas.
- Microtubos com solução salina para diluição: em microtubos de 1,5 mL foram adicionados 900  $\mu$ L de salina com auxílio de um repipetador.
- Tubos com solução salina para diluição das suspensões bacterianas: cinco tubos de polipropileno do tipo Falcon foram identificados com as concentrações de células/mL de  $10^3$  a  $10^7$ . Em seguida, foram preenchidos com 9000  $\mu$ L de salina 0,9%. Ao tubo identificado com a concentração de  $10^7$  células/mL, foi adicionada uma alíquota a mais de 900  $\mu$ L de salina, com volume final de 9900  $\mu$ L.
- Colunas contendo as amostras: seringas de 1 mL foram utilizadas como colunas. Para suportar a amostra dentro da seringa, foi colocada, previamente, uma pérola de vidro estéril dentro da mesma. O conjunto de seringa e pérola foi colocado dentro de um tubo Falcon de 50 mL com objetivo de preservar sua esterilidade, em seguida, foi pesado. Após a pesagem, a seringa foi preenchida com a amostra até o volume de 0,2 mL e pesada novamente. A massa da amostra foi calculada pela diferença entre as massas obtidas na pesagem.

- Placas com meio LB sólido: Ao ser retirado da autoclave, o meio LB sólido foi vertido em placas de Petri. Após a solidificação do meio, as placas foram invertidas e reservadas.
- Meio de Cultura: em ambiente estéril foi pipetado 100  $\mu\text{L}$  de cultura pré-preparada de *Escherichia coli* em 10 mL de meio LB líquido em erlenmeyer de 50 mL. A mistura foi deixada sob agitação a 120 rpm à temperatura de 37°C em incubadora por uma noite, até a fase exponencial de crescimento de cerca de  $1-2 \times 10^9$  células/mL.

Os meios, soluções e materiais listados acima foram autoclavados a 120°C por 20 minutos para o controle de esterilidade. Todo preparo do ensaio microbiológico foi realizado em ambiente estéril (cabine de fluxo laminar).

A seguir serão delineadas as etapas realizadas para avaliar a atividade bactericida das amostras pelo método de contagem em placas:

- Suspensão de bactérias: A partir de 100  $\mu\text{L}$  da cultura de pernoite, com concentração de aproximadamente  $10^9$  células/mL, foi preparada uma suspensão de células bacterianas com concentração de  $10^7$  células/mL. Os 100  $\mu\text{L}$  da cultura de pernoite foram adicionados a 9900  $\mu\text{L}$  de salina a 0,9% e desta forma foi obtida a suspensão com concentração de  $10^7$  células/mL. Em seguida, a suspensão foi agitada vigorosamente em um agitador de tubos. Para o preparo da suspensão com concentração de  $10^6$  células/mL, foi transferida uma alíquota de 1000  $\mu\text{L}$  do tubo contendo a suspensão com concentração de  $10^7$  células/mL para um tubo contendo 9000  $\mu\text{L}$  de salina a 0,9%. O mesmo procedimento foi realizado para preparar as suspensões com concentração de  $10^5$ ,  $10^4$  e  $10^3$  células/mL. Estas suspensões foram utilizadas no ensaio de eluição.
- Ensaio de eluição: através da coluna contendo a amostra foram eluídas alíquotas de 500  $\mu\text{L}$  de solução salina a 0,9% e das suspensões de células com concentração de  $10^3$  a  $10^7$  células/mL. Inicialmente, foi eluída através da coluna uma alíquota de 500  $\mu\text{L}$  de solução salina para acondicionar a amostra, a qual foi descartada. Em seguida, foram eluídas mais quatro porções de 500  $\mu\text{L}$  a qual foi recolhida em tubo de ensaio. Após a eluição da solução salina, foi eluída através da mesma coluna uma alíquota de 500  $\mu\text{L}$  da suspensão com concentração de  $10^3$  células/mL para o acondicionamento da amostra. Esta alíquota foi descartada. Após acondicionar a amostra foram eluídas mais

três alíquotas de 500 µL e recolhidas em um tubo de ensaio. O mesmo procedimento foi realizado para as suspensões com concentrações de  $10^4$  a  $10^7$  células/mL.

- Diluição das suspensões eluídas, das suspensões controle e inoculação: as suspensões eluídas e controle (antes da eluição através da coluna) com concentrações de  $10^4$  a  $10^7$  células/mL foram diluídas. As diluições foram feitas de 1:10. Uma alíquota de 100 µL das suspensões iniciais foram transferidas para microtubos com 900 µL de salina a 0,9%. As diluições foram repetidas até alcançar a concentração de  $10^3$  células/mL. Em seguida, 100 µL de cada diluição foi inoculada em placas de Petri contendo meio nutriente LB sólido. Para a solução salina foi aplicada na placa uma alíquota de 400 µL. Para cada concentração foram inoculadas três placas para contagem.
- Incubação: as placas foram incubadas em posição invertida em estufa por 24 horas a 37°C. Após esse período as unidades formadoras de colônia (UFC) foram contadas manualmente.
- Ensaio de estabilidade dos copolímeros: Foram utilizados para o ensaio 450 µL de solução salina estéril, a qual foi eluída através da coluna contendo 0,2 mL da amostra de copolímeros. Em seguida foram adicionados 50 µL de suspensão com concentração de  $10^4$  células/mL. Após 3 minutos de contato da suspensão bacteriana com o eluído, foi retirada uma alíquota de 100µL e plaqueada. Esse procedimento foi feito repetido mais duas vezes.

A ação bactericida dos copolímeros foi estimada pelo decréscimo de unidades formadoras de colônia (UFC) através da Equação 3. Os resultados obtidos foram tratados por análise estatística usando o Teste t-Student e Análise de Variância (ANOVA) (Beiguelman, 2002).

$$\text{Ação} = 100 \times (\text{UFC}_i - \text{UFC}_f) / \text{UFC}_i$$

Equação 3

Onde:

Ação = Redução do número de células viáveis (%)

$\text{UFC}_i$  = unidades formadoras de colônias antes da eluição através das pérolas de copolímeros

$\text{UFC}_f$  = unidades formadoras de colônias após a eluição através das pérolas de copolímeros

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A capacidade bactericida dos materiais poliméricos está relacionada às suas características morfológicas. Os diluentes são fundamentais na formação da estrutura porosa dos copolímeros. Diluentes solvatantes apresentam afinidade pelas cadeias poliméricas em formação e produzem uma rede gel expandida, que acaba por resultar em um material com grau de porosidade baixo (do tipo gel), enquanto que os diluentes não solvatantes não apresentam afinidade pelo polímero e produzem estruturas com elevada porosidade.

Com objetivo de avaliar a influência do grau de porosidade dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy sobre a capacidade bactericida dos materiais preparados a partir da quaternização desses suportes, esses copolímeros foram sintetizados empregando diferentes teores de diluentes solvatante e não solvatante, tolueno e n-heptano, respectivamente.

Para facilitar a compreensão do leitor esta seção será subdividida da seguinte forma:

- Síntese e caracterização dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy;
- Estabelecimento da metodologia de quaternização da piridina com iodeto de metila e acrilonitrila;
- Avaliação dos copolímeros sintetizados e quaternizados quanto a sua capacidade bactericida;
- Estabelecimento da metodologia de impregnação dos materiais quaternizados de seus copolímeros de partida com iodo;
- Avaliação da capacidade bactericida dos materiais impregnados com iodo.

### 4.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COPOLÍMEROS À BASE DE 2-VINILPIRIDINA

#### 4.1.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Através da técnica de polimerização em suspensão aquosa, foram sintetizados dois copolímeros de Sty-DVB-2Vpy usando a razão molar 20/10/70 entre os monômeros, grau de diluição igual a 100% e variando a composição da mistura diluente, constituída de tolueno e

n-heptano. Foram usadas duas proporções dessa mistura: uma contendo 30% de n-heptano e 70% de tolueno (copolímero A) e outra 50% de cada solvente (copolímero B).

A espectroscopia de infravermelho foi usada como ferramenta para avaliação qualitativa da incorporação dos monômeros, sobretudo do monômero nitrogenado. A Figura 14 mostra os espectros de infravermelho dos dois copolímeros preparados, por se tratarem de materiais com a mesma composição monomérica, os espectros apresentam as mesmas bandas de absorção.

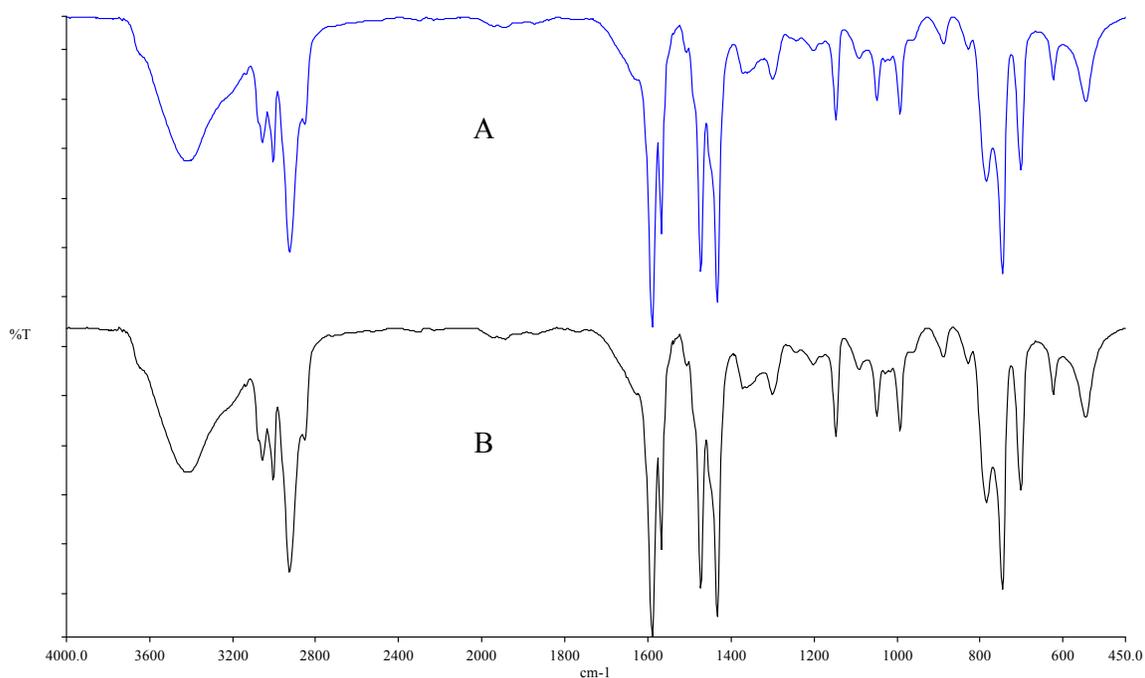


Figura 14 – Espectro de FTIR dos copolímeros A e B à base de 2-vinilpiridina

Na Tabela 6, são apresentadas as bandas de absorção características dos copolímeros sintetizados (Silverstein & Webster, 2000).

Tabela 6 – Principais absorções no espectro de infravermelho dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy

Absorção (cm <sup>-1</sup> )	Vibração
3435-3412	v (OH)
3080-3020	v (C-H) dos anéis de piridina e aromático
2928	v <sub>a</sub> (C-H) de CH <sub>2</sub>
2854	v <sub>s</sub> (C-H) de CH <sub>2</sub>
1600-1430	v (C=N) e (C=C) dos anéis de piridina e aromático
780-740	δ <sub>fp</sub> (C-H) do anel de piridina
690-710 e 730-770	δ <sub>fp</sub> (C-H) de anel aromático
630-605	δ <sub>fp</sub> do anel de piridina substituído na posição orto

δ = deformação angular; v = deformação axial; fp = fora do plano; a = assimétrica; s = simétrica

Os espectros dos copolímeros de partida (Figura 14) apresentam bandas de absorção de deformação angular fora do plano, em 747 cm<sup>-1</sup>, referente às unidades de piridina substituída na posição orto, bem como bandas de deformação axial na região entre 1600 e 1430, características de C=C e C=N de anel aromático indicando que ocorreu a incorporação da vinilpiridina ao copolímero sintetizado. As demais bandas de deformação características da matriz polimérica encontram-se descritas na Tabela 6.

O grau de incorporação da vinilpiridina ao copolímero foi obtido por meio de análise elementar. O valor experimental de nitrogênio, encontrado na análise elementar, foi comparado com o valor teórico, que foi calculado através da Equação 4.

$$N = \frac{m_{2vp} \times 14,007}{m_{total} \times mol_{2vp}} \times 100$$

Equação 4

Onde:

m<sub>2vp</sub> = massa de 2-vinilpiridina

m<sub>total</sub> = massa total de monômeros

mol<sub>2vp</sub> = massa molecular de 2-vinilpiridina (105,14g)

Os resultados mostrados na Tabela 7 indicam que houve alta incorporação de 2-vinilpiridina aos copolímeros, uma vez que os valores teóricos e experimentais do nitrogênio se aproximaram.

Tabela 7 – Teor de nitrogênio incorporado aos copolímeros

Copolímeros de partida	Teor de Nitrogênio Experimental <sup>a</sup> (%)	Teor de Nitrogênio Teórico <sup>b</sup> (%)	Rendimento da Reação (%)
A	9,05	8,91	90
B	8,96	8,92	96

a – obtido através de análise elementar; b – obtido através da Equação 4

De acordo com os resultados da Tabela 7, pode-se verificar que a reação de polimerização ocorreu com alto rendimento, indicando a alta incorporação dos monômeros aos copolímeros sintetizados. O rendimento foi calculado relacionando a massa dos monômeros utilizados com a massa do copolímero obtida ao final da síntese. Esse procedimento foi adotado por se tratar de uma reação de adição.

#### 4.1.2. CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA FÍSICA

Com o objetivo de avaliar o grau de porosidade dos copolímeros obtidos, foram realizadas medidas de densidade aparente, área específica, volume e diâmetro de poros. Além disso, foi feita a avaliação da morfologia desses materiais por microscopia ótica e eletrônica de varredura. A Tabela 8 apresenta o resultado das caracterizações feitas para os dois copolímeros A e B.

Tabela 8 - Caracterização da porosidade dos copolímeros sintetizados

Copolímero	Tol/Hep <sup>a</sup>	$d_{ap}$ <sup>b</sup> (g/cm <sup>3</sup> )	$S^c$ (m <sup>2</sup> /g)	$D^d$ (Å)	$V^e$ (cm <sup>3</sup> /g)
A	70/30	0,66	0,14	*	0,007
B	50/50	0,35	40,41	282,34	0,304

a) Tol = tolueno, Hep = heptano; b) Densidade aparente; c) Área superficial obtida pela equação de BET; d) Diâmetro médio de poros obtido pela equação de BJH; e) Volume poros fixos obtido pela equação de BJH; \*abaixo do limite de detecção

A associação entre os valores de densidade aparente, de área específica e de volume de poros determinados para materiais esféricos caracterizam, de forma bastante completa, a porosidade de polímeros esféricos reticulados. Copolímeros que apresentam maior porosidade em sua estrutura têm menores valores de densidade aparente, devido à menor quantidade de massa ocupada por unidade de volume. O volume de poros e a densidade aparente de materiais esféricos são características que apresentam relação inversa. O aumento dos valores de densidade aparente implica na redução do volume de poros (Rabelo, 1994). É possível observar, analisando a Tabela 8, que o copolímero B sintetizado com a mistura diluente tolueno/heptano na proporção 50/50 apresenta menor densidade aparente do que o copolímero A, produzido na proporção 70/30. Isso sugere que o copolímero B possui maior porosidade, ou seja, que apresenta maior volume de poros. O copolímero A apresenta área superficial bem pequena, aproximadamente 0,1 m<sup>2</sup>/g. Este resultado está em consonância com o esperado já que o aumento da proporção de tolueno na mistura diluente conduz a formação de materiais menos porosos. Em contrapartida, o copolímero B apresenta uma área bem maior característica de materiais com porosidade permanente. De forma geral, os resultados apresentados indicam que, a redução do poder solvatante da mistura diluente produz materiais com maior porosidade, enquanto o aumento do poder de solvatação contribui para formação de materiais com baixa porosidade.

As micrografias apresentadas na Figura 15 corroboram os resultados descritos até aqui sobre a caracterização da porosidade dos copolímeros sintetizados.

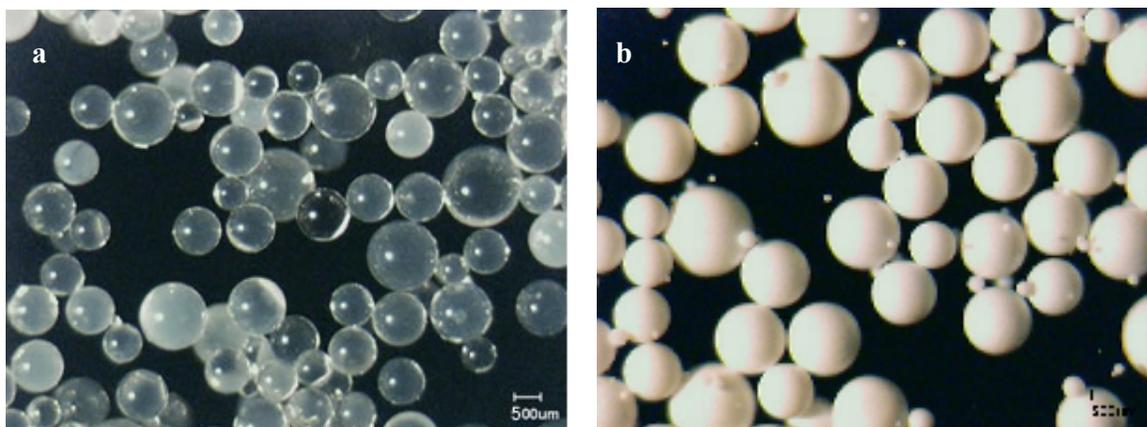


Figura 15 – Micrografias de microscopia ótica dos copolímeros com 75x de magnitude; a) Copolímero A (30% de n-heptano); b) Copolímero B (50% de n-heptano)

A Figura 15 mostra que os copolímeros sintetizados A e B têm morfologia esférica, característica de materiais produzidos através da técnica de polimerização em suspensão aquosa. O copolímero A sintetizado com maior teor de tolueno, diluente solvatante, apresenta maior domínio de pérolas transparentes e brilhantes. Esta característica indica que o copolímero A é do tipo gel (não apresenta poros no estado seco). Durante a reação de polimerização, é formada uma estrutura gel expandida, a qual o diluente solvatante permanece. Após a síntese, o diluente é removido e a estrutura colapsa, conseqüentemente, o copolímero não apresentará poros no estado seco (Jandrey, 2007).

De forma geral, copolímeros com média a alta porosidade apresentam-se opacos. A diminuição no poder de solvatação da mistura diluente promove a separação de fases mais cedo durante o processo de polimerização. Como resultado, haverá formação de estruturas heterogêneas. A opacidade das pérolas é conseqüência desta heterogeneidade, que provoca a dispersão da luz incidente no microscópio ótico. A Figura 15 mostra o aspecto ótico, opaco, do copolímero B indicando a presença de poros no estado seco em sua estrutura.

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada para avaliar a estrutura porosa dos copolímeros sintetizados, como a textura e a rugosidade, isto é, o aspecto da superfície das pérolas. A Figura 16 apresenta as micrografias eletrônicas de varredura dos copolímeros A e B.

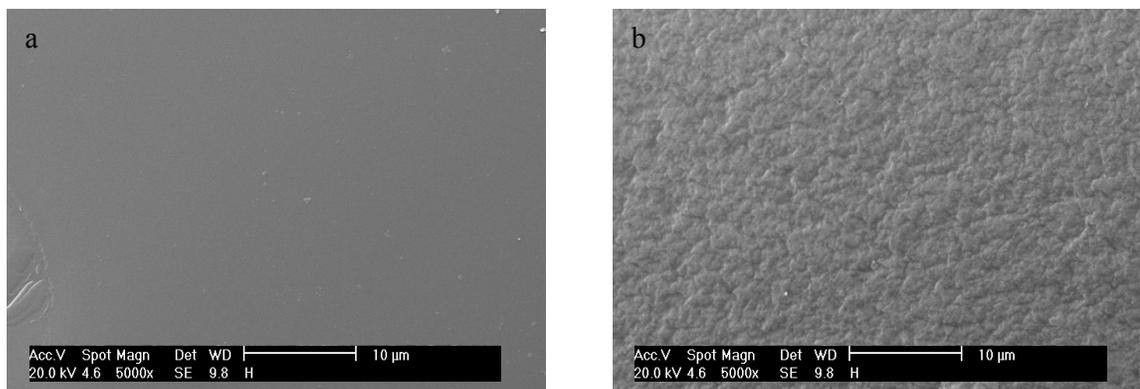


Figura 16 – Micrografias de microscopia eletrônica de varredura dos copolímeros com 5000x de magnitude; a) copolímero A (30% de n-heptano); b) copolímero B (50% de n-heptano)

Comparando as micrografias dos copolímeros A e B (Figura 16), pode-se verificar que a superfície do copolímero B apresenta maior rugosidade devido à heterogeneidade de sua superfície. Já a micrografia do copolímero A mostra que sua superfície é lisa, característica de materiais que não apresentam poros no estado seco. Estes resultados estão de acordo com as conclusões obtidas a partir das micrografias óticas.

O grau de inchamento dos copolímeros depende de sua afinidade pelo solvente, as cadeias poliméricas se expandem à medida que as moléculas de solvente solvatam os segmentos da rede polimérica. De forma geral, copolímeros do tipo gel possuem a capacidade de inchar em bons solventes devido, principalmente à expansão da fase colapsada (gel), promovendo, assim, variação de volume. O mesmo comportamento não é verificado em copolímeros macroporosos, já que a fração gel neste material é bem menor. Nesse caso, o solvente preenche um teor de poros fixos. Portanto, de uma forma geral, copolímeros sintetizados com maior proporção de heptano na mistura diluente apresentam menor capacidade de inchar, uma vez que, há formação de poros rígidos em sua estrutura.

A Tabela 9 apresenta os valores percentuais de inchamento dos copolímeros sintetizados em um bom solvente (tolueno) e em um mau solvente (heptano).

Tabela 9 - Grau de inchamento dos copolímeros

Copolímero	Sistema Diluente <sup>a</sup>	I <sub>Tol</sub> (%)	I <sub>Hep</sub> (%)
	Tol/Hep		
A	70/30	55	0
B	50/50	25	0

a) Tol = tolueno, Hep = heptano

A literatura reporta que copolímeros à base de estireno e divinilbenzeno apresentam elevada capacidade de inchamento em tolueno, isto porque os parâmetros de solubilidade destes são semelhantes (copolímero Sty-DVB  $\delta= 17,8 \text{ MPa}^{1/2}$ ; tolueno  $\delta= 18,2 \text{ MPa}^{1/2}$ ). Dessa forma, era esperado que o copolímero A, do tipo gel, apresentasse maior grau de inchamento do que o obtido. Observando a Tabela 9 pode-se verificar que o copolímero A inchou apenas 55%, o que pode ser atribuído a presença da piridina no copolímero, um monômero polar, que torna o tolueno um solvente termodinamicamente pior para as cadeias poliméricas desse material.

#### 4.1.3. ESTABILIDADE TÉRMICA DOS COPOLÍMEROS

A estabilidade térmica dos copolímeros foi verificada através de análise termogravimétrica (TGA) em atmosfera de nitrogênio. A Figura 17 mostra as curvas de TG e DTG dos copolímeros A e B. As curvas de degradação térmica dos materiais sintetizados apresentaram perfis semelhantes, por apresentarem a mesma composição química. No entanto, pode se notar uma diferença sutil na temperatura inicial de degradação (temperatura *onset*) entre os copolímeros A e B (Tabela 10). O copolímero B (mais poroso) apresenta maior facilidade de se degradar que o copolímero A, esse comportamento é condizente com o observado por Jandrey (2007) e por Simplício (2008), e pode ser explicado considerando a diminuição da interação do tipo dipolo-dipolo entre as cadeias poliméricas em função do aumento da heterogeneidade.

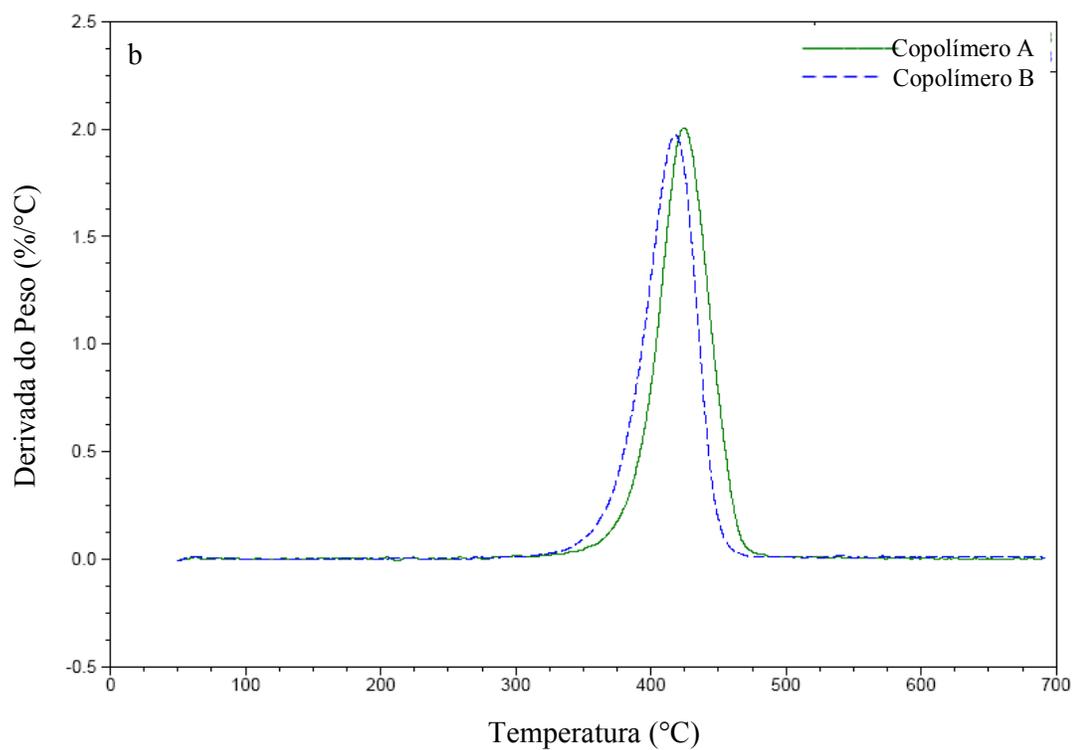
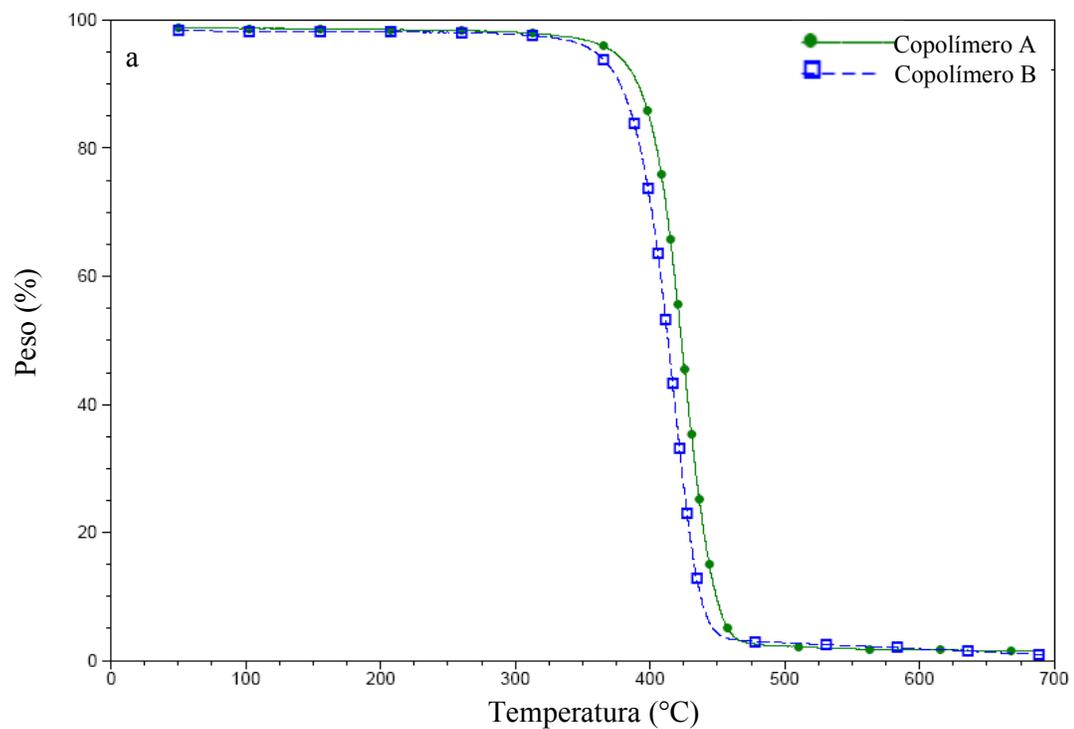


Figura 17 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) dos copolímeros de partida A e B

Tabela 10 – Características térmicas dos copolímeros sintetizados

Copolímero	T <sub>onset</sub> <sup>a</sup> (°C)	Td <sup>b</sup> (°C)	Teor de resíduo (%)
A	399	424	1,4
B	389	417	0,93

a) Temperatura inicial de degradação; b) Temperatura de degradação na derivada

## 4.2. MODIFICAÇÃO QUÍMICA DOS COPOLÍMEROS À BASE DE VINILPIRIDINA

Agentes ativos com superfície catiônica, que apresentam propriedades bactericidas, desempenham um papel importante como sanitizante, agente anticéptico, germicida e fungicida. De acordo com a literatura, os materiais poliméricos com cargas positivas em suas redes macromoleculares apresentam a capacidade de capturar, isolar e inativar bactérias e vírus através de interações eletrostáticas (Tyagi, 2008). É importante ressaltar que as propriedades antibacterianas de suportes funcionalizados estão relacionadas não só com a capacidade bactericida dos grupos funcionais presentes na matriz polimérica, mas também com a distribuição adequada desses grupos ativos na superfície da rede polimérica. Por tanto, faz-se necessário o estudo para obter suportes poliméricos com estrutura físico-química favorável à reação de obtenção dos grupos ativos. Com objetivo de preparar materiais mais polares e com atividade bactericida, os copolímeros A e B foram modificados quimicamente empregando diferentes reagentes: iodeto de metila e acrilonitrila. A modificação foi realizada visando a obtenção do nitrogênio quaternizado nas unidades de piridina da estrutura polimérica dos copolímeros.

### 4.2.1. MODIFICAÇÃO DOS COPOLÍMEROS COM IODETO DE METILA

A metodologia adotada para reação de quaternização do nitrogênio com iodeto de metila é uma adaptação do método utilizado por Kuca e colaboradores (2004). Neste método, foi produzido um surfactante catiônico (N-benzil-N,N-dimetiloctano-1-brometo de amônio) a partir do composto N,N-dimetilbenzilamina (Figura 18).

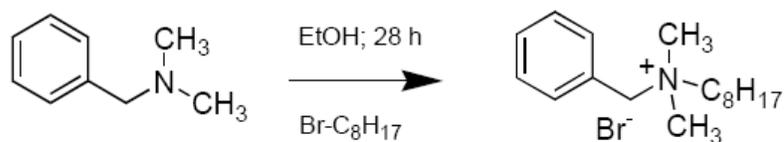


Figura 18 – Síntese do N-benzil-N,N-dimetiloctano-1-brometo de amônio (Kuca et al.; 2004)

#### 4.2.1.1. MODIFICAÇÃO DO COPOLÍMERO POROSO B

A reação de quaternização com iodeto de metila (Figura 19) foi realizada em pequena escala. Esta medida teve como objetivo verificar os parâmetros ideais para a reação de quaternização em escala maior. Tendo em vista que o copolímero B apresenta propriedades morfológicas que permitem melhor acesso do reagente aos sítios ativos da estrutura polimérica, este foi escolhido para iniciar a reação de quaternização. Inicialmente, as pérolas do copolímero B foram inchadas em metanol para facilitar o acesso do reagente aos centros reacionais da matriz polimérica. A relação molar entre o reagente iodeto de metila e a piridina foi escolhida como primeiro parâmetro a ser estudado para otimizar a reação. A reação foi feita a razão molar de 1:10 entre 2Vpy e iodeto de metila, considerando o valor teórico do monômero 2Vpy, sob refluxo (50°C) durante 24h. O novo material quaternizado foi chamado de copolímero 1B (B: copolímero de partida, 1B: copolímero B quaternizado com iodeto de metila).

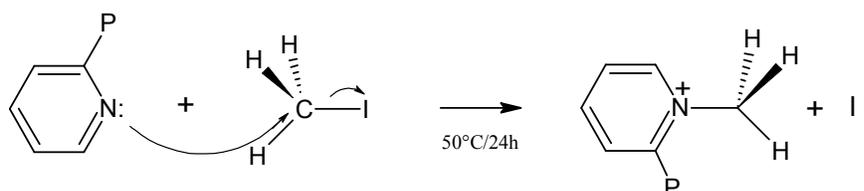


Figura 19 – Reação de quaternização do nitrogênio das unidades de piridina dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy com iodeto de metila

A reação de quaternização das unidades de piridina foi acompanhada por espectrometria na região do infravermelho. A Figura 20 mostra as diferentes bandas de absorção entre os espectros do copolímero de partida B e de seu derivado quaternizado 1B.

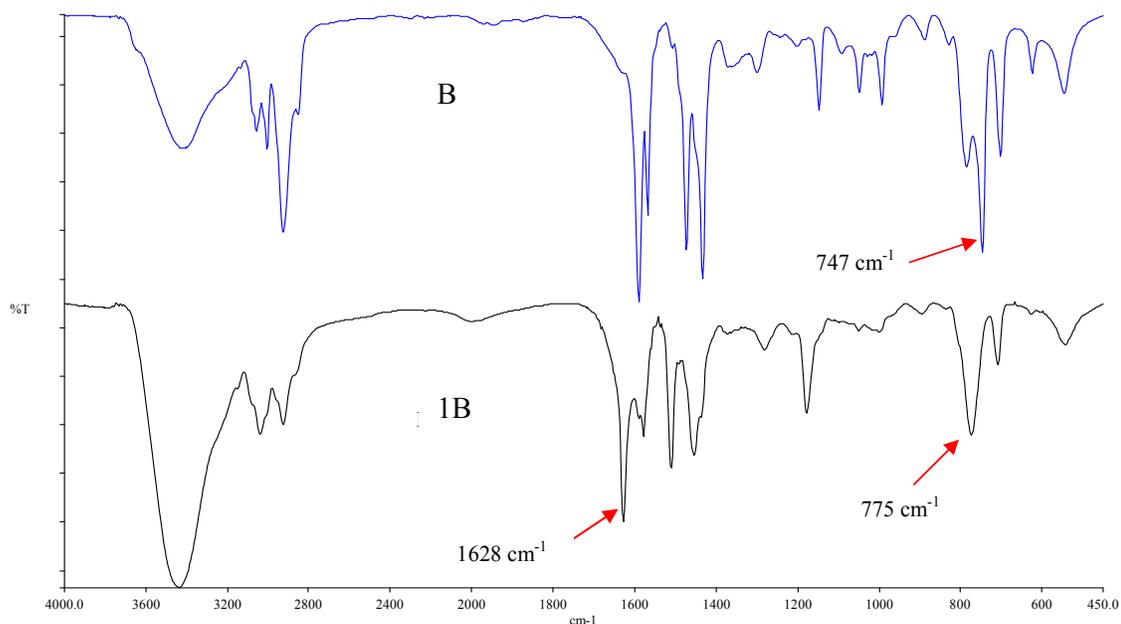


Figura 20 – Espectro de infravermelho do copolímero B e seu derivado quaternizado 1B (em pequena escala)

É possível observar, através da análise da Figura 20, a ocorrência da reação de quaternização do copolímero 1B com iodeto de metila. Percebe-se uma alteração na posição e intensidade da banda de deformação angular fora do plano referente à vibração C-H do anel de piridina, em  $747\text{ cm}^{-1}$ , que pode ser explicada em função da maximização do efeito indutivo nessa ligação provocada pela redução da carga eletrônica no átomo de nitrogênio (Jandrey, 2007). Além disso, a formação do íon piridínio é evidenciada pelo aparecimento da banda de absorção de deformação axial em  $1628\text{ cm}^{-1}$  (Yang et al., 2005). O aumento da intensidade da banda de deformação axial característica de O-H indica que o copolímero quaternizado absorve maior umidade do que o copolímero de partida. Esse resultado sugere a introdução de cargas positivas na matriz polimérica do copolímero quaternizado, devido ao aumento da hidrofiliabilidade desse material.

A quaternização do nitrogênio da piridina com o reagente iodeto de metila é uma reação de substituição nucleofílica bimolecular ( $S_N2$ ). Os parâmetros empregados nesta reação em pequena escala, como tempo (24h), temperatura (50 °C) e razão molar entre os reagentes (2Vpy/CH<sub>3</sub>I = 1/10), foram usados na reação em larga escala. O espectro das pérolas do copolímero quaternizadas em grande escala (Figura 21) é condizente com o espectro do copolímero que foi modificado em pequena escala, indicando que a quaternização ocorreu.

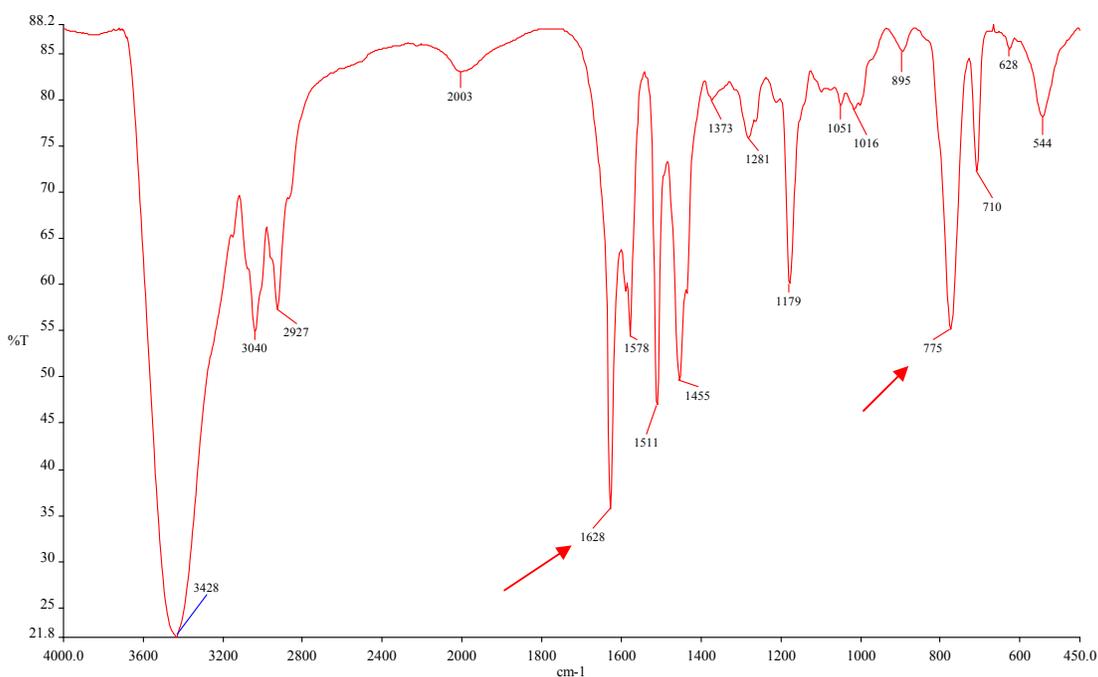


Figura 21 – Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com iodeto de metila em grande escala (1B)

O copolímero B quaternizado foi submetido à análise termogravimétrica não só para verificar sua estabilidade térmica, mas também para confirmar sua modificação química. A Figura 22 mostra que, as curvas de TGA e DTG do copolímero quaternizado apresentam diferentes perfis em relação ao copolímero matriz. O copolímero matriz possui apenas um patamar de degradação, enquanto o copolímero quaternizado possui dois estágios de decomposição, o primeiro relacionado à degradação dos grupos metilênicos e o segundo relativo à queima da cadeia carbônica.

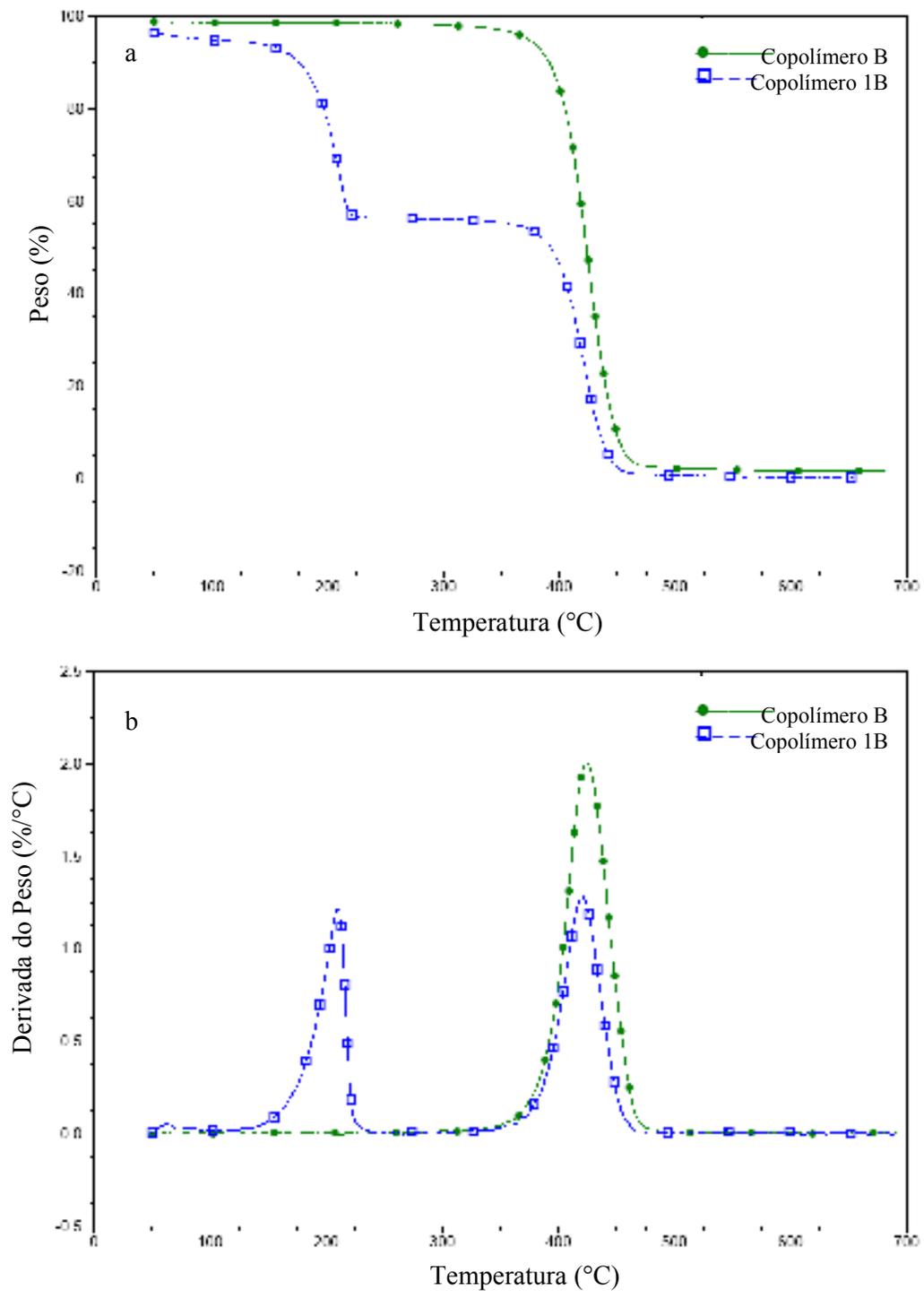


Figura 22 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímtero B e de seu derivado quaternizado com iodeto de metila (1B)

#### 4.2.1.2. MODIFICAÇÃO DO COPOLÍMERO GEL A

Para obter o copolímero A quaternizado foram empregados os mesmos parâmetros de reação adotados na modificação do copolímero B, já que os resultados indicaram que a reação ocorreu. Este novo material quaternizado foi chamado de copolímero 1A (A: copolímero de partida; 1A: copolímero A quaternizado com iodeto de metila).

A quaternização das pérolas do copolímero também foi verificada por espectroscopia na região do infravermelho e por análise termogravimétrica (Figuras 23 e 24, respectivamente). Os resultados apresentados no espectro e nas curvas de TGA e DTG sugerem que a quaternização do anel de piridina ocorreu.

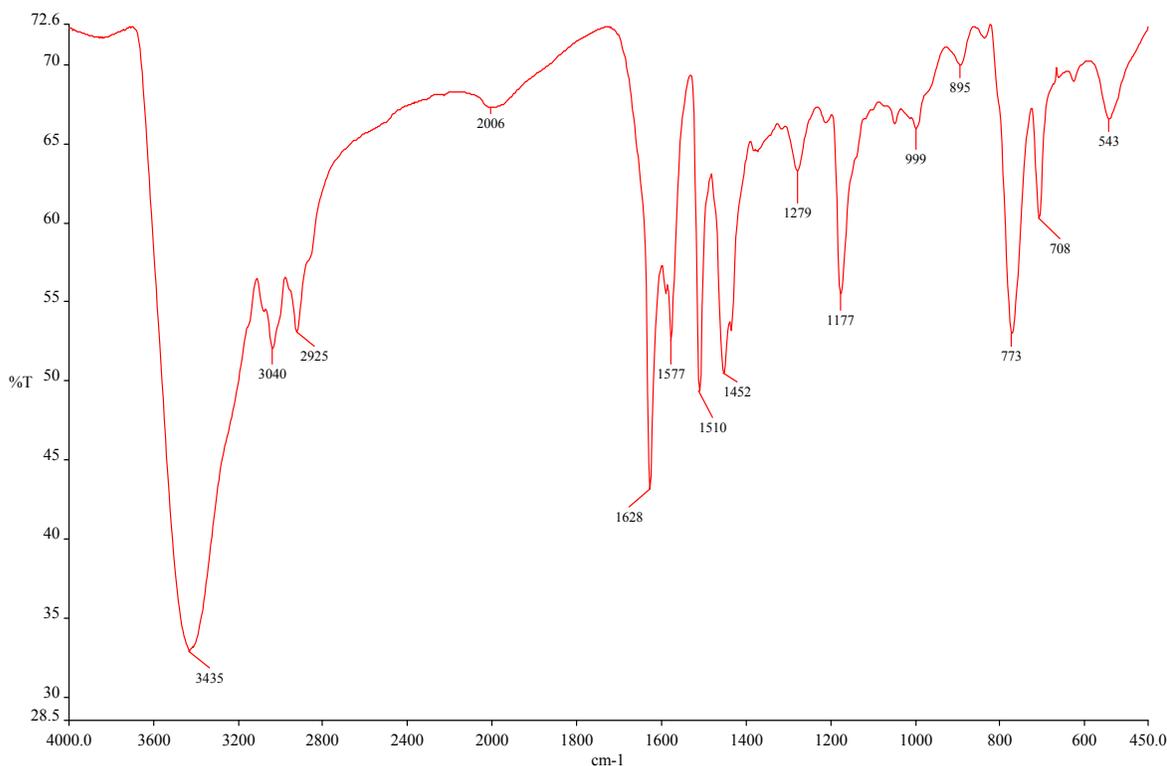


Figura 23 – Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com iodeto de metila (1A)

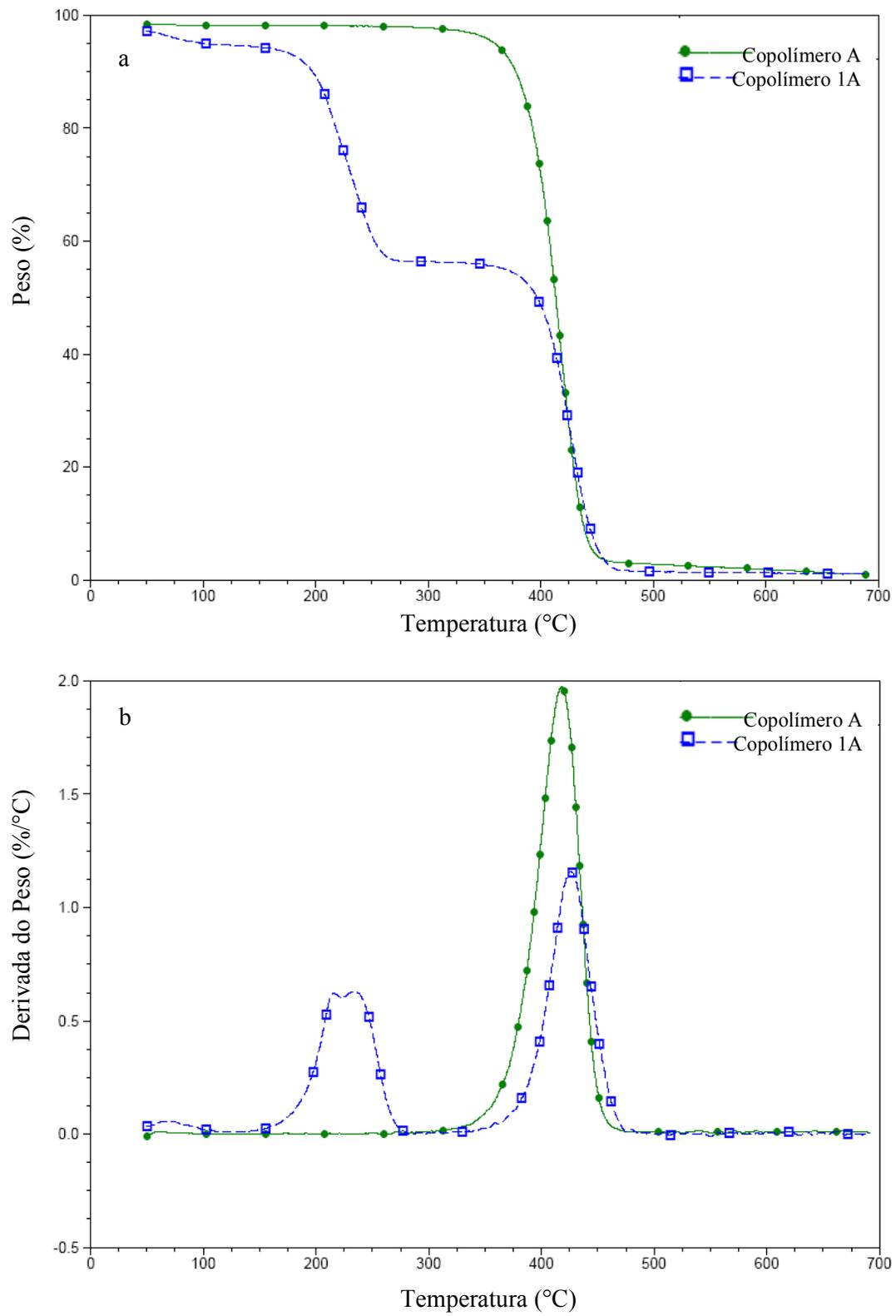


Figura 24 – Curvas de TGA (a) e DTG do copolímero (b) A e de seu derivado quaternizado com iodeto de metila (1A)

#### 4.2.2. MODIFICAÇÃO DOS COPOLÍMEROS COM ACRILONITRILA

Além da modificação com iodeto de metila, os copolímeros de partida (A e B) foram submetidos a uma reação de quaternização com acrilonitrila (Figura 25). Este procedimento teve como objetivo estabelecer uma nova metodologia de quaternização das unidades de piridina e avaliar a influência do tamanho da cadeia carbônica dos grupos usados na reação de quaternização sobre a capacidade bactericida dos materiais produzidos.

A metodologia de quaternização dos copolímeros com acrilonitrila, desenvolvida nesta dissertação, foi baseada no trabalho de Rodrigues e colaboradores (2007). Nesse trabalho, foram sintetizados uma série de copolímeros Sty-DVB-2Vpy e copolímeros Sty-DVB-4Vpy com diferentes razões molares entre os monômeros e variadas composições diluentes (misturas de tolueno e n-heptano). Esses suportes foram posteriormente inchados em metanol e reagidos com acrilonitrila em meio ácido, a razão molar entre 2Vpy e acrilonitrila foi 1:16 e a razão molar entre ácido e acrilonitrila foi de 1:4 (Rodrigues et al., 2007).

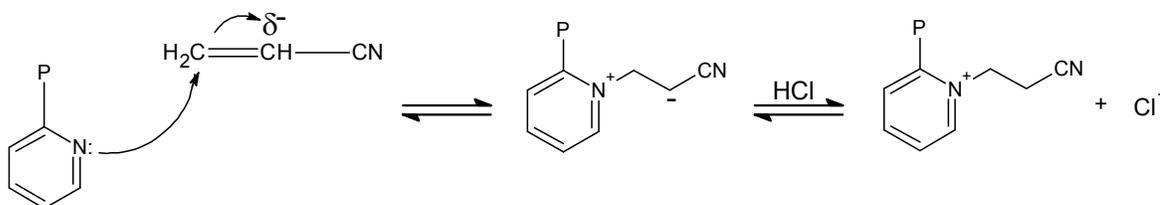


Figura 25 – Reação de quaternização do nitrogênio das unidades de piridina dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy com acrilonitrila

##### 4.2.2.1. MODIFICAÇÃO DO COPOLÍMERO POROSO B

A reação de quaternização com acrilonitrila é catalisada por um ácido prótico e ocorre através do mecanismo de adição de Michael (Figura 25). Embora o ácido catalise a reação, o seu excesso pode impedi-la de acontecer devido à protonação do nitrogênio nucleofílico da 2Vpy, tornando-o inativo. Dessa forma, faz-se necessário o estudo da concentração de hidrogênio para que a reação ocorra.

Inicialmente, a reação de quaternização com acrilonitrila foi realizada com o copolímero B em pequena escala, também com a finalidade de estudar as condições ideais de quaternização. Previamente à reação, as pérolas do copolímero B foram deixadas em contato com metanol por 24h para facilitar o acesso do reagente aos sítios ativos. Os parâmetros adotados para a reação de modificação foram os seguintes:

- Razão molar entre 2Vpy e acrilonitrila: 1/17;
- Razão molar entre ácido clorídrico (em solução aquosa) e acrilonitrila: 1/4;
- Tempo de reação: 24h;
- Temperatura: 70 °C.

Para verificar a ocorrência da quaternização, os copolímeros modificados foram analisados por espectroscopia na região do infravermelho. A Figura 26 mostra o espectro de infravermelho com transformada de Fourier do copolímero B submetido a quaternização com acrilonitrila.

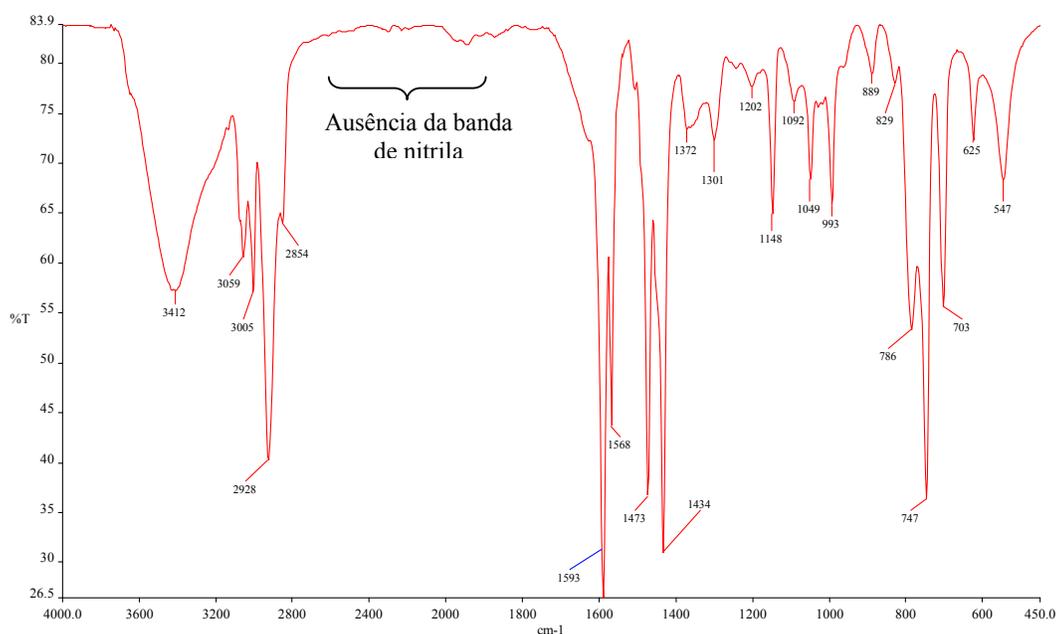


Figura 26 – Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à quaternização com acrilonitrila

A ocorrência da reação de quaternização do copolímero B seria confirmada pelo aparecimento da banda de absorção de deformação axial em  $2240\text{ cm}^{-1}$  característica do grupo nitrila ( $\text{C}\equiv\text{N}$ ) presente na acrilonitrila. No entanto, não foi observado o aparecimento desta banda. Este resultado pode estar associado à insolubilidade da acrilonitrila na solução aquosa de ácido clorídrico, que dificulta o contato do reagente (acrilonitrila) com as pérolas do copolímero. Assim, uma nova reação foi realizada adotando-se os mesmos parâmetros da reação anterior, entretanto, a solução aquosa ácida foi substituída por uma solução etanólica ácida. A Figura 27 mostra o espectro de infravermelho do copolímero B submetido à segunda tentativa de quaternização.

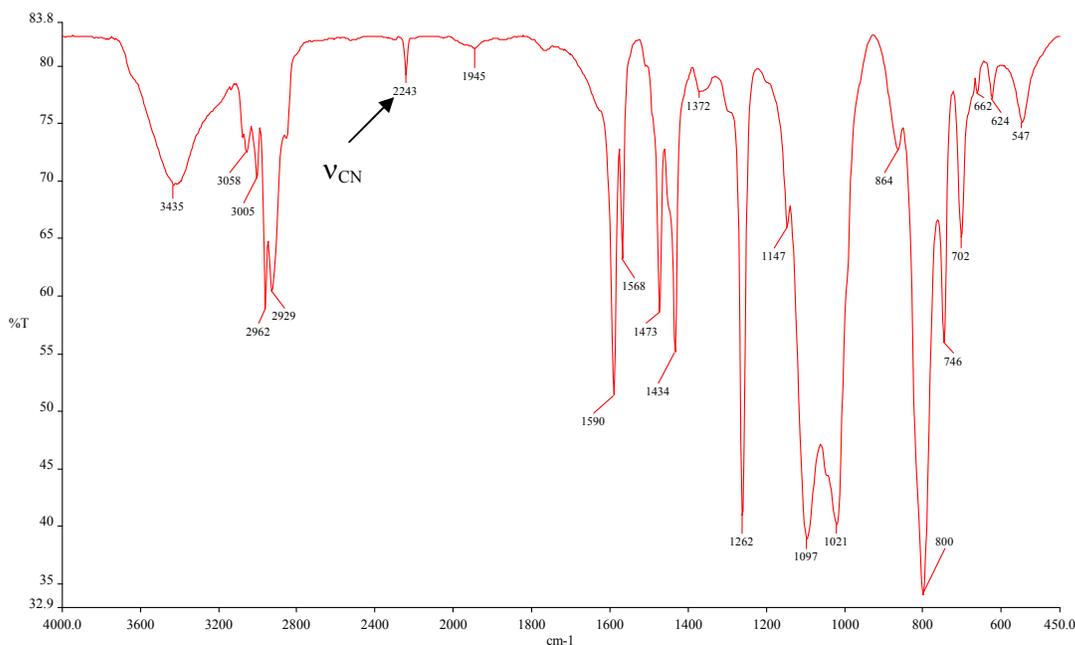


Figura 27 – Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à segunda tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila por 24h

Analisando o espectro da Figura 27 pode ser constatado o aparecimento da banda em  $2243\text{ cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}\equiv\text{N})$  da acrilonitrila), indicando a ocorrência da reação de quaternização com acrilonitrila. Provavelmente, a mudança de solvente no preparo da solução ácida favoreceu o contato entre a acrilonitrila e o copolímero. Apesar de o espectro indicar a modificação do

copolímero B, a banda de absorção apresenta baixa intensidade. Yang e colaboradores (2005) observaram que o aumento do tempo de contato favorecia a extensão da reação de quaternização de um copolímero 4Vpy com metacrilato de butila. Era verificado um aumento na intensidade da banda referente à formação do íon piridínio em função do acréscimo do tempo reacional. Com base nesse trabalho foi decidido verificar a influência do tempo na reação de quaternização. Assim, novas reações foram realizadas empregando os mesmos parâmetros reacionais anteriores por um tempo de 48h e posteriormente 72h (Figuras 28 e 29).

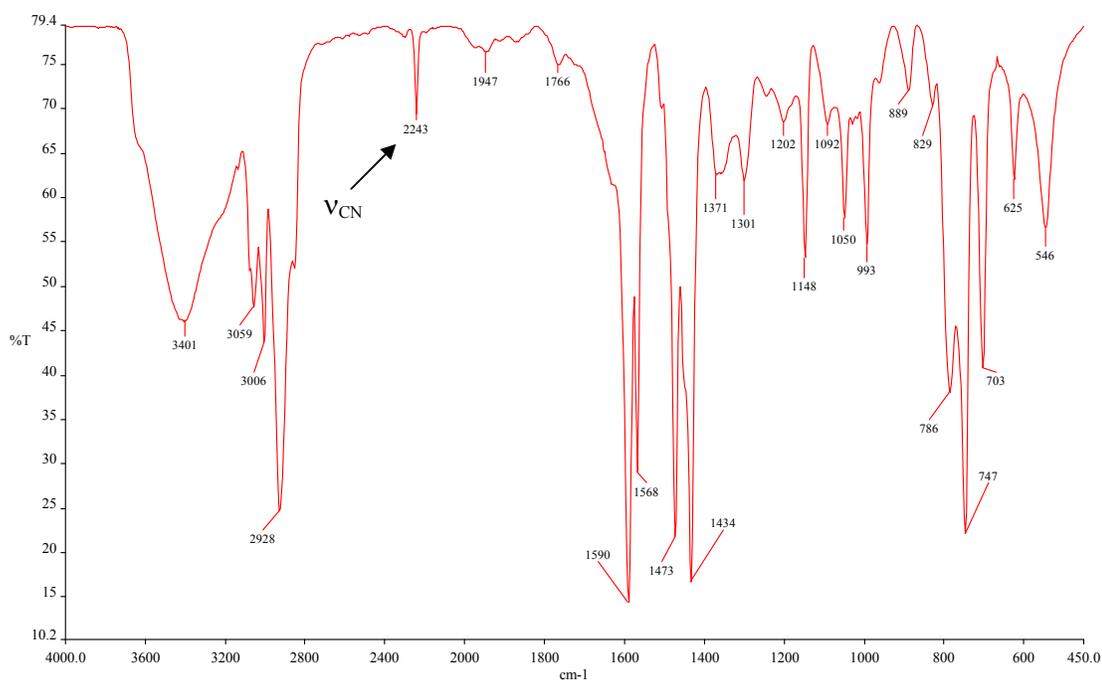


Figura 28 – Espectro de infravermelho do copolímero B submetido à de reação de quaternização com acrilonitrila por 48h

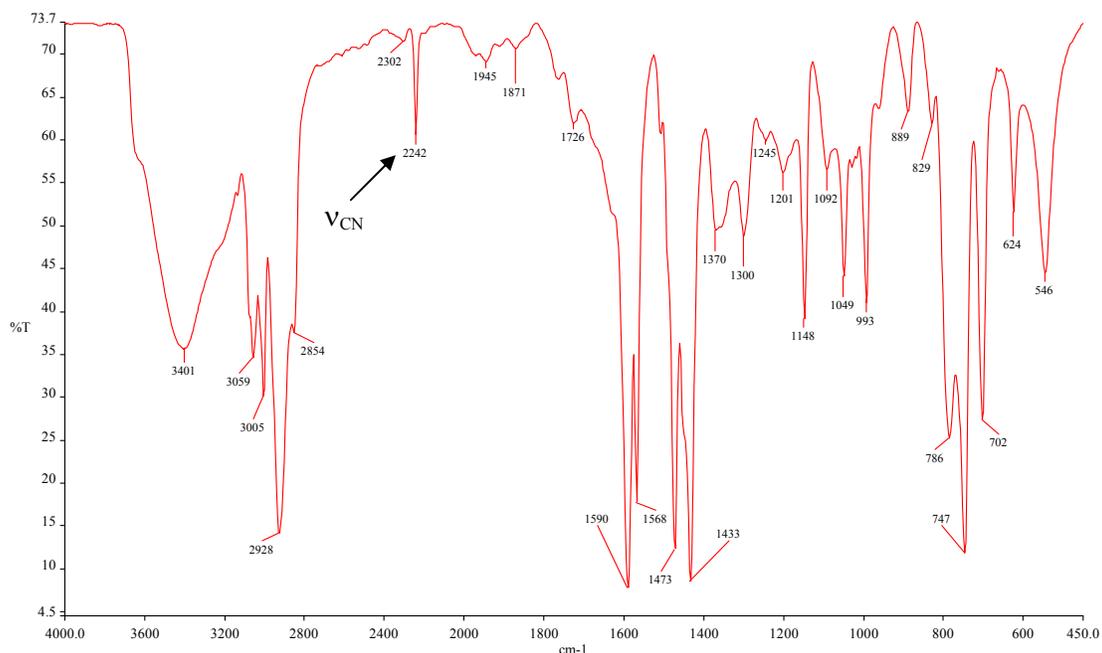


Figura 29 – Espectro de infravermelho do copolímero B submetido á reação de quaternização com acrilonitrila por 72h

As Figuras 28 e 29 mostram que a intensidade da banda em  $2243\text{ cm}^{-1}$ , referente ao grupo nitrila, aumentou gradativamente quando a reação foi feita em tempos maiores. Este resultado confirma que a extensão da quaternização é influenciada pelo tempo de reação.

Após esse estudo foram padronizadas as condições de quaternização do copolímero B com acrilonitrila para reprodução em grande escala:

- Razão molar entre 2Vpy e acrilonitrila: 1/17;
- Razão molar entre ácido clorídrico (em solução etanólica) e acrilonitrila: 1/4;
- Tempo de reação: 72h;
- Temperatura:  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

O novo material quaternizado em grande escala foi chamado de copolímero 2B (B: copolímero de partida; 2B: copolímero B quaternizado com acrilonitrila). O espectro de FTIR referente a esse novo material é apresentado na Figura 30.

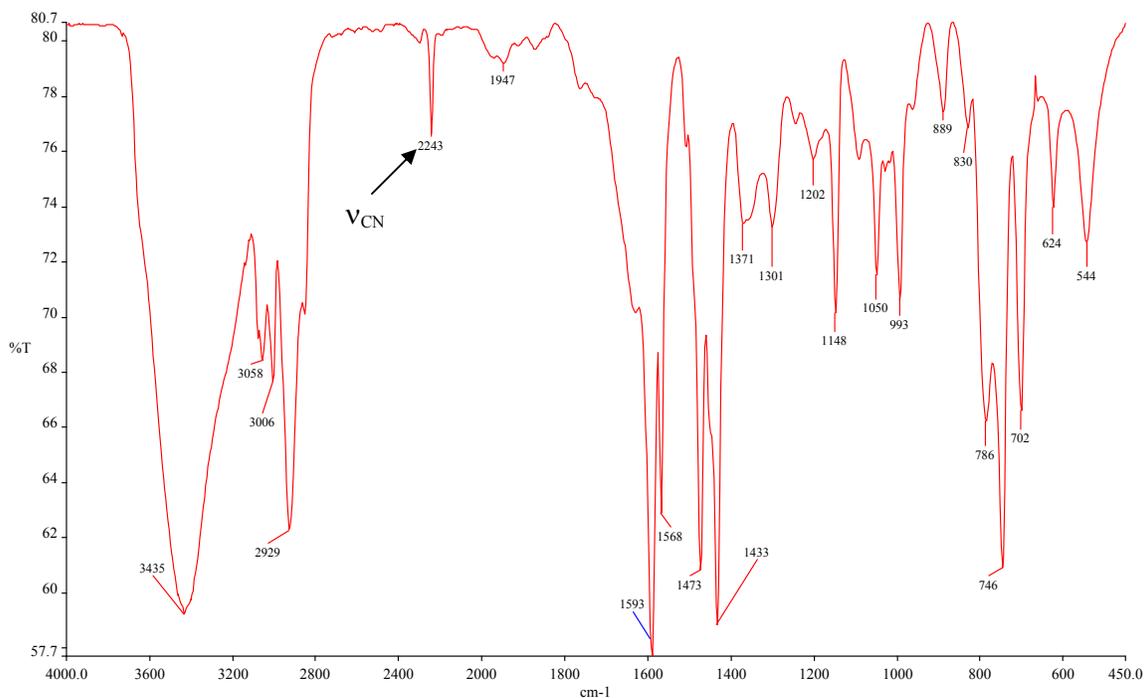


Figura 30 – Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com acrilonitrila em grande escala (2B)

É possível observar que os espectros das Figuras 29 e 30 apresentam um perfil semelhante, ambos confirmam a ocorrência da reação de quaternização com acrilonitrila através do surgimento da banda de deformação axial em  $2243\text{ cm}^{-1}$  característica do grupo nitrila.

A reação de quaternização também é confirmada por análise termogravimétrica. O aparecimento de um outro estágio de degradação, anterior ao estágio referente à decomposição das cadeias carbônicas dos copolímeros, indica que a matriz polimérica foi modificada (Figura 31).

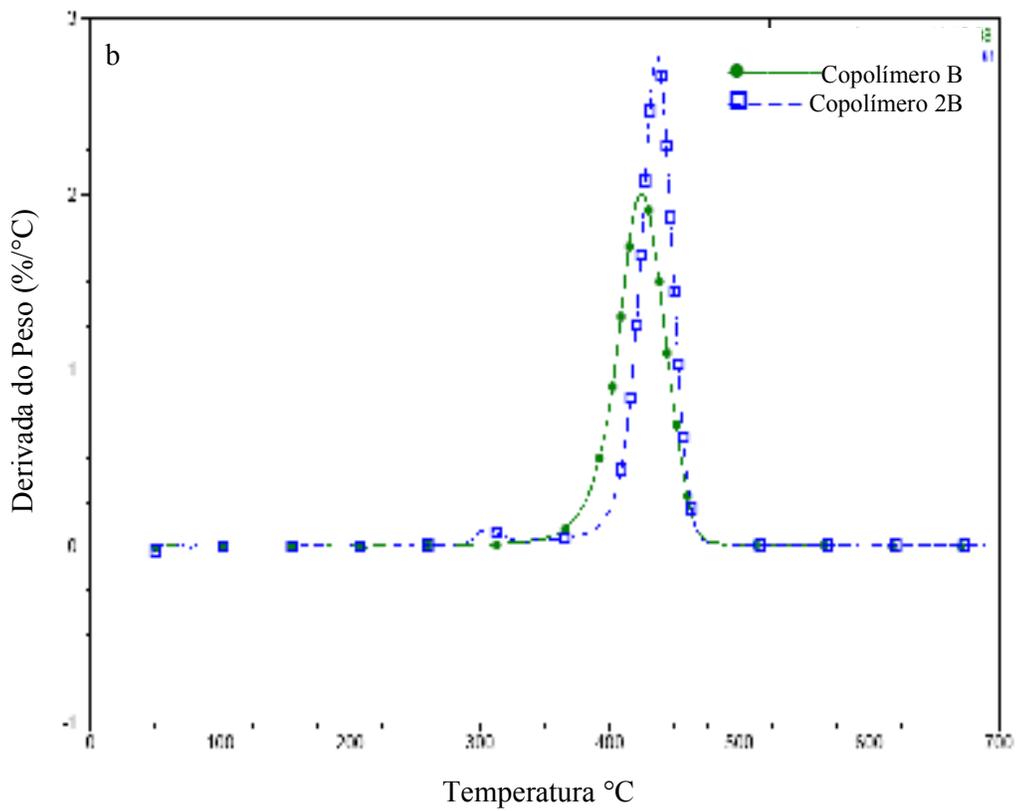
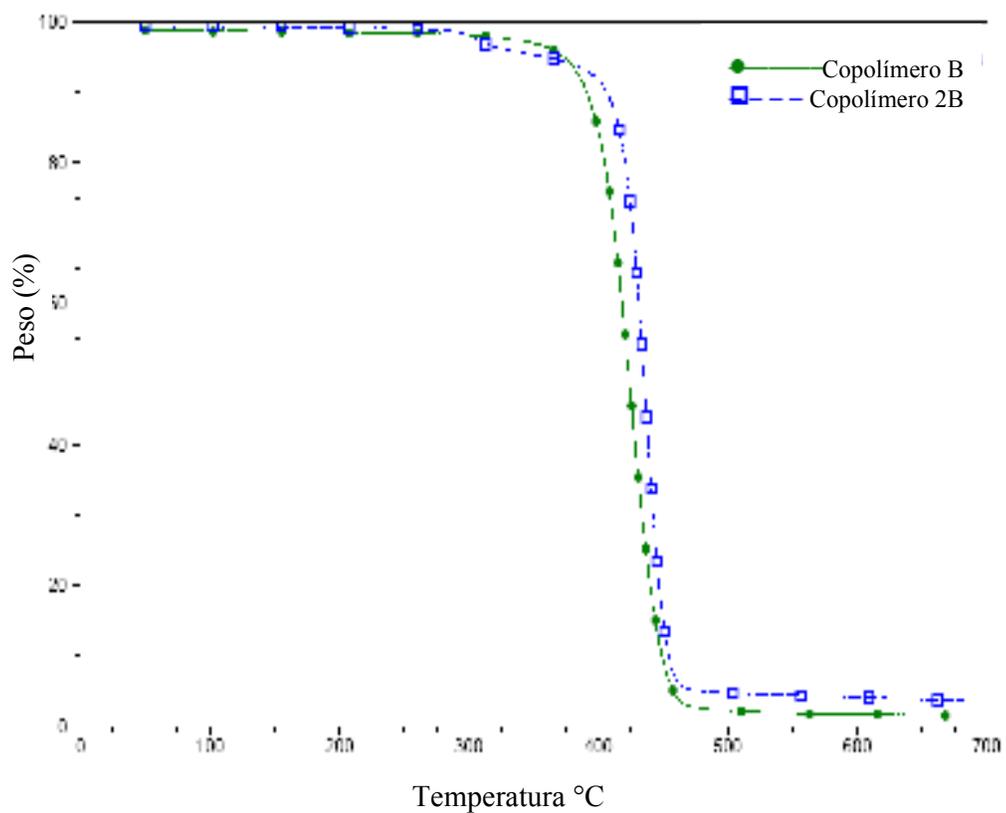


Figura 31 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímero B e de seu derivado quaternizado com acrilonitrila (2B)

#### 4.2.2.2. MODIFICAÇÃO DO COPOLÍMERO GEL A

Os parâmetros de reação que resultaram na quaternização do copolímero B foram inicialmente empregados na reação de modificação do copolímero A em pequena escala:

- Razão molar entre 2Vpy e acrilonitrila: 1/17;
- Razão molar entre ácido clorídrico (em solução etanólica) e acrilonitrila: 1/4;
- Tempo de reação: 24h;
- Temperatura: 70 °C.

Na Figura 32 é apresentado o espectro de FTIR referente à reação do copolímero A com acrilonitrila.

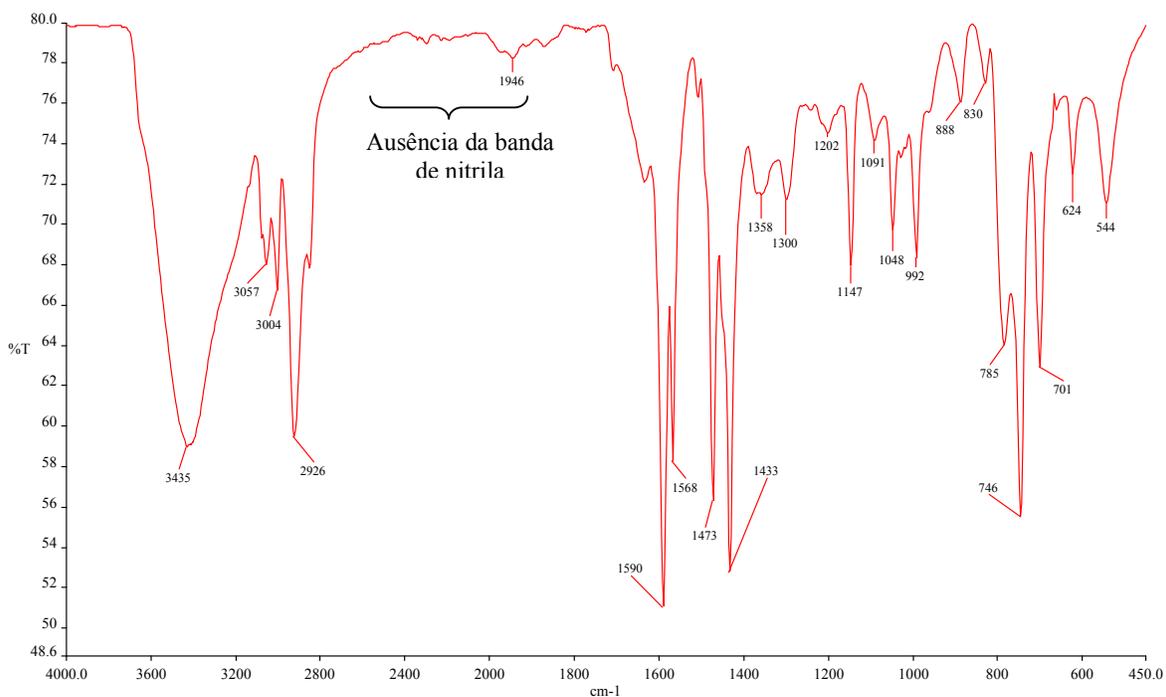


Figura 32 – Espectro de infravermelho do copolímero A submetido a reação de quaternização com acrilonitrila

Analisando o espectro de FTIR da Figura 32 é possível observar que o copolímero A não foi quaternizado com acrilonitrila (ausência da absorção de deformação axial em  $2240\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo  $\text{C}\equiv\text{N}$ ) empregando as mesmas condições reacionais usadas para modificação do copolímero B. A explicação para a incoerência dessa reação de quaternização pode estar relacionada à forma como a acrilonitrila acessa esses dois tipos de estrutura. O copolímero B, que possui poros verdadeiros, permite um rápido acesso da acrilonitrila à sua estrutura interna, o excesso dos prótons adicionados subsequentemente, a fim de catalisar essa reação, não protonam as unidades de piridina já em contato com a acrilonitrila. Já a difusão da acrilonitrila pelas pérolas copolímero A, do tipo gel, é limitada em função do volume desse reagente, mesmo estando esse material inchado por metanol. Com isso é provável que os prótons, com menor tamanho, consigam alcançar as unidades piridina antes do contato dessas unidades com o reagente, o que acaba por prejudicar a reação de quaternização.

Dessa forma, foram feitas novas reações reduzindo a concentração hidrogeniônica a fim de evitar a protonação da piridina. As novas razões molares entre o ácido e a acrilonitrila usadas nas reações foram de 1/4,5; 1/5 e 1/6. As Figuras 33, 34 e 35 mostram respectivamente os espectros de FTIR das reações realizadas com essas proporções de ácido.

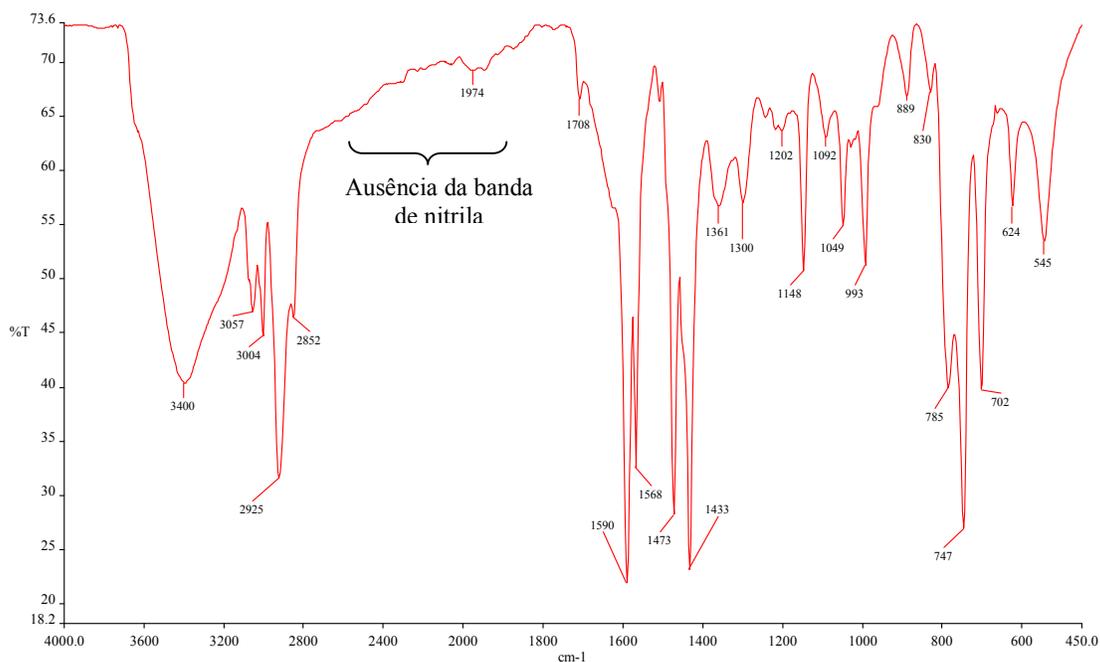


Figura 33 – Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à segunda tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila

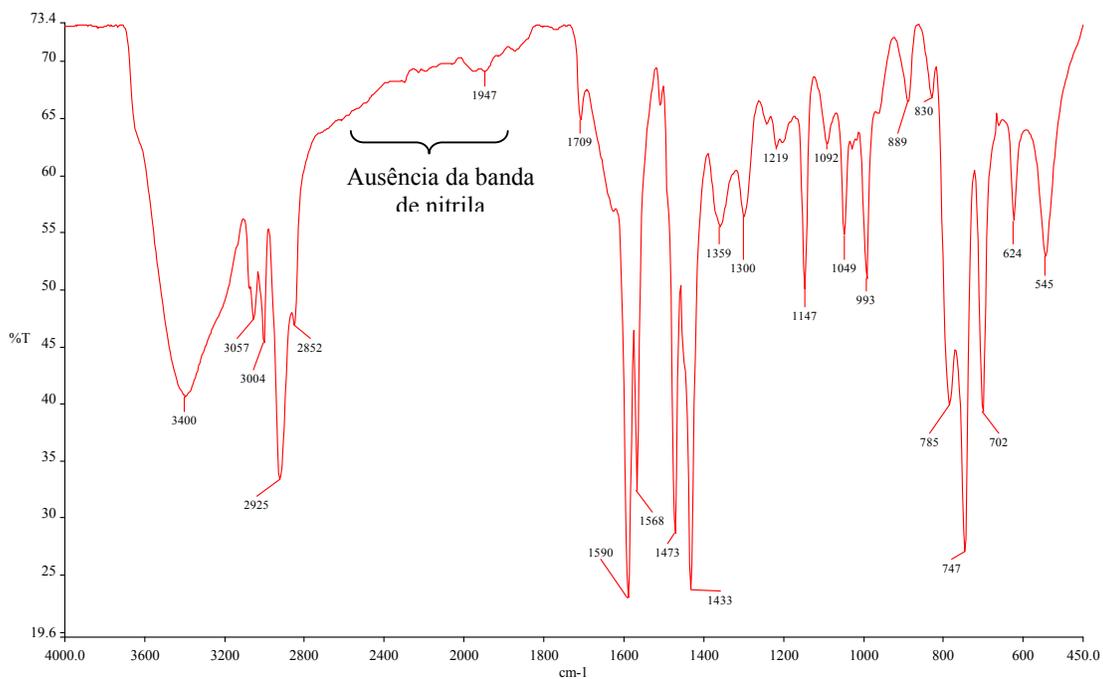


Figura 34 – Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à terceira tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila

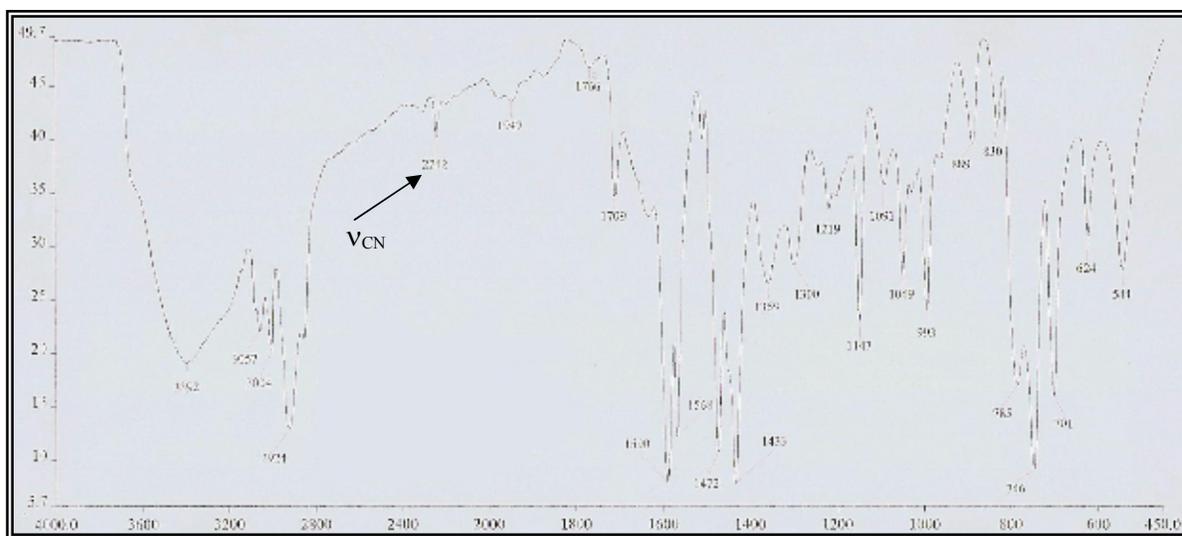


Figura 35 – Espectro de infravermelho do copolímero A submetido à quarta tentativa de reação de quaternização com acrilonitrila

De acordo com os resultados observados nos espectros de FTIR (Figuras 33, 34 e 35), é possível verificar que a banda de absorção referente ao grupo nitrila apareceu apenas no espectro da Figura 35, indicando que a quaternização do copolímero A ocorreu somente quando a razão molar entre o HCl e a acrilonitrila foi de 1/6.

Os parâmetros reacionais pré-determinados nas reações de modificação do copolímero A em pequena escala (parâmetros abaixo especificados) foram utilizados na reação de quaternização desse material em grande escala. Considerando o estudo sobre a influência que o tempo exerce no grau de quaternização, realizado para o copolímero B, o tempo de reação adotado nesta reação foi o mesmo empregado na reação em grande escala do copolímero B.

- Razão molar entre 2Vpy e acrilonitrila: 1/17;
- Razão molar entre ácido clorídrico (em solução etanólica) e acrilonitrila: 1/6;
- Tempo de reação: 72h;
- Temperatura: 70 °C.

O novo material quaternizado em grande escala foi chamado de copolímero 2A (A: copolímero de partida, 2A: copolímero A quaternizado com acrilonitrila). O espectro de FTIR referente a esse novo material é apresentado na Figura 36.

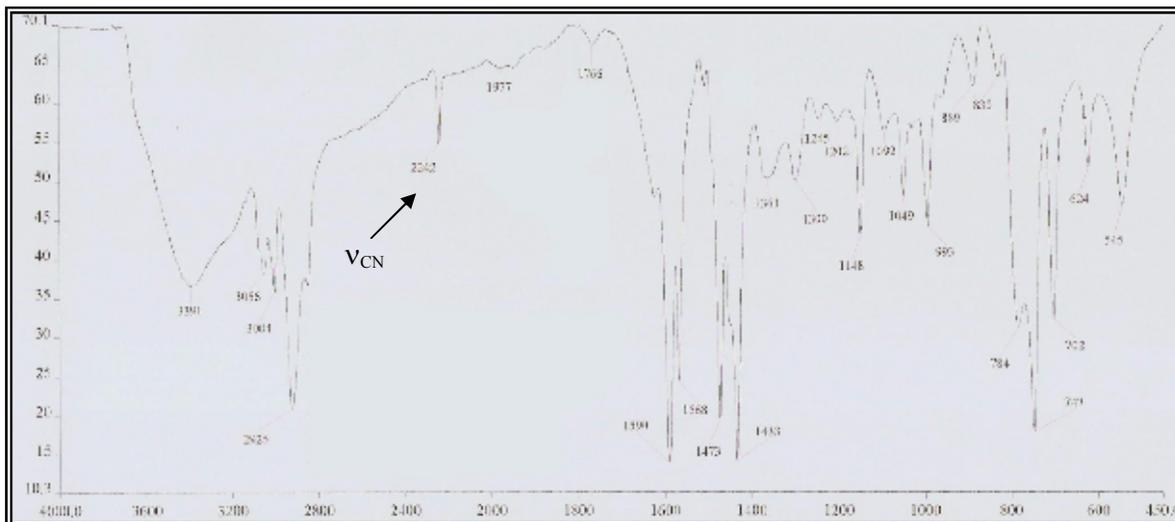


Figura 36 – Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com acrilonitrila em grande escala (2A)

Novamente os espectros de FTIR apresentados para as reações de modificação do copolímero A em pequena e grande escala são semelhantes (Figuras 35 e 36). Entretanto, pode-se verificar qualitativamente que a intensidade da banda de absorção característica do grupo nitrila, em  $2242\text{ cm}^{-1}$ , parece ser mais intensa no espectro do copolímero quaternizado em grande escala (reagido por 72 horas). Este resultado pode confirmar a influência que o tempo exerce sobre o grau de quaternização.

Da mesma forma que o copolímero 2B, o copolímero 2A foi submetido à análise termogravimétrica para confirmar a modificação química, que pode ser observada pelo surgimento de um estágio de degradação que antecede a degradação da cadeia polimérica (Figura 37)

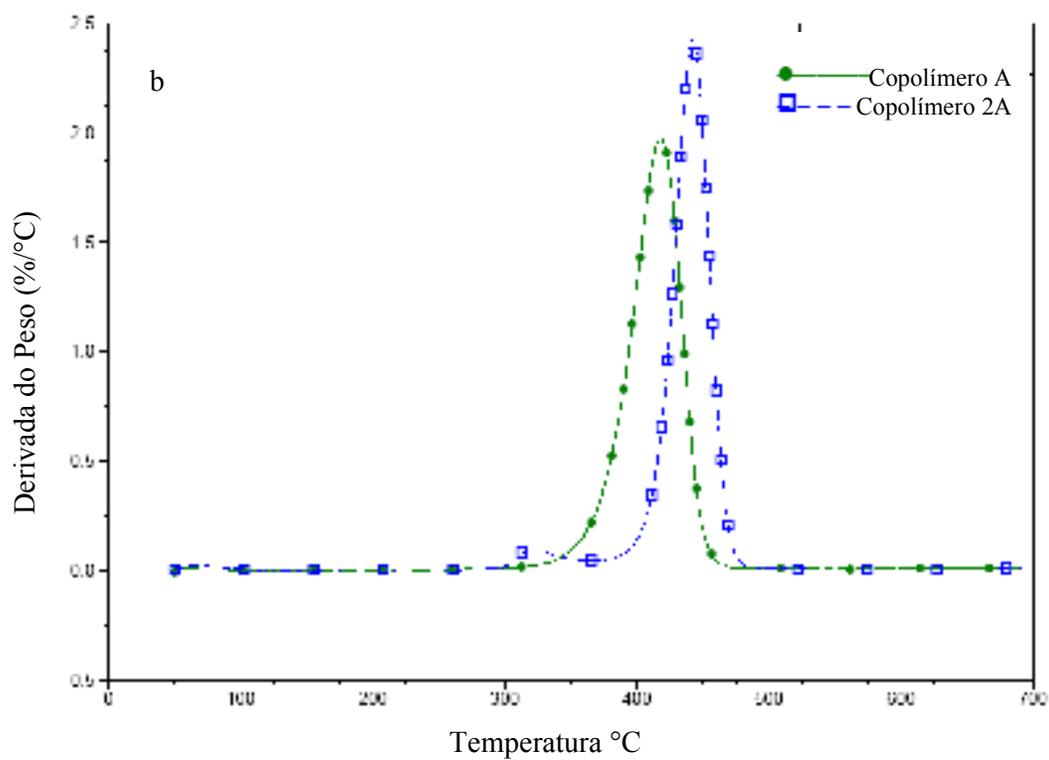
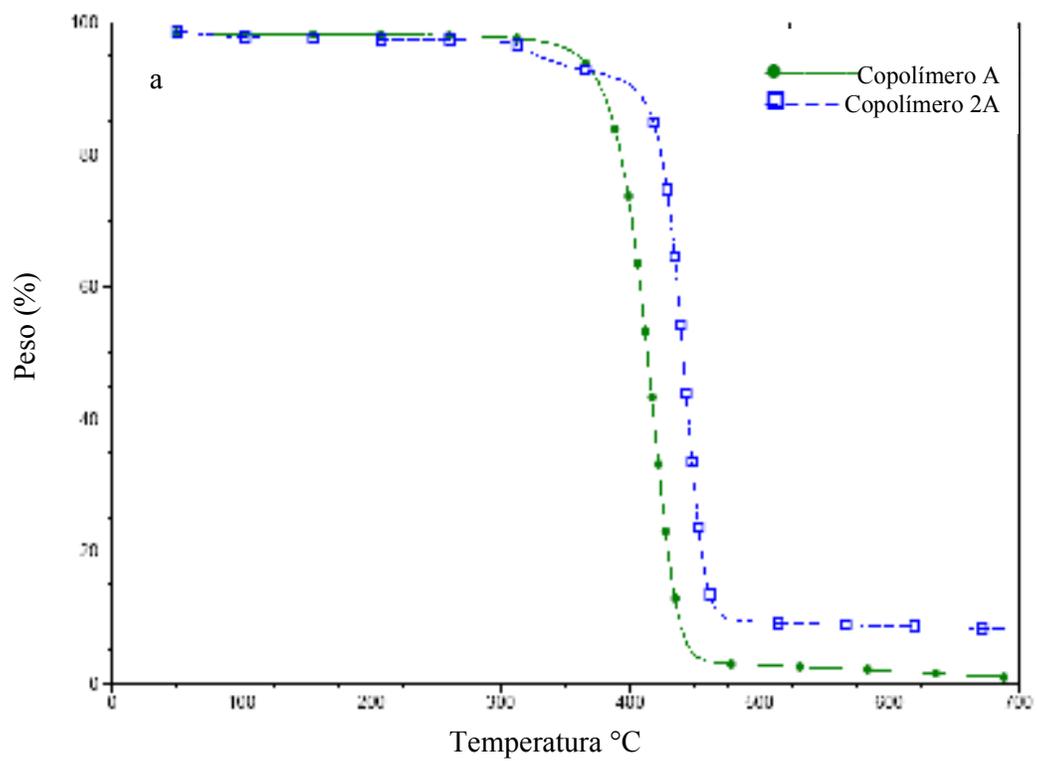


Figura 37 – Curvas de TGA (a) e DTG (b) do copolímero A e de seu derivado quaternizado com acrilonitrila (2A)

### 4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA

Todos os copolímeros Sty-DVB-2Vpy quaternizados (1A e 1B: copolímeros quaternizados com iodeto de metila, 2A e 2B: copolímeros quaternizados com acrilonitrila) foram submetidos à avaliação de sua capacidade bactericida. Os ensaios microbiológicos foram realizados em triplicata. Os dados obtidos passaram por tratamento estatístico, foi feita a análise de variância (ANOVA) e teste *t*-Student ao nível de 5% de significância.

Considerando que as suspensões bacterianas são preparadas em meio aquoso, os copolímeros de partida e seus derivados quaternizados foram submetidos ao teste de inchamento em água a fim de avaliar o comportamento das pérolas de copolímero nesse solvente. Os resultados são mostrados em forma de gráficos e apresentados na Figura 38.

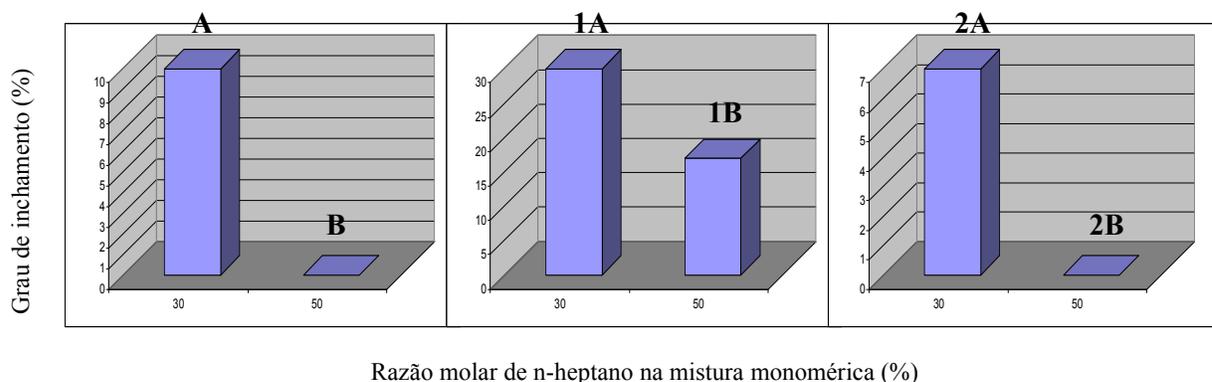


Figura 38 – Grau de inchamento dos copolímeros de partida (A e B) e de seus derivados quaternizados (1A e 1B: iodeto de metila; 2A e 2B: acrilonitrila) em água

De uma forma geral, copolímeros à base de estireno e divinilbenzeno apresentam uma restrita capacidade de inchamento em solventes termodinamicamente ruins para as cadeias poliméricas como, por exemplo, a água. A presença de uma grande proporção de piridina, um monômero polar, torna os copolímeros Sty-DVB-Vpy mais polares como um todo e favorece a expansão das cadeias poliméricas por solventes desse tipo. Analisando a Figura 38, é possível observar que o copolímero A (tipo gel) e seus derivados quaternizados 1A e 2A apresentaram capacidade de inchar em água. Este comportamento pode ser explicado considerando que esse copolímero apresenta uma grande proporção de fase gel. Como já comentado, é essa fração a maior responsável pela capacidade de inchamento desses

materiais. Pode-se verificar que os copolímeros quaternizados com iodeto de metila (1A e 1B) apresentaram maior grau de inchamento que os copolímeros não funcionalizados (A e B). Este comportamento pode estar relacionado à presença de cargas positivas na rede polimérica dos copolímeros modificados que resulta no aumento da capacidade de interação desses materiais com a água. Os copolímeros funcionalizados com acrilonitrila (2A e 2B) apresentaram capacidade de inchar em água semelhante aos seus copolímeros de origem, o que pode estar relacionado ao baixo grau de quaternização desses suportes, confirmada também pelos espectros de FTIR desses materiais modificados (Figuras 30 e 36).

A ação bactericida dos copolímeros A e B e de seus derivados quaternizados com iodeto de metila (1A e 1B) foi avaliada através do ensaio de eluição em coluna. Os resultados são apresentados nas Tabelas 11 e 12.

Tabela 11 – Ação bactericida dos copolímeros de partida contra suspensão de *E.coli*

Concentração inicial (células/mL)	Ação Bactericida (%) <sup>a</sup>	
	Copolímero A <sup>b</sup>	Copolímero B <sup>c</sup>
3,8 x10 <sup>3</sup>	0	0
3,5 x10 <sup>4</sup>	0	0
3,2 x10 <sup>5</sup>	0	0
3,5 x10 <sup>6</sup>	0	0
3,5 x10 <sup>7</sup>	0	0

Desvio padrão relativo = 5% UFC; Ação bactericida significativa > 14%; a) média de triplicatas; b) copolímero de origem (30% de n-heptano); c) copolímero de origem (50% de n-heptano)

Tabela 12 – Ação bactericida dos copolímeros A e B quaternizados com iodeto de metila contra suspensão de *E.coli*

Concentração inicial (células/mL)	Ação Bactericida (%) <sup>a</sup>	
	Copolímero 1A <sup>b</sup>	Copolímero 1B <sup>c</sup>
2,5 x10 <sup>3</sup>	47	29
2,3 x10 <sup>4</sup>	44	17
2,9 x10 <sup>5</sup>	29	6
2,1 x10 <sup>6</sup>	20	2
2,3 x10 <sup>7</sup>	19	3

Desvio padrão relativo = 5% UFC; Ação bactericida significativa > 14%; a) média de triplicatas; b) copolímero A quaternizado; c) copolímero B quaternizado

Os resultados apresentados nas Tabelas 11 e 12 demonstram que os copolímeros de origem (A e B) não apresentaram atividade bactericida. Entretanto, seus derivados quaternizados com iodeto de metila (1A e 1B) apresentaram atividade.

Como mostrado na Tabela 12, o copolímero 1A apresenta ação bactericida significativa para todas as concentrações de células, enquanto que o copolímero 1B mostrou-se eficiente apenas para baixas concentrações de células (até  $10^4$  células/mL). Este resultado pode estar associado ao maior grau de inchamento do copolímero 1A quando em contato com a suspensão bacteriana (Figura 38). Era esperado que o copolímero 1B apresentasse maior atividade bactericida em função da presença de poros fixos. O acesso da suspensão bacteriana aos sítios ativos mais internos seria facilitado em função dos poros permanentes. Entretanto, apesar de o copolímero 1B possuir porosidade verdadeira e o copolímero 1A (tipo gel) não apresentar área mensurável no estado seco, no estado inchado é provável que o copolímero 1A possua maior área de contato que o copolímero 1B, devido à expansão da rede polimérica quando solvatada pelo solvente (água). O aumento da área de contato favorece o acesso da suspensão bacteriana aos sítios ativos mais internos da rede macromolecular, resultando em uma ação bactericida mais eficiente.

O resultado do ensaio para avaliar a capacidade bactericida dos copolímeros quaternizados com acrilonitrila são mostrados na Tabela 13.

Tabela 13 – Ação bactericida dos copolímeros A e B quaternizados com acrilonitrila contra suspensão de *E.coli*

Concentração inicial (células/mL)	Ação Bactericida (%) <sup>a</sup>	
	Copolímero 2A <sup>b</sup>	Copolímero 2B <sup>c</sup>
$2,2 \times 10^3$	24	8
$2,1 \times 10^4$	13	5
$2,3 \times 10^5$	13	6
$2,3 \times 10^6$	5	6
$2,1 \times 10^7$	1	2

Desvio padrão relativo = 5% UFC; Ação bactericida significativa > 14%; a) média de triplicatas; b) copolímero A quaternizado c) copolímero B quaternizado

De forma geral, assim como na funcionalização com iodeto de metila, o derivado do copolímero A quaternizado com acrilonitrila (2A) apresenta maior ação bactericida do que o

copolímero 2B. Este resultado também pode ser explicado pela maior capacidade de inchamento do copolímero 2A quando em contato com a suspensão bacteriana (Figura 38), o que favorece a interação das bactérias com os grupos ativos, aumentando a atividade do material.

Analisando os dados das Tabelas 12 e 13 é possível observar que os copolímeros funcionalizados com iodeto de metila (1A e 1B) apresentam maior ação bactericida do que aqueles funcionalizados com acrilonitrila (2A e 2B). Esse resultado é mais um indicativo de que a reação de funcionalização com iodeto de metila se deu em maior proporção do que a reação com acrilonitrila. Apesar dos dados de análise espectrofotométrica indicarem que houve a quaternização dos nitrogênios das unidades de 2Vpy com a acrilonitrila, a ação encontrada para o copolímero 2A foi muito baixa e para o copolímero 2B não foi encontrado valor significativo para todas as concentrações de células, indicando que o grau de quaternização desses materiais não foi suficiente para torná-lo um bom agente bactericida.

#### 4.4. IMPREGNAÇÃO DE IODO NOS COPOLÍMEROS QUATERNIZADOS E NÃO QUATERNIZADOS

O iodo é conhecido como agente antimicrobiano, apresenta facilidade em penetrar a parede celular dos microrganismos, inibindo a sua síntese vital. Possui ação bactericida, fungicida e viricida. Os produtos contendo iodo têm sido largamente utilizados nos processos de desinfecção tanto na área da medicina quanto para o tratamento de água. Normalmente, são encontrados na forma líquida, que se torna mais suscetível ao desperdício e a contaminação ambiental. A impregnação de suportes poliméricos com iodo é benéfica tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental, isso porque não há desperdício do agente bactericida e não há contaminação da água por subprodutos.

Considerando a ação antimicrobiana dos materiais tratados com iodo, os copolímeros Sty-DVB-2Vpy quaternizados foram impregnados com esse agente a fim de potencializar a eficiência bactericida desses materiais. Esse tratamento foi feito seguindo duas metodologias distintas (objetivando avaliar a melhor metodologia de incorporação de iodo): impregnação na presença de solvente (Metodologia I) e impregnação em fase vapor (Metodologia II) (Jandrey, 2007). Para verificar quais os copolímeros tiveram maior teor de iodo incorporado foi

realizada a análise gravimétrica. Os resultados do teor de incorporação de iodo nos copolímeros de partida e em seus derivados quaternizados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 – Grau de impregnação de iodo nos copolímeros quaternizados e não quaternizados

Copolímero de origem	Teor de iodo incorporado (%)	
	Metodologia I	Metodologia II
A <sup>a</sup>	54	49
B <sup>b</sup>	48	57
1A <sup>c</sup>	95	94
1B <sup>d</sup>	82	84
2A <sup>e</sup>	60	52
2B <sup>f</sup>	53	65

I – metodologia de impregnação na presença de solvente; II – metodologia de impregnação em fase vapor; a) 30% de n-heptano; b) 50% de n-heptano; c) copolímero A quaternizado com iodeto de metila; d) copolímero B quaternizado com iodeto de metila; e) copolímero A quaternizado com acrilonitrila; f) copolímero B quaternizado com acrilonitrila

Os resultados apresentados na Tabela 14 demonstram que todos os copolímeros são capazes de impregnar iodo, independente da metodologia usada (impregnação na presença de solvente ou em fase vapor). Além disso, pode ser observado, que o teor de iodo incorporado é semelhante quando o mesmo material é impregnado pelas diferentes metodologias, ou seja, ambos os métodos de impregnação fornecem graus de incorporação de iodo parecidos. Em várias situações, a impregnação em fase vapor (metodologia II) se torna mais adequada pelo menor tempo de contato (3 horas em comparação com 24 horas para a metodologia I) empregado além da não utilização de solventes, não gerando resíduos.

De forma geral, era esperado que o copolímero A apresentasse maior grau de incorporação de iodo do que o copolímero B na presença de solvente. Isso devido à capacidade de inchamento do copolímero A em metanol (120%) ser bem maior do que a capacidade de inchamento do copolímero B (33%) no mesmo solvente. Da mesma forma, era esperado que o copolímero B apresentasse maior teor de iodo pela metodologia de impregnação em fase vapor, devido à presença de poros fixos, que facilitaria o processo de

difusão desse composto entre as cadeias poliméricas. Entretanto, verifica-se que as diferenças encontradas para o teor de impregnação entre esses materiais foram discretas, indicando que a morfologia não interferiu no processo de impregnação com iodo.

Os copolímeros quaternizados com iodeto de metila (1A e 1B) apresentam maior grau incorporação do que seus respectivos copolímeros de partida (A e B). Provavelmente, a introdução de cargas positivas na matriz dos copolímeros modificados favorece a interação desses materiais com o iodo. Analisando a Tabela 14, é possível verificar que entre os copolímeros 1A e 1B não há diferença significativa no teor de iodo incorporado. Como já comentado, este resultado confirma que a morfologia dos copolímeros (do tipo gel ou poroso) não influencia no grau de incorporação de iodo.

Os copolímeros 2A e 2B (quaternizados com acrilonitrila) não apresentam o mesmo comportamento dos copolímeros 1A e 1B em relação aos seus copolímeros de partida (A e B). O valor de incorporação de iodo nesses materiais foi semelhante ao valor de incorporação dos respectivos copolímeros de origem, o que pode estar relacionado ao baixo grau de quaternização desses materiais, corroborando o que foi comentado anteriormente sobre a extensão dessa reação de modificação.

#### 4.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DOS COPOLÍMEROS IMPRENADOS COM IODO

A Tabela 15 mostra a ação bactericida dos copolímeros A e B e seus derivados quaternizados impregnados com iodo através das duas metodologias de impregnação, via úmida e em fase vapor. De uma forma geral, a impregnação é uma forma rápida e simples de modificação, contudo, a possibilidade de lixiviação do grupo adicionado está sempre associada a esse tipo de material. Assim, objetivando avaliar a estabilidade dos copolímeros impregnados com iodo, ou seja, a possibilidade de desprendimento desse composto, foram feitos também testes de estabilidade desses materiais.

Tabela 15 – Ação bactericida dos copolímeros impregnados com iodo contra suspensão de *E.coli*

Concentração inicial (células/mL)	Ação Bactericida (%) <sup>a</sup>											
	A-I <sup>b</sup>	A-II <sup>c</sup>	B-I <sup>b</sup>	B-II <sup>c</sup>	1A-I <sup>b</sup>	1A-II <sup>c</sup>	2A-I <sup>b</sup>	2A-II <sup>c</sup>	1B-I <sup>b</sup>	1B-II <sup>c</sup>	2B-I <sup>b</sup>	2B-II <sup>c</sup>
2,6 x 10 <sup>3</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2,1 x 10 <sup>4</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2,5 x 10 <sup>5</sup>	98	100	100	72	100	100	100	100	100	100	100	80
2,4 x 10 <sup>6</sup>	19	61	60	33	100	100	100	100	100	100	33	24
2,1 x 10 <sup>7</sup>	18	20	0	0	100	100	74	52	16	28	15	0
Teste de												
estabilidade <sup>d</sup>	95	92	100	40	100	100	100	20	100	80	0	0
Redução (%)												

Desvio padrão relativo = 5% UFC; Ação bactericida significativa > 14%; a) média de triplicatas; b) impregnação na presença de solvente; c) impregnação em fase vapor d) concentração inicial da suspensão de *E.coli* = 2x10<sup>3</sup> células/mL

Analisando os dados de atividade bactericida para os copolímeros A e B impregnados com iodo (Tabela 15) é possível observar que, de uma forma geral, quando o mesmo copolímero foi impregnado pelas diferentes metodologias (via úmida e em fase vapor), seus derivados com iodo apresentaram perfis de ação bactericida semelhantes. Esse resultado pode estar relacionado ao fato de o teor de iodo incorporado, por ambos os métodos de impregnação ser similar quando se trata do mesmo material. Os copolímeros A e B impregnados com iodo apresentaram eficiência bactericida máxima para a concentração de até  $10^5$  células/mL e eficiência intermediária para a concentração de  $10^6$  células/mL. Embora os copolímeros A e B apresentem estruturas morfológicas distintas, a atividade bactericida encontrada para esses materiais foi semelhante. A ação equivalente dos copolímeros A e B, possivelmente, está relacionada com a semelhança no teor de iodo incorporado nesses materiais (Tabela 14).

Os copolímeros quaternizados com iodeto de metila, que foram impregnados com iodo apresentaram excelente atividade bactericida (Tabela 15), tendo um desempenho melhor do que seus copolímeros de origem não modificados e impregnados com iodo. Esta atividade pode ser atribuída ao maior teor de iodo incorporado por esses materiais quaternizados (Tabela 14), e confirma que a modificação dos copolímeros (quaternização com iodeto de metila) acarreta no aumento da eficiência bactericida.

Os materiais derivados do copolímero A quaternizados com acrilonitrila e impregnados com iodo (Tabela 15) também apresentaram melhora na ação bactericida em relação aos copolímeros que não foram modificados. Entretanto, o mesmo comportamento não é observado para os derivados do copolímero B (os copolímeros 2B-I e 2B-II apresentaram ação bactericida equivalente aos copolímeros B-I e B-II). Esse resultado corrobora o baixo grau de quaternização alcançado por este material como já visto pelo espectro de FTIR (surgimento da banda de acrilonitrila com baixa intensidade) e pelo grau de impregnação com iodo.

Comparando o desempenho dos copolímeros A e B quaternizados com iodeto de metila e acrilonitrila e impregnados com iodo é possível observar que, de uma forma geral, os produtos derivados do copolímero A apresentaram melhor ação bactericida. A maior ação dos copolímeros A pode estar associada à morfologia destes materiais (Figura 38), que apresentaram maior capacidade de inchamento em água (solvente usado no preparo das suspensões bacterianas), o que favorece o acesso das bactérias aos centros ativos, tornando esses materiais mais eficientes. É possível constatar que a ação bactericida desses polímeros biocidas é dependente do grau de funcionalização (quaternização e impregnação) e das suas

características morfológicas. De uma forma geral, era esperado que os copolímeros quaternizados com iodeto de metila apresentassem maior ação bactericida que os copolímeros funcionalizados com acrilonitrila, em função dessa rota de funcionalização ter proporcionado maior grau de incorporação de iodo (Tabela 14). Entretanto, comparando, por exemplo, os copolímeros 1B e 2A é possível observar que o copolímero 1B apresentou menor capacidade bactericida (Tabela 15), muito provavelmente por possuir menor grau de inchamento em água. Esses resultados, como um todo, mostram que a capacidade bactericida dos materiais preparados neste trabalho é função da associação entre as características morfológicas dos suportes de origem, o grau de quaternização e o teor de impregnação de iodo.

Fazendo uma análise dos dados de estabilidade de todos os copolímeros tratados com iodo é possível perceber uma ausência de comportamento. Não foi possível estabelecer uma relação entre as características estruturais ou o grau de funcionalização desses materiais e o grau de desprendimento de iodo. Apesar dos testes de estabilidade indicarem desprendimento de iodo, em alguns casos suficiente para matar concentrações de até  $10^3$  células/mL, esse desprendimento não pode ser encarado como prejudicial à proposta do material sintetizado, uma vez que a concentração de iodo no meio é ínfima e ocorre de forma gradativa. O teor de iodo liberado é insuficiente para formação dos subprodutos da desinfecção, entretanto suficiente para matar as células patogênicas adicionadas.

#### 4.6. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DA RESINA COMERCIAL VP OC 1950

Existem diversas resinas comerciais à base de Sty-DVB com grupos trialkilamônio. Com o objetivo de estabelecer uma comparação entre a capacidade bactericida de um produto comercial e os materiais sintetizados neste trabalho, foi feita a avaliação da capacidade bactericida de uma dessas resinas comerciais, VP OC 1950, na forma de cloreto. A Tabela 16 mostra os resultados da atividade bactericida desta resina comercial, assim como a atividade de seus derivados impregnados com iodo.

Tabela 16 – Ação bactericida da resina comercial (VP OC 1950) e de seus derivados impregnados com iodo contra suspensão de *E.coli*

Concentração inicial (células/mL)	Ação Bactericida (%) <sup>a</sup>		
	VP OC 1950	VP OC 1950-I <sup>b</sup> 60% <sup>c</sup>	VP OC 1950-II <sup>c</sup> 65% <sup>e</sup>
x 10 <sup>3</sup>	0	100	100
x 10 <sup>4</sup>	0	100	100
x 10 <sup>5</sup>	0	100	100
x 10 <sup>6</sup>	0	100	100
x 10 <sup>7</sup>	0	49	100
Teste de estabilidade <sup>d</sup>			
Redução (%)	0	100	100

VP OC 1950 = resina comercial; desvio padrão relativo = 5% UFC; Ação bactericida significativa > 14%; a) média de triplicatas; b) impregnação na presença de solvente; c) impregnação em fase vapor d) concentração inicial da suspensão de *E.coli* = 2x10<sup>3</sup> células/mL; e) teor de iodo impregnado

À resina comercial VP OC 1950 foram impregnados teores de iodo em torno de 60% pelas duas metodologias de impregnação (via úmida e fase vapor). Quando são feitas comparações entre os teores de iodo alcançados na impregnação da resina industrial e dos copolímeros quaternizados preparados neste trabalho (Tabelas 15 e 16), é possível constatar que, de uma forma geral, os maiores graus de incorporação de iodo foram alcançados para os copolímeros quaternizados com iodeto de metila.

Os resultados apresentados na Tabela 16 mostram que a resina comercial não possui atividade bactericida. Analisando os dados apresentados na seção 4.3, Tabelas 12 e 13, é possível perceber que o derivado do copolímero B quaternizado com acrilonitrila gerou um material com atividade bactericida muito pequena, abaixo do valor significativo, comportamento similar ao da resina comercial. De uma forma geral, os trabalhos da literatura que envolvem o uso de resinas desse tipo (com grupo amônio quaternário) mostram que esses materiais apresentam ação bactericida significativa, o que não condiz com o resultado obtido. Não foram encontrados trabalhos que avaliassem especificamente a ação da resina VP OC 1950. É possível que o grupo trialkilamônio desconhecido (porque a resina é comercial) presente nesse material não possua propriedade biocida, o que leva à conclusão de que nem toda resina com nitrogênio quaternário é bactericida, a atividade desses materiais está intimamente relacionada à natureza do grupo usado na quaternização.

O copolímero A sintetizado neste trabalho tratado com iodeto de metila apresentou capacidade bactericida para a concentração de até  $10^4$  células/mL, melhor que a resina comercial. Esse resultado pode ser explicado considerando dois fatores: o grau de quaternização desse material e a sua capacidade de inchamento em água. Os grupos metilamônio se mostram bons grupos bactericidas, como esse material apresenta elevado grau de inchamento em água o acesso a esses grupos foi favorecido. A resina comercial também apresenta elevada capacidade de inchamento em água, o que reitera a ineficiência do grupo alquilamônio presente nessa resina como bactericida.

Os derivados da resina comercial impregnados com iodo (metodologias I e II) apresentaram elevada ação bactericida, embora o teor de iodo incorporado nesses materiais não tenha sido muito elevado. A associação entre um bom agente bactericida como o iodo e uma estrutura morfológica adequada, capaz de inchar em água, gerou um material com excelente ação biocida. Isso confirma que para que um material seja um bom agente bactericida é necessário que ele possua um bom grupo bactericida e uma estrutura capaz de permitir um acesso amplo a esses grupos.

## 5. CONCLUSÃO

- Os parâmetros de síntese empregados foram adequados para obtenção de pérolas esféricas de copolímeros à base de Sty-DVB-2Vpy com morfologia e estrutura porosa controlada;
- Foram obtidos copolímeros com diferentes graus de porosidades por meio da variação da composição da mistura diluente usada na síntese desses materiais;
- Foi possível modificar os copolímeros obtidos através de reação de quaternização do nitrogênio presente nas unidades de vinilpiridina com os reagentes: iodeto de metila e acrilonitrila;
- Foi possível obter materiais com atividade bactericida (1A e 1B) através da quaternização dos copolímeros A e B com iodeto de metila;
- Embora a reação com acrilonitrila tenha ocorrido, acredita-se que o grau de quaternização alcançado tenha sido pequeno, produzindo materiais com baixa atividade bactericida (copolímeros 2A e 2B);
- Foi possível observar que apenas após as reações de quaternização os copolímeros passaram a apresentar capacidade bactericida, os suportes não funcionalizados não apresentam ação biocida;
- Dentre os materiais produzidos contendo o grupo quaternário de piridina, o copolímero 1A (quaternizado com iodeto de metila) derivado do copolímero do tipo gel (A) apresentou a maior atividade bactericida;
- Os copolímeros não modificados e modificados tiveram a capacidade de incorporar iodo através das metodologias de impregnação em solução e em fase vapor;
- A metodologia de impregnação não influenciou no teor de iodo incorporado pelos copolímeros, ambos os métodos de impregnação geraram materiais com teores de iodo similares.
- Os copolímeros quaternizados tanto com iodeto de metila quanto com acrilonitrila, que foram impregnados com iodo, apresentaram maior ação bactericida do que seus copolímeros de origem também impregnados com iodo;
- De uma forma geral, os materiais derivados do copolímero A (tipo gel) e impregnados com iodo, apresentaram maior eficiência bactericida do que os

materiais que foram impregnados com iodo derivados do copolímero B (mesoporoso);

- O copolímero A quaternizado com iodeto de metila e impregnado com iodo produziu os materiais com melhor atividade bactericida;
- Foi possível observar ao longo deste trabalho que a capacidade bactericida dos materiais preparados é fruto da associação entre as características morfológicas dos suportes de origem, o grau de quaternização alcançado e o teor de impregnação de iodo.

## 6. SUGESTÕES

- Estabelecer uma metodologia de síntese que propicie a reação de quaternização dos copolímeros Sty-DVB-2Vpy com acrilonitrila em maior extensão que a alcançada neste trabalho;
- Estabelecer um método para quantificar o grau de quaternização dos copolímeros tratados com iodeto de metila;
- Estabelecer uma metodologia de avaliação dos materiais produzidos neste trabalho por espectrometria de ressonância magnética nuclear;
- Modificar os copolímeros obtidos, por meio de reação de quaternização, usando outros reagentes, para estabelecer uma relação entre a atividade bactericida e os diferentes grupos inseridos na cadeia polimérica.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED, A. E. I.; HAY, J. N.; BUSHELL, M. E. Biocidal polymers (ii): determination of biological activity of novel n-halamine biocidal polymers and evaluation for use in water filters. **Reactive & Functional Polymers**, v. 68, p.1448-1458, julho de 2008.

BANCO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. Rio de Janeiro: BNDES, 2007. Apresenta informações sobre a gestão de recursos hídricos. Disponível em: <[www.federativo.bndes.gov.br/conhecimento/infra/g7405.pdf](http://www.federativo.bndes.gov.br/conhecimento/infra/g7405.pdf)> Acesso em: 10 set. 2007.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2005. 622p.

BEIGUELMAN, B. A. **Curso Prático de Bioestatística**, 5ª Ed, Ribeirão preto: FUNPEC, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde, Portaria Nº 518 de 25 de março de 2004. Diário Oficial da União nº 59, seção 1, Brasília, p.266-270, 26 de março de 2004.

BORSOI, Z. M. F.; TORRES, S. D. A. A política de recursos hídricos no Brasil. **Revista BNDES**, n. 8, dez.1997.

CAIRNS, W. L. UV technology for water supply treatment. **Water Supply**, v. 13, n. 3/4, p.211-214, 1995.

CHEN, Y.; WORLEY, S. D.; KIM, J.; WEI, C. I.; CHEN, T. Y.; SANTIAGO, J. L.; WILLIAMS, J. F.; SUN, G. Biocidal poly(styrenehydantoin) beads for disinfection of water. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 2, p.280-284, 2003.

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.

CUBILLOS, A. **Calidad y control de la polucion del agua**. Mérida: Universidad de Los Andes, 1981 (CIDIAT. Série Ambiente y Recursos Naturales Renovables, AR 14).

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

DANIEL, L. A. (Coord.). **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. São Paulo: Rima, 2001. 149 p.

DENYER, S. P. Mechanisms of Action of Antibacterial Biocides. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p.221-245, 1995.

DIZMAN, B.; ELASRI, M. O.; Mathias L. J. Synthesis, characterization, and antibacterial activities of novel methacrylate polymers containing norfloxacin. **Biomacromolecules**, v. 6, n. 1, 2007.

GAO, B.; HE, S.; GUO, J.; WANG, R. Preparation and antibacterial character of a water-insoluble antibacterial material of grafting polyvinylpyridinium on silica gel. **Materials Letters**, v. 61, p.877-883, 2007.

ICONOMOPOULOU, S.M.; ANDREOPOULOU, A. K.; SOTO, A.; KALLITSIS, J. K.; VOYIATZIS, G. A. Incorporation of low molecular weight biocides into polystyrene–divinyl benzene beads with controlled release characteristics. **Journal of Controlled Release**, n. 102, p.223-233, 2005.

JANDREY, A. C.; SANTA MARIA, L. C.; AGUIAR, A. P. de; AGUIAR, M. R. M. P. de; MAZZEI, J. L.; FELZENSZWALB, I. Iodine bactericidal action absorbed in 2-vinylpyridine copolymer networks. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 93, p.972 – 976, 2004.

JANDREY, A. C. **Desenvolvimento de resinas à base de 2-vinilpiridina contendo iodo e sua avaliação como agente bactericida**. 2007. 154f. Tese (Doutorado em Ciência em Química) – Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro.

JEONG, J.; BYOUN, Y.; LEE, Y. Poly(styrene-*alt*-maleic anhydride)-4-aminophenol conjugate: synthesis and antibacterial activity. **Reactive & Functional Polymers**, v. 50, p.257-263, 2002.

JIANG, S. et al. Preparation of crosslinked polystyrenes with quaternary ammonium and their antibacterial behavior. **Reactive & Functional Polymers**, v. 62, p.209-213, 2005.

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, n. 1, p.1-34, 1992.

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

KIM, B. R. et al. Literature review – efficacy of various disinfectants against Legionella in water systems. **Water Research**, v. 36, p.4433-4444, 2002.

KUCA, K.; KIVALA, M.; DOHNAL, V. A general method for the quaternization of N,N-dimethyl benzylamines with long chain n-alkylbromides. **Journal of Applied Biomedicine**. v. 2, p. 195.198, 2004.

LAUBUSCH, E. J. Chlorination and other disinfection processes. In: American Water Works Association. **Water Quality and Treatment: A Handbook of Public Water Supplies**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1971. p.158-224.

LI, G.; SHEN, J. A study of pyridinium-type functional polymers. iv. behavioral features of the antibacterial activity of insoluble pyridinium-type polymers. **Journal of Applied Polymer Science**, v.78, p.676-684, 2000.

MARMO, C. R. **Formação e remoção de trihalometanos em águas de abastecimento tratadas, na pré-oxidação, com cloro**. 2005. 253f. Dissertação (Mestrado Saneamento e Ambiente) - Faculdade de Engenharia Civil, Arquitetura e Urbanismo, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

MEYER, S. T. O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 10, n. 1, p.99-110, jan./mar. 1994.

MIZERSKA, U.; FORTUNIAK, W.; CHOJNOWSKI, J.; HALASA, R.; KONOPACKA, A.; WEREL, W. Polysiloxane cationic biocides with imidazolium salt (ImS) groups, synthesis and antibacterial properties. **European Polymer Journal**, v. 45, p. 779-787, 2009.

PETRY, A.T. Análise de diferentes fontes de matéria orgânica precursora em ambiente lótico urbano na formação de trihalometanos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, XVI., João Pessoa. **Anais...**

RODRIGUES, A. S. S.; AGUIAR, A. P.; AGUIAR, M. R. M. P.; SANTA MARIA, L. C. Quaternization reaction of 2-vinylpyridine and 4-vinylpyridine Network copolymers for 4-nitrophenol adsorption. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 18, n. 2, p. 431-436, 2007.

RABELO, D. **Formação da estrutura porosa em copolímeros à base de estireno e divinilbenzeno**. 1993. 139f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Instituto de macromoléculas – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

ROSSIN, A. C.; 1987. **Desinfecção**. In: Técnica de Abastecimento e Tratamento de Água, v. 2, São Paulo: CETESB/ASCETESB.

SANTOS, C. L. **O Controle de Trihalometanos (THM) nas Águas de Abastecimento Público**. 1989. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. São Paulo.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C. ; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, 5 ed., Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1991.

SOUZA, J. B. De. **Avaliação de métodos para desinfecção de água, empregando cloro, ácido peracético, ozônio e o processo de desinfecção combinado ozônio/cloro**. 2006. 190f. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. São Paulo.

SOUZA, J. B. De; DANIEL, L. A. Comparação entre hipoclorito de sódio e ácido peracético na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. **Engenharia Sanitária ambiental**, v. 10, n. 2, p.111-117, abr./jun. 2005.

STANIER, R. Y; DOUDOROFF, M. e ADELBERG, E. A. **Mundo dos Micróbios**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1969.

SUN, G.; WHEATLEY, W. B.; WORLEY, S. D. New cyclic n-halamine biocidal polymer. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 33, n. 1, p.168-170, 1994.

TAN, S.; LI, G.; SHEN, J.; LIU, Y.; ZONG, M. Study of modified polypropylene nonwoven cloth. II. Antibacterial activity of modified polypropylene nonwoven cloths. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 77, n. 9, p.1869-1876, 2000.

TUNDISI, J. G. Recursos Hídricos. **Multiciência: Revista Interdisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp**, v. 1, out. 2003.

TYAGI, V. K.; MADAAN, P. Quaternary piridinium salts: a review. **Journal of Oleo Science**. v. 57, n. 4, p. 197-215, 2008.

TYAGI, M.; Singh, H. J. Iodinated P(MMA-NVP): an efficient matrix for disinfection of water. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 76, n. 7, p.1109-1116, 2000.

YANG, M.J.; LI, Y.; SHE, Y. Humidity sensitive properties of crosslinked and quaternized poly(4-vinylpyridine-co-butyl methacrylate). **Sensors and Actuators B**. v. 107, p. 252–257, 2005.

ANEXO 1 – ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

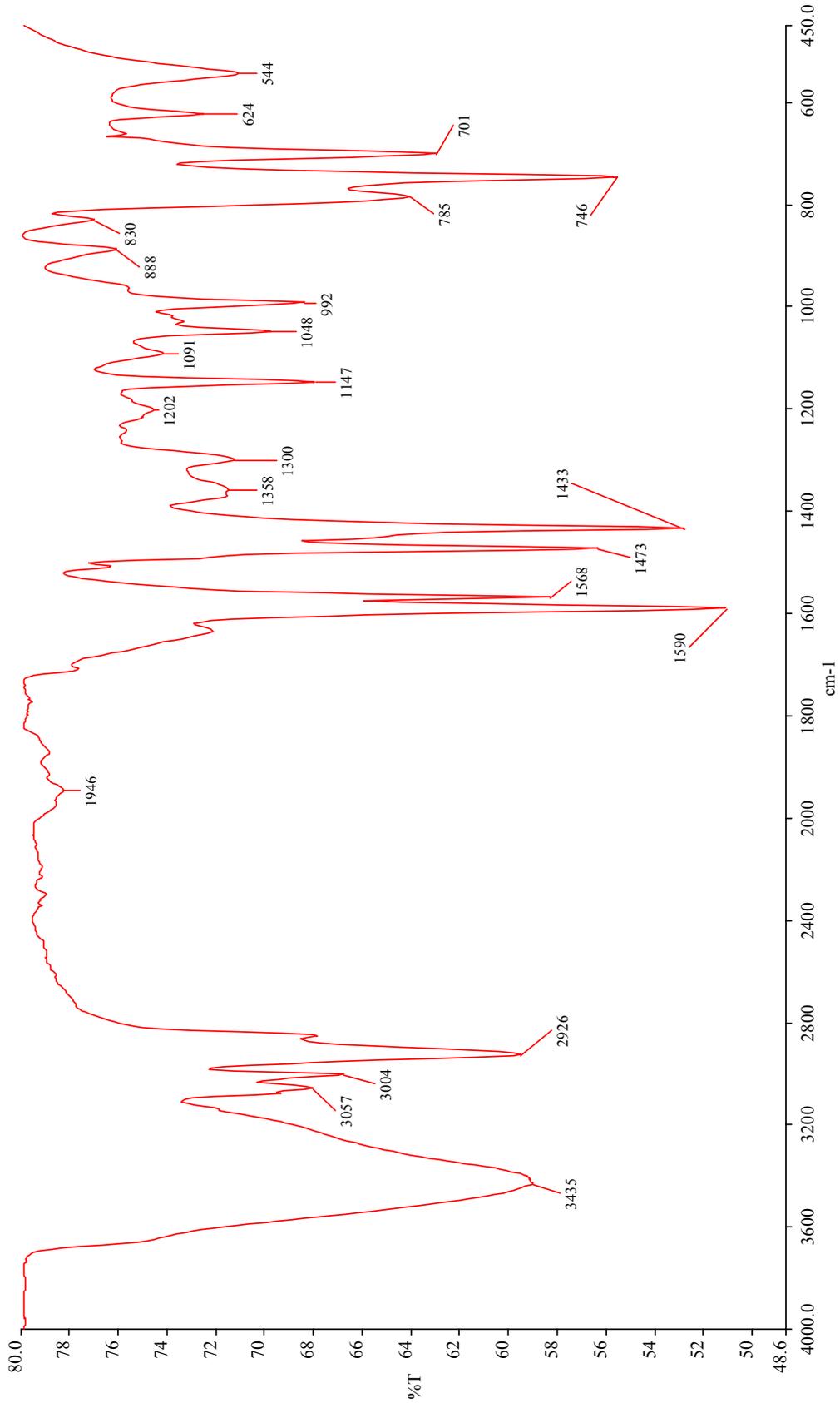


Figura 1.1 – Espectro de infravermelho do copolímero A

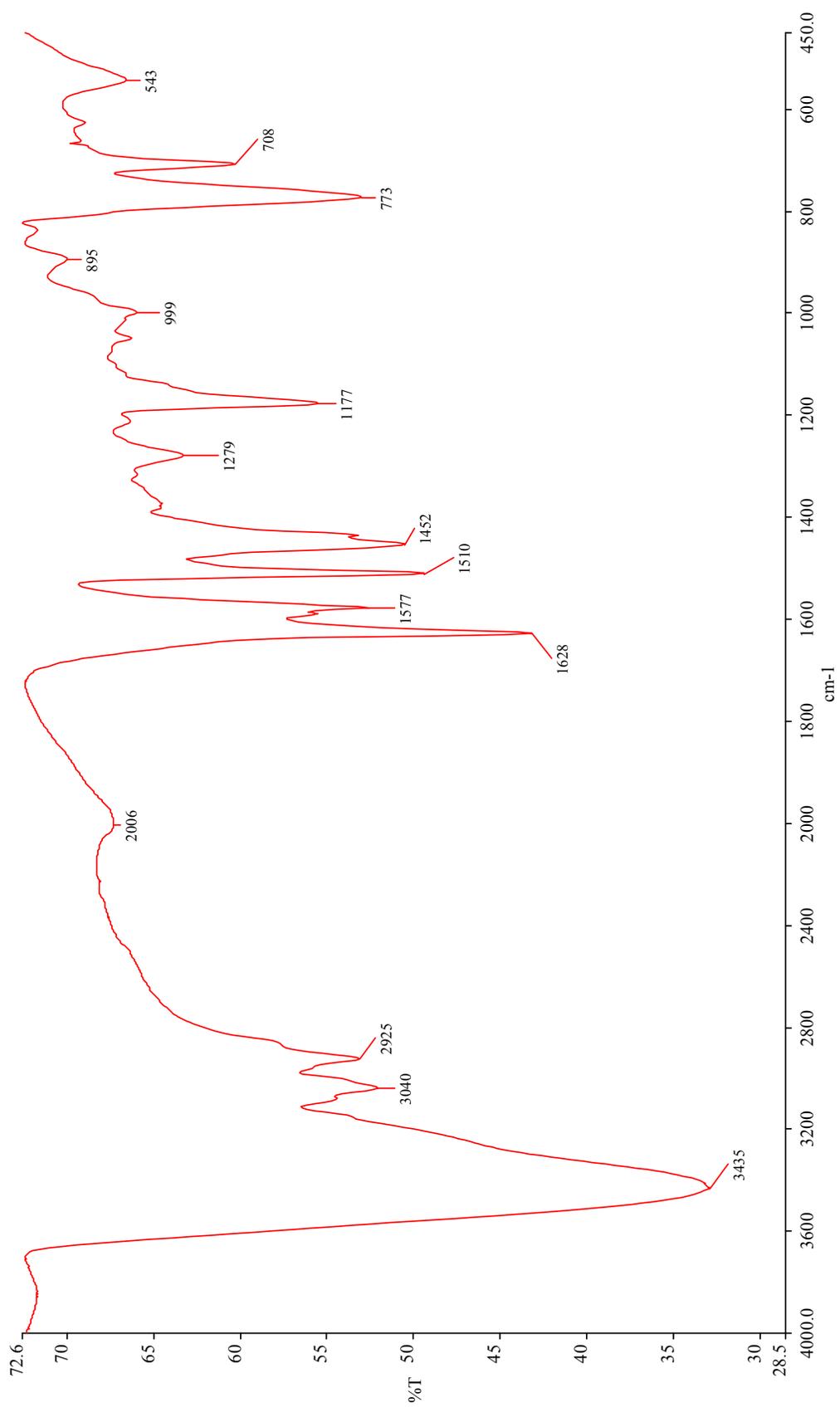


Figura 1.2 – Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com iodeto de metila (1A)

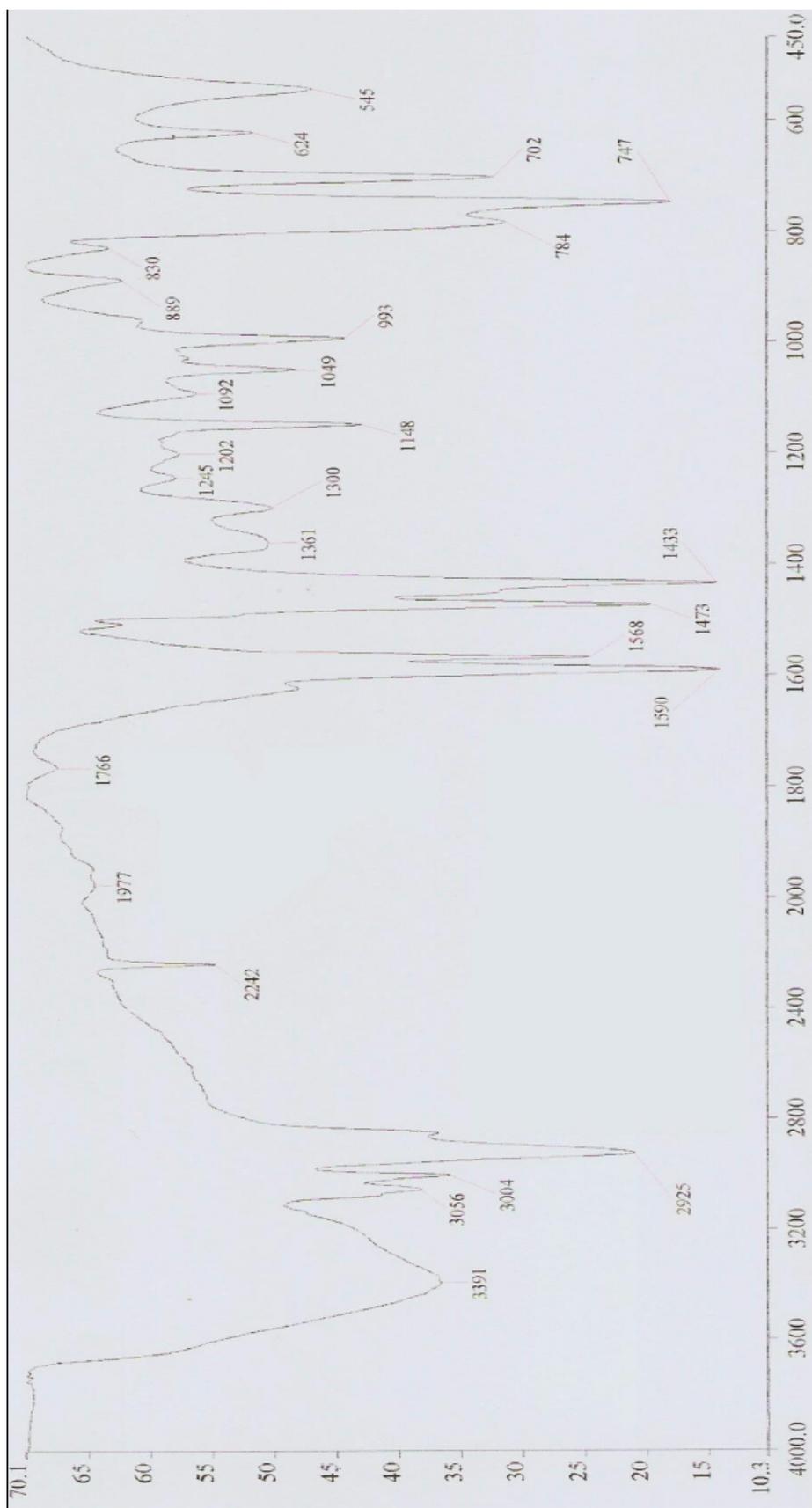


Figura 1.3 – Espectro de infravermelho do copolímero A quaternizado com acrilonitrila (2A)

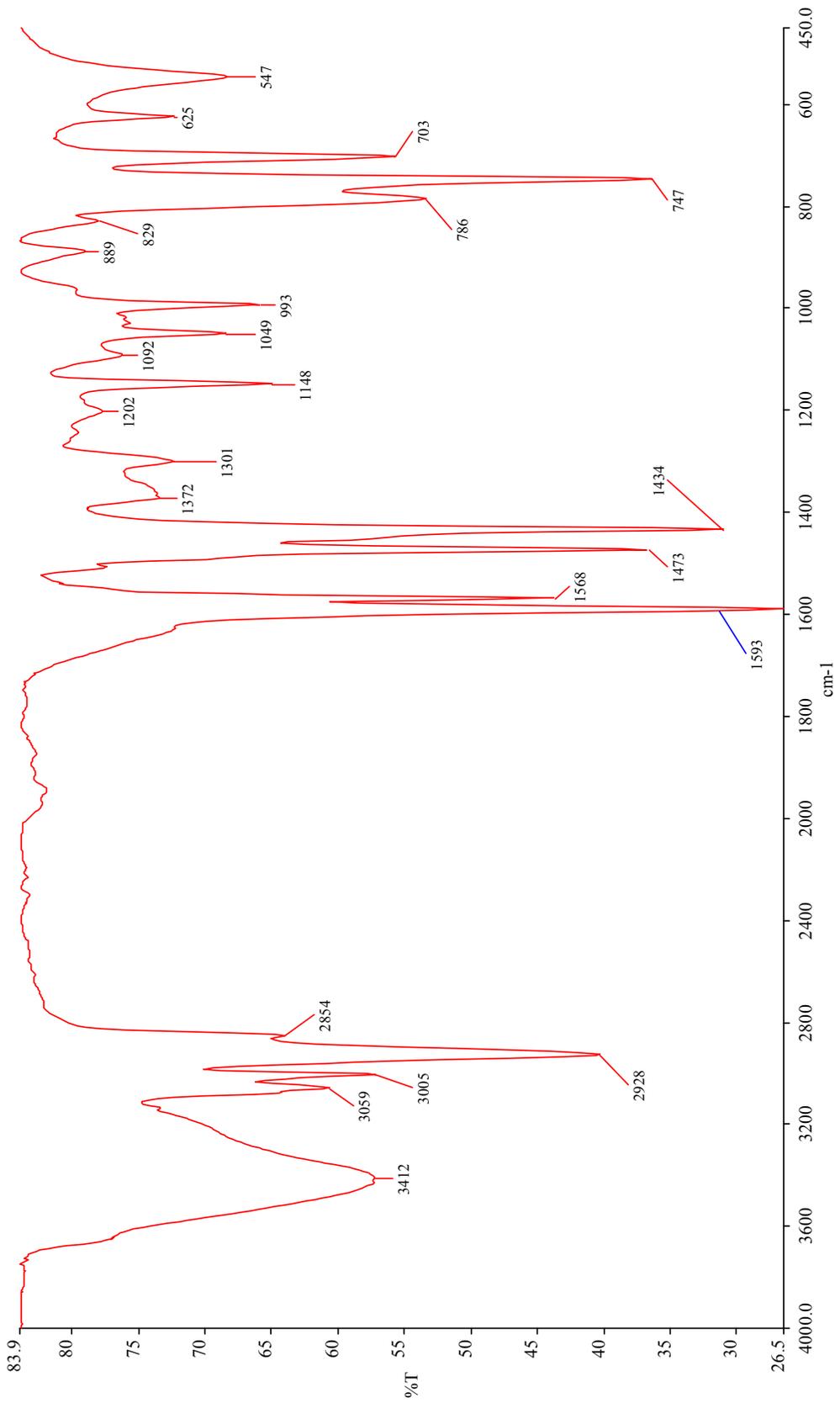


Figura 1.4 – Espectro de infravermelho do copolímero B

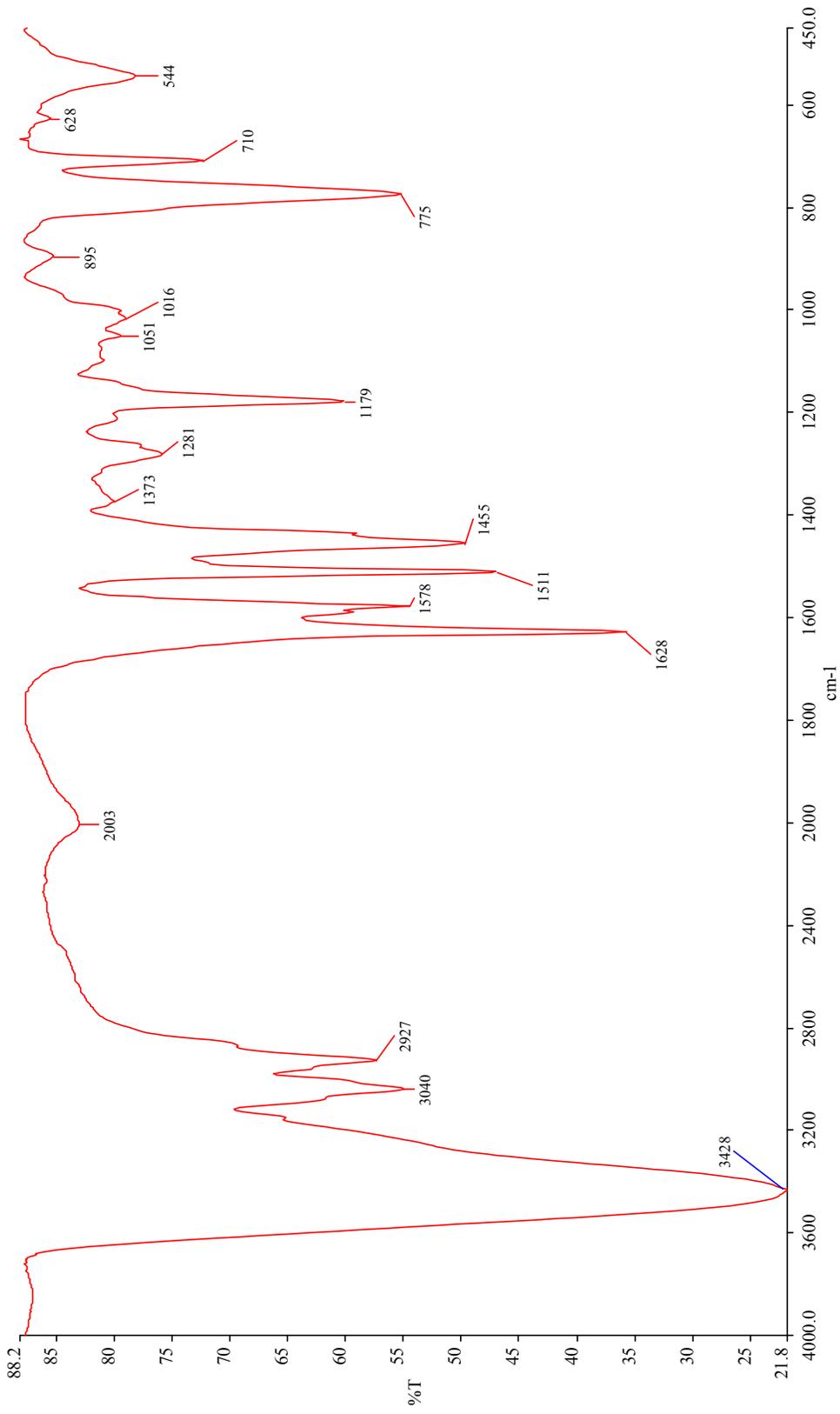


Figura 1.5 – Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com iodeto de metila (1B)

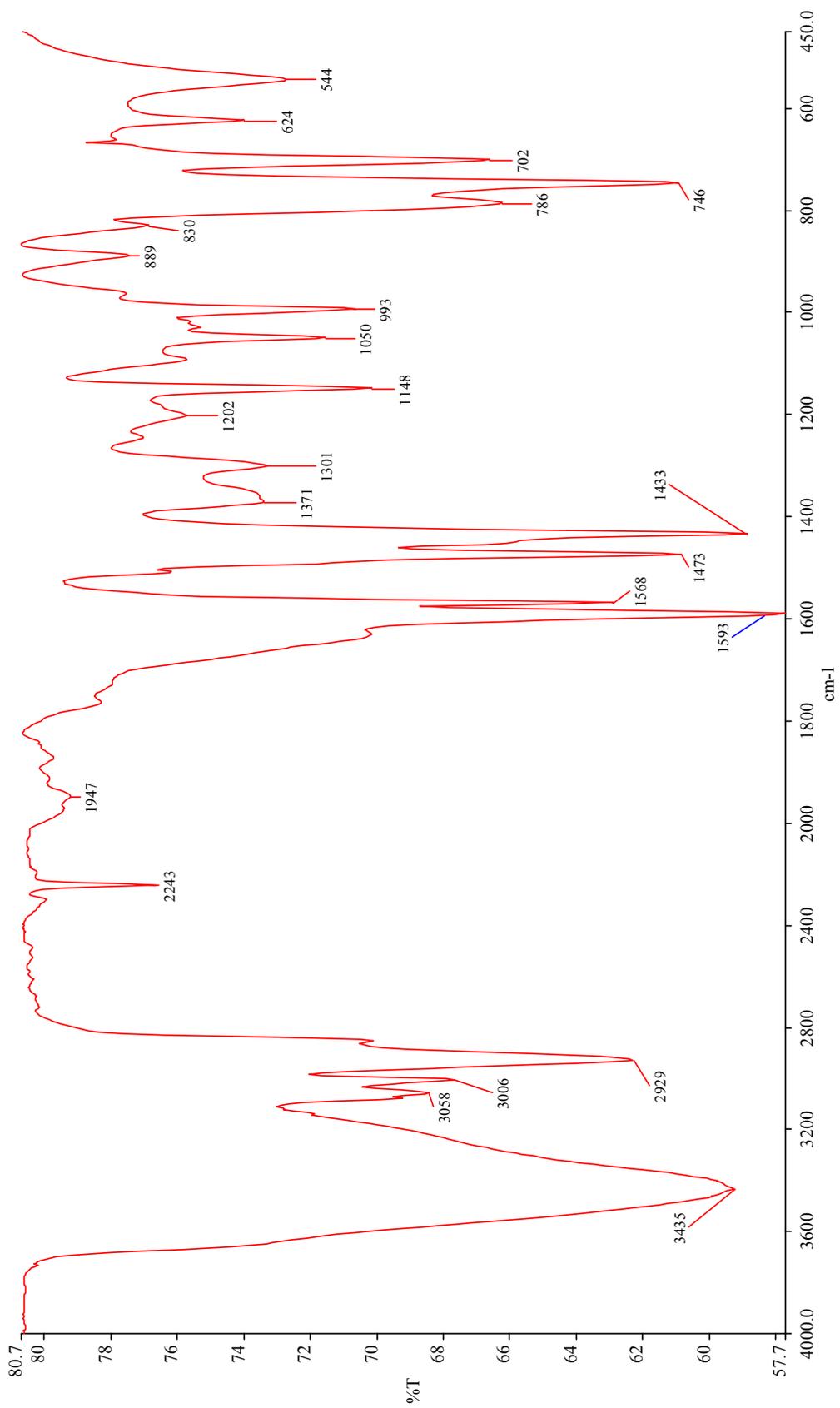


Figura 1.6 – Espectro de infravermelho do copolímero B quaternizado com acrilonitrila (2B)

## ANEXO 2 – CURVAS DE TGA E DTG

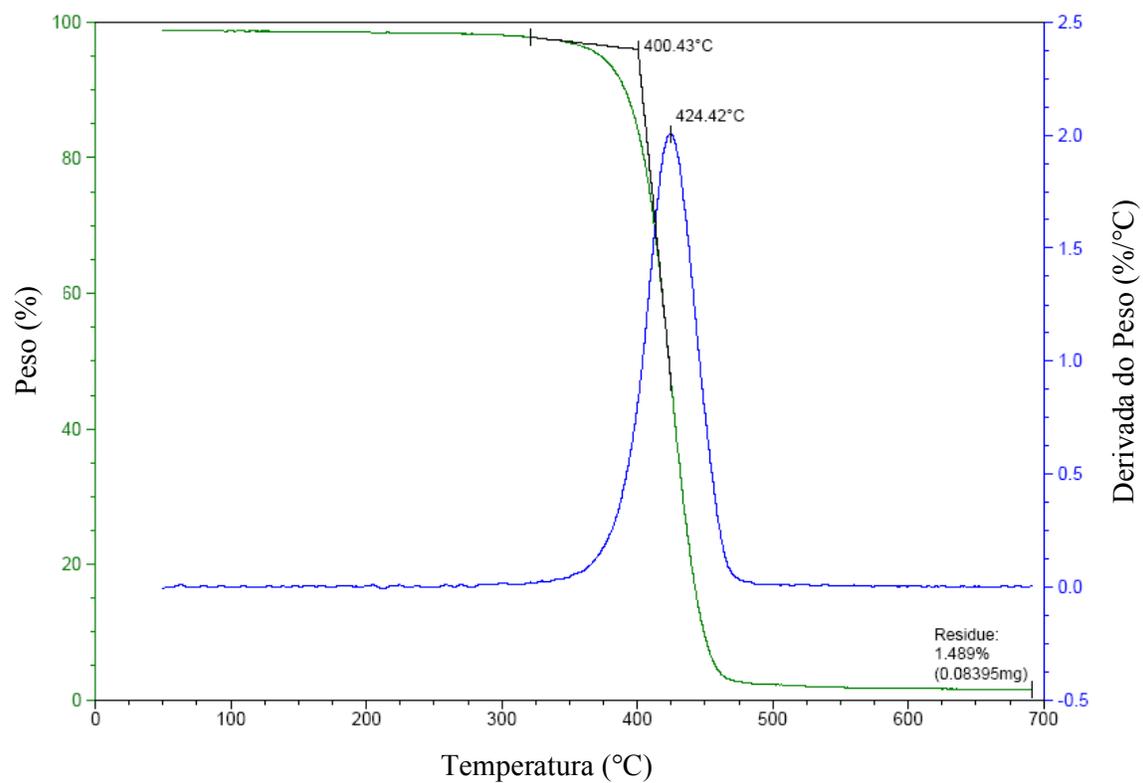


Figura 2.1 – Curvas de TGA e DTG do copolímero A

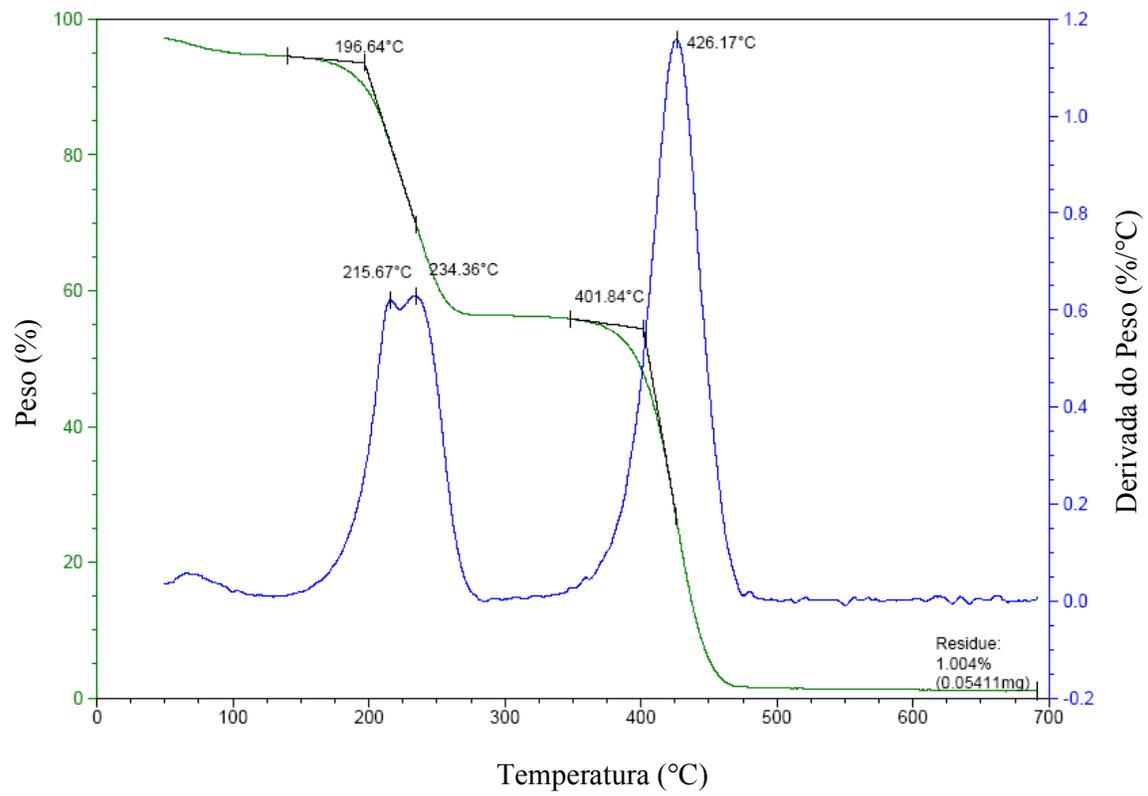


Figura 2.2 – Curvas de TGA e DTG do copolímero A quaternizado com iodeto de metila

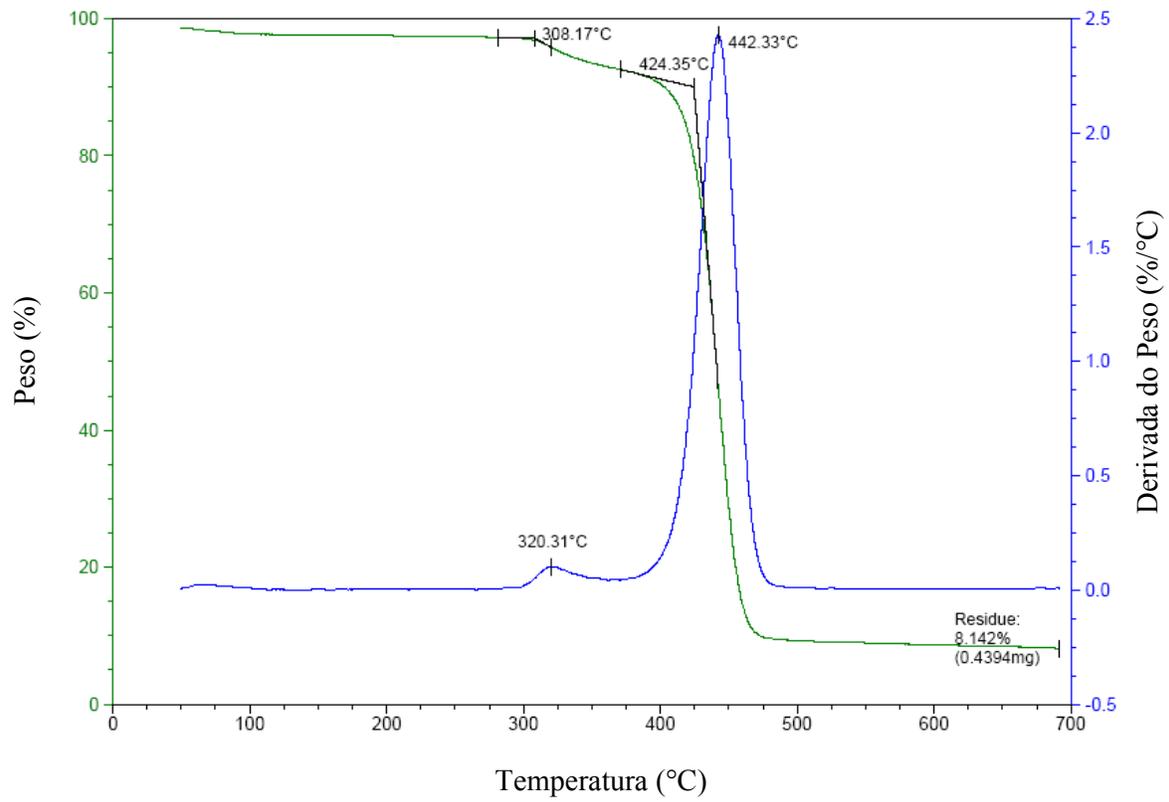


Figura 2.3 – Curvas de TGA e DTG do copolímero A quaternizado com acrilonitrila

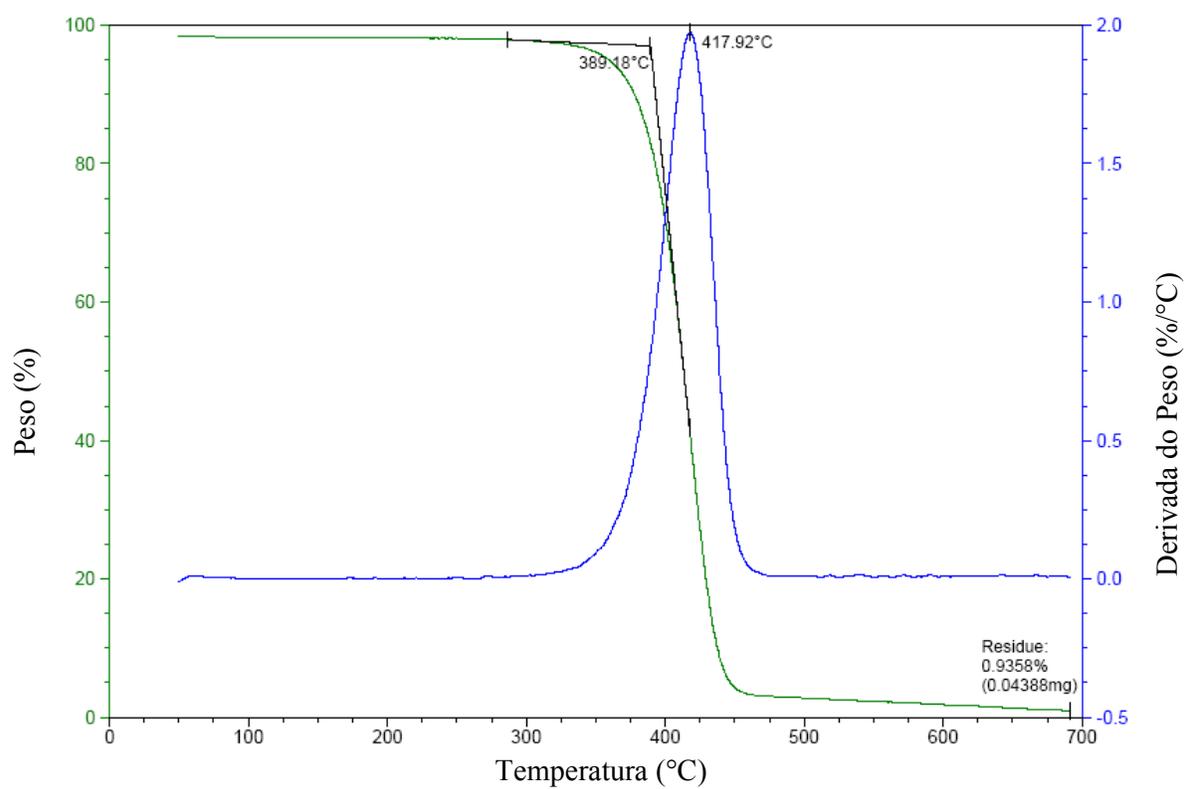


Figura 2.4 – Curvas de TGA e DTG do copolímero B

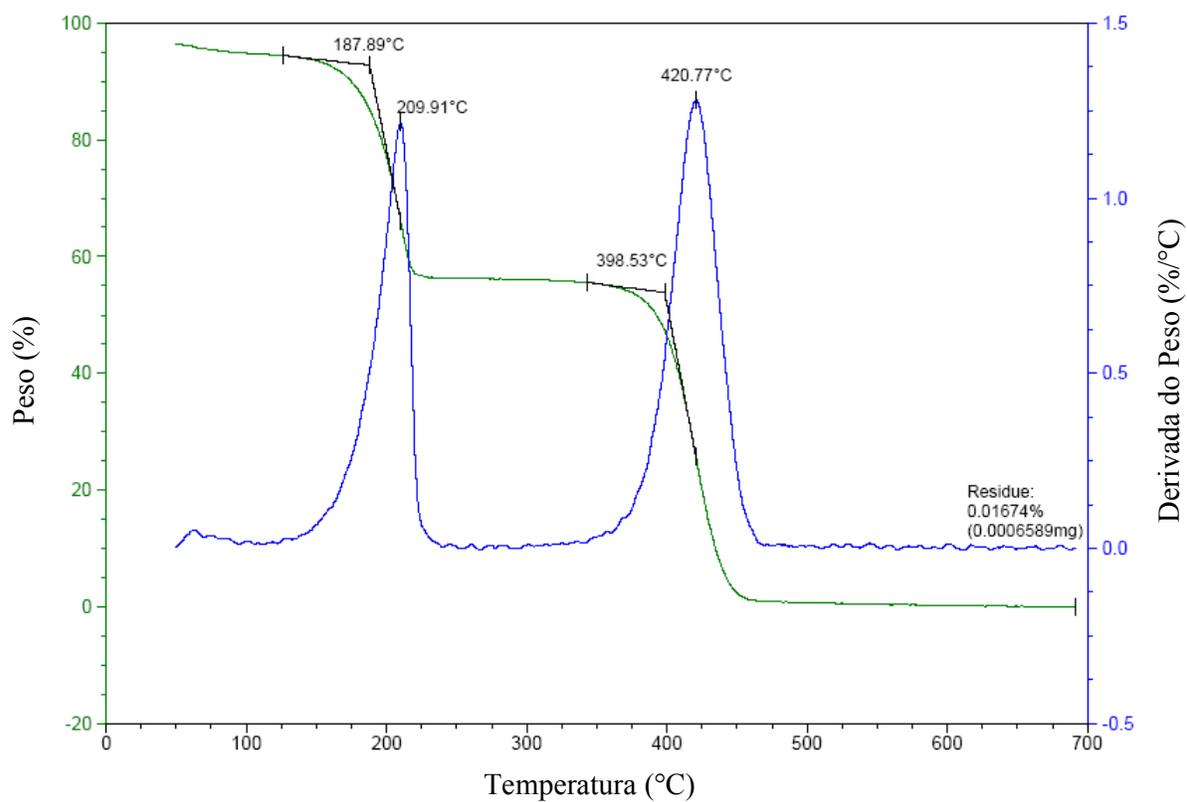


Figura 2.5 – Curvas de TGA e DTG do copolímero B quaternizado com iodeto de metila

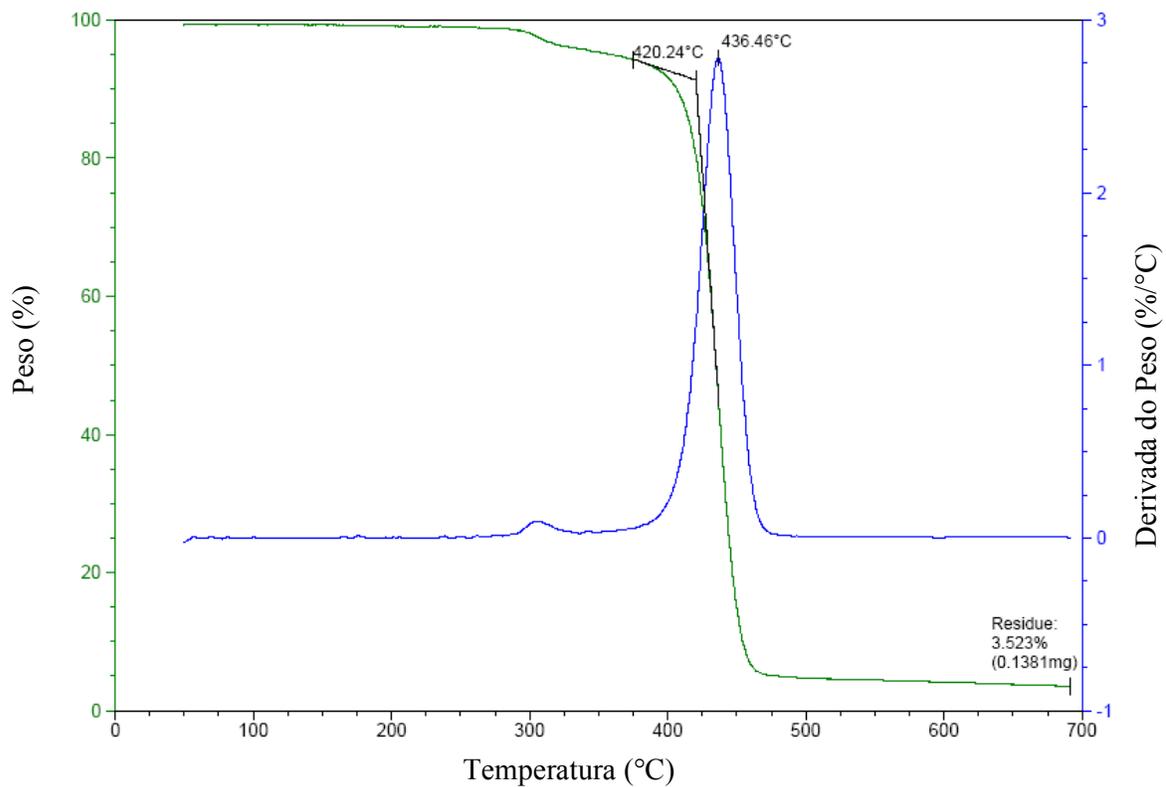


Figura 2.6 – Curvas de TGA e DTG do copolímero B quaternizado com acrilonitrila

# 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](#)