



UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS
POLÍMEROS/ SEMICONDUTOR INORGÂNICO A PARTIR DA
TÉCNICA DE ELETROFIAÇÃO**

Juazeiro-BA

2013



**COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS
MATERIAIS - CPGCM - UNIVASF**

Fernando Antonio Gomes da Silva Júnior

**PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITOS
POLÍMEROS/ SEMICONDUTOR INORGÂNICO A PARTIR DA
TÉCNICA DE ELETROFIAÇÃO**

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

Orientador: Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira

Juazeiro-BA

2013

A minha mãe, meu
irmão e minha avó pelo
amor, cuidado e apoio
em todo tempo.

Agradecimentos

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

A Deus pelo dom da vida. Por cada dia me conceder fôlego de vida para conquistar o que Ele preparou para mim. A Ele todo louvor!

À minha família, em especial a minha mãe Célia Magalhães, minha ajudadora e protetora. Ao meu irmão Felipe Magalhães pela companhia em todos os momentos, e a minha avó Diva Magalhães pelo cuidado e por se orgulhar de mim.

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

Ao elenco de Professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais.

Aos colegas e amigos de curso, em especial a Simone, Queli e Tairine pela troca de conhecimento, pelo apoio e por estar comigo em todos os momentos que precisei.

Ao Prof. Dr. Mateus Matiuzzi por gentilmente ter cedido o laboratório de Microbiologia e Imunologia Animal da UNIVASF para o desenvolvimento das análises microbiológicas desse trabalho.

A Rafael Libório pelo auxílio e acompanhamento nas análises microbiológicas.

A todos que fazem parte do LEIMO.

A Professora e amiga Débora dos Santos que durante a graduação me incentivou a ingressar no mundo acadêmico.

Aos amigos Arlindo e Isaías pelo companheirismo e amizade em todos os momentos, vocês são como irmãos.

A todos muito obrigado!

“Por que o Senhor dá a sabedoria; da sua boca é que vem o conhecimento e o entendimento”. Provérbios 2:6

Resumo

A eletrofiação é considerada um dos processos mais promissores aplicados na produção de fibras contínuas em escala nanométrica, a partir de polímeros sintéticos e naturais. Neste trabalho foram produzidas matrizes de nanofibras por eletrofiação de soluções poliméricas de poli(vinil)pirrolidona (PVP) / óxido de zinco (ZnO) com o objetivo de avaliar o efeito biocida em bactérias gram-positivas e gram-negativas. As nanofibras foram caracterizadas pelas técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Os resultados de FTIR e DSC mostram que a interação entre as componentes das fibras é razoável, dados os deslocamentos nos picos característicos na região do infravermelho e também no deslocamento da temperatura crítica de fusão das fibras. Microscopias eletrônicas de varredura demonstram o bom nível de encapsulamento das nanopartículas de óxido de zinco, o que permite a potencial aplicação do sistema como agente bactericida. A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método da microdiluição em placa, determinando-se a concentração bactericida mínima (CBM). Valores de CBM de 250 mg/mL foram observados para *K. pneumoniae*. O correspondente valor para a cepa *S. aureus* foi de 500 mg/mL. As partículas incorporadas nas fibras demonstraram ampla atividade antibacteriana para microrganismos gram-positivos como para gram-negativos.

Palavras chave: Eletrofiação, polivinilpirrolidona, óxido de zinco, nanofibras, bactérias gram-positivas e gram-negativas.

Abstract

The electrospinning is considered one of the most promising technique applied in the production of continuous fibers in nanometric scale, by the use of synthetic and natural polymers. In this work, we have prepared nanofibers of polymeric solution of poly(vinyl)pyrrolidone - PVP / zinc oxide (ZnO) with the focus on avaliation of biocidal effect on gram-positive and gram-negative bacterias. The nanofibers were characterized by techniques of Scanning Electron Microscopy (SEM), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). The results of FTIR and DSC indicated that the interaction between components is reasonable, if considered the shift in the characteristic peaks in the infrared region and in the critical temperature of melting temperature. Microscopies of fibers indicated a good level of encapsulation of nanoparticles of ZnO, allowing the bactericidal activity of resulting material. This activity was analyzed from microdilution by the use of Minimal Bactericidal Concentration technique (MBC). Values of MBC of 250 mg / mL were observed for *K. pneumoniae*. While the corresponding value for *S.aureus* was in order of 500 mg / mL. The decorated fibers with particles zinc oxide were characterized by broad antibacterial activity to gram-positive and gram-negative bacterias.

Keywords: electrospinning, poly(vinyl)pyrrolidone, zinc oxide, nanofibers, gram-positive and gram-negative bactéria.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE QUDROS E TABELAS.....	14
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	15
1. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	16
1.1 INTRODUÇÃO.....	16
1.2 BACTÉRIAS.....	18
1.2.1 <i>STAFHYLOCOCCUS AUREUS</i>	25
1.2.2 <i>KLEBSIELA PNEUMONIAE</i>	26
1.3 ÓXIDO DE ZINCO COMO AGENTE BACTERICIDA.....	26
1.4 POLÍMEROS.....	28
1.4.1 DEFINIÇÃO.....	28
1.4.2 CLASSIFICAÇÃO DOS POLÍMEROS.....	29
1.4.3 ESTRUTURA MOLECULAR DOS POLÍMEROS.....	31
1.4.4 PROPRIEDADES DOS POLÍMEROS.....	32
1.5 POLIVINILPIRROLIDONA (PVP).....	34
1.6 ELETROFIAÇÃO.....	35
1.6.1 PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO.....	35
1.6.2 PARÂMETROS FUNDAMENTAIS PARA A PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS.....	36
1.6.3 CONE DE TAYLOR.....	38
1.6.4 FORMAÇÃO DO JATO E SUA TRAJETÓRIA.....	39
1.6.5 CONTROLE NO PROCESSO DE ELETROFIAÇÃO.....	41
1.6.6 TÉCNICAS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS.....	42
1.6.6.1 DESENHO.....	43
1.6.6.2 MODELO DE SÍNTESE.....	44
1.6.6.3 SEPARAÇÃO DE FASES.....	45
1.6.6.4 AUTO SEPARAÇÃO.....	45

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	47
2.1 SOLUÇÃO POLIMÉRICA.....	47
2.2 PRODUÇÃO DAS NANOFIBRAS.....	48
2.3 TESTES MICROBIOLÓGICOS.....	49
2.3.1 ANÁLISES DE SUSCEPTIBILIDADE DOS ISOLADOS AO ÓXIDO DE ZINCO.....	49
2.4 TESTES DE CARACTERIZAÇÃO.....	51
2.4.1 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	51
2.4.2 CALORÍMETRO DE VARREDURA DIFERENCIAL (DSC).....	53
2.4.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	55
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
3.1 OBTENÇÃO DOS INÓCULOS BACTERIANOS.....	58
3.2 SOLUÇÃO POLIMÉRICA E NANOFIBRAS PRODUZIDAS POR ELETROFIAÇÃO.....	60
3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	62
3.4 ESPECTROS FTIR.....	64
3.5 PROPRIEDADES TÉRMICAS.....	65
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	67
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
ANEXO A – TABELA DE POLÍMEROS USADOS NA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS.....	74
A.1 POLÍMEROS SINTÉTICOS NÃO BIODEGRADÁVEIS.....	74
A.2 POLÍMEROS BIODEGRADÁVEIS.....	77
A.3 POLÍMEROS NATURAIS.....	78
TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSO	80

Lista de figuras

Figura 01: Morfologia de bactérias coradas pelo método de Gram.....	19
Figura 02: Comparação das paredes celulares de bactérias Gram positivas e Gram negativas.....	20
Figura 03: Bactérias gram positivas e bactérias gram negativas.....	21
Figura 04: Superfícies do corpo que são sítios de infecção e liberação microbiana. As setas verdes indicam infecção; as setas violetas indicam liberação.....	23
Figura 05: Esquema da célula unitária do ZnO.....	27
Figura 06: Estrutura das cadeias poliméricas, (a) cadeia linear; (b) cadeia ramificada; (c) cadeia com ligações cruzadas.....	31
Figura 07: Configuração básica de um equipamento de eletrofição.....	36
Figura 08: Esquema de como uma gota carregada eletricamente corresponde ao campo elétrico.....	37
Figura 09: Cone de Taylor.....	38
Figura 10: Diagrama de um aparelho de eletrofição.....	40
Figura 11: Obtenção de nanofibras por desenho.....	44
Figura 12: Obtenção de nanofibras por modelo de síntese.....	45

Figura 13: Esquemas de separação de fases para a obtenção de nanofibras.....	45
Figura 14: Um exemplo de auto-montagem para a obtenção de nanofibras...	46
Figura 15: Equipamento de eletrofiação.....	48
Figura 16: Determinação da Concentração Mínima Inibitória.....	49
Figura 17: Representação esquemática dos componentes do microscópio eletrônico de varredura.....	52
Figura 18: Microscópio Eletrônico de Varredura, Vega 3XMU.....	53
Figura 19: Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC-60 Shimadzu).....	55
Figura 20: Representação esquemática dos componentes do FTIR.....	56
Figura 21: Espectrômetro de Infravermelho de Transformada de Fourie.....	57
Figura 22: Placa de Petri contendo fibras de PVP puro e fibras de PVP com óxido de zinco sem halo e com halo de inibição, respectivamente.....	59
Figura 23: Imagens do efeito bactericida de fibras de PVP/ZnO contra <i>Staphylococcus aureus</i> (A) e <i>Klebsiella pneumoniae</i> (B).....	60
Figura 24: Equipamento que compõe a técnica de eletrofiação.....	61
Figura 25: Coletor contendo fibras de PVP/ZnO.....	61
Figura 26: Disposição do ZnO agregados nos núcleos de nanofibras.....	63

Figura 27: Comparação entre a densidade das fibras em função da concentração relativa de ZnO de 0,05 g/mL a 0,13 g/mL..... 63

Figura 28: Espectro de FTIR do PVP puro e fibras PVP/ZnO e pó de ZnO (inserção)..... 65

Figura 29: Curvas DSC de PVP puro e fibras de PVO+ZnO em diferentes concentrações..... 66

Lista de quadros e tabelas

Quadro 01: Vias de infecções no corpo humano.

Quadro 2: Classificação dos polímeros

Quadro 03: Características e propriedades da polivinilpirrolidona.

Quadro 04: Comparação de técnicas de processamento para a obtenção nanofibras.

Tabela 1: Produtos químicos utilizados para a preparação da solução polimérica.

Lista de Símbolos e Abreviaturas

IRAS – infecções relacionadas à assistência à saúde

GI – Gastrointestinal

KPC – Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase

pH – Potencial Hidrogeniônico

MIC – Concentração Mínima Inibitória

CBM – Concentração Bactericida Mínima

UV – Ultra Violeta

PVP – Polivinilpirrolidona

ZnO – Óxido de Zinco

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

FTIR – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

DSC – Calorímetro Diferencial de Varredura

Capítulo 1

1. Enquadramento Teórico

1.1 Introdução

As infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) determinadas por bactérias multirresistentes representam um importante problema de saúde pública, exigindo uma ação conjunta nas práticas de prevenção e controle das mesmas e de agentes antimicrobianos ^[1, 2].

Estas infecções ocorrem tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento, com taxas de morbidade e mortalidade elevadas e aumento de custos ^[2]. O problema é mais expressivo em países em desenvolvimento, pela escassez de recursos financeiros, humanos e laboratórios de microbiologia habilitados, além do uso maior e abusivo de antimicrobianos ^[3].

A seleção dos antimicrobianos adequados no tratamento de infecções tem se tornado cada vez mais difícil pelo aumento de bactérias multirresistentes e a diminuição de opções terapêuticas^[4]. O surgimento de organismos multirresistentes juntamente com a escassez alarmante de novas classes de antimicrobianos tem obrigado a comunidade da área de saúde a otimizar o potencial terapêutico de antimicrobianos atualmente disponíveis ^[5].

Diante dessa problemática, esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um compósito (biomaterial) de baixo custo e com alto poder bactericida.

O método para a produção do biomaterial desenvolvido nesse trabalho é a eletrofiação, uma técnica simples e de baixo custo. Esta técnica permite obter, a partir de soluções poliméricas, matrizes de fibras com diâmetros em escala nanométrica. O polímero utilizado na produção das nanofibras é a poli(vinil)pirrolidona (PVP). A PVP é um polímero biocompatível, sintético e hidrofílico.

A estratégia a ser considerada para conferir poder antimicrobiano às nanofibras produzidas é a incorporação do óxido de zinco (ZnO), devido ao seu largo aspecto de resistência.

O desenvolvimento de um material deve ser alicerçado em quatro etapas: (I) síntese/preparação, (II) caracterização, (III) estudo de propriedades e relação estrutura-propriedade e (IV) aplicações ^[6].

Diante disso foi estabelecido os seguintes planos de trabalhos:

- Preparação da solução polimérica de PVP;
- Incorporação do ZnO na solução polimérica;
- Produção das nanofibras;
- Caracterização das nanofibras através das técnicas de MEV, DSC e FTIR;
- Realização de testes microbiológicos com bactérias para averiguar o efeito biocida das nanofibras.

A dissertação está dividida em quatro capítulos: Introdução, Procedimento Experimental, Resultados e Discussão e Conclusão.

O Capítulo 1 introduz os vários temas do trabalho. Depois do enquadramento que anteriormente foi feito, apresenta-se em seguida o conceito de bactéria e das bactérias estudadas durante o trabalho. Segue a definição de polímeros e a importância da utilização do ZnO no experimento. Em seguida é descrita a técnica usada na produção das nanofibras – a eletrofiação – e discutem-se os parâmetros principais para a produção.

No capítulo 2 faz-se uma descrição de todos os equipamentos e materiais utilizados, assim como foi utilizado o processo de eletrofiação para a produção das fibras eletrofiadas. São descritos os processos de caracterização, MEV, DSC e FTIR. Finalmente são analisados os testes microbiológicos efetuados para detecção dos efeitos biocida das fibras (MIC e CBM).

No capítulo 3 são apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo do trabalho. Começa-se pelos resultados relativos à eletrofiação das soluções poliméricas e dos testes de caracterização. E por fim apresentam-se os resultados dos testes microbiológicos.

Por último, o capítulo 4 apresenta algumas conclusões do trabalho realizado e as perspectivas futuras para o desenvolvimento do mesmo.

1.2 Bactérias

As bactérias apresentam uma estrutura relativamente simples. Elas são organismos procariotos — organismos simples, unicelulares que não apresentam membrana nuclear, mitocôndria, aparelho de Golgi, ou retículo endoplasmático — que se reproduzem por divisão assexuada. São as menores células, somente visíveis com o emprego de um microscópio. As menores bactérias (*Chlamydia* e *Rickettsia*) apresentam diâmetro entre 0,1 a 0,2 μm , enquanto que as bactérias maiores podem ter vários micrômetros de comprimento ^[7].

As bactérias podem dividir-se em dois conjuntos designados por gram-positivas e gram-negativas (positivas e negativas no teste de Gram) ^[8]. Coloração de Gram é um teste rápido, importante e fácil que permite a diferenciação entre as duas mais importantes classes de bactérias, permitindo um diagnóstico inicial e, portanto uma terapêutica com base em diferenças inerentes às bactérias. Nesse teste as bactérias são fixadas na superfície de uma lâmina, coradas pelo cristal violeta (Fig.01), um corante que é precipitado pelo lugol e, posteriormente, o corante em excesso e não ligado é removido pelo descolorante, contendo acetona, e pela água. Um contracorante, safranina, é adicionado corando todas células descoradas. Este processo demora menos de 10 minutos ^[8].

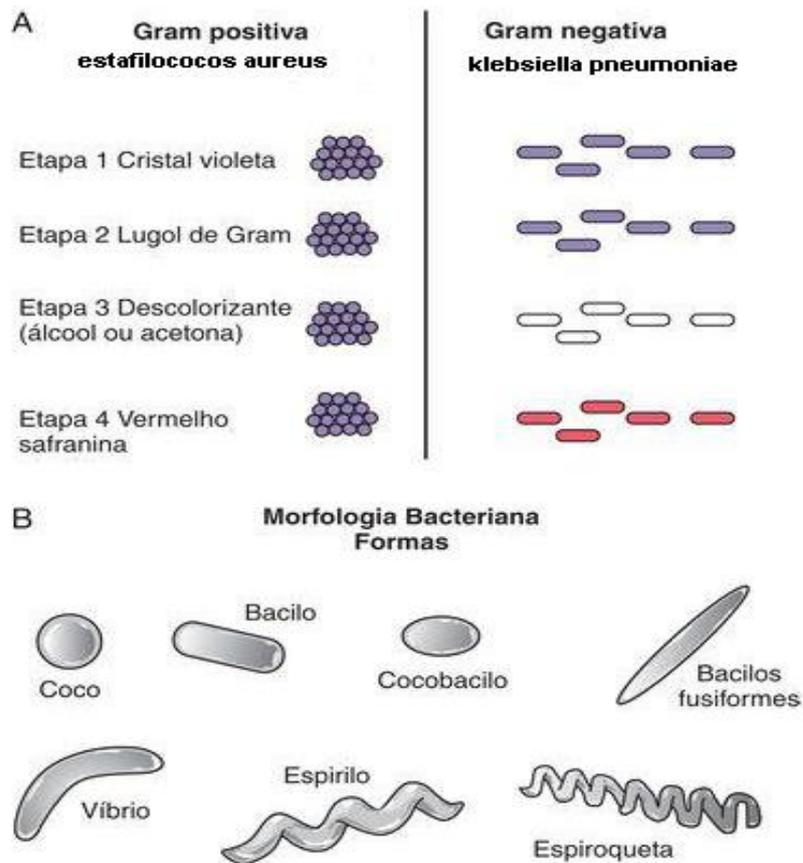


Figura 01: Morfologia de bactérias coradas pelo método de Gram^[7].

Com mostra a Fig.1(A), o cristal violeta da coloração de Gram é precipitado pelo lugol do Gram e é retido na espessa camada de peptidoglicano nas bactérias Gram positivas. O descolorante dispersa a membrana externa das Gram negativas e retira o cristal violeta através da fina camada de peptidoglicano. As bactérias gram negativas são visualizadas pelo contracorante vermelho. B, morfologias bacterianas.

Uma das principais diferenças entre essas bactérias reside na constituição da parede celular, mais propriamente no peptidoglicano (Fig. 02).

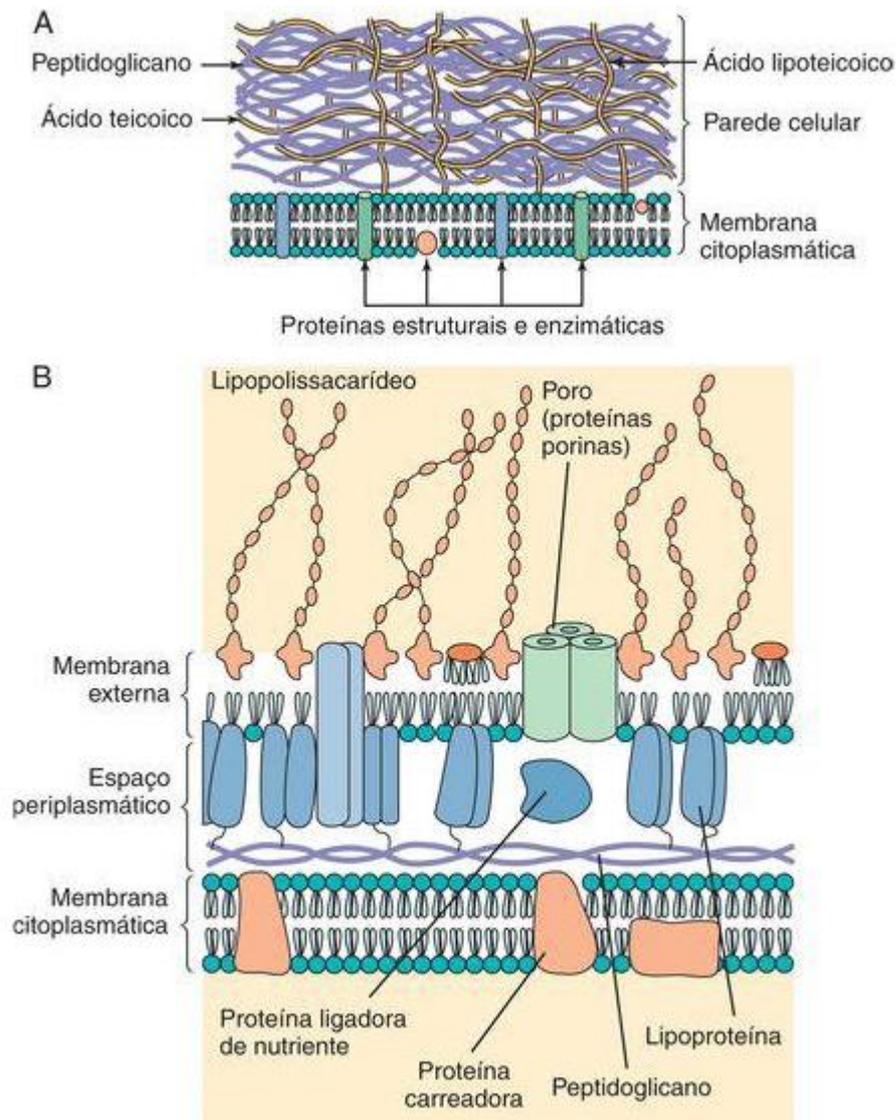


Figura 02: Comparação das paredes celulares de bactérias Gram positivas e Gram negativas^[7].

Como podemos ver na Fig. 02(A), a bactéria gram positiva tem uma camada de peptidoglicano espessa que contém ácido teicoico e ácidos lipoteicoicos. Em B, Uma bactéria gram negativa tem uma camada fina de peptidoglicano e uma membrana externa que contém lipopolissacarídeo, fosfolipídeos e proteínas. O espaço periplasmático entre as membranas citoplasmáticas e externas contém proteínas de transporte, degradativas e de síntese de parede celular. A membrana externa é acoplada à membrana citoplasmática em pontos de adesão e é presa ao peptidoglicano por lipoproteínas de ligação.

O peptidoglicano é o componente mais importante na parede celular dos procariontes, conferindo rigidez à parede celular das bactérias e determinando a sua forma evitando a lise celular (processo de ruptura da parede bacteriana). Nas bactérias Gram-positivas a parede celular apresenta uma camada espessa de peptidoglicano situada sobre a membrana citoplasmática, não existindo membrana exterior. Por outro lado, nas bactérias gram-negativas o peptidoglicano encontra-se entre a membrana citoplasmática e a membrana exterior da bactéria [8,9,10]. As paredes celulares de bactérias Gram negativas são mais complexas do que as celulares das gram positivas, tanto do ponto de vista estrutural quanto químico. Estruturalmente, as paredes celulares de gram-negativos contêm duas camadas externas à membrana citoplasmática. Imediatamente externa à membrana celular está uma fina camada de peptidoglicano que contribui somente para 5% a 10% do peso da parede celular da bactéria gram negativa. Não há ácidos teicoico ou lipoteicoico na parede celular das bactérias gram negativas. A membrana externa se localiza na parte mais externa da célula e é peculiar às bactérias gram negativas [7].

Para as bactérias gram positivas, que adquirem cor púrpura, o corante fica retido pela camada de peptidoglicano, estrutura espessa de moléculas interligadas, que envolve a célula. Bactérias gram negativas possuem uma fina camada de peptidoglicano que não retém o corante cristal violeta, dessa forma a célula é contracorada pela safranina e se torna vermelha (Fig. 03).

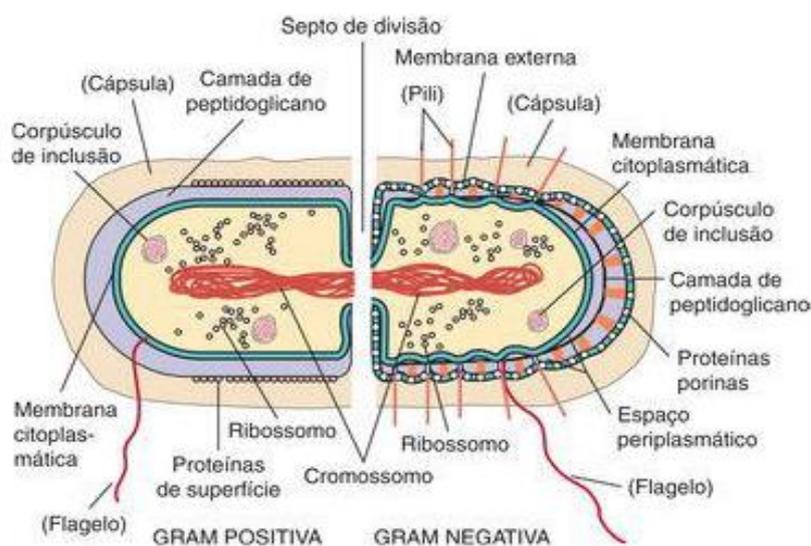


Figura 03: Bactérias gram positivas e bactérias gram negativas [7].

Uma bactéria gram positiva tem uma espessa camada de peptidoglicano (preenchendo o espaço púrpura) (esquerda). Uma bactéria gram negativa tem uma fina camada de peptidoglicano (linha preta única) e uma membrana externa (direita). As estruturas nomeadas entre parênteses não são encontradas em todas as bactérias. Na divisão celular a membrana e o peptidoglicano crescem um na direção do outro para a formação de um septo de divisão que separa as células-filhas.

O corpo humano, exposto a bactérias gram-positivas e gram-negativas, é um conjunto de nichos ambientais que fornecem calor, umidade e os alimentos necessários para o seu crescimento. As bactérias adquiriram traços genéticos que as capacitaram entrar (invadir) no ambiente, permanecer em um nicho (aderir ou colonizar), ganhar acesso às fontes alimentares (enzimas degradativas) e escapar das respostas imunes e não imunes protetoras do hospedeiro. A produção da doença resulta da combinação do dano causado pela bactéria e das consequências das respostas inata e imune à infecção. A produção de doenças bacterianas pode ser resumida em três etapas, (1) A doença é causada pelos danos produzidos pelas bactérias e das consequências das respostas imunes e inatas à infecção, (2) Os sinais e sintomas das doenças são determinados pela função e importância do tecido afetado, (3) A duração do período de incubação é o tempo requerido pela bactéria e/ou resposta hospedeira para causar suficiente dano e iniciar o desconforto ou interferir com as funções essenciais ^[7].

Nem todas as bactérias ou infecções bacterianas causam doença; porém, algumas causam doença sempre. O corpo humano é colonizado por inúmeras bactérias (microbiana), muitas apresentam importantes funções para seus hospedeiros. As bactérias da microbiana ajudam na digestão dos alimentos, produzem vitaminas (por exemplo, vitamina K) e podem proteger o hospedeiro da colonização com micróbios patogênicos. Estas bactérias endógenas geralmente residem em locais como o trato gastrointestinal (GI), boca, pele e trato respiratório superior, que estão tecnicamente do lado externo do corpo (Fig. 04).

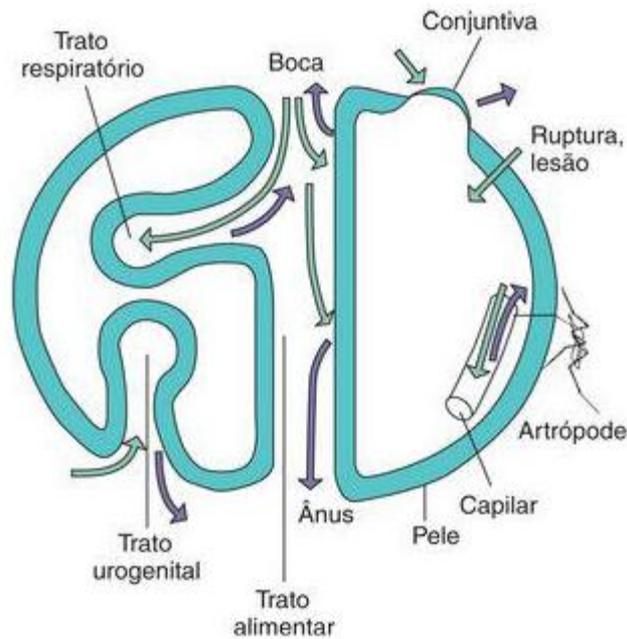


Figura 04. Superfícies do corpo que são sítios de infecção e liberação microbiana. As setas verdes indicam infecção; as setas violetas indicam liberação^[7].

Para o estabelecimento de uma infecção, as bactérias devem penetrar primeiro no corpo humano (quadro. 01). Os mecanismos de defesa naturais e barreiras como a pele, muco, epitélio ciliado e secreções contendo substâncias antibacterianas tornam difícil a entrada da bactéria no organismo humano. No entanto, estas barreiras são algumas vezes quebradas (por exemplo, um corte na pele), abrem uma porta de entrada para as bactérias. As bactérias podem também ter outros meios para comprometer a barreira e invadir o organismo. Durante a invasão, a bactéria pode viajar pela corrente sanguínea para outros sítios do corpo.

Quadro 01: Vias de infecções no corpo humano.

Rota	Exemplos
Ingestão	Salmonella spp., Shigella spp., Yersinia enterocolitica, Escherichia coli enterotoxigênica, Vibrio spp., Campylobacter spp., Clostridium botulinum, Bacillus cereus, Listeria spp., Brucella spp

Inalação	Mycobacterium spp., Nocardia spp., Mycoplasma pneumoniae, Legionella spp., Bordetella, Chlamydomphila psittaci, Chlamydomphila pneumoniae, Streptococcus spp.
Trauma	Clostridium tetani
Perfuração por agulha	Staphylococcus aureus, Pseudomonas spp.
Picadas de artrópodos	Rickettsia, Ehrlichia, Coxiella, Francisella, e Borrelia spp., Yersinia pestis
Transmissão sexual	Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Treponema pallidum

A pele possui uma camada rígida e espessa de células mortas que protege o corpo das infecções. No entanto, cortes na pele produzidos acidentalmente ou cirurgicamente, mantidos abertos através de cateteres ou outros dispositivos cirúrgicos, fornecem um meio para as bactérias terem acesso ao tecido suscetível mais profundo. Por exemplo, Staphylococcus aureus, que é parte da microbiana da pele, pode penetrar no organismo através de rupturas na pele e causar um grande problema para indivíduos com cateteres permanentes ou intravenosos.

A boca, o nariz, o trato respiratório, os ouvidos, os olhos, o trato urogenital e o ânus são sítios através dos quais as bactérias podem penetrar no corpo humano. Estas aberturas naturais na pele e as cavidades corporais associadas são protegidas pelas defesas naturais ^[7].

Exemplos de bactérias causadoras de diversas infecções são os S. aureus e a K. pneumoniae.

1.2.1 *Staphylococcus Aureus*

Staphylococcus Aureus, são cocos gram-positivos, imóveis, não produtores de esporos, catalase positiva, que tendem a formar agrupamentos irregulares semelhantes a cachos de uva e que podem eventualmente ser encontrados em diversos espécimes clínicos. São amplamente encontrados na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosas dos mamíferos e aves. A maioria dos estafilococos mede de 0,5 a 1,5 µm de diâmetro, são imóveis, anaeróbios facultativos, são capazes de crescer em meios contendo alta concentração de sal (por exemplo, 10% de cloreto de sódio) e a temperaturas que variam de 18°C a 40°C. São facultativos quanto à respiração e pouco exigentes nutricionalmente. São ativos metabolicamente, fermentando carboidratos e produzindo pigmentos que variam do branco ao amarelo forte [11,12]. O gênero consiste atualmente de 40 espécies e 24 subespécies, muitas das quais são encontradas no homem. Algumas espécies são encontradas em nichos específicos. Por exemplo, *Staphylococcus aureus* coloniza as narinas anteriores, *Staphylococcus capitis* é encontrado onde estão as glândulas sebáceas (por exemplo, na testa), e *Staphylococcus haemolyticus* e *Staphylococcus hominis* são encontrados em áreas onde estão presentes glândulas apócrinas (por exemplo, nas axilas). É considerado um patógeno importante para os seres humanos, sendo responsável por diversos processos infecciosos tanto de origem comunitária quanto hospitalar sendo, conseqüentemente, a espécie mais extensivamente estudada [13]. É o agente causador mais comum de infecções piogênicas. Estas infecções podem se localizar na pele ou em regiões mais profundas do organismo como tecidos moles e ossos. Quando presentes na pele essas podem causar diversas doenças, diferenciadas pela localização e por outras características. Em indivíduos debilitados, esse microrganismo pode causar infecções de caráter bem mais grave [11]. Além das infecções piogênicas, o *S. aureus* pode causar vários tipos de intoxicações, seja na vigência de um processo infeccioso ou não [13].

1.2.2 *Klebsiela Pneumoniae*

Klebsiela Pneumoniae é um patógeno nosocomial, sendo o quarto e o quinto mais comum causa de pneumonia e bacteremia, respectivamente [14]. É um bacilo gram-negativo, membro da família *Enterobacteriaceae*, encontrado em locais como água, solo, plantas e esgoto [15]. Sua colonização em seres humanos provavelmente ocorre por contato com as diversas fontes ambientais e pode ser encontrada colonizando a orofaringe e fezes de pessoas saudáveis, já no organismo de pessoas imunocomprometidas esta bactéria encontra um ambiente propício para seu crescimento, levando aos quadros de infecção [16].

Também conhecida como frequente responsável por infecções pulmonares, urinárias e infra-abdominais em pacientes imunocomprometidos [17].

A *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase, popularmente conhecida como KPC, é uma bactéria restrita a ambiente hospitalar, cuja característica é a produção de uma betalactamase denominada carbapenemase, que tem a propriedade de inibir a ação dos antibióticos carbapenêmicos (imipenem, meropenem e ertapenem), dificultando ou reduzindo as opções terapêuticas disponíveis. Essa bactéria pode causar infecção hospitalar que costuma acometer pacientes imunodeprimidos, especialmente os que se encontram nas unidades de terapia intensiva.

1.3 Óxido de Zinco como Agente Bactericida

O óxido de zinco (ZnO), também conhecido com Zincita é um material de grande importância para muitas aplicações em diversas áreas de conhecimento. Possui uma estrutura hexagonal do tipo wurtzita (ZnS) conforme ilustrada na Fig. 05. Esta estrutura pode ser descrita por um grande número de planos compostos por íons O^{2-} e Zn^{2+} coordenados tetraedricamente e orientados em uma só direção de maneira alternada [18]. A coordenação tetraédrica garante que a estrutura do ZnO apresenta uma configuração central e assimétrica que, por sua vez, faz do ZnO o único entre todos óxidos funcionais que exibe propriedades duais de piroeletricidade e piezoeletricidade [19].

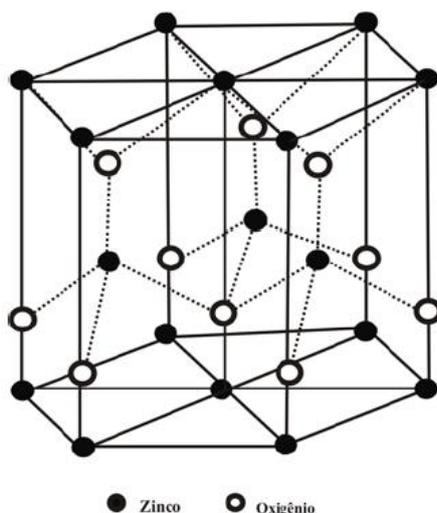


Figura 05: Esquema da célula unitária do ZnO

O óxido de zinco tem sido um importante material industrial durante muito tempo e atualmente vem sendo objeto de interesse considerável, por apresentar uma combinação de propriedades físicas (relativa condutividade elétrica e térmica, absorção óptica na região do ultravioleta e estabilidade em temperaturas elevadas), químicas (estabilidade em pH neutro) e biológicas (ação antibacteriana). O tamanho de partícula bem como a morfologia são relatados como um grande desafio na investigação das propriedades do ZnO, tanto em escala micrométrica como também em escala nanométrica.

A literatura descreve a atividade antibacteriana de suspensões contendo ZnO em tamanhos nano e micrométricos, verificando que ambas apresentam a capacidade de inibir o crescimento de bactérias, tendo as suspensões de ZnO em tamanho nano uma eficiência claramente superior em relação às de tamanhos micro ^[20]. O mecanismo proposto para a atividade antibacteriana do óxido de zinco sugere três possíveis caminhos: 1) interação química entre o ZnO e componentes da membrana celular da bactéria, 2) Interação física entre as nanopartículas de ZnO e a membrana celular da bactéria, 3) Combinação da interação química e física.

O óxido de zinco faz parte do grupo dos agentes inorgânicos antimicrobianos mais seguros e extremamente estáveis em relação aos 37 agentes antimicrobianos orgânicos. No entanto, o verdadeiro mecanismo para a inibição de micróbios ainda não é claramente compreendida ^[21].

O óxido de zinco pode também ser incorporado em polímeros, ou seja, em soluções poliméricas para o desenvolvimento de compósitos com o objetivo de melhorar sua aplicação como agente bactericida ^[21].

1.4 Polímeros

1.4.1 Definição

Quando as moléculas se tornam muito grandes, contendo um número de átomos encadeados superior a uma centena, e podendo atingir valor muito alto, as propriedades dessas moléculas ganham características próprias, gerais, e se chamam então macromoléculas. A forma e o comprimento das ramificações presentes na cadeia macromolecular têm papel importante. Ligações hidrogênicas e interações dipolo-dipolo, ao lado de forças de Van der Waals, que atuam nessas macromoléculas no estado sólido, criam resistência muito maior do que no caso de micromoléculas, isto é, moléculas de cadeia curta. Em solução, essas interações entre moléculas de alto peso molecular acarretam um pronunciado aumento da viscosidade, que não se observa com as micromoléculas, os monômeros. A solubilidade dessas macromoléculas depende principalmente de sua estrutura química e do solvente: se as cadeias são lineares, ramificadas ou não, a dispersão molecular em solvente apropriado acarreta um aumento da dificuldade de escoamento das camadas do solvente, isto é, há um acréscimo na viscosidade, que não é significativo quando as moléculas são de baixo peso molecular. Quando as moléculas têm ramificações, o efeito sobre o aumento da viscosidade é prejudicado. Da mesma maneira, a evaporação do solvente dessas soluções viscosas resulta na formação de filmes, enquanto que soluções de substâncias sólidas de baixo peso molecular geram cristais ou pós. Esse, aliás, é um dos meios mais simples e imediatos para o reconhecimento das macromoléculas: sua capacidade de formação de películas, ou filmes, sólidos ^[22].

Há muita semelhança entre os conceitos de **macromolécula** e **polímero**. A palavra polímero vem do grego *poli* (muitos) + *meros* (iguais). São macromoléculas caracterizadas por seu tamanho, estrutura química e interações intra- e intermoleculares. Possuem unidades químicas ligadas por

covalências, repetidas regularmente ao longo da cadeia, denominadas **meros** (“mers”). O número de meros da cadeia polimérica é denominado **grau de polimerização**, sendo geralmente simbolizado por ***n*** ou DP. Do ponto de vista da nomenclatura, para se denominar um polímero usa-se o nome do monômero que foi usado na sua síntese e não o nome químico da unidade repetitiva do mesmo. Por exemplo, no caso do poli(etileno), o etileno ($\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$) é o monômero usado na síntese, mas a unidade repetitiva da cadeia polimérica é $[\text{CH}_2-\text{CH}_2]_n$, sem ligações duplas ^[23].

1.4.2 Classificação dos Polímeros

A classificação de polímeros está relacionada com a sua forma de processamento, podendo ser divididos em **termoplásticos**, **termofixos**, **plásticos de engenharia** e **elastômeros**. Os termoplásticos são aqueles que podem ser moldados por aquecimento por diversas vezes. Os termofixos são os polímeros que são moldados na forma de pré-polímero e depois são submetidos a um processo de “cura”, quando assumem a sua forma definitiva sem poderem ser moldados novamente por aquecimento. Os plásticos de engenharia podem ser classificados como materiais poliméricos que podem ser moldados a frio (por usinagem, por exemplo), mas a maioria deles também é moldada como termoplástico. Os elastômeros, gomas ou borrachas, são materiais com alta elasticidade, podendo sofrer grandes deformações sem se romperem. De um modo geral, os elastômeros necessitam passar por um processo químico de reticulação (vulcanização no caso da reação ser feita com enxofre) para serem usados. No entanto, também existem elastômeros que são moldados pelos mesmos processos usados para os termoplásticos, são os chamados “elastômeros termoplásticos” ^[23].

O Quadro 02 resume a classificação e características dos polímeros.

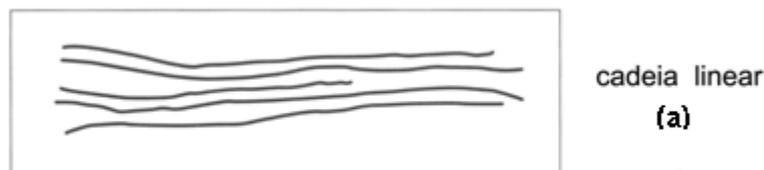
Quadro 2: Classificação dos polímeros.

Critério	Classe do polímero
Origem do polímero	<ul style="list-style-type: none">• Natural• Sintético
Número de monômeros	<ul style="list-style-type: none">• Homopolímero• Copolímero
Método de separação do polímero	<ul style="list-style-type: none">• Polímero de adição• Polímero de condensação• Modificação de outro polímero
Estrutura química da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none">• Poli-hidrocarboneto• Poliamida• Poliéster• ETC
Encadeamento da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none">• Sequência cabeça-cauda• Sequência cabeça-cauda, cauda-cauda.
Configuração dos átomos da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none">• Sequência cis• Sequência trans
Taticidade da cadeia polimérica	<ul style="list-style-type: none">• Isotático• Sindiatático• Atático
Fusibilidade e/ou solubilidade do polímero	<ul style="list-style-type: none">• Termoplástico• Termorrígido
Comportamento mecânico do polímero	<ul style="list-style-type: none">• Borracha ou elastômero• Plástico• Fibra

1.4.3 Estrutura molecular dos polímeros

As características físicas de um polímero dependem não apenas do seu peso molecular e da sua forma, mas também de diferenças na estrutura das cadeias moleculares. As técnicas modernas de síntese dos polímeros permitem um controle considerável sobre várias possibilidades estruturais ^[24].

Os polímeros podem ter suas cadeias sem ramificações (“branches”), admitindo conformação em zigue-zague, e são denominados polímeros lineares (“linear polymers”).



Podem apresentar ramificações, e são denominados polímeros ramificados (“branched polymers”), com maior ou menor complexidade.



Podem ainda exibir cadeias mais complexas, com ligações cruzadas (“crosslinks”), formando polímeros reticulados (“crosslinked polymers”).



Figura 06: Estrutura das cadeias poliméricas, (a) cadeia linear; (b) cadeia ramificada; (c) cadeia com ligações cruzadas ^[22].

Como conseqüências imediatas surgem propriedades diferentes no polímero, decorrentes de cada tipo de cadeia, especialmente em relação à fusibilidade e a solubilidade [22].

1.4.4 Propriedades dos polímeros

Os polímeros podem existir em estado amorfo ou em estado cristalino; na grande maioria dos casos, a estrutura do polímero se apresenta parcialmente amorfa ou cristalina. No primeiro caso, ocorre uma disposição desordenada das moléculas; no segundo, há uma ordenação tridimensional, isto é, existe cristalinidade.

A cristalinidade (“crystallinity”) pode ser conceituada como um arranjo ordenado de matéria no espaço, com repetição regular de grupos atômicos ou moleculares; no caso de polímeros, depende da estrutura química, do peso molecular e do tratamento físico, incluindo temperatura, tempo e forças a que foi submetido o material.

Os métodos mais usados para determinar o grau de cristalinidade dos materiais envolvem a **difração de raios-X** (“X-ray diffraction”) e de **difração de elétrons** (“electron diffraction”). Quando a estrutura é ordenada, a interferência das radiações com os segmentos da cadeia polimérica é mais acentuada, permitindo distinguir essas estruturas das regiões amorfas, desordenadas. A intensidade de tais interferências é suscetível de determinação experimental, uma vez que os comprimentos de onda dessas radiações têm dimensões comparáveis às distâncias interatômicas encontradas nos cristais. **A calorimetria de varredura diferencial** (“differential scanning calorimetry”, DSC) e a **espectrometria no infravermelho** (“infrared spectrometry”, **IR**) também são utilizadas na avaliação da cristalinidade de polímeros.

As propriedades típicas de um polímero cristalizável decorrem não só da sua constituição química e tamanho molecular (estrutura primária), como também da sua configuração (estrutura secundária), que irá facilitar ou não a formação de estruturas ordenadas (estrutura terciária). De acordo com as condições em que ocorre a formação dessas estruturas, são geradas diferentes formas geométricas, de maior ou menor perfeição cristalina e tamanho.

Polímeros altamente cristalinos podem ser assemelhados a cristais de baixo peso molecular, apresentando uma fase cristalina simples, com alguns defeitos. Assim, um polímero de alta cristalinidade pode ser considerado um sistema heterogêneo, constituído de componentes de resistência, ou reforço (os cristalitos), dispersos em uma matriz (a fase amorfa). Consiste de um conjunto de regiões, ou domínios, interconectados, que podem ser quimicamente semelhantes, porém com estrutura diferente. A amostra pode apresentar simultaneamente regiões cristalinas, semicristalinas e amorfas ^[16]:

- Região cristalina, com cadeias regularmente dobradas e alto módulo;
- Região paracristalina, com cadeias dobradas defeituosas e baixo módulo;
- Região amorfa, com cadeias sem qualquer ordenação e baixo módulo.

Conforme já mencionado, a estrutura da macromolécula depende da composição química, da constituição dos grupamentos que se encadeiam e de seu número, e da configuração dos átomos de carbono presentes, que podem constituir centros quirais. Estes fatores determinam a possibilidade de ordenação das macromoléculas; entretanto, para que realmente ocorra à ordenação, há necessidade de temperatura e solvente adequado. Deste modo, é favorecida a flexibilização das cadeias, e o segmento molecular pode assumir a conformação mais estável naquelas condições. Do grau de ordenação alcançado decorrerão as características mecânicas e térmicas dos polímeros, assim como a sua solubilidade.

A presença de certos grupamentos permite fortes interações intra- ou intermoleculares, geralmente do tipo *ligação de hidrogênio* ou *ligação dipolo-dipolo*. Dependendo da intensidade dessas interações, a coesão molecular se intensifica e assim, aumenta a temperatura de fusão do material e a viscosidade das soluções poliméricas.

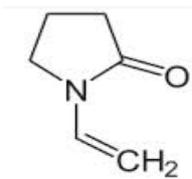
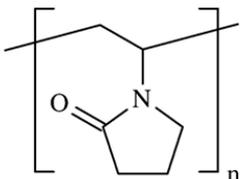
A polivinilpirrolidona, por exemplo, possui grupos hidroxilas (OH) formando ligações de hidrogênio o que proporciona sua solubilização em água e álcool.

1.5 Polivinilpirrolidona (PVP)

A polivinilpirrolidona, também conhecida por povidona ou apenas PVP é um polímero biocompatível, amorfo, com uma boa estabilidade do ambiente e de fácil processabilidade com potencial aplicação como suporte polimérico aplicado na minimização da agregação de partículas [25]. A ampla faixa de aplicações do PVP e seus copolímeros na indústria farmacêutica e na medicina são associados a essas propriedades.

O Quadro 03, abaixo, resume as principais características e propriedades da PVP.

Quadro 03 – Características e propriedades da polivinilpirrolidona.

Monômero	Vinil-pirrolidona 
Polímero	Poli(vinil-pirrolina) 
Preparação	<ul style="list-style-type: none">• Poliadição em solução. Monômero, peróxido de hidrogênio, água, 50°C
Propriedades	<ul style="list-style-type: none">• Peso molecular: 10³-10⁶• Cristalinidade: amorfo; T_g: 126-176°C• Material termoplástico. Adesividade. Solúvel em água e solventes orgânicos. Baixa toxicidade.
Aplicação	<ul style="list-style-type: none">• Nas indústrias de cosméticos, farmacêuticas, têxtil, adesivos, tintas e papel, como espessante ou emulsificante.

A PVP possui características que podem ser aprimoradas a partir da técnica de eletrofiação. Através desta técnica a PVP pode ser eletrofiada e, ser utilizada como biomaterial na substituição de pele, por exemplo.

1.6 Eletrofiação

1.6.1 Processo de Eletrofiação

A eletrofiação (também chamada de fiação eletrostáticas de fibras) tem sido considerada um dos processos promissores para produção de fibras contínuas em escala nanométrica, a partir de polímeros sintéticos e naturais ^[26].

A técnica de eletrofiação vem sendo progressivamente estudada por representar um método simples e de baixo custo na produção de nanoestruturas orgânicas com elevada área superficial, com diâmetros na faixa de 40 a 2000 nm ^[27].

A configuração básica para um equipamento de eletrofiação consiste em três componentes principais: a fonte de alimentação de alta tensão, a conexão da fonte com a seringa, e um coletor separado a uma distância definida. Alguns parâmetros são fundamentais para a síntese, dos quais podemos citar: solvente adequado para a dissolução do polímero, a pressão de vapor do solvente deve ser suficiente para a fibra manter sua integridade quando atingir o alvo, nível de tensão fornecida pela fonte de alimentação, a distância entre a seringa e a superfície aterrada ^[28].

A configuração mais comum é o uso de uma seringa com uma agulha carregada eletricamente na ponta ^[4], como esquematizado na Fig. 07.

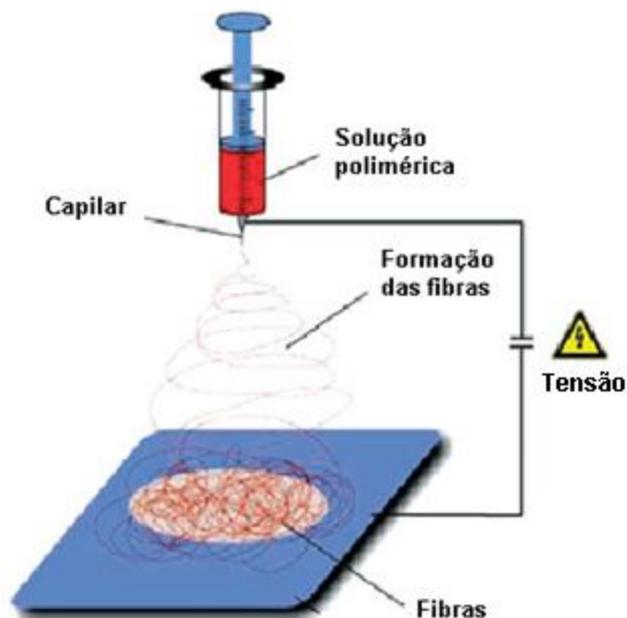


Figura 07: Configuração básica de um equipamento de eletrofiação.

A ideia fundamental de eletrofiação surgiu em 1934, por Anton e Formhals, n que publicaram uma série de patentes que descrevem uma montagem experimental para a produção de filamentos de polímeros usando uma força eletrostática ^[29]. Em 1966, Simons patenteou um aparelho para a produção de tecidos ultrafinos. Ele criou diferentes padrões usando fiação elétrica e descobriu que as fibras curtas e finas foram formadas a partir de soluções de baixa viscosidade, ao passo que fibras contínuas foram obtidas a partir de soluções mais viscosas ^[29].

1.6.2 Parâmetros fundamentais para produção de nanofibras

A descrição do processo de eletrofiação sugere que os seguintes parâmetros afetam a produção das fibras: as propriedades da solução, incluindo viscosidade, condutividade, e a tensão superficial; variáveis controladas incluindo a pressão hidrostática no capilar, potencial elétrico, e a distância entre a ponta da agulha e a tela de deposição; e parâmetros ambientais como temperatura, umidade e velocidade do ar ^[30].

A solução polimérica para a produção das fibras deve também possuir certo grau de viscosidade, de modo para ser esticada continuamente pelo arrasto

viscoso. A mistura homogênea flui através de um vaso capilar e, sob a influência da tensão superficial, forma-se na ponta da gota ^[31].

O processo de eletrofiação é conduzido por forças elétricas de cargas livres na superfície ou no interior da solução polimérica. Para ser iniciado o processo de eletrofiação, a solução deve ganhar cargas, de modo que as forças de repulsão no interior da solução são capazes de superar a tensão superficial da solução. Geralmente, a condutividade elétrica de solventes é muito baixa, pois contêm poucos íons livres, se existirem, esses são responsáveis pela condutividade elétrica da solução. A presença de ácidos, bases, sais e de dióxido de carbono dissolvido podem aumentar a condutividade do solvente.

Na fiação convencional, a fibra é submetida à tração e forças aerodinâmicas. Na eletrofiação a força de tração é gerada pela interação de um campo elétrico aplicado com a carga elétrica transportada pelo jato ^[32].

A eletrofiação é baseada na aplicação de uma diferença de potencial da ordem de 15 kV entre a extremidade de uma agulha metálica e um plano aterrado. Quando a força de repulsão eletrostática entre as cargas supera a tensão superficial, a gota adquire a forma de um cone, conhecido como cone de Taylor, e um jato carregado da solução na extremidade do cone é ejetado. Esse esquema é mostrado na Fig. 08.

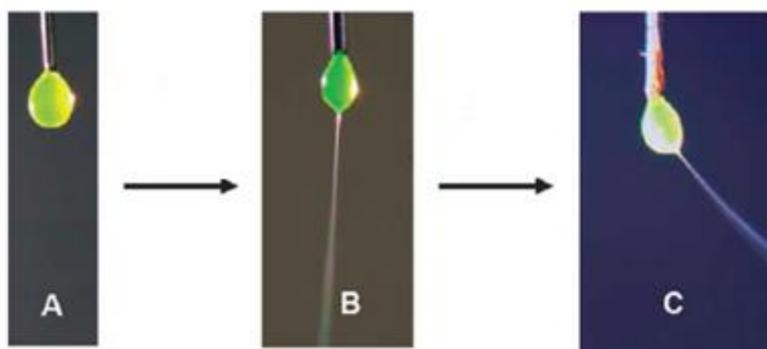


Figura 08: Esquema de como uma gota carregada eletricamente responde ao campo elétrico.

1.6.3 Cone de Taylor

A Fig. 09 mostra o esquema do cone de Taylor. Em 1969, Taylor estudou o jato produzido a partir da gota de uma solução polimérica. Ele concluiu que um ângulo de $49,3^\circ$ é obtido quando a gotícula é submetida a um campo elétrico externo ^[33].

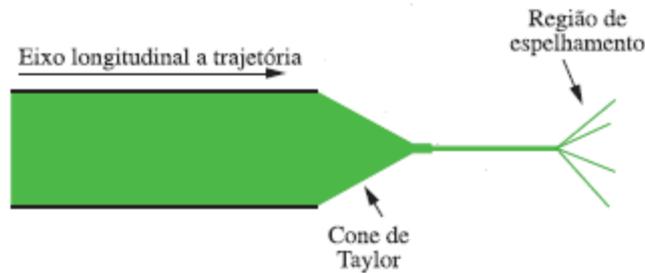


Figura 09: Cone de Taylor

Taylor estabeleceu a dependência do potencial crítico da formação de um cone na extremidade de um tubo capilar como é mostrado na Eq. 1.

$$\left(\frac{V_c}{H}\right)^2 = \frac{4}{L^2} \left(\ln \frac{2L}{R} - \frac{3}{2} \right) (0,117\pi\gamma R) \quad \text{Eq. 1}$$

onde V_c é a tensão crítica elétrica, H é a separação entre a ponta do capilar e o chão, L é o comprimento do tubo capilar e R é o raio do capilar. De acordo com a equação acima, pode-se ver que a tensão elétrica crítica de formação de um cone de Taylor é proporcional à tensão superficial da solução desde que H , L e R sejam fixos. Assim, soluções com tensão superficial elevada exigem uma tensão maior para iniciar o cone de Taylor e, assim, os jatos de fibra ^[34]. A tensão superficial tem o efeito de diminuir a área de superfície por unidade de massa de um fluido. Neste caso, quando existe uma elevada concentração de moléculas de solvente, existe uma maior tendência para as moléculas de solvente se reunir e adotar uma forma esférica, devido à tensão superficial. Viscosidades mais elevadas significarão maior interação entre as moléculas de solvente e, assim, quando a solução polimérica é esticada sob a influência das

cargas, as moléculas do solvente tendem a se espalhar sobre as moléculas do polímero. Geralmente, um polímero com maior peso molecular é menos solúvel e leva muito mais tempo para dissolver do que um polímero com menor peso molecular utilizando o mesmo solvente.

Existem muitos polímeros que formam fibras por eletrospinação. No Anexo 1 estão citados os polímeros sintéticos não biodegradáveis (Tabela 1) de uso mais freqüente ou de maior uso, com o correspondente solvente e da concentração utilizada, que é capaz de produzir inúmeras fibras.

Fibras eletrospinnadas são comumente utilizados no campo da engenharia de tecidos devido ao seu pequeno diâmetro. Assim, existem dois grupos de polímeros que são comumente utilizados para a produção de nanofibras. Estes são os polímeros biodegradáveis e polímeros naturais. Muitos tipos diferentes de polímeros a partir destas duas classes formam nanofibras com êxito.

1.6.4 Formação do jato e sua trajetória

A Fig. 10 mostra um jato estável com quatro regiões distintas. O jato pode sofrer cisão em vários subjatos em um processo conhecido como ramificação. Isso acontece quando ocorrem mudanças na forma e carga por unidade de área do jato, devido à sua capacidade de alongamento e a evaporação do solvente. Isto altera o equilíbrio entre a tensão da superfície e as forças elétricas e o jato tornam-se instáveis.

O jato emerge a partir da superfície carregada na região da base, viaja pela região do jato, divide em muitas fibras na região de ramificação e para na região de coleta.

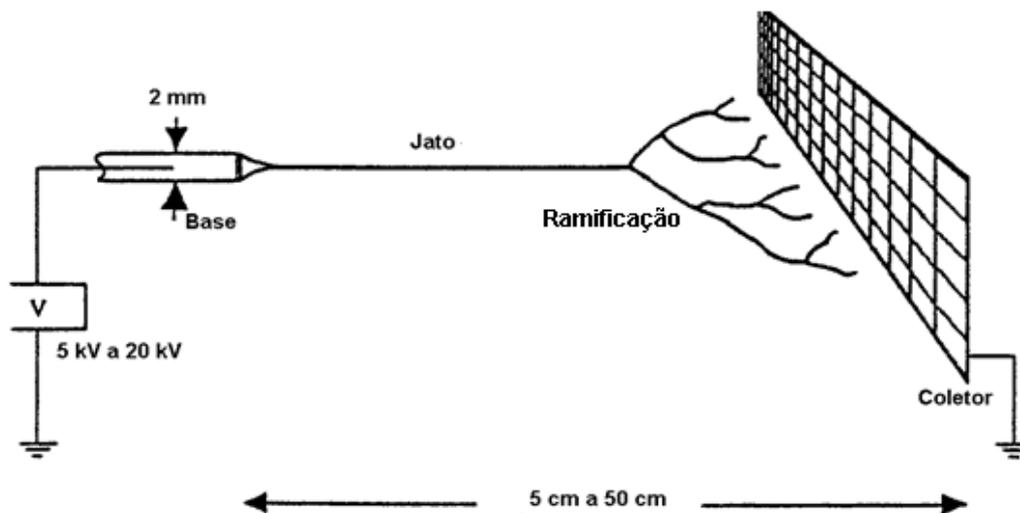


Figura 10. Diagrama de um aparelho de eletrospinning

A base é a região onde o jato emerge do polímero líquido. O jato é a região além da base, onde as forças elétricas continuam a acelerar o polímero líquido para esticá-lo. Nesta região, o diâmetro do jato diminui e aumenta a duração de uma maneira que mantém constante a quantidade de massa por unidade de tempo que passa qualquer ponto no eixo. Um jato estável viaja de uma solução polimérica fundida para um coletor, por exemplo, uma tela de metal. O jato é impulsionado por um elevado potencial elétrico aplicado entre a solução ou massa fundida e do coletor. As cargas elétricas, geralmente sob a forma de íons, tendem a mover em resposta ao campo elétrico que está relacionado com o potencial.

A solidificação do jato resulta na deposição de uma nanofibra seca no coletor. A velocidade de solidificação varia de acordo com a concentração de polímero, o campo eletrostático, e a distância do espaçamento.

A pressão de vapor do solvente na solução é um fator importante na formação e no formato das fibras. Se o polímero está na forma de uma solução em que o solvente tem uma pressão de vapor elevada, a evaporação do solvente a partir do jato pode reduzir a velocidade de fluxo de massa. Quando a maior parte do solvente é evaporado o jato atinge o coletor individual e fibras são formadas. No entanto, se a taxa de evaporação do solvente é muito baixa de tal modo que a solução não foi evaporada o suficiente, as fibras não podem ser formadas e uma película fina de solução de polímero é depositada sobre o coletor. A taxa de evaporação de um solvente depende de vários

fatores, tais como a pressão de vapor, ponto de ebulição, calor específico, entalpia e calor de vaporização do solvente, taxa de fornecimento de calor, interação entre as moléculas de solvente e entre e as moléculas de soluto, tensão superficial do líquido e do movimento do ar acima da superfície do líquido.

O cone do jato também é afetado pela evaporação do solvente, uma vez que a perda do solvente pode ter um grande efeito sobre a viscoelasticidade do polímero líquido. A ramificação ocorre numa região em que as forças radiais das cargas elétricas transportadas pelo jato tornam-se maiores do que a força de coesão no interior do jato e de um único jato divide-se vários jatos carregados com aproximadamente igual diâmetros e de carga por unidade de comprimento. Como o jato avança a partir da base em direção ao coletor, as forças do campo elétrico externo aceleraram e esticam a jato. Fibras finas podem também ser criadas alongando um único jato se a ramificação não ocorrer. A ramificação e o alongamento parecem ocorrer simultaneamente em muitos casos. O alongamento e a evaporação do solvente fazem com que o diâmetro do jato se torne menor. A carga sobre a fibra tende a expandir o jato e esticá-la na direção axial. À medida que o raio do jato torna-se menor, as forças radiais a partir da carga pode se tornar grande o suficiente para superar as forças de coesão da fibra e fazer com que ele se divida em duas ou mais fibras. Este processo de divisão do jato ocorre várias vezes em sucessão rápida e produz um grande número de fibras eletricamente carregadas movendo-se em direção ao coletor. A região de coleta é o lugar onde o jato é coletado. A fibra de polímero que permanece após a evaporação do solvente pode ser recolhidos em uma tela de metal ^[34].

1.6.5 Controle no processo de eletrofiação

Vários fatores têm sido amplamente investigados e discutidos de como obter um melhor controle do processo de eletrofiação e de como manipular o diâmetro da fibra. Estes fatores são geralmente classificados em duas categorias principais: (1) as propriedades das soluções utilizadas e (2) as variáveis de processamento aqui aplicado. As primeiras incluem tensão superficial (γ), a condutividade elétrica (κ) e viscosidade (η), enquanto estes

últimos incluem tensão elétrica aplicada (V), distância (H), e a taxa de fluxo da solução (Q)^[34].

A maior parte dos estudos anteriores têm-se centrado sobre a correlação direta entre esses fatores e o diâmetro da fibra (df) obtido, deixando aqui morfologias do cone de Taylor e o jato eletrificado inexplorados. Portanto, o campo elétrico é um parâmetro crucial para eletrofiação, e parâmetros como a tensão, a distância entre a ponta da agulha e características do alvo, a forma do coletor e da agulha podem ser usado para controlar o campo elétrico. Conseqüentemente, estes parâmetros pode ser usado para variar notavelmente a morfologia das fibras.

Um dos parâmetros mais importantes que podem ser utilizados para alterar o campo elétrico é a tensão aplicada entre os dois elétrodos. Geralmente, em sentido positivo ou negativo uma tensão de mais de 6 kV é necessária para fazer com que seja iniciado o cone de Taylor e conseqüentemente o jato.

1.6.6 Técnicas utilizadas na produção de nanofibras

Além da eletrofiação, nanofibras poliméricas podem ser processadas por uma série de técnicas tais como, desenho, modelo de síntese, separação de fases, auto-montagem e eletrofiação. A comparação entre essas diversas técnicas podem ser observadas no quadro 04.

Quadro 04: Comparação de técnicas de processamento para a obtenção nanofibras.

Processo	Avanços Tecnológicos	O processo pode ser dimensionado?	Repetibilidade	Conveniente para processar?	Controle de dimensão das fibras
Desenho	Laboratório	X	✓	✓	X
Molde	Laboratório	X	✓	✓	✓
Separação de fases	Laboratório	X	✓	X	X
Auto-montagem	Laboratório	X	✓	✓	X

Eletrofiação	Laboratório (com grande potencial em processos industriais)	✓	✓	✓	✓
--------------	--	---	---	---	---

1.6.6.1 Desenho

Na técnica de desenho uma micropipeta é mergulhada em uma gotícula em contato com um micromanipulador. A micropipeta retira (puxa) o líquido numa alta velocidade e como resultado é produzida uma nanofibra. O desenho de uma fibra requer um material viscoelástico que possa sofrer fortes deformações estando coesa com a superfície para suportar as tensões desenvolvidas durante o puxar. O processo de estiramento pode ser considerado como fiação a seco a nível molecular. O esquema dessa técnica é mostrado na Fig. 11.

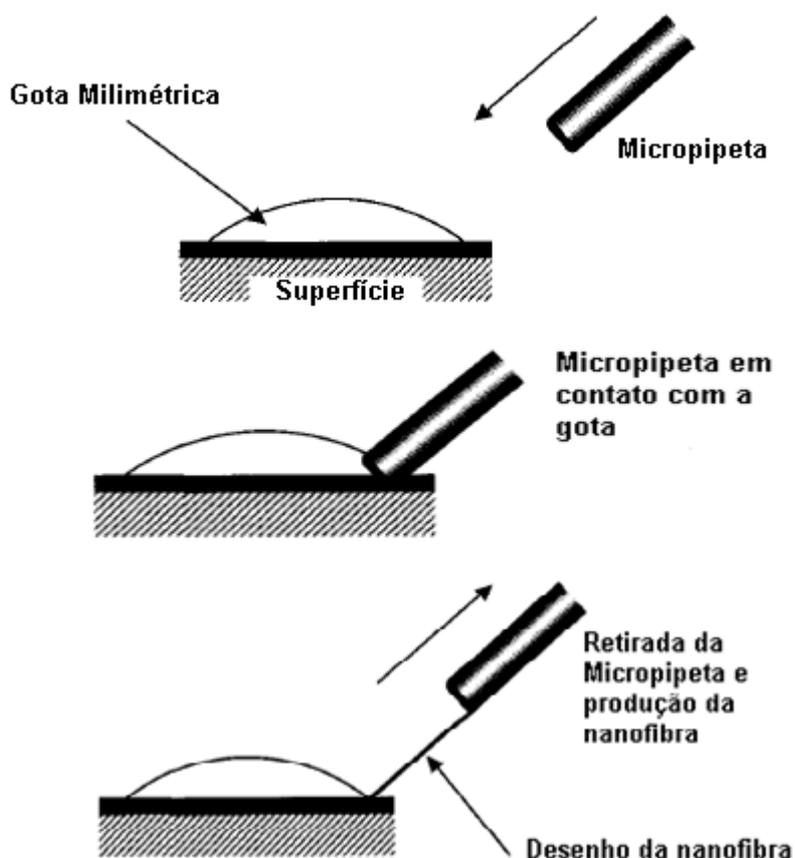


Figura 11: Obtenção de nanofibras por desenho^[28].

1.6.6.2 Modelo de Síntese

Essa técnica de baseia na utilização de um molde para obter um material ou estrutura pretendida. Para a produção de nanofibras, o modelo refere-se a uma membrana de um óxido de metal com poros em escala nanométrica. Sob a aplicação de água a uma determinada pressão, a membrana porosa provoca a extrusão do polímero que, ao entrar em contato com a solução de solidificação, dá origem a nanofibras cujos diâmetros são determinados pelos poros, Fig. 12.

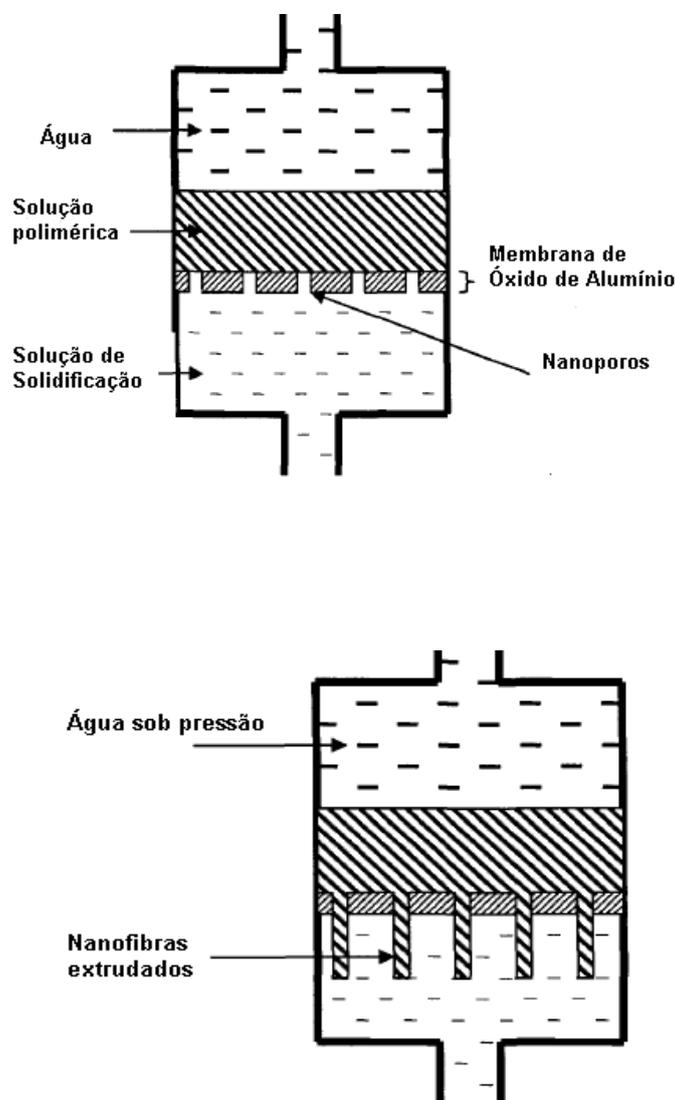


Figura 12: Obtenção de nanofibras por modelo de síntese^[28]

1.6.6.3 Separação de Fases

Na separação de fases, o polímero é primeiramente misturado com um solvente e em seguida é gelificado. O principal mecanismo deste processo é – tal como o nome sugere – a separação das fases devido à incompatibilidade física. Uma das fases, que é o solvente, é então extraída, deixando a outra fase restante. (Fig. 13)

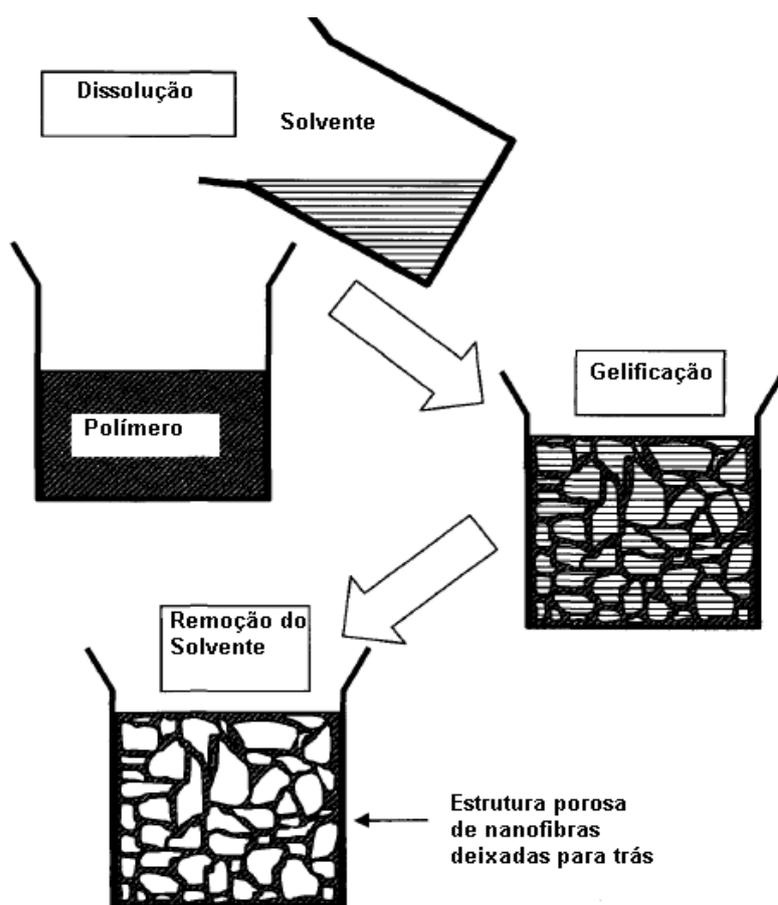


Figura 13: Esquemas genéricos de separação de fases para a obtenção de nanofibras^[28].

1.6.6.4 Auto Montagem

Em geral, a auto montagem de nanofibras referem-se à acumulação de nanoescalas utilizando pequenas moléculas como blocos básicos de construção. Nesta técnica a molécula é disposta em uma forma concêntrica

que, mediante a extensão normal ao plano dá o eixo longitudinal de uma nanofibra, Fig.14.

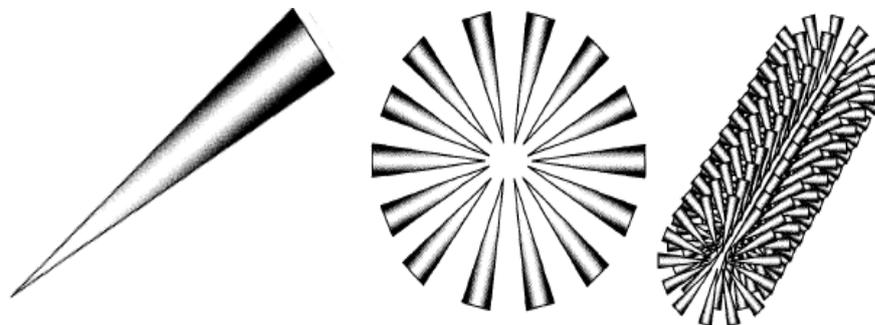


Figura 14: Exemplo de auto-montagem para a obtenção de nanofibras^[28].

É importante destacar as vantagens e desvantagens dessas diversas técnicas usadas na produção de nanofibras. No processo de desenho há uma exigência mínima de equipamentos, porém o processo de fibras é descontínuo. Na técnica de modelo de síntese as fibras de diferentes diâmetros podem ser facilmente conseguidas por modelos diferentes. A produção de fibras por separação de fases exige um equipamento mínimo. Esse processo pode fabricar diretamente a matriz de nanofibras e as propriedades mecânicas podem ser ajustadas, ajustando a concentração do polímero. Contudo, para a produção das fibras são necessários polímeros específicos. A técnica de auto-moldagem produz nanofibras mais uniformes, porém há uma complexidade no processo.

Capítulo 2

2. Procedimento Experimental

2.1 Solução polimérica

Na tabela 1 estão apresentados os dados (marca/fabricante) relativos aos reagentes utilizados na preparação da solução polimérica.

A solução polimérica para a produção das fibras foi obtida a partir da solubilização do PVP em álcool etílico, preparando uma concentração típica de 0,65 g solubilizados em 1,0 g de álcool.

Foi incorporado na solução polimérica o óxido de zinco (ZnO), variando sua concentração entre 100mg, 250mg e 500mg e, mantendo constante a concentração de PVP, 0,65g solubilizados em 1,0g de álcool etílico. Apesar de diversos aspectos interessantes do óxido de zinco, a propriedade mais importante a ser considerada no presente trabalho para ZnO é a atividade biocida em bactérias gram positivas e gram negativas. O desenvolvimento da superfície de revestimento antimicrobiano utilizando partículas de ZnO representa um processo interessante para ser considerado na otimização da atividade bactericida do material.

Tabela 1: Produtos químicos utilizados para a preparação da solução polimérica.

Nome	Fórmula Química	Marca	Massa Molecular
PVP	$(C_6H_9NO)_n$	Vetec	3.000.000
Etanol	CH_3CH_2OH	Quimis	46,07
Óxido de Zinco	ZnO	White	81,38

2.2 Produção das Nanofibras

A Fig. 15 mostra a montagem utilizada na eletrofiação das soluções poliméricas para a produção das fibras eletrofiadas.

Os principais elementos deste sistema de eletrofiação são uma fonte de alta tensão que permite aplicar tensões até 20 kV, uma seringa e um coletor metálico. A seringa contém uma solução polimérica que será fiada. Uma agulha é ajustada na ponta da seringa e a ela liga-se uma garra do tipo “jacaré” fixa à ponta do cabo que estabelece a ligação à fonte de tensão. O coletor (Fig.23) utilizado nesse trabalho para a deposição das fibras foi adaptado e consiste em duas agulhas fixadas a uma tampa de plástico com distancia de aproximadamente 3 cm.

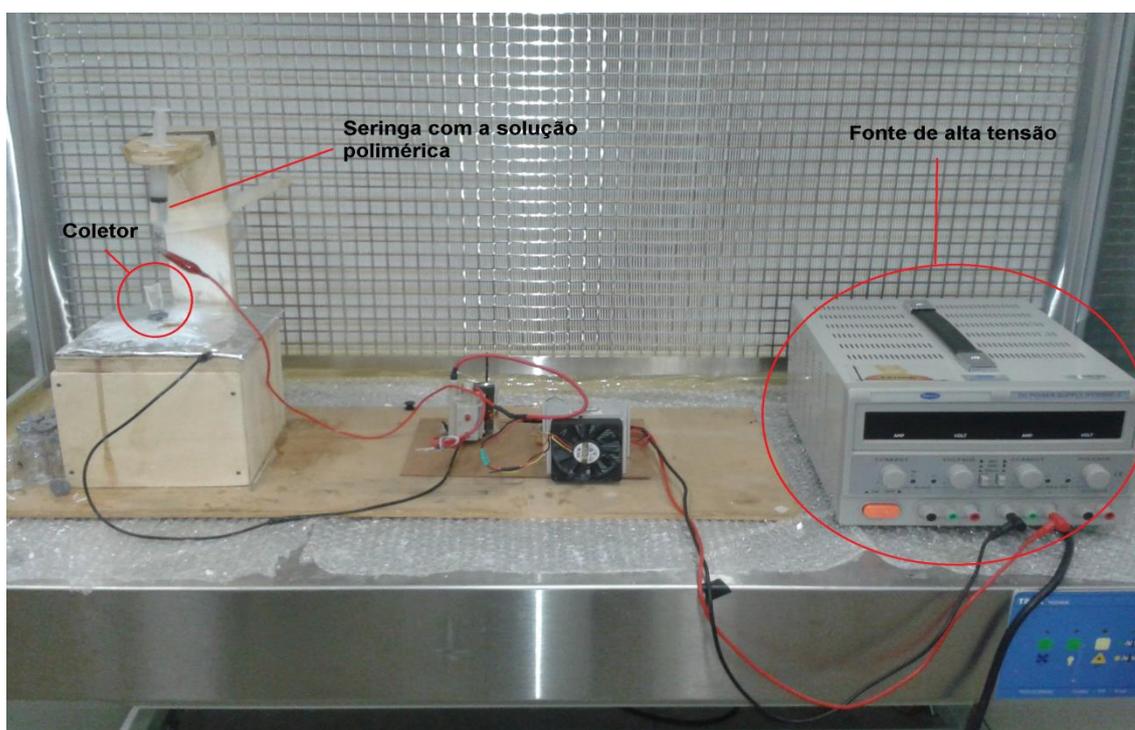


Figura 15: Equipamento de eletrofiação

O coletor ideal seria aquele suportado por um sistema que permite estabelecer um movimento rotacional e translacional, o que permite obter deposições mais uniformes.

2.3. Testes Microbiológicos

2.3.1. Análise de susceptibilidade dos isolados ao óxido de zinco

A microdiluição, baseada no documento M07-A9 ^[35], consiste na distribuição de 200 µL de caldo MH em microplacas (Fig. 16); a seguir, 200 µL da solução de óxido de zinco (a concentração de ZnO utilizada para o preparo da solução foi de 500mg) são acrescidos ao primeiro poço e, após homogeneização, transfere-se para o segundo e assim sucessivamente. A partir das diluições foram determinadas as concentrações de ZnO necessárias para a inibição das bactérias.

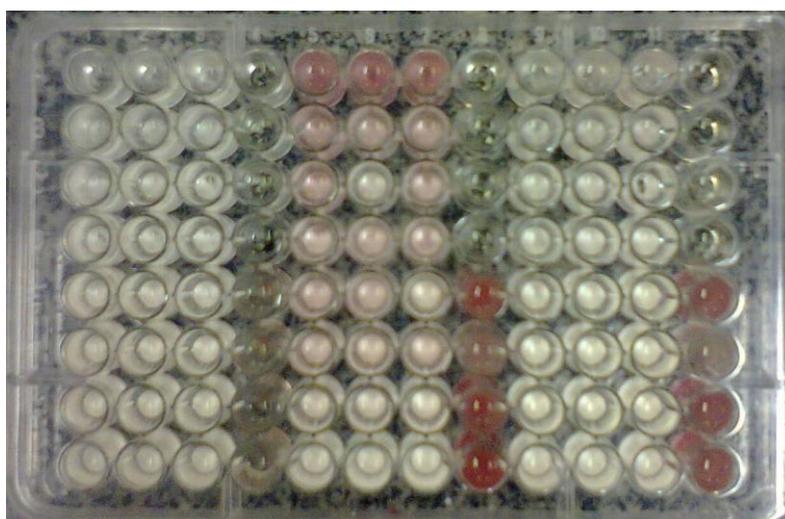


Figura 16: Determinação da Concentração Mínima Inibitória.

Os inóculos foram obtidos de infecções clínicas, sendo coletados com swab de algodão estéril. Nove diferentes microrganismos foram isolados de diferentes focos infecciosos, tabela XX. O *Staphylococcus aureus* (25923) e *Klebsiella pneumoniae* (13883) foram escolhidos para os seguintes testes por obterem maiores valores de CBM e por serem bactérias gram positivas e gram negativas, respectivamente. É importante observar que apenas uma das nove bactérias não foi susceptível ao óxido de zinco, logo não foi obtido valores de CBM. No preparo do inóculo, colônias desenvolvidas em ágar MH foram

utilizadas na obtenção de uma suspensão bacteriana com turvação equivalente a escala 0,5 de McFarland. Desta suspensão, foram inoculados 10 µL nos poços das microplacas contendo as diluições da solução de ZnO. O material, então, foi incubado a 37 °C por 24 h. De todos os poços, retirou-se uma alíquota com o auxílio de um replicador de microplacas, semeando-a na superfície de ágar MH e levando novamente à estufa por 24 horas a 37 °C. A concentração bactericida mínima (CBM) foi definida como a menor concentração de óxido de zinco em estudo capaz de causar a morte do inóculo.

Tabela 02: Concentração Mínima Inibitória de diferentes focos infecciosos

Bactéria	CBM(mg/mL)
Staphylococcus aureus ATCC 6538	500
Serratia marcescens	250
Klebsiella pneumoniae ATCC 1388	250
Methicilin-resistant S. Aureus (MRSA)	125
Bacillus cereus 11778	125
Salmonella choleraesuis	125
Escheria coli	63
Shigella flexneri	63
Enterococcus faecalis	Não Houve Atividade

2.4. Técnicas de Caracterização

2.4.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O princípio de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por linhas sucessivas e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica cuja varredura está perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente. Por um sistema de bobinas de deflexão, o feixe pode ser guiado de modo a varrer a superfície selecionada da amostra segundo uma malha retangular. A imagem resulta da interação do feixe incidente com a “superfície” da amostra. O sinal recolhido pelo detector é utilizado para modular o brilho do monitor, permitindo a observação. A maioria dos instrumentos usa como fonte de elétrons um filamento de tungstênio (W) aquecido, operando numa faixa de tensões de aceleração de 1 a 50 kV. O feixe é acelerado pela alta tensão criada entre o filamento e o anodo. Ele é, em seguida, focalizado sobre a amostra por uma série de lentes eletromagnéticas com um spot menor que 4 nm. O feixe interagindo com a amostra produz elétrons e fótons que podem ser coletadas por detectores adequados e convertidas em um sinal de vídeo. Quando o feixe primário incide na amostra, parte dos elétrons difunde-se e constitui um volume de interação cuja forma depende principalmente da tensão de aceleração e do número atômico da amostra.

A Fig. 17 mostra de uma forma resumida os componentes básicos do MEV e os passos para que se obtenha a imagem.

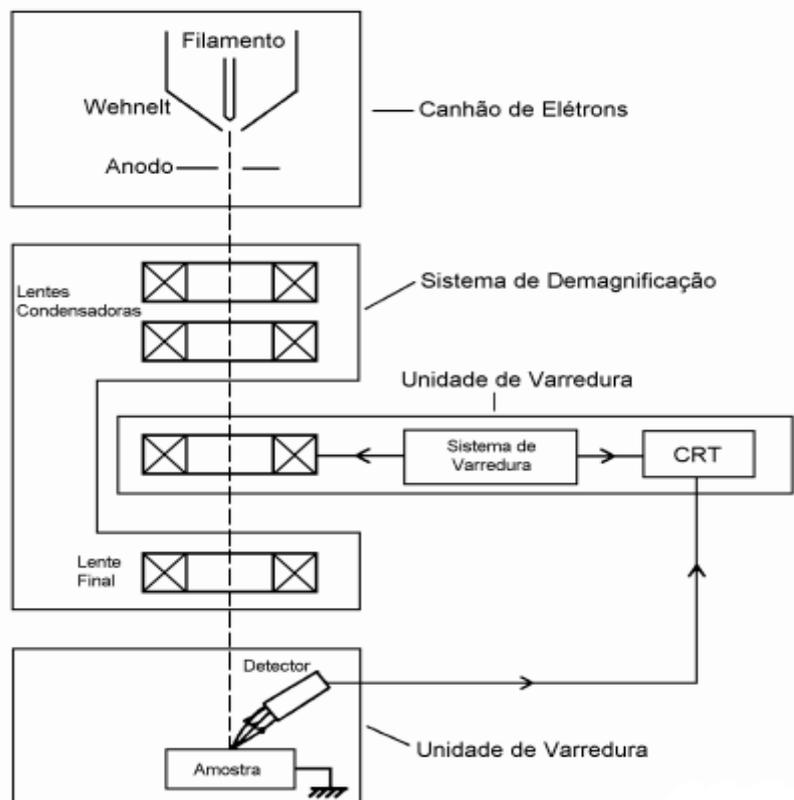


Figura 17: Representação esquemática dos componentes do microscópio eletrônico de varredura.

A imagem formada a partir do sinal captado na varredura de uma superfície pode apresentar diferentes características, uma vez que a imagem resulta da amplificação de um sinal obtido de uma interação entre o feixe eletrônico e o material da amostra. Diferentes sinais podem ser emitidos pela amostra. Dentre os sinais emitidos, os mais utilizados para obtenção da imagem são originários dos elétrons secundários e/ou dos elétrons retroespalhados^[36].

O Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Vega 3XMU, utilizado na caracterização das amostras deste trabalho é mostrado na Fig. 18.



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

2.4.2 Calorímetro de Varredura Diferencial (DSC)

Análise térmica é o termo utilizado para definir um “grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de um material e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto essa substância é submetida a um programa controlado de temperatura ^[37,38] sob uma atmosfera específica ^[39, 40].

A calorimetria exploratória diferencial (DSC, Differential Scanning Calorimetry) é definida como a “técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura ^[37]. A partir dos ensaios realizados por DSC, é possível observar fenômenos físicos e químicos decorrentes da variação de energia (ΔE) da amostra em função da razão de aquecimento (β) aplicada a mesma. Dentre os principais fenômenos físicos que podem ser detectados por DSC, pode-se citar: fusão, sublimação, vaporização,

absorção, adsorção, dessorção, transições cristalinas, transição vítrea e transição magnética. Os fenômenos químicos ocorridos na amostra em função do aquecimento também podem ser observados nas curvas DSC, como por exemplo, as reações envolvendo uma das etapas de decomposição térmica da substância. Vale ressaltar que os fenômenos evidenciados por DSC podem ou não envolver variações de massa (Δm), observadas nas curvas TG/DTG.

Duas modalidades podem ser encontradas por esta técnica, dependendo do sistema de medição utilizado: DSC com compressão de potência, e DSC com fluxo de calor. No DSC com fluxo de calor, uma única fonte de calor aquece tanto a cápsula contendo a amostra quanto a cápsula de referência, ambas localizadas sobre um disco termoelétrico. O fluxo de calor, controlado por termopares conectados na porção localizada abaixo das cápsulas, é transferido para as mesmas através do disco. Este fluxo é oferecido de modo diferenciado para as cápsulas, e esta diferença é proporcional à potência fornecida aos termopares ^[38]. No DSC, que opera com compensação de potência, as cápsulas da amostra e referências são aquecidas em diferentes compartimentos, fato que permite estabelecer condições isotérmicas para ambas. Deste modo, a potência de entrada do forno pode ser modificada para que possam anular as alterações de temperatura decorrentes de eventos exotérmicos ou endotérmicos ocorridos na amostra ^[38].

As propriedades térmicas das nanofibras foram obtidas a partir do Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC-60 Shimadzu), Fig. 19.



Figura 19: Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC-60 Shimadzu)

2.4.3 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia FTIR, Fourier Transform InfraRed (Transformada de Fourier Infravermelho), é o método de espectroscopia infravermelho mais utilizado. A elevada sensibilidade e resolução, como a rapidez de registro apresentam-se como as grandes vantagens do FTIR, sendo as desvantagens lideradas pela complexidade dos instrumentos e seu elevado custo. Este método é baseado na interferência da radiação entre dois feixes resultando um interferograma. Um interferograma é o registro do sinal produzido pela combinação das múltiplas frequências possíveis de obter com a transformada de Fourier. A conversão do interferograma para espectro é conseguida pelo tratamento matemático com transformadas de Fourier^[41].

1. A fonte: a energia infravermelha é emitida por uma fonte de corpo negro. Este feixe passa através de uma abertura que controla a quantidade de energia que chega na amostra (e, conseqüentemente, ao detector).

2. O interferômetro: o feixe entra no interferômetro onde é feita a “codificação espectral”, e o sinal resultante do interferograma sai do interferômetro.
3. A amostra: O feixe entra no compartimento da amostra que é atravessada pelo feixe ou o reflecte, dependendo do tipo de análise a ser feita. É aqui que frequências específicas de energia, características de cada amostra, são absorvidas.
4. O detector: O feixe passa finalmente para o detector para uma medição final. Os detectores utilizados são apropriados para medir o sinal especial do interferograma.
5. O computador: o sinal medido é digitalizado e enviado para o computador onde a transformada de *Fourier* é feita.
6. O espectro infravermelho final é então apresentado ao utilizador para interpretação e posterior manipulação.

A Fig. 20 resume os passos citados acima.

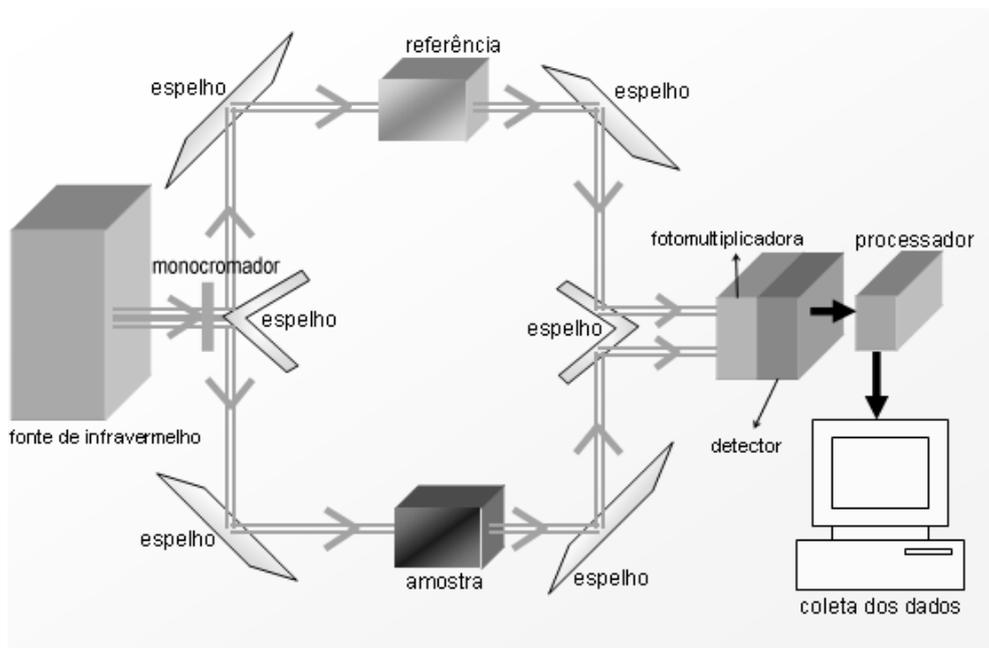


Figura 20: Representação esquemática dos componentes do FTIR

As principais vantagens da espectroscopia FTIR são:

- O instrumento apresenta poucos elementos ópticos e não necessita de fenda (vantagem de Jacquinot). A potência da radiação que chega ao detector é maior do que nos instrumentos dispersivos e maior relação sinal/ruído é observada.
- Melhores precisão e exatidão em termos do comprimento de onda.
- Todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente (vantagem de Fellgett ou multiplex). Essa característica torna possível a obtenção de todo o espectro de uma só vez e, com essa economia de tempo, é possível aumentar o número de varreduras (“scans”) para aumentar a razão sinal/ruído ^[42].

O FTIR (IR Prestige-21 infravermelho com transformada de Fourier espectrômetro Shimadzu) utilizado no experimento para a obtenção do espectro é mostrado na Fig. 21.



Figura 21: Espectrômetro de Infravermelho de Transformada de Fourie.

3. Resultados e Discussão

3.1. Obtenção dos Inóculos bacterianos

Para a execução do método de microdiluição em placa, foram separadas algumas placas esterilizadas, com o meio de cultura, para que não houvesse nenhum tipo de contaminação em nosso sistema e nenhum resultado fosse alterado. Em seguida, com a ajuda de uma pinça, também esterilizada, depositou-se as fibras sobre as bactérias na placa de petri. Após a realização do método da microdiluição em placa, valores de CBM de 250 mg/mL foram observados para *K. pneumoniae* e para a cepa *S. aureus* foi observado o correspondente valor de 500 mg/mL. Mediante esses valores de CBM, foram utilizadas para a obtenção dos inóculos fibras com 500mg de ZnO. Todo o poder bactericida está concentrado no óxido de zinco, sendo a fibra de PVP o veículo transportador do óxido ao local de interesse. Com base nessa afirmação fibras de PVP foram usados como controle e, como esperado, não foi observado efeito antimicrobiano, ou seja, nenhum halo de inibição foi observado. (Fig. 22).

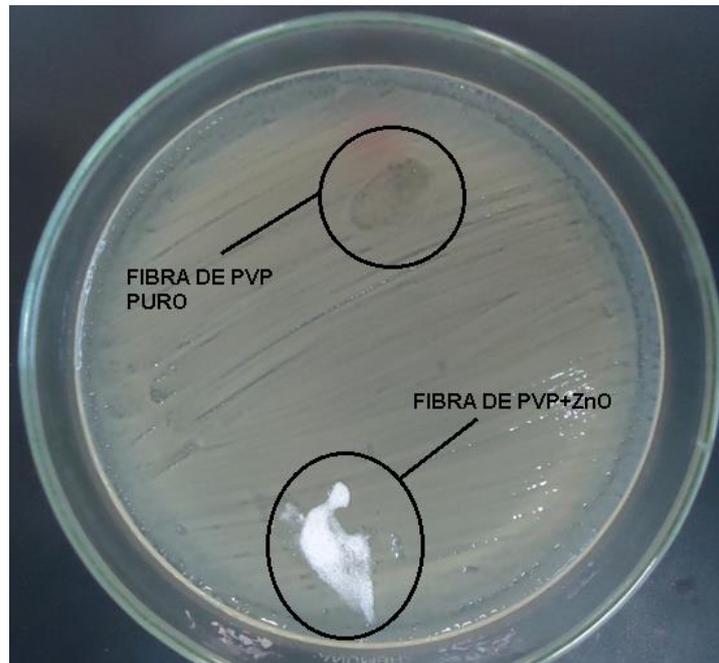


Figura 22: Placa de Petri contendo fibras de PVP puro e fibras de PVP com óxido de zinco sem halo e com halo de inibição, respectivamente.

Como observado na Fig. 28, na região onde foram depositadas as fibras de PVP puro não foi identificado nenhum halo que inibisse o crescimento das bactérias, comprovando que o PVP puro não tem poder bactericida. Contrariamente, na região em que foram colocadas as fibras de PVP+ZnO não houve crescimento microbiano, comprovando o elevado poder bactericida das nanofibras dopadas com óxido de zinco. A figura 29 mostra os halos de inibição nas bactérias estudadas durante o desenvolvimento desse trabalho.

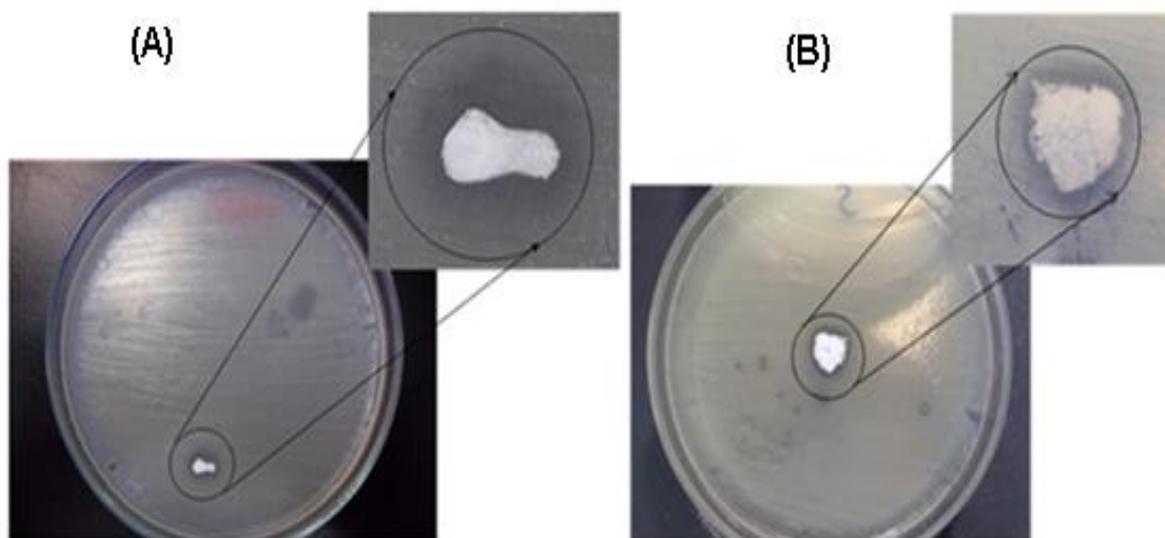


Figura 23: Imagens do efeito bactericida de fibras de PVP/ZnO contra *Staphylococcus aureus* (A) e *Klebsiella pneumoniae* (B).

Como é possível observar na Fig. 29 (A), há a formação de halos, de inibição de crescimento para *Staphylococcus aureus*, o que prova que há atividade antimicrobiana por parte do óxido de zinco presente na nanofibra, na concentração de 500mg. Em (B) o halo de inibição de crescimento da *Klebsiella pneumoniae* explica a atividade antibacteriana identificada na concentração de 250mg de ZnO. Pode-se medir também o tamanho da zona de inibição, os resultados foram satisfatórios, ambos os halos mediram 10 mm.

3.2. Solução polimérica e nanofibras produzidas por eletrofição

Com o objetivo de produzir um material que exercesse a função de transportar agentes antibactericida a um alvo determinado, a polivinilpirrolidona foi escolhida como polímero base para a produção desse veículo, ou seja, das fibras eletrofiadas.

Considerando que a viscosidade da solução é um parâmetro crucial para a produção das fibras, determinou-se então, após alguns testes, a concentração ideal para sua formação, 0,65 g de PVP solubilizados em 1,0 g de álcool.

As fibras eletrofiadas foram produzidas por um “electrospinning” desenvolvido em nosso laboratório a partir dos seguintes equipamentos (Fig.24).

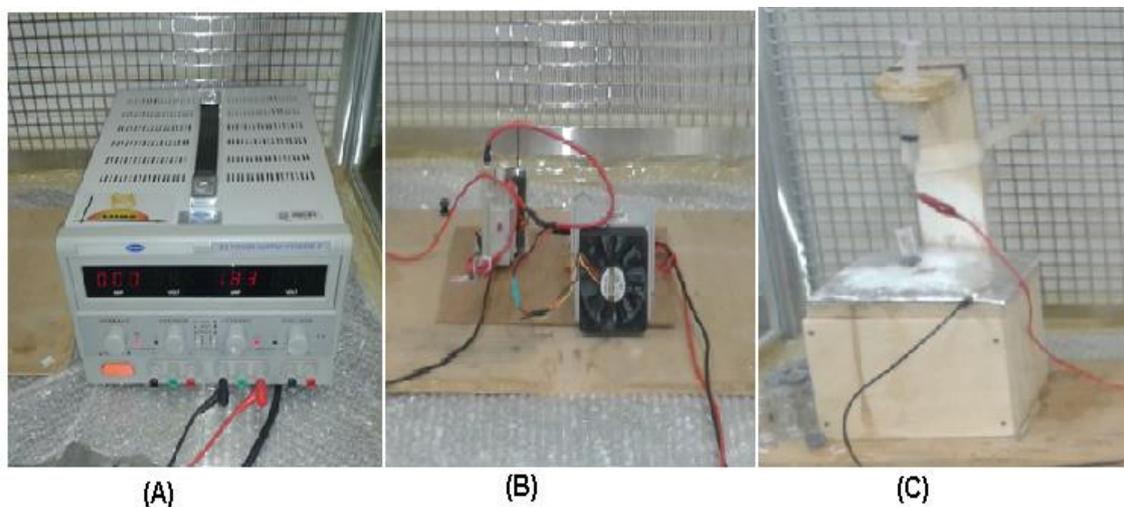


Figura 24: Equipamentos que compõe a técnica de eletrofiação

Na Fig. 24 (A) é observada a fonte de alta tensão. (B) Conexão da fonte com a seringa através de um “fly-back”. Equipamento utilizado em televisores como transformador de alta tensão. (C) Seringa e coletor.

As fibras eletrofiadas podem ser observadas no coletor mostrado na Fig. 25.



Figura 25: Coletor contendo fibras de PVP/ZnO

Como já foi mencionado no Cap.1, a tensão superficial da solução é um fator crucial na produção das fibras. Diante disso a variação do óxido de zinco na solução (100mg, 250mg e 500mg) afetou o tempo de formação das fibras e a quantidade de fibras produzidas, pois quanto maior a concentração de óxido de zinco maior o tempo gasto para a produção e menor a quantidade de fibras formadas.

Outro fator importante na formação das fibras é a pressão de vapor do solvente, quanto maior a pressão de vapor maior a formação das fibras. Sendo o PVP solúvel em água e álcool, o solvente foi escolhido baseado em sua pressão de vapor, o álcool. Durante a trajetória do jato, na formação das fibras, o solvente é evaporado e o polímero solidificado. Com uma evaporação mais rápida do solvente, o tempo de formação das fibras será menor e menos solução será gasta no processo.

O material resultante após a eletrofição da solução foi analisado a partir de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV Vega 3XMU), curvas Calorímetro Diferencial de Varredura (DSC-60 Shimadzu) e FTIR (IR Prestige-21 infravermelho com transformada de Fourier espectrômetro Shimadzu). Todos esses testes de caracterização foram realizados nos Laboratórios de Espectroscopia de Impedância de Materiais Orgânicos – LEIMO, na Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF.

3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a caracterização da morfologia e tamanho das nanofibras utilizou-se o MEV modelo Vega 3XMU. As imagens da Microscopia Eletrônica de Varredura (Fig. 24) revelam que as fibras sintetizadas têm diâmetro na ordem dos 500 nm e as partículas de óxido de zinco estão distribuídos nas fibras de PVP com baixo grau de agregação o que aumenta a atividade bactericida dos nanocompósitos resultantes. Como esperado, o aumento da concentração de partículas por fibra é verificada com o aumento da concentração relativa de nanopartículas do óxido de metal na solução polimérica. Apesar da melhoria na concentração de nanopartículas por fibra, a densidade das fibras sintetizadas tende a ser afetada por um aumento na densidade da solução polimérica com a

redução do rendimento de produção de fibras. A influência do ZnO sobre a distribuição das nanopartículas por fibra pode ser visto na Fig. 25.

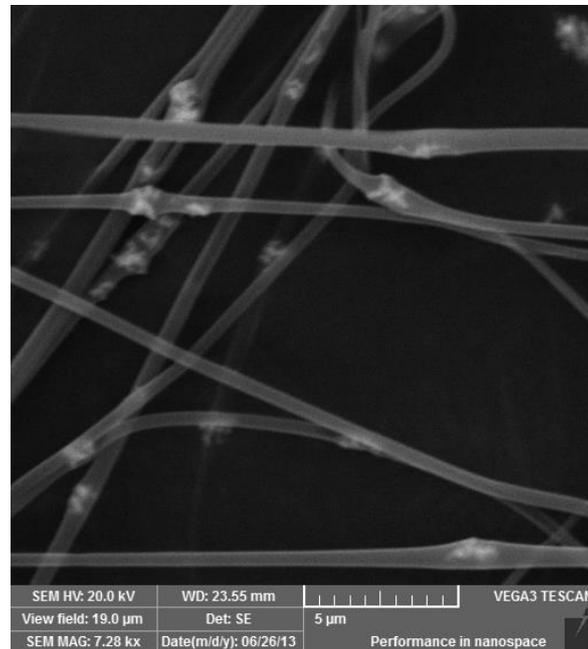


Figura 26: Disposição do ZnO agregados nos núcleos de nanofibras.

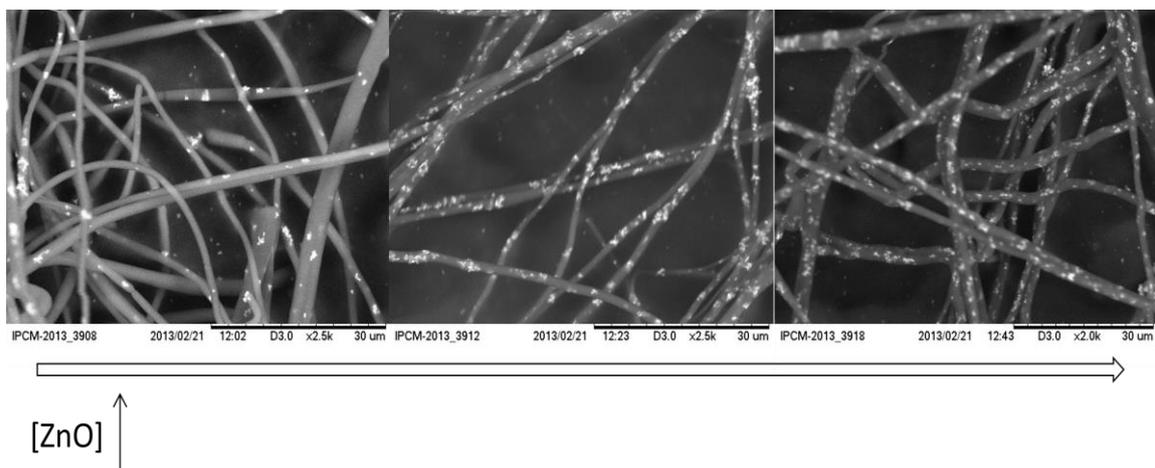


Figura 27: Comparação entre a densidade das fibras em função da concentração relativa de ZnO de 0,05 g / mL a 0,13 g / mL.

As imagens ainda revelam claramente a distribuição do óxido de zinco nas fibras, e que o aumento da concentração de ZnO na solução polimérica não afetou a morfologia das fibras.

A atividade bactericida das fibras acontece a partir da saída do óxido de zinco das fibras. Esse mecanismo de difusão acontece a partir da solubilização das nanofibras.

3.4. Espectros FTIR

Os espectros FTIR de PVP e do ZnO puro e PVP / ZnO são comparados na Fig. 26. Picos característicos de C = C, NC e C = O e vibrações de alongamento podem ser vistos no espectro de PVP puro a 1440 cm^{-1} de 1291 cm^{-1} e 1656 cm^{-1} , respectivamente ^[43]. O espectro de ZnO é caracterizado por uma banda larga intensa entre 400 e 750 cm^{-1} atribuído ao modo de vibração de Zn-O (Fig.26). O espectro resultante de PVP / ZnO composto apresenta picos típicos de ZnO puro e um deslocamento no pico do grupo carbonila de 1656 cm^{-1} - 1647 cm^{-1} , como previamente relatado^[43], o que caracteriza a interação entre as partículas de óxido de zinco e do grupo carbonila do PVP.

Este resultado nos trás um forte indício de que a interação molecular estabelecido entre as moléculas de PVP e nanopartículas de ZnO contribui com agregação mínima de partículas e de otimização da atividade bactericida de redes híbridas.

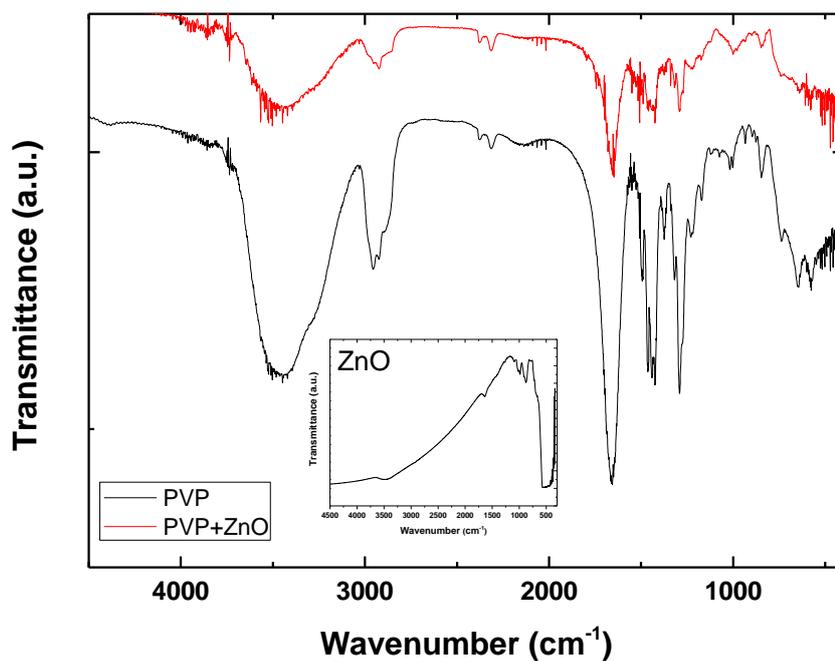


Figura 28: Espectro de FTIR do PVP e fibras PVP / ZnO e pó de ZnO (inserção).

3.5. Propriedades Térmicas

As curvas DSC (como mostrado na fig. 27) indicam que a temperatura de fusão do PVP puro diminui de 96.40°C a 73.60°C (fibras de PVP / ZnO). Estes resultados indicam que a incorporação gradual de óxido de zinco na fibra de PVP afeta a estrutura do líquido resultante, em consequência da forte interação entre os componentes de redes híbridas. A dependência de temperatura de fusão com a concentração de óxido de zinco reflete as alterações na estrutura de fibras com alta concentração de nanopartículas. Neste caso, a redução do diâmetro das fibras está relacionada com o elevado grau de agregação das nanopartículas.

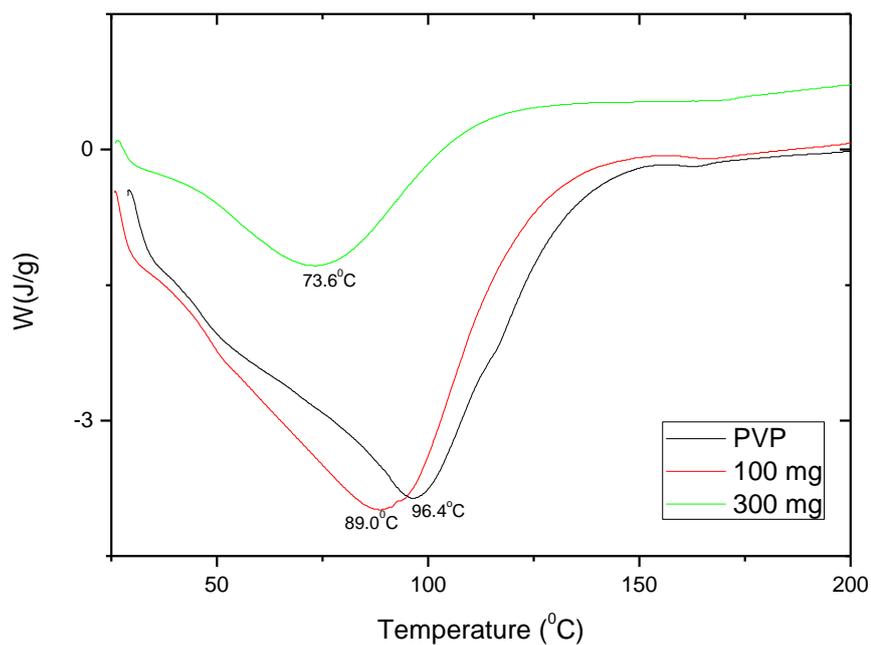


Figura 29: Curvas DSC de PVP puro e fibras de PVP + ZnO em diferentes concentração.

A entalpia de fusão das fibras é afetada a partir da concentração de óxido de zinco. A partir do deslocamento das curvas é observado que quanto maior a concentração de ZnO menor será a entalpia de fusão das fibras.

Conclusão e Perspectivas Futuras

Neste trabalho foi possível produzir matrizes de nanofibras, através do processo de eletrofiação, de uma forma simples e com baixo custo associado. Foram fiadas três soluções poliméricas com diferentes proporções de ZnO (100mg, 250 mg e 500mg) e mantendo a concentração constante de PVP.

O estudo da morfologia das fibras foi realizado por Microscopia Eletrônica de Varredura. O MEV demonstrou o bom nível de encapsulamento do óxido de zinco, o que permite a potencial aplicação do sistema como agente bactericida. As imagens também revelaram que o óxido metálico encontrava-se disperso pelas nanofibras. Os resultados de FTIR e DSC mostraram que a interação entre as componentes das fibras é razoável, dados os deslocamentos nos picos característicos na região do infravermelho e também no deslocamento da temperatura crítica de fusão das fibras.

Os testes microbiológicos permitiram que se desenvolvessem conhecimentos na área microbiológica. Para testar a ação biocida das matrizes de nanofibras com ZnO sobre diferentes microrganismos (bactérias) realizaram-se testes de Concentração Mínima Inibitória (MIC) e Concentração Bactericida Mínima (CBM). Valores de CBM de 250 mg/mL foram observados para *K. pneumoniae*. O correspondente valor para a cepa *S. aureus* foi de 500 mg/mL. As fibras decoradas com partículas de óxido de zinco demonstraram ampla atividade antibacteriana para microrganismos Gram-positivos como para Gram-negativos.

Em conclusão, verificou-se que a produção de nanocompósitos através da eletrofiação da solução polimérica de PVP com a incorporação do óxido de zinco representa um material promissor no combate as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae*.

De forma a melhorar este trabalho, observa-se que a agregação mínima de partículas otimiza a aplicação do material resultante como um filtro contra

colônia de bactérias. A minimização da solubilidade das fibras em solução aquosa, com a inclusão de aditivos, tais como a quitosana é um passo importante, a fim de otimizar a ação prolongada das fibras contra as bactérias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ROSSI, F.. The challenges of antimicrobial resistance in Brazil. *Clinical Infectious Disease*, v. 52, n. 9, p. 1138-1143, 2011.
- [2] GISKE, C. G.; MONNET, D. L.; CARS, O.; CARMELI, Y.. Clinical and Economic Impact of Common Multidrug-Resistant Gram Negative Bacilli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v.52, n. 3, p. 813-821, 2008.
- [3] TOUFEN JR, C.; HOVANIAN, A. L. D.; FRANCA, S. A.; CARVALHO, C. R. R.. Prevalence rates of infection in intensive care units of a tertiary teaching hospital. *Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo*, v.58, n.5, p.254-259, 2003.
- [4] SADER, H.; GALES, A. C.. Treatment of severe infections in the era of high rates of antimicrobial resistance. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 5, n. 4, p. 200-214, 2008.
- [5] Rice LB. The clinical consequences of antimicrobial resistance. *Current Opinion in Microbiology*, v.12, n.5, p. 476–481, 2009.
- [6] ZARBIN, Aldo J. G. Química de (nano)materiais. *Química nova*, V. 30, n. 6, p. 1469-1479, 2007.
- [7] MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.; PFALLER, M.A. *Microbiologia Médica*. Elsevier, 2009.
- [8] PRESCOTT, Lansing M., H. and Klein. (2002). *Microbiology*. McGraw-Hill.
- [9] Black, J. G. (2008). *Microbiology : principles and explorations*. John Wiley and Sons, Inc.
- [10] Kaiser, Fritz H., e. a. (2005). *Medical Microbiology*. Thieme.

[11] JAWETZ, E.; MELNICK, L.; ADELBERG, A.; BROOKS, G. F; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A. - Microbiologia Médica. 21. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

[12] TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. - Microbiologia. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.

[13] TRABULSI, R.; ALTERTHUM; GOMPERTZ, F.; CANDEIAS, N. - Microbiologia. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p.149-153.

[14] Centers for Disease Control and Prevention. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2003, issued August 2003. *Am J Infect Control*. 2003;31:481-498.

[15] PODSCHUM, R.; ULLMANN, U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin. Microbiol. Rev.*, n.11, p.589-603, 1998.

[16] DESIMONI, M.C., ESQUIVEL, G.P., MERINO, L.A. Fecal colonization by extended-spectrum betalactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *Enferm Infec Microbiol Clin*. v.22, n.9, p.507-11, 2004.

[17] LANDMAM, D.; BRATU, S.; KOCHAR, S.; PANWAR, M.; TREHAN, M.; DOYMAZ, M., J.. Evolution of antimicrobial resistance among *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumanii* and *Klebsiella pneumoniae* in Brooklyn, NY. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 60, n.5, p. 78-82, 2007.

[18] WANG, Z. L., 2004, "Zinc oxide nanostructures: growth, properties and applications." *Journal of Physics-Condensed Matter*, v.16, n.25, pp.R829-R858.

[19] VANDEPOL, F. C. M., 1990, "Thin-Film ZnO - Properties and Applications." *American Ceramic Society Bulletin*, v.69, n.12, pp.1959-1965.

[20] ZHANG, Lingling et al., Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against E. coli. *Journal of Nanoparticle Research*, n. 12, p. 1625–1636, 2010.

[21] AMORNPIKOKSUK, P. et al. Synthesis, photocatalytic and antibacterial activities of ZnO particles modified by diblock copolymer. *Powder Technology*, n. 212, p. 432–438, 2011.

[22] Mano, E. B.; Mendes, L. C. – “Introdução a Polímeros”. 2ª edição. Edgard Blucher, 2004.

[23] De Paoli, M. A.; “Degradação e Estabilização de Polímeros”. 2ª edição. Chemkeys, 2008.

[24] Callister Jr., W.D., *Ciência e Engenharia dos Materiais, uma Introdução*, 7ª Edição, Ed. Guanabara, 2008.

[25] Haaf, F., Sanner, A., and Straub, F. (1984). Polymers of nvinylpyrrolidone: Synthesis, characterization and uses. *Polymer journal*, 17:143–152.

[26] Yordem, O. S.; Papila, M.; Menciloglu, Y. Z. – *Materials & Design*, 29, p. 34-44 (2008).

[27] Reneker, D. H.; Chun, I. – *nanotechnology* 7, p. 216-223 (1996).

[28] Ramakrishna, S.; Fujihara, K.; Teo, W.; Lim, T.; Ma, Z. – “An Introduction to Electropinning and Nanofibers”. National University of Singapore, 2005.

[29] A. Formhals, US 1,975,504, 1934.

[29] Garg, K.; Bowlin, G. L. – *Biomicrofluidics* 5, p. 013403 (2011).

[30] Doshi, J.; Reneker, D. H.; - *Journal of Electrostatics*, 35, p. 151 – 160 (1995).

[31] Costa, L. M. M.; Bretas, R. E. S.; Filho, R. G.; - “Caracterização de Filmes de PVDF- β Obtidos por Diferentes Técnicas”. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Paulo, 2009.

[32] Ziabicki, A.; Wiley, J.; London, S.; - Fundamentals of Fibers Formation, p. 72 (1976).

[33] Yao, L.; Haas, T. W.; Guiseppi-Elie, A.; Bowlin, G. L.; Simpson, D. G.; Wnek, G. E.; - Chem. Mater, 15, p. 1860-1864 (2003).

[34] Wang, C.; Cheng, Y.; Hsu, C.; Chien, H.; Tsou, S.; - J. Polym Res. p. 18:111-123 (2010).

[35] CLSI M7-A9, 2012. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically.

[36] Dedavid, B. A.; Gomes, C. I.; Machado, G. – “Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicação e preparação de amostras. Edipucrs, 2007.

[37] IONASHIRO, M. A.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. Cerâmica, v.26, n. 121, p. 17-24. 1980.

[38] WENDLANDT, W.W. Thermal analysis. 3.ed. New York: Willey, 1986.814p.

[39] HAINES, P.J. Thermal methods of analysis: principles, application and problems. London: Chapman & Hall, 1995.286p.

[40] MATOS, J.R.; MERCURI, L.P.; ARAUJO, G.L.B. Aspectos gerais relativos ao desenvolvimento farmacotécnico de medicamento: análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.p.32-65.

[41] STUART, Barbara. (2007) *Analytical Techniques in Materials Conservation*. John Wiley & Sons.

[42] CRUZ, António João (2000). A matéria de que é feita a cor. Os pigmentos utilizados em pintura e a sua identificação e caracterização, *1.os Encontros de Conservação e Restauro - Tecnologias*.

[43] Z. Zhang, C. Shao, F. Gao, X. Li, Y. Liu, Enhanced ultraviolet emission from highly dispersed ZnO quantum dots embedded in poly(vinyl pyrrolidone) electrospun nanofibers, *Journal of Colloid and Interface Science* 347 (2010) 215-220.

Apêndice A

Anexo

A.1 TABELA DE POLÍMEROS USADOS NA PRODUÇÃO DE NANOFIBRAS

A.1.1 Polímeros sintéticos não biodegradáveis

Synthetic Polymer	Solvent	Concentration
Nylon 4,6	Formic acid	10wt%
Nylon 6 Mw 43,300	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	15wt%
Nylon 6,6	96% Formic acid	12,1wt%
Nylon 12 Mw, 32,000	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	15wt%
Polyacrylic acid, Mw: 250000	Ethanol	6wt%
Polyacrylonitrile, Mv 114,000g/mol	Dimethylformamide	15wt%
Polyamide-6, Mw: 17000	85% v/v formic acid	34wt%
Polyamide-6, Mw: 20000	85% v/v formic acid	34wt%
Polyamide-6, Mw: 32000	85% v/v formic acid	22wt%
Poly(benzimidazol), PBI	Dimethyl acetanilide, 185°C	20wt%
Polycarbonate	Dichloromethane	15wt%
Polycarbonate, Bisphenol-A	Chloroform	15wt%
	Dimethyl Formamide: Tetrahydrofuran	15wt%
Poly(etherimide), PEI	1, 1, 2 - Trichloroethane	14wt%
Poly(ethylene oxide) Mw 400,000	Water	10wt%
Poly(ethylene terephthalate), Intrinsic viscosity: 0,82+0,02	Trifluoroacetic acid	0,2g/ml

Synthetic Polymer	Solvent	Concentration
Polystyrene	t-Butylacetate	20% (w/v)
	Chlorobenzene	30% (w/v)
	Chloroform	30% (w/v)
	Dichloroethane	30% (w/v)
	Dimethylformamide	30% (w/v)
	Ethylacetate	20% (w/v)
	Methylethylketone	20% - 30% (w/v)
	Tetrahydrofuran	20% (w/v)
Poly(styrene-butadiene-styrene) triblock copolymer, Mw 151,000 g/mol	75% Tetrahydrofuran: 25% dimethylformamide	14wt%
Polysulfone, Bisphenol-A. Inherent Viscosity: 0,6dl/g	90% N,N – dimehtylacetamide: 10% acetone	15%(w/v) – 20%
Poly(trimethylene terephthalate) Inherent Viscosity = 0,92	50% Trifluoroacetic acid 50% Methylene Chloride	16wt%
Poly(urethane)	60% Tetrahydrofuran: 40% N, N - Dimethylformamide	13wt%
Poly(urethane urea)s Mw 42,000	20% THF: 80% Isopropyl alcohol	35wt%
Poly(vinyl alcohol) Mw 13,000-50,000	Water at 80°C	25wt%
Poly(vinyl carbazole)	Dicholoromethane	7,5wt%
Poly(vinil chloride), PVC	60% Tetrahydrofuran: 40% N,N - Dimethylformamide	13wt%
75% Poly(vinyl chloride) 25% Poly(urethane) blend	60% Tetrahydrofuran: 40% N,N - Dimethylformamide	13wt%

Synthetic Polymer	Solvent	Concentration
50% Poly(vinyl chloride) 50% Poly(urethane) blend	60% Tetrahydrofuran: 40% N, N - Dimethylformamide	13wt%
25% Poly(vinyl chloride) 75% Poly(urethane) blend	60% Tetrahydrofuran: 40% N, N - Dimethylformamide	13wt%
Poly(ninyl pyrrolidone)	Ethanol	4wt%
	65% ethanol: 35% DMF	4wt%
Poly(vinylidene fluoride). PVDF	N,N - Dimethylacetamide	25wt%
Poly(vinylidene fluoride – co- hexafluoropropylene, P(VDF-HFP)	70% Acetone: 30% DMAC	12-18 wt%

A.1.2 Polímeros Biodegradáveis

Biodegradable Polymer	Solvent	Concentration
Degradable Polyesterurethane, DegraPol	Chloroform	30wt%
Poly(e – caprolactone) Mw 80,000	Chloroform	10wt%
Poly(e – caprolactone) Mw 80,000	85% N,N – dimethylformamide: 15% Methylene Chloride	7-9 wt%
Polydioxanone	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	42-167g/ml
Polyglycolide Mw 14,000-20,000	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	8wt%
Poly(L- lactic acid) Mw 300,000	70% Dichloromethane: 30% n,n – dimethyl - formamide	2-5 wt%
Poly(L-lactic acid) MW 450,000	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	5wt%
Poly(L-lactide-co-e-caprolactone) [75:25] Block copolymer	Acetone	3-9wt%
Poly(D,L-lactide-co-glycolide) [85:15, PLGA]	50% Tetrahydrofuran: 50% Dimethylformamide	0,05g/mlwt%
Poly(L-lactide-co-glycolide) [10:90, PLGA] Mw 100,000	Hexafluoroisopropanol	5-7wt%
Poly(lactic-co-glycolic acid) [50:50, PLGA] Mw 25,000	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	15wt%
Poly(L-lactic-co-glycolic acid) [50:50, PLGA] Mw 108,000	Chloroform	15%

A.1.3 Polímeros Naturais

Natural Polymer	Solvent	Concentration
Bombyx mori silk fibroin	Formic acid	9-12wt%
80% Bombyx mori silk fibroin: 20% Poly(ethylene oxide), Mw, 900000g/mol	Water	7,1wt%
20% Casein: 80% Poly(ethylene oxide) Mw 600,000	5% aqueous triethanolamine	5wt%
80% Casein: 20% Poly(ethylene oxide) Mw 600,000	5% aqueous triethanolamine	10wt%
30% Casein: 70% Poly(vinyl alcohol) Mw 124,000-186,000	5% aqueous triethanolamine	10wt%
Cellulose Acetate	N, N – dimethylacetamide: Acetone [1:2]	15wt%
	85% acetone: 15% water	17wt%
Chitosan Mv 210,000, degree of deacetylation 0,78	70% Trifluoroacetic acid 30% Methylene Chloride	8wt%
50% Chitosan with 90% degree of deacetylation: 50% poly(ethylene Oxide), 1500 kDa to 4000 kDa	2wt% acetic acid	6wt%
Collagen Type I	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	0,083g/ml
Collagen Type II	hexafluoro-propanol	Not indicated
Collagen Type III	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	0,04 g/ml
50% Collagen Type I: 50% Collagen Type III	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro-2-propanol	0,06g/ml

Natural Polymer	Solvent	Concentration
Fibrinogen Fraction I	90% 1,1,1,3,3,3 hexafluoro-2-propanol: 10% 10x minimal essential medium, Earle's without L- glutamine and sodium bicarbonat	0,083g/ml
Gelatin Type A	2,2,2 - trifluorethanol	10-12,5wt%
50% Gelatin Type A: 50% Poly(caprolactone)	2,2,2 - trifluorethanol	10wt%
Wheat Gluten	1, 1, 1, 3, 3, 3 hexafluoro- 2-propanol	10%(w/v)

Trabalhos Apresentados em Congressos

SILVA JÚNIOR, F. A. G. ; LIBÓRIO, R. C ; COSTA, M. M. ; OLIVEIRA, H. P.
Produção de Nanofibras com Ação Bactericida. XXXI Encontro de Física do Norte e Nordeste, 2013.

SILVA JÚNIOR, F. A. G. ; LIBÓRIO, R. C ; COSTA, M. M. ; OLIVEIRA, H. P.
Preparação de Nanofibras Poliméricas da PVP e ZnO. XXXI Encontro de Física do Norte e Nordeste, 2013.

SILVA JÚNIOR, F. A. G. ; LIBORIO, R. C. ; COSTA, M. M. ; OLIVEIRA, H. P.
Produção de Nanofibras de Baixo Custo. I Workshop Sobre Convivência com a Seca, 2013.

MAGALHAES, T. ; LIBORIO, R. C. ; **SILVA JÚNIOR, F. A. G.** ; OLIVEIRA, H. P. ; COSTA, M. M. Antibacterial Activity of Zinc Oxide. ICOPHAI - International Congress on Pathogens at the Human-Animal Interface, 2013, Porto de Galinhas - Pe. Annals of II ICOPHAI, 2013.

Artigo Publicado

SILVA JÚNIOR, F. A. G. ; LIBORIO, R. C. ; COSTA, M. M. ; OLIVEIRA, H. P.
Bactericidal activity of zinc oxide particles embedded in poly (vinyl pyrrolidone) electrospun fibers. Fibers and polymers (springer), 2013.