

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

YSLAINE ANDRADE DE ALMEIDA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS DE POLIPIRROL/POLISSACARÍDEOS NATURAIS PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLYPIRROL POLYMERIC NANOCOMPOSITES / NATURAL POLYSACARIDES FOR APPLICATION AS A BIOMATERIAL





YSLAINE ANDRADE DE ALMEIDA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOCOMPÓSITOS POLIMÉRICOS DE POLIPIRROL/POLISSACARÍDEOS NATURAIS PARA APLICAÇÃO COMO BIOMATERIAL

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof.^ª Dr.^ª Iara de Fatima Gimenez

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF POLYPIRROL POLYMERIC NANOCOMPOSITES / NATURAL POLYSACARIDES FOR APPLICATION AS A BIOMATERIAL

Master dissertation presented to the Graduate Program in Chemistry of the Federal University of Sergipe to obtain MSc. in Chemistry.



FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Almeida, Yslaine Andrade de Síntese e caracterização de nanocompósitos poliméricos de polipirrol/polissacarídeos naturais para aplicação como biomaterial / Yslaine Andrade de Almeida ; orientadora lara de Fátima Gimenez. - São Cristóvão, 2020. 140 f. : il.
Dissertação (mestrado Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2020.
1. Química. 2. Polissacarídeos. 3. Materiais biomédicos. 4. Nanocompósitos (Materiais). 5. Polímero. I. Gimenez, Iara de Fátima, orient. II. Título.

CDU 547.458



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE Programa de Pós-Graduação em Química PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Yslaine Andrade de Almeida apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 19/02/2020.

Farap. Crimenez

Prof. ^a Dr. ^a lara de Fátima Gimenez Departamento de Química - UFS

Prof. Dr. Victor/Hugo Vitorino Sarmento Departamento de Química do Campus de Itabaiana- UFS

Dr.ª Cristiane da Cynha Nascimento

Instituto Federal de Sergipe

RESUMO

A busca de novos biomateriais vem crescendo continuamente nos últimos anos e, neste contexto, a incorporação do polipirrol (PPy) como um material promissor para essa função apresenta respostas positivas, destacando sua excelente bioatividade e biocompatibilidade para aplicação em engenharia de tecido. A associação do PPy com polissacarídeos naturais, ressaltando a goma xantana, gelana e κ-carragena, promove um alto potencial para aplicações biomédicas, além do que, uma das vantagens de usar estes polissacarídeos, é seu fácil acesso e baixo custo de processamento. O presente trabalho teve como objetivo principal sintetizar e caracterizar nanocompósitos a base de PPy incorporado com polissacarídeos naturais, a fim de aprimorar a potencialidade do polipirrol como suporte tridimensional em aplicações como biomaterial. Um estudo comparativo preliminar foi s resultados de DRX, FT-IR, TG, BET, MEV e MET e análises biológicas, a metodologia resultante do PPy II apresentou melhores resultados para incorporação da goma, apresentando uma diferença apenas pela incorporação do MO na síntese escolhida, além de promover uma melhor diluição das massas das proporções das gomas a serem estudadas. A produção dos nanocompósitos a partir da metodologia escolhida propiciou um estudo comparativo para as diferentes concentrações dos polissacarídeos naturais em relação ao PPy. Os resultados obtidos dos nanocompósitos frente as análises físico-químicas mais relevantes como FT-IR, TG, MEV e MET apresentaram uma diferença significante em ralação ao PPy sozinho para todas as análises realizadas. Com o interesse de conhecer o perfil de suscetibilidade dos nanocompósitos aos microrganismos antimicrobianos e celulares, submeteu-se as bactérias Staphylococcus Aureus e Escherichia coli à técnica de disco difusão e obteve halos consideráveis em relação aos trabalhos da literatura. Para os ensaios de citotoxicidade frente a células fibroblásticas (L929), todas as concentrações das gomas utilizadas foram superiores em termo de viabilidade celular comparado com os resultados do PPy II.

Palavras-chave: Polipirrol, Polissacarídeos, Biomateriais, Scaffolds.

ABSTRACT

The search for new biomaterials has been growing continuously in recent years and, in this context, the incorporation of polypyrrole (PPy) as a promising material for this function presents positive responses, highlighting its excellent bioactivity and biocompatibility for application in tissue engineering. The association of PPy with natural polysaccharides, highlighting xanthan gum, gellan and κ carrageenan, promotes a high potential for biomedical applications, besides, one of the advantages of using these polysaccharides, is its easy access and low processing cost. The present work had as main objective to synthesize and characterize nanocomposites based on PPy incorporated with natural polysaccharides, in order to improve the potential of polypyrrole as a threedimensional support in applications such as biomaterial. A preliminary comparative study was proposed to define the best methodology for the incorporation of gums, and from the results of XRD, FT-IR, TG, BET, SEM and TEM and biological analyzes, the methodology resulting from PPy II showed better results for incorporation of the gum, showing a difference only by incorporating the MO in the chosen synthesis, in addition to promoting a better dilution of the masses of the proportions of the gums to be studied. The production of nanocomposites from the chosen methodology provided a comparative study for the different concentrations of natural polysaccharides in relation to PPy. The results obtained from the nanocomposites in view of the most relevant physical-chemical analyzes such as FT-IR, TG, SEM and TEM showed a significant difference in relation to PPy alone for all analyzes performed. With the interest of knowing the susceptibility profile of nanocomposites to antimicrobial and cellular microorganisms, the bacteria Staphylococcus Aureus and Escherichia coli were submitted to the diffusion disc technique and obtained considerable halos in relation to the works of the literature. For cytotoxicity tests against fibroblastic cells (L929), all concentrations of the gums used were higher in terms of cell viability compared to the results of PPy II.

Keywords: Polypyrrole, Polysaccharides, Biomaterials, Hydrogels.

SUMÁRIO

1	IN	ITRO	DUÇÃO	1
	1.1	Polí	meros: conceitos básicos	3
	1.2	Clas	sificação dos polímeros	4
	1.	2.1	Quanto a sua origem	4
	1.	2.2	Quanto a sua composição	4
	1.	2.3	Quanto a sua estrutura	5
	1.3	Com	pósitos e Blendas Poliméricas	6
	1.4	Pirro	ol/ Polipirrol	6
	1.	4.1	Principais sínteses de polimerização do polipirrol	9
	1.5	Poli	ssacarídeos naturais	13
	1.	5.1	Goma Xantana	14
	1.	5.2	Goma Gelana	15
	1.	5.3	Goma carragena	17
	1.6	Bior	nateriais	19
	1.7	Poli	pirrol e polissacarídeos na aplicação como biomateriais	23
	1.8	Poli	pirrol como agente antibacteriano	27
2	0	BJET	IVOS	29
	2.1	Gera	al	29
	2.2	Esp	ecíficos	29
3	Μ	ATEF	RIAIS E MÉTODOS	30
	3.1	Rea	gentes	30
	3.2	Meto	odologia	31
	3. m	2.1 etodo	Síntese de hidrogéis de polipirrol (sem as gomas) por de logias.	Jas 31
	З.	2.2	Síntese de hidrogéis de polipirrol (com as gomas)	33
	3.3	Téc	cnicas de Caracterização	35
	З.	3.1	Difratometria de raios X (DRX)	35
	3. Fo	3.2 ourier	Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada (FT-IR)	de 35
	З.	3.3	Análise Termogravimétrica (TG/DTG)	36
	З.	3.4	Adsorção de Nitrogênio (BET)	36
	З.	3.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	36
	З.	3.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	36

	3.3.7	Testes Biológicos	37
	3.3.7.1	Método de Difusão em Ágar por Poço	37
	3.3.7.2	2 Ensaios de Citotoxicidade	37
	3.3.8	Análise Estatística	38
4	RESU	LTADOS E DISCUSSÃO	39
4	4.1 Sín	teses	39
4	1.2 Car	acterizações dos PPy puros	44
	4.2.1	Difratometria de raios X (DRX)	44
	4.2.2 Fourie	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformad r (FT-IR)	la de 45
	4.2.3	Análise Termogravimétrica (TG/DTG)	47
	4.2.4	Adsorção de Nitrogênio (BET)	50
	4.2.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
	4.2.6	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	56
	4.2.7	Testes de Atividade Antibacteriana: Método de Difusão em Ág Poço	gar por 61
	4.2.8	Ensaios de Citotoxicidade	63
4	4.3 Car	acterizações dos Nanocompósitos	66
	4.3.1 Fourie	Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformad r (FT-IR)	la de 66
	4.3.2	Análise Termogravimétrica (TG/DTG)	73
	4.3.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	83
	4.3.4	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	94
	4.3.5	Testes de Atividade Antibacteriana: Método de Difusão em Ág Poço	gar por 99
	4.3.6	Ensaios de Citotoxicidade	104
5	CONC	LUSÕES	110
6	PERS	PECTIVAS DO TRABALHO	112
7	REFEI	RÊNCIAS	113
8	APÊN	DICES	124
9	ANEX	OS	124

"Nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém"

(Renato Russo)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus sem Ele eu não teria o suporte necessário para enfrentar os momentos mais difíceis que tive que superar no meu processo evolutivo consequente do mestrado. Agradeço também a toda minha família que me incentivaram sempre a estudar.

Agradeço também a minha super orientadora topzera Prof^a Dr^a lara Gimenez que acreditou nas minhas ideias e entrou no barco junto comigo, sem a senhora esse trabalho não sairia e eu serei sempre grata por isso.

Agradeço a banca examinadora, composta pelo Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmento e pela Prof.^a. Dr.^a Cristiane Nascimento, muito obrigado por terem aceitado colaborar para melhoria dessa dissertação.

Agradeço à FAPITEC/SE pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado, além do apoio da UFS, CAPES, CNPq, FAPESE e FINEP.

Agradeço ao meu namorado Diego Fonseca, que me proporcionou os melhores momentos durante essa trajetória, principalmente a persistir, e que sempre esteve ao meu lado tanto nos perrengues quanto nas alegrias, obrigada por tudo que você me proporciona, sem o seu apoio e incentivo esse trabalho não seria o mesmo, eu amo você bem muitão.

Agradeço a todos os laboratórios que me auxiliaram nas execuções das análises e dos experimentos em especial ao CMNano, LMDCEM, CLQM, a Diego Fonseca do LBI, a Karina do LQPNB, LAC, LTA, a Prof.^a. Dr.^a Cristiane Bani e Monalisa Montalvão do LaBICeL. Gratidão ao Lab. mais especial de todos e agregados a ele, o grupo LAN, vulgo Quibiom, que me acolheu e proporcionou vivenciar momentos de muito aprendizado, risos, sugestões, obrigada Liliane, Douglas, Raimundo, João, Ricardo, Marcos, Cristiane, Caliandra, Jeanynne e Honnara cada um de vocês foram essenciais para o desenvolvimento dessa dissertação.

Por fim, mas não menos importante, agradeço aos meus melhores amigos que permaneceram na vida e durante essa trajetória, entendendo meu sumiço total e que sempre me incentivam a nunca desistir e a sempre progredir, em especial a Taynara Alessandra e Mateus Carneiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- APS Persulfato de Amônio
- BET Método Brunauer, Emmet e Teller
- BHI Brain Heart Infusion
- BJH Método Barrett-Joyner-Halenda
- CLQM-UFS Laboratórios de Química Multiusuários
- CMNano-UFS Centro Multiusuário de Nanotecnologia
 - DMSO Dimetil sulfóxido
 - DO Densidade ótica
 - DRX Difratometria de Raios X
 - E.C Escherichia coli
 - FT-IR Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier
 - IP Isopropanol
 - IUPAC International Union of Pure and Applied Chemistry
 - L929 Células Fibroblásticas
- LaBICeL-UFS Laboratório de Biologia e Imunologia de Câncer e Leishmania
 - LBI- UFS Laboratório de Bioquímica Industrial
- LMDCEM-UFS Laboratórios Multiusuário do Departamento de Ciência e - Engenharia de Materiais
 - LTA Laboratórios de Tecnologias Alternativas
 - MET Microscopia Eletrônica de Transmissão
 - MEV Microscopia Eletrônica de Varredura
 - MO Alaranjado de Metila
 - MTT- 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl) -2,5-difenil brometo de tetrazolina
 - PA Ácido Fítico
 - PANI Polianilina
 - PCIs Polímeros Condutores Intrínsecos
 - PPy Polipirrol
 - PT Politiofeno
 - PVC Policloreto de Vinila
 - Py Pirrol
 - S.A Staphylococcus aureus
 - SBF Soro Fetal Bovino
 - SD Standard Deviation
 - TG Análise Termogravimétrica
 - UFS Universidade Federal de Sergipe
 - I Iota
 - K- Kappa
 - λ Lambda

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 –	Diferença representacional entre homopolímero e copolímero	5
Figura 02 –	Perfil estrutural dos polímeros	5
Figura 03 –	Representação das moléculas de Py e PPy	7
Figura 04 –	Representação da oxidação da cadeia aromática neutra do PPy e dos estados de energia	8
Figura 05 –	Mecanismo de polimerização do PPy	10
Figura 06 –	Ilustração dos possíveis defeitos estruturais do PPy	11
Figura 07 –	Estrutura primaria da goma xantana	14
Figura 08 –	Estrutura primaria da goma gelana	16
Figura 09 –	Estruturas primarias da goma carragena	18
Figura 10 –	Mandíbula com pedaços de conchas do mar	19
Figura 11 –	Fluxograma do ciclo de vida de um biomaterial	20
Figura 12 –	Representação esquemática das possibilidades de polímeros antibacterianos com base nos princípios de funcionamento de sistemas macromoleculares	28
Figura 13 –	Fluxograma das metodologias adotadas	30
Figura 14 –	Fluxograma do desenvolvimento da primeira parte da metodologia para o PPy I	31
Figura 15 –	Fluxograma do desenvolvimento da segunda parte da metodologia do PPy I	32
Figura 16 –	Fluxograma da metodologia do PPy II	33
Figura 17 –	Molde de silicone	35
Figura 18 –	Correlação entre os produtos resultantes das metodologias de obtenção dos PPy I e II	39
Figura 19 –	Sugestão de reação e estrutura química do hidrogel de PPy contendo ácido fítico	40
Figura 20 –	Hidrogéis de PPy com os polissacarídeos naturais	41
Figura 21 –	Representação da rede tridimensional dos hidrogéis PPy com os polissacarídeos naturais	42

Figura 22 –	Representação dos <i>scaffolds</i> dos aerogéis de PPy com os polissacarídeos xantana, gelana e κ-carragena respectivamente	43
Figura 23 –	Difratogramas de raios X do PPy nas metodologias I e II	44
Figura 24 –	Espectro de FTIR de sistemas adequados para a síntese de PPy I e II (a) e representação do número de onda das localizações das ligações químicas de PPy e MO, separadamente (b)	46
Figura 25 –	Curvas de TG do PPy I e II	48
Figura 26 –	Primeira derivada das curvas TG do PPy I e II	49
Figura 27 –	Curvas de isotermas do PPy I e II	51
Figura 28 –	Micrografias obtidas dos aglomerados das partículas do PPy I	53
Figura 29 –	Micrografias obtidas por MEV dos glóbulos das partículas do PPy II	54
Figura 30 –	Modelos macios ou rígidos (preto) iniciando o crescimento de nanotubos de polipirrol (rosa) com perfil circular ou retangular, respectivamente	55
Figura 31 –	Imagens de MET do PPy I com magnificação de (a) 10.000, (b) 30.000, (c) 60.000 e (d) 100.000 vezes e seus respectivos histogramas de distribuição granulométrica e diâmetros médios	57
Figura 32 –	Imagens de MET do PPy II com magnificação de (a) 10.000, (b) 30.000, (c) 60.000 e (d) 100.000 vezes e seus respectivos histogramas de distribuição granulométrica e diâmetros médios	58
Figura 33 –	Estrutura molecular do MO respectivamente na forma ácida (a) e alcalina (b)	60
Figura 34 –	Halos de inibição do PPy via duas metodologias frente as bactérias Gram-positivas(a) (<i>Staphylococcus aureus [S.A]</i>) e bactérias Gram-negativas (b) (<i>Escherichia coli [E.C.]</i>) após 24 horas de inoculação.	61
Figura 35 –	Comparativo do ensaio de citotoxicidade das metodologias I e II, controle positivo e controle negativo. Os asteriscos representam p< 0,05 vs controle negativo e as linhas tracejadas destacam os limites da viabilidade de acordo com a norma ISO 10993-5	64
Figura 36 –	Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma xantana, xantana pura e do PPy II	66

Figura 37 –	Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma gelana, gelana pura e do PPy II	67
Figura 38 –	Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma κ- carragena, κ-carragena pura e do PPy II	68
Figura 39 –	Comparação e semelhanças dos espectros de infravermelho dos nanocompósitos	69
Figura 40 –	Representação estrutural dos nanocompósitos sintetizado simbolizando com a) b) e c) respectivamente, as gomas xantana, gelana e κ -carragena na estrutura molecular dos monomeros de PPy em preto.	72
Figura 41 –	Curvas TG's dos nanocompósitos da goma xantana	73
Figura 42 –	Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma xantana	74
Figura 43 –	Curvas TG's dos nanocompósitos da goma gelana	76
Figura 44 –	Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma gelana	77
Figura 45 –	Curvas TG's dos nanocompósitos da goma κ-carragena	79
Figura 46 –	Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma κ-carragena	80
Figura 47 –	(a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X1 e das partículas do PPy II	83
Figura 47 –	(b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X2 e das partículas do PPy II	84
Figura 47 –	(c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X3 e das partículas do PPy II	85
Figura 48 –	(a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G1 e das partículas PPy II	87
Figura 48 –	(b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G2 e das partículas PPy II	88
Figura 48 –	(c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G3 e das partículas PPy II	89

Figura 49 –	(a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C1 e das partículas do PPy II	91
Figura 49 –	(b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C2 e das partículas do PPy II	92
Figura 49 –	(c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C3 e das partículas do PPy II	93
Figura 50 –	(a) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma xantana	95
Figura 50 –	(b) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma gelana	96
Figura 50 –	(c) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma κ-carragena	97
Figura 51 –	(a) – Halos de inibição dos nanocompósitos da goma xantana frente as bactérias (a) S.A e (b) E.C	100
Figura 51 –	(b) – Halos de inibição dos nanocompósitos da goma gelana frente as bactérias (a) <i>S.A</i> e (b) <i>E.C</i>	100
Figura 51 –	(c) – Halos de inibição dos nanocompósitos da goma κ- carragena frente as bactérias (a) <i>S.A</i> e (b) <i>E.C.</i>	100
Figura 52 –	(a) – Comparativo do ensaio de citotoxicidade dos nanocompósitos da goma xantana, PPy II, controle positivo e controle negativo.	104
Figura 52 –	(b) – Comparativo do ensaio de citotoxicidade dos nanocompósitos da goma gelana, PPy II, controle positivo e controle negativo.	106
Figura 52 –	(c) – Comparativo do ensaio de citotoxicidade dos nanocompósitos da goma κ-carragena, PPy II, controle positivo e controle negativo	107
Figura 52 –	(d) – Comparativo do ensaio de citotoxicidade de todos os grupos e o PPy-Aerogel Branco como controle negativo	109

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 –	Comparação entre a polimerização química e eletroquímica	12
Tabela 02 –	Fontes de alguns polissacarídeos	13
Tabela 03 –	Comparação entre biomateriais em scaffolds	22
Tabela 04 –	Lista de reagentes.	30
Tabela 05 –	Composição em massa das gomas	34
Tabela 06 –	Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos principais eventos	48
Tabela 07 –	Análise por BET das amostras de PPy	50
Tabela 08 –	Comparativo da área superficial da literatura com os resultados obtidos das amostras de PPy	52
Tabela 09 –	Resultados dos tratamentos estatísticos com as médias/desvios padrões dos diâmetros presentes nos histogramas apresentados	56
Tabela 10 –	Médias/desvios padrões dos halos de inibição	62
Tabela 11 –	Resumo das bandas identificadas por FT-IR do PPy II, gomas puras e dos nanocompósitos	70
Tabela 12 –	Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventos principais dos nanocompósitos de goma xantana	74
Tabela 13 –	Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventos principais dos nanocompósitos da goma gelana	77
Tabela 14 –	Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventos principais dos nanocompósitos da goma κ-carragena	80
Tabela 15 –	Médias/desvios padrões dos halos de inibição dos nanocompósitos	101

1 INTRODUÇÃO

A ciência dos materiais vem crescendo continuamente nos últimos anos, devido a diversidade de materiais presentes no cotidiano. A pesquisa em novos materiais a base de polímeros vem despertando um interesse significativo na comunidade cientifica, desde o surgimento dos polímeros sintéticos até os polímeros encontrados na natureza, desempenhando um papel importante em sistemas biológicos com características de não toxicidade e compatibilidade, quando incorporados na engenharia de tecidos [1,2].

Entre os polímeros sintéticos, os polímeros condutores intrínsecos (PCIs) tem sido o foco para diversas aplicações, uma vez que apresentam uma alta condutividade elétrica, estabilidade química, biocompatibilidade e versatilidade. As principais vantagens dos PCIs são ser facilmente adaptáveis quando usados como compósitos ou blendas poliméricas. Com variados tipos de PCIs, o polipirrol (PPy) se destaca devido a diversidade de aplicabilidade, variando entre dispositivos óticos, absorção de alguns tipos de radiações, revestimento anticorrosivo, e também como biomaterial com propriedades bacteriostáticas ou na engenharia de tecido muscular ósseo [3–5].

Em meio a diversas aplicações existentes vale destacar as possíveis aplicações biológicas que possam favorecer o uso do PPy como um biomaterial. O PPy pode ser utilizado com aplicabilidade biocida, para sistemas antimicrobianos, tornam-se uma alternativa para os biocidas existentes, como os antibióticos. O teste do PPy frente a determinadas bactérias patogênicas, proporcionam resultados promissores devido principalmente ao seu processo de síntese usando a polimerização oxidativa resultando na formação de cargas positivas. Uma carga positiva é gerada resultante de ligações de cerca de três a cinco unidades de repetição ao longo da cadeia principal e, por consequência, ocorre uma forte interação eletrostática com espécies de cargas opostas, como a parede celular bacteriana [4,6–9].

Outra aplicação é frente a citotoxicidade *in vitro*, teste inicial para aplicação de materiais com propriedades biológicas favoráveis. PPy possui as chamadas propriedades de resposta, ou seja, mudança de parâmetros estruturais, quando

sofre um estímulo que pode ser uma mudança de temperatura, pH, presença de espécies químicas, dentre outros, permitindo assim entrar na classe de biomaterial 'inteligente'. A biocompatibilidade satisfatória *in vitro* e *in vivo* são respostas de uma estabilidade química e condutividade elétrica excelente, quando em condições fisiológicas [5].

Além dessas características, dependendo da sua aplicabilidade, o PPy pode ser ajustado para essas aplicações como aerogéis com estrutura tridimensional, porém para proporcionar essa estrutura e ser aplicado em forma de scaffolds, o PPy sozinho não possui propriedades suficientes, sendo necessário o uso de outro componente que dependendo da natureza seria considerado como um compósito ou uma blenda polimérica [10,11]

Os polímeros naturais, como os polissacarídeos, vêm sendo estudados devido ao alto potencial em aplicações biomédicas quando associados a alguns PCIs, proporcionado melhorar a estrutura desses PCIs e promover a formação de aerogéis para suporte tridimensional. Dentre eles, vale destacar os biopolímeros/gomas xantana, gelana e kappa-carragena, obtidas a partir de microrganismos e plantas. Recentemente, tais gomas foram avaliadas em diversas aplicações como *drug delivery* e engenharia de tecidos, pela sua fácil disponibilidade, custo de processamento baixo e eficaz, além de apresentarem uma excelente biocompatibilidade [12,13].

Vale ressaltar que o mercado de biomateriais vem crescendo continuamente devido a três fatores principais: o aumento da expectativa de vida relacionada ao envelhecimento da população; o crescimento do poder aquisitivo devido ao desenvolvimento de alguns países; e o desenvolvimento tecnológico visando proporcionar à ciência novas modificações ou soluções para condições médicas vistas como não tratáveis [14,15].

Essas soluções estão dentro da engenharia de tecidos que envolve o desenvolvimento de biomateriais e dispositivos para medicina de maneira que sejam capazes de interagir com o meio biológico. Esses biomateriais devem possuir características elétricas, biomecânicas e biológicas compatíveis com o tecido, osso ou órgão lesionado, além de apresentarem fatores como bioatividade, biocompatibilidade, adesão celular, proliferação celular [16].

O processo de formação dos aerogéis passam pela formação dos hidrogeis e o ácido fítico (PA) contribui de forma segura quando incorporado a outros materiais e apresenta uma toxicidade nula, sendo atribuído como "verde" para o meio ambiente. Quando incorporado ao PPy, o PA proporciona a formação de poros, além de ser usado como um agente gelatinizante e dopante para formar uma rede condutora de escala nanométrica dos hidrogeis formados [17–20].

Algumas modificações nas condições de reação para formação do PPy, como pela variação da temperatura, acidez ou introdução aditivos, como corantes, afeta tanto a morfologia quanto a condutividade desse polímero. O alaranjado de metila (MO) proporciona, em baixa concentração, uma uniformidade nos glóbulos da morfologia padrão do PPy, além de orientar a formação de nanotubos, na maioria dos casos, classificando esse material polimérico em um dos mais condutores [17–20].

Este campo científico e tecnológico aplica seus conhecimentos unindo áreas como engenharia, química e medicina, a fim de promover desenvolvimento de novos dispositivos capazes de preservar, restaurar e restabelecer funções de um órgão ou tecido lesionado. Devido a isto, a área dos biomateriais desperta grande interesse e necessidade de novas pesquisas a fim de promover novos materiais e produtos para a área da saúde. Com base nessas informações, o presente trabalho tem como principal objetivo, sintetizar e caracterizar nanocompósitos de PPy com polissacarídeos naturais (gomas) para aplicação biológica [16].

1.1 Polímeros: conceitos básicos

A palavra polímero origina-se do grego *poli* e *mero*, significando respectivamente muitos e unidades de repetição. Os polímeros são considerados macromoléculas, ou seja, moléculas de alta massa molecular, precisamente por apresentarem diversas unidades repetitivas denominadas de monômeros. Neste contexto, o termo macromolécula se refere a um conceito mais amplo, relativo ao critério de elevada massa molar [2].

Os polímeros vêm sendo estudados continuamente desde o fim da segunda guerra mundial, com o surgimento de polímeros sintéticos como os

plásticos derivando em diversos materiais como fibras, filmes e folhas formando itens simples ou complexos. Uma parte dos materiais poliméricos podem ser obtidos naturalmente através do metabolismo de plantas e animais, sendo exemplos a madeira, borracha, algodão entre outros [1].

Algumas propriedades dos polímeros estão correlacionadas com sua estrutura, ou seja, ao tipo de arranjo entre os átomos nas macromoléculas. Porém, para uma compreensão de suas propriedades físicas e químicas é necessário levar em consideração apenas a formação de ligações covalentes, assim como as interações intermoleculares de forças de Van Der Waals presentes nas cadeias poliméricas unidas entre si [1].

1.2 Classificação dos polímeros

Diferentes classificações de polímeros são encontradas na literatura, portanto uma classificação em grupos foi elaborada com base em características em comum, com finalidade de uma melhor abrangência no estudo desses materiais.

1.2.1 Quanto a sua origem

- a) Polímeros Sintéticos: são materiais produzidos por indústrias como náilon, policloreto de vinila (PVC) e poliestireno (isopor);
- b) Polímeros Semi-sintéticos: são polímeros naturais modificados com propriedades desiguais a original como a borracha vulcanizada, nitrocelulose e ebonite;
- c) Polímeros Naturais: são polímeros extraídos de plantas ou animais, como madeira, lã, algodão, couro e bactérias;

1.2.2 Quanto a sua composição

Os polímeros também são classificados quanto ao número de monômeros formado pelas macromoléculas, representado pela Figura 01:

- a) Homopolímeros: são aqueles que são formados por apenas monômeros iguais;
- b) Copolímeros: formado por dois ou mais monômeros diferentes;



Figura 01– Diferença representacional entre homopolímero e copolímero.



- 1.2.3 Quanto a sua estrutura.
 - a) Polímeros Lineares: São cadeias poliméricas que não apresentam ramificações;
 - b) Polímeros Ramificados: São cadeias poliméricas com ramificações;
 - c) Polímeros Reticulados: São redes poliméricas que apresentam ligações entre cadeias lineares individuais, na forma de ligações cruzadas;



Figura 02– Perfil estrutural dos polímeros.

Fonte: Autoria própria.

1.3 Compósitos e Blendas Poliméricas

Diversos polímeros têm um comportamento frágil e limitado para determinadas aplicações e esse problema pode ser solucionado através de sua associação a outros polímeros ou materiais de outra natureza, combinando as suas propriedades. Essa associação pode ser conceituada de acordo com a natureza e as propriedades desses materiais, como: compósitos, nanocompósitos, biocompósitos, blendas poliméricas e aditivos [21].

Os compósitos são formados por diversos componentes em uma fase continua, como uma matriz polimérica, em conjunto com uma fase descontinua, que proporciona um aumento na resistência e no esforço do produto final. Geralmente esses materiais são obtidos a partir de outros de natureza química e física significativamente distintas. Aditivos são substâncias que promovem pelo menos uma mudança nas propriedades quando incorporados na rede polimérica, sendo alguns exemplos os lubrificantes, antioxidantes, pigmentos e plastificantes.

As blendas poliméricas são misturas de dois ou mais polímeros de mesma natureza, que por consequência, apresentam combinações entre suas propriedades individuais como propriedades mecânicas, térmicas e químicas. As principais vantagens dessa combinação, são o baixo custo financeiro de processamento, além da possibilidade de reciclagem. As blendas poliméricas podem ser do tipo miscíveis, homogêneas e com uma única transição vítrea, bem como imiscíveis, com separação de fases e com várias transições vítreas para cada fase.

1.4 Pirrol/ Polipirrol

O pirrol (Py) foi identificado pela primeira vez em 1834 por F. F. Runge como um dos constituintes do alcatrão de carvão e, posteriormente, em 1857, foi isolado através da pirólise de resíduos ósseos. Seu nome vem do grego *pyrrhos* ("avermelhado, ardente") em decorrência da coloração vermelha liberada por uma lasca de abeto quando umedecido com ácido clorídrico, coloração esta utilizada como método de detecção [22–24]. O pirrol é classificado como um composto heterocíclico de cinco membros, correspondente à fórmula molecular geral C₄H₄NH, seu estado líquido é volátil, incolor e instável na presença de ar, por consequência escurece facilmente sendo necessário uma destilação antes do uso [22].

Através de monômeros de pirrol, via oxidação química, o polipirrol (PPy) foi sintetizado inicialmente em 1916 por A. Angeli e L. Alessandro. Entretanto as propriedades condutoras foram descobertas em 1979, quando Diaz *et al,* sintetizaram o primeiro filme de PPy através de uma polimerização eletroquímica. Por outro lado, as propriedades eletromagnéticas foram descritas somente em 1985 por Yoshino *et al.* A estrutura química do monômero pirrol e de sua cadeia resultante PPy estão representadas na Figura 03 [25–28].



Figura 03 – Representação das moléculas de Py e PPy.

Fonte : Autoria própria.

As cadeias de PPy possuem unidades aromáticas ligadas por átomos de carbono. É um dos polímeros condutores mais frequentemente estudados, possuindo propriedades de fácil controle, tornando-se um dos materiais promissores para diferentes aplicações, devido a uma boa biocompatibilidade, estabilidade química e alta condutividade [4,8,9].

Com o avanço da tecnologia, diversos autores buscaram desenvolver polímeros extrinsecamente condutores em que a condução de eletricidade ocorresse sem a incorporação de portadores de carga. Contudo, a busca pela incorporação destes polímeros a outros agentes modificadores levou ao desenvolvimento dos polímeros condutores intrínsecos (PCIs) [29]. O PPy é classificado entre os PCIs, que são materiais com características isolantes que podem ser dopados ao reagir com agentes oxidantes, redutores ou ácidos fortes. A dopagem faz modificações químicas nas redes poliméricas e em suas propriedades físicas que, por consequência, são responsáveis pelas aplicações em diferentes campos, como dispositivos óticos e eletrônicos, blindagem eletromagnética, absorção de ondas em alguns tipos de radiações, revestimento para proteção anticorrosão, emissores de luz, sensores químicos e aplicação na engenharia dos biomateriais [3,30].

O aumento da condutividade está correlacionado com o processo de dopagem, que gera defeitos e deformações na cadeia polimérica conhecidos como polarons e bipolarons. Alguns polímeros que apresentam estados fundamentais não degenerados, como o PPy, fornecem energias entre as bandas de condução (de baixa energia) e as bandas de valência (de alta energia) resultantes da formação de polarons e bipolarons como esquematizada pela Figura 04 [3,31].

Figura 04 – Representação da oxidação da cadeia aromática neutra do PPy e dos estados de energia.



Fonte : Autoria própria.

A transferência de um elétron via oxidação forma o estado eletrônico resultante da distorção da cadeia e da redistribuição dos elétrons, denominado de polaron na química dos sólidos. Em condições químicas, um polaron mimetiza um íon radical com carga unitária e, na sua formação, a banda de valência continua preenchida, enquanto a banda de condução vai estar vazia. Tais bandas são separadas por uma faixa de energia proibida chamada de *bandgap*, na qual a separação entre as bandas de condução e de valência determina as propriedades elétricas intrínsecas do polímero [25,32,33].

Ao se retirar mais elétrons da cadeia principal do PPy da região do estado polaron, gera-se um novo estado eletrônico –o bipolaron– o qual possui um par de cargas iguais (com spin = 0). Deve-se ressaltar que a energia de formação, quando dois polarons independentes se formam, é exatamente igual a formação de um bipolaron, entretanto a formação deste diminui a energia de ionização do polímero tornando-o, portanto, termodinamicamente mais estável que dois polarons [25,33].

A fácil síntese desse material permite a formação de uma grande área superficial, promovendo facilidades em modificações para aplicações biológicas, biossensores, células solares e administração de fármacos. Além dessas características, o PPy possui propriedades elétricas, óticas, de oxirredução para diversos empregos, como, capacitores eletrolíticos, dispositivos eletrocrômicos, baterias, supercapacitores e sensores [25,32,34].

1.4.1 Principais sínteses de polimerização do polipirrol

O PPy pode ser sintetizado por diferentes métodos experimentais, dentre eles a polimerização química e a eletroquímica. A polimerização química consiste em uma oxidação, sendo os agentes oxidantes mais utilizados peróxido de hidrogênio, persulfato de amônio, e alguns sais de metais de transição. Na polimerização eletroquímica a oxidação é realizada em um eletrodo (substrato condutor) inerte como platina ou carbono vítreo, via oxidação anódica do monômero sobre eletrodos inertes como platina ou carbono vítreo [3,35]. Na polimerização química, a produção em larga escala é facilitada por um baixo custo de processamento, em contraste com a polimerização eletroquímica que é realizada *in situ* e retém uma maior condutividade elétrica e limitação de produto na área do eletrodo [25,32,36].





Observando o mecanismo na Figura 05, na primeira etapa, o cátion radical (C4NH5⁺) é formado tanto pela oxidação química quanto pela oxidação

Fonte: Adaptada de MEDEIROS, *et al.* 2012 [25].

eletroquímica do monômero, chamada de processo de iniciação. Posteriormente, ocorre uma reação entre dois cátions radicais, formando o dímero que, quando sofre uma segunda desprotonação, produz o bipirrol. Uma reoxidação do bipirrol com outro cátion radical inicia o processo de propagação que ocorre repetidas vezes, até o processo final de formação da cadeia polimérica de PPy [36,37].

O crescimento das cadeias do PPy acontece em acoplamentos nas posições 2 a 5 dos átomos de carbono do anel pirrólico, maximizando a conjugação entre as ligações simples e duplas. Entretanto, um elevado número de acoplamentos provoca uma baixa mobilidade dos portadores de carga, de forma que cerca de 30%, aproximadamente, das ligações C-C entre os anéis do pirrol não são do tipo "ideal" (2,5). Os possíveis defeitos a serem encontrados no PPy pode ser representado pela Figura 06 [37].

Figura 06 – Ilustração dos possíveis defeitos estruturais do PPy [37].



Fonte: MAIA, et al. 2000 [37].

No entanto, é possível resumir as características das polimerizações apresentando comparações entre as vantagens e desvantagens dos dois métodos através da Tabela 01.

Métodos de polimerização	Vantagens	Desvantagens
Polimerização Química	 Possibilidade de produção em larga escala; Modificações das ligações covalentes da cadeia depois da síntese; Maior possibilidade para modificações da cadeia polimérica. 	 Dificuldade para produção de filmes finos; Síntese complexa; Presença de impurezas.
Polimerização Eletroquímica	 Produção de filmes finos; Facilidade de sínteses; Moléculas de polímero condutor com dopagem simultânea; Obtenção de produto limpo. 	 Difícil remoção da película sobre a superfície do eletrodo; A modificações das ligações covalentes da cadeia após a síntese é complexa.

Tabela 01– Comparação entre a polimerização química e eletroquímica [38].

Fonte: GUIMARD, et al 2007 [38].

Ainda que os produtos finais para ambos os mecanismos de polimerização sejam os mesmos, sua morfologia e outras características estão ligadas diretamente a rota de síntese que, por sua vez, estará associada a esses mecanismos, ou seja, a síntese química e eletroquímica [37].

Na síntese química, o procedimento ocorre com a adição de um agente oxidante no frasco reacional formando o cátion radical, sendo que esse agente oxidante deve possuir um potencial de redução suficiente para que o monômero seja oxidado. Geralmente, a condutividade elétrica de polímeros sintetizados por esse método é mais baixa, em comparação aos que são sintetizados eletroquimicamente. Em contraste com a síntese química, na eletroquímica a formação do cátion radical é consequência da aplicação de potenciais oxidativos no eletrodo a ser utilizado, formando um polimérico na superfície [1,37,38].

1.5 Polissacarídeos naturais

Os polissacarídeos são caracterizados como biopolímeros formados por um único ou diferentes monossacarídeos (geralmente hexoses) unidos por ligações glicosídicas. São produzidos através de biossínteses em plantas, além de algas, alguns animais e fungos, podendo adicionalmente ser obtidos via fermentação microbiológica. A nova geração de polissacarídeos de origem microbianas surgiu em meados de 1950 e, até então, somente os polissacarídeos originados de plantas marinhas e terrestres faziam parte de seu grupo representados pela Tabela 02 [39,40].

	Polissacarídeo	Fonte
Algas	 Alginato Agaranas Carragenanas	 algas pardas algas vermelhas algas vermelhas
Exsudato de Plantas	Goma ArábicaTragacante	Acacia sppAstragalus spp
Sementes	GuarAlfarrobaTamarindo	 Cyamopis tetragonolobus Ceratonia siliqua T. indica
Frutas	 Pectinas 	 maçãs e laranjas
Tubérculo, cereais	AmidoInulina	 milho, trigo, batatas chicória, <i>Jerusalem</i> artichokes
Animais	 Ácido Hialurônico Heparina Quitina Quitosana 	 humor vítreo de bovinos, cristas de galináceos pulmão de bovinos e intestinos de porcinos carapaças de crustáceos carapaças de crustáceos
Fungos	Glucanas	• P. ostreatus, Agaricus blazei
Bactérias	 Xantana Dextrana Gelana 	 Xanthomonas ssp Leuconostoc spp Sphingomonas elodea

|--|

Fonte : Adaptada de CUNHA et al, 2009 [41].

Dentre as diversas aplicações, os polissacarídeos têm um alto potencial em aplicações biomédicas (por exemplo, *drug delivery* e engenharia de tecidos) devido à sua ampla disponibilidade, custo de processamento eficaz além de apresentar uma excelente biocompatibilidade Dentre os polissacarídeos da Tabela 03, vale destacar os que vão ser estudados no presente trabalho, as gomas: xantana, gelana e κ-carragena [12,13,42].

1.5.1 Goma Xantana

A goma xantana foi descoberta no departamento de agricultura do *National Center for Agricultural Utilization* nos Estados Unidos em 1950, através da bactéria *Xanthomonas campestres*, encontrada em algumas espécies de repolho produzindo este polissacarídeo extracelular. A produção industrial iniciou em 1960 seguida da sua produção comercial em 1964. Uma série de melhorias nesse polissacarídeo vem sendo estudadas durante sua fabricação e, atualmente, a goma xantana é um dos polissacarídeos mais importantes dentre os disponíveis comercialmente [13,43].



Figura 07 – Estrutura primaria da goma xantana [44].

Fonte: Adaptada de COSTA et al, 2014 [44].

A estrutura primária da goma xantana é exemplificada na Figura 07, apresentando fórmula molecular média de um monómero $C_{32.34}H_{49.94}O_{28.34}$, além de apresentar unidades de repetições de β -D-glicose unidas por ligações 1-4 (idêntica à da celulose) na cadeia principal. Na posição C3 de cada unidade de glicose alternada, encontra-se uma cadeia lateral trissacarídica, contendo unidades de 1,4- β -D-ácido glicurônico, β -D-manose e 1,2- α -Dmanose [45,46].

A alta viscosidade da goma xantana em solução aquosa é consequência de seu alto peso molecular, de forma que essa característica modifica diversos sistemas dispersos, aumentando a sua viscosidade e estabilizando a fase aquosa. Outras características que devem ser destacadas são a capacidade de atuar como adsorventes e estabilizantes em diversas faixas de pH. As soluções de goma xantana tem um comportamento associado a fluidos não newtonianos e apresentam um desempenho de um material "pseudoplástico", devido a sua viscosidade, que é afetada apenas por algumas etapas de tratamento térmicos [13,47].

A goma xantana atraiu atenção para aplicações como biomaterial associado a outros materiais com formação de *scaffolds*, além de apresentar uma baixa toxicidade, e por consequência, uma excelente biocompatibilidade. Quando adjunto a outro material, esse biomaterial apresenta uma resposta melhor a resistência mecânica, proporcionando uma inovação em formar novos materiais com diversas aplicações na engenharia de tecido [13].

O uso da goma xantana juntamente com outros polímeros ou outros tipos de materiais para aplicação em engenharia de tecidos ósseos é pouco reportado na literatura, como será demonstrado nas seções posteriores.

1.5.2 Goma Gelana

Durante um estudo em larga escala para identificar novos polissacarídeos via bactérias de solo e água, a goma gelana foi identificada em 1978 pela CP Kelco (San Diego, EUA) trazendo excelentes propriedades reológicas. Posteriormente, outras características, como gelificante multifuncional, estabilizante e agente de suspensão, fizeram com que fosse aprovada para uso

para alimentos e produtos para cuidados pessoais em 1992 pela FDA dos EUA e da UE (E418) [48].

A goma gelana é um polissacarídeo aniônico extracelular produzido através da fermentação microbiana, com elevado rendimento, pela estirpe não patogênica das bactérias *Sphingomonas elodea* ou *Pseudomonas elodea*, sendo também excretada com um menor rendimento por *Sphingomonas paucimobilis* (ATCC 31461) [49–51].

Na Figura 08 está representada a goma gelana, possuindo uma estrutura linear com unidades repetidas dos monossacarídeos 1,3 β -D-glicose, 1,4 β -D-ácido glicurônico, 1,4 β -D-glicose e 1,4 α -L-ramnose, a composição aproximada dessas unidades é de 60% de glicose, 20% de ramnose e 20% de ácido glicurônico [50–52].





Fonte : Adaptada de PRAJAPATI et al, 2013 [52].

Durante o processo de fabricação, a goma gelana tem a capacidade de suportar estímulos térmicos e ácidos, além de ser biocompatível, biodegradável, dúctil, não tóxica e possuir carga negativa, produzindo polieletrólitos com polímeros de carga positiva. Assim como a goma xantana, com uma alta taxa de cisalhamento, a goma gelana é considerada também um material pseudoplástico devido as suas propriedades reológicas gelificantes, maleabilidade e texturas [53–55].

Na indústria alimentícia, a goma gelana é de grande importância, entretanto existem diversos estudos sobre seu potencial como carreador de fármacos e

algumas modificações na sua estrutura. Algumas propriedades podem ser alteradas para determinada aplicação como inchaço, porosidade, estabilidade mecânica e capacidade de resposta a estímulos físicos [49,54].

No entanto, a goma gelana vem sendo estudada como um novo biomaterial para aplicações de engenharia de tecido, especificamente em fibras e cartilagem devido à sua versatilidade e eficácia promovendo um estimulo subcondral como o transplante de células [56].

1.5.3 <u>Goma carragena</u>

A goma carragena é um hidrocolóide que surgiu na região norte da Irlanda em 1785. A carragena é extraída de algas marinhas vermelhas da família *Rhodophycea*, como *Gigartina*, *Chondrus e Iridaea*, fracionadas em mais de 15 tipos, onde os pesquisadores propuseram nomenclaturas em grego para diferenciá-las, com base na estrutura química do polissacarídeo natural [57].

As carragenas do tipo *Lambda* (λ) e *Kappa* (κ) são produzidas pela *Gigartinaceae*, enquanto a carragena do tipo *iota* (ι) as *Solieriaceae*. Essa classificação é determinada também pelas propriedades físico-químicas e seu processo de fabricação, valendo destacar algumas diferenças como rigidez, elasticidade, propriedades reológicas e solubilidades [58,59].

Em geral, a goma carragena possui um peso molecular alto, contendo 15 de a 40% de ésteres de sulfato e unidades alternadas de D-galactose e 3,6anidrogalactose (3,6-AG) unidas por ligações α -1,3 e β -1,4-glicosídica [58,59].

Por conta desses fatores, pode-se determinar as diferenças dos tipos de carragenas comercialmente disponíveis, podendo-se afirmar que, quanto maior os níveis de éster sulfato, menor será a força de solubilização e gelificação em temperaturas baixas. A goma carragena tipo Kappa contém de 25% a 30% de éster sulfato e de 28% a 35% de 3,6-AG, a do tipo lota contém de 28% a 35% de éster sulfato e de 25% a 30% de 3,6-AG e a do tipo Lambda contém de 32% a 39% de éster sulfato e não contém 3,6-AG e estão apresentadas na Figura 09 [58].



Figura 09 – Estruturas primarias da goma carragena [60].

Fonte: Adaptada de Dul et al, 2015 [60].

Na literatura, ainda são poucos os trabalhos relacionados a goma κcarragena para aplicação biológica, porém algumas características podem ser reportadas através dos trabalhos existentes como aplicações em *drug delivery*, formação de nanocompósitos, blendas polimericas, excelente biocompatibilidade e um controle na moldagem para facilitação das distribuições de células, gerando uma plataforma ideal como um biomaterial para aplicação na engenharia de tecidos [58,61–64].

O teor de sulfato presente nas estruturas moleculares dos tipos de goma carragena do tipo kappa determina as aplicações e atividades biológicas para

determinada funcionalidade. A κ-carragena possui o menor teor de sulfato e apresenta uma maior biocompatibilidade quando aplicada na engenharia de tecido, como em cicatrização de feridas. Além dessa característica, a goma carragena do tipo kappa possui ação antioxidante e antitumoral. Apesar de ser biocompatível, alguns tipos da goma carragena são usadas para provocar respostas inflamatórias, o que pode ser explicado por esses tipos aumentarem a concentração em percentual de monômeros contento éster sulfato [65].

1.6 Biomateriais

Há cerca de 9000 anos existem documentos que registram a utilização de biomateriais aceitáveis no organismo do ser humano. Existem diversos relatos sobre seu uso e, dentre eles, vale destacar: orelhas, narizes e olhos artificiais em múmias egípcias; reconstrução de tecidos humanos danificados com uso de ceras e colas, há mais de 2000 anos pelos indianos e chineses; fragmentos de conchas do mar em uma mandíbula encontrados em 1931 em Honduras, apresentado pela Figura 10 [15,66–68].



Figura 10 – Mandíbula com pedaços de conchas do mar [68].

Fonte: RING 1998 [68].

No entanto, o conceito de biomaterial só foi introduzido no século XX pois, mesmo com a existência anterior a este século, estudos sobre a interação corpo/biomaterial ainda eram desconhecidos nessa época. Em 1976, na conferência de consenso da Sociedade Europeia de Biomateriais, esse conceito foi definido como: "Um material não vivo, utilizado como dispositivo médico, projetado para interagir com sistemas biológicos", sendo complementado em 1991: "Todo o material destinado a contactar com sistemas biológicos para avaliar, tratar, reforçar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do organismo" [69,70].

Estabelecendo um conceito para biomaterial, os estudos desenvolvidos a partir do século XX cresceram em conjunto com o desenvolvimento científico. Assim Pires *et al*, 2005 estabeleceu um ciclo de produção e aplicação para determinados biomateriais, desde a sua aplicação e necessidade científica até seu uso médico, como demostrado pelo fluxograma na Figura 11 [15].





Fonte: Adaptada de PIRES et al, 2005 [15].
Duas características são usadas de forma majoritária para determinadas aplicações, como a biocompatibilidade, que é a capacidade que o material tem de desempenhar uma resposta satisfatória quando inserido no tecido hospedeiro e a biofuncionalidade, capacidade de exercer a função que foi estabelecida ao material, pelo tempo necessário [71].

Quanto ao seu tipo, os biomateriais podem ser metálicos, cerâmicos, poliméricos de origem sintética ou natural, biopolímeros, compósitos e semicondutores. Os novos biomateriais desenvolvidos para a regeneração tecidual óssea estão ligados a alguns fatores: o envelhecimento da população; a ascensão da expectativa de vida; o aumento aquisitivo do padrão de vida de alguns países, além da evolução tecnológica [15].

Nesse sentido, o avanço no campo ligado ao desenvolvimento tecidual requer aplicações em áreas de medicina regenerativa que possam ter melhorias mais significativas, como o uso de suportes. Esses suportes, do inglês *"scaffolds"* (como será adotado nesse trabalho) promove uma matriz 3D biocompatível, além de possuir porosidade, rugosidade, degradabilidade e até propriedades mecânicas adequadas para sua aplicação, destacando também a sua função *in vitro* como a interação, crescimento, estimulação, migração e diferenciação em meio celular [71,72].

Diversos biomateriais podem ser usados nessa nova geração para produção em formato de *scaffolds* 3D na engenharia de tecidos, porém, deve-se atender a requisitos básicos para essa aplicação como ações não-antigênicas, não-carcinogênicas, não-tóxicas, não-mutagênicas e alta biocompatibilidade celular. Essas propriedades tem um efeito significativo sobre a qualidade dos *scaffolds*, como a sobrevivência celular, o crescimento e até mesmo a reorganização celular em seu entorno [71,72].

Turnbull *et al*, 2017 apresenta alguns materiais que têm sido empregados para a fabricação desses *scaffolds*, além de alguns benefícios e limitações para cada um deles, essas informações estão contidas na Tabela 03 [71].

Material de fabricacão	Benefícios	Possíveis limitações
Hidrogéis	 As propriedades mecânicas podem ser modificadas através de reticulação; Liberação controlada de fármaco; Facilidade de padronização via impressão 3D para mimetizar as microarquiteturas de tecidos; 	 As propriedades mecânicas limitar o uso em construções de suporte de carga; A manipulação física de construções pode ser difícil; Carregar uniformemente com células pode ser um desafio;
Polímeros	 Polímeros naturais podem ser derivados de matrizes extracelulares, possuindo uma excelente biocompatibilidade e baixa toxicidade; Biodegradável; Polímeros sintéticos oferecem melhor controle sobre as propriedades físicas; 	 Polímeros naturais e sintéticos geralmente carecem de propriedades mecânicas; Impurezas patológicas, tais como endotoxina, podem estar presentes em polímeros naturais; Polímeros sintéticos são frequentemente hidrofóbicos;
Cerâmicos	 Possui propriedades osteocondutoras e osteoindutivas; Composição semelhante para hospedar conteúdo mineral ósseo; Pode ser entregue na forma de grânulos, em pasta ou em um formato injetável. 	 Duro e quebradiço quando usado sozinho; Pode apresentar taxas de degradação / reabsorção inadequadas, com o declínio das propriedades mecânicas como resultado;
Biovidros	 Propriedades osteocondutoras e osteoindutivas; Já adaptada para prótese clínica; 	 Fragilidade Inerente; Difícil ajustar a taxa de reabsorção; Potencial para liberação de íons metálicos tóxicos;
Metais	 Biocompatível; Força superior; Propriedades mecânicas superiores podem ser vantajosas em situações em que o crescimento lento do osso é provável; 	 Módulo superior pode levar ao estresse/blindagem; A baixa biodegradabilidade pode resultar em cirurgia adicional (comprometimento do crescimento de tecido); A liberação secundária de íons metálicos pode causar toxicidade local e distal;

Tabela 03 – Comparação entre biomateriais em scaffolds [71].

Fonte: Turnbull et al, 2017 [71].

1.7 Polipirrol e polissacarídeos na aplicação como biomateriais.

Os polímeros biodegradáveis vêm despertando interesse na área de biomateriais por apresentarem uma resposta positiva, além de sua remoção posterior ser desnecessária e não causarem rejeição a longo prazo. Diversas aplicações como suturas, liberação controlada de fármacos, *scaffolds*, fixação de dispositivos ortopédicos e potencial biocida são encontradas na engenharia de tecidos. Esses biopolímeros apresentam uma biocompatibilidade que normalmente envolvem quatro fenômenos, incluindo o processo de concentração dessa biomacromolécula na superfície, resposta a presença do biomaterial, efeito do ambiente corpóreo e a resposta a longo prazo [73].

Nesse sentido, o PPy aparece como uma alternativa para aplicações biomédicas importantes. A possibilidade de ser sintetizado de diferentes formas ou diretamente sobre algumas superfícies metálicas proporciona o uso do termo "inteligente" para esses biomateriais que, consequentemente, atuam de diferentes maneiras no corpo humano, como em pele e ossos artificiais, logo apresentando uma excelente biocompatibilidade [73].

Estudos recentes demonstram que o PPy pode exercer diversos papéis dentro da aplicação geral como biomaterial. Cabuk *et al*, 2014 estudaram a atividade antimicrobiana do PPy e seus resultados mostraram uma eficiência para formação de biomateriais híbridos, enquanto Humpolíček *et al*, 2018 fizeram uma comparação entre a biocompatibilidade *in vitro* da polianilina (PANI) e do PPy usando testes de citotoxicidade, obtendo propriedades biológicas semelhantes [73,74].

Maráková *et al*, 2016 fez um estudo comparativo da atividade antimicrobiana da PANI e do PPy, isoladamente, e em conjunto com nanopartículas de prata, usando algodão *tex-line* como suporte. Os autores chegaram à conclusão de que, em ambos os casos, após a deposição de prata, o desempenho antibacteriano foi aperfeiçoado e as propriedades dos filmes revestidos com PPy foram superiores a todos os testes que o revestimento era com PANI [75] Alguns estudos *in vivo* como o de Fattain *et al,* 2014 demonstraram a viabilidade da utilização do PPy na forma de compósito, consequentemente ocorrendo melhorias na regeneração tecidual óssea, promovendo estímulos elétricos em células nervosas e ósseas. Krug *et al,* 2019 estudaram microcápsulas de PPy carreadas com nanopartículas de ouro para aplicação de imagiologia biomédica. Os resultados demonstraram que o material é um agente promissor para aplicações médicas, como tomografia computadorizada e, testes em *in vitro* associados ao transporte de fármaco demonstraram a biocompatibilidade do material [76,77].

Lukášek *et al*, 2019 realizou um estudo *in vitro* usando a polimerização do ácido 6-(pirrol-3-il) hexanóico em microfibras de policaprolactona, com a posterior fixação de uma camada de ciclodextrina na superfície do PPy. Observou-se que, além de uma excelente biocompatibilidade, o material demonstrou interações significativas com as células [78].

Ezazi *et al,* 2018, relatou o desenvolvimento de *scaffolds* compostos por PPy, gelatina, hidroxiapatita e vancomicina, para liberação controlada de fármacos. O material apresentou um desempenho promissor nesta aplicação, evidenciando que a união de PPy com os demais componentes promoveu um efeito não tóxico sobre células osteoblásticas, mantendo as propriedades essenciais, como a resistência mecânica [79].

O uso de polissacarídeos no desenvolvimento de biomateriais vem crescendo progressivamente com o avanço da área. Tiwari, Patil e Bahadur 2018 fizeram uma revisão sobre alguns polissacarídeos em estruturas 3D *scaffolds*, destacando alguns estudos com características como o favorecimento da proliferação celular, processos regenerativos, hidrofilicidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade e excelentes propriedades mecânicas [80].

Kumar *et al* 2018 revisaram os trabalhos voltados à aplicação da goma xantana para aplicação na engenharia de tecidos. Foram compiladas as informações relativas à origem da goma xantana, sua estrutura, propriedades, modificação e processamento para a preparação dos hidrogéis e/ou dos *scaffolds*. Além dessas informações, os autores advertiram que, na preparação da goma xantana para aplicação como um biomaterial, o processamento usando nanomateriais como modificadores é crucial, devido a baixo desempenho mecânico, proporcionando a formação de nanocompósitos [13].

Darzi *et al,* 2012 foram os primeiros autores a estudar a influência da goma xantana com um polímero semicondutor, o PPy, para a formação de um nanocompósito, utilizando persulfato de amônio (APS) como oxidante. Os resultados mostraram que a goma xantana aumenta a condutividade elétrica e a estabilidade térmica do PPy. Posteriormente, Bueno *et al,* 2015 fez uma eletropolimerização do PPy sobre hidrogéis de goma xantana, produzindo *scaffolds* híbridos eletroativos, apresentando uma maior hidrofobicidade e rugosidade quando comparado a hidrogéis de xantana puros. Além disso, os testes desse estudo em células fibroblásticas revelaram uma ação não tóxica, proporcionando novas estratégias para a proliferação celular de compósitos dessa combinação [81,82].

Stevens *et al,* 2016 fizeram um estudo sobre o potencial da goma Gelana em exercer diversos papeis importantes quando aplicada na engenharia de tecidos. Em sua revisão, focalizou-se desde as origens, purificação e modificação da goma Gelana, passando pelas opções de processamento e biofabricação, até o desempenho para aplicação celular. Destacaram-se o fácil processamento, bem como um grau mínimo de citotoxicidade para a goma "pura", deixando também o caminho aberto para novos trabalhos envolvendo modificações químicas ou até mesmo a formação de compósitos com outros biopolímeros [83].

Nos últimos anos, os estudos referentes a goma Gelana em aplicações médicas vêm aumentando gradativamente. Neste contexto, Higgins *et al,* 2011 descreveram um estudo de revestimentos de eletrodos protéticos neurais a base de PPy dopado com goma Gelana, a fim de solucionar problemas relativos às baixas propriedades eletroquímicas, bem como a falta de biofuncionalidade na superfície desses eletrodos. Os autores observaram que os revestimentos preparados a base de PPy e goma Gelana alcançaram uma melhora significativa nas propriedades eletroquímicas nos eletrodos protéticos neurais [84].

Berti *et al,* 2017 desenvolveram três métodos diferentes de polimerização oxidativa química *in situ* do PPy com a goma Gelana para produzir hidrogéis

esponjosos, com a finalidade de aplicação na engenharia de tecidos musculares esqueléticos. Em seu estudo, eles comprovaram que os três métodos levaram a diferenças significativas quanto a propriedades como porosidade, rigidez e estrutura microtomográfica. Em todos os casos, a aplicação em células da linhagem L929 evidenciou um comportamento não citotóxico, porém na linhagem C2C12 a adesão e proliferação ocorreram em tempos mais curtos [85].

Li *et al*, 2014 fizeram um estudo sobre artigos já existentes até sua publicação, com objetivo de reunir e resumir as aplicações da goma κ-carragena como sistema de liberação controlada de fármacos. Nesse estudo, foi observado que tal goma tem sido empregada pela indústria farmacêutica devido a seu desempenho na liberação controlada oral/transportadora de medicamentos, bem como o papel estabilizador de micro/nanopartículas. Além disso, devido a algumas características especiais, como a sua forte carga negativa e gelificação, revela-se como um bom agente gelificante e intensificador da viscosidade para liberação controlada do fármaco e retenção prolongada [64].

Esmaeili *et al*, 2014 desenvolveu a síntese de um nano-biocompósito de PPy e κ-carragena para aplicação como catalisador catódico em células a combustível microbianas, buscando uma alternativa para catalisadores de custo mais elevado como a platina. A forma esférica do nano-biocompósitos demonstrou uma excelente atividade catalítica e uma eficiência de cerca de 91% comparado ao catalisador de platina [86].

A busca de anterioridade sobre a goma κ-carragena em conjunto com o PPy, tornou-se limitada até a presente data. As palavras chaves, " polypyrrole", "carrageenan" e " biomaterials", usadas para a pesquisa de artigos, teses e dissertações, demonstraram a escassez de trabalhos voltado para biomateriais ou qualquer tipo de aplicação biológica. Por consequência, o presente trabalho promove uma inovação com a incorporação da goma κ-carragena com o polímero intrinsicamente condutor, o PPy, via polimerização química para possível aplicação biológica.

1.8 Polipirrol como agente antibacteriano.

O termo antibacteriano é usado para determinar a morte ou a inibição do crescimento de bactérias. Apesar da existência de diversos medicamentos que apresentam essa função, o tratamento de diversas doenças ainda permanece com dificuldades [87].

Os polímeros antibacterianos são uma nova classe de agentes bactericidas que são capazes de promover a morte ou a inibição do crescimento de bactérias na superfície ou no ambiente que é circundado. Geralmente esses polímeros possuem características como baixo custo, potencial de aumento da resistência mecânica quando dopados com outros materiais, além de redução da toxicidade [88,89].

Esses polímeros começaram a ser conhecidos a partir de 1970, com o desenvolvimento de novas pesquisas para obtenção de estruturas poliméricas com ação antimicrobiana, como polímeros possuindo grupos aniônicos em sua cadeia. Em 2005, Seshadri e Bhat iniciaram um estudo de polímeros condutores para incorporação em sistemas para agentes microbianos, usando o PPy e a PANI agrupados com fibras têxteis [90–93].

Anteriormente, o PPy foi citado como um dos primeiros polímeros condutores a serem estudados como agentes antimicrobianos. Um dos aspectos mais importantes que fazem dele um sistema promissor para essa aplicação é a polimerização oxidativa, ou seja, a medida que o os monômeros de PPy são formados por oxidação, geram-se cargas positivas para cada três a cinco monômeros ao longo da cadeia de PPy [10,11].

Na literatura existem três tipos gerais de polímeros antimicrobianos: polímeros biocidas, biocidas poliméricos e polímeros de liberação de biocidas, essa classificação está exemplificada na Figura 12. Figura 12 – Representação esquemática das possibilidades de polímeros antibacterianos com base nos princípios de funcionamento de sistemas macromoleculares [94].



Fonte: Adaptada de BARZI e IOAN, 2016 [94].

Os polímeros biocidas são caracterizados por unidades de repetições que funcionam de modo semelhante aos monômeros, por outro lado nos biocidas poliméricos o princípio ativo é composto por macromoléculas sem a exigência das unidades de repetições. O terceiro tipo de polímeros antimicrobianos são os polímeros que liberam agentes biocidas, ou seja, eles servem como transportadores desses sistemas ativos até as bactérias [94].

Essas cargas positivas são responsáveis pela atração eletrostática entre as células antimicrobianas que possuem cargas negativas resultantes das proteínas de sua membrana (bactérias Gram-positivas) e dos fosfolipídios na membrana externa (bactérias Gram-negativas). Por conta dessa atração, os polímeros carregados positivamente são atraídos, e caso se obtenha um caráter anfifílico, estes serão capazes de provocar uma perturbação na parte exterior, como na membrana citoplasmática da bactéria, resultando na ruptura da parede e posteriormente a morte do microrganismo [6,10,11,88,89].

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Sintetizar e caracterizar nanocompósitos a base de polipirrol incorporado com polissacarídeos naturais, a fim de aprimorar a potencialidade do polipirrol como suporte tridimensional em aplicações como biomaterial.

2.2 Específicos

- Sintetizar e caracterizar hidrogéis de polipirrol com dois processos metodológicos distintos, a fim de verificar diferenças na morfologia dos hidrogéis;
- Avaliar o melhor processo metodológico de formação do polipirrol, em termos morfológicos e experimentais, para posterior adição dos polissacarídeos naturais (gomas);
- Produzir scaffolds a base de polipirrol com diferentes concentrações de polissacarídeos naturais;
- Analisar e caracterizar os polipirróis puros e os diferentes níveis de dopagem formados por aerogéis de polipirrol com as gomas, através das análises físico-químicas DRX, FT-IR, TG, BET, MEV, MET;
- Estudar o efeito da variação das proporções das gomas nos hidrogéis de polipirrol e dos polipirróis puros, através de ensaios de disco em atividade microbiológica;
- Avaliar a influência de todas as amostras, frente a citotoxicidade usando células fibroblásticas (L929) como teste inicial para determinar o potencial para aplicação na engenharia de tecidos musculares.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As metodologias utilizadas e escolhidas no estudo foram resumidas e esquematizadas através do fluxograma apresentado na Figura 13.



Figura 13 – Fluxograma das metodologias adotadas.

Fonte: Autoria própria.

3.1 Reagentes

Os reagentes utilizados no presente trabalho estão contidos na Tabela 04.

Tabela 04	4 – Lista	a de rea	igentes.
-----------	-----------	----------	----------

Reagente	Fonte
Pirrol	99%, Acros Organic
Alaranjado de metila	Dinâmica
Persulfato de amônio	Sigma
Goma xantana	200 MESH Synth
Isopropanol	P.A. NEON
Goma gelana	Sigma
Ácido fítico	50% (v/v) em H ₂ O, Sigma
Goma κ-carragena	Sigma
Cloreto de cálcio	P.A. VETEC

Fonte: Autoria própria.

3.2 Metodologia

As metodologias foram desenvolvidas com adaptações das sínteses realizadas por Pan *et al*, 2014 e Ying *et al*, 2016 para as amostras denominadas PPy I e PPy II respectivamente, e para os compósitos com os polissacarídeos naturais a síntese foi desenvolvida pela própria autora dessa dissertação [95,96].

3.2.1 Síntese de hidrogéis de polipirrol (sem as gomas) por duas metodologias.

(a) Metodologia PPy I

Adicionou-se em um béquer cerca de 0,822 g (3,6 mmol) de massa de persulfato de amônio (APS), sendo em seguida dissolvida em 1,5 mL de água deionizada, denominando-se de solução A. Em outro béquer foi preparada uma nova solução, denominada de B, misturando-se 252 µL de pirrol (Py) em 1,5 mL de isopropanol (IP), seguido por 552 µL de ácido fítico (PA) como evidenciado pela Figura 14.





Fonte: Autoria própria.

Após as preparações, as soluções A / B foram rapidamente arrefecidas separadamente até aproximadamente 4°C no freezer, além dos consecutivos passos que também podem ser observados através da Figura 15:

Figura 15 – Fluxograma do desenvolvimento da segunda parte da metodologia do PPy I.



Fonte: Autoria própria.

As soluções A e B foram rapidamente misturadas de forma mecânica, colocadas em uma placa de Petri (já arrefecida) e mantidas durante 2 horas, a fim permitir a ocorrência da reação. Para remover os íons em excesso, ácido e subprodutos, a película fina do gel PPy (PPy-seco) foi ainda purificada por imersão sequencial em excesso de etanol (12 h) e água deionizada (24 h). O filme PPy foi seco a 60°C sob vácuo na estufa SPLabor e foi reidratado para formar um hidrogel, pela adição de cerca de 2 mL de água deionizada (PPy I).

(b) Metodologia PPy II

Adicionou-se 1,1409 g (5 mmol) de persulfato de amônio (APS) a 100 mL de solução aquosa de 5 mmol/L de alaranjado de metila (MO), sob agitação. Em seguida, 347 μL (5 mmol) de pirrol (Py) e 461 μL (1 mmol) de ácido fítico (PA) foram adicionados na solução, mantendo-se a agitação por 5 min. Posteriormente, a mistura reacional foi mantida em repouso a 4°C durante 24 h para obter um precipitado preto pouco viscoso. Por fim, o hidrogel foi liofilizado

utilizando-se um equipamento LÍOTOP modelo L101 por 24 h, designado como PPy II como evidenciado pela Figura 16.



Figura 16 – Fluxograma da metodologia do PPy II.

Fonte: Autoria própria.

3.2.2 Síntese de hidrogéis de polipirrol (com as gomas)

Buscando minimizar tempo, reagentes e empregar a metodologia mais conveniente para a preparação de hidrogéis de PPy com as gomas escolhidas, observou-se que a metodologia proveniente do PPy II proporciona uma melhor formação de aerogéis em forma de *scaffolds*. Neste contexto, considerou-se o fato de que cada proporção de goma deverá ser adicionada a uma solução de maior volume por necessitar de uma boa diluição e homogeneização da mesma, além da formação de poros com a saída de água na liofilização. As metodologias modificadas para implementação das gomas e suas variações na composição estão descritas na Tabela 05.

Goma	Composição % (p/v)	Denominação	Abreviação
Grupo 1: Xantana	0,75 1,25 1,75	 PPy-Aerogel-Xantana 0,75 PPy-Aerogel-Xantana 1,25 PPy-Aerogel-Xantana 1,75 	X1 X2 X3
Grupo 2: Gelana	0,75 1,25 1,75	 PPy-Aerogel-Gelana 0,75 PPy-Aerogel-Gelana 1,25 PPy-Aerogel-Gelana 1,75 	G1 G2 G3
Grupo 3: κ- Carragena	0,75 1,25 1,75	 PPy-Aerogel-Carragena 0,75 PPy-Aerogel-Carragena 1,25 PPy-Aerogel-Carragena 1,75 	C1 C2 C3

Tabela 05 – Composição em massa das gomas.

Fonte : Autoria própria.

Cada composição das gomas foi dissolvida em 100 mL de H₂O deionizada com o auxílio de um agitador mecânico FISATOM modelo 712, até sua homogeneização e, posteriormente, adicionou-se cerca de 0,18 % (p/v) de CaCl₂ usado para reticular por 1 hora. Em seguida, foi adicionada a massa correspondente a 100 mL de uma solução de 5 mmol/L de alaranjado de metila, submetendo-se a agitação.

Após a reticulação, cerca de 1,1409 g (5 mmol) de persulfato de amônio, 347 μ L (5 mmol) de pirrol e 461 μ L (1 mmol) de ácido fítico foram empregadas na solução e deixadas em agitação por 5 min. Posteriormente, as misturas reacionais foram mantidas sem agitação a 4°C durante 24 h, para obter um hidrogel preto incorporado em cada goma e denominados como mostrado na Tabela 05. Cerca de 2 mL de cada amostra foram dispostas em poços de molde de silicone de fabricação própria medindo cerca de 15 mm, demonstrado pela Figura 17, e posteriormente colocados num liofilizador LÍOTOP modelo L101 por 24 h.



Figura 17 – Molde de silicone.

Fonte: Autoria própria.

3.3 Técnicas de Caracterização

3.3.1 Difratometria de raios X (DRX)

Os graus de ordenamento a médias e longas distâncias das amostras foram caracterizados por difração de raios X (DRX), utilizando um difratômetro SHIMADZU LabX modelo XRD-6000 com radiação monocromática CuK (λ = 1,5418 Å) com tubo operacional de 40kV e corrente de 30 mA, variando 20 de 5° a 60°, com uma velocidade de varredura de 2°/min. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Técnicas de Raios X (LMDCEM-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

3.3.2 Espectroscopia na região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para verificar os grupos funcionais dos hidrogéis de PPy, na ausência e presença de gomas, foram obtidos no estado sólido, a partir de amostras dispersas em pastilhas de KBr na região entre 4000 e 400 cm⁻¹ utilizando um espectrômetro de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) de marca Shimadzu, modelo IRPrestige-21. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

3.3.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

O comportamento térmico das amostras foi avaliado por análises termogravimétricas (TG) utilizando-se um equipamento da NETZSCH STA modelo 449 F1 Jupiter. As análises termogravimétricas foram realizadas com massas de cada amostra em torno de 10 mg, na faixa de temperaturas de 25 a 800 °C e com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹, sob atmosfera de nitrogênio. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Análises Térmicas (LMDCEM-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

3.3.4 Adsorção de Nitrogênio (BET)

A área de superfície média, volume e diâmetro de poros dos PPy puros foram medidos por adsorção de nitrogênio, usando um método Brunauer-Emmet-Teller (BET) multiponto e Barrett-Joyner-Halenda (BJH). As análises foram realizadas por um aparelho de fabricante NOVO e modelo 1200 nos Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão. Antes da análise, as amostras foram degasadas sob vácuo a 120°C por 3 horas.

3.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As características morfológicas e microestruturas das amostras produzidas foram determinadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando um microscópio modelo JEOL (JSM-5700), com operação entre 5 kV e 15 kV. As amostras foram recobertas com ouro para melhor contraste das imagens usando uma Metalizadora/Evaporadora da DENTON VACUUM (Desk V). As análises foram realizadas nos Laboratórios de Microscopia Eletrônica (LMDCEM-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

3.3.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A caracterização complementar morfológicas dos PPy obtidos e dos nanocompósitos foram determinadas por microscopia eletrônica de transmissão (MET) utilizando um microscópio modelo JEOL (1400-Plus), operando na voltagem 120 kV. As amostras foram suspensas em isopropanol e submetidas a

tratamento ultrassônico por 15 minutos para dispersar as partículas, posteriormente foram gotejadas sobre telas de cobre coberta por uma camada de carbono e Formvar[™]. As análises foram realizadas no Centro Multiusuário de Nanotecnologia (CMNano-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

3.3.7 Testes Biológicos

3.3.7.1 Método de Difusão em Ágar por Poço

A atividade antibacteriana foi determinada pelo método de difusão em ágar. Os testes foram realizados contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) e bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* ATCC 25992). Todos os experimentos foram realizados em triplicata, e usados a média do diâmetro dos halos. As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica Industrial (LBI-UFS) da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão.

Em um fluxo laminar foram depositados cerca de 30 mL da solução de ágar nutriente autoclavada nas placas de petri e mantidas em repouso por 1 horas para a secagem do meio nutriente, posteriormente, com o auxílio do tubo de ensaio autoclavado, foi realizado perfurações no agar formando um poço, e cerca de 2 mL do mesmo foi adicionado no fundo para cobrir parcialmente o poço da placa. Após a secagem do poço, cerca de 500 µL das amostras foram expostas na placa e procedeu-se com a inoculação da bactéria (que foram cultivadas 24 horas antes da inoculação em um caldo *brain heart infusion* (BHI)) através de soabes, posteriormente as placas ficaram a uma temperatura de 37,5°C por 24 horas.

3.3.7.2 Ensaios de Citotoxicidade

Para avaliar a biocompatibilidade das amostras frente às células, foram realizados ensaios de citotoxicidade, utilizando a linhagem de células fibroblásticas L929, no Laboratório de Biologia e Imunologia de Câncer e Leishmania (LaBICeL), da Universidade Federal de Sergipe – Campus São Cristóvão. Todos os ensaios seguiram a norma ISO 10993:5 (2009) [97].

As células L929 foram cultivadas em meio de cultura DMEM (Sigma-Aldrich®), suplementado com 10% de SFB (Soro Fetal Bovino), 2% de penicilina e estreptomicina (5000u/mL), e mantidas em incubadora à 37 °C, com atmosfera de CO₂ em 5%. A viabilidade celular foi obtida em triplicata, pelo método colorimétrico do 3-(4,5-dimetiltiazol-2yl) -2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT).

As amostras ficaram por 1 hora em exposição à luz ultravioleta, para esterilização, e em seguida, cerca de 50 mg foram colocados em contato com o meio de cultura por 24 horas. Os extratos resultantes foram atribuídos a uma placa de 96 poços contendo 5x10⁵ células/poço. Para o controle negativo usouse a mesma quantidade de células sem as amostras nas placas, e como controle positivo foi utilizado um meio de cultura contendo 10% de Dimetilsulfóxido (DMSO).

As placas foram incubadas por 24 horas, e logo em seguida, todo o meio de cultura foi retirado. Todas receberam adição de 200 μ L de MTT por poço e foram incubadas por 3h em estufa de CO₂. Após a retirada da solução de MTT, adicionou-se 200 μ L de Dimetil sulfóxido (DMSO), deixando reagir por 10 minutos, para solubilizar os cristais de formazan. Em seguida, foi realizada a leitura da densidade ótica (DO) em leitor de placas automatizado (ELISA), a um comprimento de onda de 570 nm.

3.3.8 Análise Estatística

A análise dos diâmetros de partícula fornecidos a partir dos histogramas das amostras das duas metodologias sem a adição das gomas, realizadas por MET, bem como o diâmetro dos halos de inibição foram coletados usando o *software* de domínio público FIJI-ImageJ. Os ensaios biológicos foram realizados em triplicada e os resultados obtidos da viabilidade celular foram aplicados em testes estatísticos, coletando a média ± desvio padrão.

Para todos os testes estatísticos propostos nessa seção, foram coletadas as médias \pm desvios padrões e as diferenças consideradas estatisticamente significantes foram avaliadas pela análise de variância ANOVA com o teste F num intervalo de confiança de 95% para *p*<0,05 no *software* Excel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Sínteses

Foram utilizados dois métodos diferentes de polimerização oxidativa química para produzir o PPy, como apresentado na Figura 18.

Figura 18 – Correlação entre os produtos resultantes das metodologias de obtenção dos PPy I e II.



Fonte: Autoria própria.

A principal diferença entre cada método foi baseada no tempo de polimerização, volume de precipitado, rendimento e tempo total de síntese, presença/ausência de alaranjado de metila, bem como aspectos que favoreçam a incorporação das gomas. Almejou-se comparar o efeito das metodologias sobre a morfologia e sobre a obtenção de hidrogéis mecanicamente autossustentados.

Durante a reação oxidativa com APS, Py estava disponível sob as seguintes condições: Py dissolvido em solução aquosa (metodologia para o PPy I); e Py adicionado em solução de MO (metodologia para o PPy II). Todos os métodos envolveram a polimerização de Py para PPy, detectados pela formação de sólidos de cor preta como observado na Figura 18. Na Figura 19 pode-se observar o processo reacional da formação do PPy adaptado do estudo feito por Tang *et al*, 2015 [98].





Fonte: Adaptada deTang et al, 2015 [98].

As amostras evidenciadas na Figura 18 possuem aspectos diferentes visualmente, uma vez que a amostra resultante da metodologia do PPy I possui uma formação rápida de PPy, um hidrogel com uma viscosidade de alta aderência e difícil remoção da placa de Petri, porém para sua purificação requer um maior tempo e menor rendimento impossibilitando a incorporação das gomas. Por outro lado, a amostra da metodologia de obtenção do PPy II possui um maior rendimento, menor tempo de síntese e polimerização, além de que o precipitado resultante da síntese após a liofilização, é quebradiço e sem nenhum suporte para scaffolds.

Sendo assim, essa metodologia seria a mais apropriada para a incorporação das gomas estudadas nessa dissertação, proporcionando uma solução reacional para formação de uma estrutura tridimensional e melhorias na síntese proposta. A escolha da metodologia proveniente do PPy II para a incorporação dos polissacarídeos naturais será discutida com mais detalhes nas próximas seções, valendo adiantar que requer um volume suficiente de solvente para a adição das gomas a fim de dissolvê-las nas concentrações escolhidas.

Em todas as amostras, o PPy é formado mediante a oxidação APS (PPy I e II), porém a gelificação ocorreu rapidamente depois que uma pequena quantidade de ácido fítico foi adicionada, como observado para todas as amostras. O ácido fítico apresenta uma toxicidade nula e se enquadra dentro dos reagentes considerados como "verdes" para o meio ambiente. Quando incorporado ao PPy, o ácido fítico influencia na formação de poros, e também apresenta características como ser um agente gelatinizante e dopante formando, em alguns casos, uma rede condutora de escala nanométrica [17–20].

Na produção dos nanocompósitos, observou-se a formação do PPy sobre a microestrutura dos hidrogéis das gomas xantana, gelana e κ-carragena representadas pela Figura 20 evidenciando a aparência macroscópica do hidrogel de PPy incorporados nas gomas após 24 horas de síntese a 4°C antes do processo de liofilização [99,100].





Fonte: Autoria própria.

Os grupos 1, 2 e 3 são referentes, respectivamente, às gomas xantana, gelana e κ-carragena e são designadas em ordem crescente de concentração das gomas. Observam-se escoamentos nos tubos dos grupos 1 e 2 com as concentrações mais baixas de goma. No caso da amostra G1, houve um escoamento total provavelmente devido à baixa interação com o PPy em sua cadeia polimérica. Observou-se que os monômeros de Py foram oxidados a PPy logo que o oxidante foi adicionado e, após a incorporação das gomas nas maiores proporções testadas, as características dos hidrogéis sugerem que se formaram aglomerados conectados entre si por uma rede tridimensional como demonstrado pela Figura 21.[84,85,101].



Figura 21 – Representação da rede tridimensional dos hidrogéis PPy com os polissacarídeos naturais.

Fonte: Autoria própria.



A Figura 21 representa, de modo simplificado, a estrutura dos hidrogéis de PPy com os polissacarídeos antes e depois do processo de liofilização, onde a cor azul clara designa a quantidade de água presente nos hidrogeis. O processo de liofilização consiste em remover toda água por sublimação de cristais de gelo a partir do material já congelado. Um dos principais objetivos durante esse processo é minimizar o tempo de secagem das amostras, sendo que a remoção da água resulta na formação de poros, beneficiando a penetração das células em uma aplicação biológica *in vitro* [102].

Após a remoção da água, sem o colapso da rede dos hidrogeis através da liofilização, são formados os aerogéis com aparência leve. Tais materiais apresentam características como área superficial relativamente elevada, com morfologia tipicamente porosa, além de uma densidade baixa e controlável. As amostras dos grupos 1, 2 e 3, após liofilização, são designadas de *scaffolds* por apresentarem essa rede tridimensional, como apresentado na Figura 21 e estão respectivamente agrupados fisicamente na Figura 22 [103].

Figura 22 – Representação dos *scaffolds* dos aerogéis de PPy com os polissacarídeos xantana, gelana e κ-carragena respectivamente.



Fonte: Autoria própria.

Para todos os grupos, os aspectos visuais dos aerogéis apresentaram diferenças significativas, pois a quantidade incerta de água presente nos aerogéis faz com que ocorram diferenças na altura, espessura, diâmetro e peso e, por isso não existe um padrão como a Figura 22 evidência.

4.2 Caracterizações dos PPy puros

4.2.1 Difratometria de raios X (DRX)

As características de ordenamento estrutural das amostras e a possível diferença no seu comportamento amorfo devido à presença e a ausência de MO foram avaliadas por difratometria de raios X, cujos difratogramas estão apresentados na Figura 23.





O gráfico denominado de PPy I é caracterizado pelo pico do PPy, largo e centrado em 20°, devido à natureza amorfa do polímero condutor. Este resultado é consistente com a existência de PPY, como descrito por Shrikrushna *et al,* 2015, Silva *et al,* 2016 e Elnahrawy *et al,* 2017 [10,104–106].

Quando comparamos com o PPy II, o mesmo apresenta dois halos principais de difração situados entre os ângulos 5-10° e 15-30° e tem

comportamento similar ao do PPy I, apresentando regiões de fase amorfa como estudado em Li, Yang e Zhang 2015, Yang *et al*, 2014, Li *et al*, 2013 além da revisão feita por Stejskal e Trchová 2018 [107–110].

Em ambos os difratogramas, a presença de picos de intensidade baixa, em conjunto com os halos, pode ser definida em $2\theta = 28^{\circ}$ e 31°, indicativos da presença de regiões com ordenamento parcial entre cadeias. A amostra de PPy II apresenta, ainda, dois picos sutis próximos a $2\theta = 17^{\circ}$ indicam regiões ordenadas adicionais [107–110].

4.2.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

O DRX não apresenta uma possível identificação dos grupos funcionais presentes na cadeia polimérica do PPy devido ao comportamento amorfo causada pela ausência de uma ordenação na sua estrutura como apresentado na seção 4.2.1, e, a fim de complementar essa informação, o FT-IR proporciona a identificação de moléculas maiores diferente do DRX que apenas identificaria moléculas menores. Devido a isso, as estruturas moleculares dos dois sistemas apresentados para a síntese de PPy são mostradas na Figura 24, ilustrando o espectro de FT-IR no intervalo de 400- 4000 cm⁻¹ a), seguidas pelas localizações do número de onda nas respectivas ligações químicas nas estruturas moleculares de PPy e MO separadamente b). Ambas as amostras apresentaram espectros semelhantes, indicando características estruturais análogas.

A principal diferença entre os espectros está na presença de bandas atribuídas ao MO no PPy II (identificada com asteriscos), que mesmo em baixa concentração foi possível comprovar através das sobreposições das bandas quando comparado com o PPy I e com o MO puro. Para o espectro do PPy II a banda em 903 cm⁻¹ está relacionada com a deformação do anel no estado bipolarônico, indicando uma possível dopagem do MO durante a síntese. Outras bandas sobrepostas referentes as vibrações de MO na síntese, são as banda em 1184 cm⁻¹, 1038 cm⁻¹ e 617 cm⁻¹ atribuídas às vibrações das ligações –SO₃ ou S=O, em 1279 cm⁻¹ ao estiramento das ligações N–H ou C–N e em 1547 cm⁻¹ as vibrações das ligações C–C ou S do anel [111].

Figura 24 – Espectro de FTIR de sistemas adequados para a síntese de PPy I e II (a) e representação do número de onda das localizações das ligações químicas de PPy e MO, separadamente (b).



Fonte : Autoria própria.

Ainda de acordo com os espectros, as principais bandas referentes a presença de PPy estão representadas pelas bandas observadas em 1547 cm⁻¹ (vibrações de estiramento das ligações C=C do anel pirrólico), em 1459, 1305 e 1189 cm⁻¹ (vibrações de alongamento da ligação C–N), em 1038 cm⁻¹ (vibrações de deformação no plano C-H e N-H), em 966 e 677 cm⁻¹ (vibrações de deformação do anel pirrólico fora do plano C–C ou à vibrações de balanço C–H) e indicando que o Py polimerizou em 780 e 653 cm⁻¹ vibrações dos anéis de Py correspondentes a C–H fora do plano [10,112–114].

Estudos realizados por Kopecký *et al*, 2017, Varga *et al*, 2015, Li *et al*, 2012, Stejskal e Trchová 2018 e Kopecká *et al*, 2016 comprovam que os espectros apresentados estao de acordo com o estudo e revelaram que é possível observar deslocamentos entre as bandas que podem ocorrer devido ao método de síntese utilizado, incluindo quantidade de iniciador usado para a polimerização, o tipo de dopante que pode influenciar na morfologia, como direcionador de estruturas, o MO, além dos tamanhos das cadeias poliméricas [20,110,112,115,116].

Com base nas informações extraídas das análises de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier pode-se ter melhor compreensão e que a estrutura das moléculas entre as metodologias é análoga e podem ser ajustáveis para a incorporação de dopantes em sua estrutura.

4.2.3 Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

As diferenças da estabilidade térmica das sínteses provenientes do PPy foram avaliadas através da análise termogravimétrica (TG), em atmosfera de nitrogênio, das amostras de PPy a partir da curva TG e suas respectivas derivadas são apresentadas na Figura 25 e 26.

Na Tabela 06 compara os valores de perda de massa nas diferentes faixas de temperatura para as amostras de PPy. As análises térmicas foram realizadas para se avaliar as diferenças no comportamento térmico do PPy obtido mediante os dois procedimentos. Observa-se que ambas amostras apresentaram perfis similares até a perda de massa principal, em torno de 150-450 °C, na qual o PPy

Il tem uma decomposição abrupta e bem definida, enquanto que o PPy I começa a se decompor a partir de 150°C, perdendo massa gradualmente até próximo aos 350 °C, respectivamente nas figuras 25 com os TG's e 26 com os DTG's.

Tabela 06 – Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos principaiseventos.

Amostras	Perda de massa (%)		
	25-150 ºC	150-450 ºC	Resíduo/Cinzas
PPy I	12,57	32,23	55,20
PPy II	7,02	73,06	19,92

Fonte : Autoria própria.

Figura 25 – Curvas de TG do PPy I e II.







De fato, o perfil observado para o PPy I se assemelha às curvas descritas na literatura (Li *et al,* 2015 e Stejskal e Trchová 2018) para a termogravimetria do PPy, o que sugere que a presença de MO no PPy II e/ou as diferenças no procedimento de preparação tenham influenciado o perfil térmico. Particularmente, para as amostras contendo o MO, a perda de massa referente à decomposição principal tem cerca é duas vezes maior do que para a amostra sem MO, como visto na Tabela 06.

Adicionalmente, através das curvas de DTG's na Figura 26 visualiza-se também uma similaridade entre suas curvas até suas respectivas degradações, nos intervalos de 25 a 150 °C, mostraram que as perdas de massa iniciais podem ser atribuídas a volatilização de compostos de menor massa molecular como água, e são conferidas, respectivamente, 12,57 e 7,02% para PPy I e II. A diferença de perda de água pode ser explicada devido a um caráter mais higroscópico aferindo maior valor para o PPy I, e ao processo de liofilização para o PPy II.

Outra observação relevante nas curvas DTG é que temperatura do pico referente à perda principal é mais alta para a amostra PPy II. Quando a temperatura alcançou 175°C, em ambos os casos, a perda de massa tornou-se mais evidente, pois a cadeia PPy começou a se decompor, como apresentado por Li *et al,* 2015 e Stejskal e Trchová 2018. Entre a faixa de 150 a 450 °C observa-se uma perda de massa ampla devido à degradação da cadeia polimérica do PPy de cerca de 32,23% para o PPy I. Quando comparamos a faixa de degradação dos TG's observa-se uma curva mais acentuada para o PPy II com perda massa de cerca de 73,03 % devido à degradação dos grupos insaturados do polímero, além disso ocorre um aumento na temperatura na faixa de degradação. Todos os valores obtidos são semelhantes e estão de acordo com a literatura. [20,107,117–121].

4.2.4 Adsorção de Nitrogênio (BET)

A área de superfície média foi determinada por adsorção de nitrogênio pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET), o volume e diâmetro de poros das metodologias para obtenção do PPy foram realizados pelo método Barrett-Joyner-Halenda (BJH) e estão listados na Tabela 07. As isotermas de adsorção/dessorção são apresentadas na Figura 27, a fim de avaliar qual a maior área superficial e tamanho de poros para incorporação das gomas.

Amostras	Área Superficial	Volume de Poro	Tamanho de Poro
	(m²/g)	(cm ³ /g)	(nm)
PPy I	259,065	0,2283	1,630
PPy II	291,077	0,2484	1,638

Tabela 07 – Análise por BET das amostras de PPy.

Fonte : Autoria própria.



Figura 27 – Curvas de isotermas do PPy I e II.

Na Figura 27 pode-se visualizar as isotermas de adsorção e dessorção A e B das amostras analisadas, as quais não conferem com a classificação da Internacional Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), apresentadas no

estudo de Cychosz e Thommes 2018. Apesar de não obter uma curva de isoterma dentro dessa classificação, seu comportamento apresenta similaridade com o estudo realizado por Basnayaka *et al*, 2013. Tal perfil também foi descrito para PANI no trabalho de Bahuguna *et al*, 2018 e, de modo geral, pode-se inferir que a ausência de um ponto de inflexão a baixas pressões relativas sugere-se a deficiência de identificar a formação de uma monocamada do gás adsorvido, pois as interações adsorvente-adsorbato são fracas e, provavelmente as moléculas de N₂ se agregam nas vizinhanças dos sítios de adsorção mais favoráveis [122–124].

A área superficial de uma amostra com o auxílio da adsorção de nitrogênio origina informações que complementam o estudo para selecionar a melhor metodologia que possa propor uma adesão e difusão mais favorável, para os testes biológicos apresentados nas próximas seções. De acordo com a Tabela 07, os valores obtidos para as áreas superficiais de ambas as amostras são superiores ou próximos a alguns trabalhos descritos na literatura, como em Xin *et al*, 2017, Zhao *et al*, 2016 e PPy le Li *et al*, 2017 e comparados na Tabela 08 [105,125,126].

Amostras	Área Superficial (m²/g)	Referência
PPy I	259,06	
PPy II	291,07	
PPy-Aerogel	43,00	[125]
PPy-derivado de carbono	205,00	[125]
PPy-nanofios	287,00	[105]
PPy com MO 0,1 M	61,06	[126]

Tabela 08 – Comparativo da área superficial da literatura com os resultadosobtidos das amostras de PPy [105,125,126].

Fonte : Xin et al, 2017, Zhao et al, 2016 e PPy le Li et al, 2017[105,125,126].

As distribuições dos tamanhos dos poros na Tabela 07 foram obtidas a partir das isotermas de dessorção pelo método BJH. O diâmetro médio dos poros das amostras apresentou valores similares de aproximadamente 1,630 nm e 1,638 nm para PPy I e PPy II, respectivamente, e dentro da classificação da IUPAC, para materiais nanoporosos, apresentaram uma categorização como

poros de tamanho micro dentro da faixa de 0-2 nm. Como amplamente relatado, quanto maior a quantidade de poros pequenos sobre a superfície da amostra, maior será a sua área superficial relativa.

4.2.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As morfologias das amostras estão representadas nas Figura 28 e 29, respectivamente para PPy I e II.

Figura 28 – Micrografias obtidas dos aglomerados das partículas do PPy I.





Figura 29 – Micrografias obtidas por MEV dos glóbulos das partículas do PPy II.

De modo geral, ambas apresentaram morfologias diferentes devido ao processamento distinto de síntese, podendo-se dizer que a morfologia se mostrou dependente do tipo de síntese usada na formação do PPy. Na Figura 28 é possível visualizar a polimerização do hidrogel de PPy I com uma morfologia rugosa de esferas irregulares e interconectadas, com diferentes diâmetros dispersos e aglomerados, característica de uma polimerização interfacial assim como em Silva *et al*, 2016 e Bo *et al*, 2018 [10,127].

Já na Figura 29, a amostra apresenta uma morfologia com aspecto poroso, em virtude de a metodologia de preparo envolver uma técnica de congelamento e posteriormente uma secagem por liofilização. Em princípio, isto pode conduzir a uma melhor adesão e movimentação das células pelo material, considerando-se as aplicações biológicas. Sua morfologia apresenta uma forma esférica tipicamente semelhante à couve-flor ou globular que é similar àquelas relatadas para PPy [20,116,128].

Na literatura, essas morfologias podem ser descritas como no estudo de Kopecká *et al,* 2016 por sintetizar PPy contendo o diferenciador de estrutura, o MO, produzindo morfologia globular ou fibrilar (dependerá da concentração de alaranjado adicionado na síntese) que pode formar nanotubos. Liang *et al,* 2017 elaborou uma síntese controlada de nanoestruturas de PPy com várias morfologias pelo ajuste dos parâmetros experimentais. Dentre elas, pode-se observar a mesma morfologia globular relatada nessa dissertação [116,128].

Mesmo usando uma concentração baixa de MO, a forma nanotubular inicia minoritariamente, evidenciado com setas amarelas nas micrografias de 3000x, 5000x e 10000x o começo da agregação das partículas globulares. Esse início de formação nanotubular acontece pelo uso do corante, que pode formar vários tipos de agregados moleculares, iniciando com micelas suaves, solido duro ou oco, até a formação tubular dos rearranjos dos carbonos presente na estrutura do PPy, como exemplificado pela Figura 30.

Figura 30 – Modelos macios ou rígidos (preto) iniciando o crescimento de nanotubos de PPy (rosa) com perfil transversal circular ou retangular, respectivamente.



Fonte : Adaptado de Kopecká et al, 2014 [129].

Stejskal e Trchová 2018 fez uma revisão sobre o papel do MO orientando a morfologia unidimensional destacando que, em determinadas condições de reação, variando-se a temperatura, a acidez ou a introdução de aditivos como corantes, pode-se controlar tanto a morfologia como a condutividade do PPy. Dentre as morfologias formadas a forma globular, está presente como a forma nanotubular [20].

4.2.6 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Buscando entender melhor o comportamento desses aglomerados globulares apresentados por MEV, a microscopia por transmissão detalha morfologia proporcionando investigar também sua estrutura e tamanho de partícula. Para obter as medidas do diâmetro dessas partículas, as imagens de MET foram submetidas a um processamento digital de imagens com o auxílio do *software,* de domínio público, FIJI-ImageJ considerando uma média de 150 medidas das partículas para produção dos histogramas com os resultados calculados e apresentados na Figura 31 e 32 e os diâmetros na Tabela 09.

Tabela 09 – Resultados dos tratamentos estatísticos com as médias/desvios padrões dos diâmetros presentes nos histogramas apresentados.

Amostra	Magnificação	Média (nm) ± SD	Média Total (nm) ± SD	
	10.000	33,38 ± 14,44		
DDv I	30.000	15,17 ± 9,10	*17 22 + 0 /0	
ггуі	60.000	9,62 ± 3,53	17,33 ± 9,49	
	100.000	11,13 ± 5,59		
	10.000	$42,45 \pm 20,90$		
PPy II	30.000	13,02 ± 5,72	*18 // + 1/ 03	
	60.000	8,18 ± 1,85	10,44 ± 14,03	
	100.000	11,29 ± 5,30		

SD: Standard deviation (Desvio-Padrão),* :p>0,05

Fonte: Autoria própria.
Figura 31 – Imagens de MET do PPy I com magnificação de (a) 10.000, (b) 30.000, (c) 60.000 e (d) 100.000 vezes e seus respectivos histogramas de distribuição granulométrica e diâmetros médios.



57

Figura 32 – Imagens de MET do PPy II com magnificação de (a) 10.000, (b) 30.000, (c) 60.000 e (d) 100.000 vezes e seus respectivos histogramas de distribuição granulométrica e diâmetros médios.



De acordo com as Figuras apresentadas, as partículas do PPy I aprestaram morfologia esférica (assim como a morfologia globular apresentadas nas micrografias por varredura na Figura 28), coberto por uma fina camada de PPy de diferentes densidades eletrônicas pela diferença entre os contrastes de cada glóbulo apresentadas em todas as imagens como nas Figuras 31 e 32 e de acordo com estudos da literatura [116,126,130–132].

Para o PPy I, os diâmetros médios das esferas foram cerca de 17,33 nm com desvio padrão de \pm 9,49, demonstrando que as partículas tiveram uma uniformidade em diferentes aumentos e que a síntese estabiliza o material nanoestruturado. Entretanto, as micrografias do PPy II apresentadas nas imagens da Figura 32 apresentaram semelhanças morfológicas com as micrografias do PPy I, porém essas esferas de diferentes densidades eletrônicas demonstram comportamento desconectado e aglomerado em esferas maiores, exibindo uma média de 18,44 nm com desvio padrão de \pm 14,03 [116,126,131,132].

De acordo com a Tabela 10 a média total dos diâmetros das duas metodologias apresentaram semelhança estatística apresentando uma confiança de 92%. Esse desvio padrão alto é explicado pelas micrografias da imagem A que apresenta esferas com um maior diâmetro comparado as outras imagens desse grupo, indicando que os diâmetros estão espalhados por uma extensa diferença de valores, além disso a escala nanométrica aumenta para essa metodologia.

O estudo realizado por Gniadek *et al*, 2014 desenvolveu uma metodologia com o auxílio de irradiação ultrassónica de compósitos nanoestruturados de ouro e prata com PPy obtendo tamanho de partículas de 20-30 nm, superior aos resultados apresentados para ambas as metodologias desenvolvidas nessa dissertação. Liow *et al*, 2018 sintetizou PPy e PANI ancorando a uma nanosílica para células solares e obtiveram diâmetro de partículas através de MET entre 23-30 nm para o PPy, enquanto que no presente estudo as partículas das duas metodologias apresentaram uma média de 17,88 nm [130,131].

Kaladevi *et al,* 2017 sintetizou um sensor de nanopartículas de prata dispersas em nanocompósitos de PPy e óxido de grafeno reduzido, para

detecção simultânea de hidrazina e nitrito tóxicos em fontes de água. Em suas imagens através do MET, sua estrutura núcleo-casca obteve em média 10 nm de diâmetro, além disso, o sensor possui boa sensibilidade, reprodutibilidade e um potencial para baixos limites de detecção [132].

A forma globular apresentada na seção 4.2.5 nas micrografias por varredura, para as amostras contendo MO (PPy II) são semelhantes a morfologia apresentada pelas micrografias por transmissão, e prevalece a morfologia globular como forma majoritária.

Na literatura o MO é utilizado como um direcionador de estrutura ou até mesmo oxidante, fazendo com que os glóbulos de PPy formados sejam decompostos em fibras/tubos em determinadas concentrações de MO, dependendo do seu comportamento ácido/básico. A forma ácida do MO direciona para uma formação globular, e para determinadas concentrações na sua forma alcalina, a forma nanotubolar tornaria majoritária. As estruturas das diferentes formas da molécula do MO estão apresentadas na Figura 33 [126].

Figura 33 – Estrutura molecular do MO respectivamente na forma ácida (a) e alcalina (b) [126].



Fonte: Adaptado de Li et al, 2017 [126].

Além de direcionar a morfologia na forma globular, a espécie ácida do MO proporciona uma diferença significativa na formação morfológica padrão do PPy, ou seja, aquela referente à ausência do MO (metodologia do PPy I). Portanto, o uso do MO na síntese para o PPy II tem apenas a função de melhorar essa formação globular comprovada pelo MEV e evidenciadas pelo MET. Vale ressaltar que, nessa dissertação, as aplicações biológicas da amostra PPy I envolveram o uso da amostra sem tratamento prévio, enquanto que para metodologia do PPy II e para os nanocompósitos, deram-se de duas formas: para as bactérias, o material utilizado foi o hidrogel antes da liofilização e secagem; para as células, o material foi neutralizado após a liofilização com o uso de um tampão fosfato-salino em pH 7,4.

4.2.7 Testes de Atividade Antibacteriana: Método de Difusão em Ágar por Poço

O método de difusão por poço utilizando ágar nutriente foi estudado a fim de identificar atividade antimicrobiana do PPy, sintetizado pelas duas metodologias diferentes, frente a bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli (ATCC* 25992).

A Figura 34^{ab} apresenta os halos de inibição, para o PPy I e II denominados, respectivamente de BI e BII seguidos da Tabela 10 com os valores em triplicata dos halos de inibição medidos através do *software*, de domínio público, FIJI-ImageJ. As áreas de cor mais clara ao redor das amostras são os locais onde não houve o crescimento de bactérias e as zonas de inibição são conferidas à atividade antibacteriana do material.

Figura 34– Halos de inibição do PPy via duas metodologias frente as bactérias Gram-positivas(a) (*Staphylococcus aureus [S.A]*) e bactérias Gram-negativas (b) (*Escherichia coli [E.C.]*) após 24 horas de inoculação.



Fonte : Autoria própria.

Bactéria	Amostra	Diâmetro (mm)	Média (mm) ± SD
		35,557	
*0.4	PPy I	39,501	37,92 ± 1,70
^ 5. A		38,692	
		51,667	
	PPy II	35,828	$40,69 \pm 7,78$
		34,561	
		34,406	
*5 0	PPy I	31,376	$30,91 \pm 3,06$
°Е. С		26,953	
		37,035	
	PPy II	30,785	$33,03 \pm 2,83$
		31,299	

Tabela 10 – Médias/desvios padrões dos halos de inibição.

SD: Standard deviation (Desvio-Padrão),* :p>0,05

Fonte : Autoria própria.

A Figura 34 demonstra que as amostras possuem um grande potencial como um agente bactericida para as duas metodologias usando as duas bactérias diferentes apresentadas nessa dissertação, estatisticamente não há uma diferença do diâmetro dos halos entre as duas metodologias e entre as bactérias utilizadas apresentando para todas as relações um nível de confiança de p>0,05. No entanto, os tamanhos dos halos comprovaram que a interação do polímero com os microrganismos resultou em uma morte significativa de bactérias, porém essa análise é apenas de cunho qualitativo.

Quando comparados as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, observamos valores superiores para os halos de inibição para as duas metodologias de obtenção do PPy com a inoculação na bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*, isso se deve a propriedade impermeável a espécies neutras ou carregadas aniônicas consequência da presença de fosfatos na sua parede celular.

Deste modo, é possível classificar a atividade bacteriana do PPy, em termos de zona de inibição, na seguinte ordem: *Escherichia coli < Staphylococcus aureus.* Se considerarmos a eficiência da ação bacteriostática

presente nas diferentes sínteses de PPy frente as bactérias teremos a seguinte ordem: PPy I E.C < PPy II E.C < PPy I S.A < PPy II S.A.

Alguns estudos na literatura reforçam que os testes realizados apresentaram resultados diâmetro de zona de inibição similares ou superiores, além de que a atividade bacteriostática para a S.A é significativa em comparação com a E.C, como no trabalho de Maráková *et al*, 2017 onde estudaram a atividade antimicrobiana e citotoxicidade do tecido de algodão revestido com polímeros condutores a PANI e o PPy e depositados com e sem nanopartículas de prata. [10,75,133,134].

Já Kumar *et al,* 2017 também fez um estudo de um biomaterial híbrido contendo quitosana, PANI e PPy para adsorção e atividade antimicrobiana. Silva *et al,* 2016 observou o comportamento antibacteriano do PPy e sua influência com a incorporação de aditivos em diversas morfologias, enquanto Upadhyay *et al,* 2015 desenvolveu nanotubos de PPy para atividade antibacteriana e hemolítica, com nanopartículas de prata. Em todos os resultados apresentados nessa dissertação para este tópico, os halos de inibição foram maiores que os artigos retirados da literatura e citados nesse parágrafo [10,75,133,134].

4.2.8 Ensaios de Citotoxicidade

Os testes de citotoxicidade são preliminares para avaliar a biocompatibilidade dos materiais, incluindo os polímeros. De acordo com as normas ISO 10993-5, os fibroblastos de camundongos L929 são células mais comumente usadas para determinar a citotoxicidade de polímeros após a aplicação dos seus extratos, contabilizando a viabilidade celular [97].

Foram utilizados ensaios de citotoxicidades através do método de MTT, desenvolvido para diversos testes, mas também para esse tipo de ensaio celular, que estão apresentados na Figura 35 com um comparativo entre os controles positivos e negativos [97]. Figura 35 – Comparativo do ensaio de citotoxicidade das metodologias I e II, controle positivo e controle negativo. Os asteriscos representam p< 0,05 vs controle negativo e as linhas tracejadas destacam os limites da viabilidade de acordo com a norma ISO 10993-5 [97].



De acordo com a Tabela 1 na seção Anexo, podemos fazer a classificação da citotoxicidade de materiais conforme os níveis de viabilidade celular resultantes conforme a norma ISO 10993-5 (2009). Na Figura 35, a partir da linha tracejada, todas as duas metodologias apresentaram, em comparação ao controle negativo (sem a adição das amostras), um nível não citotóxico. Em ambos os casos, isto indica que as duas metodologias apresentaram biocompatibilidade >90% [97].

As análises estatísticas revelaram que o PPy I e II não apresentaram diferença estatística significante em relação ao controle negativo com p>0,05, e, quando comparados entre eles também não foram apresentados resultados considerados significantes.

Estudos apresentados na literatura, confirmam o potencial do PPy como um biomaterial, promovendo uma biocompatibilidade em testes de citotoxicidade como no estudo realizado por Humpolíček *et al,* 2018 comparando a biocompatibilidade do PPy e da PANI com analises de citotoxicidade e embritoxcicidade, obtendo resultados semelhantes ao apresentado na Figura 35, além da similaridade na metodologia adotada desse estudo utilizando o extrato, como foi realizado [74].

Outro trabalho envolvendo um estudo citotóxico do PPy e da PANI foi realizado por Quintero *et al*, 2018 que desenvolveram matrizes de biossensores desses polímeros apresentando resultados excelentes em biocompatibilidade em diferentes tipos de oxidantes. Um trabalho semelhante ao dessa dissertação realizado por Zhao *et al*, 2018 apresentando *scaffolds* de PPy e fibroína de seda para reparo de tecido neural, com ensaios *in vitro* de citotoxicidade com células L929 obtendo resultados significativos como os que foram apresentados [135,136].

Ambas as amostras da Figura 35 apresentaram ensaios *in vitro* satisfatório e significativos, porém, mesmo obtendo esse resultado os indícios da metodologia proveniente do PPy II ainda permanece superior ao comparado com o PPy I, como já explicado nas seções anteriores a metodologia II foi a escolhida para dar continuidade ao estudo da dopagem dos polissacarídeos escolhidos para essa dissertação.

4.3 Caracterizações dos Nanocompósitos

4.3.1 Espectroscopia na Região do Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

As estruturas moleculares dos nanocompósitos, com diferentes concentrações das gomas xantana, gelana e κ -carragena, foram avaliadas por FT-IR no intervalo de 400- 4000 cm⁻¹ e estão apresentadas, respectivamente, nas Figuras 36, 37 e 38.

Figura 36– Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma xantana, xantana pura e do PPy II.





Figura 37– Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma gelana, gelana pura e do PPy II.



Figura 38– Espectro por infravermelho das diferentes concentrações dos nanocompósitos da goma κ- carragena, κ-carragena pura e do PPy II.

Os resultados dos espectros das Figuras 36, 37 e 38 evidenciaram semelhanças espectrais entre os nanocompósitos das diferentes gomas. Em consequência disso, a Figura 39 apresenta a junção dos espectros dos nanocompósitos em um único gráfico. Suas convergências podem ser explicadas pela estrutura molecular polissacarídica comum, por englobar grupos funcionais semelhantes como apresentadas nas Figuras das seções 1.5.1, 1.5.2 e 1.5.3.

Ainda nas Figuras 36, 37 e 38, o espectro referente ao PPy II já foi discutido na seção 4.2.2, porém para comparação com os nanocompósitos podemos evidenciá-las na Tabela 11, apresentando as principais bandas de todos os espectros em questão.

A Figura 39 ilustra o conjunto dos espectros no infravermelho dos diferentes grupos de nanocompósitos, permitindo uma visualização mais clara das semelhanças nas posições e algumas sobreposições das bandas principais.

Figura 39– Comparação e semelhanças dos espectros de infravermelho dos nanocompósitos.



Na Tabela 11, resumem-se as posições e atribuições das principais bandas referente a todos os espectros dos nanocompósitos, do PPy, e das gomas empregadas de forma pura para fim comparativo.

A	Espectros FT-IR (cm ⁻¹)											
Amostras	υ (COO-)	ῡ (COOH)	<i>v</i> (C=C)	<i>v</i> (N-H)	<i>v</i> (C=O)	<i>v</i> (C−O)	<i>v</i> (C−N)	<i>v</i> (C-O-C)	<i>v</i> (О-Н)	<i>v</i> (C−H)	<i>v</i> (C−H)	<i>υ</i> (SO₃⁻)
PPy II			1624	3415			1304			855		1700
Xantana P.	1615	1476			1526	1409		1058	3487		1409	
Gelana P.	1619	1462			1529	1410		1050	3487		1410	
K-carragena P.	1627	1429			1656	1421		1047	3448		1421	1240
X1	1622	1448	1629	3415	1548	1409	1318	1079	3415	880	1409	1710
X2	1626	1455	1626	3420	1548	1402	1321	1072	3420	875	1402	1719
Х3	1635	1472	1629	3426	1552	1407	1317	1093	3426	882	1407	1709
G1	1635	1444	1632	3478	1545	1402	1328	1047	3478	876	1402	1712
G2	1622	1450	1639	3478	1552	1402	1323	1049	3478	884	1402	1715
G3	1627	1447	1643	3483	1550	1407	1328	1057	3483	879	1407	1710
C1	1639	1472	1621	3489	1538	1400	1326	1058	3489	879	1400	1710
C2	1633	1451	1624	3500	1544	1403	1335	1067	3500	889	1403	1716
C3	1643	1457	1630	3485	1547	1404	1317	1049	3485	855	1404	1706

 Tabela 11 – Resumo das bandas identificadas por FT-IR do PPy II, gomas puras e dos nanocompósitos

[20,82,86,110,112,116,129,137–141].

Fonte : Autoria própria.

A Tabela 11 apresenta as principais bandas que corroboram as estruturas das amostras estudadas. Para o PPy II, sua discussão encontra-se na seção 4.2.2 onde foi comparado a outra metodologia proposta para a síntese do PPy nessa dissertação e detalhadamente explicado [20,110,112,116,129,138].

As bandas principais da goma xantana, em 1615 e 1476 cm ⁻¹, podem ser atribuídas a grupos COO⁻ e COOH, respectivamente. Bandas adicionais, em 1526 cm ⁻¹ e 1409 cm⁻¹, são referentes as ligações C=O e estiramento das ligações C-O ou C-H. As fortes vibrações do grupo O-H se aproximam em 3487 cm⁻¹, além das ligações glicosídicas observadas entre 1010-1080 cm⁻¹, centralizada particularmente em 1058 cm⁻¹. O espectro da goma gelana apresenta bandas características em 1619 cm⁻¹ referente ao grupo carboxilato (COO⁻) e as bandas em 1462 cm⁻¹ equivalem as ligações dos grupos COOH. Regiões de alongamento do grupo O-H podem ser vistas em 3487 cm⁻¹ e em 1050 cm⁻¹ as vibrações das ligações C-O-C evidenciando as ligações glicosídicas [13,81,82].

A goma κ-carragena se distingue das gomas xantana e gelana, por apresentar um grupo éster sulfato, confirmado em seu espectro pela banda em 847 cm⁻¹ referente a D-Galactose-4-sulfato e entre 1210 e 1260 cm⁻¹ aos grupos S=O do éster sulfato. Outras bandas adicionais são evidenciadas em 1627, 1429, 3448 e 1047 cm⁻¹ atribuídas, respectivamente, a ligações COO⁻, COOH. O-H e C-O-C [86,137,139–141].

Os espectros de FT-IR dos nanocompósitos revelaram que todos as bandas características das gomas estudadas e do PPy existem na estrutura do produto final das amostras sintetizadas conforme a Figura 39, evidenciando também uma semelhança entre os espectros, além do aumento da intensidade das bandas, que estaria relacionado ao aumento da concentração das gomas xantana, gelana e κ-carragena. Essa semelhança entre os espectros por FT-IR de polissacarídeos naturais pode ser encontrado no estudo de Darzi *et al,* 2012 sendo que ele variou a concentração da goma xantana obtendo espectros semelhantes [81].

Por exemplo, o compósito X3 tem bandas características em 1635, 1472, 1552, 1407 1629, 3426, 1317, 882, 1093, 3462 e 1709 cm⁻¹ que são atribuídas,

respectivamente aos grupos COO⁻,COOH, C=O e C-O da goma xantana, C=C, N-H,C-N e C-H do PPy, C-O-C das ligações glicosídicas, O-H banda da estrutura da goma xantana e SO₃⁻ relacionado a adição do MO na sínteses do PPy II e dos nanocompósitos. Todas as bandas características são relatadas na Tabela 11 e a proposta das estruturas dos nanocompósitos na Figura 40, como no estudo realizado por Darzi *et al,* 2011 que propôs a estrutura para a goma xantana, mas como a goma gelana e κ-carragena possui grupos funcionais semelhantes, podemos atribuir também sua estrutura [20,82,86,110,112,116,129,137–141].

Figura 40 – Representação estrutural dos nanocompósitos sintetizado simbolizando com a) b) e c) respectivamente, as gomas xantana, gelana e κ-carragena na estrutura molecular dos monomeros de PPy em preto.



ÓН

4.3.2 Análise Termogravimétrica (TG/DTG)

O comportamento térmico dos nanocompósitos foi avaliado através de medidas TG, em atmosfera de nitrogênio. Vale ressaltar que a identificação dos principais eventos está apresentada na seção 4.2.3 com a determinação do evento relacionado a presença do PPy II nas amostras dos nanocompósitos, e para a presença das gomas xantana, gelana e κ-carragena foram utilizados dados da literatura segundo os trabalhos de Bueno *et al*, 2015, Darzi *et al*, 2012 [10,81,82].

As amostras contendo goma xantana X1, X2 e X3 estão apresentadas na Figura 41 e suas respectivas derivadas na Figura 42. Posteriormente a Tabela 12 informa a perda de massa dos nanocompósitos.





Figura 42 – Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma xantana.



Tabela 12 – Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventosprincipais dos nanocompósitos de goma xantana.

Nanocompósitos	Perda de massa (%)					
Nanocompositos	25-150 ºC	150-225ºC	225-450 ^⁰ C	Resíduo		
X1	8,66	16,18	36,61	38,56		
X2	12,02	18,01	29,60	40,36		
X3	8,50	23,08	24,97	43,45		

Fonte : Autoria própria.

As Figuras 41 e 42 ilustram os resultados das análises termogravimétricas dos nanocompósitos de PPy e goma xantana sintetizados. A Tabela 12 compara os valores de perda de massa nas mesmas faixas de temperatura que o PPy II

escolhido da metodologia II para a incorporação das gomas. As análises térmicas foram realizadas para se avaliar as diferenças, no comportamento térmico, da adição de diferentes concentrações da goma xantana no PPy.

Observa-se que todas as amostras dos nanocompósitos X1, X2 e X3 apresentaram perfis similares até a perda de massa principal, em torno de 150-400°C e que a perda de massa acontece através de três eventos principais. Inicialmente, os nanocompósitos apresentam perdas de massa associadas à volatilização de compostos de menor massa molecular como água. Em comparação com o PPy puro, essa perda inicial é maior devido a moléculas como -OH presente em abundância na estrutura molecular da goma xantana.

O segundo evento leva a uma perda de massa em torno de 150-225°C, que pode ser atribuída pela presença da goma xantana em diferentes concentrações além de possíveis subprodutos com baixo ponto de degradação. O terceiro evento acontece em torno de 225-450 °C iniciando a perda de massa principal devido a decomposição da cadeia polimérica do PPy como apresentado na seção 4.2.3 com a curva da primeira derivada na mesma faixa de temperatura. Podemos observar na Figura 42 a curva da primeira derivada, que começa em temperatura mais alta do que a degradação térmica da goma xantana pura segundo dados dos estudos realizado por Bueno *et al*, 2015 e Darzi *et al*, 2012 [81,82].

Na Figura 42, as curvas das derivadas dos nanocompósitos demonstram uma diferença de intensidade após o primeiro evento considerado pela evaporação de água, os dois próximos eventos, considerados principais apresentam uma inversão com a concentração. O primeiro evento principal em torno de 150-225 °C exibe o comportamento da goma xantana nos nanocompósitos, conforme aumenta a concentração da goma em relação ao PPy formado, ocorre um aumento na perda de massa como apresentado na Tabela 12, mas também apresenta uma diminuição de temperatura para início da degradação da goma xantana na mesma proporção.

O segundo evento acontece em torno de 225-450 °C, com a degradação da cadeia polimérica do PPy, ou seja, à medida que a concentração da goma xantana aumenta, os valores em percentual de perda de massa correspondente

ao PPy diminuem, ou seja, quanto menor a concentração mais ele vai se aproximar do mesmo comportamento térmico apresentado para o PPy II puro na seção 4.2.3

Bueno *et al*, 2015 e Darzi *et al*, 2012 apresentam trabalhos relacionando o PPy e a goma xantana como um nanocompósito, com resultados similares ao apresentado nessa dissertação. Além disso, as conclusões se igualam para análises termogravimétricas, ou seja, de acordo com os valores dos resíduos ou cinzas gerados, à medida que aumenta a proporção na concentração da goma xantana esses valores de cinzas oscilaram, determinando então que ocorre uma estabilidade térmica dos nanocompósitos de goma xantana e PPy sintetizados [10,81,82].

As amostras da goma gelana G1, G2 e G3 estão apresentadas nos gráficos presente na Figura 43 e suas respectivas derivadas na Figura 44. Posteriormente a Tabela 13 informa a perda de massa dos nanocompósitos.





Figura 44 – Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma gelana.



Tabela 13 – Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventos principais dos nanocompósitos da goma gelana.

Nanocompósitos	Perda de massa (%)					
Nanocompositos	25-150 ºC	150-225 ºC	225-450 ^⁰ C	Resíduo		
G1	7,40	16,14	36,31	40,15		
G2	9,80	18,57	27,83	43,80		
G3	7,79	21,37	26,98	43,87		

Fonte : Autoria própria

As Figuras 43 e 44 exibem os resultados das análises termogravimétricas dos nanocompósitos de PPy e goma gelana sintetizados e suas respectivas derivadas. A Tabela 13 compara os valores de perda de massa nas mesmas faixas de temperatura que o PPy II escolhido da metodologia II para a incorporação das gomas. Com base nos resultados obtidos dos nanocompósitos

de goma xantana e PPy poderemos comparar a estabilidade térmica para essa goma, pois, na literatura resultados para comportamento térmico da goma gelana e PPy juntos, até a presente data, ainda não foram reportados.

Na Figura 43 as amostras dos nanocompósitos G1, G2 e G3 apresentaram perfis similares com os nanocompósitos da goma xantana, esse aspecto também apresenta analogia entre si até a perda de massa principal, em torno de 150-225°C. A perda de massa acontece através de três eventos principais como apresentadas em X1, X2 e X3, a fase inicial, em torno de 90 °C, representa à desidratação da umidade absorvida pelos aerogéis, ou seja, ocorre a evaporação de compostos de menor massa molecular como água.

O segundo evento envolve uma perda de massa em torno de 150 °C, que pode ser atribuída ao início da decomposição das cadeias polimérica da goma gelana com a eliminação também de materiais voláteis, resultante de ácidos e subprodutos da reação. A última etapa acontece em torno de 225-450°C iniciando a perda de massa principal correspondente a PPy II, devido à pirólise da espinha dorsal dos polissacarídeos, resultando na decomposição da cadeia polimérica.

Através da Figura 44, a curva da derivada demonstra uma inversão nas intensidades relativas dos dois principais eventos na curva DTG após a liberação de água. No primeiro evento em 150-225°C, à medida que aumenta a concentração da goma gelana na cadeia polimérica do PPy ocorre um aumento significativo de perda de massa como apresentado na Tabela 13, mas diminui a faixa de temperatura de degradação da goma gelana na mesma proporção.

No segundo evento, em torno de 225-450 °C, à medida que a concentração da goma gelana aumenta, os valores em percentual de perda de massa diminuem, ou seja, quanto menor a concentração mais ele vai se aproximar do mesmo comportamento térmico apresentado para o PPy II puro na seção 4.2.3.

Estudo de estabilidade térmica através de análise termogravimétrica entre o PPy e a goma gelana, até a presente data, são inéditos na literatura, apenas contendo os mesmos separadamente. Tais estudos poderiam ser utilizados como referencial para essa análise. Desta forma, como as gomas apresentam semelhanças entre suas cadeias polimericas, estudos realizados com a goma xantana foram aqui usados para descrever os resultados obtidos no estudo com a goma gelana [10,81,82,142].

Além disso, a PANI é o polímero condutor que mais se aproxima do PPy ao comparar a sua estrutura. No trabalho realizado por Karthika *et al,* 2015, estudou-se a condução elétrica através de micro-ondas entre enxertos de goma gelana e da PANI. Em suas caracterizações, as curvas de TG apresentaram similaridade entre as obtidas nesse estudo com o PPy e a goma gelana nessa dissertação [143].

Os nanocompósitos contendo a goma κ-carragena C1, C2 e C3 estão apresentadas nos gráficos presente na Figura 45, e suas respectivas derivadas na Figura 46 e a perda de massa na Tabela 14.



Figura 45 – Curvas TG's dos nanocompósitos da goma κ-carragena.

Figura 46 – Primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG's) dos nanocompósitos da goma κ-carragena.



Tabela 14 – Perda de massa (%) por faixa de temperatura dos três eventos principais dos nanocompósitos da goma κ-carragena.

Nanocompósitos	Perda de massa (%)					
Nanocompositos	25-150 ºC	150-225 ºC	225-450 ºC	Resíduo		
C1	10,21	11,16	39,29	39,34		
C2	9,79	14,24	31,05	44,92		
C3	11,71	15,67	30,79	41,83		

Fonte : Autoria própria

As Figuras 45 e 46 expõem os resultados das análises termogravimétrica dos nanocompósitos de PPy e goma κ-carragena das diferentes concentrações e suas respectivas primeira derivada. A Tabela 14 faz uma comparação entre os valores calculados da perda de massa dos nanocompósitos na mesma faixa de

temperatura que o PPy II que foi escolhido como a metodologia a ser adotada para incorporação das gomas.

Na Figura 45 as amostras dos nanocompósitos C1, C2 e C3 apresentaram perfis similares com os nanocompósitos da goma xantana, esse aspecto também apresenta relação quando comparamos os gráficos até a perda de massa principal, em torno de 150-300 °C.

Como apresentado para as outras duas gomas, a perda de massa acontece através de três eventos principais, inicialmente temos a perda de água em torno de 90°C, representado pela desidratação causada devido a capacidade de absorção de água comum nos aerogéis e por ela apresentar baixa massa molecular. Em comparação com as outras duas gomas, a perda de massa do primeiro evento para a κ-carragena é maior que a gelana, xantana e para o PPy II, para as gomas esse comportamento pode ser explicado pela quantidade de moléculas -OH presente na estrutura molecular.

O evento seguinte, entre 150 e 225°C, pode ser conferido a decomposição inicial das cadeias poliméricas da goma κ -carragena em conjunto com os materiais volátil resultante de subprodutos da reação como ácido fítico que não foram ligados a estrutura da goma κ -carragena por apresentar poucas moléculas em seu monômero. Já a última etapa, entre 225 e 450°C, acontece a perda de massa principal dos nanocompósitos atribuídos a decomposição da cadeia polimérica resultante da pirólise das moléculas de PPy.

Através da Figura 46 apresentando a curva da primeira derivada das curvas termogravimétricas, relacionando os três eventos destacados anteriormente e entre eles os eventos principais após a desidratação/liberação de água. No primeiro evento é atribuído a goma κ-carragena, entre 150-225 °C, à medida que aumenta a concentração da goma κ-carragena na cadeia polimérica do PPy, ocorre um aumento da perda de massa, mas esse comportamento se mantem na mesma faixa de temperatura mesmo variando a concentração como apresentado na Tabela 14. Vale ressaltar que para C1 o evento aparece de forma mascarada decorrente do aumento abrupto da perda de massa relacionado ao PPY e pela diminuição da faixa de temperatura do início da degradação do mesmo.

O segundo evento é atribuído ao PPy devido a decomposição da sua cadeia polimérica em comparação aos gráficos de TG da seção 4.2.3, os valores em percentual de perda de massa decaem, à medida que aumentam a concentração da goma κ-carragena, mas em relação ao PPy II, a faixa de temperatura de degradação diminui. Em todos os eventos podemos perceber uma contraversão entre os valores, ou seja, as concentrações são inversamente proporcionais as perdas de massa, mantendo uma estabilidade térmica para todas as concentrações.

Esse comportamento termogravimétrico apresenta semelhança no estudo realizado por Rahaman *et al,* 2018 que sintetizaram o PPy usando dois tipos diferentes da goma carragena, a iota e a kappa, via síntese química e eletroquímica, nesse estudo resultados similares das decomposições da goma em relação ao PPy, ou seja, primeiro a goma se decompõe e posteriormente o PPy [144].

Podemos perceber que entre os principais eventos das três gomas utilizadas apresentam uma analogia entre suas primeiras derivadas, além do comportamento das curvas termogravimétricas. As gomas xantana, gelana e κ-carragena apresentam uma similaridade em suas cadeias moleculares e a interligação com o PPy se da mesma forma entre todas elas, por conta disso as curvas têm uma semelhança, sendo atribuído o primeiro evento a evaporação de agua, o segundo evento a degradação da goma e o terceiro evento a degradação do PPy, além de outras características semelhantes serão apresentados nas próximas seções .

Fazendo um comparativo entre os resultados obtidos para as diferentes concentrações das gomas xantana, gelana e κ-carragena, em relação ao PPY resulta em uma degradação acelerada do PPy devido ao aumento da quantidade da goma, que se decompõe em uma temperatura mais baixa. Portanto, os nanocompósitos sintetizados resultaram em uma estabilidade térmica melhorada em relação ao PPy puro sem a adição de nenhuma concentração das gomas.

As morfologias dos nanocompósitos estão representadas nas Figuras 47^{abc} , com concentrações de goma xantana, respectivamente de 0,75, 1,25 e 1,75% (p/v).

Figura 47 (a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X1 e das partículas do PPy II.





Figura 47 (b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X2 e das partículas do PPy II.

Figura 47 (c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos do grupo da xantana X3 e das partículas do PPy II.



De modo geral, as variações da concentração para o grupo da xantana exibiram a presença do PPy com morfologia rugosa, esferas regulares/ irregulares. Para a goma xantana, observa-se uma formação de estrutura morfológica tipo folha e algumas regiões poligonais, além dos poros devido a retenção de água e sua saída no processamento de liofilização [10,47,81,82,145].

Para as concentrações X1 e X3, a morfologia característica das esferas do PPy aparece de forma definida, em contraste com a amostra X2, para a qual essas esferas estão aglomeradas e interconectadas. A goma xantana fica evidente em todas as concentrações pela presença da morfologia tipo folha nas magnificações de 100 vezes e, apenas em X1 e X3 as estruturas poligonais podem ser observadas numa magnificação de 5000 vezes. Todas as amostras apresentaram uma combinação de característica entre o PPy e a goma xantana, na qual a estrutura porosa da goma xantana e o arranjo das cadeias de PPy aparecem de forma paralela na superfície morfológica da goma, o que é favorecido pela natureza planar das cadeias de PPy [82].

Essas esferas regulares e irregulares nas micrografias são característica da polimerização do PPy como estudado por Silva *et al*, 2016 e Bueno *et al*, 2015. Por outro lado, estruturas tipo folha, que torna o sistema mais homogêneo devido à criação da rede com interações, deve-se a presença da goma xantana como no estudo de Krstonošića *et al*, 2015 e a morfologia geométrica poligonal da goma xantana pode ser vista no trabalho realizado por Luvielmo *et al*, 2016 [10,47,81,82,145].

Trabalhos presentes na literatura relacionados com a interação entre a goma xantana e o PPy demonstram que a morfologia obtida nesse estudo está de acordo com aquelas já descritas. Por exemplo, as morfologias aqui observadas mostram semelhanças com o estudo realizado por Bueno *et al*, 2015 que desenvolveu *scaffolds* através de eletropolimerização da goma xantana e do PPy para testes biológicos em células fibroblásticas [10,47,81,82,145].

As morfologias presentes nas Figuras 48^{abc} referem-se os nanocompósitos da goma gelana nas concentrações de 0,75, 1,25 e 1,75% (p/v), respectivamente.

Figura 48 (a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G1 e das partículas PPy II.





Figura 48 (b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G2 e das partículas do PPy II.



Figura 48 (c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da Gelana G3 e das partículas do PPy II.

Nas micrografias das amostras G1, G2 e G3 com a menor magnificação, 100 vezes, pode-se observar a morfologia padrão da maioria dos polissacarídeos, com estrutura tipo folha. O PPy pode ser identificado pela presença de aglomerados globulares na superfície rugosa e ramificada da goma gelana, para os maiores magnificações [10,84,85,127,146–148].

Em todas as concentrações pode ser observada a presença da goma gelana. Em G1, G2 e G3, a porosidade aparente diminui com o aumento da concentração da goma como nas micrografias com uma magnificação de 100 vezes. A estrutura morfológica geométrica poligonal pode ser vista pela agregação das partículas da goma. Esse comportamento é comum para a maioria dos polissacarídeos similares a goma xantana. O aumento da concentração permite obter uma superfície plana em determinadas áreas, que por consequência, promove uma adesão e proliferação com resultados favoráveis para aplicação biológica [47].

Mohd *et al*, 2016 realizou um estudo de hidrogéis de goma gelana e argila para aplicação na engenharia de tecidos e avaliou seu comportamento mecânico, térmico, a viabilidade celular e as propriedades antibacterianas, semelhantes ao estudo dessa dissertação. A estrutura morfológica apresentada nesse estudo e nos estudos de Silva-Correia *et al*, 2011, Dewan *et al*, 2017 e em maiores aumentos no estudo de Kytyr *et al*, 2017 encontram-se de acordo com os resultados obtidos para todas as variações das concentrações da goma gelana [146–149].

Higgins *et al,* 2011 realizou um estudo de revestimentos protéticos neurais de PPy dopado com a goma gelana obtendo morfologia similar à do grupo da goma gelana. Trabalhos associando o PPy e a goma gelana para aplicação biológica ainda são minoria quando pesquisados na literatura como na presente dissertação. No entanto, a morfologia resultante do grupo da gelana, aqui obtida, tem similaridade com aquela do estudo desenvolvido por Berti *et al,* 2017 que promove a síntese e caracterização de hidrogéis esponjosos eletroativos de goma gelana para aplicações de engenharia de tecidos musculares esqueléticos [84,85].

As morfologias presentes nas Figuras 49^{abc} representam os nanocompósitos da goma κ -carragena nas concentrações de 0,75, 1,25 e 1,75% (p/v), respectivamente.

Figura 49 (a) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C1 e das partículas do PPy II.





Figura 49 (b) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C2 e das partículas do PPy II.


Figura 49 (c) – Micrografias obtidas por MEV dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da κ-carragena C3 e das partículas do PPy II.

Nas diferentes concentrações de κ-carragena em C1, C2 e C3, as micrografias demonstraram que a morfologia padrão da goma está visivelmente presente numa magnificação de 100 vezes, apresentando uma estrutura similar as outras gomas exibidas nesse estudo. Como já mencionado, essa morfologia

é padrão da maioria dos polissacarídeos, com estrutura morfológica tipo folha [150–155].

O PPy pode ser identificado pela presença de aglomerados globulares na superfície rugosa e ramificada da goma κ-carragena para todas as concentrações, evidenciando a menor concentração C1, onde os glóbulos aparecem de forma definida numa magnificação de 15000 vezes. Este aspecto difere das outras concentrações, C2 e C3 que, com o aumento da proporção da goma, os glóbulos se tornam aglomerados e perdem sua estrutura globular, tornando a superfície áspera e rugosa [20,86,110,112,116,129,138,156].

A morfologia definida do PPy presente nas micrografias de C1, está de acordo com a literatura como no estudo realizado por Esmaeili *et al,* 2017 que produziu um biossensor de DNA à base de nanopartículas da goma κ-carragena, PPy e partículas de ouro para determinação de um gênero de peixes, com morfologia globular bem definida a baixas concentrações da goma [156].

Essa superfície foi identificada também no estudo da síntese química e eletroquímica de PPy usando κ-carragena como dopante realizado por Rahaman *et al,* 2018. Nele, revelou-se uma superfície lisa com o aumento da concentração da goma κ-carragena, em conjunto com a morfologia globular do PPy. Resultados semelhantes também foram observados para PPy dopado com outros polissacarídeos, como ácido hialurônico e goma de gelana [144].

Todas as gomas apresentaram uma homogeneidade na rede do aerogel com uma estrutura porosa e similar entre cada composição dos grupos da goma xantana, gelana e κ-carragena. Essa estrutura pode promover características morfológicas com resultados significativos em testes mecânicos e de absorção de água (como perspectivas futuras nesse estudo), além da sua aplicabilidade para promover testes biológicos positivos (apresentado nas próximas seções).

4.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A morfologia complementar por MET proporciona uma avaliação em escala nanométrica dos nanocompósitos estudados e estão apresentadas nas

micrografias das Figuras 50^{abc} para os grupos das gomas xantana, gelana e κ -carragena representados respectivamente.

Figura 50 (a) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma xantana.





Figura 50 (b) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma gelana.



Figura 50 (c) – Micrografias obtidas por MET dos nanocompósitos pertencentes ao grupo da goma κ-carragena.

De modo geral, a variação da concentração estabelecida na metodologia para adição das gomas no PPy, para todos os grupos (xantana, gelana e κ-carragena) exibiram uma similaridade entre as suas morfologias, assim como apresentado nas micrografias por MEV. Por conta disso apenas imagens por grupo foram apresentadas, pois a variação da concentração não exibe diferenças significativas dentro de cada grupo.

Como exibido na seção 4.2.6 para a estrutura do PPy sem a adição das gomas, sua morfologia característica é unanime em todas as micrografias

exibindo características análogas as micrografias por MEV, expondo uma morfologia globular, com partículas aglomeradas ou interconectadas entre si de diferentes tamanhos na escala nanométrica que são atribuídas ao PPy em diferentes densidades eletrônicas. Adicionalmente, observam-se aglomerados tipo folha ao longo de uma estrutura com um contraste diferente , rede densa e fibrosa comum na maioria dos polissacarídeos naturais e utilizados nesse estudo [116,126,131,132].

Essa diferença de contraste pode ser atribuída a densidades eletrônicas diferentes entre o PPy e as gomas, apresentando uma morfologia núcleo-casca como no um estudo de Esmaeli *et al*, 2014 que sintetizou e aplicou o PPy incorporado a κ -carragena como um catalisador em células de combustível microbiano, em suas imagens de MET ele confirma a morfologia com uma estrutura núcleo-casca (do inglês, *core-shell*) entre o polipirrol e a goma κ -carragena, a casca seria o polissacarídeo natural, que tem propriedades individuais externas e um contraste menor, e o PPy como o núcleo, com uma maior densidade eletrônica consequentemente maior contraste [86].

Com a adição das gomas, diferente das micrografias de PPy sem sua presença, os aglomerados mostram-se mais interconectados, como em uma rede tridimensional, assim como foi proposto pela Figura 21 e comprovada pelas micrografias por MET. Vale ressaltar as micrografias do grupo da gelana que proporcionaram a formação de nanotubos, que auxiliam na formação de uma rede tridimensional mais homogênea e favorável para a adesão celular.

A presença de nanotubos para o grupo da gelana pode ser explicado pela acidez e basicidade provocada pela goma, que influencia na forma ácida do MO direcionando não somente a formação globular, mas também a formação nanotubolar que seria majoritária se fosse totalmente alcalina. A formação desses nanotubos requer uma otimização das concentrações dos reagentes e a ordem específica no momento da mistura. Particularmente, em alta concentração quando adicionado junto com o oxidante, os nanotubos se formam com uma secção transversal retangular. Por outro lado, quando o MO prémistura com o monômero de Py (antes do oxidante), os nanotubos se formam com baixos diâmetros e longos comprimentos [26,116,126,128,157].

Como em alguns resultados nessa dissertação, a metodologia proposta e desenvolvida nesse estudo impede que sejam feitas validações com os resultados apresentados junto com a literatura. No caso das imagens MET, não há, até a presente data, trabalhos micrografias que contenham o PPy e as gomas utilizadas nesse estudo com esse tipo de metodologia. Porém, alguns trabalhos apresentando as gomas como único componente, sem a incorporação do PPy, podem ser citados como no estudo de Qazi *et al*, 2017 com o uso de espessantes comerciais, dentre eles a goma xantana para estudos reológicos em disfagia. Outro estudo contendo a goma xantana foi realizado por lftekhar *et al*, 2018 fabricando novos nanocompósitos de hidróxido duplo lamelar com goma xantana para adsorção de elementos de terras raras [158,159].

Gaillard *et al*, 2016 desenvolveram um estudo em várias escalas monitorando a arquitetura de conjuntos de surfactantes aniônicos de κ -carragena e glicina betaína amida catiônica por diluição. Oliveira *et al*, 2009 fizeram um estudo da incorporação da goma gelana para a engenharia de tecido. Todos os trabalhos apresentados nessa seção trazem caracterizações incluindo a MET, onde apresentaram similaridades morfológicas com os resultados desse estudo, para as gomas xantana, gelana e κ -carragena [160,161].

4.3.5 Testes de Atividade Antibacteriana: Método de Difusão em Ágar por Poço

O método de difusão por poço utilizando ágar nutriente foi estudado a fim de identificar atividade antimicrobiana dos nanocompósitos obtidos pela junção do PPy e das diferentes concentrações dos polissacarídeos frente a bactérias Gram-positivas como *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli (ATCC* 25992) após 24 horas de inoculação.

As Figuras 51^{abc} apresentam os halos de inibição, para os nanocompósitos da goma xantana, gelana e κ-carragena respectivamente, seguidos da Tabela 15 com os valores em triplicata dos halos de inibição medidos através do *software*, de domínio público, FIJI-ImageJ. Como apresentados nos resultados das metodologias sem a adição dos polissacarídeos, as áreas de cor mais clara ao redor das amostras são os locais

onde não houve o crescimento de bactérias e as zonas de inibição são conferidas à atividade bacteriostática.





Fonte : Autoria própria.

Figura 51 (b) – Halos de inibição dos nanocompósitos da goma gelana frente as bactérias (a) *S.A* e (b) *E.C.*



Fonte : Autoria própria.

Figura 51 (c) – Halos de inibição dos nanocompósitos da goma κ-carragena frente as bactérias (a) *S.A* e (b) *E.C.*



Fonte : Autoria própria

Bactéria	Goma	Nanocompósito	Diâmetros (mm)			Diâmetro médio (mm) ± SD
*S. A	Xantana	X1	42,12	33,94	35,96	37,74±3,48
		X2	43,94	36,01	37,02	38,99±3,53
		X3	44,45	37,88	36,89	39,74±3,35
	Gelana	G1	35,55	38,74	38,78	37,69±1,55
		G2	44,84	36,77	37,34	39,62±3,68
		G3	48,35	37,50	37,77	41,20±5,05
	к- carragena	C1	39,95	31,95	32,51	34,80±3,65
		C2	36,78	31,74	30,88	33,13±2,60
		C3	33,85	32,74	31,39	32,66±1,01
E.C	Xantana	X1	24,79	26,23	26,69	25,90±0,81
		X2	26,06	25,48	23,86	25,14±0,93
		X3	24,75	26,28	25,05	25,36±0,66
	Gelana	G1	33,79	33,53	33,22	33,51±0,23
		G2	38,88	38,58	38,59	38,69±0,14
		G3	32,28	31,54	31,79	31,87±0,31
	к- carragena	C1	31,16	25,68	29,71	28,85±2,32
		C2	27,80	24,76	27,09	26,55±1,30
		C3	23,33	22,01	22,80	22,71±0,54

Tabela 15 – Médias/desvios padrões dos halos de inibição dos nanocompósitos.

SD: Standard deviation (Desvio-Padrão),* :p>0,05

Fonte :	Autoria	própria.
---------	---------	----------

Estatisticamente, não há uma diferença do diâmetro dos halos, quando relacionamos o teste G, para todos os grupos usando a bacteria S.A ocorrendo uma semelhança entre os valores apresentando um nível de confiança de p>0,05 simbolizado por (*) na Tabela 15, porém, quando fazemos as seguintes relações: entre todos os grupos de todas as bactérias, para cada grupo e bactérias diferentes e entre todo os grupos e a bacteria E.C, ocorre uma divergência entre seus valores, obtendo um nível de confiança de p<0,05.

As Figuras 51^{abc} evidenciaram o potencial bacteriostático para todos os grupos estudado nessa dissertação. No entanto, os tamanhos dos halos comprovaram que a interação do PPy com os polissacarídeos se deve a ação em conjunto. Ou seja, os polissacarídeos como componente único, sem nenhuma ação de aditivos, não apresentaram inibição devido a sua origem bacteriana apresentadas na Figura 1 do Apêndice. Porém, quando associadas com o PPy com concentrações variáveis de polissacarídeos, haverá diferença entre as formações dos halos de inibição como demonstrado na Tabela 15 e apresentadas nos parágrafos seguintes.

Quando se comparam as duas bactérias estudadas, observam-se valores superiores para os halos de inibição de todos os grupos com a inoculação na bactéria gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Isso se deve a propriedade impermeável a espécies neutras ou carregadas aniônicas, em consequência da presença de fosfatos na sua parede celular como observado para os PPy sem a adição das gomas.

Avaliando-se separadamente os grupos, para cada bactéria, podemos observar para a *Staphylococcus aureus* que o grupo da xantana e da gelana apresentaram uma proporcionalidade entre a variação da concentração e o diâmetro das zonas de inibição, aumentando os halos com o aumento da concentração. Para o grupo da κ-carragena a variação da concentração e as zonas de inibição são inversamente proporcionais, ou seja, o aumento da concentração diminui os halos de inibição, isso se deve ao menor teor de sulfato da κ-carragena.

Para a *Escherichia coli* os grupos da xantana não apresentaram diferença significativa entre o aumento da concentração e os halos de inibições formados. Já para o grupo da gelana, o aumento do halo de inibição foi evidenciado quando usado a concentração de 1,25 % (p/v) da goma em comparação com as outras concentrações estudadas, e para a κ-carragena observamos o mesmo comportamento apresentado para a *Staphylococcus aureus*.

Fazendo a média dos resultados para cada variação de concentração das gomas usadas, podemos observar que para a *Staphylococcus aureus* a goma gelana obteve uma média maior de inibição em comparação com a goma

xantana e κ-carragena respectivamente. Para a *Escherichia coli*, o mesmo resultado pode ser observado em comparação a κ-carragena e a xantana, respectivamente. Deste modo, é possível classificar a atividade bacteriana dos nanocompósitos de PPy e polissacarídeos, em termos de zona de inibição, na seguinte ordem: *Escherichia coli < Staphylococcus aureus* como observado para as amostras sem a adição das gomas.

Se considerarmos a eficiência da ação bacteriostática presente na variação da concentração dos polissacarídeos em função do PPy, frente as bactérias, teremos a seguinte ordem por grupo: Xantana E.C > κ-carragena E.C > κ-carragena S.A > Gelana E.C > Xantana S.A > Gelana S.A.

A aplicação biológica usando bactérias Gram-positivas e Gram-negativas para esse sistema de síntese usando polissacarídeos (as gomas xantana, gelana e κ-carragena) agregado ao PPy, até a presente data, ainda é inédita na literatura. Entretanto, estudos abordando o potencial bacteriostático dos polissacarídeos podem ser encontrados como na revisão de kumar *et al*, 2018. Nestes, alguns autores prepararam hidrogéis baseados em goma xantana e quitosana associados com ouro via uma rota química minimizando o uso de solventes e reagentes orgânicos, evidenciando uma boa atividade antibacteriana por inibição de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas [13].

Rukmanikrishnan *et al,* 2019 realizaram uma misturas de nanocompósitos à base de goma gelana, goma xantana e óxido de zinco para aplicação em embalagens com propriedades reológicas e antimicrobianas favoráveis exibindo halos inferiores aos relatados nesse estudo tanto para a S.A e para E.C, porém exibindo efeito antibacteriano forte para as mesmas. Já no estudo realizado por Zhu *et al,* 2019 a κ-carragena foi usada em uma síntese verde junto com outro obtendo boa estabilidade aquosa, baixa citotoxicidade e uma atividade antibacteriana robusta com halos de inibições também inferiores para os tipos de bactérias utilizado nessa dissertação [162,163].

Como relatado anteriormente, na seção 4.2.7, para testes de atividade antibacteriana no mesmo método de difusão em ágar por poço, o PPy sozinho para a síntese que foi incorporado os polissacarídeos apresenta inibição e os resultados obtidos correlacionando com a literatura já foram apresentados na seção.

4.3.6 Ensaios de Citotoxicidade

Para avaliar a citotoxicidade após a incorporação das gomas na estrutura do polipirrol foram utilizados ensaios em triplicata com fibroblastos de camundongos L929, de acordo com as normas ISO 10993-5, também seguindo as mesmas especificações que foram realizadas anteriormente, com as amostras sem a adição das gomas, aplicando em seus extratos, contabilizando a viabilidade celular. Os ensaios estão apresentados na Figura 52^{abcd} com um comparativo entre os controles positivos, controle negativo e a amostra da metodologia II para comparação no lugar do controle positivo. Os asteriscos representam p< 0,05 vs controle negativo e as linhas tracejadas destacam os limites da viabilidade de acordo com a norma ISO 10993-5 [97].

Figura 52 (a)– Comparativo do ensaio de citotoxicidade dos nanocompósitos da goma xantana, PPy II, controle positivo e controle negativo.



Na Tabela 1 na seção Anexo, podemos fazer a classificação através dos os níveis de viabilidade celular resultantes conforme a norma ISO 10993-5 (2009). Na Figura 52^a, superior a linha tracejada, todas as variações de concentração da goma xantana com o PPy II apresentaram, em comparação ao controle negativo (somente células), um nível não citotóxico levando ou não em consideração os desvios padrões. Além disso, quando adotamos o controle negativo sendo o PPy II percebemos que para todas as concentrações obtemos resultados superiores com a adição da goma xantana, também obtendo resultados não citotóxico e ambos são constantes em relação a concentração [97].

Bueno *et al*, 2015 fizeram um estudo relacionando da biocompatibilidade da goma xantana junto com o PPy para aplicação como um biomaterial também no formato de uma estrutura tridimensional como apresentado nessa dissertação. Seus resultados foram semelhantes aos obtidos nessa seção quando comparados aos resultados de 24 horas, nesse estudo. Além da citotoxicidade eles avaliaram também o potencial biocompatível com a proliferação celular tanto da goma xantana pura, quando dela com o PPy obtendo resultados de cerca de 32% superior, quando incorporado ao PPy [82].

Outro estudo relacionando a goma xantana como um polissacarídeo natural com potencial a engenharia de tecido foi realizado por Kumar *et al*, 2017 com uma revisão sobre os principais trabalhos apresentados até a data da sua publicação relacionando o potencial tanto *in vitro* quanto *in vivo* da utilização da goma xantana com outros materiais e com o PPy. Entre os artigos contidos nessa revisão, as aplicações *in vivo* trazem resultados que incentivam a continuidade desse estudo para uma proliferação e posteriormente uma aplicação *in vivo* dos scaffolds em um tecido muscular lesionado [13].

Os ensaios da citotoxicidade da goma gelana com o PPy estão apresentados na Figura 52^b trazendo um comparativo entre os controles positivo, negativo e o PPy II.



De acordo com a Tabela 1, conforme a norma ISO 10993-5 (2009) todas as variações de concentração da goma gelana com o PPy II apresentaram, em comparação ao controle negativo (somente células), a classificação em nível não citotóxica levando ou não em consideração os desvios padrões. Quando adotamos o controle negativo sendo o PPy II percebemos que para as concentrações de 1,75 e 0,75% (p/v) da goma gelana em relação ao PPy, os resultados são superiores respectivamente, e para a concentração de 1,25, os resultados são semelhantes quando comparamos ao PPy II, todos os resultados obtidos são superiores com a adição da goma gelana, também obtendo resultados não citotóxico [97].

Como já apresentado anteriormente na seção 1.7, Berti *et al,* 2017 realizaram um estudo de hidrogeis esponjosos com a goma gelana e o PPy em forma de *scaffolds* para aplicações em engenharia de tecido muscular esquelético, eles desenvolveram três métodos diferentes de polimerização oxidativa química *in situ* e a goma Gelana foi empregada na concentração de

1,25% (p/v) também reticulada com o CaCl₂ como nessa dissertação. Em todos os casos, a aplicação em células da linhagem L929 evidenciou um comportamento não citotóxico, assim como obtido e apresentado na Figura 49^b e também em outras concentrações da goma gelana, superior e inferior a 1,25% (p/v). O papel da goma gelana como um polissacarídeo natural com potencial para engenharia de tecido foi apresentado por Stevens *et al*, 2016 com uma revisão de diversos artigos que promovem estudos para essa aplicação como *in vitro* e *in vivo*, além da suas características de fácil processamento e custo de síntese [83,85].

Os ensaios da citotoxicidade da goma κ-carragena com o PPy estão apresentados na Figura 52^c trazendo um comparativo entre os controles positivo, negativo e o PPy II.

Figura 52 (c) – Comparativo do ensaio de citotoxicidade dos nanocompósitos da goma κ-carragena, PPy II, controle positivo e controle negativo.



Conforme a Tabela 1, apresentada em Anexos, todas as variações de concentração da goma κ-carragena apresentaram, em comparação ao controle negativo o nível de classificação não citotóxico em consideração ou não dos desvios padrões acima de 90% de viabilidade. Quando adotamos o PPy II como controle negativo, percebemos que para a concentração de 1,25% (p/v) da goma κ-carragena em relação ao PPy os resultados são superiores assim como as outras duas concentrações, porém a concentração majoritária é a de 1,25% (p/v). Assim, como ao comparar o PPy II com as concentrações, todos os resultados obtidos são superiores com a adição da goma κ-carragena, também obtendo resultados superiores a 90% [97].

Na seção 1.7 destacamos o potencial biocompatível, até mesmo a aplicação *in vitro* e *in vivo* do PPy sozinho e dele com os polissacarídeos naturais escolhidos para essa dissertação. Para a goma κ-carragena até a presente data trabalhos envolvendo em conjunto com o PPy ainda não foram explorados, portanto, para fim comparativo e validado apenas essa função separada das aplicações biológicas foram apresentados na seção.

Rode *et al,* 2018 realizou um estudo de hidrogeis de kappa-carragena em forma de scaffolds para carreamento de células estromais multipotentes derivadas da pele, eles obtiveram resultados que proporcionaram um potencial dos scaffolds para entrega e até mesmo crescimento e manutenção *in vitro*. Além disso suas caracterizações acomodaram resultados que seriam capazes também de atuar como um sistema de entrega de células à pele ferida e um sistema de administração para várias aplicações, além da cicatrização de feridas na pele [164].

Para melhor visualização de todos os resultados, a Figura 25^d apresenta todos os grupos reunidos em comparação ao PPy II (metodologia adotada para a incorporação das gomas) que será o controle negativo para relacionar a viabilidade celular sem a adição das variações de composição das gomas no ensaio de citotoxicidade.





Um resumo apresentado na Figura 52^d podemos atribuir que, todas as amostras e todas as concentrações foram superiores à 90%. O comparativo estatístico resultante, fazendo algumas relações, revelaram que, para todas as concentrações, não apresentaram diferença estatística significante em relação ao controle negativo com p>0,05, e, quando correlacionados entre as diferentes concentrações e entre o controle negativo sendo adotado com o PPy II, também não apresentaram resultados considerados significantes.

Vale ressaltar que a aplicabilidade biológica para uma a goma xantana por exemplo, serviria de exemplo para desenvolver um estudo sobre os resultados obtidos para a goma κ-carragena, que não possui estudos relacionando-a com o PPy até a presente data. O comparativo delas pode ser aplicado devido a sua similaridade em grupos funcionais e em relação a suas características.

5 CONCLUSÕES

As análises físico-químicas (DRX, FT-IR, TG, BET, MEV e MET) permitiram visualizar que as duas metodologias empregadas foram eficazes, confirmando a polimerização do PPy e permitindo escolher a melhor metodologia, a metodologia II, para a incorporação e aplicação dos polissacarídeos naturais seguindo os requisitos básicos para cada análise.

A aplicação biológica das amostras oriundas das duas metodologias frente a difusão de discos para atividade antimicrobiana resultou na formação de halos de inibição com diâmetros significativos para as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, indicando que o biomaterial pode ser usado como agente bactericida com propriedade bacteriostáticos (antimicrobiano) tanto para bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Os resultados de citotoxicidade permitiram concluir que as duas metodologias empregadas não resultaram em nenhuma citotoxicidade em contato com as células fibroblásticas (L929), mas o percentual relacionado ao PPy II resultou no extrato que apresentou maior viabilidade celular.

Os *scaffolds* dos nanocompósitos, foram produzidos com diferentes concentrações de polissacarídeos naturais em relação ao PPy. Para as análises de FT-IR, todas as gomas apresentaram semelhanças em seus espectros em consequência das similaridades das suas moléculas, porém foi possível identificar que as diferentes concentrações não influenciaram. O comportamento térmico dos nanocompósitos evidenciou, para todas as gomas, uma diminuição na faixa de decomposição do PPy quando comparado ao PPy II.

Através das análises morfológicas com o MEV e MET, foi possível identificar as morfologias globulares do PPy e em folhas das gomas para o MEV e para o MET as morfologias núcleo-casca das ligações entre o PPy e as gomas, respectivamente denominado como núcleo e casca. Ainda nas imagens MET o aparecimento dos nanotubos para o grupo da goma gelana, proporcionou comprovar o envolvimento entre o direcionador de estrutura utilizado, o MO, nas estruturas dos nanocompósitos, onde foi a única goma que promoveu o aparecimento dessa morfologia. Portanto, a adição das gomas com todas as

concentrações, trazem melhorias significativas para a estrutura polimérica do PPy.

Assim como avaliado para as duas metodologias empregadas, os ensaios de disco em atividade microbiológica dos nanocompósitos apresentaram um aumento significativo dos halos de inibição, comparado ao PPy sozinho do PPy II, frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, para todas as concentrações das gomas utilizadas, destacando o grupo da goma gelana e da Xantana que obteve resultados superiores comparado a goma κ-carragena, frente as duas bactérias.

Para os ensaios de citotoxicidade frente a células fibroblásticas (L929) todas as concentrações das gomas utilizadas foram superiores em termo de viabilidade celular comparado com os resultados do PPy II, o grupo da goma xantana não obteve resultados significativos entre a variação da concentração mantendo uma linearidade na percentagem da viabilidade celular, a concentração de 1,25 % (p/v) da goma gelana apresentou uma inferioridade nesse ensaio similar em comparação ao PPy II. O grupo da goma κ-carragena apresentou melhores resultados para esse ensaio com viabilidades superiores comparados aos outros grupos. Vale ressaltar que mesmo que apresente uma diferença nos gráficos, o tratamento estatístico comprovou que não há diferença significante entre eles.

Portanto, a introdução das gomas xantana, gelana e κ -carragena nas concentrações 0,75, 1,25 e 1,75% (p/v) na estrutura polimérica do PPy, proporcionaram melhorias significativas para formação de uma estrutura tridimensional com características mínimas para aplicação do material na engenharia de tecidos esquelético musculares.

6 PERSPECTIVAS DO TRABALHO

Em continuidade a este trabalho de dissertação sugere-se:

- Avaliar o potencial dos hidrogeis em estudos de reológicos com as diferentes concentrações das gomas utilizadas;
- Avaliar a influência da incorporação das gomas nas propriedades mecânicas dos scaffolds em comparação a estrutura do PPy preparado;
- Avaliar os nanocompósitos e o PPy II no processo de adesão, diferenciação e proliferação celular;

7 REFERÊNCIAS

- [1] Callister, W. D. *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*; Livros Técnicos e Científicos, 2008.
- [2] Sebastião, V.; Canevarolo, J. *Ciência Dos Polímeros—Um Texto Básico Para Tecnólogos e Engenheiros*; Química Nova, 2010.
- [3] Lima, P. H. C.; Fonseca, D. F.; Braz, C. J. F.; Cunha, C. T. C. Polímeros Condutores Com Propriedades Eletrocrômicas : Uma Revisão. **2018**, *1*, 1–17.
- [4] Imani, A.; Ghadim, M.; Farzi, G. Synthesis of PPy–Silver Nanocomposites via in Situ Oxidative Polymerization. *J. Nanostructure Chem.* **2014**, *4*.
- [5] Balint, R.; Cassidy, N. J.; Cartmell, S. H. Conductive Polymers: Towards a Smart Biomaterial for Tissue Engineering. *Acta Biomater.* **2014**, *10* (6), 2341–2353.
- [6] Álvarez-Paino, M.; Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Antimicrobial Polymers in the Nano-World. *Nanomaterials* **2017**, *7* (2), 1–44.
- [7] Beyth, N.; Houri-Haddad, Y.; Domb, A.; Khan, W.; Hazan, R. Alternative Antimicrobial Approach: Nano-Antimicrobial Materials. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2015**.
- [8] Omastová, M.; Bober, P.; Morávková, Z.; Peřinka, N.; Kaplanová, M.; Syrový, T.; Hromádková, J.; Trchová, M.; Stejskal, J. Towards Conducting Inks: Polypyrrole– Silver Colloids. *Electrochim. Acta* 2014, *122*, 296–302.
- [9] Yuqi, Y.; Asiri, A. M.; Du, D.; Lin, Y. Acetylcholinesterase Biosensor Based on a Gold Nanoparticle–Polypyrrole–Reduced Graphene Oxide Nanocomposite Modified Electrode for the Amperometric Detection of Organophosphorus Pesticides. *Analyst* **2014**, *139*.
- [10] da Silva Jr., F. A. G.; Queiroz, J. C.; Macedo, E. R.; Fernandes, A. W. C.; Freire, N. B.; da Costa, M. M.; de Oliveira, H. P. Antibacterial Behavior of Polypyrrole: The Influence of Morphology and Additives Incorporation. *Mater. Sci. Eng. C* 2016, *62*, 317–322.
- [11] Varesano, A.; Vineis, C.; Aluigi, A.; Rombaldoni, F.; Tonetti, C.; Mazzuchetti, G. Antibacterial Efficacy of Polypyrrole in Textile Applications. *Fibers Polym.* 2013, 14 (1), 36–42.
- [12] B. Shelke, N.; James, R.; T. Laurencin, C.; Kumbar, S. Polysaccharide Biomaterials for Drug Delivery and Regenerative Engineering. *Polym. Adv. Technol.* **2014**, *25*.
- [13] Kumar, A.; Madhusudana, K.; Soo, S. Application of Xanthan Gum as Polysaccharide in Tissue Engineering : A Review. *Carbohydr. Polym.* 2018, 180 (August 2017), 128–144.
- [14] Campoccia, D.; Montanaro, L.; Arciola, C. R. A Review of the Biomaterials Technologies for Infection-Resistant Surfaces. *Biomaterials* 2013, 34 (34), 8533– 8554.
- [15] Pires, A. L. R.; Bierhalz, A. C. K.; Moraes, Â. M.; Pires, A. L. R.; Bierhalz, A. C. K.; Moraes, Â. M. BIOMATERIALS: TYPES, APPLICATIONS, AND MARKET. *Quim. Nova* 2015, *38* (7), 957–971.
- [16] Nascimento, M. H. M. do; Lombello, C. B.; Nascimento, M. H. M. do; Lombello, C.

B. Hidrogéis a Base de Ácido Hialurônico e Quitosana Para Engenharia de Tecido Cartilaginoso. *Polímeros* **2016**, *26* (4), 360–370.

- [17] Wang, N.; Dai, H.; Wang, D.; Ma, H.; Lin, M. Determination of Copper lons Using a Phytic Acid/Polypyrrole Nanowires Modified Glassy Carbon Electrode. *Mater. Sci. Eng. C* 2017, *76*, 139–143.
- [18] Rong, Q.; Han, H.; Feng, F.; Ma, Z. Network Nanostructured Polypyrrole Hydrogel/Au Composites as Enhanced Electrochemical Biosensing Platform. *Sci. Rep.* 2015, *5*, 11440.
- [19] Ge, X.; He, Y.; Plachy, T.; Kazantseva, N.; Saha, P.; Cheng, Q. Hierarchical PANI/NiCo-LDH Core-Shell Composite Networks on Carbon Cloth for High Performance Asymmetric Supercapacitor. *Nanomaterials* **2019**, *9*, 527.
- [20] Stejskal, J.; Trchová, M. *Conducting Polypyrrole Nanotubes : A Review*; Springer International Publishing, 2018; Vol. 72.
- [21] Tikish, T. A.; Kumar, A.; Kim, J. Y. Study on the Miscibility of Polypyrrole and Polyaniline Polymer Blends. *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2018**, *2018*.
- [22] Tzankova, D.; Vladimirova, S.; Peikova, L.; Georgieva, M. Synthesis of Pyrrole and Substituted Pyrroles (Review). *J. Chem. Technol. Metall.* **2018**, *53*, 451–464.
- [23] Runge, F. F. Ueber Einige Produkte Der Steinkohlendestillation. *Ann. Phys.* **1834**, *107* (5), 65–78.
- [24] Ludwig Harreus, A. Pyrrole. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; 2000; pp 615–618.
- [25] Medeiros, E. S.; Oliveira, J. E.; Paterno, L. G.; Mattoso, L. H. C. Uso de Polímeros Condutores Em Sensores. Parte 1: Introdução Aos Polímeros Condutores. *Rev. Eletrônica Mater. e Process.* 2012, *2*, 62–77.
- [26] Yang, C.; Liu, P.; Zhao, Y. Preparation and Characterization of Coaxial Halloysite/Polypyrrole Tubular Nanocomposites for Electrochemical Energy Storage. *Electrochim. Acta* 2010, *55* (22), 6857–6864.
- [27] Jiang, L.; Jun, H.-K.; Hoh, Y.-S.; Lim, J.-O.; Lee, D.-D.; Huh, J.-S. Sensing Characteristics of Polypyrrole–Poly(Vinyl Alcohol) Methanol Sensors Prepared by in Situ Vapor State Polymerization. *Sensors Actuators B Chem.* 2005, 105 (2), 132–137.
- [28] Yoshino, K.; Tabata, M.; Kaneto, K.; Ohsawa, T. Application and Characteristics of Conducting Polymer as Radiation Shielding Material. *Jpn. J. Appl. Phys.* **1985**, 24 (9A), L693.
- [29] Mishra, A. K. Conducting Polymers: Concepts and Applications. J. At. Mol. Condens. Nano Phys. 2018, 5, 159–193.
- [30] Lalegül, Ö.; Elçin, A.; Elcin, Y. M. Intrinsically Conductive Polymer Nanocomposites for Cellular Applications. In *Advances in Experimental Medicine* and Biology; 2018; pp 135–153.
- [31] Merino, G.; Méndez-Rojas, M.; Beltran, H. Polímeros Conductores Nuevos Materiales Para El Nuevo Milenio. *Educ. Química* **2018**, *12*, 75.
- [32] Faez, R.; Reis, C.; Scandiucci de Freitas, P.; K. Kosima, O.; Ruggeri, G.; De Paoli, M.-A. Polímeros Condutores. *Quim. Nov. na Esc.* **2000**, *11*, 13–18.

- [33] Bredas, J. L.; Street, G. B. Polarons, Bipolarons, and Solitons in Conducting Polymers. *Acc. Chem. Res.* **1985**, *18* (10), 309–315.
- [34] Arantes, C.; Rocco, M. L. M.; Cruz, A. G. B. da; Rocco, A. M. Dessorção lônica e Degradação de Filmes de Polipirrol Dopado Com Dodecilsulfato Induzidas Por Elétrons de Alta Energia. *Quim. Nova* 2008, *31* (1), 61–65.
- [35] Wallace, G.; Spinks, G.; A P Kane-Maguire, L.; Teasdale, P. Conductive Electroactive Polymers Intelligent Materials Systems. **2002**.
- [36] Skotheim, T. A.; Reynolds, J. *Conjugated Polymers: Theory, Synthesis, Properties, and Characterization*, 3rd ed.; CRC Press, Ed.; 2006.
- [37] Maia, D. J.; De Paoli, M.-A.; Alves, O. L.; Zarbin, A. J. G.; Neves, S. das. Síntese de Polímeros Condutores Em Matrizes Sólidas Hospedeiras. *Quim. Nova* 2000, 23 (2), 204–215.
- [38] Guimard, N. K.; Gomez, N.; Schmidt, C. E. Conducting Polymers in Biomedical Engineering. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32* (8), 876–921.
- [39] Sousa, H. C. de; Braga, M. E. M.; Sosnik, A. Biomateriais Aplicados Ao Desenvolvimento de Sistemas Terapêuticos Avançados; Imprensa da Universidade de Coimbra: Coimbra, 2015.
- [40] Luvielmo, M.; Scamparini, A. Goma Xantana: Produção, Recuperação, Propriedades e Aplicação. *Estud. Tecnológicos em Eng.* **2009**, *5* (1), 50–67.
- [41] da Cunha, P.; Paula, R.; Feitosa, J. Polissacarídeos Da Biodiversidade Brasileira: UMA OPortunidade de Transformar Conhecimento Em Valor Econômico. *Quim. Nov. - QUIM Nov.* **2009**, *32*.
- [42] Malafaya, P. B.; Silva, G. A.; Reis, R. L. Natural-Origin Polymers as Carriers and Scaffolds for Biomolecules and Cell Delivery in Tissue Engineering Applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2007, *59* (4–5), 207–233.
- [43] Badwaik, H.; Kumar Giri, T.; Nakhate, K.; Kashyap, P.; Krishna Tripathi, D. Xanthan Gum and Its Derivatives as a Potential Bio-Polymeric Carrier for Drug Delivery System. *Curr. Drug Deliv.* **2013**, *10*.
- [44] Costa, L. A. D. S.; Campos, M. I.; Druzian, J. I.; De Oliveira, A. M.; De Oliveira, E. N. Biosynthesis of Xanthan Gum from Fermenting Shrimp Shell: Yield and Apparent Viscosity. *Int. J. Polym. Sci.* 2014, 2014.
- [45] Vega, E. D.; Vásquez, E.; Diaz, J. R. A.; Masuelli, M. A. Influence of the Ionic Strength in the Intrinsic Viscosity of Xanthan Gum . An Experimental Review. J. Polym. Biopolym. Phys. Chem. 2015, 3 (1), 12–18.
- [46] F. S. Petri, D. Xanthan Gum: A Versatile Biopolymer for Biomedical and Technological Applications. *J. Appl. Polym. Sci.* **2015**, *132*.
- [47] Krstonošić, V.; Milanović, M.; Dokić, L. Application of Different Techniques in the Determination of Xanthan Gum-SDS and Xanthan Gum-Tween 80 Interaction. *Food Hydrocoll.* **2019**, *87* (July 2018), 108–118.
- [48] Morris, E. R.; Nishinari, K.; Rinaudo, M. Gelation of Gellan A Review. Food Hydrocoll. 2012, 28 (2), 373–411.
- [49] Online, R.; Ferris, C. J.; Gilmore, K. J.; Wallace, G. G.; in het Panhuis, M. Modified Gellan Gum Hydrogels for Tissue Engineering Applications Marc in Het Panhuis Modified Gellan Gum Hydrogels for Tissue Engineering Applications. **2013**, *9*, 0–

0.

- [50] Ferris, C. J.; Stevens, L. R.; Gilmore, K. J.; Mume, E.; Greguric, I.; Kirchmajer, D. M.; Wallace, G. G.; In Het Panhuis, M. Peptide Modification of Purified Gellan Gum. *J. Mater. Chem. B* 2015, *3* (6), 1106–1115.
- [51] Warren, H.; in het Panhuis, M. Highly Conducting Composite Hydrogels from Gellan Gum, PEDOT:PSS and Carbon Nanofibres. *Synth. Met.* **2015**, *206*, 61–65.
- [52] Prajapati, V. D.; Jani, G. K.; Zala, B. S.; Khutliwala, T. A. An Insight into the Emerging Exopolysaccharide Gellan Gum as a Novel Polymer. *Carbohydr. Polym.* 2013, *93* (2), 670–678.
- [53] Duan, Y.; Cai, X.; Du, H.; Zhai, G. Novel in Situ Gel Systems Based on P123/TPGS Mixed Micelles and Gellan Gum for Ophthalmic Delivery of Curcumin. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2015**, *128*, 322–330.
- [54] Salunke, S. R.; Patil, S. B. Ion Activated in Situ Gel of Gellan Gum Containing Salbutamol Sulphate for Nasal Administration. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *87*, 41–47.
- [55] Karthika, J. S.; Vishalakshi, B. Novel Stimuli Responsive Gellan Gum-Graft-Poly(DMAEMA) Hydrogel as Adsorbent for Anionic Dye. Int. J. Biol. Macromol. 2015, 81, 648–655.
- [56] Manda, M. G.; da Silva, L. P.; Cerqueira, M. T.; Pereira, D. R.; Oliveira, M. B.; Mano, J. F.; Marques, A. P.; Oliveira, J. M.; Correlo, V. M.; Reis, R. L. Gellan Gum-Hydroxyapatite Composite Spongy-like Hydrogels for Bone Tissue Engineering. *J. Biomed. Mater. Res. A* **2018**, *106* (2), 479–490.
- [57] Knutsen, S.; Myslabodski, D.; Larsen, B.; Usov, A. I. A Modified System of Nomenclature for Red Algal Galactans. *Bot. Mar. BOT MAR* **1994**, *37*, 163–170.
- [58] Cunha, L.; Grenha, A. Sulfated Seaweed Polysaccharides as Multifunctional Materials in Drug Delivery Applications. *Mar. Drugs* **2016**, *14* (3).
- [59] Agargel. Carragena http://www.agargel.com.br/carragena.html (accessed May 2, 2019).
- [60] Dul, M.; Paluch, K.; Kelly, H.; Healy, A.; Sasse, A.; Tajber, L. Self-Assembled Carrageenan/Protamine Polyelectrolyte Nanoplexes—Investigation of Critical Parameters Governing Their Formation and Characteristics. *Carbohydr. Polym.* 2015, 123.
- [61] Campo, V. L.; Kawano, D. F.; da Silva, D. B.; Carvalho, I. Carrageenans: Biological Properties, Chemical Modifications and Structural Analysis – A Review. *Carbohydr. Polym.* 2009, 77 (2), 167–180.
- [62] Liu, J.; Zhan, X.; Wan, J.; Wang, Y.; Wang, C. Review for Carrageenan-Based Pharmaceutical Biomaterials: Favourable Physical Features versus Adverse Biological Effects. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *121*, 27–36.
- [63] Zia, K. M.; Tabasum, S.; Nasif, M.; Sultan, N.; Aslam, N.; Noreen, A.; Zuber, M. A Review on Synthesis, Properties and Applications of Natural Polymer Based Carrageenan Blends and Composites. *Int. J. Biol. Macromol.* **2017**, *96*, 282–301.
- [64] Li, L.; Ni, R.; Shao, Y.; Mao, S. Carrageenan and Its Applications in Drug Delivery. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *103*, 1–11.
- [65] Aramwit, P. 1 Introduction to Biomaterials for Wound Healing. In Wound Healing

Biomaterials; Ågren, M. S., Ed.; Woodhead Publishing, 2016; pp 3–38.

- [66] Ratner, B. D.; Hoffman, A. S.; Schoen, F. J.; Lemons, J. E. *BIOMATERIALS SCIENCE*, 3rd ed.; Academic Press, Ed.; 2013.
- [67] Patel, N. R.; GOHIL, P. A Review on Biomaterials: Scope, Applications & Human Anatomy Significance. *Int J Emerg. Technol Adv Eng* **2012**, *2*, 91–101.
- [68] Ring, M. E. *História Ilustrada Da Odontologia*, 1st ed.; Manole, Ed.; 1998: São Paulo, 1998.
- [69] Nerem, R. M. Cellular Engineering. Ann. Biomed. Eng. 1991, 19 (5), 529–545.
- [70] Langer, R.; Vacanti, J. P. Tissue Engineering. *Science* **1993**, *260* (5110), 920– 926.
- [71] Turnbull, G.; Clarke, J.; Picard, F.; Riches, P.; Jia, L.; Han, F.; Li, B.; Shu, W. 3D Bioactive Composite Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Bioact. Mater.* 2018, 3 (3), 278–314.
- [72] Hudák, R.; Trebuňová, M.; Živčák, J.; Kottfer, D. Scaffolds for Tissue Engineering. *Acta Tecnol.* **2019**, *4* (4), 67–70.
- [73] Cabuk, M.; Alan, Y.; Yavuz, M.; Unal, H. I. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Biodegradable Conducting Polypyrrole-Graft-Chitosan Copolymer. Appl. Surf. Sci. 2014, 318, 168–175.
- [74] Humpolíček, P.; Kašpárková, V.; Pacherník, J.; Stejskal, J.; Bober, P.; Capáková, Z.; Radaszkiewicz, K. A.; Junkar, I.; Lehocký, M. The Biocompatibility of Polyaniline and Polypyrrole: A Comparative Study of Their Cytotoxicity, Embryotoxicity and Impurity Profile. *Mater. Sci. Eng. C* 2018, *91*, 303–310.
- [75] Maráková, N.; Humpolíček, P.; Kašpárková, V.; Capáková, Z.; Martinková, L.; Bober, P.; Trchová, M.; Stejskal, J. Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of Cotton Fabric Coated with Conducting Polymers, Polyaniline or Polypyrrole, and with Deposited Silver Nanoparticles. *Appl. Surf. Sci.* 2017, *396* (November), 169– 176.
- [76] Fattahi, P.; Yang, G.; Kim, G.; Abidian, M. R. A Review of Organic and Inorganic Biomaterials for Neural Interfaces. *Adv. Mater.* **2014**, *26* (12), 1846–1885.
- [77] Krug, P.; Kwiatkowska, M.; Mojzych, I.; Głowala, P.; Dorant, S.; Kępińska, D.; Chotkowski, M.; Janiszewska, K.; Stolarski, J.; Wiktorska, K.; et al. Polypyrrole Microcapsules Loaded with Gold Nanoparticles: Perspectives for Biomedical Imaging. Synth. Met. 2019, 248, 27–34.
- [78] Lukášek, J.; Hauzerová, Š.; Havlíčková, K.; Strnadová, K.; Mašek, K.; Stuchlík, M.; Stibor, I.; Jenčová, V.; Řezanka, M. Cyclodextrin-Polypyrrole Coatings of Scaffolds for Tissue Engineering. *Polymers (Basel).* **2019**, *11* (3), 459.
- [79] Zanjanizadeh Ezazi, N.; Shahbazi, M. A.; Shatalin, Y. V.; Nadal, E.; Mäkilä, E.; Salonen, J.; Kemell, M.; Correia, A.; Hirvonen, J.; Santos, H. A. Conductive Vancomycin-Loaded Mesoporous Silica Polypyrrole-Based Scaffolds for Bone Regeneration. *Int. J. Pharm.* **2018**, *536* (1), 241–250.
- [80] Tiwari, S.; Patil, R.; Bahadur, P. Polysaccharide Based Scaffolds for Soft Tissue Engineering Applications. *Polymers (Basel).* **2018**, *11* (1), 1.
- [81] Darzi, H. H.; Larimi, S. G.; Darzi, G. N. Synthesis, Characterization and Physical Properties of a Novel Xanthan Gum/Polypyrrole Nanocomposite. *Synth. Met.*

2012, *162* (1–2), 236–239.

- [82] Bueno, V. B.; Takahashi, S. H.; Catalani, L. H.; De Torresi, S. I. C.; Petri, D. F. S. Biocompatible Xanthan/Polypyrrole Scaffolds for Tissue Engineering. *Mater. Sci. Eng. C* 2015, *52*, 121–128.
- [83] R Stevens, L.; Gilmore, K.; Wallace, G.; in het Panhuis, M. Tissue Engineering with Gellan Gum. *Biomater. Sci.* **2016**, *4*.
- [84] Higgins, T.; Moulton, S.; Gilmore, K.; Wallace, G.; in het Panhuis, M. Gellan Gum Doped Polypyrrole Neural Prosthetic Electrode Coatings. *Soft Matter* 2011, 7, 4690–4695.
- [85] Berti, F. V.; Srisuk, P.; da Silva, L. P.; Marques, A. P.; Reis, R. L.; Correlo, V. M. Synthesis and Characterization of Electroactive Gellan Gum Spongy-Like Hydrogels for Skeletal Muscle Tissue Engineering Applications. *Tissue Eng. Part* A 2017, 00 (00), ten.tea.2016.0430.
- [86] Esmaeili, C.; Ghasemi, M.; Heng, L. Y.; Hassan, S. H. A.; Abdi, M. M.; Daud, W. R. W.; Ilbeygi, H.; Ismail, A. F. Synthesis and Application of Polypyrrole/Carrageenan Nano-Bio Composite as a Cathode Catalyst in Microbial Fuel Cells. *Carbohydr. Polym.* 2014, *114*, 253–259.
- [87] Huang, K. C.; Yang, C.-H.; Huang, S.-L.; Chen, C.-Y.; Lu, Y.-Y.; yung-sheng, L. Recent Advances in Antimicrobial Polymers: A Mini-Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1578.
- [88] Tejero, R.; Gutiérrez, B.; López, D.; López-Fabal, F.; Gómez-Garcés, J.; Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M. Tailoring Macromolecular Structure of Cationic Polymers towards Efficient Contact Active Antimicrobial Surfaces. *Polymers* (*Basel*). 2018, 10, 241.
- [89] Jain, A.; Duvvuri, L. S.; Farah, S.; Beyth, N.; Domb, A. J.; Khan, W. Antimicrobial Polymers. *Adv. Healthc. Mater.* **2014**, *3* (12), 1969–1985.
- [90] Ackart, W. B.; Camp, R. L.; Wheelwright, W. L. Preparation of Antimicrobial Benzalkonium Ionomers. *J. Biomed Mater Res.* **1975**, *9*, 55–68.
- [91] T. Seshadri, D.; Bhat, N. Synthesis and Properties of Cotton Fabrics Modified with Polypyrrole. *Sen-i Gakkaishi* **2005**, *61*, 103–108.
- [92] Donaruma, L. G. Synthetic Biologically Active Polymers. *Prog. Polym. Sci.* **1975**, *4*, 1–25.
- [93] T. Seshadri, D.; Bhat, N. Use of Polyaniline as an Antimicrobial Agent in Textiles. *Indian J. Fibre Text. Res.* **2005**, *30*, 204–206.
- [94] Barzic, A. I.; Ioan, S. Antibacterial Drugs From Basic Concepts to Complex Therapeutic Mechanisms of Polymer Systems. *Intech* **2016**, *1*, 13.
- [95] Pan, L.; Chortos, A.; Yu, G.; Wang, Y.; Isaacson, S.; Allen, R.; Shi, Y.; Dauskardt, R.; Bao, Z. An Ultra-Sensitive Resistive Pressure Sensor Based on Hollow-Sphere Microstructure Induced Elasticity in Conducting Polymer Film. *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 1–8.
- [96] Ying, S.; Zheng, W.; Li, B.; She, X.; Huang, H.; Li, L.; Huang, Z.; Huang, Y.; Liu, Z.; Yu, X. Facile Fabrication of Elastic Conducting Polypyrrole Nanotube Aerogels. *Synth. Met.* **2016**, *218*, 50–55.
- [97] (CSA), C. S. A. ISO 10993-5 in Vitro Cytotox. Int. Organ. 2009, 2007, 1–11.

- [98] Tang, X.; Li, H.; Du, Z.; Wang, W.; Ng, H. Conductive Polypyrrole Hydrogels and Carbon Nanotubes Composite as an Anode for Microbial Fuel Cells. *RSC Adv.* 2015, 5.
- [99] Lu, Y.; He, W.; Cao, T.; Guo, H.; Zhang, Y.; Li, Q.; Shao, Z.; Cui, Y.; Zhang, X. Elastic, Conductive, Polymeric Hydrogels and Sponges. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 5792.
- [100] Xie, A.; Wu, F.; Sun, M.; Dai, X.; Xu, Z.; Qiu, Y.; Wang, Y.; Wang, M. Self-Assembled Ultralight Three-Dimensional Polypyrrole Aerogel for Effective Electromagnetic Absorption. *Appl. Phys. Lett.* **2015**, *106* (22), 222902.
- [101] Tsai, W.; Tsai, H.; Wong, Y.; Hong, J.; Chang, S.; Lee, M. Preparation and Characterization of Gellan Gum/Glucosamine/Clioquinol Film as Oral Cancer Treatment Patch. *Mater. Sci. Eng. C* 2018, *82*, 317–322.
- [102] Bhambere, D.; A. Gaidhani, K.; Harwalkar, M.; S. Nirgude, P. LYOPHILIZATION / FREEZE DRYING A REVIEW. *World J. Pharm. Res.* **2015**, *4*, 516–543.
- [103] Vareda, J. P.; Lamy-Mendes, A.; Durães, L. A Reconsideration on the Definition of the Term Aerogel Based on Current Drying Trends. *Microporous Mesoporous Mater.* 2018, 258, 211–216.
- [104] Shrikrushna, S.; A Kher Milind V Kulkarni, J. Influence of Dodecylbenzene Sulfonic Acid Doping on Structural, Morphological, Electrical and Optical Properties on Polypyrrole/3C-SiC Nanocomposites. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 2015, 06.
- [105] Zhao, J.; Wu, J.; Li, B.; Du, W.; Huang, Q.; Zheng, M.; Xue, H.; Pang, H. Facile Synthesis of Polypyrrole Nanowires for High-Performance Supercapacitor Electrode Materials. *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.* **2016**, *26* (3), 237–242.
- [106] Elnahrawy, A.; Haroun, A.; Hamadneh, I.; Al-Dujaili, A.; kamel, S. Conducting Cellulose/TiO 2 Composites by in Situ Polymerization of Pyrrole. *Carbohydr. Polym.* 2017, 168, 182–190.
- [107] Li, M.; Yang, L.; Zhang, Y. Hierarchical Structure of Hollow Thorn-like Polypyrrole Microtubes with Enhanced Electrochemical Performance. *RSC Adv.* 2015, 5 (2), 1191–1197.
- [108] Yang, L.; Li, M.; Zhang, Y.; Yi, K.; Ma, J.; Liu, Y. Synthesis and Characterization of Polypyrrole Nanotubes/Multi-Walled Carbon Nanotubes Composites with Superior Electrochemical Performance. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* **2014**, *25* (2), 1047–1052.
- [109] Wei, D.; Lin, X.; Li, L.; Shang, S.; Yuen, M. C. W.; Yan, G.; Yu, X. Controlled Growth of Polypyrrole Hydrogels. *Soft Matter* **2013**, *9* (10), 2832–2836.
- [110] Li, M.; Li, W.; Liu, J.; Yao, J. Preparation and Characterization of PPy with Methyl Orange as Soft Template. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* **2012**, *24* (3), 906–910.
- [111] Hryniewicz, B. M.; Lima, R. V; Wolfart, F.; Vidotti, M. Influence of the PH on the Electrochemical Synthesis of Polypyrrole Nanotubes and the Supercapacitive Performance Evaluation. *Electrochim. Acta* **2019**, *293*, 447–457.
- [112] Varga, M.; Proke, J.; Vr, M.; Trchová, M.; Kopecký, D. Optimization Routes for High Electrical Conductivity of Polypyrrole Nanotubes Prepared in Presence of Methyl Orange. *Synth. Met.* **2017**, *230* (March), 89–96.
- [113] Liu, J.; Wang, J.; yu, X.; Shang, S. One-Pot Synthesis of Polypyrrole/AgCl Composite Nanotubes and Their Antibacterial Properties. *Micro Nano Lett.* **2015**,

10, 50–53.

- [114] Valtera, S.; Prokeš, J.; Kopecká, J.; Vrnata, M.; Trchová, M.; Varga, M.; Stejskal, J.; Kopecký, D. Dye-Stimulated Control of Conducting Polypyrrole Morphology. *RSC Adv.* 2017, 7, 51495–51505.
- [115] Varga, M.; Kopecká, J.; Moravkova, Z.; Křivka, I.; Trchová, M.; Stejskal, J.; Prokeš, J.; Mor, Z.; Ivo, K. Effect of Oxidant on Electronic Transport in Polypyrrole Nanotubes Synthesized in the Presence of Methyl Orange. *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **2015**, *53*, 1147–1159.
- [116] Kopecká, J.; Mrlík, M.; Olejník, R.; Kopecký, D.; Vrňata, M.; Prokeš, J.; Bober, P.; Morávková, Z.; Trchová, M.; Stejskal, J. Polypyrrole Nanotubes and Their Carbonized Analogs: Synthesis, Characterization, Gas Sensing Properties. *Sensors* **2016**, *16* (11), 1917.
- [117] Baig, U.; Gondal, M. Facile Synthesis of Polypyrrole-Zirconium(IV) Oxide-Ethanolamine Anion Exchange Nanocomposite and Its Utilization in Membrane Electrode Development for Sensing and Quantitative Detection of As(III) in Water. *Nanosci. Nanotechnol. Lett.* **2016**, *8*, 9–16.
- [118] Sandu, T.; Sarbu, A.; Constantin, F. CHARACTERIZATION OF FUNCTIONALIZED POLYPYRROLE. *Rev. Roum. Chim.* **2012**, *57*, 177.
- [119] Yan, Y.; Li, H.; Zhang, Y.; Kan, J.; Jiang, T.; Pang, H.; Zhu, Z.; Xue, H. Facile Synthesis of Polypyrrole Nanotubes and Their Supercapacitive Application. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2017, *12* (10), 9320–9334.
- [120] Chen; Wang; Dong; Li; Chen; He; Gong; Zhang; Li. Design and Optimization of Flexible Polypyrrole/Bacterial Cellulose Conductive Nanocomposites Using Response Surface Methodology. *Polymers (Basel).* **2019**, *11* (6), 960.
- [121] Fracari, T.; Einloft, S.; Lavayen, V. Thermal Behavior and Spectroscopy Analysis of Carbonized Nanostructures Derived from Polypyrrole Nanotubes. *Int. J. Nanosci.* 2017, *16* (05n06), 1750014.
- [122] Cychosz, K. A.; Thommes, M. Progress in the Physisorption Characterization of Nanoporous Gas Storage Materials. *Engineering* **2018**, *4* (4), 559–566.
- [123] A. Basnayaka, P.; K. Ram, M.; Stefanakos, L.; Kumar, A. Graphene/Polypyrrole Nanocomposite as Electrochemical Supercapacitor Electrode: Electrochemical Impedance Studies. *Graphene* **2013**, *02*, 81–87.
- [124] Bahuguna, A.; Choudhary, P.; Chhabra, T.; Krishnan, V. Ammonia-Doped Polyaniline–Graphitic Carbon Nitride Nanocomposite as a Heterogeneous Green Catalyst for Synthesis of Indole-Substituted 4 H -Chromenes. ACS Omega 2018, 3, 12163–12178.
- [125] Xin, S.; Yang, N.; Gao, F.; Zhao, J.; Li, L.; Teng, C. Applied Surface Science Three-Dimensional Polypyrrole-Derived Carbon Nanotube Framework for Dye Adsorption and Electrochemical Supercapacitor. *Appl. Surf. Sci.* 2017, 414, 218– 223.
- [126] Li, Y.; Bober, P.; Trchová, M.; Stejskal, J. Polypyrrole Prepared in the Presence of Methyl Orange and Ethyl Orange: Nanotubes versus Globules in Conductivity Enhancement. *J. Mater. Chem. C* **2017**, *5* (17), 4236–4245.
- [127] Bo, J.; Luo, X.; Huang, H.; Li, L.; Lai, W.; Yu, X. Morphology-Controlled Fabrication of Polypyrrole Hydrogel for Solid-State Supercapacitor. J. Power Sources 2018,

407 (September), 105–111.

- [128] Liang, L.; Chen, G.; Guo, C.-Y. Polypyrrole Nanostructures and Their Thermoelectric Performance. *Mater. Chem. Front.* **2017**.
- [129] Kopecká, J.; Kopecký, D.; Vrňata, M.; Fitl, P.; Stejskal, J.; Trchová, M.; Bober, P.; Moravkova, Z.; Prokeš, J.; Sapurina, I. Polypyrrole Nanotubes: Mechanism of Formation. RSC Adv. 2014, 4, 1551.
- [130] Gniadek, M.; Malinowska, S.; Rapecki, T.; Stojek, Z.; Donten, M. Synthesis of Polymer-Metal Nanocomposites at Liquid-Liquid Interface Supported by Ultrasonic Irradiation. *Synth. Met.* **2014**, *187* (1), 193–200.
- [131] Liow, K. S.; Sipaut, C. S.; Jafarzadeh, M.; Kai Sing, L.; Sipaut, C. S.; Jafarzadeh, M. Polypyrrole- and Polyaniline-Surface Modified Nanosilica as Quasi-Solid State Electrolyte Ingredients for Dye-Sensitized Solar Cells. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 2018, 29 (24), 21097–21108.
- [132] Kaladevi, G.; Meenakshi, S.; Pandian, K.; Wilson, P. Synthesis of Well-Dispersed Silver Nanoparticles on Polypyrrole/Reduced Graphene Oxide Nanocomposite for Simultaneous Detection of Toxic Hydrazine and Nitrite in Water Sources. J. Electrochem. Soc. 2017, 164 (13), B620–B631.
- [133] Upadhyay, J.; Kumar, A.; Gogoi, B.; Buragohain, A. K. Antibacterial and Hemolysis Activity of Polypyrrole Nanotubes Decorated with Silver Nanoparticles by an In-Situ Reduction Process. *Mater. Sci. Eng. C* 2015, *54*, 8–13.
- [134] Kumar, R.; Oves, M.; Almeelbi, T.; Al-makishah, N. H.; Barakat, M. A. Journal of Colloid and Interface Science Hybrid Chitosan / Polyaniline-Polypyrrole Biomaterial for Enhanced Adsorption and Antimicrobial Activity. *J. Colloid Interface Sci.* 2017, 490, 488–496.
- [135] Gómez-Quintero, T.; Arryo-Ornelas, M.; López-Marín, L.; Castaño-Meneses, V.; Garcia-Contreras, R.; Acosta-torres, L.; Arenas-arrocena, Mc. Cytotoxicity of Polypyrrole and Polyaniline Matrixes for Biosensors. *Acta Sci. Med. Sci.* 2019, 3 (5), 81–89.
- [136] Zhao, Y.-H.; Niu, C.-M.; Shi, J.-Q.; Wang, Y.-Y.; Yang, Y.-M.; Wang, H.-B. Novel Conductive Polypyrrole/Silk Fibroin Scaffold for Neural Tissue Repair. *Neural Regen. Res.* 2018, 13, 1455.
- [137] Tang, M. xue; Zhu, Y. dan; Li, D.; Adhikari, B.; Wang, L. jun. Rheological, Thermal and Microstructural Properties of Casein/κ-Carrageenan Mixed Systems. *Lwt* 2019, *113*, 108296.
- [138] Liu, K.; Li, Y.; Zhang, H.; Liu, Y. Synthesis of the Polypyrrole Encapsulated Copper Nanowires with Excellent Oxidation Resistance and Temporal Stability. *Appl. Surf. Sci.* 2018, 439, 226–231.
- [139] Yu, F.; Cui, T.; Yang, C.; Dai, X.; Ma, J. κ-Carrageenan/Sodium Alginate Double-Network Hydrogel with Enhanced Mechanical Properties, Anti-Swelling, and Adsorption Capacity. *Chemosphere* 2019, *237*, 124417.
- [140] Zhu, M.; Ge, L.; Lyu, Y.; Zi, Y.; Li, X.; Li, D.; Mu, C. Preparation, Characterization and Antibacterial Activity of Oxidized κ-Carrageenan. *Carbohydr. Polym.* 2017, 174, 1051–1058.
- [141] Ganesan, K.; Ratke, L. Facile Preparation of Monolithic κ-Carrageenan Aerogels. *Soft Matter* **2014**, *10* (18), 3218–3224.

- [142] Lee, H.; Rukmanikrishnan, B.; Lee, J. Rheological, Morphological, Mechanical, and Water-Barrier Properties of Agar/Gellan Gum/Montmorillonite Clay Composite Films. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *141*, 538–544.
- [143] Karthika, J. S.; Vishalakshi, B.; Naik, J. Gellan Gum–Graft–Polyaniline—An Electrical Conducting Biopolymer. *Int. J. Biol. Macromol.* **2016**, *82*, 61–67.
- [144] Rahaman, M.; Aldalbahi, A.; Almoiqli, M.; Alzahly, S. Chemical and Electrochemical Synthesis of Polypyrrole Using Carrageenan as a Dopant: Polypyrrole/Multi-Walled Carbon Nanotube Nanocomposites. *Polymers (Basel)*. 2018, 10, 632.
- [145] de Mello Luvielmo, M.; Borges, C. D.; Toyama, D. de O.; Vendruscolo, C. T.; Scamparini, A. R. P. Structure of Xanthan Gum and Cell Ultrastructure at Different Times of Alkali Stress. *Brazilian J. Microbiol.* **2016**, *47* (1), 102–109.
- [146] Mohd, S. S.; Abdullah, M. A. A.; Mat Amin, K. A. Gellan Gum/Clay Hydrogels for Tissue Engineering Application: Mechanical, Thermal Behavior, Cell Viability, and Antibacterial Properties. J. Bioact. Compat. Polym. 2016, 31 (6), 648–666.
- [147] Dewan, M.; Sarkar, G.; Bhowmik, M.; Das, B.; Chattoapadhyay, A. K.; Rana, D.; Chattopadhyay, D. Effect of Gellan Gum on the Thermogelation Property and Drug Release Profile of Poloxamer 407 Based Ophthalmic Formulation. *Int. J. Biol. Macromol.* 2017, *102*, 258–265.
- [148] Kytyr, D.; Zlámal, P.; Koudelka, P.; Fíla, T.; Krcmarova, N.; Kumpova, I.; Vavrik, D.; Gantar, A.; Novak, S. Deformation Analysis of Gellan-Gum Based Bone Scaffold Using On-the-Fly Tomography. *Mater. Des.* 2017, 134.
- [149] Silva-Correia, J.; Oliveira, J.; Caridade, S.; Oliveira, J.; Mano, J. F.; Reis, R. L. Gellan Gum-Based Hydrogels for Intervertebral Disc Tissue-Engineering Applications. J. Tissue Eng. Regen. Med. 2011, 5, e97-107.
- [150] Tecante, A.; Nez Santiago, M. del C. Solution Properties of κ-Carrageenan and Its Interaction with Other Polysaccharides in Aqueous Media. *Rheology* 2012.
- [151] Rudhziah, S.; Rani, M. S. A.; Ahmad, A.; Mohamed, N. S.; Kaddami, H. Potential of Blend of Kappa-Carrageenan and Cellulose Derivatives for Green Polymer Electrolyte Application. *Ind. Crops Prod.* 2015, *72*, 133–141.
- [152] Elsupikhe, R. F.; Shameli, K.; Ahmad, M. B.; Ibrahim, N. A.; Zainudin, N. Green Sonochemical Synthesis of Silver Nanoparticles at Varying Concentrations of κ-Carrageenan. *Nanoscale Res. Lett.* **2015**, *10* (1).
- [153] Nur Fatin Nazurah, R.; Nur Hanani, Z. A. Physicochemical Characterization of Kappa-Carrageenan (Euchema Cottoni) Based Films Incorporated with Various Plant Oils. *Carbohydr. Polym.* **2017**, *157*, 1479–1487.
- [154] Pérez-Madrigal, M. M.; Estrany, F.; Armelin, E.; Díaz, D. D.; Alemán, C. Towards Sustainable Solid-State Supercapacitors: Electroactive Conducting Polymers Combined with Biohydrogels. *J. Mater. Chem. A* **2016**, *4* (5), 1792–1805.
- [155] Liew, J. W. Y.; Loh, K. S.; Ahmad, A.; Lim, K. L.; Wan Daud, W. R. Synthesis and Characterization of Modified κ-Carrageenan for Enhanced Proton Conductivity as Polymer Electrolyte Membrane. *PLoS One* **2017**, *12* (9), 1–15.
- [156] Esmaeili, C.; Heng, L. Y.; Chiang, C. P.; Rashid, Z. A.; Safitri, E.; Malon Marugan,
 R. S. P. A DNA Biosensor Based on Kappa-Carrageenan-Polypyrrole-Gold Nanoparticles Composite for Gender Determination of Arowana Fish

(Scleropages Formosus). Sensors Actuators, B Chem. 2017, 242, 616–624.

- [157] Sapurina, I.; Li, Y.; Alekseeva, E.; Bober, P.; Trchová, M.; Morávková, Z.; Stejskal, J. Polypyrrole Nanotubes: The Tuning of Morphology and Conductivity. *Polymer* (*Guildf*). 2017, 113, 247–258.
- [158] Qazi, W.; Wiklund, J.; Altskär, A.; Ekberg, O.; Stading, M. Shear and Extensional Rheology of Commercial Thickeners Used for Dysphagia Management. *J. Texture Stud.* **2017**, *48*.
- [159] Iftekhar, S.; Srivastava, V.; Hammouda, S. Ben; Sillanpää, M. Fabrication of Novel Metal Ion Imprinted Xanthan Gum-Layered Double Hydroxide Nanocomposite for Adsorption of Rare Earth Elements. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *194*, 274–284.
- [160] Gaillard, C.; Wang, Y.; Covis, R.; Vives, T.; Benoît, M.; Benvegnu, T. Monitoring the Architecture of Anionic κ-Carrageenan/Cationic Glycine Betaine Amide Surfactant Assemblies by Dilution: A Multiscale Approach. *Carbohydr. Polym.* **2017**, *155*, 49–60.
- [161] Oliveira, J.; Martins, L.; Picciochi, R.; Malafaya, P.; Neves, N.; Mano, J. F.; Reis, R. L. Gellan Gum: A New Biomaterial for Cartilage Tissue Engineering Applications. J. Biomed. Mater. Res. A 2009, 93, 852–863.
- [162] Rukmanikrishnan, B.; Ismail, F. R. M.; Manoharan, R. K.; Kim, S. S.; Lee, J. Blends of Gellan Gum/Xanthan Gum/Zinc Oxide Based Nanocomposites for Packaging Application: Rheological and Antimicrobial Properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 2019.
- [163] Zhu, M.; Li, X.; Ge, L.; Zi, Y.; Qi, M.; Li, Y.; Li, D.; Mu, C. Green Synthesis of κ-Carrageenan@Ag Submicron-Particles with High Aqueous Stability, Robust Antibacterial Activity and Low Cytotoxicity. *Mater. Sci. Eng. C* 2020, *106*, 110185.
- [164] Rode, M. P.; Batti Angulski, A. B.; Gomes, F. A.; da Silva, M. M.; Jeremias, T. da S.; de Carvalho, R. G.; lucif Vieira, D. G.; Oliveira, L. F. C.; Fernandes Maia, L.; Trentin, A. G.; et al. Carrageenan Hydrogel as a Scaffold for Skin-Derived Multipotent Stromal Cells Delivery. *J. Biomater. Appl.* **2018**, *33* (3), 422–434.

8 APÊNDICES

Figura 1 – Halos de inibição das gomas puras frente as bactérias Grampositivas(a) (*Staphylococcus aureus [S.A]*) e bactérias Gram-negativas (b) (*Escherichia coli [E.C.]*) após 24 horas de inoculação, onde OI, OII e OII são respectivamente, as gomas xantana, gelana e κ-carragena.



9 ANEXOS

Tabela 01 – Classificação de citotoxicidade para os níveis de viabilidade celular em porcentagem, segundo categorias de toxicidade dos materiais da norma ISO 10993-5: 2009 [97].

Citotoxicidade	Faixa da viabilidade celular (%)		
Não citotóxico	> 90		
Levemente citotóxico	80 a 89		
Moderadamente citotóxico	50 a 79		
Severamente citotóxico	< 50		
Não citotóxico	> 90		

Fonte: INTERNATIONAL STANDARD ISO 10993-5 [97].