

Maria Carolina Morando Costa

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA



FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

# Caracterização de Polímeros Inteligentes para Aplicações Biomédicas

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para  
cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de  
Mestre em Engenharia Biomédica, realizada sob a orientação do  
Professor Doutor Filipe Antunes.

Setembro 2012

Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgement.

# Agradecimentos

No final de mais uma etapa crucial na minha vida, depois de um percurso com bastantes altos e baixos, esta é a prova de mais “uma história com um final feliz”, citando as palavras do Professor Miguel Morgado, a quem desde já agradeço por todos os esforços dedicados ao curso de Engenharia Biomédica em Coimbra e o interesse pelos seus alunos; para além de professor revela-se também um amigo.

Um Muito Obrigado, ao Professor Doutor Filipe Antunes, orientador do meu Projeto de Mestrado, pelo crédito e confiança depositados em mim, pelos sábios conselhos e por me ter dado a oportunidade de aprender e de trabalhar no seio de um grupo de excelência.

Ao Fafe, importante ser e colega no Departamento de Química, agradeço todo o apoio e paciência que me ajudaram a dar facilmente os primeiros passos num mundo que já pensava quase desconhecido.

Agradeço também ao Professor Jorge Coelho e Rose Cordeiro, do Departamento de Engenharia Química, pelo seu precioso tempo e disponibilização dos polímeros necessários à realização do projeto; ao Professor António Ribeiro pela autorização de uso do

equipamento de DLS existente na Faculdade de Farmácia, e à Ana Cláudia, pela disponibilidade e ajuda prestadas na introdução à técnica.

Reservo agora um espacinho para todos aqueles que foram importantes ao longo destes anos de faculdade, e os quais não poderiam passar em branco:

Aos P&T, um grupo de amigos fantástico que nasceu em Coimbra e sem os quais o meu percurso académico não teria tido metade do interesse. Um grupo cheio de personalidades que em nada se assemelham e que em conjunto o tornam tão especial. Um obrigado a todos pela amizade, pelo apoio nos momentos difíceis e sobretudo pela presença nos momentos importantes da minha vida.

Ao Duarte, meu namorado e grande amigo, a quem tive o prazer de conhecer nesta cidade de encantos, um obrigado pelos sorrisos partilhados em todas as vitórias e pela mão estendida nos momentos mais difíceis, sem a qual se tornaria difícil por vezes manter-me de pé.

Por fim, agradeço com todo o meu coração à minha família, cuja dedicação e apoio foram sempre incondicionais, e sem os quais não me teria sido permitido chegar até aqui, com toda uma

bagagem de boas experiências que me ajudaram a crescer e a definir objetivos, fazendo de mim o que sou hoje!

OBRIGADO a todos!

*“Nas grandes batalhas da vida,  
o primeiro passo para a vitória  
é o desejo de vencer.”*

*Mohandas Ghandi*



# Resumo

Este trabalho é baseado no estudo de polímeros termossensíveis para o seu uso como sensores de temperatura na superfície da pele do bebê.

De acordo com alguns pediatras, a temperatura da pele do bebê pode variar entre os 35°C e os 37,8°C. Normalmente, eles apresentam uma temperatura superior à de um adulto, uma vez que ainda não são capazes de regular bem a temperatura corporal. É importante a monitorização constante da sua temperatura e, principalmente, verificar se esta se encontra acima dos 37,8°C. Para este estudo foram escolhidos dois polímeros que, quando em solução, respondem dramaticamente a mudanças de temperatura e, como tal, podem servir como sensores de temperatura.

Os polímeros exibem uma temperatura crítica denominada LCST (*low critical solution temperature*); um aumento de temperatura do sistema diminui a solubilidade do polímero em água devido à alteração da polaridade e conseqüente predominância das interações hidrofóbicas. A LCST é definida como a temperatura acima da qual o polímero sofre uma transição de fase de um estado de completa dissolução em água (cadeia linear estendida) para um estado insolúvel em água (cadeia compactada em forma de glóbulo). Quando a solução do polímero atinge a LCST é



observada uma alteração na turbidez da solução, devido à agregação polimérica.

Os polímeros têm uma LCST perto dos limites de temperatura normais do corpo humano. O principal objetivo é deslocar essa temperatura para valores próximos de 38°C, por forma a poderem ser usados como sensores de febre.

Os polímeros usados foram o PNIPAM e o PDMAEMA e o seu comportamento em solução aquosa foi caracterizado através de estudos reológicos, espectroscópicos e de dispersão dinâmica de luz (DLS).

Existe uma forte relação entre o tamanho dos agregados, turbidez e viscosidade das soluções. Aumentando a temperatura, aumenta o tamanho das partículas, devido à formação de agregados, assim como a viscosidade, devido à formação de uma rede tridimensional essencialmente alicerçada por associações hidrofóbicas, e a solução torna-se turva como resultado da luz dispersa pelos largos agregados.

O ajuste da LCST dos polímeros em solução é, neste trabalho, efetuada através da adição de co-solventes, sais e surfatantes, bem como através de alterações de concentração e peso molecular.

# Abstract

This work is based on the study of thermoresponsive polymers for their use as thermosensors on baby's skin.

According to some pediatricians the baby skin's temperature could vary from 35°C to 37.8°C. They are a little warmer than adults, because they do not regulate their temperature so well. It is important to constantly monitor their temperature and particularly to check if the temperature is above 37.8°C.

For this study, we chose two polymers that respond tremendously to temperature changes and that can be used as thermosensors. They exhibit a LCST (low critical solution temperature); an increase in temperature decreases the solubility of the polymer in water due to changes in polarity and consequently predominating hydrophobic associations. LCST is defined as the temperature at which the polymer solution undergoes a phase transition from a completely soluble state in water (a random coil form) to an insoluble state (collapsed form of the polymeric chain). When the polymer solution is reaching the LCST a change in the turbidity of the solution can be observed, due to polymeric aggregation.

The polymers have their LCST near the limits of a normal human body temperature and the main aim is to shift these critical temperatures to around 38°C for using them as fever sensors.

The polymers used in this work were PNIPAM and PDMAEMA, and their behavior in aqueous solution was mainly driven by rheological, spectroscopy and dynamic light scattering (DLS) studies.

There is a strong relationship between particle size, turbidity and shear viscosity. By heating the systems, the particle size increases, because of cluster formation, as well as the viscosity due to the formation of 3D network mainly sustained by hydrophobic associations, and the solution becomes cloudy as a result of the scattered light induced by the large aggregates.

In this work, the adjustment of the LCST of the polymers in solution is made by the addition of co-solvents, salts and surfactants, as well as changes in concentration and molecular weight.

# Lista de Abreviaturas

<b>CTAB</b>	Brometo de Cetiltrimetilamónio
<b>cac</b>	Concentração de agregação crítica
<b>cmc</b>	Concentração micelar crítica
<b>HCl</b>	Ácido clorídrico
<b>LCST</b>	Temperatura de solução crítica mínima
<b>LGTT</b>	Temperatura de gel crítica mínima
<b>KSCN</b>	Tiocianato de potássio
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sódio
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>PEO</b>	Polioxietileno
<b>PNIPAA</b>	Poli-N-isopropilacrilamida
<b>PDMAEMA</b>	Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato
<b>SDS</b>	Dodecil Sulfato de Sódio
<b>UCST</b>	Temperatura de solução crítica máxima
<b>UGTT</b>	Temperatura de gel crítica máxima



# Índice

Índice de Figuras.....	i
Índice de Tabelas.....	iii
Índice de Gráficos .....	iv
1. Introdução.....	1
1.1. Polímeros Inteligentes.....	3
1.2. Polímeros Termossensíveis.....	8
1.2.1. Polímeros com comportamento do tipo LCST .....	10
1.2.2. Poli-N-isopropilacrilamida .....	13
1.2.3. Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato .....	15
1.2.4. Mecanismos propostos para explicar a transição de fase.....	17
1.3. Co-solutos que alteram as propriedades dos polímeros ...	21
1.3.1. Sais .....	21
1.3.2. Surfatantes.....	23
2. Experimental.....	25
2.1. Materiais.....	25
2.2. Técnicas .....	26
2.2.1. Método de preparação das amostras .....	27
2.2.2. Espectrofotometria UV-Visível.....	28
2.2.3. Reologia.....	29

2.2.4. Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) .....	34
3. Resultados e Discussão .....	38
3.1. Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura .....	38
3.1.1. Influência do peso molecular e concentração em solução.....	43
3.1.2. Influência do pH do meio .....	48
3.1.3. Influência da adição de aditivos e co-solventes na temperatura crítica .....	50
3.2. Turbidez das soluções em função da temperatura.....	60
3.3. Dimensão das partículas em função da temperatura.....	62
3.4. Propriedades viscoelásticas .....	65
3.5. Reprodutibilidade do sistema PNIPAM-água .....	69
4. Conclusão.....	70
Referências.....	73

# Índice de Figuras

Figura 1. Diagramas de fase de soluções poliméricas no plano temperatura-concentração. a) diagrama do tipo UCST; b) diagrama do tipo LCST. <sup>14</sup> .....	9
Figura 2. Estrutura de polímeros que apresentam LCST. (a) Poli(N-isopropilacrilamida (PNIPAM)); (b) Poli(N,N-dietilacrilamida) (PDEAAm); (c) Poli(dimetilaminoetil metacrilato) (PDMAEMA); (d) Poli(N-(L)-(1-hidroximetil) propilmetacrilamida) (PHMPMAA). <sup>3</sup> .....	10
Figura 3. Comportamento termossensível em solução aquosa; " <i>Coil-to-globule transition</i> ". .....	11
Figura 4. Estrutura química do poli(N-isopropilacrilamida). <sup>3</sup> .....	13
Figura 5. Grupos oxietileno a baixas temperaturas (A) e a altas temperaturas (B). <sup>11</sup>	20
Figura 6. Série de Hofmeister.....	21
Figura 7. Três interações básicas envolvidas no efeito de Hofmeister. (a) polarização das moléculas de água que hidratam os grupos amida; (b) a tensão de superfície tem efeitos na hidratação hidrofóbica das macromoléculas e pode ser modelada pela adição de sais; (c) interação direta do anião com os grupos amida. <sup>41</sup> .....	22
Figura 8- Estrutura de um surfatante aniônico.....	23
Figura 9. Estrutura do modelo "pearl-necklace" para os complexos polímero-surfatante. <sup>47</sup> .....	24
Figura 10. Esquema ilustrativo da incidência de luz sobre a amostra. ....	28
Figura 11. Fluido Newtoniano. Tensão de deformação ( $\tau$ ) em função da taxa de deformação (D). <sup>11</sup> .....	30
Figura 12. Modelo de duas placas usado por Newton. F- força (deformação) aplicada; A-área das placas; h – espaço entre as placas e U – viscosidade com que a placa superior se move. <sup>51</sup> .....	30
Figura 13. Limite do comportamento de fluídos Newtonianos. <sup>51</sup> .....	31
Figura 14. Sistema de cone e prato; $\theta$ é o ângulo entre o cone e o prato e r é o raio de ambos. <sup>49</sup> .....	32



Figura 15. Diâmetro hidrodinâmico. <sup>54</sup> .....	34
Figura 16. Flutuações de intensidade ao longo do tempo como resultado da dispersão de luz por parte das partículas contidas na amostra. <sup>59</sup> .....	35
Figura 17. Solução de 5wt% de PDMAEMA(11k) a pH=9,1. Dependência da viscosidade Newtoniana do em função da temperatura. Turbidez da solução aquosa de PDMAEMA abaixo (A) e acima (B) da LCST.....	39
Figura 18. Solução de 5wt% de PNIPAM(39k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura. Turbidez da solução aquosa de PNIPAM abaixo (A) e acima (B) da LCST. ....	40
Figura 19. Ilustração do comportamento de fase do tipo LCST.....	41
Figura 20. Efeito da qualidade do solvente na configuração do polímero. <sup>51</sup> .....	50
Figura 21. Efeito de vários álcoois na LCST do PNIPAM. <sup>62</sup> .....	53
Figura 22. Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de PNIPAM(20k) de 5wt%. a) e c) representam as subidas e b) e d) representam as descidas. Os gráficos foram obtidos pela ordem alfabética representada, com velocidades de aquecimento e arrefecimento iguais (1°C/3min). ....	69

# Índice de Tabelas

Tabela 1. Classificação da forma física das cadeias poliméricas e os diferentes tipos de resposta. <sup>3,11</sup> .....	6
Tabela 2. Pesos moleculares médios ( $M_n$ ) das amostras e respetivos índices de polidispersividade( $M_w/M_n$ ).....	25

# Índice de Gráficos

Gráfico 1. Efeito da variação do peso molecular do PNIPAM (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	43
Gráfico 2. Efeito da variação do peso molecular do PDMAEMA (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	43
Gráfico 3. Efeito da variação da concentração de PNIPAM(39k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).46	
Gráfico 4. Efeito da variação da concentração do PDMAEMA(11k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).47	
Gráfico 5. Efeito da variação do pH da solução de PDMAEMA(11k) (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	48
Gráfico 6. Efeito da variação do pH da solução de PNIPAM(39k) (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	49
Gráfico 7. Efeito da adição de diferentes concentrações de etanol à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	51
Gráfico 8. Efeito da adição de diferentes concentrações de etanol à solução de PDMAEMA(19k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	51
Gráfico 9. Efeito da adição de 2 sais diferentes à solução de PNIPAM(20k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	54
Gráfico 10. Efeito da adição de 2 sais diferentes à solução de PDMAEMA(19k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura). .....	55

Gráfico 11. Efeito da adição de diferentes concentrações de SDS à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida de temperatura). .....	57
Gráfico 12. Efeito da adição de diferentes concentrações de CTAB à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida de temperatura). .....	58
Gráfico 13. Transmitância das amostras PNIPAM(20k) e PDMAEMA(11k). Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 450$ nm. ....	60
Gráfico 14. Variação do diâmetro hidrodinâmico das partículas (Dh) com o aumento da temperatura. ....	62
Gráfico 15. Perfil de viscosidade Newtoniana, diâmetro hidrodinâmico das partículas e transmitância de luz da amostra com o aumento da temperatura das soluções. Soluções de 5wt% PNIPAM(20k) para as medidas da viscosidade Newtoniana e transmitância de luz e de 1wt% para a obtenção do diâmetro hidrodinâmico das partículas.....	63
Gráfico 16. Perfil de viscosidade Newtoniana, diâmetro hidrodinâmico das partículas e transmitância de luz da amostra com o aumento da temperatura das soluções. Soluções de 5wt% PDMAEMA(11k) para as medidas da viscosidade Newtoniana e transmitância de luz e de 1wt% para a obtenção do diâmetro hidrodinâmico das partículas.....	64
Gráfico 17. Módulo elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência para a solução de PNIPAM(20k) a: a) $30^{\circ}\text{C}$ (<LCST) e b) $37^{\circ}\text{C}$ (>LCST). A imagem mostra uma solução líquida acima da LCST.....	65
Gráfico 18. Módulo elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência para a solução de PNIPAM(39k) a: a) $30^{\circ}\text{C}$ (<LCST) e b) $35^{\circ}\text{C}$ (>LCST). A imagem mostra um gel acima da LCST.....	66
Gráfico 19. Módulo elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência para: a) $34^{\circ}\text{C}$ (<LCST) e b) $50^{\circ}\text{C}$ (>LCST). A imagem mostra uma solução líquida acima da LCST. ....	67



# Capítulo 1

## 1. Introdução

O presente trabalho tem como objetivo o estudo e a caracterização de polímeros termossensíveis, uma subclasse dos polímeros “inteligentes” ou ambientalmente sensíveis, para a sua aplicação como possíveis sensores de temperatura corporal na pele do bebê. O sistema pensado faz uso de um simples mecanismo (mudança de cor), para atender a uma das grandes preocupações dos pais, indicando a ultrapassagem do valor limite de temperatura considerado normal numa criança.

A ideia seria chegar a um produto final capaz de manter a temperatura corporal da criança sob monitorização contínua ao longo do dia, incorporando um acessório prático, cómodo e com algum nível estético ajustável ao pulso. Poderá ainda ter uma segunda funcionalidade, servindo como pulseira de identificação.

De acordo com alguns pediatras, a temperatura na pele de um bebê pode variar entre os 35°C e os 37,8°C. É importante estar atento às variações de temperatura que ocorrem frequentemente no corpo do bebê, uma vez que o mecanismo de regulação

térmica, estando ainda em fase de maturação, não atua corretamente. Um sintoma de febre detetado tardiamente e atingindo um valor de  $38,5^{\circ}\text{C}$  pode dar origem a sintomas como vômitos e convulsões febris.

O foco será mantido numa possível temperatura crítica ( $38^{\circ}\text{C}$ ) à superfície da pele do bebê e a partir do qual é indicado que este apresenta sintomas de febre. A temperatura crítica estimada para a pele do bebê corresponderá a uma temperatura crítica dos polímeros em estudo, acima da qual sofrerão uma transição de fase reversível, visível a nível macroscópico. Para além disso, é importante perceber a relação estrutura-propriedades desta classe de polímeros em solução, de modo a ser possível alterar a temperatura crítica de forma desejada e obter um sistema reprodutível durante uma infinidade de vezes.

Tendo em conta a aplicação final deste trabalho, estaremos interessados apenas em sistemas com um comportamento do tipo LCST, temperatura acima da qual a solução tomará um aspeto branco opaco.

Através de uma cuidadosa seleção de solventes e aditivos será estudada a melhor forma de ajustar a temperatura para o valor desejado.

## 1.1. Polímeros Inteligentes

Podemos afirmar que a vida é polimérica na sua essência se nos lembrarmos que macromoléculas como as proteínas, os polissacarídeos e os ácidos nucleicos constituem os principais componentes de uma célula viva.<sup>1,2</sup> Estes biopolímeros têm a propriedade de adotar conformações específicas consoante o ambiente envolvente e formam a base em torno da qual a maior parte dos processos biológicos são controlados.<sup>3,4,5</sup> O que torna alguns biopolímeros particularmente interessantes é a sua sensibilidade na presença ou ausência de estímulos externos. Pequenas mudanças ambientais podem provocar uma resposta dramática do polímero.<sup>3,5</sup> As suas respostas não lineares são causadas por interações altamente cooperativas.<sup>6</sup> A compreensão do mecanismo dessas interações nos biopolímeros abriu caminho para a possibilidade de tentar imitar o seu comportamento em sistemas sintetizados em laboratório.<sup>1,2,3</sup> Polímeros sintéticos foram desenvolvidos com várias formas funcionais para atender a aplicações industriais e científicas.<sup>1</sup> Estes polímeros são geralmente solúveis em água, ou soluções aquosas (ex.: fluídos biológicos), e são geralmente conhecidos como polímeros "inteligentes" dada a sua habilidade de adaptação sob condições facilmente controladas, à semelhança dos biopolímeros, daí a sua crescente atratividade nas áreas da biotecnologia e da medicina.<sup>1,7,6</sup> A sua singularidade reside não só nas mudanças rápidas que ocorrem a nível macroscópico na



sua estrutura, mas também no carácter reversível dessas mesmas transições.<sup>2,3,6</sup> A sua classificação é feita de acordo com o estímulo ambiental que induz a resposta (ex.: Termossensíveis, pH-sensíveis), e por isso podem também ser chamados de polímeros de "estímulo-resposta" ou polímeros "ambientalmente sensíveis".<sup>1,5</sup> Os estímulos de maior importância, sob o ponto de vista biomédico, são o pH e a temperatura.<sup>2,3</sup> O exemplo mais comum de estímulo térmico é a elevação da temperatura corporal sob condições febris provocadas por pirogêneos.<sup>8</sup> Variações de pH estão presentes no corpo humano, em diferentes órgãos, tecidos e compartimentos celulares, ou até mesmo áreas tumorais. Estas variações tornam-se óbvias no trato gastrointestinal, onde o pH passa de ácido (pH=2), no estômago, a básico (pH=5-8), no intestino.<sup>2,3</sup> Sistemas que transitam de fase sob condições fisiológicas são propostos como potenciais aplicações em sistemas injetáveis minimamente invasivos. Outros estímulos comuns são ainda, a força iónica, os campos eléctrico e magnético, a luz na região UV-visível, as biomoléculas e a concentração de eletrólitos ou glicose, entre outros.<sup>1,2,3,4,5,6,9,10</sup> Muitas vezes, dois ou mais estímulos podem ainda ser combinados.<sup>5,9</sup> Dada a ampla gama de estímulos possíveis, existe também uma vasta gama de aplicações para este tipo de polímeros, incluindo sistemas de (bio)sensores ou atuadores biomiméticos, sistemas de libertação controlada de agentes terapêuticos (fármacos ou genes), engenharia de tecidos (*scaffolds*), superfícies termossensíveis, dispositivos de

bioseparação, bioconjugados, novos biocatalisadores imobilizados e suportes para cultura de células.<sup>1,2,3,5,6,10</sup>

A estrutura química das cadeias poliméricas é importante para conhecer o tipo de resposta macroscópica, e a sua configuração em solução depende da relação entre as interações polímero-polímero e polímero-solvente (tabela 1).<sup>1,5,11</sup>


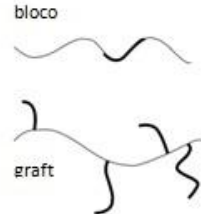
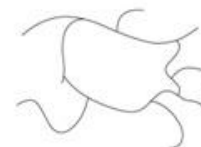
Polímeros ambientalmente sensíveis podem apresentar um comportamento de gel reversível, transição sol-gel, quando o seu peso molecular e concentração em solução são suficientes para que seja formada uma rede tridimensional. Hidrogel é o nome frequentemente atribuído a géis poliméricos cujo solvente é a água.<sup>7</sup>

Hidrogéis físicos têm uma importância diferente dos hidrogéis químicos. Enquanto os primeiros formam redes transientes que poderão ser extinguidas por adição de aditivos, sendo assim úteis para aplicações onde se pretende essa reversibilidade, os hidrogéis químicos mantêm a sua integridade por períodos normalmente maiores, não são reversíveis e necessitam de um iniciador para a reação. Os hidrogéis físicos são facilmente injetáveis e têm uma fórmula farmacêutica mais simples, por dissolução, revelando-se vantajosos em relação aos hidrogéis químicos.<sup>12</sup>

Hidrogéis físicos formados por polímeros inteligentes sofrem rápidas mudanças reversíveis na sua microestrutura. Para tal, é requerido um apropriado balanço hidrofílico/hidrofóbico na estrutura molecular do polímero para que a transição de fase

ocorra.<sup>6</sup> Cadeias lineares em solução passarão de um sistema monofásico a um sistema bifásico, devido ao colapso do polímero após a aplicação de um estímulo externo.<sup>1,3</sup> Algumas soluções poliméricas sofrem uma transição sol-gel que acompanha a separação de fase.<sup>5,12</sup>

**Tabela 1. Classificação da forma física das cadeias poliméricas e os diferentes tipos de resposta.**<sup>3,11</sup>

Forma física	Tipo de Resposta
Cadeias Lineares Livres 	Solubilização/precipitação  Transição sol-gel (formação reversível de um gel físico)
Copolímeros Anfifílicos 	Micelização
Hidrogéis Quimicamente Reticulados 	Expansão/Colapso

A presente dissertação foca a classe de polímeros com capacidade para responder a variações de temperatura, um estímulo simples de aplicar. Dentro desta classe foram estudados dois polímeros pertencentes à família dos polímeros de acrilamida N-substituída, o Poli-N-isopropilacrilamida (PNIPAM) e o Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato (PDMAEMA).

Ambos são homopolímeros lineares, sendo que o PDMAEMA tem uma resposta à temperatura dependente do pH do meio.

## 1.2. Polímeros Termossensíveis

Polímeros termicamente sensíveis sofrem uma transição de fase, a uma determinada temperatura de solução crítica, o que reflete rápidas alterações no estado de solubilidade.<sup>2,3</sup>

As soluções aquosas destes polímeros podem exibir uma fase (estado isotrópico) abaixo da temperatura de solução crítica, e duas fases acima desta (estado anisotrópico), sendo geralmente conhecida como temperatura de solução crítica mínima (LCST, na sigla inglesa). Por outro lado, soluções poliméricas que se apresentam monofásicas acima da temperatura de solução crítica e bifásicas abaixo desta, exibem uma temperatura de solução crítica máxima (UCST, na sigla inglesa).<sup>2,3,10,13,14</sup>

Os dois tipos de comportamento referidos podem ser explicados através da termodinâmica, considerando a equação da energia livre de Gibbs ( $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ ).<sup>3,10,11</sup> Em causa, está o balanço entre os efeitos hidrofóbicos e o estado de ordem das moléculas de água nas proximidades do polímero.<sup>2</sup> A transição de fase ocorre quando variações de entalpia e entropia da mistura resultam em valores negativos de  $\Delta G$ .<sup>15</sup> O termo entálpico ( $\Delta H$ ) está relacionado com as interações entre o polímero e o solvente, favorecendo a dissolução do polímero, enquanto o termo entrópico ( $\Delta S$ ) se relaciona com as interações hidrofóbicas, levando à precipitação do mesmo.<sup>2,3,10,12</sup> Assim sendo, é de notar que um comportamento LCST é um processo entrópico, já um comportamento UCST é um processo entálpico.<sup>10</sup>

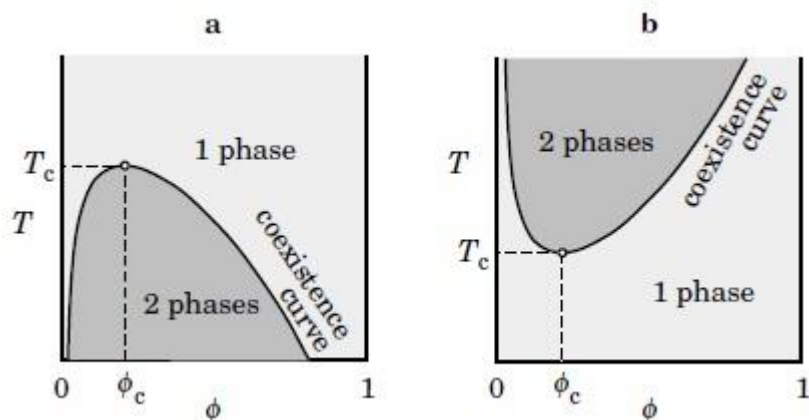


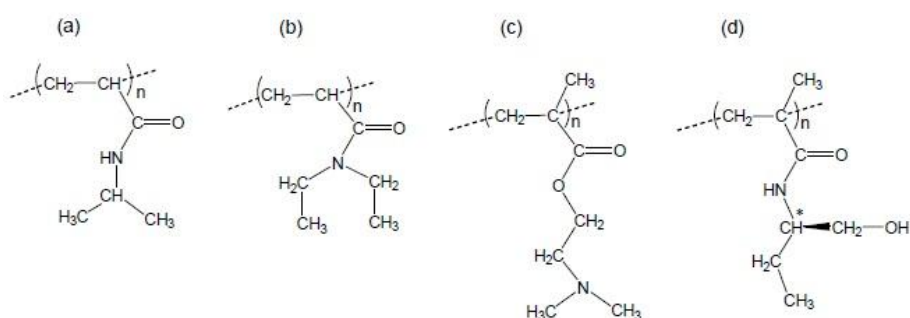
Figura 1. Diagramas de fase de soluções poliméricas no plano temperatura-concentração. a) diagrama do tipo UCST; b) diagrama do tipo LCST.<sup>14</sup>

Os hidrogéis correspondentes possuem transições semelhantes, sendo as temperaturas de gel críticas mínima e máxima as LGTT e UGTT, nas respetivas siglas inglesas.<sup>2</sup>

Sistemas do tipo LCST e UCST não se restringem a soluções aquosas, contudo as aplicações de interesse biomédico são direcionadas para o uso destes polímeros em ambientes fisiológicos, sendo por isso os mais estudados.<sup>2</sup>

### 1.2.1. Polímeros com comportamento do tipo LCST

A família dos polímeros de acrilamida N-substituída é o grupo mais representativo de polímeros que apresentam LCST (Figura 2), entre os quais o PNIPAM é o polímero mais estudado, por apresentar uma temperatura crítica entre a temperatura ambiente e a temperatura corporal humana.<sup>3,10</sup>



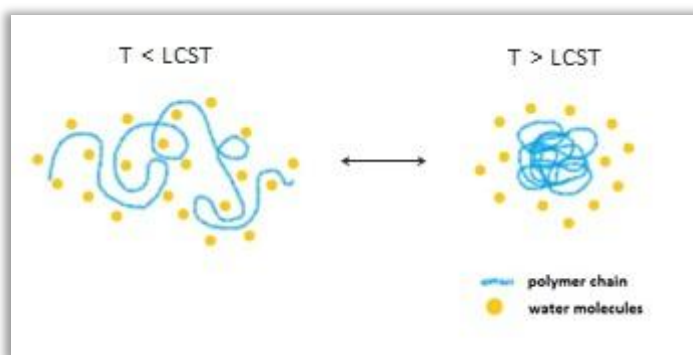
**Figura 2. Estrutura de polímeros que apresentam LCST. (a) Poli(N-isopropilacrilamida (PNIPAM)); (b) Poli(N,N-diethylacrilamida) (PDEAAM); (c) Poli(dimetilaminoetil metacrilato) (PDMAEMA); (d) Poli(N-(L)-(1-hidroxi metil) propilmetacrilamida) (PHMPMAA).<sup>3</sup>**

Os polímeros representados apresentam LCSTs de: (a) 33°C, (b) 26°-35°C, (c) 32°C-53°C e (d) 30°C.<sup>2,3,10,16,17</sup> Os monómeros que os constituem é que lhes conferem as características LCST em meio aquoso. Alterando a composição do polímero através da incorporação de monómeros mais hidrofílicos ou mais hidrofóbicos, consegue-se uma deslocação da LCST das soluções para temperaturas mais ou menos elevadas.<sup>15</sup>

As soluções aquosas deste tipo de polímeros são caracterizadas por um comportamento de dissolução inverso e

termorreversível, acompanhado pelo aumento da turbidez da solução, quando aquecidas acima de uma determinada temperatura.<sup>10,11,18,19</sup> Aparentemente, a baixas temperaturas, as soluções são homogêneas e transparentes, tornando-se opacas quando a temperatura excede a LCST.<sup>1,2</sup>

Abaixo da LCST as cadeias apresentam-se em conformações estendidas, rodeadas pelo solvente, predominando as interações hidrofílicas entre o polímero e o solvente. Acima da LCST a transição é acompanhada pela desidratação das cadeias que passam a estar completamente empacotadas em forma de glóbulos, devido ao crescente pronunciamento das interações hidrofóbicas.<sup>20</sup> Por esta razão, é geralmente denominada de *coil-to-globule transition* (Figura 3).<sup>12</sup>



**Figura 3. Comportamento termossensível em solução aquosa; "*Coil-to-globule transition*".**

O efeito hidrofóbico promove que haja agregação de vários glóbulos com reduzida polaridade, quando em solução aquosa. Este efeito resulta na formação de agregados cujo tamanho é suficiente para dispersar a luz, causando a aparência túrbida.



A rapidez com que o mecanismo de resposta termorreversível é estabelecido foi atribuída a duas etapas consecutivas. Em primeiro lugar ao colapso das cadeias durante a transição *coil-to-globule*, e em segundo lugar, à agregação dos glóbulos resultantes.<sup>15,21</sup> À medida que as interações hidrofóbicas se tornam predominantes o polímero precipita formando uma fase inteiramente diferente, como um todo de agregados poliméricos.<sup>1,2</sup> A formação de precipitado não ocorre sempre, podendo ser substituída pela formação de um hidrogel caso a concentração e/ou  $M_w$  do polímero sejam suficientemente elevados.

### 1.2.2. Poli-N-isopropilacrilamida

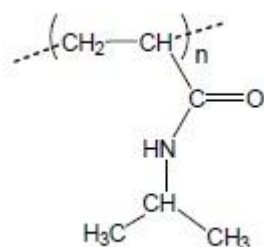


Figura 4. Estrutura química do poli(N-isopropilacrilamida).<sup>3</sup>

Os polímeros termossensíveis mais estudados são as poliacrilamidas, em especial o polinipam, ou simplesmente PNIPAM.<sup>22,23,21</sup> Existem outros polímeros solúveis em água que exibem comportamento do tipo LCST, mas o PNIPAM continua a ser o polímero com maior potencial em aplicações biomédicas, por exibir uma temperatura crítica (LCST) próxima da temperatura corporal humana, entre 30-35°C, embora seja muitas vezes considerada na literatura como 33°C.<sup>24,25,26</sup>

É um homopolímero não iônico que contém domínios hidrofílicos e hidrofóbicos abaixo e acima da LCST.<sup>22</sup> Após a ocorrência de precipitação, muitos dos grupos carbonil (83%) ainda formam pontes de hidrogénio com a água.<sup>12</sup> A separação de fase acima da LCST é reversível e depende do balanço hidrofílico-hidrofóbico, passando instantaneamente de uma solução clara a uma solução turbida.<sup>23,24</sup>

A solubilidade do PNIPAM à temperatura ambiente é devida às pontes de hidrogénio formadas entre os grupos amida

(RCONR<sub>2</sub>) e a água. O aumento da temperatura para valores próximos da LCST provoca o crescente rompimento dessas ligações, levando ao colapso gradual das cadeias. O carácter hidrofóbico do polímero torna-se cada vez mais pronunciado com a contínua elevação da temperatura acima da temperatura crítica, induzindo a associação das cadeias em agregados de grandes dimensões.<sup>21,24</sup>

### 1.2.3. Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato

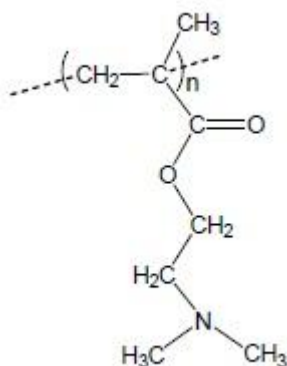


Figura 5. Estrutura química do poli(2-dimetilaminoetil metacrilato).<sup>3</sup>

O PDMAEMA é um polímero cuja termossensibilidade é dependente do pH.<sup>27</sup> Possui aminas terciárias ao longo da sua cadeia que são protonadas em meio ácido.<sup>18,28</sup> Ao contrário do PNIPAM, o PDMAEMA exibe separação de fase (do tipo LCST) somente para uma determinada gama de pH.<sup>29</sup> O seu pK<sub>a</sub> é de aproximadamente 7, o que indica que a pH=4 as aminas estão praticamente todas ionizadas e o polímero é completamente solúvel em água, isto porque a repulsão eletrostática entre as cargas geradas provoca uma rápida extensão da cadeia polimérica.<sup>1,3,18</sup> Para além disso, a existência de contrações promove a solubilidade (efeito da entropia dos contrações) e um aumento de pressão osmótica que favorece o “swelling” do polímero. Em soluções neutras e básicas o polímero passa a exibir um comportamento termossensível, apresentando uma LCST entre 32°C e 53°C, dependendo do peso molecular do

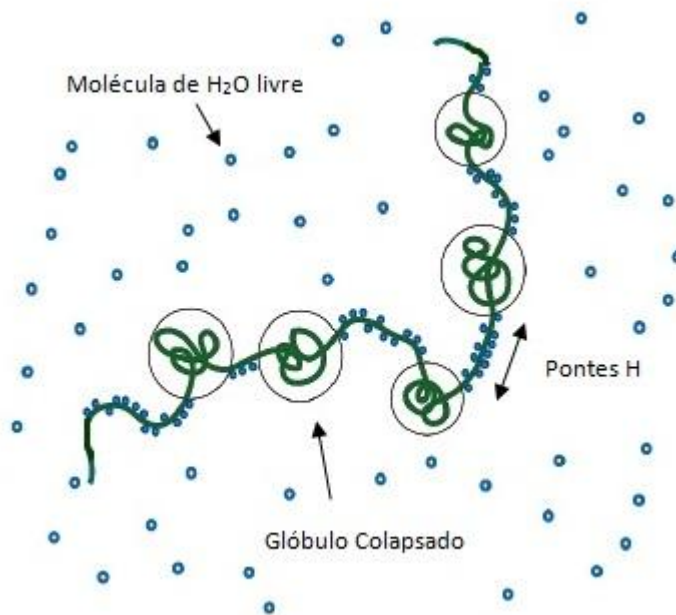
polímero, pH do meio e concentração de sal.<sup>18,27,30</sup> O PDMAEMA possui grupos oxietileno (-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)), possivelmente responsáveis pela termossensibilidade do polímero, por inverterem a sua polaridade com a variação de temperatura.<sup>11,31</sup> Tal como acontece com o PNIPAM, o colapso das cadeias poliméricas é seguido da agregação intermolecular dos glóbulos formados.

O PDMAEMA e os copolímeros de PDMAEMA estão entre os polímeros anfifílicos mais importantes a nível académico e industrial. Podem interagir com fármacos polianiónicos, enzimas e DNA através de interações eletrostáticas, já que formam um polícatião em condições ácidas ou neutras.<sup>27, 29</sup> Para além disso, apresentam uma boa resposta pH/temperatura em solução aquosa, bastante útil no design de sistemas de libertação controlada de fármacos e genes.<sup>32</sup>

#### **1.2.4. Mecanismos propostos para explicar a transição de fase**

Têm sido feitos esforços para compreender melhor o comportamento de transição de fase, e os parâmetros que afetam a LCST.<sup>33</sup> Certos autores atribuem o colapso das cadeias à diminuição da polaridade de alguns segmentos poliméricos com a temperatura, enquanto outros defendem a existência de uma estrutura local nas moléculas de solvente que rodeiam os grupos hidrofóbicos do polímero, induzindo alterações no efeito hidrofóbico.<sup>15</sup>

Ainda existem muitas incertezas acerca da solubilidade/insolubilidade do PNIPAM e dos demais polímeros com comportamentos semelhantes. Contudo, existem teorias que tentam explicar a natureza dessa separação de fase. Kojima et al. introduziram recentemente o conceito de hidratação cooperativa para tentar explicar a alta sensibilidade do PNIPAM.<sup>34,35,36</sup>



**Figura 6. "pearl-necklace conformation"; Ligações entre grupos isopropil formam glóbulos colapsados; sequências de pontes H são formadas devido à cooperatividade entre as moléculas de água mais próximas.<sup>37</sup>**

A cooperatividade na hidratação das cadeias poliméricas é causada pelo "sucesso" da ligação da primeira molécula de água com um grupo amida do polímero, facilitando a ligação da molécula de água seguinte e assim sucessivamente, causando o deslocamento dos grupos isopropil (hidrofóbicos) e criando melhor acesso para a molécula seguinte. Esta ocorrência consecutiva leva a uma conformação da cadeia parecida com um colar de pérolas, conhecida como "pearl-necklace conformation" como mostra a figura 4.<sup>34</sup> Quando a solução é aquecida, cada sequência é desidratada em grupo, resultando a rápida transição de fase, característica do PNIPAM.<sup>35</sup>

Já outros autores, Sarkar e Hussain, defendem que as moléculas de água formam uma estrutura rígida e local em redor dos grupos metilo (-CH<sub>3</sub>) impedindo a interação entre os grupos isopropil de cada monómero, o que leva à total dissolução do polímero à temperatura ambiente. Quando a temperatura é elevada acima da LCST, esta estrutura rígida das moléculas de água quebra, os grupos hidrofóbicos associam-se, levando a uma consequente agregação intermolecular e a precipitação ou gelificação (gel físico reversível).<sup>38,39</sup>

No caso de polímeros que possuam grupos oxietileno, como o polietileno (PEO), uma alteração na polaridade da cadeia leva à separação de fase a elevadas temperaturas.<sup>11</sup> Os grupos oxietileno podem adoptar 25 configurações rotacionais com diferentes energias, das quais duas são polares e as outras 23 são apolares.<sup>31</sup> As configurações de menor energia (polares) são preferidas a baixas temperaturas e possuem um grande momento dipolar. Com o aumento da temperatura outras configurações vão sendo favorecidas, com dipolos menores ou mesmo ausentes. A interação com a água é menos favorecida, reduzindo a hidratação do polímero e induzindo a associação hidrofóbica.<sup>11,31</sup>



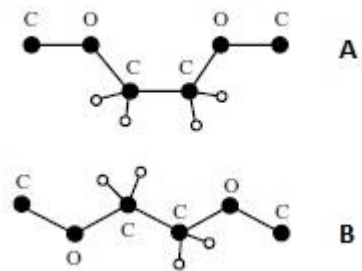


Figura 5. Grupos oxietileno a baixas temperaturas (A) e a altas temperaturas (B).<sup>11</sup>

Tal como o PEO e como já foi referido, o PDMAEMA possui grupos oxietileno na sua estrutura, o que poderá estar na origem da sua termossensibilidade.

### 1.3. Co-solutos que alteram as propriedades dos polímeros

#### 1.3.1. Sais

Hofmeister estudou o efeito da adição de sais a soluções aquosas de proteínas.<sup>40</sup> Estudo que levou a concluir que os aniões, presentes nos solutos iônicos, em geral, têm um efeito bastante mais pronunciado do que os catiões.<sup>41</sup>

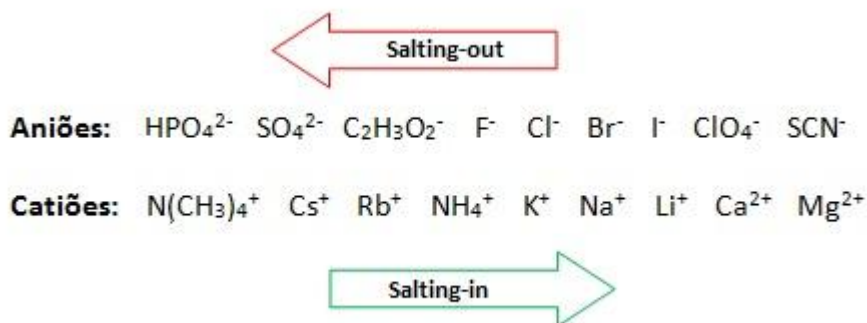
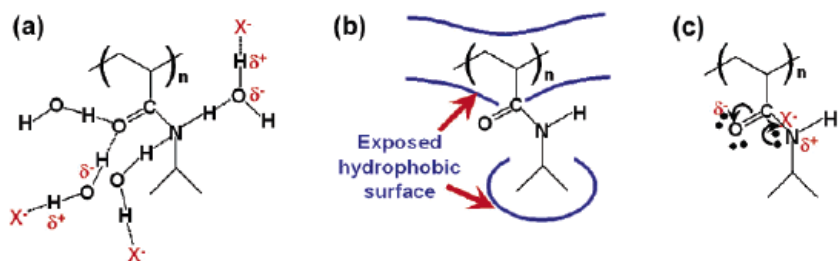


Figura 6. Série de Hofmeister.

Os aniões mais à esquerda são conhecidos como cosmótrofos ou positivamente hidratados, enquanto aqueles que se encontram mais à direita são conhecidos como caótrofos ou negativamente hidratados.<sup>41,42</sup>

Yanjie Zhang et al., através dos seus estudos com um dispositivo microfluidico de gradientes de temperatura juntamente com microscopia de campo-escuro, determinaram o mecanismo de precipitação e agregação do PNIPAM, como resultado de

interações com vários aniões. Estão 3 interações envolvidas, dependendo de condições como, efeitos da tensão superficial, interação direta do anião com a macromolécula e a polarização das moléculas de água que hidratam os grupos amida.<sup>41,43</sup>



**Figura 7.** Três interações básicas envolvidas no efeito de Hofmeister. (a) polarização das moléculas de água que hidratam os grupos amida; (b) a tensão de superfície tem efeitos na hidratação hidrofóbica das macromoléculas e pode ser modelada pela adição de sais; (c) interação direta do anião com os grupos amida.<sup>41</sup>

As duas primeiras interações estão envolvidas na precipitação do polímero (a e b), efeito característico dos iões cosmótrofos (ex:  $\text{Cl}^-$ ), enquanto a segunda está envolvida na solubilização do polímero (c), efeito característico dos iões caótrofos (ex:  $\text{SCN}^-$ ).<sup>41,43,44</sup>

Para este trabalho os dois sais usados foram o  $\text{NaCl}$  e o  $\text{KSCN}$ .

### 1.3.2. Surfatantes

Os surfatantes, também designados de tensioativos, são compostos por duas partes, uma hidrofílica (grupo polar) e uma hidrofóbica (apolar), e a sua classificação é feita segundo os grupos polares que os constituem.<sup>45</sup>



Figura 8- Estrutura de um surfatante aniônico.

Assim podem ser classificados como: não-iônicos, o grupo polar não possui carga; catiónicos, o grupo polar tem carga positiva; aniônicos, o grupo polar tem carga negativa e os zwitterionicos, com propriedades combinadas de tensioativos iônicos e não-iônicos.

Para muitos sistemas polímero-surfatante, as moléculas de surfatante são adsorbidas na cadeia do polímero formando agregados micelares. Os complexos formados entre o polímero e o surfatante são descritos pelo “*pearl necklace model*” como se pode ver na figura 21.<sup>46,47</sup> Este modelo consiste em macromoléculas decoradas com agregados micelares de SDS.

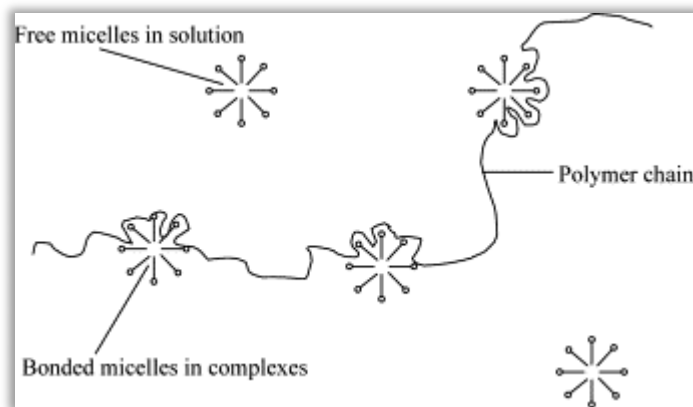


Figura 9. Estrutura do modelo “pearl-necklace” para os complexos polímero-surfatante.<sup>47</sup>

A concentração micelar crítica (cmc), é a concentração a partir da qual se formam as micelas de surfatante livre em solução. Na presença de polímero essa mesma concentração encontra-se um pouco abaixo da cmc e recebe o desígnio de concentração de agregação crítica (cac).<sup>45</sup> O SDS interage com o PNIPAM acima do cac (0,69mM a 25°C), para formar complexos carregados. <sup>46</sup>

Em água, a interação com os polímeros não-iônicos é geralmente mais forte com os surfatantes aniônicos do que com os catiónicos. Tal como para os sais, as explicações sugeridas para esta diferença baseiam-se no tamanho dos grupos polares e na interação de cada ião com a primeira camada de hidratação do polímero, que é favorecida com os aniões.<sup>45</sup>

Neste trabalho foram usados o SDS, surfatante aniônico, e o CTAB, catiónico.

# Capítulo 2

## 2. Experimental

### 2.1. Materiais

Foram sintetizadas e disponibilizadas, pelo Departamento de Engenharia Química, quatro amostras de polímeros sensíveis a variações de temperatura, duas de PNIPAM e outras duas de PDMAEMA. Os pesos moleculares ( $M_n$ ) e os índices de polidispersividade ( $M_w/M_n$ ), obtidos através da cromatografia de permeação em gel (GPC), estão indicados na tabela seguinte.

**Tabela 2. Pesos moleculares médios ( $M_n$ ) das amostras e respetivos índices de polidispersividade( $M_w/M_n$ ).**

Amostras	( $M_n$ )	( $M_w/M_n$ )
PNIPAM (20k)	20,262 Da	3,40
PNIPAM(39k)	39,384 Da	1,56
PDMAEMA(11k)	11.651 Da	1,31
PDMAEMA(19k)	19.603 Da	1,41

Para efeitos de variação do pH da solução de PDMAEMA, foram usados HCl diluído (ácido) e NaOH (base). Para fazer variar o pH das soluções, o ajuste foi feito através da adição de pequenos

volumes de NaOH/HCl e medindo seguidamente até se obter o valor pretendido.

A fim de estudar efeitos na estabilidade dos dois polímeros em solução, em relação à separação de fase, foram usados como aditivos dois sais diferentes, um hidrofílico (NaCl) e um hidrofóbico (KSCN), e como co-solvente o etanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). No caso dos sistemas com PNIPAM foram ainda usados dois tipos de surfatantes, um catiónico, CTAB (≥98,0% pureza, Sigma Aldrich) e um aniónico, o SDS (99% pureza, Sigma Aldrich).

## **2.2. Técnicas**

Neste trabalho as técnicas usadas para o estudo do comportamento de fase dos polímeros foram: a espectroscopia UV-vis, importante para verificar que a transmitância de luz de cada amostra decresce quando se faz aumentar a temperatura do sistema, devido à dispersão de luz causada pelos agregados poliméricos que se formam acima da LCST; a reologia, para perceber o comportamento reológico dos polímeros em solução aquosa, a pH diferente e na presença de aditivos; o DLS para confirmar a presença de agregados hidrofóbicos, sugerida pelo aumento do diâmetro hidrodinâmico das partículas a temperaturas acima da LCST.

De seguida será explicado o modo como as amostras foram preparadas, assim como os princípios de funcionamento de cada técnica evidenciada.

### **2.2.1. Método de preparação das amostras**

Nos testes de espectroscopia as soluções dos dois polímeros encontram-se a uma concentração de 5wt% em água destilada. Primeiro é pesada a massa de polímero necessária e em seguida é colocada água destilada até perfazer o volume total estabelecido. Para todas as técnicas, as amostras são sempre agitadas até à dissolução total do polímero.

Nos testes reológicos o procedimento é o mesmo para os sistemas contendo apenas o polímero e água destilada. Quando se adicionam concentrações pequeníssimas de aditivos, como no caso dos sais e surfatantes em que as concentrações estão abaixo de 1wt%, por uma questão de facilidade na pesagem, primeiro são pesadas as massas do sal/surfatante e só depois é adicionado o polímero e a água, na ordem já referida. No caso dos álcoois, é pesada a massa de polímero, em seguida é usada uma pipeta adequada para a quantidade de álcool calculada e o volume restante é preenchido com água destilada.

Para os testes de DLS, o procedimento é o mesmo que o explicado inicialmente, apenas é usada uma concentração mais baixa de 1wt%.



## 2.2.2. Espectrofotometria UV-Visível

A espectrofotometria é um método analítico que se baseia na interação da matéria com a radiação eletromagnética (luz).

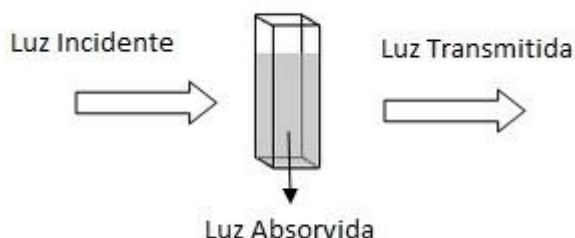


Figura 10. Esquema ilustrativo da incidência de luz sobre a amostra.

A cor das amostras (luz transmitida) deve-se à absorção e/ou dispersão, de certos comprimentos de onda constituintes da luz branca e/ou UV.

A transmitância de luz de cada amostra, a diferentes temperaturas, foi medida usando o *Shimadzu UV-VIS Spectrophotometer, UV-2450*. Para a realização dos gráficos foi escolhido um comprimento de onda no intervalo do espectro de luz visível, por forma a acompanhar a linha de transmitância do mesmo comprimento de onda, antes, durante e após a separação de fase de cada amostra.

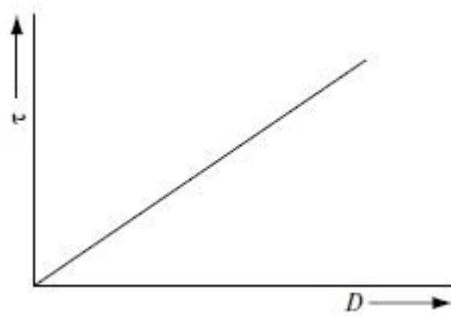
### **2.2.3. Reologia**

A reologia é a ciência que estuda o modo como a matéria flui ou se deforma sob determinadas condições de teste, e assenta sobre as leis da viscosidade e da elasticidade propostas por Newton e Hooke, respectivamente.<sup>48,49,50</sup> Sólidos e fluídos (líquidos ou gases), respondem de diferentes formas à deformação, os primeiros são caracterizados por uma resposta elástica, enquanto os segundos seguem um fluxo viscoso. Os polímeros estão incluídos numa ampla classe de fluídos complexos e são caracterizados pelas suas propriedades viscoelásticas.<sup>11</sup> A contribuição de cada componente, viscosa ou elástica, varia consoante as condições de tensão, deformação e temperatura, assim como da concentração e distribuição de pesos moleculares.<sup>48,51,52</sup>

#### **Viscosidade de Fluídos Newtonianos**

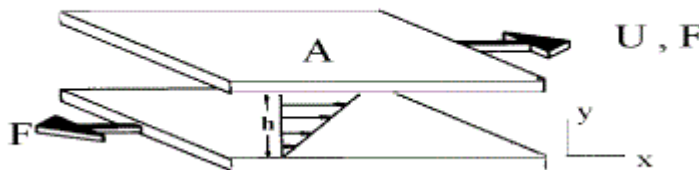
A viscosidade é uma propriedade quantificável da deformação de um líquido e é definida como uma medida de resistência ao fluxo da matéria.<sup>51</sup>

O comportamento mais simples, e o que será abordado, é o de um Fluido Newtoniano. O modelo de Newton obedece a uma relação linear entre a tensão e a taxa de deformação, em que a constante de proporcionalidade é a viscosidade, e esta depende apenas de fatores como a temperatura e a pressão.<sup>51</sup>



**Figura 11. Fluido Newtoniano. Tensão de deformação ( $\tau$ ) em função da taxa de deformação ( $D$ ).<sup>11</sup>**

Este modelo segue o fluxo laminar simples. Se tivermos duas placas, uma delas móvel (placa superior), com uma separação constante entre elas, e esse espaço for preenchido por um fluido, existe uma variação linear da taxa de fluxo na direção de  $y$ , e então  $D$  é igual em todas as direções.<sup>11,53</sup>



**Figura 12. Modelo de duas placas usado por Newton. F- força (deformação) aplicada; A-área das placas; h – espaço entre as placas e U – viscosidade com que a placa superior se move.<sup>51</sup>**

De acordo com a figura, podemos definir alguns parâmetros como:

- Tensão de deformação,  $\tau = F/A$  (Pa)
- Deformação,  $dx/dy$

- Taxa de deformação,  $D = \frac{dv}{dy} = \frac{d}{dt} \frac{dx}{dy}$  (s<sup>-1</sup>)

Todos os fluídos se tornam não-Newtonianos, se a taxa de deformação for suficientemente elevada (Figura 7). A água é um solvente Newtoniano com uma viscosidade de 10<sup>-3</sup> Pas.<sup>48</sup> Para que se observasse um comportamento do tipo não-Newtoniano na água, seriam necessárias velocidades na ordem de 10<sup>12</sup> s<sup>-1</sup>.<sup>51</sup>

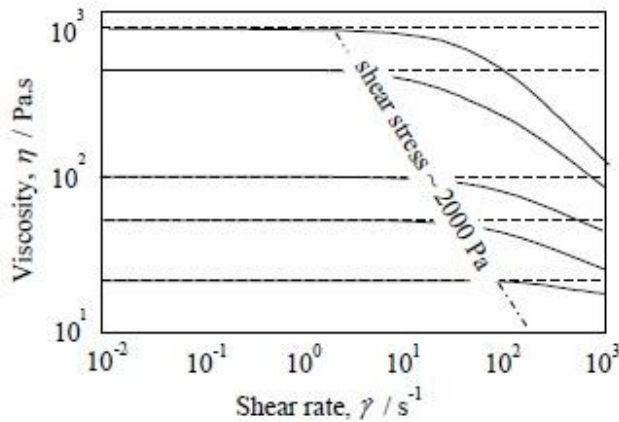


Figura 13. Limite do comportamento de fluídos Newtonianos.<sup>51</sup>

### Viscoelasticidade

A viscoelasticidade pode ser estudada através de testes oscilatórios, medindo  $G'$  (módulo elástico) e  $G''$  (módulo viscoso). Os dois limites de comportamento observados para sistemas quase puros, são um líquido, quando  $G'' > G'$  e a viscosidade dinâmica é independente da frequência, ou um gel elástico, quando  $G' > G''$ , e a viscosidade dinâmica decresce com a frequência.<sup>11</sup>

A dependência da viscosidade Newtoniana, foi estudada em função da temperatura, usando o *Thermo Scientific HAAKE MARS III*, com um sistema de medida de cone e prato (diâmetro: 35 mm; ângulo: 1°) (Figura 11) e configuração automática do zero (*zero gap*, espaço entre a placa e o cone). Possui um reservatório de água para controle de testes de temperatura, com largo intervalo de seleção de temperaturas (-150°C a 600°C). O HAAKE MARS III permite medir as propriedades viscoelásticas das soluções poliméricas em função da deformação, alongamento, tempo, frequência, tensão e temperatura. No presente trabalho, as propriedades viscoelásticas dos dois polímeros foram estudadas em função da frequência, para duas temperaturas distintas, abaixo e acima da LCST de cada polímero.

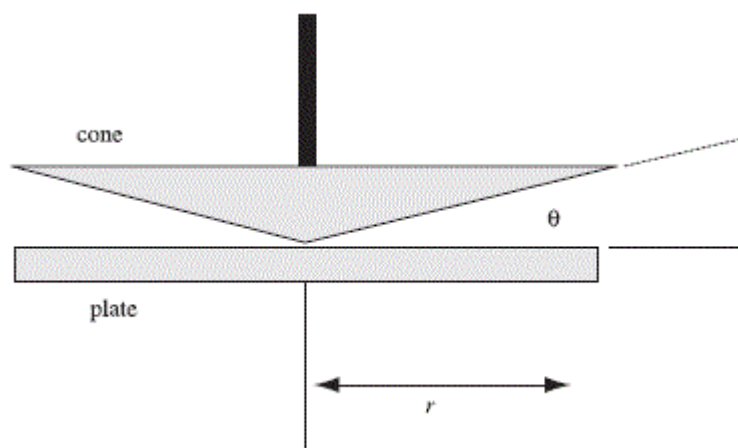


Figura 14. Sistema de cone e prato;  $\theta$  é o ângulo entre o cone e o prato e  $r$  é o raio de ambos.<sup>49</sup>

## **Testes Rotacionais**

Nos testes rotacionais de viscosidade vs. temperatura, a rampa de temperaturas escolhida foi de 20-50°C com uma velocidade de aquecimento de 1°C/3min.

A tensão aplicada às amostras de PDMAEMA e PNIPAM(20k) foi de 1Pa. Para o PNIPAM(39k) a tensão usada foi de 10Pa. A tensão aplicada às amostras é escolhida tendo em conta a fluidez observada das soluções. Tensões mais baixas do que o necessário chegariam a um ponto em que o cone deixaria de conseguir rodar sobre a amostra, surgindo valores negativos de viscosidade e indicando que a tensão não é a mais apropriada.

#### 2.2.4. Dispersão Dinâmica da Luz (DLS)

A Dispersão dinâmica da luz (DLS), também conhecida como Espectroscopia de Correlação Fotônica (PCS), é uma técnica usada para medir o tamanho e a distribuição de tamanhos das moléculas ou partículas, na região do submicron.<sup>54,55,56</sup> Esta técnica é aplicada a moléculas dispersas ou dissolvidas num líquido, entre as quais poderão ser proteínas, polímeros, micelas, nanopartículas e colóides, entre outras.<sup>54, 57</sup>

O princípio usado é bastante simples e assenta em dois pressupostos: todas as partículas em solução seguem o movimento Browniano, um movimento aleatório causado pelo choque com as moléculas de solvente; o diâmetro obtido é o de uma esfera que tem o mesmo coeficiente de difusão translacional que a partícula a ser medida (figura 7).<sup>54,55</sup>

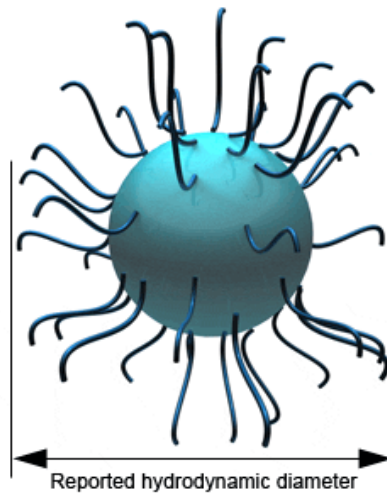
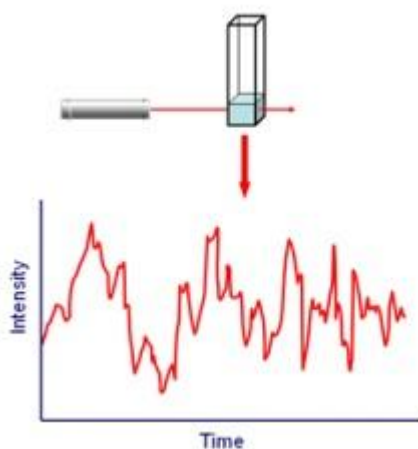


Figura 15. Diâmetro hidrodinâmico.<sup>54</sup>

A esfera é definida pela rotação da molécula em todas as direções com uma adicional camada de hidratação, modificada pela facilidade que o solvente tem em atravessar tal volume.<sup>58</sup> O diâmetro medido é chamado de diâmetro hidrodinâmico e refere-se à facilidade que as partículas têm em difundir num determinado fluido.<sup>54,55,58</sup>

A amostra contida na célula é iluminada por um feixe laser e as flutuações da luz dispersa são detetadas a um determinado ângulo  $\theta$  conhecido, por um fotodetector de alta sensibilidade.<sup>56,57</sup> A intensidade da luz que é detetada flutua a uma taxa que depende do tamanho das partículas. Naturalmente partículas mais pequenas movem-se mais rapidamente aquando do choque com as moléculas de solvente.<sup>54,57</sup>



**Figura 16. Flutuações de intensidade ao longo do tempo como resultado da dispersão de luz por parte das partículas contidas na amostra.<sup>59</sup>**

Quanto mais rapidamente as moléculas difundirem, mais rápidas serão as variações de intensidade. A velocidade dessas



mudanças está diretamente relacionada com o movimento das partículas. O coeficiente de difusão translacional é dado pela intensidade de luz dispersa em função do tempo. Fatores como a temperatura, a viscosidade do solvente, o tamanho da partícula e a estrutura da sua superfície, concentração e tipo de iões no meio, afetam o movimento das partículas.<sup>55,56,58</sup>

Correlacionando as flutuações de intensidade determina-se o coeficiente de difusão translacional do movimento Browniano, e obtém-se a distribuição de tamanhos da população existente na amostra através da relação de Stokes-Einstein:

$$D_h = \frac{k_b T}{6\pi\eta D_0}$$

Onde  $D_h$  é o diâmetro hidrodinâmico da partícula,  $k$  é a constante de Boltzmann's,  $T$  é a temperatura absoluta em graus Kelvin,  $\eta$  é a viscosidade do solvente e  $D_0$  é o coeficiente de difusão translacional.<sup>54,55,58</sup>

No presente trabalho foi usado o Delsa™ Nano C Submicron da Beckman Coulter, capaz de analisar amostras com concentrações de 0.001% a 40% e de medir tamanhos inferiores a 1nm (0.6 nm – 7 µm). Não necessita de grandes quantidades de amostra, sendo o mínimo necessário de 60 µl.<sup>56</sup> O sistema possui 3 ângulos de detecção a 15°, 30° e 165°, o que permite determinar a distribuição de tamanhos total das partículas, enquanto que, se consistisse apenas de um ângulo fixo seria apenas possível obter uma média

das distribuições num intervalo limitado de tamanhos.<sup>56,57</sup> A temperatura a que as amostras podem ser submetidas varia entre os  $15^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  e os  $90^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ .<sup>56</sup>

# Capítulo 3

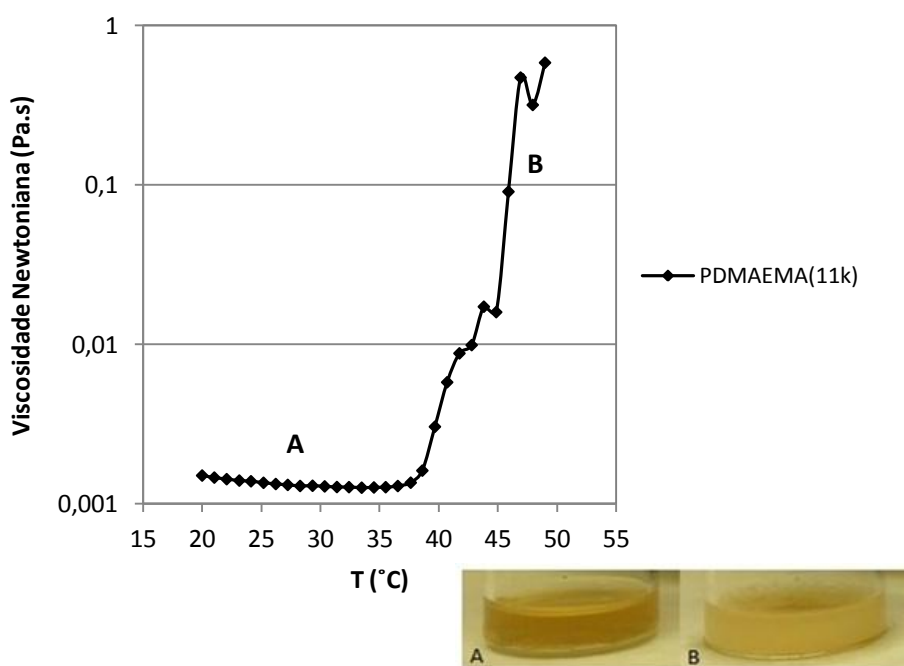
## 3. Resultados e Discussão

Na introdução foi dito que a resposta ao aumento da temperatura, acima da temperatura crítica (LCST), é atribuída ao colapso individual das cadeias poliméricas, seguido da agregação dos glóbulos resultantes. Esta proposição é suportada, no presente trabalho, por estudos reológicos, espectroscópicos e de dispersão dinâmica de Luz (DLS).

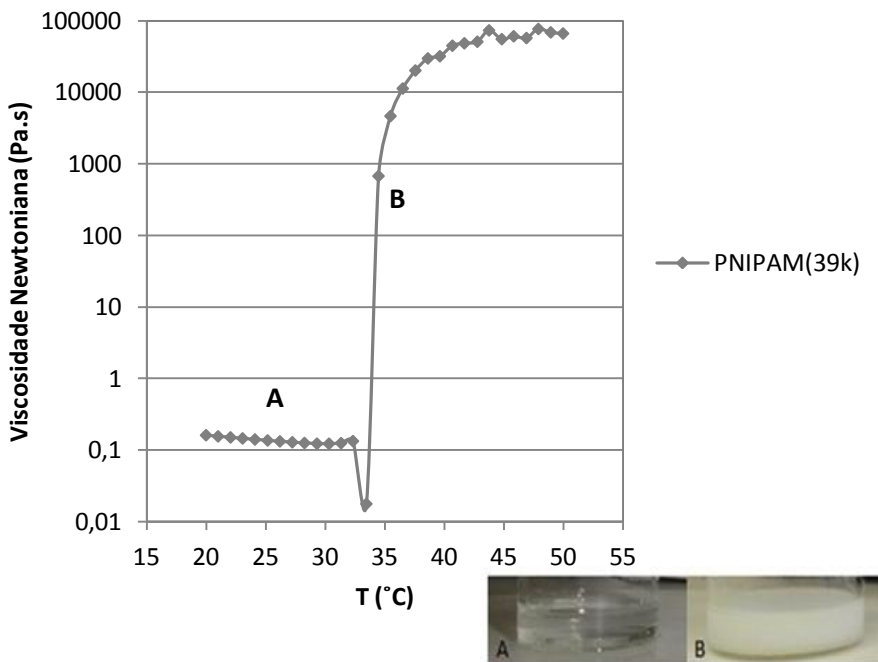
### 3.1. Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura

Foram preparadas, inicialmente, soluções de 2, 5 e 10% de cada amostra de polímero para um volume total de 2 ml de solução, usando sempre a água como solvente. Cada amostra foi mergulhada num banho de água quente, fazendo variar a temperatura entre 20°C a 50°C, a fim de abranger um largo intervalo que compreende os valores limite da temperatura corporal humana. Para o PDMAEMA(11k), a transição de fase foi verificada entre os 38°C e os 39°C, com um aumento da turbidez da solução, passando de um amarelo translúcido a

opaco. Para o PDMAEMA(19k) a transição de fase revelou-se um pouco mais baixa, entre os 37°C e os 38°C, dado que o aumento do tamanho das cadeias poliméricas em solução reduz o espaço entre polímeros acentuando as interações hidrofóbicas. Para as soluções de PNIPAM, a transição foi verificada entre os 33°C e os 34°C, com um aumento de turbidez bastante mais acentuado, passando de uma solução completamente transparente a um branco totalmente opaco. Em simultâneo, foram obtidas as curvas de dependência da viscosidade Newtoniana com a temperatura. Os resultados iniciais são mostrados nas figuras seguintes.

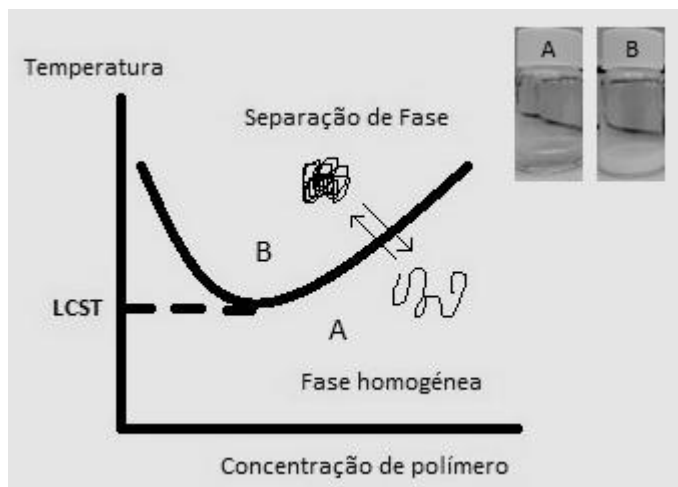


**Figura 17.** Solução de 5wt% de PDMAEMA(11k) a pH=9,1. Dependência da viscosidade Newtoniana do em função da temperatura. Turbidez da solução aquosa de PDMAEMA abaixo (A) e acima (B) da LCST.



**Figura 18. Solução de 5wt% de PNIPAM(39k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura. Turbidez da solução aquosa de PNIPAM abaixo (A) e acima (B) da LCST.**

Para temperaturas abaixo da LCST, as cadeias permanecem estendidas e hidratadas pelas moléculas do solvente, o que é indicado pela baixa viscosidade da solução. Neste intervalo de temperaturas a solução permanece transparente e homogênea. O colapso das cadeias ocorre quando se atinge a temperatura crítica. Neste ponto, o espaço ocupado pelas cadeias é menor, o que se traduz na diminuição da viscosidade e a solução mantém-se transparente.



**Figura 19. Ilustração do comportamento de fase do tipo LCST.**

A associação hidrofóbica intermolecular das cadeias inicia quando a temperatura ultrapassa a LCST, levando ao aumento da viscosidade das soluções, com a formação de largos agregados. Nas curvas de PNIPAM, o fenómeno que ocorre quando se atinge a LCST é perfeitamente delineado. No caso do PDMAEMA, o ponto exato onde ocorre a transição de fase não é tão facilmente perceptível. Existe uma notória diferença de comportamentos entre os dois polímeros em solução. Enquanto o PNIPAM revela uma resposta abrupta, imediatamente a seguir à LCST, no caso do PDMAEMA essa resposta é dada de uma maneira mais gradual, sugerindo mecanismos de transição de fase diferentes. Na secção 1.2.4. foram abordados alguns mecanismos propostos por alguns autores para a ocorrência de separação de fase. No caso do PNIPAM, a resposta pode ser provocada pela quebra de uma estrutura rígida formada pelas moléculas de água e em redor dos grupos metilo (-CH<sub>3</sub>),

permitindo associações hidrofóbicas abruptas entre os grupos isopropil. As associações hidrofóbicas do PDMAEMA são mais moderadas, sugerindo que o mecanismo possa ser devido à rotação gradual dos grupos oxietileno.

### 3.1.1. Influência do peso molecular e concentração em solução

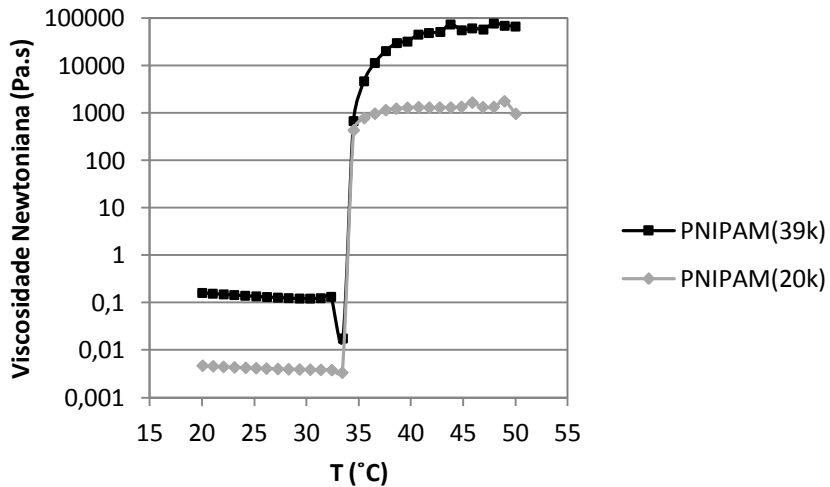


Gráfico 1. Efeito da variação do peso molecular do PNIPAM (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).

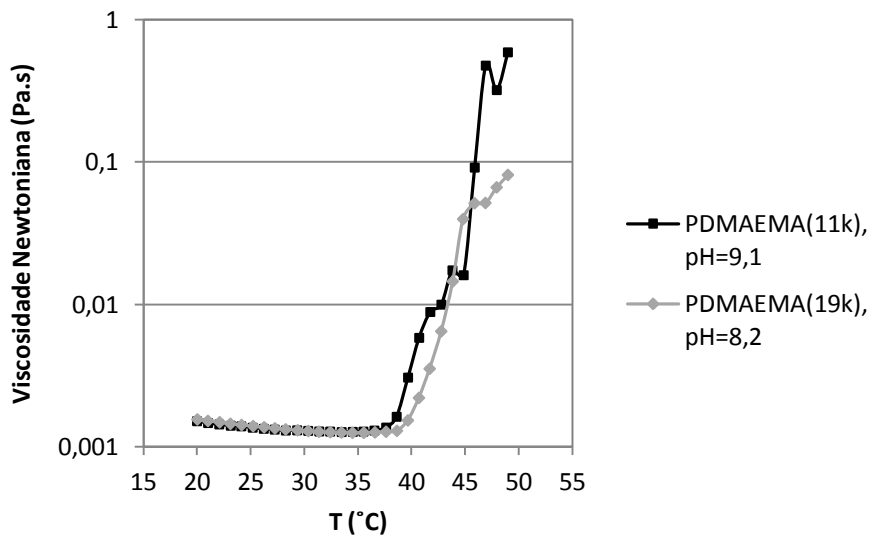


Gráfico 2. Efeito da variação do peso molecular do PDMAEMA (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).

No caso das soluções de PNIPAM, o peso molecular tem uma notável influência na viscosidade do polímero, diferindo quase



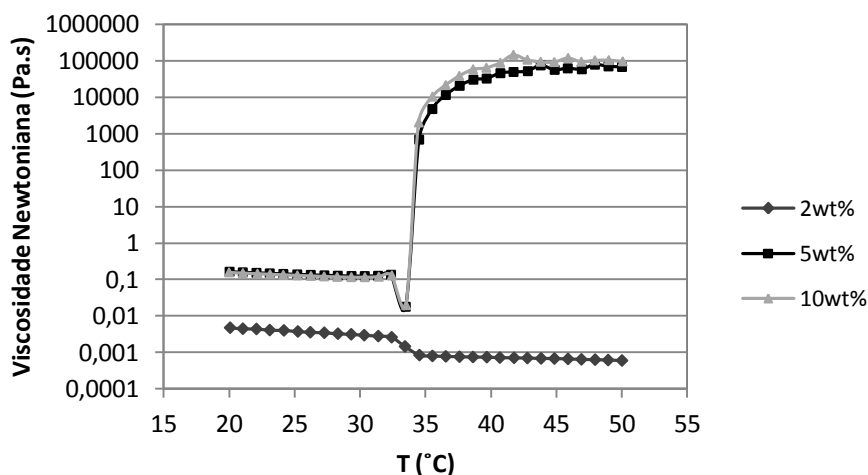
por um fator de 100. Quanto maior o peso molecular, mais elevada será a viscosidade da solução e maior será a probabilidade de ocorrência de uma transição sol-gel. Com o aumento do peso molecular do polímero o espaço entre as cadeias reduz-se, possibilitando um maior número de associações hidrofóbicas entre elas e conduzindo à formação de um gel físico (rede tridimensional reticulada). No que toca à LCST do polímero, esta mantém-se muito próxima, não sendo notável alguma dependência com o peso molecular. De acordo com a literatura, alguns autores afirmam que a LCST das soluções de PNIPAM é independente do peso molecular, enquanto outros afirmam ser diretamente dependente ou ainda inversamente dependente do peso molecular.<sup>26</sup> As diferenças revelam-se particularmente notáveis quando se comparam resultados de amostras com pesos moleculares elevados com amostras de pesos moleculares relativamente baixos ( $M_w < 20,000$  Da), para os quais a natureza química dos grupos finais tem um impacto significativo na LCST das soluções de PNIPAM. Fujishige et al. afirmam mesmo não haver qualquer efeito significativo nem no que diz respeito ao peso molecular nem no que diz respeito à concentração, embora só tenham considerado amostras com um mínimo de  $5 \times 10^4$  Da e o efeito da concentração tenha sido apenas avaliado para amostras com pesos moleculares de  $8,4 \times 10^6$  Da.<sup>60</sup>

Olhando agora para as curvas do PDMAEMA, pode observar-se que, com o aumento do peso molecular do polímero, a LCST é

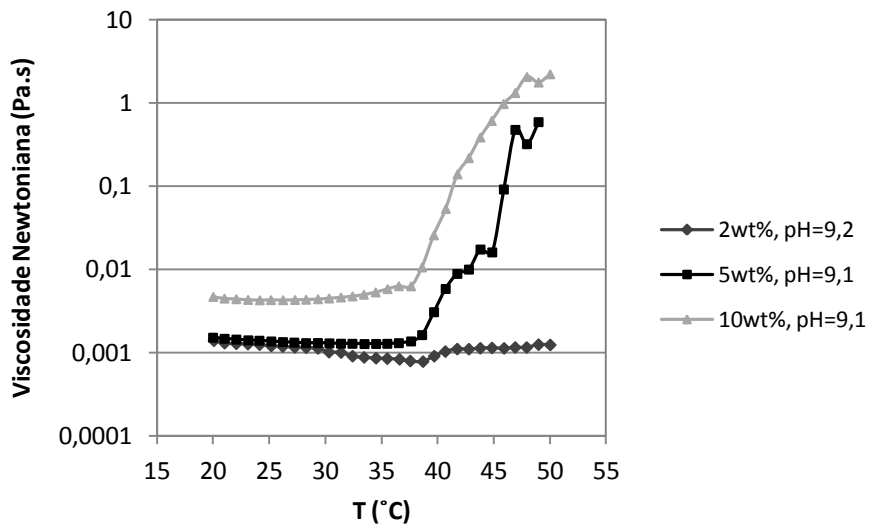
deslocada para um valor mais baixo, que neste caso varia de -1°C. Já a viscosidade da solução mantém-se dentro dos mesmos valores. Estes dados poderão significar que o 5wt% de PNIPAM 39kDa é superior à concentração crítica, ou seja, à concentração onde se inicia o regime semi-diluído e as cadeias se começam a entrelaçar. Ao reduzir a Mw do polímero para 20kDa há uma diminuição clara da viscosidade, possivelmente atribuída a uma passagem para o sistema diluído. Nos sistemas com PDMAEMA, a invariância da viscosidade com o aumento da Mw é indicativo de que os sistemas estão ambos no regime diluído.

No que diz respeito à variação da concentração das amostras em solução, para concentrações muito baixas de PNIPAM, os glóbulos resultantes da transição *coil-to-globule* formam também agregados, só que estes são tão pequenos que não conseguem formar pontes entre eles, não se formando por isso uma estrutura tridimensional. Para concentrações mais elevadas os valores crescentes de viscosidade não apresentam variações significativas, e por isso foram sempre usadas soluções com concentrações de 5wt%, nos estudos decorrentes. A LCST aparenta ser a mesma para qualquer das concentrações. Para o PDMAEMA, a LCST diminui com o aumento da concentração em solução. Havendo maior quantidade de polímero em solução, o número de associações hidrofóbicas cresce, ou seja, a associação intermolecular aumenta, e o polímero transita de fase

a uma temperatura mais baixa. Posto isto, a viscosidade também será menor para concentrações mais baixas. Acima da LCST a viscosidade aumenta com o aumento da concentração de polímero em solução. A 2wt%, possivelmente não se formará uma estrutura tridimensional na íntegra, existindo em solução apenas aglomerados de glóbulos.



**Gráfico 3. Efeito da variação da concentração de PNIPAM(39k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).**



**Gráfico 4. Efeito da variação da concentração do PDMAEMA(11k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).**

### 3.1.2. Influência do pH do meio

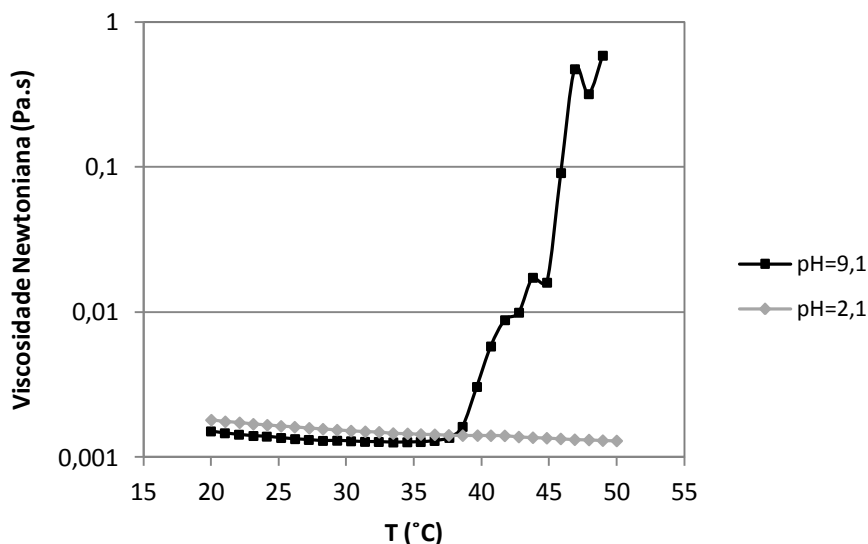
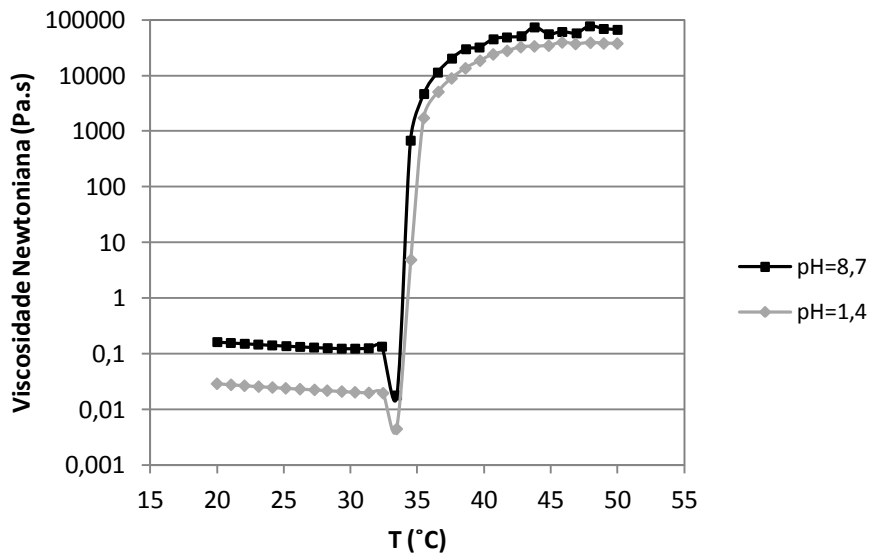


Gráfico 5. Efeito da variação do pH da solução de PDMAEMA(11k) (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).

O PDMAEMA é um polímero que possui grupos ionizáveis, em meio ácido, ao longo da estrutura da sua cadeia (aminas terciárias). Dessa forma, o polímero é solúvel no intervalo de temperaturas selecionado, a pH baixo. Esta boa relação do polímero com a água traduz-se numa impossibilidade de haver gelificação, como se pode ver pela curva cuja solução apresenta um pH de 2,7: não é verificada qualquer transição de fase. À medida que o pH aumenta acima de 7, um pequeno aumento na viscosidade começa a ser evidenciado, tornando-se cada vez mais pronunciado à medida que o pH aumenta para valores cada vez mais elevados de basicidade (pH=9,1). Dada esta

dependência da resposta à temperatura com o pH do meio, é evidente que à medida que o pH aumenta e as aminas são desprotonadas (polímero neutro), o aumento da hidrofobicidade do polímero leva à diminuição da LCST.



**Gráfico 6. Efeito da variação do pH da solução de PNIPAM(39k) (soluções de 5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura. (subida da temperatura).**

Relativamente ao gráfico do PNIPAM, sendo um polímero neutro, a LCST não varia com o pH. Existe apenas uma ligeira diminuição da viscosidade da solução a pH=1,4, que pode ser explicada pela presença de uma quantidade mais elevada de iões  $H^+$  e  $Cl^-$ . Embora residualmente, estes iões competem pela água, levando à desidratação parcial do polímero e consequente diminuição de tamanho e de viscosidade.

### 3.1.3. Influência da adição de aditivos e co-solventes na temperatura crítica

A qualidade do solvente é um importante parâmetro, cujos efeitos na viscosidade devem ser considerados.<sup>11, 51</sup>

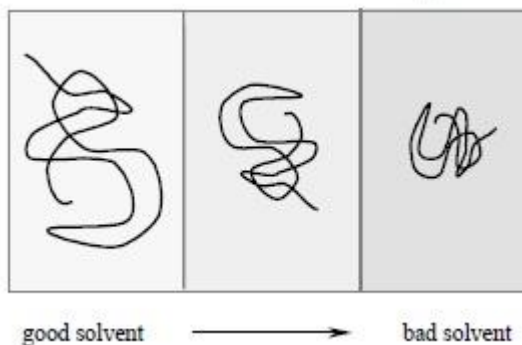


Figura 20. Efeito da qualidade do solvente na configuração do polímero.<sup>51</sup>

Uma vez que o comportamento termossensível depende das interações entre o solvente e o polímero e do balanço hidrofílico/hidrofóbico na estrutura do polímero, pretendemos saber se determinados aditivos irão influenciar a localização da temperatura crítica. Sais, surfatantes e co-solventes presentes nas soluções aquosas de polímeros, causam alterações nas interações polímero-solvente ou no balanço hidrofílico/hidrofóbico do polímero. Os surfatantes, por exemplo, são adsorvidos na estrutura do polímero, gerando complexos polímero-surfatante com propriedades distintas.<sup>2</sup>

### 3.1.3.1. Efeito da adição de co-solventes

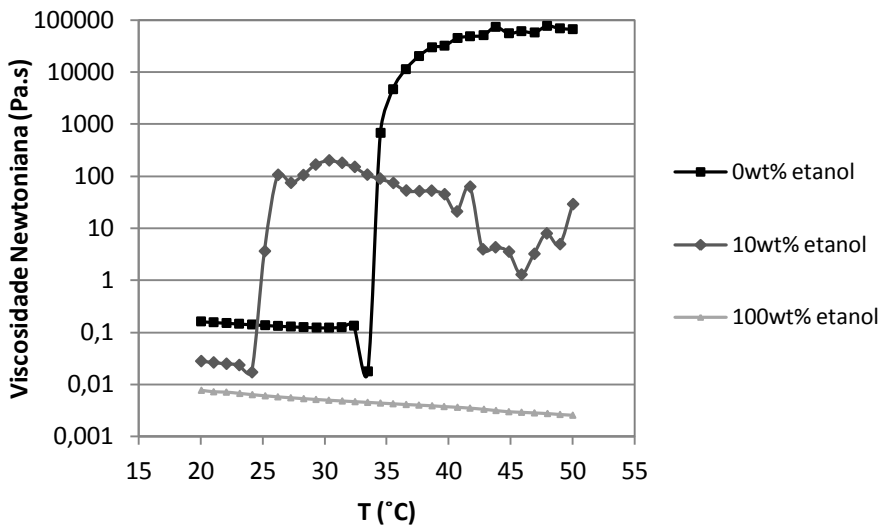


Gráfico 7. Efeito da adição de diferentes concentrações de etanol à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).

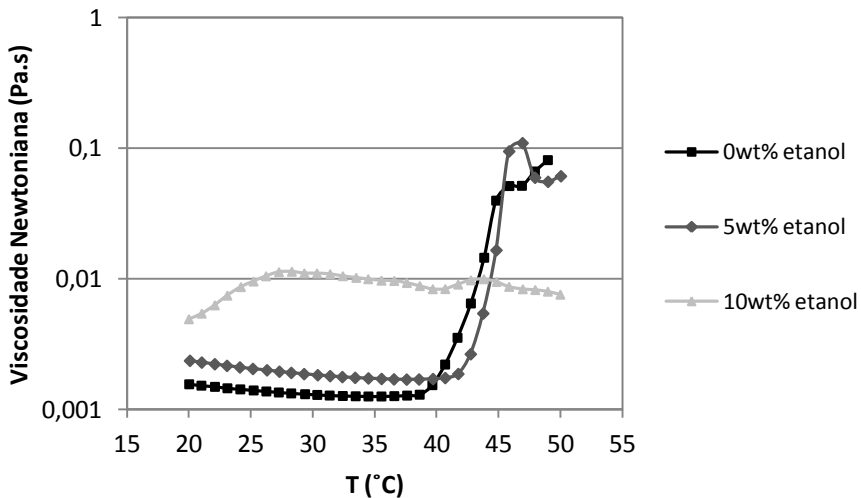


Gráfico 8. Efeito da adição de diferentes concentrações de etanol à solução de PDMAEMA(19k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).



Os resultados mostram que a presença de etanol faz aumentar a viscosidade das soluções de PDMAEMA a baixas temperaturas. Este facto deve-se à provável grande compatibilidade entre o etanol e o polímero, que promove um aumento do tamanho do polímero na solução e conseqüente aumento da viscosidade. A temperaturas mais elevadas, a presença de etanol faz aumentar a LCST, uma vez que o etanol torna o PDMAEMA mais estável em solução. Para além disso, a adição de etanol, um solvente menos polar do que a água, irá promover que as associações hidrofóbicas não ocorram de um modo tão forte como se o solvente fosse água, uma vez que a “driving-force” para a associação hidrofóbica será menor quando o solvente tem menor polaridade. Assim, a presença de etanol promove um aumento da LCST por ser necessária uma temperatura mais alta e maior hidrofobicidade nas moléculas para se iniciar a construção das pontes hidrofóbicas inter-agregados. O valor máximo de viscosidade obtido em soluções com álcool é sempre inferior ao das soluções sem álcool, pelo enfraquecimento que o álcool promove nas interacções hidrofóbicas. Um sistema com 10% de etanol não apresenta qualquer LCST na gama de temperaturas estudadas.

Com o PNIPAM, o efeito é oposto. O PNIPAM é mais solúvel em água do que em etanol, facto sugerido pela diminuição da viscosidade na presença de etanol, a baixas temperaturas. Ao induzir a compactação do PNIPAM, o etanol está a desviar a LCST para valores mais baixos. A adição de 10% de etanol, faz

deslocar a LCST da solução pelo menos  $-9^{\circ}\text{C}$ . Na literatura, são reportados casos semelhantes, mas com o uso de metanol como co-solvente.<sup>35,61</sup> A este fenômeno é atribuído o nome de co-não-solvância, ou seja, dois solventes que são bons para o polímero separadamente, tornam-se maus quando misturados.<sup>24</sup> A mistura voltará a tornar-se num bom solvente quando for maioritariamente composta por etanol/metanol. Tanaka et al. atribuem este peculiar comportamento à competição pelas interações hidrofílicas, entre a água e o metanol, com o polímero.

35

Em geral, a adição de álcoois a soluções de PNIPAM, diminui a LCST.<sup>62</sup> Quanto maior for a cadeia do álcool, mais rápido será esse decréscimo (Figura 15).

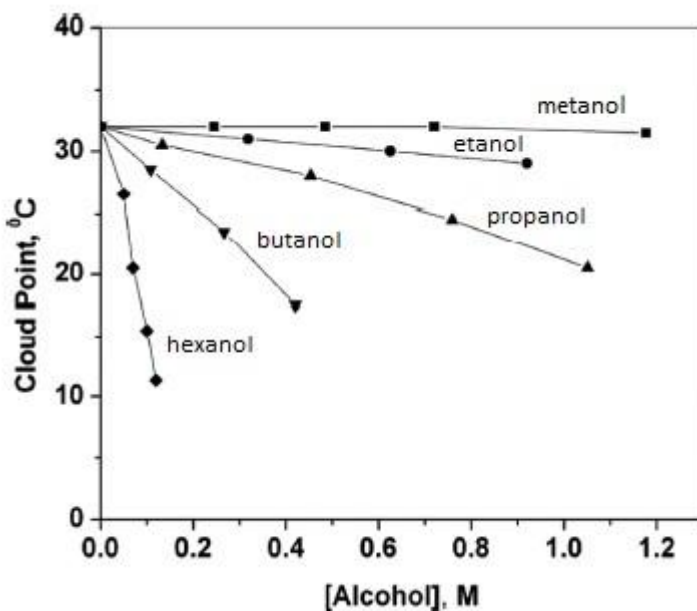


Figura 21. Efeito de vários álcoois na LCST do PNIPAM.<sup>62</sup>

### 3.1.3.2. Efeito da adição de sais

Os eletrólitos são conhecidos por elevarem ou diminuírem a LCST dos polímeros, devido aos seus íões individuais e à habilidade que eles têm em alterar a estrutura das moléculas de água nas proximidades do polímero.<sup>24, 41,44,62</sup>

A mesma concentração de dois sais diferentes, cloreto de sódio (NaCl) e tiocianato de potássio (KSCN), foi adicionada a soluções contendo PNIPAM(20k) e PDMAEMA(19k). Os dois sais foram escolhidos por terem propriedades distintas, descritas anteriormente. O SCN<sup>-</sup> é mais hidrofóbico do que o NaCl e tem maior preferência pela adsorção ao longo da cadeia polimérica.

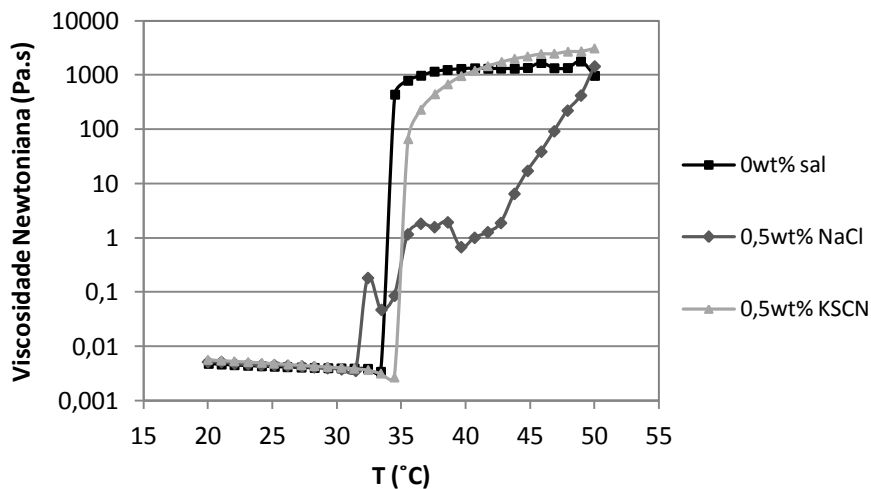
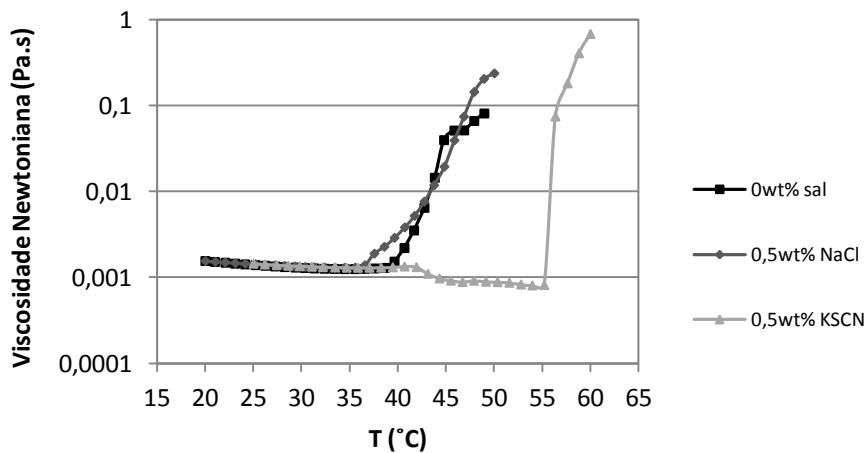


Gráfico 9. Efeito da adição de 2 sais diferentes à solução de PNIPAM(20k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).



**Gráfico 10. Efeito da adição de 2 sais diferentes à solução de PDMAEMA(19k). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida da temperatura).**

A LCST de ambos os polímeros decresce na presença de NaCl, enquanto que na presença de KSCN aumenta, com um efeito muito mais pronunciado na solução de PDMAEMA.

O  $\text{SCN}^-$  é menos estável em água do que o  $\text{Cl}^-$  e adsorve ao longo da cadeia polimérica. O polímero é assim convertido num polieletrólito que, embora muito fraco, possui cargas que o mantêm solúvel em água mesmo acima da LCST original. Só quando a cadeia polimérica está fortemente hidrofobizada é que o polímero compacta e colabora na construção da rede tridimensional com base nas pontes hidrofóbicas entre os agregados. Dessa forma, a presença de um sal “hidrofóbico” desloca a LCST para valores superiores.

O NaCl é um sal hidrofílico e tem um papel oposto ao do KSCN. O NaCl quando em solução compete com o polímero pela água, causando uma desidratação parcial. Este efeito foi apresentado

na literatura para explicar a diminuição do “Cloud Point” de surfatantes não iônicos.<sup>11</sup> O NaCl conduz assim à compactação polimérica e conseqüente diminuição da LCST.

### 3.1.3.3. Efeito da adição de surfatantes iônicos, no caso do PNIPAM

É sabido, da literatura, que surfatantes aniônicos como o SDS, são capazes de solubilizar moléculas poliméricas em água.<sup>25</sup> Uma vez que a temperatura crítica da solução de PNIPAM se encontra abaixo da temperatura para a aplicação pretendida, foram adicionadas diferentes quantidades de SDS com o objetivo de deslocar a LCST para valores mais elevados.

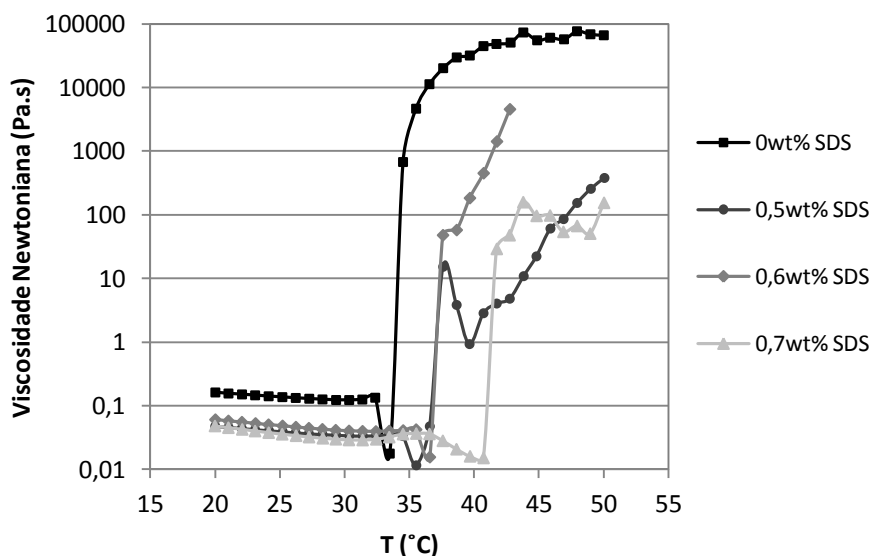


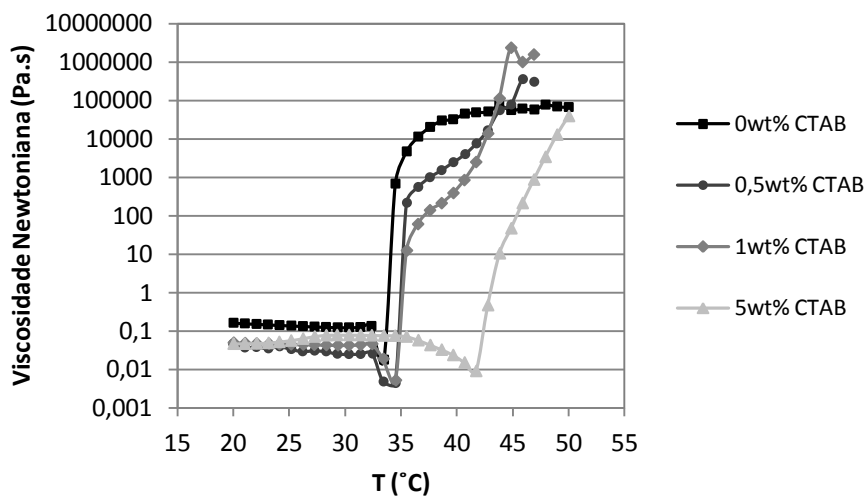
Gráfico 11. Efeito da adição de diferentes concentrações de SDS à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida de temperatura).

A cac do SDS na presença de PNIPAM é de 0,69 mM.<sup>46</sup> As concentrações de SDS no gráfico estão acima desse valor (17-24mM).

O surfatante atua como se fizesse parte do polímero, rodeando os grupos hidrofóbicos e tornando-o num polieletrólito, com

uma conformação mais estendida. Daí os valores de viscosidade mais baixos. A LCST desloca-se para valores elevados com a adição de SDS. Isso é devido ao aumento do carácter hidrofílico do polímero.

Foram também usadas diferentes concentrações de um surfatante catiónico, o CTAB. A cac deste surfatante na presença de PNIPAM é de 7,6 mM a 25°C.<sup>46</sup>



**Gráfico 12.** Efeito da adição de diferentes concentrações de CTAB à solução de PNIPAM(39k) (5wt%). Dependência da viscosidade Newtoniana em função da temperatura (subida de temperatura).

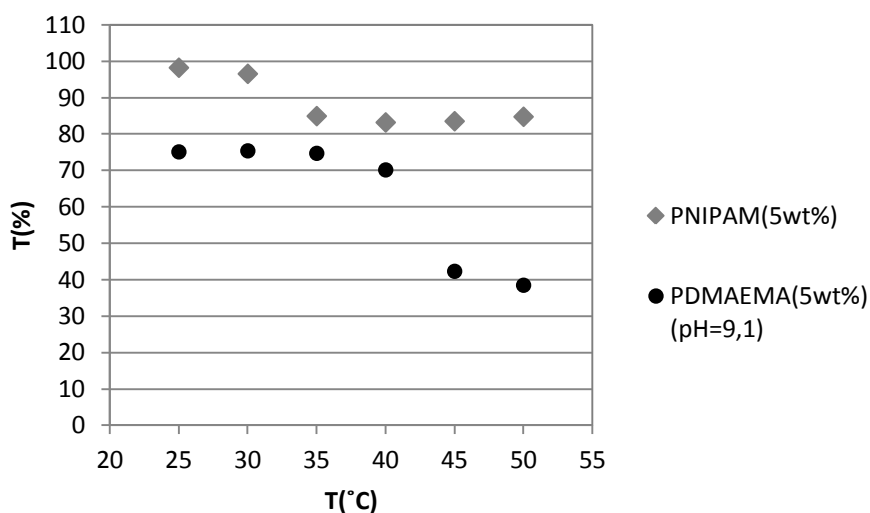
O efeito da deslocação da LCST para valores mais elevados é maior em sistemas com SDS, o que mostra que o PNIPAM interage mais fortemente com o SDS do que com o CTAB. Mesmo a baixas concentrações de SDS, o efeito é verificado, enquanto que em sistemas com CTAB são requeridas concentrações mais elevadas. Como já foi referido na introdução, as explicações sugeridas baseiam-se no tamanho dos grupos

polares que os constituem e na interação de cada ião com a primeira camada de hidratação do polímero, que favorece a interação com os surfatantes aniônicos.



### 3.2. Turbidez das soluções em função da temperatura

O aumento da turbidez da solução é resultado da dispersão da luz por parte dos agregados formados acima da temperatura crítica (LCST). Através da análise espectroscópica de transmitância a diferentes temperaturas, dentro da região de comprimentos de onda do visível, podemos facilmente observar uma diminuição, na luz que atravessa a amostra, acima da LCST de cada polímero.

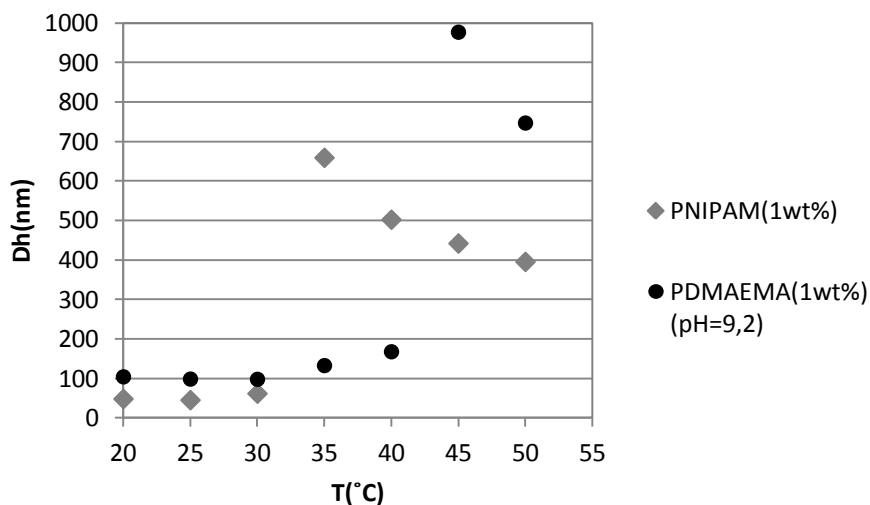


**Gráfico 13. Transmitância das amostras PNIPAM(20k) e PDMAEMA(11k). Comprimento de onda selecionado:  $\lambda = 450$  nm.**

Para a amostra de PNIPAM, a diminuição na transmitância, a uma temperatura imediatamente acima da LCST (35°C), é mais evidente quando comparada com a amostra de PDMAEMA, que

é quase impercetível a 40°C. Só para valores mais elevados da temperatura é que a diminuição na transmitância se torna bem evidenciada, podendo indicar um aumento da intensidade das interações hidrofóbicas que levará à formação de agregados cada vez maiores.

### 3.3. Dimensão das partículas em função da temperatura



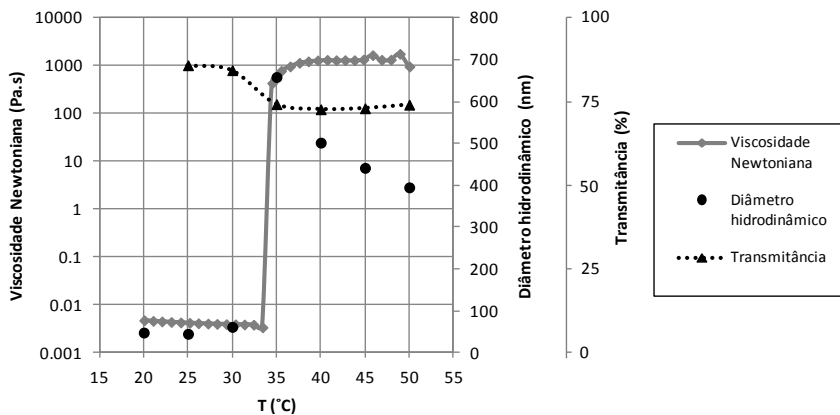
**Gráfico 14. Variação do diâmetro hidrodinâmico das partículas (Dh) com o aumento da temperatura.**

Ambas as curvas resultantes mostram que o tamanho das partículas aumenta para valores acima da LCST. Pode perceber-se ainda que existe uma diferença no comportamento de cada um deles, que vai de acordo com os resultados evidenciados anteriormente pela transmitância de cada amostra. As partículas de PNIPAM aumentam dez vezes o seu tamanho para valores imediatamente acima da LCST, enquanto as partículas de PDMAEMA aumentam cerca de seis vezes. A 45°C, o tamanho das partículas é máximo, o que se mostra em concordância com a análise feita anteriormente para as curvas de transmitância.

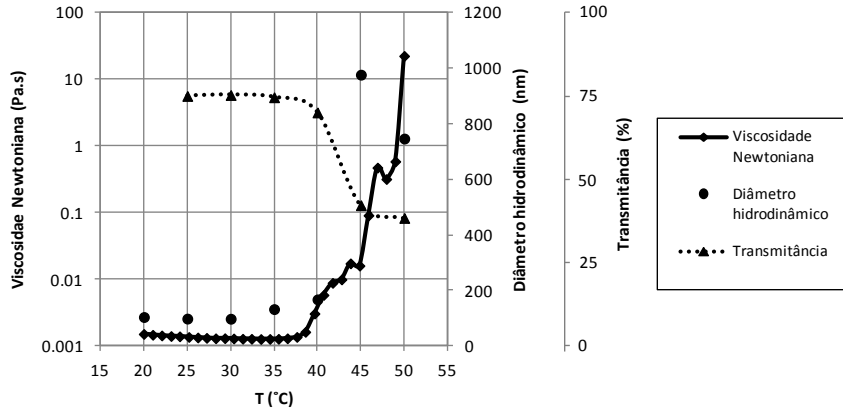
A temperaturas mais elevadas, o tamanho das partículas de ambos os polímeros começa a decrescer, devido ao carácter mais hidrofóbico dos polímeros que vai promover maior compactação

da rede formada. A temperaturas ainda mais elevadas ocorre destruição do hidrogel, devido à quebra de ligações que unem os agregados, devido à compactação e aumento da distância entre eles.

Podemos então afirmar, que existe uma forte relação entre o tamanho das partículas, a turbidez das soluções e o aumento da viscosidade (gráficos 15 e 16). Elevando a temperatura acima da LCST, aumenta o tamanho das partículas devido à formação dos agregados poliméricos, assim como a viscosidade, devido à formação de uma rede tridimensional, e a solução torna-se turva como resultado da luz dispersa pelos largos agregados.



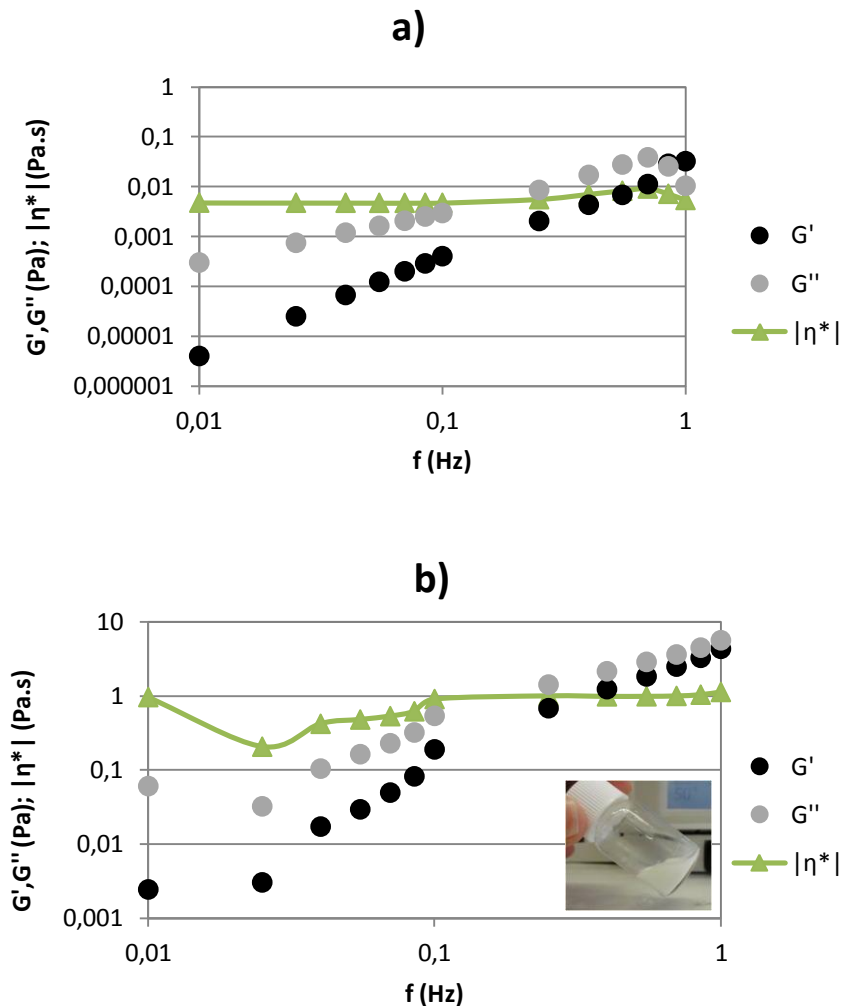
**Gráfico 15. Perfil de viscosidade Newtoniana, diâmetro hidrodinâmico das partículas e transmitância de luz da amostra com o aumento da temperatura das soluções. Soluções de 5wt% PNIPAM(20k) para as medidas da viscosidade Newtoniana e transmitância de luz e de 1wt% para a obtenção do diâmetro hidrodinâmico das partículas.**

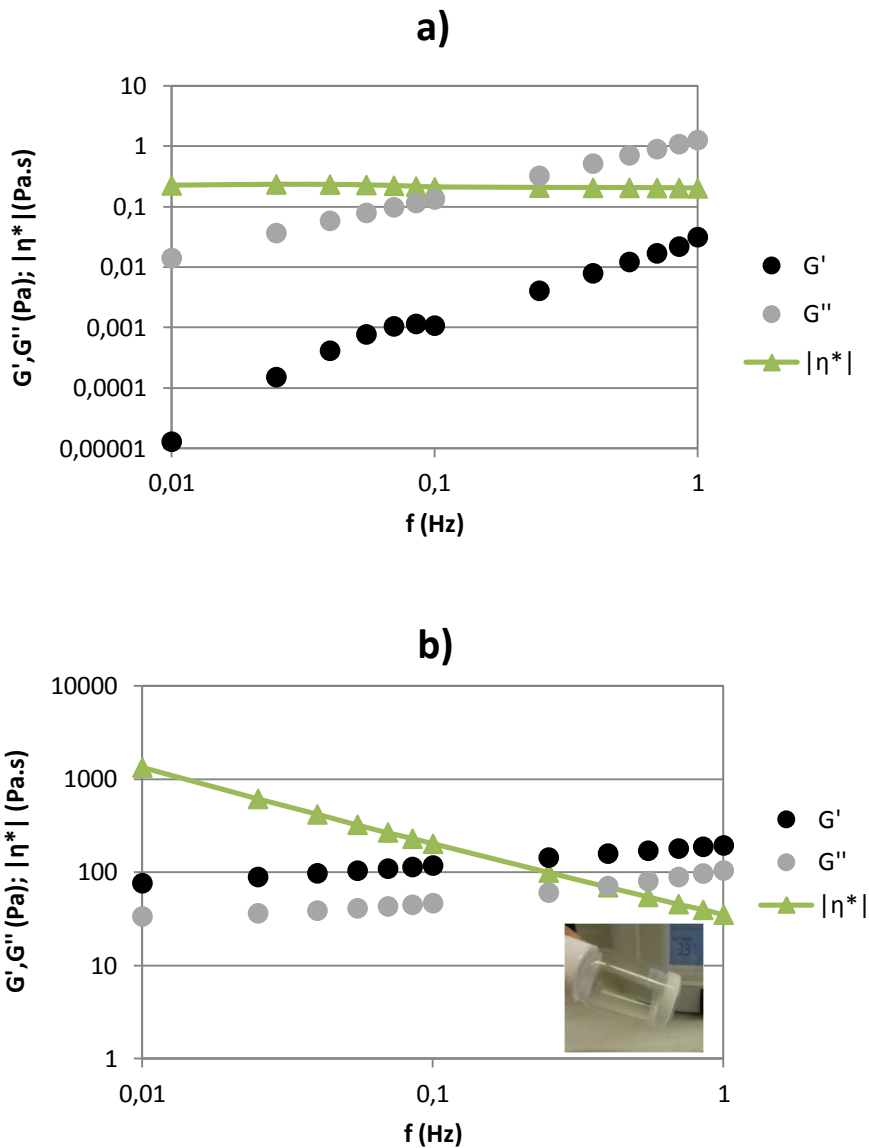


**Gráfico 16. Perfil de viscosidade Newtoniana, diâmetro hidrodinâmico das partículas e transmitância de luz da amostra com o aumento da temperatura das soluções. Soluções de 5wt% PDMAEMA(11k) para as medidas da viscosidade Newtoniana e transmitância de luz e de 1wt% para a obtenção do diâmetro hidrodinâmico das partículas.**

### 3.4. Propriedades viscoelásticas

Para ambos os polímeros, foram estudadas as mudanças estruturais da solução durante a separação de fase, através de testes oscilatórios (módulos dinâmicos:  $G'$  e  $G''$ ), para duas temperaturas, uma abaixo e outra acima da LCST.





**Gráfico 18. Módulo elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência para a solução de PNIPAM(39k) a: a)  $30^{\circ}\text{C}$  ( $<LCST$ ) e b)  $35^{\circ}\text{C}$  ( $>LCST$ ). A imagem mostra um gel acima da LCST.**

A solução de PNIPAM(20k) é um líquido Newtoniano para ambas as temperaturas ( $G'' > G'$ ), enquanto a solução B mostra um comportamento Newtoniano abaixo da LCST e propriedades

elásticas acima da LCST ( $G' > G''$ ). Na figura B pode observar-se o aspeto de gel que a solução apresenta acima da LCST. Massas moleculares, ou concentrações, mais elevados são requeridos para que haja formação de um gel físico.

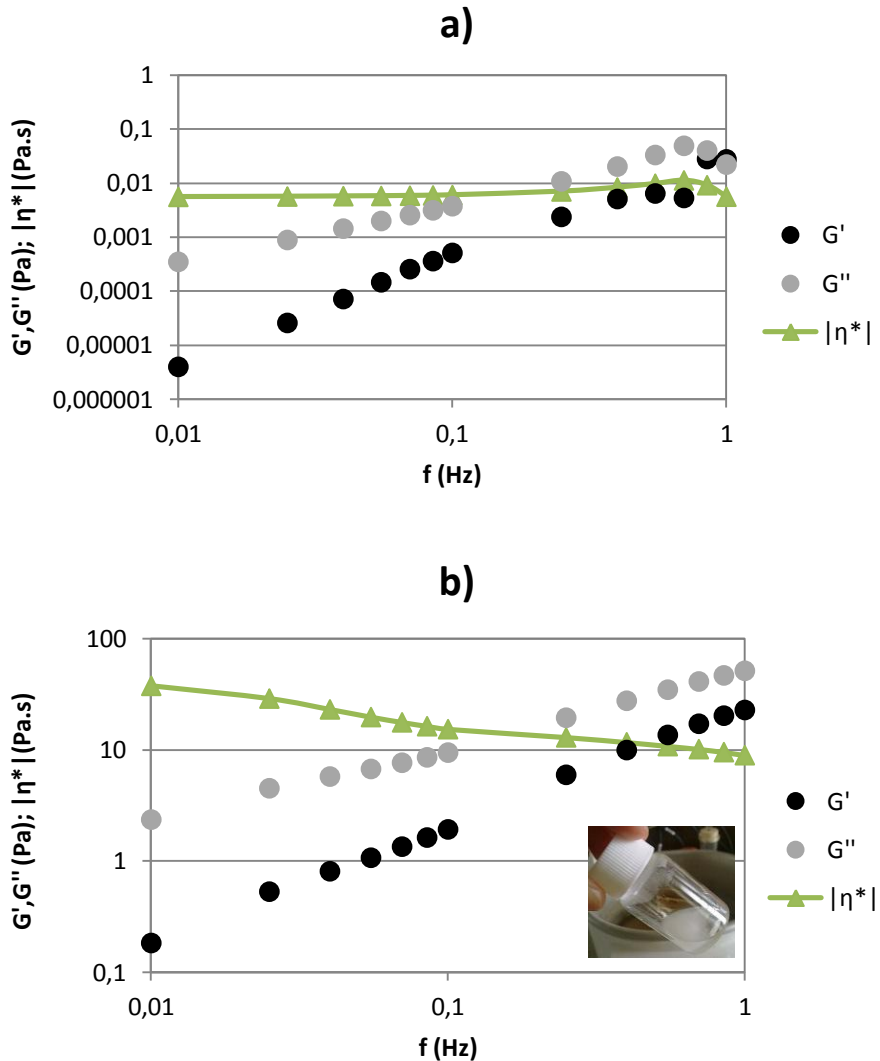
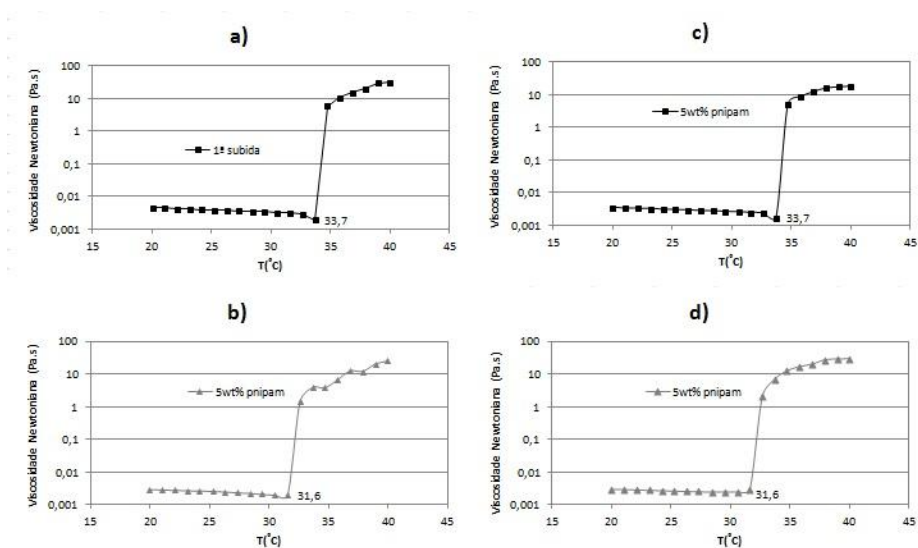


Gráfico 19. Módulo elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) em função da frequência para: a) 34°C (<LCST) e b) 50°C (>LCST). A imagem mostra uma solução líquida acima da LCST.



Para as amostras de PDMAEMA o  $G''$  é sempre maior que o  $G'$ , o que significa que a solução tem um carácter líquido.

### 3.5. Reprodutibilidade do sistema PNIPAM-água



**Figura 22. Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de PNIPAM(20k) de 5wt%. a) e c) representam as subidas e b) e d) representam as descidas. Os gráficos foram obtidos pela ordem alfabética representada, com velocidades de aquecimento e arrefecimento iguais (1°C/3min).**

Os ciclos de temperatura seguidos mostram que as soluções de PNIPAM mantêm a sua integridade física depois de várias subidas e descidas de temperatura. É portanto, um sistema perfeitamente reprodutível para ser usado como sensor de temperatura, mantendo a credibilidade nas respostas.

As LCST nas curvas de descida indicam que a reversibilidade do sistema quando em arrefecimento é um pouco mais lento, com - 2°C de diferença. Isto porque, presumivelmente, são formadas pontes de hidrogénio intramoleculares a elevadas temperaturas (estado de glóbulos), o que torna mais difícil a dissolução do polímero quando se torna a arrefecer o sistema.

# Capítulo 4

## 4. Conclusão

O estudo desenvolvido demonstra como a estabilização das soluções dos dois polímeros podem ser afetadas por fatores como a concentração de polímero, o pH (no caso do PDMAEMA) e a adição de sais, solventes, e surfatantes iônicos. Provou-se como estes fatores podem fazer deslocar a LCST para valores desejados, consoante a exigência de cada aplicação.

Para amostras de PNIPAM acima de 20kDa, o peso molecular não influencia a LCST da solução. No caso do PDMAEMA, a LCST diminui com o aumento do peso molecular. Cadeias maiores reduzem o espaço entre polímeros acentuando as associações hidrofóbicas e a transição de fase ocorre para temperaturas mais baixas.

A LCST das soluções de PNIPAM também não é afetada pela variação de concentração, embora concentrações baixas (2wt%) revelem incapacidade de formar uma estrutura tridimensional, existindo apenas pequeníssimos aglomerados de glóbulos em solução. Neste caso a solução permanece incolor acima da LCST. Para o PDMAEMA, o aumento de concentração diminui a LCST, dado o crescimento das associações hidrofóbicas.

A adição de co-solutos e co-solventes revelam alguns resultados importantes. O etanol tem melhor afinidade com o PDMAEMA comparativamente à água, tornando o polímero mais solúvel e fazendo aumentar progressivamente a LCST do PDMAEMA. Por outro lado, diminui a LCST da solução de PNIPAM até uma certa fração molar adicionada, formando com a água um par co-não-solvente. Quando a quantidade de etanol sobrepõe a da água, a mistura torna a comportar-se como um bom solvente.

Os sais hidrofóbicos como o KSCN, são adsorvidos na cadeia do polímero adicionando cargas que o mantêm solúvel até temperaturas mais elevadas. Os sais hidrofílicos competem com os polímeros pelas ligações com a água, desidratando-os parcialmente e deslocando a LCST para valores mais baixos.

Os surfatantes, tanto aniônicos como catiónicos, interagem com o PNIPAM convertendo-o num polielectrólito, solubilizando-o e deslocando a LCST para valores acima. Contudo, a interação de surfatantes aniônicos com o PNIPAM é mais forte do que com os catiónicos, por isso, para a mesma concentração adicionada dos dois surfatantes, o SDS desloca a LCST para temperaturas mais elevadas relativamente ao CTAB.

O comportamento característico do PNIPAM em solução, faz dele um melhor candidato a sensor de temperatura, dada a rapidez da sua resposta imitando um sistema *on/off*.

O sistema PNIPAM-água é perfeitamente reprodutível, podendo ser implementado como sensor de temperatura.

No futuro, seria interessante a combinação das suas características com o uso de partículas com emissão de diferentes comprimentos de onda consoante o ambiente polar ou apolar em que se encontrem, de maneira a usar as cores como indicação de uma temperatura corporal normal ou febril.

# Referências

1. Kumar, A.; Srivastava, A.; Galaev, I. Y.; Mattiasson, B., Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications. *Progress in Polymer Science* **2007**, *32* (10), 1205-1237.
2. Schmaljohann, D., Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2006**, *58* (15), 1655-1670.
3. M.R.Aguilar, C. E., A. Gallardo, B. Vázquez, and J.S. Román, Smart Polymers and Their Applications as Biomaterials. *Topics in Tissue Engineering* **2007**, Vol. 3.
4. Roy, D.; Cambre, J. N.; Sumerlin, B. S., Future perspectives and recent advances in stimuli-responsive materials. *Progress in Polymer Science* **2010**, *35* (1–2), 278-301.
5. Jeong, B.; Gutowska, A., Lessons from nature: stimuli-responsive polymers and their biomedical applications. *Trends in Biotechnology* **2002**, *20* (7), 305-311.
6. Galaev, I. Y.; Mattiasson, B., ‘Smart’ polymers and what they could do in biotechnology and medicine. *Trends in Biotechnology* **1999**, *17* (8), 335-340.
7. Jagur-Grodzinski, J., Polymeric gels and hydrogels for biomedical and pharmaceutical applications. *Polymers for Advanced Technologies* **2010**, *21* (1), 27-47.
8. Chaterji, S.; Kwon, I. K.; Park, K., Smart polymeric gels: Redefining the limits of biomedical devices. *Progress in Polymer Science* **2007**, *32* (8–9), 1083-1122.
9. Ahn, S.-k.; Kasi, R. M.; Kim, S.-C.; Sharma, N.; Zhou, Y., Stimuli-responsive polymer gels. *Soft Matter* **2008**, *4* (6), 1151-1157.
10. Ward, M. A.; Georgiou, T. K., Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers* **2011**, *3* (3), 1215-1242.
11. Krister Holmberg, B. J., Bengt Kronberg and Bjorn Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. Second Edition ed.; John Wiley & Sons, Ltd: 2002.
12. Jeong, B.; Kim, S. W.; Bae, Y. H., Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, *54* (1), 37-51.
13. Plamper, F. A.; Ruppel, M.; Schmalz, A.; Borisov, O.; Ballauff, M.; Müller, A. H. E., Tuning the Thermoresponsive Properties of Weak

Polyelectrolytes: Aqueous Solutions of Star-Shaped and Linear Poly(N,N-dimethylaminoethyl Methacrylate). *Macromolecules* **2007**, *40* (23), 8361-8366.

14. Teraoka, I., *Polymer Solutions: An Introduction to Physical Properties*. John Wiley & Sons, Inc.: 2002.

15. Barker, I. C.; Cowie, J. M. G.; Huckerby, T. N.; Shaw, D. A.; Soutar, I.; Swanson, L., Studies of the "Smart" Thermoresponsive Behavior of Copolymers of N-Isopropylacrylamide and N,N-Dimethylacrylamide in Dilute Aqueous Solution. *Macromolecules* **2003**, *36* (20), 7765-7770.

16. Qiu, Y.; Park, K., Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2001**, *53* (3), 321-339.

17. Cho, S. H.; Jhon, M. S.; Yuk, S. H.; Lee, H. B., Temperature-induced phase transition of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate-co-acrylamide). *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* **1997**, *35* (4), 595-598.

18. Bütün, V.; Armes, S. P.; Billingham, N. C., Synthesis and aqueous solution properties of near-monodisperse tertiary amine methacrylate homopolymers and diblock copolymers. *Polymer* **2001**, *42* (14), 5993-6008.

19. Liu, R.; Fraylich, M.; Saunders, B., Thermoresponsive copolymers: from fundamental studies to applications. *Colloid & Polymer Science* **2009**, *287* (6), 627-643.

20. Liu, G.; Wu, D.; Ma, C.; Zhang, G.; Wang, H.; Yang, S., Insight into the Origin of the Thermosensitivity of Poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate]. *ChemPhysChem* **2007**, *8* (15), 2254-2259.

21. Al-Manasir, N.; Zhu, K.; Kjøniksen, A.-L.; Knudsen, K. D.; Karlsson, G. r.; Nyström, B., Effects of Temperature and pH on the Contraction and Aggregation of Microgels in Aqueous Suspensions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2009**, *113* (32), 11115-11123.

22. Pelton, R., Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) is never hydrophobic. *Journal of Colloid and Interface Science* **2010**, *348* (2), 673-674.

23. Dumitriu, R. P.; Mitchell, G. R.; Vasile, C., Rheological and thermal behaviour of poly(N-isopropylacrylamide)/alginate smart polymeric networks. *Polymer International* **2011**, *60* (9), 1398-1407.

24. Winnik, M. N. T. O. a. F. M., Poly(N-isopropylacrylamide)-based Smart Surfaces for Cell Sheet Tissue Engineering. *Material Matters* **2010**.

25. Klaus Tauer, D. G., Susanne Schulze, Antje Völkel and Rumiana Dimova, Thermal property changes of poly(N-isopropylacrylamide) microgel particles and block copolymers. *Colloid & Polymer Science* **2009**, *287*, 299–312.
26. Pamies, R.; Zhu, K.; Kjøniksen, A.-L.; Nyström, B., Thermal response of low molecular weight poly-(N-isopropylacrylamide) polymers in aqueous solution. *Polymer Bulletin* **2009**, *62* (4), 487-502.
27. Zhang, M.; Liu, L.; Zhao, H.; Yang, Y.; Fu, G.; He, B., Double-responsive polymer brushes on the surface of colloid particles. *Journal of Colloid and Interface Science* **2006**, *301* (1), 85-91.
28. Zha, L.; Hu, J.; Wang, C.; Fu, S.; Elaissari, A.; Zhang, Y., Preparation and characterization of poly ( N-isopropylacrylamide-co-dimethylaminoethyl methacrylate) microgel latexes. *Colloid & Polymer Science* **2002**, *280* (1), 1-6.
29. Liu, Q.; Yu, Z.; Ni, P., Micellization and applications of narrow-distribution poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate]. *Colloid and Polymer Science* **2004**, *282* (4), 387-393.
30. Ding, Y.; Zhang, G., Folding of a single polymer chain and phase transition. *Chinese Science Bulletin* **2009**, *54* (11), 1908-1911.
31. Antunes, F. Mixed Solutions of Polymers and Surfactants. PhD Thesis, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2006.
32. Jiang, X.; Lok, M. C.; Hennink, W. E., Degradable-Brushed pHEMA–pDMAEMA Synthesized via ATRP and Click Chemistry for Gene Delivery. *Bioconjugate Chemistry* **2007**, *18* (6), 2077-2084.
33. Housni, A.; Narain, R., Aqueous solution behavior of p(N-isopropyl acrylamide) in the presence of water-soluble macromolecular species. *European Polymer Journal* **2007**, *43* (10), 4344-4354.
34. Tanaka, H. K. a. F., Cooperative Hydration Induces Discontinuous Volume Phase Transition of Cross-Linked Poly(N-isopropylacrylamide) Gels in Water. *Macromolecules* **2010**, *43*, 5103–5113.
35. Tanaka, F.; Koga, T.; Kojima, H.; Winnik, F., Hydration and phase separation of temperature-sensitive water-soluble polymers. *Chinese Journal of Polymer Science* **2011**, *29* (1), 13-21.
36. Kojima, H.; Tanaka, F., Cooperative Hydration Induces Discontinuous Volume Phase Transition of Cross-Linked Poly(N-isopropylacrylamide) Gels in Water. *Macromolecules* **2010**, *43* (11), 5103-5113.



37. Tanaka, F.; Koga, T.; Winnik, F., Competitive Hydrogen Bonds and Cononsolvency of Poly(N-isopropylacrylamide)s in Mixed Solvents of Water/Methanol Gels: Structures, Properties, and Functions. Springer Berlin / Heidelberg: 2009; Vol. 136, pp 1-7.
38. Sarkar, N., Kinetics of thermal gelation of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose in aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers* **1995**, *26* (3), 195-203.
39. Hussain, S.; Keary, C.; Craig, D. Q. M., A thermorheological investigation into the gelation and phase separation of hydroxypropyl methylcellulose aqueous systems. *Polymer* **2002**, *43* (21), 5623-5628.
40. Boström, M.; Williams, D. R. M.; Ninham, B. W., Why the properties of proteins in salt solutions follow a Hofmeister series. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **2004**, *9* (1-2), 48-52.
41. Zhang, Y.; Furyk, S.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S., Specific Ion Effects on the Water Solubility of Macromolecules: PNIPAM and the Hofmeister Series. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (41), 14505-14510.
42. Freitag, R.; Garret-Flaudy, F., Salt Effects on the Thermoprecipitation of Poly-(N-isopropylacrylamide) Oligomers from Aqueous Solution. *Langmuir* **2002**, *18* (9), 3434-3440.
43. Zhang, Y.; Furyk, S.; Sagle, L. B.; Cho, Y.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S., Effects of Hofmeister Anions on the LCST of PNIPAM as a Function of Molecular Weight<sup>†</sup>. *The Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111* (25), 8916-8924.
44. Zhang, Y.; Cremer, P. S., Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. *Current Opinion in Chemical Biology* **2006**, *10* (6), 658-663.
45. Sjöström, J. Surfactant Responsive Cross-Linked Polymer Hydrogels. PhD Thesis, Lund University, Lund, 2002.
46. Loh, W.; Teixeira, L. A. C.; Lee, L.-T., Isothermal Calorimetric Investigation of the Interaction of Poly(N-isopropylacrylamide) and Ionic Surfactants. *The Journal of Physical Chemistry B* **2004**, *108* (10), 3196-3201.
47. Zeng, X.; Osseo-Asare, K., Partitioning behavior of silica in the PEG/dextran/H<sub>2</sub>O aqueous biphasic system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **2003**, *226* (1-3), 45-54.
48. Sperling, L. H., *INTRODUCTION TO PHYSICAL POLYMER SCIENCE*. F ed.; John Wiley & Sons, Inc: 2006.

49. Khan, A. U.; Mahmood, N.; Bazmi, A. A., Direct comparison between rotational and extrusion rheometers. *Materials Research* **2009**, *12*, 477-481.
50. Sunthar, P., 1 Phenomenology. In *Polymer Rheology*, Department of Chemical Engineering, Indian Institute of Technology (IIT) Bombay.
51. Barnes, H. A., *A HANDBOOK OF ELEMENTARY RHEOLOGY*. University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics: 2000.
52. Filipe E. Antunes, L. G., Lorena Tavano, Cesare Oliviero Rossi, Rheological characterization of the thermal gelation of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylacrylamide)co-Acrylic Acid. *Applied Rheology* **2009**, *19* (4), 42064.
53. Ferreira, E. E.; Brandão, P. R. G.; Klein, B.; Peres, A. E. C., Reologia de suspensões minerais: uma revisão. *Rem: Revista Escola de Minas* **2005**, *58*, 83-87.
54. Malvern Dynamic Light Scattering (DLS). <http://www.malvern.com> (accessed 17-05-2012).
55. Malvern *Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes*; Malvern Instruments Ltd.
56. Coulter, B. *Your solution for nanoparticle sizing and zeta potential measurements*; Beckman Coulter, Inc: 2008.
57. AG, L. I. <http://www.lsinstruments.ch> (accessed 17-05-2012).
58. Technology, W. <http://www.wyatt.eu> (accessed 17-05-2012).
59. Rowle, A., "The basic principles of particle size analysis", Part 3 - Light scattering techniques for PSA. Malvern Instruments, Inc.: 2011.
60. Fujishige, S.; Kubota, K.; Ando, I., Phase transition of aqueous solutions of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide). *The Journal of Physical Chemistry* **1989**, *93* (8), 3311-3313.
61. Tanaka, F.; Koga, T.; Winnik, F. M., Temperature-Responsive Polymers in Mixed Solvents: Competitive Hydrogen Bonds Cause Cononsolvency. *Physical Review Letters* **2008**, *101* (2), 028302.
62. Patel, T.; Ghosh, G.; Yusa, S.-i.; Bahadur, P., Solution Behavior of Poly(n-Isopropylacrylamide) in Water: Effect of Additives. *Journal of Dispersion Science and Technology* **2011**, *32* (8), 1111-1118.