

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**MICROGÉIS TERMO-RESPONSIVOS PREPARADOS A PARTIR DOS  
POLÍMEROS DO AMIDO**

Tese de Doutorado

DAIANI CANABARRO LEITE

Porto Alegre

2017

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DAIANI CANABARRO LEITE

**MICROGÉIS TERMO-RESPONSIVOS PREPARADOS A PARTIR DOS  
POLÍMEROS DO AMIDO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Química da Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Doutora em Química.

Profa. Dra. Nádyá Pesce da Silveira

Orientadora

Porto Alegre, outubro de 2017.

A presente tese foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre agosto de 2013 e setembro de 2017, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Nadya Pesce da Silveira. No período de abril de 2014 a julho de 2014 e no período de julho de 2015 a fevereiro de 2016, parte do trabalho foi desenvolvido na *Universität Bielefeld*, em Bielefeld, Alemanha, sob a supervisão do professor Dr. Thomas Hellweg. A tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química pela seguinte banca examinadora:

**Comissão Examinadora:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Riegel Vidotti (UFPR)

Prof. Dr. Cristiano Giacomelli (UFSM)

Prof. Dr. Paulo Augusto Netz (UFRGS)

Profa. Dra. Rosane Michele Duarte Soares (UFRGS)

*Daiani Canabarro Leite*

*"Don't panic."*

**Douglas Adams, *The Hitchhiker's Guide to the Galaxy***

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por absolutamente tudo.

Aos meus pais, que não entendem o que faço, mas que me apoiam sem adicionar uma vírgula. Obrigada pelo incentivo e orgulho. Vocês são exemplo de educação, honestidade e humildade. Desculpa pela ausência durante meu período fora do país, sei quão difícil foi ficarmos longe. Amo vocês!

À minha orientadora, professora Nadya, por ter me recebido no grupo e ter repassado um pouco do seu conhecimento. És um exemplo, te admiro muito. Já disse uma vez, tu és minha mãe científica e já me acho parecida contigo em muitos aspectos. Cresci muito como pessoa e como profissional contigo. Espero ter deixado um pouco de mim em ti, também.

*To professor Thomas Hellweg, my supervisor during my research stay in Bielefeld: thank you very much! I couldn't think a better place to be at that time. I have learned so much. Vielen Dank! Highway to Hellweg!*

*To Dr. Yvonne Hertle, a super woman who runs the lab and put order in a bunch of graduate students. Thank you for your time, mainly with the 3D-PCCS. Wish you all the best in your career.*

Aos demais professores que deixaram um pouco de si durante meu caminho na pós-graduação, principalmente ao professor Paulo Gonçalves, grande incentivador desde a graduação.

Aos professores da banca examinadora que gentilmente aceitaram o convite.

Aos professores presentes no exame de qualificação, pelas sugestões e contribuições.

*To all research and staff members of the Physikalische Chemie III: my time in Bielefeld was easier with the everyday life shared with you. Thanks for let me in, in your way. I won't forget. You shared with me your office, lab parties, time, jokes, culture and knowledge. Hope see you soon.*

*To my best international friend ever! Mariya, Russia is closer now. We have shared more than a flat. No words can phrase what you have done for me. You are a sweet and clever girl, wish our friendship never ends! Love and miss you, honey!*

Ao grupo de almoços portugueses da *Universität Bielefeld*: um grupo de alemães e brasileiros unidos pela língua portuguesa e pelo amor ao Brasil, que fizeram as minhas quintas-feiras mais alegres.

À todos que passaram pelo lab E-116, amigos e conhecidos, não vou nomear: obrigada pela amizade e companheirismo de bancada.

Às atuais bolsistas que trabalham no lab E-116: Roberta, Andrielle e Gabriela. Vocês são queridas demais, obrigada pela amizade e companheirismo. Vocês são as melhores IC's. Desejo sucesso na vida de vocês. Espero ter deixado um pouco de mim. Aprendi muito com vocês!

Aos alunos da professora Carla: Elizabeth, Leo, Bruna e demais. Obrigada pela amizade, os últimos meses foram muito divertidos! Sentirei saudades.

À Bibi, minha companheira internacional. Sou muito grata à tua amizade. Pelo *whatsapp* de todos os dias. Sou tua fã. Obrigada pelo suporte, pela visita, pelas viagens...! Vou virar internacional de novo e podemos planejar de dormir em locais com mais dignidade.

À Gisele, pela amizade, conselhos e parceria durante todos esses anos. Obrigada pelas contribuições na tese, foram muito importantes. Te admiro muito!

À Andresa, principalmente pela amizade. Obrigada pelo suporte sempre! Obrigada por ler tudo que eu escrevo e por ouvir tudo que eu tenho pra dizer. Por me acalmar, também. Nossas conversas são muito especiais. És muito especial, amiga! O Moi também, um querido!

À Yasmine, pela amizade e parceria de lab.

À Jóice, pela amizade e pelas análises de FTIR.

Aos meus amigos fora da UFRGS, principalmente ao G7. A vida é muito mais leve com vocês!

Aos meus irmãos, Marco e Mauro, pelo incentivo e presença. Nossa família é demais!

À Central Analítica da UFRGS, pelas análises de RMN.

Ao CNANO, pelas imagens de MEV.

Ao LNLS, pelo *beam time* de SAXS fornecido.

Ao professor Plinho Hertz, que gentilmente cedeu o liofilizador e a ultracentrífuga para alguns experimentos.

Ao professor Cristiano Giacomelli, que gentilmente cedeu o DLS para algumas medidas.

Ao professor Marcos Villetti, que gentilmente cedeu o UV-Vis com controle de temperatura para algumas medidas.

Ao meu melhor amigo e esposo Júlio, por ser quem é. Obrigada por sempre me apoiar em todos os sentidos. A maturidade que tivemos enquanto longe um do outro só afirma a cumplicidade da nossa relação. Foi fácil escrever uma tese tendo tu e a Arya do meu lado. Te amo muito! Amo muito a Arya também!

À UFRGS, ao Instituto de Química e ao PPGQ, pela oportunidade de cursar a pós-graduação e pela excelência no ensino.

*To Universität Bielefeld, in particular the International Office, for the opportunity and help in all bureaucratic matters.*

Ao DAAD, pela bolsa de curta duração em Bielefeld.

À Capes, pela bolsa de doutorado sanduíche.

Ao CNPq, pela bolsa de doutorado no país.

À todas as pessoas não citadas que contribuíram de alguma forma para que essa tese tomasse forma. Nada nessa vida se faz sozinho. Obrigada!

## LISTA DE TRABALHOS GERADOS A PARTIR DOS RESULTADOS DESCRITOS NA TESE

### Publicações:

Peres, G. L.; **Leite, D. C.**; da Silveira, N. P. *Ultrasound effect on molecular weight reduction of amylopectin*. Starch-Starke **2015**, 67 (5-6), 407-414.

**Leite, D. C.**; Hertle, Y.; Kakorin, S.; Hellweg, T.; Silveira, N. P. *Smart Starch-Poly(N-isopropylacrylamide) hybrid microgels: synthesis, structure and swelling behavior*. (em submissão).

**Leite, D. C.**; Hertle, Y.; Hellweg, T.; Silveira, N. P. *Acryloyl-starch polymers as crosslinker for p(NIPAM) microgels*. (em preparação).

### Publicações não relacionadas ao plano da tese:

Lacerda, L.; **Leite, D. C.**; Soares, R. M. D.; Silveira, N. P. *Effects of reaction time and  $\alpha$ -amylase, amyloglucosidase and their mixture on hydrolysis of rice starch granules*. (em submissão).

Peres, G. L.; **Leite, D. C.**; da Silveira, N. P. *Study of complexes formation between transition metal ions and amylopectin in DMSO/H<sub>2</sub>O solution*. Starch-Starke **2016**, 68 (11-12), 1129-1138.

Ribeiro, A. C.; **Leite, D. C.**; Soares, R. M. D.; Silveira, N. P. *Recent Advances and Development of Gliadin-Based Drug Delivery System*. In: James C. Taylor. (Org.). *Advances in Chemistry Research*. 1ed., Hauppauge: Nova Science Publishers Inc., 2016, v. 35, p. 1-6.



Peres, G. L.; **Leite, D. C.**; Silveira, N. P. *Biopolymer-metal complexes: recent advances and applications*. In: A. Méndez-Vilas; A. Solano-Martín. (Org.). Polymer science: research advances, practical applications and educational aspects. 1ed.: Formatex Research Center, 2016, v. 1, p. 99-107.

#### **Trabalhos apresentados em eventos:**

**Leite, D. C.**; Hellweg, T.; Silveira, N. P. *Starch nanoparticles-co-p(NIPAM) hybrid microgels*. 2017. Apresentação de pôster em 46<sup>th</sup> World Chemistry Congress/40<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, São Paulo.

**Leite, D. C.**; Hellweg, T.; Silveira, N. P. *Starch nanoparticles-co-p(NIPAM) hybrid microgels*. 2016. Apresentação de pôster em Autoorg - 5th Meeting on self-assembly structures in solutions and at interfaces, Florianópolis.

**Leite, D. C.**; Hellweg, T.; Silveira, N. P.. *Microgéis termo-sensitivos preparados a partir de amido modificado como agente de reticulação*. 2016. Apresentação oral em I Encontro Multidisciplinar em Ciência dos Materiais do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

**Leite, D. C.**; Peres, G. L.; Silveira, N. P. *Ultrasound effect on molecular weight reduction of amylopectin*. 2015. Apresentação de pôster em 11th Conference on Polysaccharides-Glycoscience, Praga.

**Leite, D. C.**; Brokmann, L.; Hertle, Y.; Hellweg, T.; Silveira, N. P. *Synthesis and characterization of a potential ATRP initiator based on native cassava starch granules*. 2014. Apresentação de pôster em Latin American Symposium on Polymers - Ibero American Congress on Polymers (XIV SLAP - XII CIP), Porto de Galinhas.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>XIV</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XVIII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....</b>	<b>XIX</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>XXIII</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XXIV</b>
<b>ORGANIZAÇÃO DA TESE.....</b>	<b>XXV</b>
<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
1.1 INTRODUÇÃO.....	27
1.2 OBJETIVOS.....	30
1.2.1 Geral.....	30
1.2.2 Específicos.....	30
1.3 REFERÊNCIAS.....	31
<b>CAPÍTULO 2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>34</b>
2.1 POLÍMEROS ESTÍMULO-RESPONSIVOS.....	35
2.1.1 Polímeros termo-responsivos.....	36
2.1.2 Aspectos termodinâmicos da transição de fase.....	39
2.2 HIDROGÉIS.....	43
2.3 MICROGÉIS.....	45
2.3.1 Microgéis termo-responsivos.....	46
2.3.2 Rotas sintéticas e mecanismos de formação de microgéis.....	48
2.3.2.1 Polimerização em emulsão (EP).....	49
2.3.2.2 Polimerização em emulsão livre de surfactante (SFEP).....	51
2.3.3 Estrutura interna dos microgéis.....	52
2.3.4 Fatores que influenciam as propriedades físico-químicas dos microgéis.....	54
2.3.5 Principais técnicas de caracterização de microgéis.....	54
2.3.5.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS).....	55
2.3.5.2 Espalhamento de raios-X a baixos ângulos (SAXS).....	57
2.4 AMIDO.....	59
2.5 REFERÊNCIAS.....	61

<b>CAPÍTULO 3 - PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE AMIDO (SNPs)</b> .....	<b>71</b>
3.1 INTRODUÇÃO.....	72
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	75
3.2.1 Materiais .....	75
3.2.2 Preparação das SNPs.....	75
3.3 CARACTERIZAÇÃO.....	76
3.3.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....	76
3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	76
3.3.3 Espalhamento de Raios-X a Altos Ângulos (WAXS) .....	77
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
3.4.1 Tamanho e forma das SNPs .....	77
3.4.2 Estrutura semi-cristalina das SNPs .....	81
3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	82
3.6 REFERÊNCIAS .....	83
<b>CAPÍTULO 4 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROGÉIS HÍBRIDOS SNP-co-p(NIPAM)</b> .....	<b>88</b>
4.1 INTRODUÇÃO.....	89
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	91
4.2.1 Materiais .....	91
4.2.2 Síntese dos microgéis SNP-co-p(NIPAM) .....	92
4.3 CARACTERIZAÇÃO.....	93
4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN <sup>1</sup> H).....	93
4.3.2 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS).....	93
4.3.2.1 Descrição do comportamento de intumescimento/colapso através da teoria Flory-Rehner <sup>37</sup> .....	93
4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	96
4.3.4 Potencial Zeta (ZP) .....	96
4.3.5 Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos (SAXS) .....	96
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
4.4.1 Caracterização dos microgéis via RMN <sup>1</sup> H .....	100
4.4.2 Efeito das SNPs no tamanho e transição de fase dos microgéis híbridos .....	101

4.4.2.1	Descrição do comportamento de intumescimento/colapso através da teoria de Flory-Rehner .....	103
4.4.3	Morfologia dos microgéis híbridos .....	109
4.4.4	Estabilidade coloidal e estrutura interna dos microgéis híbridos.....	112
4.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	117
4.6	REFERÊNCIAS .....	118
<b>CAPÍTULO 5 - POLÍMEROS DO AMIDO FUNCIONALIZADOS PARA UTILIZAÇÃO COMO AGENTE DE RETICULAÇÃO.....</b>		<b>123</b>
5.1	INTRODUÇÃO.....	124
5.1.1	Modificação química do amido .....	126
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	127
5.2.1	Materiais .....	127
5.2.2	Funcionalização das SNPs .....	127
5.2.3	Síntese de microgéis de p(NIPAM) utilizando ASNPs como agente de reticulação .....	128
5.3	CARACTERIZAÇÃO.....	129
5.3.1	Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN <sup>1</sup> H).....	129
5.3.2	Espectroscopia no Infravermelho (FTIR-ATR).....	129
5.3.3	Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Espalhamento de Correlação Cruzada de Fótons (3D-PCCS).....	130
5.3.4	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	131
5.3.5	Determinação da VPTT (via análise turbidimétrica por UV-Vis).....	131
5.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	132
5.4.1	Síntese e caracterização das ASNPs .....	132
5.4.2	Síntese e caracterização de microgéis de p(NIPAM) utilizando ASNPs como agente de reticulação .....	138
5.4.2.1	Morfologia dos microgéis .....	139
5.4.2.2	VPTT dos microgéis.....	141
5.4.2.3	Aspectos dinâmicos dos microgéis .....	144
5.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	152
5.6	REFERÊNCIAS .....	153
<b>CAPÍTULO 6 - CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>		<b>157</b>
6.1	CONCLUSÕES.....	158

6.2 PERSPECTIVAS..... 159

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Número de publicações a partir do ano 2000 contendo a combinação de termos N-isopropylacrylamide + microgel (azul) e N-isopropylacrylamide + starch (vermelho) de acordo com o <i>Web of Science</i> (pesquisa realizada no dia 01/07/2017).....	28
<b>Figura 2.1.</b> Temperatura (T) versus fração volumétrica ( $\phi$ ). Ilustração esquemática de um diagrama de fases para uma solução polimérica com comportamento LCST (a) e UCST (b) (adaptado de Gandhi et al.). <sup>29</sup> .....	36
<b>Figura 2.2.</b> Comportamento de um polímero linear termo-responsivo abaixo e acima da temperatura crítica com transição de fase LCST, conhecido como <i>coil-to-globule transition</i> (adaptado de Gibson). .....	37
<b>Figura 2.3.</b> Estrutura química do NIPAM. ....	38
<b>Figura 2.4.</b> Sequência de moléculas de água que cooperam através de ligações de hidrogênio, enquanto os grupos isopropil enovelam-se formando glóbulos. Essa conformação, acima da LCST, é conhecida como <i>pearl-necklace conformation</i> (adaptado de Kojima & Tanaka). ....	39
<b>Figura 2.5.</b> Critério de miscibilidade em uma solução polimérica parcialmente miscível. Em (A), $\Delta G_M$ em função da fração volumétrica do polímero; em (B), o respectivo diagrama de fases (adaptado de Schuhmacher). <sup>55</sup> .....	42
<b>Figura 2.6.</b> Diferentes estímulos externos que podem modificar o volume de um hidrogel (adaptado de Gupta et al.). <sup>69</sup> .....	44
<b>Figura 2.7.</b> Microgel termo-responsivo com comportamento LCST. Em baixas temperaturas, as ligações de hidrogênio polímero-água são dominantes, enquanto em temperaturas mais altas (a exata T depende de diversos fatores) o microgel colapsa devido às interações hidrofóbicas (adaptado de Yunker). <sup>82</sup> .....	46
<b>Figura 2.8.</b> Representação esquemática das etapas da polimerização em emulsão, considerando um mecanismo de nucleação homogênea. (adaptado de Chern). ....	50
<b>Figura 2.9.</b> Mecanismo de formação de microgéis via SFEP. As etapas são decomposição térmica do iniciador (a), iniciação (M representa o monômero) (b), propagação (c), nucleação da partícula por precipitação (d), agregação (e), crescimento da partícula acima da LCST (f) e intumescimento da partícula abaixo da LCST (g). As cargas nas etapas (f) e (g) foram omitidas para melhor visualização (retirado de Saunders & Vincent). <sup>44</sup> .....	52

<b>Figura 2.10.</b> Duas possibilidades de estrutura para microgéis sintetizados via SFEP (adaptado de Saunders et al.).	53
<b>Figura 2.11.</b> Estrutura molecular da amilose (esquerda) e da amilopectina (direita). $\Phi$ , $\Psi$ e $\Omega$ representam os ângulos torsionais das ligações	59
<b>Figura 3.1.</b> Representação tridimensional das estruturas cristalinas em amidos do tipo A (as esferas laranjas representam as moléculas de água) e do tipo B (as esferas azuis representam as moléculas de água) (retirado de Buléon et al.). <sup>39</sup>	74
<b>Figura 3.2.</b> Imagens de MEV das SNPs. Em (A), imagem das SNPs em suspensão diluída (escala = 2 $\mu\text{m}$ ); Em (B), análise de distribuição de tamanho das partículas utilizando ImageJ (total de 90 objetos). Em (C), imagem das SNPs no estado sólido (escala = 1 $\mu\text{m}$ ).	79
<b>Figura 3.3.</b> Função de correlação temporal (círculos pretos abertos), função ajustada (linha preta) e distribuição dos tempos de relaxação (círculos pretos preenchidos) obtidos através do tratamento matemático das funções utilizando o algoritmo REPES para as SNPs em solução (etanol).	80
<b>Figura 3.4.</b> Padrões de WAXS para o amido nativo (esquerda) e as SNPs (direita). Uma clara mudança na organização da estrutura cristalina das cadeias poliméricas que compõe o amido após a nanoprecipitação é observada.	81
<b>Figura 4.1.</b> Efeito da copolimerização na LCST do p(NIPAM) com a adição de um comonômero hidrofílico (AAM) ou hidrofóbico (N-tBAAM) (adaptado de Hoffman et al.). <sup>4</sup>	89
<b>Figura 4.2.</b> Mecanismo proposto para a copolimerização dos polímeros do amido com NIPAM em meio aquoso através de um iniciador persulfato, onde R é o radical livre ( $\text{OH}\cdot$ ou $\text{SO}_4^-\cdot$ ). O agente de reticulação, o surfactante e as reações radiculares que formam os homopolímeros correspondentes foram omitidos para melhor visualização.	99
<b>Figura 4.3.</b> Espectros de RMN $^1\text{H}$ das nanopartículas de amido (SNPs), do microgel sintetizado SNP-co-p(NIPAM) e do p(NIPAM) puro.	100
<b>Figura 4.4.</b> $R_h$ (determinado através de DLS) vs. temperatura (aquecimento) para os microgéis sintetizados via SFEP (A) e EP (B). As curvas foram plotadas separadamente (SFEP e EP) para melhor visualização das diferenças em diferentes escalas de $R_h$ . À direita de cada gráfico $R_h$ vs. T, os respectivos pontos de inflexão de cada curva.	102
<b>Figura 4.5.</b> Fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ) versus temperatura. Os quadrados preenchidos referem-se aos valores experimentais, enquanto as curvas contínuas referem-se ao ajuste teórico de acordo com a Equação 4.2 e 4.3. Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5), (B)	

NIPAM(1):SNP(1), (C) NIPAM(1):SNP(2), (D) NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (E) NIPAM(1):SNP(1)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2)SDS. ....	105
<b>Figura 4.6.</b> Parâmetro de interação $\chi$ <i>versus</i> temperatura. A função $\chi(T)$ foi modelada de acordo com a equação 4.3. Em (a), microgéis na ausência de SDS; em (b) microgéis na presença de SDS. A razão NIPAM:SNP é de 1:0,5 nas curvas em preto; 1:1 nas curvas em vermelho; e 1:2 nas curvas em azul. ....	106
<b>Figura 4.7.</b> Fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ) <i>versus</i> temperatura. Os quadrados preenchidos referem-se aos valores experimentais, enquanto as curvas contínuas referem-se ao ajuste teórico de acordo com a Equação 4.2 e 4.4. Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5), (B) NIPAM(1):SNP(1), (C) NIPAM(1):SNP(2), (D) NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (E) NIPAM(1):SNP(1)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2)SDS. ....	107
<b>Figura 4.8.</b> Parâmetro de interação $\chi$ <i>versus</i> temperatura. A função $\chi(T)$ foi modelada de acordo com a equação 4.4. Em (a), microgéis na ausência de SDS; em (b) microgéis na presença de SDS. A razão NIPAM:SNP é de 1:0,5 nas curvas em preto; 1:1 nas curvas em vermelho; e 1:2 nas curvas em azul. ....	108
<b>Figura 4.9.</b> Imagens de MEV dos microgéis híbridos (escala = 1 $\mu$ m). Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (B) NIPAM(1):SNP(0,5), (C) NIPAM(1):SNP(1)SDS, (D) NIPAM(1):SNP(1), (E) NIPAM(1):SNP(2)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2). No detalhe de cada imagem, a distribuição quantitativa calculada através do ImageJ. ....	111
<b>Figura 4.10.</b> Potencial zeta dos microgéis híbridos sintetizados. A identificação das amostras segue a descrição da Tabela 4.1. ....	112
<b>Figura 4.11.</b> Curvas obtidas através do experimento de SAXS para dois dos microgéis híbridos acima da VPTT (45 °C).....	114
<b>Figura 4.12.</b> Estrutura proposta do microgel híbrido SNP- <i>co</i> -p(NIPAM). Acima da VPTT, a estrutura se apresenta do tipo caroço-casca.....	115
<b>Figura 4.13.</b> Curvas obtidas através do experimento de SAXS para os microgéis híbridos. Em (A), com razão NIPAM(1):SNP(1) acima da VPTT (45 °C); em (B), com razão NIPAM(1):SNP(2) acima da VPTT (45 °C). As curvas não foram ajustadas devido à falta de contraste. ....	117
<b>Figura 5.1.</b> Estrutura química do N,N'-metilenobisacrilamida (MBA).....	124



<b>Figura 5.2.</b> $R_h$ (determinado por DLS) <i>versus</i> temperatura para diferentes sistemas caroço de poli(N-iso-propilmetacrilamida) (p(NIPMAM)) contendo diferentes concentrações de MBA (retirado de Zeiser et al.). <sup>9</sup> .....	125
<b>Figura 5.3.</b> Geometria do equipamento 3D-PCCS (LS Instruments).....	130
<b>Figura 5.4.</b> Esquema de reação de funcionalização das SNPs. ....	132
<b>Figura 5.5.</b> Mecanismo da substituição nucleofílica que ocorre durante a reação entre os polímeros do amido e o cloreto de acrilóila. A cadeia polimérica foi omitida para melhor visualização, mostrando apenas o grupo reativo de interesse (-OH). ....	133
<b>Figura 5.6.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ das SNPs. ....	135
<b>Figura 5.7.</b> Espectros de RMN $^1\text{H}$ das ASNPs.....	135
<b>Figura 5.8.</b> Espectros na região do infravermelho para a SNP, ASNP12 e ASNP24. ....	137
<b>Figura 5.9.</b> Esquema da síntese polimérica no qual ASNP12 ou ASNP24 foram utilizados como agente de reticulação. ....	139
<b>Figura 5.10.</b> Imagens de MEV para os microgéis sintetizados com agente reticulante ASNP12 ou ASNP24. Em (A), ASNP12-5-p(NIPAM), (B) ASNP12-10-p(NIPAM), (C) ASNP24-5-p(NIPAM) e (D) ASNP24-10-p(NIPAM).....	140
<b>Figura 5.11.</b> Determinação da VPTT para os microgéis sintetizados utilizando (A) ASNP12 e (B) ASNP24 como agente de reticulação.....	143
<b>Figura 5.12.</b> Funções de correlação temporal em $\theta= 90^\circ$ à $15^\circ\text{C}$ (curvas em vermelho) e à $45^\circ\text{C}$ (curvas em preto) para os microgéis sintetizados utilizando ASNP12 como agente de reticulação. Em (A), amostra ASNP12-5-p(NIPAM); em (B), amostra ASNP12-10-p(NIPAM). ....	145
<b>Figura 5.13.</b> $\Gamma$ vs. $q^2$ para os microgéis sintetizados com ASNP12 como agente de reticulação à $15^\circ\text{C}$ (quadrados) e à $45^\circ\text{C}$ (círculos). Em (A), amostra ASNP12-5-p(NIPAM); em (B), amostra ASNP12-10-p(NIPAM). ....	146
<b>Figura 5.14.</b> Funções de correlação temporal (A e C) e distribuições de tempos de relaxação (B e D) para o microgel ASNP24-5-p(NIPAM) à $15^\circ\text{C}$ (A e B) e $45^\circ\text{C}$ (C e D). ....	149
<b>Figura 5.15.</b> Funções de correlação temporal (A e C) e distribuições de tempos de relaxação (B e D) para o microgel ASNP24-10-p(NIPAM) à $15^\circ\text{C}$ (A e B) e $45^\circ\text{C}$ (C e D). ....	150
<b>Figura 5.16.</b> Ilustração da rede reticulada dos microgéis preparados com os diferentes agentes de reticulação e o efeito causado no $R_h$ das partículas. ....	152

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 4.1.</b> Concentração dos reagentes utilizados na síntese dos microgéis.....	92
<b>Tabela 4.2.</b> Parâmetros utilizados para o ajuste das curvas mostradas na Figura 4.5 e valores de qui-quadrado. O parâmetro de interação $\chi$ foi modelado para uma expansão em série da fração volumétrica até a terceira potência de acordo com a Equação 4.3.....	104
<b>Tabela 4.3.</b> Parâmetros utilizados para o ajuste das curvas mostradas na Figura 4.7 e valores de qui-quadrado. O parâmetro de interação $\chi$ foi modelado de acordo com o modelo de Hill (Equação 4.4). .....	107
<b>Tabela 4.4.</b> Parâmetros extraídos do ajuste das curvas de SAXS. ....	115
<b>Tabela 5.1.</b> Identificação e quantidades correspondentes de cada síntese realizada. ....	129
<b>Tabela 5.2.</b> Grau de substituição (GS) das ASNPs .....	136
<b>Tabela 5.3.</b> Coeficiente de difusão ( $D$ ) e raio hidrodinâmico ( $R_h$ ) para os microgéis sintetizados com o agente de reticulação ASNP12. ....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\alpha$  – Razão de intumescimento

$\beta$  – Parâmetro instrumental óptico

$\varepsilon$  – Constante dielétrica

$\phi, f_p$  – Fração volumétrica

$\lambda$  – Comprimento de onda

$\eta$  – Viscosidade

$\tau$  – tempo de relaxação ou tempo de intumescimento/colapso

$\Gamma$  – Taxa/frequência de relaxação

$\theta$  – Temperatura theta

$\theta$  – Ângulo de espalhamento

$\sigma$  – Polidispersão

$\chi$  – Parâmetro de interação polímero-solvente

$\zeta$  – Potencial zeta

$\Delta G_M$  – Energia livre de Gibbs de mistura

$\Delta H_M$  – Entalpia de mistura

$\Delta S_M$  – Entropia de mistura

$\Delta\eta$  – Contraste relativo à matriz da casca

$\mu\Delta\eta$  – Contraste relativo à matriz do núcleo

$\mu_2$  – Segundo cumulante

3D-PCCS – Espectroscopia de Correlação Cruzada de Fótons

A - Amplitude

$A_{C1H}$  – Área do próton ligado ao carbono anomérico do anel glicosídico

$A_{lig.dupla}$  – Área dos prótons relativos à ligação dupla

APS – Persulfato de amônio

ASNPs – Polímeros do amido funcionalizados

CMC – Concentração micelar crítica

co – copolímero

CP – *Cloud point*

$D$  – coeficiente de difusão

D<sub>2</sub>O – Óxido de deutério

DLS – Espalhamento de luz dinâmico

DMF – Dimetilformamida

DMSO – dimetilsulfóxido

EP – Polimerização em emulsão

$f(ka)$  – Função de Henry

FRT – Teoria Flory-Rehner

FTIR-ATR – Espectroscopia na Região do Infravermelho no modo Refletância Total Atenuada

$g$  - *graft*

$g_1(\tau)$  – Função de correlação do campo elétrico

$g_2(\tau)$  – Função de correlação temporal da intensidade

GS – Grau de substituição

H<sub>A</sub> – altura do pico amorfo

H<sub>C</sub> – altura do pico cristalino

I<sub>CR%</sub> - Índice de cristalização

$I(q)$  - Intensidade

k<sub>B</sub> – Constante de Boltzmann

LCST – *Low critical solution temperature*

L<sub>p</sub> – Caminho livre de um fóton

L<sub>s</sub> – Tamanho da amostra

MBA – N,N'-metilenobisacrilamida

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

M<sub>n</sub> – Massa molecular aritmética média

M<sub>w</sub> – Massa molecular ponderal média

$n$  – Índice de refração

$N$  – Densidade numérica de partículas

N<sub>GEL</sub> – Grau de polimerização médio entre dois pontos de reticulação

NIPAM – N-isopropilacrilamida  
PCS – Espectroscopia de correlação de fótons  
PD.I – Índice de polidispersão  
 $P(q)$  – Fator forma  
 $q$  – Vetor de espalhamento  
QELS – Espalhamento de luz quasi-elástico  
 $R$  – Raio da esfera  
 $R_1$  – Raio da casca  
 $R_2$  – Raio do núcleo  
 $R_h$  – Raio hidrodinâmico  
 $R_{h,0}$  – Raio hidrodinâmico no estado colapsado de referência  
 $R_h(T)$  – Raio hidrodinâmico na temperatura  $T$   
 $R_{HS}$  – Raio de repulsão  
RMN  $^1\text{H}$  – Ressonância magnética nuclear de próton  
SAXS – Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo  
SDS – Dodecil sulfato de sódio  
SET-LRP – *Single electron transfer living radical polymerization*  
SFEP – Polimerização em emulsão livre de surfactante  
SLS – Espalhamento de Luz Estático  
SNPs – Nanopartículas de amido  
 $S(q)$  – Fator estrutura  
 $T_c$  – Temperatura crítica  
TEA – Trietilamina  
UCST – *Upper critical solution temperature*  
 $U_E$  – Mobilidade eletroforética  
UV-Vis – Espectroscopia na Região Ultravioleta-Visível  
VPT – Transição de volume de fase  
VPTT – Temperatura de transição de volume de fase  
 $V_0$  – Volume do microgel no estado colapsado de referência

V(T) – Volume do microgel na temperatura T

WAXS – Espalhamento de Raios-X a Altos Ângulos

ZP – Potencial zeta

## RESUMO

Esta tese apresenta os estudos realizados quanto à síntese e caracterização de microgéis termo-responsivos de N-isopropilacrilamida (NIPAM) e macromoléculas de origem amilácea em sua composição, sistemas ainda pouco explorados na literatura. Inicialmente, nanopartículas de amido (SNP) foram preparadas por nanoprecipitação para incorporação nos microgéis de interesse, através da dissolução dos grânulos do amido em DMSO/H<sub>2</sub>O, aplicação de ultrassom e precipitação em não-solvente. As SNPs preparadas foram utilizadas como copolímero para formação de microgéis híbridos do tipo SNP-*co*-p(NIPAM) através de polimerização em emulsão na presença e na ausência de surfactante. A influência das SNPs nas propriedades dos microgéis foi estudada por MEV, DLS, PZ e SAXS, onde foram observadas mudanças no comportamento físico-químico e estrutura supramolecular dos microgéis. No geral, observaram-se deslocamentos da temperatura de transição de fase para valores maiores (até 35 °C, cerca de 3 °C acima do valor determinado para sistemas contendo p(NIPAM) puro), aumento da estabilidade coloidal e organização dos polímeros presentes no microgel em uma arquitetura caroço-casca. As propriedades de inchamento dos microgéis também foram estudadas através da teoria de Flory-Rehner, onde a temperatura theta e o grau de polimerização entre dois pontos de reticulação foram determinados através do ajuste apropriado do parâmetro de interação ( $\chi$ ). Paralelamente, visando um sistema diferente do descrito acima, foi estudado um novo agente de reticulação baseado nos polímeros do amido, a amilose e a amilopectina. Para isso, os polímeros do amido que compõem as nanopartículas foram modificados para a utilização como agente de reticulação na síntese de microgéis de p(NIPAM). Nesta etapa, uma reação de substituição dos grupos hidroxila dos polímeros do amido foi realizada com o cloreto de acrilóila de forma a inserir insaturações na estrutura dos polímeros, para que estes fossem aplicados como reticulante. O sucesso da reação de modificação foi verificado através de RMN <sup>1</sup>H e FTIR, no qual um maior grau de substituição foi obtido quando um tempo maior de reação foi empregado. Microgéis de p(NIPAM) foram então preparados através de polimerização em emulsão utilizando os reticulantes sintetizados. Observou-se a influência do grau de substituição e da concentração do reticulante nos microgéis, analisados por MEV, DLS e UV-Vis com controle de temperatura. As principais mudanças foram relativas à temperatura de transição de fase e tamanho dos microgéis. Utilizando o agente de reticulação com maior grau de substituição, foi possível deslocar a temperatura de transição de fase dos microgéis preparados para valores maiores (35 °C, cerca de 3 °C acima do valor determinado para sistemas contendo p(NIPAM) puro). Observou-se também uma resposta mecânica da rede do microgel, que refletiu no tamanho das partículas, influenciada pela concentração dos agentes de reticulação e do grau de substituição. Quanto maior a concentração e o grau de substituição do agente de reticulação, maior a resistência ao intumescimento observado no microgel.

**Palavras-chave:** *polímeros do amido; amilose; amilopectina; nanopartículas de amido; polímero termo-responsivo; N-isopropilacrilamida; microgel; temperatura de transição de fase.*

## ABSTRACT

This thesis presents the studies regarding the synthesis and characterization of thermo-responsive microgels of N-isopropylacrylamide (NIPAM) and amylose-based macromolecules, which are systems still little explored in the literature. At first, starch nanoparticles (SNP) were prepared by nanoprecipitation, through dissolution of starch granules in DMSO/H<sub>2</sub>O, ultrasound application and non-solvent precipitation. SNPs were then used as copolymer in SNP-co-p(NIPAM) hybrid microgels synthesized by emulsion polymerization in the presence and absence of surfactant. The influence of SNPs in microgel properties were studied by SEM, DLS, ZP, and SAXS, where changes in the physical-chemical behavior and supramolecular structure were observed. Summing up, shifts in the phase transition temperature up to 35 °C, increased colloidal stability, and microgel polymers organization into a core-shell structure were observed. Microgels swelling behaviour were also studied by the Flory-Rehner theory, where the theta-temperature and the degree of polymerization between two crosslinker points were determined through interaction parameter ( $\chi$ ) fitting. In parallel, a new starch-based crosslinker was studied. For this purpose, starch polymers (amylose and amylopectin within the SNPs) were modified in order to use them as crosslinker in p(NIPAM) microgel synthesis. In this step, a substitution reaction in hydroxyl groups of SNP was carried out with acryloyl chloride, where double bonds were attached in polymers structure, making it suitable as a crosslinker. Reaction performances were evaluated through <sup>1</sup>H NMR and FTIR. Then, p(NIPAM) microgels were prepared by emulsion polymerization using the crosslinker synthesized. The degree of substitution and the crosslinker concentration influence were verified and analyzed by SEM, DLS and UV-Vis with temperature control. The main observed changes were related to the phase transition temperature e microgels size. Using the crosslinker with higher substitution degree, it was possible the shift of the phase transition temperature to higher values (~35 °C). A mechanical response, observed trough microgels size, was found, driven by the crosslinker concentration and substitution degree. As higher the concentration and substitution degree of the crosslinker, higher was the swelling resistance observed in microgel structure.

**Keywords:** *starch polymers; amylose; amylopectin; starch nanoparticles; thermo-responsive polymer; N-isopropylacrylamide; microgel; phase transition temperature.*



## ORGANIZAÇÃO DA TESE

Para facilitar a leitura e a compreensão da linha do tempo dos experimentos e dos resultados, esta tese foi dividida em 6 capítulos, conforme descrição abaixo. As referências bibliográficas utilizadas foram inseridas ao final de cada capítulo, proporcionando maior organização e acessibilidade.

- ❖ **Capítulo 1:** referente à introdução e objetivos, esse capítulo aborda de maneira geral o que será descrito ao longo de toda a tese, trazendo certa abordagem temporal, atualidade do tema e importância do trabalho desenvolvido. Ainda, descreve os objetivos traçados no projeto.
- ❖ **Capítulo 2:** trata da revisão bibliográfica, onde conceitos, teorias e equações importantes são descritos, e que são considerados primordiais para o entendimento dos experimentos realizados e dos resultados obtidos.
- ❖ **Capítulo 3:** este capítulo inicia com uma breve introdução sobre os métodos de formação de nanopartículas de amido (SNPs) e a relação estrutura-propriedade das mesmas. Ainda, são descritos os primeiros resultados, referentes à preparação e caracterização das SNPs para posterior utilização nos sistemas de interesse desta tese.
- ❖ **Capítulo 4:** referente à preparação de microgéis híbridos SNP-co-p(NIPAM), este capítulo traz resultados quanto à influência das SNPs nas características dos microgéis, tais como tamanho, temperatura de transição de fase, forma e estrutura.
- ❖ **Capítulo 5:** neste capítulo são abordados os experimentos realizados para modificação química das SNPs e a utilização das mesmas como agente de reticulação em microgéis de p(NIPAM), explorando a influência da concentração e do grau de substituição nas propriedades dinâmicas dos microgéis sintetizados.
- ❖ **Capítulo 6:** é o último capítulo da tese onde sumariza-se os resultados obtidos, as conclusões de acordo com os objetivos traçados e perspectivas futuras.

# **CAPÍTULO 1**

## **INTRODUÇÃO E OBJETIVOS**

## 1.1 INTRODUÇÃO

Materiais inteligentes ou materiais estímulo-responsivos, isto é, materiais que possuem a habilidade de responder a um estímulo externo de forma reversível, representam uma das classes de materiais mais estudada dos últimos anos.<sup>1-3</sup> A Administração Nacional da Aeronáutica e Espaço (NASA – *National Aeronautics and Space Administration*) mantém em sua página da internet uma sessão exclusiva dedicada aos materiais inteligentes e suas aplicações, como em ligas metálicas com memória de forma, proteções inteligentes para corrosão, polímeros que previnem a formação de gelo em aeronaves e polímeros eletroativos, entre outros.<sup>4</sup>

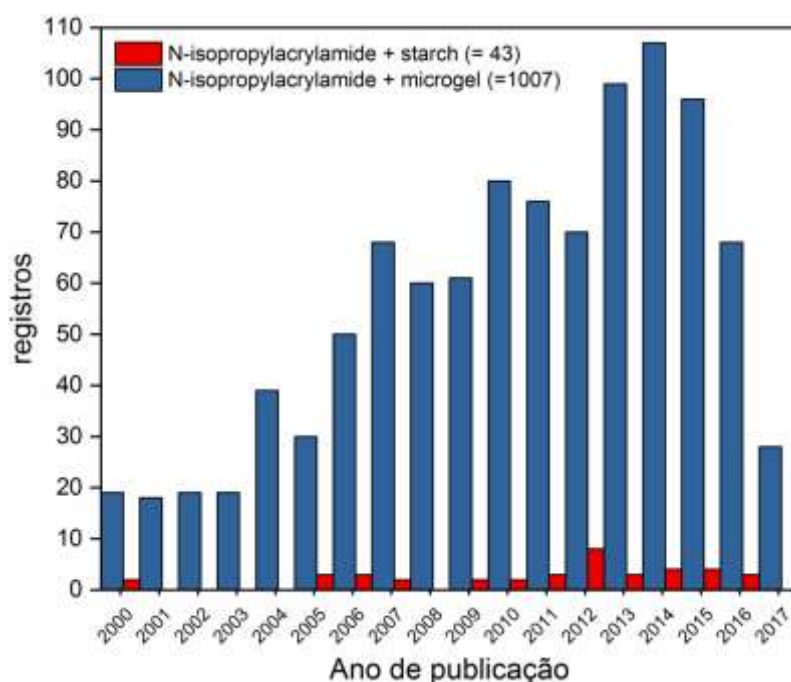
Um dos principais grupos de materiais inteligentes é baseado em polímeros, porque são mais baratos e de manipulação mais simples que metais ou cerâmicas, por exemplo.<sup>5</sup> A forma que esses polímeros inteligentes se apresenta varia bastante, podendo possuir diferentes arquiteturas e composição. Nesta tese, serão apresentadas estruturas baseadas em polímeros inteligentes na forma de microgéis em fase aquosa, uma subclasse dos conhecidos hidrogéis. A grande vantagem dos microgéis reside na sua habilidade de resposta rápida ao estímulo externo aplicado.<sup>6</sup>

Os microgéis estímulo-responsivos são partículas coloidais e têm sido assunto de um número elevado de publicações e revisões científicas, devido as diversas vantagens que eles apresentam frente a outras arquiteturas, tais como baixa polidispersão e funcionalidade.<sup>7-10</sup> O estímulo externo mais estudado é a temperatura, e tem como carro chefe o polímero poli(N-isopropilacrilamida) (p(NIPAM)). A responsividade à temperatura é extremamente útil em diversos segmentos, como no aprisionamento e liberação de fármacos e outras moléculas,<sup>11-13</sup> na fabricação de sensores,<sup>14-15</sup> em superfícies inteligentes<sup>16</sup> e em engenharia de tecidos.<sup>17</sup> A termo-responsividade possui origem termodinâmica, dependentes então das contribuições entálpicas e entrópicas do sistema de estudo,<sup>18-19</sup> a qual será aprofundada ao longo desta tese de doutorado.

Quando o estudo com microgéis termo-responsivos iniciou, as partículas eram compostas basicamente de um monômero (geralmente, NIPAM) e um agente de reticulação (geralmente, N,N'-metilenobisacrilamida (MBA)).<sup>20</sup> De acordo com o crescimento das pesquisas científicas na área, diversos outros monômeros começaram a ser utilizados como monômero principal e/ou como comonômero, tais como ácido acrílico e metacrilato de

metila,<sup>21-22</sup> bem como iniciaram as variações do agente de reticulação, tanto na concentração como na composição química.<sup>23-24</sup> Ainda, cargas e nanopartículas inorgânicas,<sup>25-26</sup> monômeros com dupla responsividade<sup>27-28</sup> e biomacromoléculas<sup>29-30</sup> foram e têm sido incorporados aos microgéis, geralmente de p(NIPAM), para adição de propriedades e para aplicações específicas. Além disso, a arquitetura de microgéis, geralmente homogêneos, também tem sido alterada.<sup>31-32</sup>

Uma pesquisa recente na base de dados *Web of Science* revelou que o tema microgéis, especificamente de p(NIPAM), teve seu ápice de publicações entre os anos de 2013 e 2015 (Figura 1.1). Apesar de nos dias atuais esse número ainda ser elevado, muitos outros monômeros termo-responsivos foram descobertos e têm sido utilizados, como o N-n-propilacrilamida (NNPAM, com temperatura de transição de fase em 21 °C), o N-isopropilmetacrilamida (NIPMAM, com temperatura de transição de fase em 44 °C) e muitos outros derivados de N-alquilacrilamidas,<sup>32-33</sup> reduzindo parcialmente o número de publicações envolvendo NIPAM em microgéis, especificamente.



**Figura 1.1.** Número de publicações a partir do ano 2000 contendo a combinação de termos N-isopropylacrylamide + microgel (azul) e N-isopropylacrylamide + starch (vermelho) de acordo com o *Web of Science* (pesquisa realizada no dia 01/07/2017).

Durante a concepção deste projeto de tese de doutorado foi observado que, apesar dos avanços na área, poucos trabalhos envolviam o uso de biomacromoléculas, em especial os polímeros do amido, na preparação de microgéis estímulo-responsivos. As dificuldades estão relacionadas com a incorporação deste tipo de material na matriz do microgel, bem como pelas características de boa parte das macromoléculas de origem natural, como polidispersão elevada e variação da composição química e estrutural de acordo com a origem. Nanopartículas de amido (SNPs) demonstram uma forma de superar as dificuldades atualmente encontradas, pois apresentam maior área superficial e difusividade, além de possível mudança de padrão cristalino que apresenta inúmeras vantagens.<sup>34-35</sup>

De forma ilustrativa, uma pesquisa contendo algumas das palavras-chave deste projeto foi realizada na base de dados *Web of Science*, já apresentada na Figura 1.1. Vale lembrar que esta pesquisa foi restrita, incluindo termos bastante específicos. De acordo com o observado na Figura 1.1 (em vermelho), nota-se o volume pouco expressivo de publicações envolvendo amido e NIPAM. Se a palavra "microgel" é incluída na pesquisa "NIPAM" e "*starch*", nenhum resultado é encontrado. Assim, as poucas publicações que envolvem amido e NIPAM referem-se basicamente a outros tipos de arquiteturas como copolímeros do tipo *graft* e estruturas do tipo gel, como hidrogéis viscoelásticos.

Até o momento, não foi encontrado na literatura o uso do amido em microgéis de p(NIPAM). Desta forma, esta tese contempla a utilização dos polímeros que compõem o amido, na forma de uma mistura de amilose e amilopectina, para a preparação de microgéis termo-responsivos. Neste trabalho, o amido será explorado de duas formas: como copolímero hidrofílico e como agente de reticulação. Os próximos capítulos serão dedicados à uma revisão da literatura, seguido dos experimentos referentes à preparação e modificação dos polímeros do amido, na síntese dos diferentes microgéis preparados e nas propriedades estruturais, morfológicas e de inchamento desses novos materiais.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Geral

O objetivo geral desta tese é a síntese, caracterização e avaliação das propriedades de microgéis termo-responsivos que possuam polímeros do amido em sua composição, atuando como copolímero e/ou agente de reticulação.

### 1.2.2 Específicos

- Preparar nanopartículas de polímeros do amido (SNPs) que possuam tamanho e forma adequados para modificação e incorporação em microgéis termo-responsivos;
- Sintetizar microgéis híbridos quem conttenham SNPs e NIPAM em diferentes razões, avaliando a influência da rota sintética e das SNPs nas principais propriedades que microgéis termo-responsivos exibem;
- Inferir uma possível estrutura para os microgéis híbridos a partir dos resultados de SAXS (Espalhamento de Raios-X a Baixo Ângulo) e descrevê-los de acordo com o comportamento de intumescimento/colapso utilizando os resultados de DLS (Espalhamento de Luz Dinâmico);
- Funcionalizar as SNPs através da inserção de terminações insaturadas e utilizá-las como agente de reticulação na preparação de microgéis híbridos de p(NIPAM);
- Avaliar de que forma os agentes de reticulação sintetizados agem na estrutura, intumescimento e temperatura de transição de fase dos microgéis preparados.

### 1.3 REFERÊNCIAS

1. Hyun Chan, K.; Seongcheol, M.; Hyun, U. K.; Lindong, Z.; Abdullahil, K.; Jaehwan, K.; *Smart Materials and Structures*. **2016**, 25 (7), 073001.
2. Caminade, A.-M.; Hey-Hawkins, E.; Manners, I.; *Chemical Society Reviews*. **2016**, 45 (19), 5144-5146.
3. Aghabegi Moghanjoughi, A.; Khoshnevis, D.; Zarrabi, A.; *Drug Delivery and Translational Research*. **2016**, 6 (3), 333-340.
4. NASA [https://technology.nasa.gov/materials\\_and\\_coatings/mat-smartmaterials.html](https://technology.nasa.gov/materials_and_coatings/mat-smartmaterials.html). (accessed 01/06/2017).
5. Ward, M. A.; Georgiou, T. K.; *Polymers*. **2011**, 3 (3), 1215-1242.
6. Nolan, C. M. MICROGEL BASED MATERIALS FOR CONTROLLED MACROMOLECULE DELIVERY. Georgia Institute of Technology, Georgia, 2005.
7. Almeida, E. A. M. S.; Bellettini, I. C.; Garcia, F. P.; Farinácio, M. T.; Nakamura, C. V.; Rubira, A. F.; Martins, A. F.; Muniz, E. C.; *Carbohydrate Polymers*. **2017**, 171, 259-266.
8. Butun Sengel, S.; Sahiner, N.; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2017**, 522, 272-278.
9. Marcelo, G.; Areias, L. R. P.; Viciosa, M. T.; Martinho, J. M. G.; Farinha, J. P. S.; *Polymer*. **2017**, 116, 261-267.
10. Yaroslavov, P. A.; Panova, D. I.; Sybachin, D. A.; Spiridonov, D. V.; Zezin, P. A.; Mergel, O.; Gelissen, A.; Tiwari, D. R.; Plamper, D. F.; Richtering, P. W.; Menger, P. F.; *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. **2017**, 13 (4), 1491-1494.
11. Halligan, S. C.; Dalton, M. B.; Murray, K. A.; Dong, Y.; Wang, W.; Lyons, J. G.; Geever, L. M.; *Materials Science and Engineering: C*. **2017**, 79, 130-139.
12. Wadajkar, A. S.; Menon, J. U.; Tsai, Y.-S.; Gore, C.; Dobin, T.; Gandee, L.; Kangasniemi, K.; Takahashi, M.; Manandhar, B.; Ahn, J.-M.; Hsieh, J.-T.; Nguyen, K. T.; *Biomaterials*. **2013**, 34 (14), 3618-3625.
13. Popadyuk, N.; Popadyuk, A.; Kohut, A.; Voronov, A.; *International Journal of Cosmetic Science*. **2015**.
14. Yang, X.; Jiang, Y.; Shen, B.; Chen, Y.; Dong, F.; Yu, K.; Yang, B.; Lin, Q.; *Polym Chem-Uk*. **2013**, 4 (22), 5591-5596.

15. Wang, X.; Liu, X.; Wang, X.; *Sensors and Actuators B: Chemical*. **2014**, *204*, 611-616.
16. Nath, N.; Chilkoti, A.; *Advanced Materials*. **2002**, *14* (17), 1243-1247.
17. Miao, S.; Zhu, W.; Castro, N. J.; Leng, J.; Zhang, L. G.; *Tissue Engineering Part C: Methods*. **2016**, *22* (10), 952-963.
18. Simmons, D. S. Phase and Conformational Behavior of LCST-Driven Stimuli Responsive Polymers. University of Texas, Austin, 2009.
19. Pelton, R.; *Adv Colloid Interfac*. **2000**, *85* (1), 1-33.
20. Pelton, R. H.; Chibante, P.; *Colloids and Surfaces*. **1986**, *20* (3), 247-256.
21. Hertle, Y.; Hellweg, T.; *J Mater Chem B*. **2013**, *1* (43), 5874-5885.
22. Kratz, K.; Hellweg, T.; Eimer, W.; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2000**, *170* (2-3), 137-149.
23. Karg, M.; Prévost, S.; Brandt, A.; Wallacher, D.; von Klitzing, R.; Hellweg, T., Poly-NIPAM Microgels with Different Cross-Linker Densities. In *Intelligent Hydrogels*, Sadowski, G.; Richtering, W., Eds. Springer International Publishing: Cham, 2013; pp 63-76.
24. Still, T.; Chen, K.; Alsayed, A. M.; Aptowicz, K. B.; Yodh, A. G.; *J Colloid Interface Sci*. **2013**, *405*, 96-102.
25. Karg, M.; Hellweg, T.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **2009**, *14* (6), 438-450.
26. Karg, M.; Hellweg, T.; *J Mater Chem*. **2009**, *19* (46), 8714-8727.
27. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Harabagiu, V.; Popescu, I.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G.; *Eur J Pharm Sci*. **2014**, *62*, 86-95.
28. Fathi, M.; Entezami, A. A.; Arami, S.; Rashidi, M. R.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. **2015**, *64* (10), 541-549.
29. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Ascenzi, P.; Simionescu, B. C.; Fundueanu, G.; *Reactive & Functional Polymers*. **2014**, *84*, 1-9.
30. Gong, Y.; Liu, Q. L.; Zhu, A. M.; Zhang, Q. G.; *Carbohydrate Polymers*. **2012**, *90* (1), 690-695.
31. Hellweg, T.; *Journal of Polymer Science*. **2013**, *51*, 1073-1083.
32. Zeiser, M.; Freudensprung, I.; Hellweg, T.; *Polymer*. **2012**, *53* (26), 6096-6101.



33. Wedel, B.; Zeiser, M.; Hellweg, T.; *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics*. **2012**, 226 (7-8), 737-748.
34. Ismail, H.; Irani, M.; Ahmad, Z.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. **2013**, 62 (7), 411-420.
35. Iida, Y.; Tuziuti, T.; Yasui, K.; Towata, A.; Kozuka, T.; *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. **2008**, 9 (2), 140-146.

**CAPÍTULO 2**  
**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 2.1 POLÍMEROS ESTÍMULO-RESPONSIVOS

Polímeros estímulo-responsivos, também conhecidos como polímeros inteligentes, representam uma emergente e interessante classe de materiais com aplicações em diversas áreas de interesse científico, com destaque para o *design* de sensores,<sup>1-2</sup> carreadores de fármacos<sup>3-5</sup> e engenharia de tecidos.<sup>6-8</sup> Esses polímeros possuem a habilidade de responder a um ou mais estímulos externos,<sup>9-11</sup> podendo o estímulo ser de origem física (temperatura,<sup>12-15</sup> campo elétrico<sup>16</sup> e magnético,<sup>17</sup> luz<sup>18-19</sup>), química (pH,<sup>15, 20-21</sup> força iônica,<sup>22</sup> agentes químicos<sup>23-24</sup>) ou bioquímica (enzimas<sup>25-26</sup>). Recentemente, Hunter & Moghimi<sup>27</sup> publicaram uma revisão sob uma perspectiva biológica de polímeros inteligentes utilizados em sistemas biomédicos, reforçando a relevância científica deste tipo de material.

A resposta desses polímeros inteligentes ao receber o estímulo é dada de diferentes maneiras, tais como mudanças na solubilidade, cor, condutividade elétrica, estado físico e características superficiais,<sup>9</sup> tendo sua origem na formação ou remoção de forças secundárias como ligações de hidrogênio, efeitos hidrofóbicos, pressão osmótica e interações eletrostáticas, entre outros.<sup>28</sup>

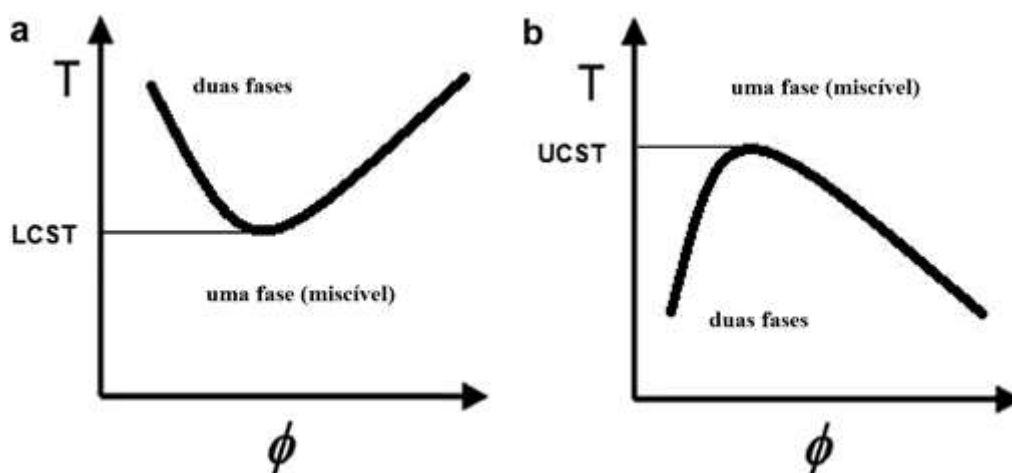
Uma característica importante destes polímeros inteligentes é que estas alterações são reversíveis, ou seja, estes sistemas tem a capacidade de retomar ao seu estado inicial quando o estímulo cessa ou é retirado. O grau de resposta do polímero pode ser avaliado e controlado pela intensidade do estímulo aplicado,<sup>9</sup> e a velocidade de resposta depende da forma e do arranjo estrutural que o polímero se encontra (polímero linear ou reticulado, por exemplo).<sup>10-11</sup>

Considerando a grande área de matéria mole, os polímeros responsivos e em especial aqueles termo-responsivos pertencem a um dos maiores grupos de materiais estudados nos últimos anos<sup>9, 13, 29-30</sup> e são objeto de estudo neste trabalho devido a fácil aplicação do estímulo e do monitoramento externo, além das inúmeras aplicações que este tipo de material proporciona.<sup>6, 31-35</sup>

### 2.1.1 Polímeros termo-responsivos

A sensibilidade de polímeros à temperatura é uma das características mais interessantes e a propriedade mais estudada em materiais responsivos. Polímeros termo-responsivos exibem uma transição de volume de fase (VPT) em uma determinada temperatura, causando uma rápida mudança no estado de solvatação do polímero em determinado solvente.<sup>29</sup>

Quando um polímero é dissolvido em um solvente adequado, ele pode tornar-se insolúvel com o aumento ou a diminuição da temperatura, precipitando da solução. Quando a separação de fases ocorre com o aumento da temperatura, o sistema apresenta uma temperatura crítica inferior (LCST – *lower critical solution temperature*); quando a separação de fases ocorre com a diminuição da temperatura, o sistema apresenta uma temperatura crítica superior (UCST – *upper critical solution temperature*) (Figura 2.1).

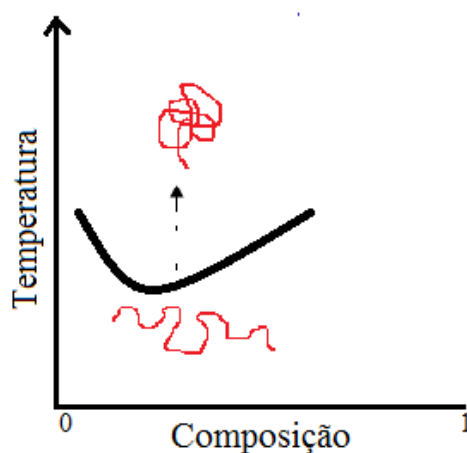


**Figura 2.1.** Temperatura (T) versus fração volumétrica ( $\phi$ ). Ilustração esquemática de um diagrama de fases para uma solução polimérica com comportamento LCST (a) e UCST (b) (adaptado de Gandhi et al.).<sup>29</sup>

A LCST, um dos fenômenos de interesse deste trabalho, pode ser definida como a temperatura na qual a solução polimérica sofre uma transição de fase, passando de um estado em que as cadeias do polímero são solúveis no meio para um estado no qual as cadeias poliméricas são parcialmente solúveis no solvente, sendo essa transição reversível.<sup>15</sup>

Em temperaturas abaixo da temperatura crítica os polímeros termo-responsivos com comportamento LCST apresentam apenas uma fase. Nesse momento, as interações polímero-solvente são intensas e rígidas por ligações intermoleculares e/ou interações eletrostáticas atrativas. Com o aumento da temperatura acima da temperatura crítica, as interações polímero-polímero passam a ser mais intensas e o solvente é expulso da estrutura polimérica, tornando o sistema bifásico.<sup>36</sup>

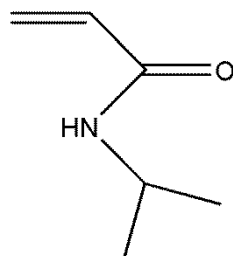
É observada também uma mudança conformacional da estrutura polimérica. Em polímeros termo-responsivos lineares com comportamento LCST, por exemplo, as cadeias adquirem uma conformação relaxada abaixo da temperatura crítica, devido à boa solubilidade no solvente. Acima da temperatura crítica, essa solubilidade é reduzida e a cadeia enovela-se empacotando em forma de glóbulos, precipitando da solução (Figura 2.2). Esses glóbulos apresentam baixa polaridade e as interações hidrofóbicas causam certa agregação das cadeias poliméricas. Estes agregados são grandes suficientes para dispersar a luz e, geralmente, a precipitação do polímero é visualmente observada através da turbidez da solução.



**Figura 2.2.** Comportamento de um polímero linear termo-responsivo abaixo e acima da temperatura crítica com transição de fase LCST, conhecido como *coil-to-globule transition* (adaptado de Gibson).<sup>37</sup>

O polímero termo-responsivo mais estudado é o poli(N-isopropilacrilamida) (p(NIPAM)), formado pelo monômero N-isopropilacrilamida (NIPAM), com estrutura química mostrada na Figura 2.3, possuindo LCST, em média, de 31 °C em água.<sup>38-39</sup> Estudos recentes mostram que a LCST do p(NIPAM) é dependente da estereoquímica da cadeia

polimérica (taticidade).<sup>40-41</sup> O interesse em sistemas contendo p(NIPAM) deve-se ao fato de sua LCST estar próxima da temperatura do corpo humano, favorecendo sua aplicação no desenvolvimento de sistemas com interação biológica.<sup>42-43</sup>



N-isopropilacrilamida (NIPAM)

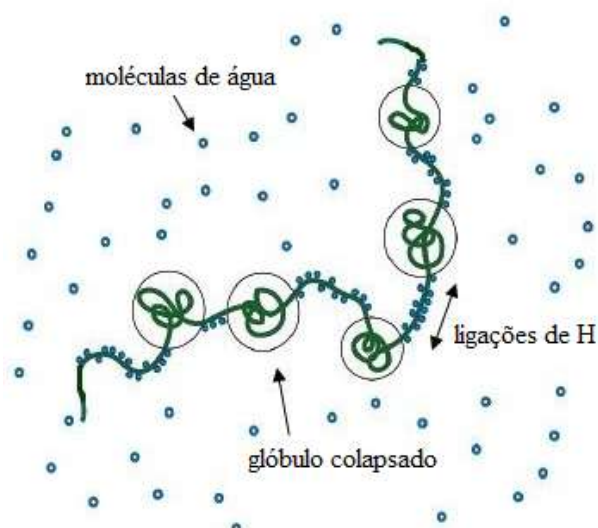
**Figura 2.3.** Estrutura química do NIPAM.

A água se comporta como um bom solvente em baixas temperaturas através de ligações de hidrogênio com os grupos amida do p(NIPAM). Essa interação é desfavorecida com o aumento da temperatura, e as interações polímero-polímero (segmentos hidrofóbicos) passam a ser mais fortes que a interação polímero-água, levando ao colapso gradual das cadeias.<sup>44</sup>

A transição conformacional das cadeias poliméricas de p(NIPAM) antes e após a separação de fases tem sido estudada de forma intensa. Deshmukh et al.,<sup>45</sup> através de simulações de dinâmica molecular, estudaram o papel da solvatação e da organização local da água na indução da transição conformacional de oligômeros de p(NIPAM). Os autores relataram que a água forma uma estrutura em forma de gaiola ao redor do polímero, e que esta estrutura está presente tanto abaixo quanto acima da LCST, porém são significativamente diferentes uma da outra. Para uma cadeia contendo 30 monômeros, abaixo da LCST, as moléculas de água organizam-se de maneira ordenada ao redor do polímero pela formação de ligações de hidrogênio; acima da LCST, esse arranjo ordenado não é mais estável e as interações hidrofóbicas tornam-se dominantes, contribuindo para o colapso do polímero.

No entanto, o real comportamento das cadeias de p(NIPAM) durante a separação de fases possui divergências e não é totalmente elucidado, bem como sua alta sensibilidade e consequente rapidez no colapso. Kojima & Tanaka<sup>46-47</sup> propuseram o conceito de hidratação cooperativa, causada pela interação da primeira molécula de água com um grupo amida do polímero, facilitando a ligação das moléculas de água subsequentes, deslocando os grupos

isopropil (que interagem através de interações intramoleculares) e criando um acesso para a molécula seguinte. Acima da LCST, as cadeias poliméricas são facilmente desidratadas e uma rápida transição de fase é observada. Essa conformação, representada na Figura 2.4, é semelhante a um colar de pérolas (*pearl-necklace conformation*).



**Figura 2.4.** Sequência de moléculas de água que cooperam através de ligações de hidrogênio, enquanto os grupos isopropil enovelam-se formando glóbulos. Essa conformação, acima da LCST, é conhecida como *pearl-necklace conformation* (adaptado de Kojima & Tanaka).<sup>46</sup>

### 2.1.2 Aspectos termodinâmicos da transição de fase

O fenômeno da LCST foi inicialmente observado em soluções aquosas de polímeros polares<sup>48-49</sup> e tem sido atribuída a um termo entrópico que afeta a energia livre da solução.<sup>39</sup> Dependendo do sistema polimérico, diferentes causas podem ser atribuídas à transição LCST. Em polímeros inteligentes, a transição de fase é basicamente devida a fortes interações como a ligação de hidrogênio, abaixo da LCST, e interações hidrofóbicas, acima da LCST. Abaixo da temperatura crítica, a diminuição da entropia surge da redução do número de graus de liberdade com a formação das ligações de hidrogênio. Acima de determinada temperatura, o aumento da entropia está relacionado ao número elevado de configurações disponíveis devido

ao rompimento das ligações de hidrogênio, tornando energeticamente favorável para o sistema a separação de fases.<sup>36</sup>

A miscibilidade de uma mistura polímero/solvente é determinada pela energia livre de Gibbs de mistura ( $\Delta G_M$ ), que relaciona a componente entrópica ( $\Delta S_M$ ) e entálpica ( $\Delta H_M$ ) de mistura de acordo com a Equação 2.1.

$$\Delta G_M = \Delta H_M - T\Delta S_M \quad (2.1)$$

onde T é a temperatura absoluta (K).

A transição de fase ocorre quando variações de entalpia e entropia da mistura resultam em valores positivos de  $\Delta G_M$ . O termo entálpico ( $\Delta H_M$ ) está relacionado com as interações entre o polímero e o solvente, possuindo caráter exotérmico durante a dissolução do polímero, enquanto o termo entrópico ( $\Delta S_M$ ) se relaciona com as interações hidrofóbicas polímero-polímero, levando à precipitação do mesmo.<sup>11, 50</sup>

Considerando um sistema com transição de fase LCST, o processo de solubilização de um polímero em determinado solvente a baixas temperaturas ( $T < LCST$ ) é favorecido pela formação de ligações de hidrogênio, levando a uma entalpia negativa de dissolução do polímero no solvente. Além disso, em sistemas contendo p(NIPAM), o grupo isopropil causa estruturação da água (conhecido como efeito hidrofóbico).<sup>51</sup> Ainda, há um pequeno ganho de entropia durante o processo de solubilização, e  $\Delta G_M$  torna-se negativo (a entalpia é o termo dominante). Com o aumento da temperatura da mistura, as interações polímero-polímero são favorecidas e, como resultado, as moléculas de água são "expulsas" da estrutura polimérica em resposta ao colapso do polímero.

No entanto, a miscibilidade de uma mistura polímero/solvente é melhor compreendida através da análise do parâmetro de interação polímero-solvente ( $\chi$ ) do sistema, incorporado ao termo energético ( $\Delta H_M$ ) na teoria desenvolvida por Flory-Huggins (Equação 2.2).<sup>52-53</sup> O tratamento desenvolvido por Flory e Huggins está baseado em um modelo de retículo rígido e tem se mostrado versátil para descrever equilíbrios de fase em soluções poliméricas. Nesta teoria, os componentes são misturados a volume constante e a energia de mistura pode ser negativa (favorecendo a mistura) ou positiva (se opondo à mistura).



$$\Delta \bar{G}_M = kT \left[ \frac{\phi}{N_A} \ln \phi + \frac{(1-\phi)}{N_B} \ln(1-\phi) + \chi \phi(1-\phi) \right] \quad (2.2)$$

onde  $\phi_A = \phi$  e  $\phi_B = (1 - \phi)$ .

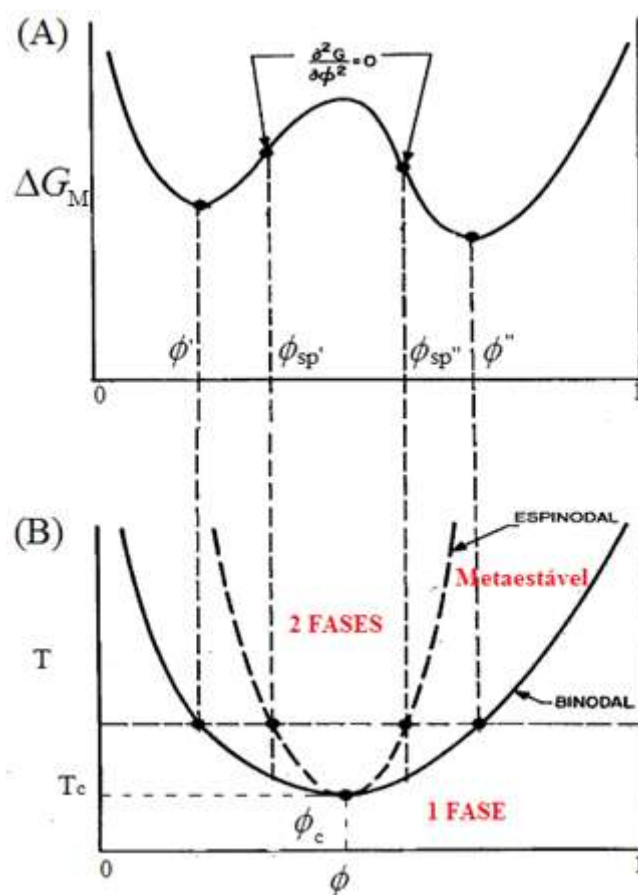
Os subscritos A e B referem-se à espécie A e B (neste caso, às espécies solvente e polímero);  $N_A$  e  $N_B$  são o número de sítios ocupados na rede por cada molécula;  $\phi$  é a fração volumétrica e  $k$  é a constante de Boltzmann.

Os primeiros dois termos do lado direito da equação refere-se à contribuição entrópica, enquanto o último termo do lado direito da equação refere-se à contribuição entálpica. A entropia sempre será positiva em misturas, no entanto a energia de interação entre os componentes da mistura (entalpia) pode favorecer ou não a mistura.

O parâmetro adimensional  $\chi$  é dependente da temperatura e representa a medida das diferenças na força da energia da interação dos pares entre os componentes da mistura (interações AA, BB e AB), comparado com as mesmas espécies no seu estado puro.<sup>54</sup> Quando  $\chi < 0$ , a interação entre as espécies é maior que a interação entre elas próprias e a mistura é favorável. Quando  $\chi > 0$ , a atração entre espécies iguais é maior e a mistura não é favorável.

Ainda do ponto de vista termodinâmico, sabe-se que a condição  $\Delta G_M < 0$  é necessária, mas não suficiente para a ocorrência da miscibilidade em sistemas parcialmente miscíveis. O gráfico de  $\Delta G_M$  em função da fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ) mostra dois pontos de inflexão, limitando a miscibilidade a uma determinada região (Figura 2.5). Desta forma, uma segunda condição é necessária para descrever a região de miscibilidade (Equação 2.3):

$$\left( \frac{\partial^2 G_M}{\partial \phi^2} \right)_{T,P} > 0 \quad (2.3)$$



**Figura 2.5.** Critério de miscibilidade em uma solução polimérica parcialmente miscível.

Em (A),  $\Delta G_M$  em função da fração volumétrica do polímero; em (B), o respectivo diagrama de fases (adaptado de Schuhmacher).<sup>55</sup>

A Figura 2.5 ilustra de forma genérica a relação entre  $\Delta G_M$  e a composição do sistema em termos da fração volumétrica do polímero e o respectivo diagrama de fases. Sobre a curva da Figura 2.5 – A, dois pontos de inflexão são observados ( $\phi_{sp'}$  e  $\phi_{sp''}$ ), definindo o início da região instável do sistema (região espinodal), nos quais  $\left(\frac{\partial^2 G_M}{\partial \phi^2}\right) = 0$ .

Para temperaturas abaixo da temperatura crítica ( $T_c$ ) as condições de miscibilidade são satisfeitas para toda a faixa de composição. Acima da  $T_c$ , os componentes da mistura separam-se em duas fases (composição entre  $\phi'$  e  $\phi''$ ). A  $T_c$  corresponde ao ponto crítico, que é único para cada sistema polímero/solvente.<sup>55</sup>

A curva binodal (curva sólida na Figura 2.5 – B) separa a região homogênea da região metaestável, enquanto a curva espinodal separa a região metaestável da região instável. Em

ambas as regiões delimitadas pelas curvas binodal e espinodal (região metaestável e instável) ocorre a transição de fases. No entanto, uma transição de fases entre as curvas binodal e espinodal é cineticamente lenta. No ponto crítico ( $T_c$  e  $\phi_c$ ) as curvas binodal e espinodal coexistem. Experimentalmente,  $\chi$  varia de acordo com a variação de temperatura e o diagrama de fases é construído em termos da temperatura e da composição.<sup>54, 56</sup>

## 2.2 HIDROGÉIS

Um gel é uma rede polimérica ou coloidal tridimensional reticulada,<sup>57-58</sup> que intumescce com um solvente adequado (liogel) ou com um gás (aerogel), podendo ser vistos como intermediários entre sólido e líquido ou líquido e gás. Neste trabalho o foco é o liogel polimérico, e o componente solvente é a água, caracterizando o sistema chamado hidrogel.

Devido às diferentes propriedades, que combinam àquelas da contribuição do líquido e sólido, uma definição precisa do estado gel não é uma tarefa fácil visto que diferentes propriedades do sistema podem ser usadas para essa definição.<sup>59</sup> No entanto, a forma principal de determinação do estado gel é feita através de ensaios reológicos. As propriedades físicas combinam a natureza tanto do polímero quanto do solvente, enquanto as ligações cruzadas da rede inibem que as cadeias poliméricas explorem espaço de fase conformacional.<sup>60-61</sup>

Um hidrogel é uma rede fisicamente ou quimicamente reticulada, intumescida por água.<sup>57, 62-63</sup> Logo, essa estrutura polimérica pode envolver ligações covalentes (reticulação química), ligações intermoleculares como *van der Waals* ou ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e/ou interações físicas cruzadas oriundas do emaranhamento das cadeias (reticulação física).<sup>64</sup> Hidrogéis podem ser encontrados em qualquer lugar da natureza. Um exemplo é o citoplasma da maioria das células vivas que exibem as propriedades típicas de um hidrogel.<sup>65</sup> Podem-se citar também diversos produtos utilizados no dia a dia dos mais diversos segmentos industriais, como cosméticos, medicamentos de uso tópico e ingredientes alimentícios.

Uma classe fascinante dos hidrogéis são aqueles responsivos ou inteligentes, compostos por polímeros responsivos já revisados anteriormente, no qual reagem a estímulos externos através da mudança do seu tamanho conforme representado na Figura 2.6.<sup>66-68</sup>



**Figura 2.6.** Diferentes estímulos externos que podem modificar o volume de um hidrogel (adaptado de Gupta et al.).<sup>69</sup>

Dependendo do tamanho físico, essas redes tridimensionais podem ser classificadas como nanogéis, microgéis ou macrogéis.<sup>3, 59</sup> Nanogéis e microgéis são hidrogéis confinados em dimensões nano e microscópicas, respectivamente.<sup>6</sup> Tais dimensões são alcançadas de acordo com a rota sintética utilizada na preparação dos mesmos, o qual será melhor explicado nos itens a seguir. Embora possuam muitas vezes as mesmas composições químicas e propriedades termodinâmicas que são inerentes à estrutura do polímero formado, nano-, micro- e macrogéis mostram muitas diferenças notáveis. Dispersões de partículas em escala nanométrica e micrométrica possuem baixa viscosidade, enquanto macrogéis são sólidos viscoelásticos. Microgéis possuem dimensões coloidais, podendo responder quase espontaneamente à estímulos externos devido ao seu tamanho mesoscópico, desencadeando mudanças frente ao poder de absorção de água (intumescimento), possibilitando a sua utilização controlada em diversas aplicações.<sup>70</sup>

O processo de colapso de hidrogéis estímulo-responsivos é controlado pela difusão, onde a taxa de colapso está diretamente relacionada com a dimensão física do gel.<sup>71</sup> Tanaka & Fillmore<sup>72</sup> desenvolveram uma teoria para descrever a cinética de intumescimento/colapso de géis, baseado no conceito de difusão e de acordo com a equação 2.4:

$$\tau \approx R^2/D \quad (2.4)$$

onde  $\tau$  é o tempo de intumescimento ou colapso do gel,  $R$  é o tamanho do gel e  $D$  é o coeficiente de difusão.

De acordo com essa relação, a forma mais óbvia de alcançar uma taxa de resposta rápida é diminuindo o tamanho do gel. Assim, devido ao seu tamanho reduzido, os microgéis colapsam muito mais rapidamente que géis macroscópicos. Geralmente, a taxa de colapso de microgéis está na escala de microssegundos.<sup>73</sup> Os próximos itens dessa revisão serão dedicados à formação, estrutura e propriedades desses microgéis.

## 2.3 MICROGÉIS

O termo 'microgel' foi introduzido pela primeira vez por Baker.<sup>74</sup> Entretanto, Staudinger & Husemann<sup>75</sup> foram pioneiros na preparação dos mesmos. De acordo com a definição da IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), um microgel é uma partícula de gel de qualquer formato com diâmetro equivalente variando entre 0,1 e 100  $\mu\text{m}$ .<sup>57</sup> No entanto, essa definição é proposta para a distinção de géis de diferentes tamanhos, não contemplando a definição mais abrangente e utilizada pela comunidade científica abordada em diferentes publicações ao longo dos últimos anos.<sup>3, 13, 44, 66-67, 70, 76-78</sup>

Nesta definição mais abrangente, microgéis são partículas poliméricas reticuladas dispersas na forma coloidal que intumescem em um meio solvente adequado, geralmente água. Ainda, são partículas deformáveis que possuem uma estrutura interna porosa, capazes então de absorver considerável quantidade de solvente dentro de sua rede polimérica reticulada.<sup>77</sup>

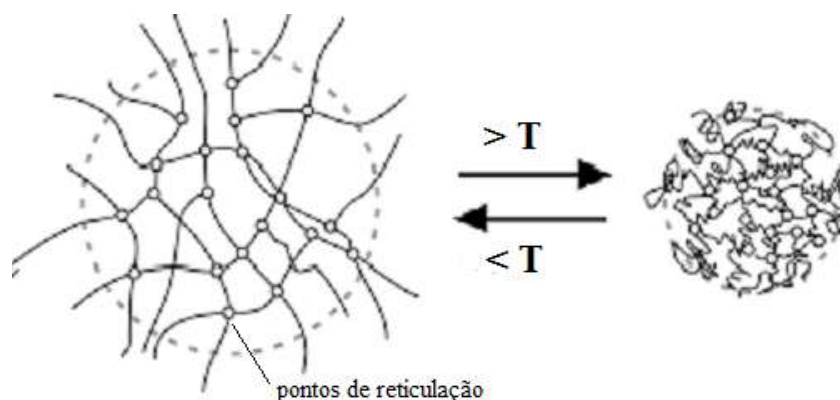
Microgéis também possuem as propriedades típicas de coloides, como a habilidade de formar cristais coloidais.<sup>79-80</sup> Entretanto, diferente dos coloides do tipo esfera rígida, os microgéis podem fundir devido às mudanças que ocorrem na fração volumétrica ( $\phi$ ) devido à qualidade do solvente de acordo com o estímulo recebido.<sup>81</sup>

Devido à presença de grupos funcionais específicos e do tipo de solvente utilizado durante a síntese, os microgéis podem ser responsivos, também chamados de microgéis inteligentes, intumescendo e colapsando de acordo com o estímulo externo aplicado. Apesar da existência de outras formas de partículas responsivas, os microgéis atraem grande interesse devido ao seu tamanho mesoscópico e baixa viscosidade.<sup>70</sup> Além disso, também são capazes

de responder de forma rápida ao estímulo quando o mesmo é aplicado ou retirado,<sup>66, 76</sup> habilitando seu uso em aplicações controladas.<sup>3, 17, 31</sup>

### 2.3.1 Microgéis termo-responsivos

O interesse em microgéis expandiu de forma considerável no início dos anos 90, após a descoberta de Pelton & Chibante,<sup>38</sup> em 1986, de que era possível a preparação de microgéis de p(NIPAM). O comportamento macroscópico de um microgel termo-responsivo é demonstrado na Figura 2.7.



**Figura 2.7.** Microgel termo-responsivo com comportamento LCST. Em baixas temperaturas, as ligações de hidrogênio polímero-água são dominantes, enquanto em temperaturas mais altas (a exata  $T$  depende de diversos fatores) o microgel colapsa devido às interações hidrofóbicas (adaptado de Yunker).<sup>82</sup>

No estudo de microgéis, a temperatura crítica de transição de fase (LCST ou UCST) é comumente referida como a temperatura de transição de volume de fase (VPTT, *volume phase transition temperature*), já que o colapso ou intumescimento do microgel na temperatura de transição de fase ocorre de forma isotrópica e é facilmente detectado pela mudança do volume do microgel.<sup>83</sup> Abaixo da VPTT em microgéis com comportamento LCST, as moléculas de água comportam-se como um bom solvente e os microgéis estão altamente intumescidos. Elevando-se a temperatura acima da VPTT, o comportamento dos microgéis muda completamente, colapsando rapidamente e diminuindo de tamanho visto que as moléculas de água são expulsas do interior da rede tridimensional do microgel.<sup>70, 78</sup>

Curiosamente, a temperatura de transição de fase típica de microgéis poliméricos é um pouco diferente daquela de seus respectivos polímeros. Wu et al., em estudo com microgéis de p(NIPAM), sugeriram que esse deslocamento na temperatura de transição é causado pela larga distribuição nos comprimentos das sub cadeias no interior do microgel.<sup>84-85</sup> Para uma amostra polidispersa, as cadeias poliméricas com diferentes comprimentos terão transições em diferentes temperaturas, o que leva a amostra a ter uma transição de fase menos precisa. Dessa forma, a VPTT de um microgel está diretamente relacionada com o comprimento das sub cadeias entre dois pontos de reticulação vizinhos. Acima da VPTT, as regiões com sub cadeias mais longas irão colapsar primeiro que as regiões com sub cadeias mais curtas, devido à maior intensidade das forças hidrofóbicas entre os segmentos.

A capacidade de intumescimento de microgéis termo-responsivos é tipicamente descrita em termos da razão de intumescimento ( $\alpha$ ):

$$\alpha = \frac{V_0}{V(T)} = \left( \frac{R_{h,0}}{R_h(T)} \right)^3 \quad (2.5)$$

onde  $V(T)$  e  $V_0$  são os volumes do microgel na temperatura  $T$  e no estado totalmente colapsado, respectivamente. Devido a forma esférica dos microgéis e do intumescimento/colapso isotrópico da rede polimérica,<sup>86</sup> o raio hidrodinâmico ( $R_h$ ) pode ser utilizado no lugar de  $V$  na determinação de  $\alpha$ .

O comportamento durante a transição de fases de géis homogêneos, por sua vez, pode ser descrita pela teoria de Flory-Rehner,<sup>87-88</sup> que provê informações sobre a fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ), o parâmetro de interação polímero-solvente ( $\chi$ , também conhecido como parâmetro de interação de Flory-Huggins)<sup>52-53</sup>, o grau de polimerização médio ( $N_{GEL}$ ) e a temperatura theta ( $\theta$ ). Em alguns casos, esta teoria foi utilizada para descrever o comportamento de intumescimento e colapso de microgéis com sucesso.<sup>89-92</sup> As equações e a aplicação da teoria nos sistemas estudados neste trabalho serão apresentados nos capítulos seguintes.

### 2.3.2 Rotas sintéticas e mecanismos de formação de microgéis

Microgéis formam dispersões coloidais muito estáveis, além de ser relativamente simples de preparar. O tamanho das partículas obtidas pode ser facilmente controlado, e o índice de polidispersão é usualmente mantido em níveis muito baixos.<sup>93</sup>

A técnica mais utilizada para a síntese de microgéis é a polimerização em emulsão (EP), que consiste em uma polimerização radicalar livre heterogênea usualmente empregada na formação de partículas coloidais.<sup>13, 67</sup> Técnicas de polimerização em emulsão livre de surfactante (SFEP) também são bastante utilizadas, porém requerem uma fase contínua com alta constante dielétrica e iniciador iônico.<sup>44</sup> Outras técnicas, como aquelas baseadas em polimerização "viva", também têm sido exploradas na síntese e formação de microgéis.<sup>3, 94-95</sup>

O mecanismo de polimerização por radicais livres em meio contínuo apresenta três etapas: iniciação,<sup>96</sup> propagação<sup>97</sup> e terminação.<sup>98</sup> Basicamente, um composto iniciador gera radicais livres contendo um único elétron desemparelhado que reage com uma molécula do monômero, iniciando a polimerização. Esse iniciador pode ser termo, redox ou foto iniciado. O monômero iniciado possui um grupo ativo que é capaz de reagir com outra molécula de monômero não iniciado, permitindo a propagação da cadeia polimérica. Por fim, as cadeias poliméricas ativas reagem entre si finalizando a polimerização. A terminação também pode acontecer por desproporcionamento ou transferência de cadeia. As etapas detalhadas que ocorrem durante a polimerização radicalar podem ser encontradas em literatura especializada.<sup>99-102</sup>

Tipicamente, para a síntese de microgéis, os monômeros são dispersos na fase contínua, geralmente água, seguido da adição do surfactante e do iniciador solúvel no meio. A presença de um agente químico de reticulação (*crosslinker*) não é essencial para a polimerização em emulsão, mas é indispensável para a formação de microgéis porque previne a dissolução dos mesmos em água em temperaturas baixas ( $T < LCST$ ), formando a rede tridimensional característica de géis.<sup>76</sup> A utilização de ambas as técnicas (EP e SFEP) resultam em partículas esféricas e com estreita distribuição de tamanhos.<sup>103</sup> A principal diferença entre a EP e SFEP é que nesta última, uma etapa de agregação ocorre durante o crescimento da partícula e isso resulta em uma distribuição de partículas maior quando comparada àquela que seria atingida com a presença do surfactante.<sup>78</sup>



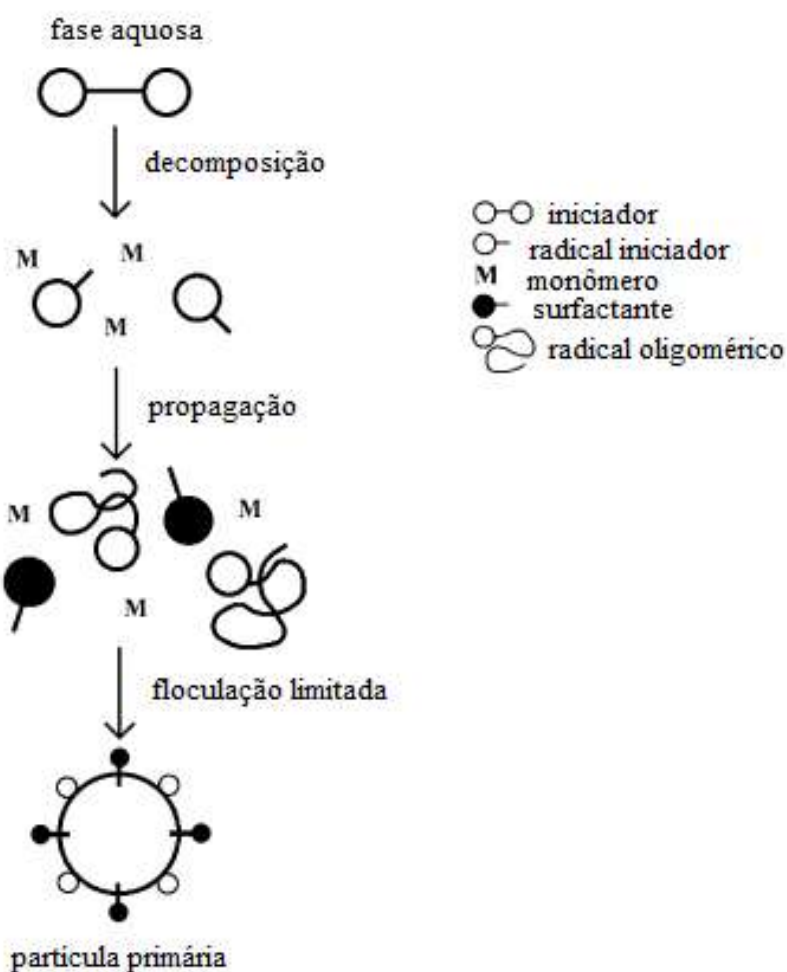
O mecanismo de nucleação das partículas é uma característica bastante importante da polimerização em emulsão. Atualmente, três mecanismos são aceitos: nucleação micelar, homogênea e de gotículas de monômero. Muitos autores<sup>76, 93, 104</sup> classificam o mecanismo de formação dos microgéis sintetizados via EP e SFEP como nucleação homogênea, que consiste no processo de nucleação de partículas quando a solução torna-se supersaturada em polímero.<sup>105</sup> Ambas as técnicas de polimerização citadas (EP e SFEP) foram utilizadas no desenvolvimento deste trabalho e os mecanismos de formação dos microgéis serão discutidos a seguir.

### 2.3.2.1 Polimerização em emulsão (EP)

A polimerização em emulsão permite a preparação de microgéis com diâmetro muito pequeno (menores que 150 nm). Inicialmente, os radicais livres são formados pela decomposição do iniciador e iniciam a polimerização com as moléculas de monômero dissolvidas no meio. Os radicais oligoméricos formados tornam-se mais hidrofóbicos e, quando um comprimento de cadeia crítico é alcançado, a cadeia colapsa na forma de uma partícula precursora coloidal instável. Nesse momento, esse oligômero pode se ligar a outras partículas precursoras (floculação) seguido da adsorção das moléculas de surfactante em sua superfície, de forma a tornar-se grande o suficiente a ponto de ser estável, ou também pode se depositar em alguma partícula que já possua estabilidade coloidal (elevada carga superficial e consequente alcance de estabilidade eletrostática).<sup>103, 106</sup>

A concentração do surfactante utilizada na síntese de microgéis geralmente é menor que a concentração micelar crítica (CMC) (mecanismo de nucleação homogênea). Concentrações de surfactante acima da CMC podem ser utilizadas também, no entanto dados experimentais extras seriam necessários para distinguir se a polimerização em emulsão com surfactante acima da CMC seguiria um mecanismo de nucleação homogênea ou nucleação micelar.<sup>106</sup>

A Figura 2.8 apresenta uma ilustração esquemática do mecanismo de polimerização em emulsão descrito acima. Os princípios mecanísticos da nucleação homogênea descritos são bastante gerais e, por isso, aplicam-se também às copolimerizações em emulsão.<sup>103</sup>



**Figura 2.8.** Representação esquemática das etapas da polimerização em emulsão, considerando um mecanismo de nucleação homogênea. (adaptado de Chern).<sup>106</sup>

É importante ressaltar que a temperatura utilizada durante a polimerização não é importante apenas para a decomposição térmica do iniciador. Para a preparação de microgéis termo-responsivos, o uso de temperaturas de polimerização (usualmente entre 70 e 80 °C) bem acima da LCST do polímero permite a formação de partículas com estreita distribuição de tamanho e baixa polidispersão, porque à medida que o polímero vai sendo formado, ocorre a precipitação.<sup>13, 73</sup> Muitas vezes, essa reação de polimerização é chamada de polimerização por precipitação, justamente devido a esse fato.

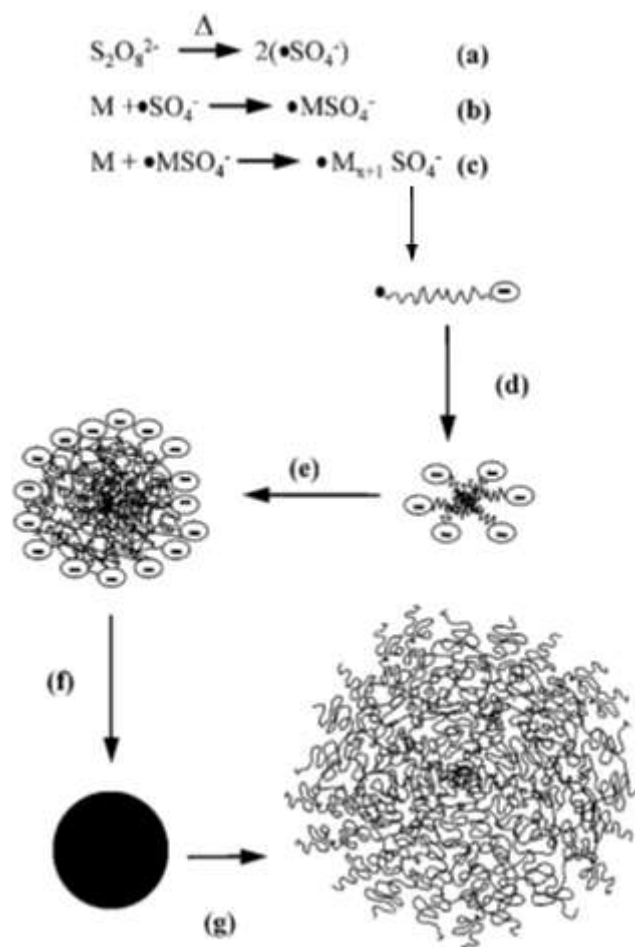
O tamanho dos microgéis pode ser controlado através da modulação da concentração do surfactante utilizada durante a síntese, no qual uma maior concentração de surfactante (considerando como faixa limite a CMC) resulta em microgéis menores, agindo como um

limitador de crescimento da partícula, como relatado por Andersson & Maunu<sup>107</sup> em seus estudos sobre o efeito da concentração do surfactante na síntese de microgéis de p(NIPAM).

### 2.3.2.2 Polimerização em emulsão livre de surfactante (SFEP)

A estabilidade coloidal de microgéis sintetizados via SFEP tem sua origem nos fragmentos do iniciador iônico que residem na superfície da partícula.<sup>78</sup> As cadeias poliméricas carregadas formadas durante a polimerização, por sua vez, agem como as moléculas de surfactante, estabilizando o crescimento da partícula. A vantagem principal do uso da SFEP é a ausência de surfactante, que muitas vezes torna-se difícil de ser retirado totalmente na etapa de purificação do microgel. A Figura 2.9 ilustra o mecanismo de preparação de microgéis utilizando SFEP.

Igualmente à iniciação da polimerização via EP, a polimerização via SFEP inicia-se através da decomposição do iniciador iônico. Os oligômeros produzidos são ativos na superfície (etapa c – Figura 2.9) e formam núcleos (precipitados) quando o comprimento da cadeia oligomérica excede a solubilidade limite no solvente (etapa d – Figura 2.9). Os núcleos crescem na forma de agregados até o alcance da estabilização eletrostática, e a o crescimento da partícula ocorre através da absorção de monômeros ou cadeias oligoméricas (etapa e – Figura 2.9). A característica chave da SFEP é que o período de nucleação da partícula é muito curto (na ordem de minutos), o que assegura uma distribuição de tamanhos de partícula muito estreita. O tamanho final da partícula sintetizada via SFEP é alcançada com o aumento da concentração eletrolítica e diminuição da concentração do iniciador.<sup>44</sup>



**Figura 2.9.** Mecanismo de formação de microgéis via SFEP. As etapas são decomposição térmica do iniciador (a), iniciação (M representa o monômero) (b), propagação (c), nucleação da partícula por precipitação (d), agregação (e), crescimento da partícula acima da LCST (f) e intumescimento da partícula abaixo da LCST (g). As cargas nas etapas (f) e (g) foram omitidas para melhor visualização (retirado de Saunders & Vincent).<sup>44</sup>

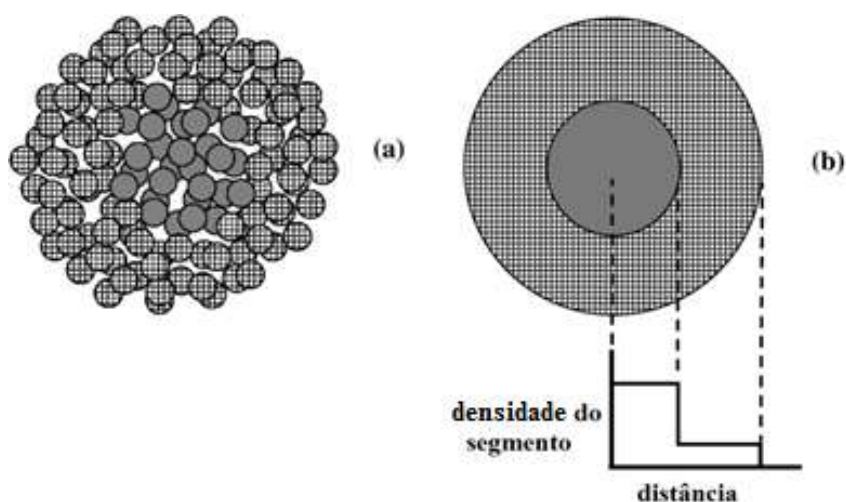
### 2.3.3 Estrutura interna dos microgéis

A estrutura interna dos microgéis compreende uma rede polimérica reticulada, com estrutura porosa, do tipo esponja.<sup>108</sup> Nessa estrutura esférica, do tipo micela, as cadeias poliméricas hidrofóbicas tendem a se orientar para o interior da partícula, direcionando a parte

carregada (proveniente do iniciador) para o exterior e estabilizando a estrutura na superfície da partícula (quando presente, o surfactante exerce uma estabilização superficial adicional).<sup>109</sup>

Utilizando SFEP pra a preparação de microgéis, algumas cadeias poliméricas solvatadas se estendem para a fase contínua (água, geralmente) criando uma barreira estérica, com morfologia do tipo *fuzzy sphere*.<sup>110</sup> Pelton & Hoare<sup>111</sup> sugerem que além das cargas residentes na superfície da partícula, algumas cargas podem residir no final dessas cadeias poliméricas solvatadas que estão na fase contínua. Assim, a combinação dessas cargas elétricas sugere que praticamente todos os microgéis são bastante resistentes à agregação entre partículas e, conseqüentemente, possuem estabilidade coloidal.<sup>111</sup>

O agente de reticulação forma pontes entre as cadeias poliméricas de forma a manter a rede tridimensional. Entretanto, a distribuição dos pontos de reticulação não é homogênea dentro da partícula como relatado por Wu et al.<sup>112</sup> em um estudo cinético da formação de microgéis utilizando EP. Neste trabalho, os autores observaram um consumo muito mais rápido do agente de reticulação do que do monômero NIPAM, indicando que as partículas não tem uma composição uniforme. Essa distribuição não homogênea é atribuída às diferentes cinéticas de reação do agente de reticulação e do monômero.<sup>70</sup> Saunders,<sup>113</sup> anos após a pesquisa de Wu et al., sugeriu algumas morfologias para microgéis sintetizados via SFEP que concordam com o observado por Wu et al., através de experimentos com espalhamento de nêutrons (SANS). A Figura 2.10 ilustra essas morfologias, a qual leva em consideração as etapas de agregação e crescimento durante a SFEP.



**Figura 2.10.** Duas possibilidades de estrutura para microgéis sintetizados via SFEP (adaptado de Saunders et al.).<sup>78</sup>

A estrutura (a) da Figura 2.10 consiste em um modelo teórico caroço-casca, no qual nanopartículas agregadas compõem o caroço e possuem maior densidade de reticulação que aquelas que compõem a casca. A estrutura (b) é também um modelo caroço-casca que possui estrutura uniforme no caroço e uniforme na casca, porém são diferentes uma da outra. De acordo com o autor da proposta, as diferenças entre (a) e (b) desaparecem se o tamanho da nanopartícula de (a) se aproximar de valores muito pequenos. Contudo, alguns autores de fato conseguiram sintetizar microgéis com distribuição homogênea do agente de reticulação na matriz polimérica. Acciaro et al.<sup>114</sup> e Still et al.<sup>115</sup> sintetizaram microgéis com reticulação homogênea, alimentando a reação com pequenas porções de agente de reticulação e monômero de forma regular durante a polimerização.

#### **2.3.4 Fatores que influenciam as propriedades físico-químicas dos microgéis**

Vários fatores podem influenciar as propriedades de um microgel, sendo as mais interessantes aquelas que alteram a VPTT, o tamanho, a responsividade e as propriedades mecânicas. Utilizando como rota sintética uma copolimerização aleatória via EP ou SFEP, por exemplo, a VPTT de microgéis de p(NIPAM) é passível de deslocamento para valores maiores ou menores de acordo com as interações hidrofílicas-hidrofóbicas e a razão entre os comonômeros envolvidos na copolimerização.<sup>13, 70</sup> Ainda, microgéis com múltipla responsividade podem ser sintetizados de acordo com o comonômero adicionado.<sup>116-117</sup>

A densidade de ligações cruzadas (pontos de reticulação) também influencia algumas propriedades do microgel, como na resistência ao colapso,<sup>33</sup> no tamanho<sup>33, 118</sup> e/ou nas propriedades mecânicas da partícula.<sup>119-120</sup> Ao longo deste trabalho, a influência da copolimerização e do agente de reticulação nas propriedades de microgéis de p(NIPAM) serão discutidos.

#### **2.3.5 Principais técnicas de caracterização de microgéis**

Dependendo do objetivo, diversas técnicas podem ser utilizadas na caracterização de microgéis. No entanto, algumas técnicas são muito comuns de serem encontradas na

literatura, tais como as técnicas de espalhamento de radiação (luz, raios-X e nêutrons). Diversas técnicas foram utilizadas no desenvolvimento deste trabalho, porém serão focados aqui alguns aspectos teóricos daquelas mais relevantes para o trabalho e que exigem um mínimo de fundamentação para posterior discussão dos resultados.

### 2.3.5.1 Espalhamento de luz dinâmico (DLS)<sup>121-124</sup>

Também chamado de espectroscopia de correlação de fótons (PCS) e de espalhamento de luz quasi-elástico (QELS), o DLS é utilizado para detectar flutuações temporais na intensidade de luz espalhada por partículas ou moléculas em solução devido ao movimento Browniano. Essas flutuações na intensidade são originadas da flutuação do índice de refração da solução, que tem origem na difusão translacional das moléculas ou partículas em solução. O princípio básico é relativamente simples: a amostra é iluminada por um feixe de luz e as flutuações da luz espalhada são detectadas em um ângulo conhecido de espalhamento ( $\theta$ ) por um detector de fótons.

O sinal da radiação adquirido através do número de fótons que entram no detector é expresso na forma de uma função de correlação temporal de acordo com a equação 2.6, que pode ser relacionada com a função de correlação do campo elétrico através da relação de Siegert (equação 2.7):

$$g_2(t) = \lim_{T \rightarrow \infty} \left[ \frac{1}{T} \int_0^T I(t')I(t'+t)dt' \right] \quad (2.6)$$

$$g_2(t) = 1 + \beta |g_1(t)|^2 \quad (2.7)$$

O subscrito "2" na equação 2.7 indica uma função de correlação de segunda ordem que envolve medidas de intensidade de luz, e  $\beta$  é um parâmetro instrumental óptico. Para partículas pouco polidispersas e sistemas diluídos, o decaimento da intensidade da função de correlação é uma única função exponencial simples dada pela equação 2.8:

$$g_1(t) = \exp(-\Gamma t) \quad (2.8)$$

onde  $\Gamma$  é a taxa ou frequência de relaxação.

O decaimento desta função segue uma escala de tempo característica dependente do coeficiente de difusão do sistema espalhado. Assim, a taxa de relaxação ( $\Gamma$ ) está ligada ao coeficiente de difusão ( $D$ ) através da equação 2.9, e pode ser relacionado ao raio hidrodinâmico ( $R_h$ ) de partículas em solução através da relação de Stokes-Einstein (equação 2.10):

$$\frac{1}{\tau} = \Gamma = Dq^2 \quad (2.9)$$

$$R_h = \left( \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \right) \quad (2.10)$$

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (2.11)$$

onde  $q$  é o vetor de espalhamento e tem a dimensão do recíproco do espaço,  $\tau$  é o tempo de relaxação,  $k_B$  é a constante de Boltzmann,  $T$  é a temperatura absoluta,  $\eta$  é a viscosidade do meio,  $n$  é o índice de refração,  $\lambda$  é o comprimento de onda do laser e  $\theta$  é o ângulo de espalhamento.

Para amostras pouco polidispersas e isotrópicas, medidas em apenas um ângulo de observação são consideradas confiáveis. Para amostras com diferentes geometrias, faz-se necessário o monitoramento das funções de correlação em diferentes ângulos e o coeficiente de difusão é obtido através da inclinação de  $\Gamma$  vs.  $q^2$  (equação 2.9).

Ainda, para sistemas que apresentam baixa polidispersão ( $< 0,3$ , distribuição monomodal), uma equação polinomial (equação 2.12) conhecida como método dos cumulantes pode ser utilizada para a determinação do índice de polidispersão (PD.I) (equação 2.13):



$$g_1(t) = A \exp(-\Gamma t) \left( 1 + \frac{1}{2!} \mu_2 t^2 + \dots \right) \quad (2.12)$$

$$(PDI) = \frac{\mu_2}{\Gamma^2} \approx \frac{\left( \frac{M_w}{M_n} - 1 \right)}{4} \quad (2.13)$$

onde A corresponde à amplitude da distribuição e  $\mu_2$  é denominado o segundo cumulante e corresponde à uma expectativa de ocorrência;  $M_w$  e  $M_n$  correspondem as massas moleculares médias ponderal e aritmética, respectivamente.

Para investigação de sistemas com polidispersão maior ou que contenham diferentes populações, métodos não lineares de análise precisam ser empregados. Nesse caso, as funções de correlação são tratadas aplicando transformadas inversas de Laplace (equação 2.14):

$$g_2(t) - 1 = \omega \left[ \int A(\tau) \exp\left(\frac{-t}{\tau}\right) d\tau \right]^2 \quad (2.14)$$

Esta transformação é feita com o auxílio de programas comercialmente disponíveis, como o CONTIN,<sup>125</sup> mínimos quadrados não negativos (NNLS)<sup>126</sup> ou REPES.<sup>127</sup>

### 2.3.5.2 Espalhamento de raios-X a baixos ângulos (SAXS)<sup>128-130</sup>

Os princípios do espalhamento de raios-X são basicamente os mesmos do espalhamento de luz estático, diferindo no comprimento de onda ( $\lambda$ ) da radiação incidente. Diversas técnicas utilizam a incidência de raios-X para detecção e investigação de fenômenos da interação entre a matéria e a radiação. O espalhamento gerado a baixos ângulos é elástico, semelhante ao espalhamento de luz estático (SLS) e, por isso, são muitas vezes utilizados como técnicas complementares uma da outra.

A técnica de SAXS, especificamente, é geralmente utilizada como técnica complementar para investigação da estrutura interna, da dimensão e da forma de partículas e sistemas específicos, através de experimentos em ângulos que variam entre 0,1 e 10° ( $q=$

0,006 a  $6 \text{ nm}^{-1}$ ) que permitem acesso a dimensões reais que vão desde  $\sim 1 \text{ }\mu\text{m}$  até  $1 \text{ nm}$ . As partículas de interesse devem, basicamente, possuir contraste de densidade eletrônica em relação ao solvente para serem investigadas por SAXS, isso porque o espalhamento das ondas pelos materiais origina-se das flutuações espaciais da densidade de elétrons nos mesmos.

No experimento, o número de fótons espalhados por uma amostra é contado como função do ângulo de espalhamento ( $\theta$ ), geralmente expresso em termos do vetor de espalhamento ( $q$ ) (equação 2.11), e depende das características da amostra (contraste), intensidade de raios-X incidente e distância amostra-detector.

O espalhamento de uma partícula que compõem um sistema diluído pode ser atribuído como uma interferência produzida por todas as ondas que são enviadas ao detector por cada elétron que compõe a partícula. O quadrado do somatório da amplitude dessas ondas resulta em um padrão de interferência, que oscila de forma característica com o formato da partícula. Essa interferência é chamada de fator forma,  $P(q)$ , que se refere, então, à forma e ao tamanho das partículas e está relacionado com o espalhamento de uma partícula simples isolada.

Quando o sistema de interesse está mais concentrado ou empacotado de forma mais densa, a distância entre as partículas não pode ser negligenciada, e o padrão de interferência terá contribuição das partículas vizinhas e da interação entre elas (interação interpartícula). Essa interferência adicional é chamada de fator estrutura,  $S(q)$ . Assim, para um determinado sistema de partícula espalhantes, a intensidade de raios-X,  $I(q)$ , é resultado da multiplicação dos fatores forma e estrutura de acordo com a equação 2.15:

$$I(q) = NP(q)S(q) \quad (2.15)$$

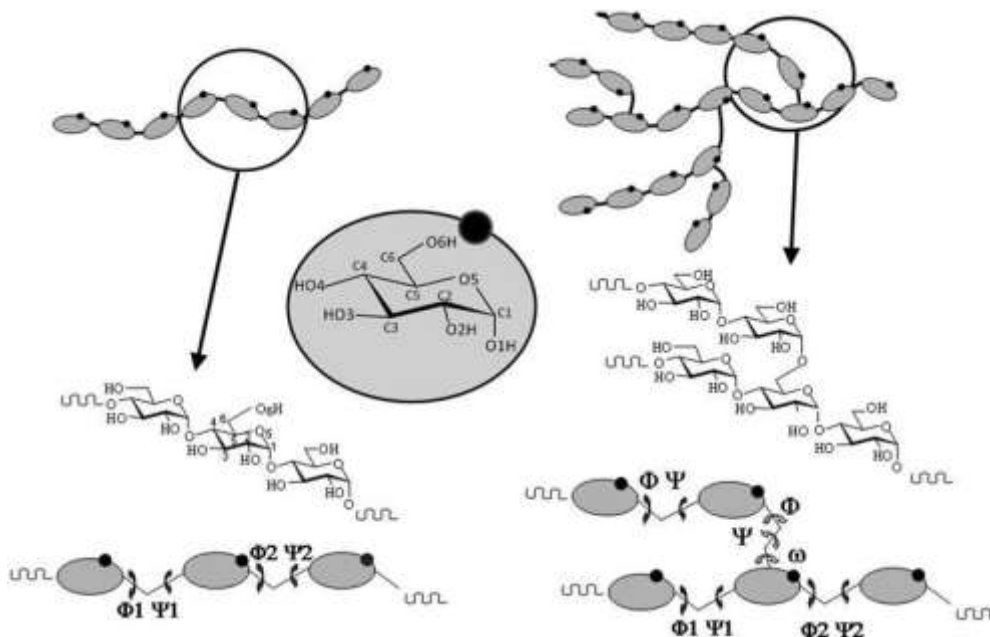
onde  $N$  é a densidade numérica de partículas.

Ainda, a polidispersão, mesmo que baixa dependendo do sistema, deve ser considerada visto que todas  $N$  partículas que compõe o sistema não são idênticas em tamanho e forma. Para isso, funções de distribuição que representem a polidispersão e o sistema como um todo devem ser avaliadas.

O ajuste das curvas de SAXS geralmente é feito através do uso de programas específicos como o SASfit, Origin e Igor. Nestes estão inclusos equações de ajuste e diversos modelos para auxílio na determinação dos parâmetros de interesse.

## 2.4 AMIDO

O amido é um conhecido carboidrato renovável e de baixo custo que se apresenta na forma de grânulos, e tem recebido atenção especial nos últimos anos devido à sua alta biocompatibilidade e hidrofiliçidade,<sup>131-132</sup> sendo composto de dois homopolímeros principais: a amilose, que consiste de cadeias lineares de  $\alpha$ -d-glucose conectadas por ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$  e a amilopectina, que possui cadeia parcialmente ramificada composta por ligações glicosídicas  $\alpha(1\rightarrow4)$  e  $\alpha(1\rightarrow6)$  (Figura 2.11).<sup>133-134</sup> As proporções em que essas estruturas aparecem diferem em relação às fontes botânicas, variedades de uma mesma espécie e, mesmo numa mesma variedade, de acordo com o grau de maturação da planta.<sup>134-135</sup> Devido as suas propriedades, o amido é extensivamente usado em diversas áreas de interesse, como indústria de alimentos,<sup>136</sup> de adesivos,<sup>137</sup> farmacêutica,<sup>138</sup> em aplicações biomédicas em geral<sup>139-140</sup> e tratamento de resíduos,<sup>141-142</sup> dentre outras.<sup>143-144</sup>



**Figura 2.11.** Estrutura molecular da amilose (esquerda) e da amilopectina (direita).  $\Phi$ ,  $\Psi$  e  $\Omega$  representam os ângulos torsionais das ligações glicosídicas (retirado de Pérez et al.).<sup>133</sup>

Uma das características do amido mais explorada é sua capacidade de absorção de água em função da temperatura.<sup>145-146</sup> No entanto, dependendo da temperatura, ocorre um processo irreversível chamado gelatinização, que consiste no rompimento das ligações de hidrogênio estabelecidas entre os polímeros amilose e amilopectina, destruindo a estrutura granular do amido e liberando os polímeros na solução através de ligações de hidrogênio dos grupos hidroxilas dos polímeros do amido com a água. Ainda, a gelatinização é acompanhada por uma mudança bastante acentuada na viscosidade da solução. Essa propriedade é bastante útil em diversos segmentos, como a produção de filmes<sup>147</sup> e hidrogéis.<sup>64, 148</sup>

A amilose e a amilopectina têm propriedades distintas. A amilose tem uma alta tendência a retrogradação e produz géis duros e filmes fortes. A retrogradação é um fenômeno que o amido gelatinizado pode sofrer quando armazenado e resfriado, no qual as ligações de hidrogênio tornam-se mais fortes devido ao rearranjo das cadeias ao se reassociarem em um estado mais ordenado, produzindo géis de viscosidade elevada.<sup>135</sup> A amilopectina dispersa em água é mais estável e produz filmes fracos e géis moles (pouco viscosos).<sup>133</sup> As ramificações da amilopectina impedem em parte a aproximação de suas cadeias, dificultando sua solubilização e a formação de ligações de hidrogênio, tornando as características de retrogradação da amilose e da amilopectina cineticamente diferentes.<sup>149</sup> Fisicamente, a maioria dos amidos nativos são semi-cristalinos, tendo uma cristalinidade de cerca de 20-45%. A amilose e os pontos de ramificação da amilopectina formam as regiões amorfas. As cadeias ramificadas mais curtas da amilopectina são o principal componente cristalino no amido granular.<sup>143</sup>

Considerando sua versatilidade, o amido e outras macromoléculas de origem natural têm sido utilizadas em combinação com polímeros responsivos na formação de diferentes materiais, como hidrogéis,<sup>150</sup> copolímeros do tipo *graft*<sup>151-152</sup> e estruturas poliméricas com arquiteturas definidas através de polimerização controlada.<sup>153</sup> Zhang & Zhuo,<sup>154</sup> por exemplo, sintetizaram hidrogéis copoliméricos a partir de amido nativo gelatinizado com NIPAM em diferentes proporções melhorando assim as propriedades superficiais devido à uma estrutura de hidratação mais estável ao redor dos grupos hidrofóbicos, quando comparado a hidrogéis de p(NIPAM) puros. Baseado no experimento dos autores, mais ligações de hidrogênio (devido aos grupos hidroxila dos polímeros que compõem o amido) foram formadas no hidrogel, formando uma estrutura de hidratação mais estável ao redor dos grupos hidrofóbicos do p(NIPAM).

Vieira e colaboradores<sup>155</sup> prepararam hidrogéis físicos injetáveis de p(NIPAM) contendo quitosana e amido. No hidrogel contendo o amido, a LCST foi deslocada para valores próximos de 37 °C, além de adquirir uma estrutura tridimensional bem definida e largos poros. Hidrogéis pH-responsivos contendo acrilamida e amido de batata foram sintetizados por Dragan & Apopei,<sup>156</sup> onde uma rápida resposta no intumescimento e colapso da estrutura polimérica pode ser observada. Os mesmos autores, em diferente publicação, testaram hidrogéis de amido e acrilamida na adsorção de corantes.<sup>20</sup> Mais recentemente, utilizando polimerização radicalar viva por transferência de elétron (*single electron transfer living radical polymerization*, SET-LRP), Wang e colaboradores<sup>153</sup> foram capazes de preparar copolímeros de amido-g-p(NIPAM) utilizando um macroiniciador de amido solúvel em líquido iônico, com termo-responsividade variando entre 23 °C e 31,5 °C, dependendo do comprimento das cadeias de p(NIPAM).

## 2.5 REFERÊNCIAS

1. Puzzo, D. P.; Arsenault, A. C.; Manners, I.; Ozin, G. A.; *Angewandte Chemie-International Edition*. **2009**, *48* (5), 943-947.
2. Villmow, T.; Pegel, S.; John, A.; Rentenberger, R.; Pötschke, P.; *Materials Today*. **2011**, *14* (7-8), 340-345.
3. Oh, J. K.; Drumright, R.; Siegwart, D. J.; Matyjaszewski, K.; *Progress in Polymer Science*. **2008**, *33* (4), 448-477.
4. Güney, O.; Serin, E.; *Journal of Applied Polymer Science*. **2016**, *133* (4), n/a-n/a.
5. Thambi, T.; Park, J. H.; Lee, D. S.; *Biomaterials Science*. **2016**, *4* (1), 55-69.
6. Raemdonck, K.; Demeester, J.; De Smedt, S.; *Soft Matter*. **2009**, *5* (4), 707-715.
7. Stile, R. A.; Healy, K. E.; *Biomacromolecules*. **2001**, *2* (1), 185-94.
8. Shimizu, K.; Fujita, H.; Nagamori, E.; *Biotechnol Bioeng*. **2010**, *106* (2), 303-10.
9. Jochum, F. D.; Theato, P.; *Chemical Society Reviews*. **2013**, *42* (17), 7468-7483.
10. Meléndez-Ortiz, H. I.; Varca, G. H. C.; Zavala-Lagunes, E.; Bucio, E., State of the art of smart polymers: from fundamentals to final applications. In *Polymers science: research advances, practical applications and educational aspects*, Méndez-Vilas, A.; Solano, A., Eds. Formatex Research Center: 2016; Vol. 1, p 12.

11. Ward, M. A.; Georgiou, T. K.; *Polymers*. **2011**, *3* (3), 1215-1242.
12. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Harabagiu, V.; Popescu, I.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G.; *Eur J Pharm Sci*. **2014**, *62*, 86-95.
13. Hertle, Y.; Hellweg, T.; *J Mater Chem B*. **2013**, *1* (43), 5874-5885.
14. Wedel, B.; Zeiser, M.; Hellweg, T.; *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics*. **2012**, *226* (7-8), 737-748.
15. Marques, N. D.; Curti, P. S.; Maia, A. M. D.; Balaban, R. D.; *Journal of Applied Polymer Science*. **2013**, *129* (1), 334-345.
16. Zhang, Q. M.; Li, H. F.; Poh, M.; Xia, F.; Cheng, Z. Y.; Xu, H. S.; Huang, C.; *Nature*. **2002**, *419* (6904), 284-287.
17. Fathi, M.; Entezami, A. A.; Arami, S.; Rashidi, M. R.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. **2015**, *64* (10), 541-549.
18. Zhao, Y.; *Macromolecules*. **2012**, *45* (9), 3647-3657.
19. Ercole, F.; Davis, T. P.; Evans, R. A.; *Polym Chem-Uk*. **2010**, *1* (1), 37-54.
20. Dragan, E. S.; Apopei, D. F.; *Chem Eng J*. **2011**, *178*, 252-263.
21. Dai, S.; Ravi, P.; Tam, K. C.; *Soft Matter*. **2008**, *4* (3), 435-449.
22. Magnusson, J. P.; Khan, A.; Pasparakis, G.; Saeed, A. O.; Wang, W.; Alexander, C.; *J Am Chem Soc*. **2008**, *130* (33), 10852-3.
23. Lvov, Y.; Antipov, A. A.; Mamedov, A.; Möhwald, H.; Sukhorukov, G. B.; *Nano Letters*. **2001**, *1* (3), 125-128.
24. Han, D.; Tong, X.; Boissière, O.; Zhao, Y.; *ACS Macro Letters*. **2012**, *1* (1), 57-61.
25. Chandrawati, R.; *Exp Biol Med (Maywood)*. **2016**, *241* (9), 972-9.
26. Thornton, P. D.; Mart, R. J.; Ulijn, R. V.; *Advanced Materials*. **2007**, *19* (9), 1252-1256.
27. Hunter, A. C.; Moghimi, S. M.; *Polym Chem-Uk*. **2017**, *8* (1), 41-51.
28. Koetting, M. C.; Peters, J. T.; Steichen, S. D.; Peppas, N. A.; *Materials Science and Engineering: R: Reports*. **2015**, *93*, 1-49.
29. Gandhi, A.; Paul, A.; Sen, S. O.; Sen, K. K.; *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2015**, *10* (2), 99-107.

30. Sedláček, O.; Černocho, P.; Kučka, J.; Konefal, R.; Štěpánek, P.; Vetrík, M.; Lodge, T. P.; Hrubý, M.; *Langmuir*. **2016**, *32* (24), 6115-6122.
31. Bucatariu, S.; Fundueanu, G.; Prisacaru, I.; Balan, M.; Stoica, I.; Harabagiu, V.; Constantin, M.; *J Polym Res*. **2014**, *21* (11).
32. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Ascenzi, P.; Simionescu, B. C.; Fundueanu, G.; *Reactive & Functional Polymers*. **2014**, *84*, 1-9.
33. Zeiser, M.; Freudensprung, I.; Hellweg, T.; *Polymer*. **2012**, *53* (26), 6096-6101.
34. Li, D. D.; Kordalivand, N.; Fransen, M. F.; Ossendorp, F.; Raemdonck, K.; Vermonden, T.; Hennink, W. E.; van Nostrum, C. F.; *Advanced Functional Materials*. **2015**, *25* (20), 2993-3003.
35. Soleimani, M.; Haley, J. C.; Majonis, D.; Guerin, G.; Lau, W.; Winnik, M. A.; *Journal of the American Chemical Society*. **2011**, *133* (29), 11299-11307.
36. Simmons, D. S. Phase and Conformational Behavior of LCST-Driven Stimuli Responsive Polymers. University of Texas, Austin, 2009.
37. Gibson, M. I.; O'Reilly, R. K.; *Chem Soc Rev*. **2013**, *42* (17), 7204-13.
38. Pelton, R. H.; Chibante, P.; *Colloids and Surfaces*. **1986**, *20* (3), 247-256.
39. Heskins, M.; Guillet, E.; *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*. **1968**, *2* (8), 15.
40. Oliveira, T. E. d.; Mukherji, D.; Kremer, K.; Netz, P. A.; *The Journal of Chemical Physics*. **2017**, *146* (3), 034904.
41. Halperin, A.; Kröger, M.; Winnik, F. M.; *Angewandte Chemie International Edition*. **2015**, *54* (51), 15342-15367.
42. Brun-Graeppi, A.; Richard, C.; Bessodes, M.; Scherman, D.; Merten, O. W.; *Progress in Polymer Science*. **2010**, *35* (11), 1311-1324.
43. Gong, Y.; Liu, Q. L.; Zhu, A. M.; Zhang, Q. G.; *Carbohydrate Polymers*. **2012**, *90* (1), 690-695.
44. Saunders, B. R.; Vincent, B.; *Adv Colloid Interfac*. **1999**, *80* (1), 1-25.
45. Deshmukh, S. A.; Sankaranarayanan, S. K. R. S.; Suthar, K.; Mancini, D. C.; *The Journal of Physical Chemistry B*. **2012**, *116* (9), 2651-2663.
46. Kojima, H.; Tanaka, F.; *Macromolecules*. **2010**, *43* (11), 5103-5113.

47. Tanaka, F.; Koga, T.; Kojima, H.; Winnik, F. M.; *Chinese J Polym Sci.* **2011**, 29 (1), 13-21.
48. Malcolm, G. N.; Rowlinson, J. S.; *Transactions of the Faraday Society.* **1957**, 53 (0), 921-931.
49. K., U.; G., M.; *Makromol. Chem.* **1961**, 47, 168.
50. Aguilar, M.; Elvira, C.; Gallardo, A.; Vázquez, B.; Román, J.; *Topics in tissue engineering.* **2007**, 3 (6).
51. Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A. D. J.; *The Journal of Physical Chemistry B.* **2002**, 106 (3), 521-533.
52. Flory, P. J.; *The Journal of Chemical Physics.* **1942**, 10 (1), 51-61.
53. Huggins, M. L.; *The Journal of Physical Chemistry.* **1942**, 46 (1), 151-158.
54. Oliveira, T. E. d. Investigação computacional das propriedades estruturais, termodinâmicas e dinâmicas do polímero termossensível poli(N-isopropilacrilamida) em solução aquosa. UFRGS, Porto Alegre, 2016.
55. Schuhmacher, E. PMMA ou PEO em mistura THF/H<sub>2</sub>O: Determinação dos diagramas de fases, mecanismos de separação e aplicação. UFSC, Florianópolis, 2001.
56. Passador, F. R.; Pessan, L. A.; Rodolfo Jr., A.; *Polímeros.* **2006**, 16, 174-181.
57. IUPAC, Compendium of Chemical Terminology. In *Gold Book*, 2 ed.; McNaught, A. D.; Wilkinson, A., Eds. Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1997.
58. Almdal, K.; Dyre, J.; Hvidt, S.; Kramer, O.; *Polymer Gels and Networks.* **1993**, 1, 13.
59. Burchard, W.; *Polymer Bulletin.* **2007**, 58 (1), 3-14.
60. Pusey, P. N.; Van Megen, W.; *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications.* **1989**, 157 (2), 705-741.
61. Joosten, J. G. H.; Geladé, E. T. F.; Pusey, P. N.; *Physical Review A.* **1990**, 42 (4), 2161-2175.
62. Ahmed, E. M.; *Journal of Advanced Research.* **2015**, 6 (2), 105-121.
63. Mathur, A. M.; Moorjani, S. K.; Scranton, A. B.; *Journal of Macromolecular Science, Part C.* **1996**, 36 (2), 405-430.
64. Ismail, H.; Irani, M.; Ahmad, Z.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials.* **2013**, 62 (7), 411-420.



65. Boal, D. H., *Mechanics of the Cell*. Cambridge University Press: 2002.
66. Karg, M.; Hellweg, T.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **2009**, *14* (6), 438-450.
67. Hellweg, T.; *Journal of Polymer Science*. **2013**, *51*, 1073-1083.
68. Depa, K.; Strachota, A.; Šlouf, M.; Brus, J.; *European Polymer Journal*. **2017**, *88*, 349-372.
69. Gupta, P.; Vermani, K.; Garg, S.; *Drug Discov Today*. **2002**, *7* (10), 569-79.
70. Dai, Z. J.; Ngai, T.; *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*. **2013**, *51* (14), 2995-3003.
71. Hirose, H.; Shibayama, M.; *Macromolecules*. **1998**, *31* (16), 5336-5342.
72. Tanaka, T.; Fillmore, D. J.; *The Journal of Chemical Physics*. **1979**, *70* (3), 1214-1218.
73. Nolan, C. M. MICROGEL BASED MATERIALS FOR CONTROLLED MACROMOLECULE DELIVERY. Georgia Institute of Technology, Georgia, 2005.
74. Baker, W. O.; *Industrial & Engineering Chemistry*. **1949**, *41* (3), 511-520.
75. Staudinger, H.; Husemann, E.; *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)*. **1935**, *68* (8), 1618-1634.
76. Pelton, R.; *Adv Colloid Interfac*. **2000**, *85* (1), 1-33.
77. Dickinson, E.; *Trends in Food Science & Technology*. **2015**, *43* (2), 178-188.
78. Saunders, B. R.; Laajam, N.; Daly, E.; Teow, S.; Hu, X.; Stepto, R.; *Adv Colloid Interfac*. **2009**, *147-148*, 251-262.
79. Hellweg, T.; Dewhurst, C. D.; Brückner, E.; Kratz, K.; Eimer, W.; *Colloid and Polymer Science*. **2000**, *278* (10), 972-978.
80. Lyon, L. A.; Debord, J. D.; Debord, S. B.; Jones, C. D.; McGrath, J. G.; Serpe, M. J.; *The Journal of Physical Chemistry B*. **2004**, *108* (50), 19099-19108.
81. Han, Y.; Ha, N. Y.; Alsayed, A. M.; Yodh, A. G.; *Physical Review E*. **2008**, *77* (4), 041406.
82. Yunker, P. J.; Chen, K.; Gratale, M. D.; Lohr, M. A.; Still, T.; Yodh, A. G.; *Rep Prog Phys*. **2014**, *77* (5), 056601.

83. Constantin, M.; Cristea, M.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G.; *Express Polym Lett.* **2011**, *5* (10), 839-848.
84. Wu, C.; Zhou, S.; Au-yeung, S. C. F.; Jiang, S.; *Die Angewandte Makromolekulare Chemie.* **1996**, *240* (1), 123-136.
85. Wu, C.; Zhou, S.; *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics.* **1997**, *36* (3), 345-355.
86. Bolisetty, S.; Hoffmann, M.; Lekkala, S.; Hellweg, T.; Ballauff, M.; Harnau, L.; *Macromolecules.* **2009**, *42* (4), 1264-1269.
87. Flory, P. J., *Principles of Polymer Chemistry.* Cornell University Press: 1953.
88. Flory, P. J.; Jr., J. R.; *The Journal of Chemical Physics.* **1943**, *11* (11), 521-526.
89. Hertle, Y.; Zeiser, M.; Hasenöhrl, C.; Busch, P.; Hellweg, T.; *Colloid and Polymer Science.* **2010**, *288* (10), 1047-1059.
90. Crassous, J. J.; Wittemann, A.; Siebenbürger, M.; Schrunner, M.; Drechsler, M.; Ballauff, M.; *Colloid and Polymer Science.* **2008**, *286* (6), 805-812.
91. Cook, J. P.; Riley, D. J.; *Adv Colloid Interfac.* **2009**, *147*, 67-73.
92. Balaceanu, A.; Singh, S.; Demco, D. E.; Möller, M.; *Chemical Physics Letters.* **2014**, *612*, 182-189.
93. Musiał, W.; Pluta, J.; Michalek, J.; *Acta Pol Pharm.* **2015**, *72* (3), 409-422.
94. Siegwart, D. J.; Oh, J. K.; Matyjaszewski, K.; *Progress in Polymer Science.* **2012**, *37* (1), 18-37.
95. Oh, J. K.; Bencherif, S. A.; Matyjaszewski, K.; *Polymer.* **2009**, *50* (19), 4407-4423.
96. Moad, G.; Solomon, D. H., 3 - Initiation. In *The Chemistry of Radical Polymerization (Second Edition)*, Elsevier Science Ltd: Amsterdam, 2005; pp 49-166.
97. Moad, G.; Solomon, D. H., 4 - Propagation. In *The Chemistry of Radical Polymerization (Second Edition)*, Elsevier Science Ltd: Amsterdam, 2005; pp 167-232.
98. Moad, G.; Solomon, D. H., 5 - Termination. In *The Chemistry of Radical Polymerization (Second Edition)*, Elsevier Science Ltd: Amsterdam, 2005; pp 233-278.
99. Cheremisinoff, N. P., *Handbook of Polymer Science and Technology.* Taylor & Francis: 1989.
100. Rempp, P.; Merrill, E. W., *Polymer synthesis.* Huethig & Wepf: 1986.

101. Young, R. J.; Lovell, P. A., *Introduction to Polymers, Third Edition*. Taylor & Francis: 2011.
102. Odian, G., *Principles of Polymerization*. Wiley: 2004.
103. Thickett, S. C.; Gilbert, R. G.; *Polymer*. **2007**, *48* (24), 6965-6991.
104. Warson, H.; *Polymer International*. **1996**, *41* (3), 352-352.
105. Shah, Z. Efeito de tensoativos na polimerização em emulsão. Unicamp, Campinas, 2012.
106. Chern, C. S.; *Progress in Polymer Science*. **2006**, *31* (5), 443-486.
107. Andersson, M.; Maunu, S. L.; *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*. **2006**, *44* (23), 3305-3314.
108. Murray, M. J.; Snowden, M. J.; *Adv Colloid Interfac*. **1995**, *54*, 73-91.
109. Thorne, J. B. Controlling the interfacial behaviour of colloidal microgel systems. University of Greenwich, Londres, 2012.
110. Woodward, N. C.; Snowden, M. J.; Chowdhry, B. Z.; Jenkins, P.; Larson, I.; *Langmuir*. **2002**, *18* (6), 2089-2095.
111. Pelton, R.; Hoare, T., *Microgels and Their Synthesis: An Introduction*. In *Microgel Suspensions*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: 2011; pp 1-32.
112. Wu, X.; Pelton, R. H.; Hamielec, A. E.; Woods, D. R.; McPhee, W.; *Colloid and Polymer Science*. **1994**, *272* (4), 467-477.
113. Saunders, B. R.; *Langmuir*. **2004**, *20* (10), 3925-3932.
114. Acciaro, R.; Gilányi, T.; Varga, I.; *Langmuir*. **2011**, *27* (12), 7917-7925.
115. Still, T.; Chen, K.; Alsayed, A. M.; Aptowicz, K. B.; Yodh, A. G.; *J Colloid Interface Sci*. **2013**, *405*, 96-102.
116. Karg, M.; Pastoriza-Santos, I.; Rodriguez-Gonzalez, B.; von Klitzing, R.; Wellert, S.; Hellweg, T.; *Langmuir*. **2008**, *24* (12), 6300-6306.
117. Meng, Z.; Smith, M. H.; Lyon, L. A.; *Colloid and Polymer Science*. **2009**, *287* (3), 277-285.
118. Contreras-Caceres, R.; Schellkopf, L.; Fernandez-Lopez, C.; Pastoriza-Santos, I.; Perez-Juste, J.; Stamm, M.; *Langmuir*. **2015**, *31* (3), 1142-9.

119. Virtanen, O. L.; Mourran, A.; Pinard, P. T.; Richtering, W.; *Soft Matter*. **2016**, *12* (17), 3919-28.
120. Senff, H.; Richtering, W.; *Colloid and Polymer Science*. **2000**, *278* (9), 830-840.
121. Silveira, N. P.; Giacomelli, F. C., Espalhamento de Luz Aplicado à Caracterização de Polímeros e Nanopartículas. In *Tópicos em Nanociência e Nanotecnologia*, Pohlmann, A. R.; Petter, C. O.; Balzaretto, N. M.; Guterres, S. S., Eds. Editora da UFRGS: Porto Alegre, 2008; Vol. 1, p 20.
122. Chu, B., *Laser Light Scattering: Basic Principles and Practice*. Elsevier Science: 2012.
123. Berne, B. J.; Pecora, R., *Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics*. Dover Publications: 2000.
124. Hassan, P. A.; Rana, S.; Verma, G.; *Langmuir*. **2015**, *31* (1), 3-12.
125. Provencher, S. W.; *Computer Physics Communications*. **1982**, *27* (3), 229-242.
126. Morrison, I. D.; Grabowski, E. F.; Herb, C. A.; *Langmuir*. **1985**, *1* (4), 496-501.
127. Jakeš, J.; *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **1995**, *60* (11), 17.
128. Schnablegger, H.; Singh, Y.; *Anton Paar GmbH, Austria*. **2011**.
129. Silveira, N. P.; Giacomelli, F. C., Espalhamento de raios-X aplicado à caracterização da matéria mole. In *Tópicos em Nanociência e Nanotecnologia*, Balzaretto, N. M., Ed. Editora da UFRGS: Porto Alegre, 2011; Vol. 2, p 17.
130. Stribeck, N., *X-Ray Scattering of Soft Matter*. Springer Berlin Heidelberg: 2007.
131. Parvathy, P. C.; Jyothi, A. N.; *Starch-Starke*. **2012**, *64* (3), 207-218.
132. Sonnewald, U.; Kossmann, J.; *Plant Biotechnology Journal*. **2013**, *11* (2), 223-232.
133. Perez, S.; Bertoft, E.; *Starch-Starke*. **2010**, *62* (8), 389-420.
134. Tester, R. F.; Karkalas, J.; Qi, X.; *Journal of Cereal Science*. **2004**, *39* (2), 151-165.
135. Denardin, C. C.; Silva, L. P. d.; *Ciência Rural*. **2009**, *39* (3), 10.
136. Homayouni, A.; Amini, A.; Keshtiban, A. K.; Mortazavian, A. M.; Esazadeh, K.; Pourmoradian, S.; *Starch-Starke*. **2014**, *66* (1-2), 102-114.
137. Qiao, Z. B.; Gu, J. Y.; Lv, S. S.; Cao, J.; Tan, H. Y.; Zhang, Y. H.; *J Adhes Sci Technol*. **2015**, *29* (13), 1368-1381.

138. Scholtz, J.; Van der Colff, J.; Steenekamp, J.; Stieger, N.; Hamman, J.; *Curr Drug Targets*. **2014**, *15* (5), 486-501.
139. Zaky, M. F.; *J Surfactants Deterg*. **2010**, *13* (3), 255-260.
140. Nidhin, M.; Nazeer, S. S.; Jayasree, R. S.; Kiran, M. S.; Nair, B. U.; Sreeram, K. J.; *Rsc Advances*. **2013**, *3* (19), 6906-6912.
141. Ma, X. F.; Liu, X. Y.; Anderson, D. P.; Chang, P. R.; *Food Chemistry*. **2015**, *181*, 133-139.
142. Soto, D.; Urdaneta, J.; Pernía, K.; León, O.; Muñoz-Bonilla, A.; Fernández-García, M.; *Polymers for Advanced Technologies*. **2015**, *26* (2), 147-152.
143. Liu, H. S.; Xie, F. W.; Yu, L.; Chen, L.; Li, L.; *Progress in Polymer Science*. **2009**, *34* (12), 1348-1368.
144. Chen, Q.; Yu, H.; Wang, L.; ul Abidin, Z.; Chen, Y.; Wang, J.; Zhou, W.; Yang, X.; Khan, R. U.; Zhang, H.; Chen, X.; *Rsc Advances*. **2015**, *5* (83), 67459-67474.
145. Lagarrigue, S.; Alvarez, G.; Cuvelier, G.; Flick, D.; *Carbohydrate Polymers*. **2008**, *73* (1), 148-155.
146. Malumba, P.; Jacquet, N.; Delimme, G.; Lefebvre, F.; Béra, F.; *Journal of Food Engineering*. **2013**, *114* (2), 199-206.
147. Jiménez, A.; Fabra, M. J.; Talens, P.; Chiralt, A.; *Food Bioprocess Tech*. **2012**, *5* (6), 2058-2076.
148. Xiao, C. M.; *Starch-Starke*. **2013**, *65* (1-2), 82-88.
149. Goesaert, H.; Brijs, K.; Veraverbeke, W. S.; Courtin, C. M.; Gebruers, K.; Delcour, J. A.; *Trends in Food Science & Technology*. **2005**, *16* (1-3), 12-30.
150. Ali, A. E. H.; AlArifi, A.; *Carbohydrate Polymers*. **2009**, *78* (4), 725-730.
151. Celli, A.; Sabaa, M. W.; Jyothi, A. N.; Kalia, S., Chitosan and Starch-Based Hydrogels Via Graft Copolymerization. In *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Kalia, S., Ed. Springer International Publishing: Cham, 2016; pp 189-234.
152. Soleimani, F.; Sadeghi, M.; *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*. **2012**, *3* (2A), 310.
153. Wang, L. L.; Wu, Y.; Men, Y. J.; Shen, J. N.; Liu, Z. P.; *Rsc Advances*. **2015**, *5* (87), 70758-70765.

154. Zhang, X. Z.; Zhuo, R. X.; *Journal of Colloid and Interface Science*. **2000**, 223 (2), 311-313.
155. Vieira, J. N.; Posada, J. J.; Rezende, R. A.; Sabino, M. A.; *Materials Science and Engineering: C*. **2014**, 37, 20-27.
156. Dragan, E. S.; Apopei, D. F.; *Carbohydrate Polymers*. **2013**, 92 (1), 23-32.

**CAPÍTULO 3**  
**PREPARAÇÃO E**  
**CARACTERIZAÇÃO DE**  
**NANOPARTÍCULAS DE AMIDO**  
**(SNPs)**

### 3.1 INTRODUÇÃO

O uso do amido como material de partida para síntese de nanopartículas (*starch nanoparticles*, SNPs) tem crescido,<sup>1-5</sup> e várias aplicações são descritas na literatura.<sup>6-11</sup> O amido, por definição, é um grânulo, que contém em sua estrutura polímeros que podem ser então modificados e utilizados para determinados objetivos e aplicações. Apesar da nomenclatura 'nanopartículas de amido' ser bastante difundida no meio científico, o que de fato ocorre nestes casos é a reorganização em domínios nanométricos dos polímeros que compõem o amido: a amilose e a amilopectina. Em conformidade com o descrito na literatura e para facilitar a discussão dos resultados apresentados nesta tese, será utilizado o termo 'nanopartículas de amido'. Quando necessário, uma discussão envolvendo as frações poliméricas (amilose/amilopectina) contidas nessas nanopartículas será desenvolvida.

Estudos<sup>12-13</sup> revelaram que os grânulos de amido consistem de numerosos blocos nanométricos cristalinos e que, através de diferentes métodos, esses blocos nanométricos podem ser isolados da matriz granular do amido.<sup>14-16</sup> Assim, essas nanopartículas de amido (também chamados de nanocristais de amido, dependendo da técnica utilizada e do teor cristalino final) passam a ter uma fração cristalina geralmente maior que aquela do grânulo de amido nativo e com as mesmas vantagens do material de partida, como a biodegradabilidade e compatibilidade com diversos sistemas de origem biológica.

Ainda, as diferentes propriedades como maior área superficial<sup>17-18</sup> e difusividade<sup>19</sup> fazem parte das principais razões para o uso das nanopartículas dos polímeros do amido em substituição ao amido nativo. Uma aplicação bastante recente do uso de SNPs é relatada por Saari e colaboradores,<sup>20</sup> onde as mesmas foram utilizadas para aplicação específica em emulsões de Pickering de grau alimentício. Os autores reportaram que, apesar de diversas aplicações de amido nativo em emulsões de Pickering, as SNPs estabilizaram melhor a emulsão através do aumento da capacidade de emulsificação devido ao menor tamanho e maior área superficial. Em 2014, Chin et al.<sup>21</sup> também prepararam SNPs para liberação controlada de curcumina. Os autores relatam que a solubilidade em água da curcumina carregada nas nanopartículas foi aumentada quando comparada à solubilidade da curcumina livre.

Para preparar nanopartículas de amido, duas estratégias podem ser utilizadas, conhecidas como *bottom up* (de baixo para cima) e *top down* (de cima para baixo). Na



primeira, a estratégia consiste no arranjo de moléculas de glicose e de oligômeros e sua auto-organização até a formação das partículas nanométricas. A segunda estratégia envolve o uso de métodos químicos ou físicos para reduzir o tamanho dos grânulos do amido (nanoamido) ou do amido gelatinizado até a escala nanométrica (nanopartículas dos polímeros que compõem o amido).<sup>1, 9, 22</sup>

Diversas técnicas como nanoprecipitação,<sup>2, 4, 20, 23</sup> aplicação de pressão,<sup>24</sup> hidrólise ácida,<sup>10, 25</sup> microemulsão<sup>2</sup> e ultrassom<sup>16, 26</sup> são utilizadas para a formação das SNPs pela estratégia *top down*. A nanoprecipitação ou precipitação em não-solvente,<sup>27</sup> técnica escolhida para a formação de SNPs neste trabalho, possui algumas vantagens visto que é um procedimento rápido e fácil, onde solventes geralmente pouco tóxicos são utilizados. Além de simples, a técnica é facilmente reproduzível, e tem sido utilizada, por exemplo, na formação de nanopartículas de polímeros como o poli(ácido lático) (PLA) e o poli(ácido lático-*co*-ácido glicólico) (PLGA).<sup>27-28</sup>

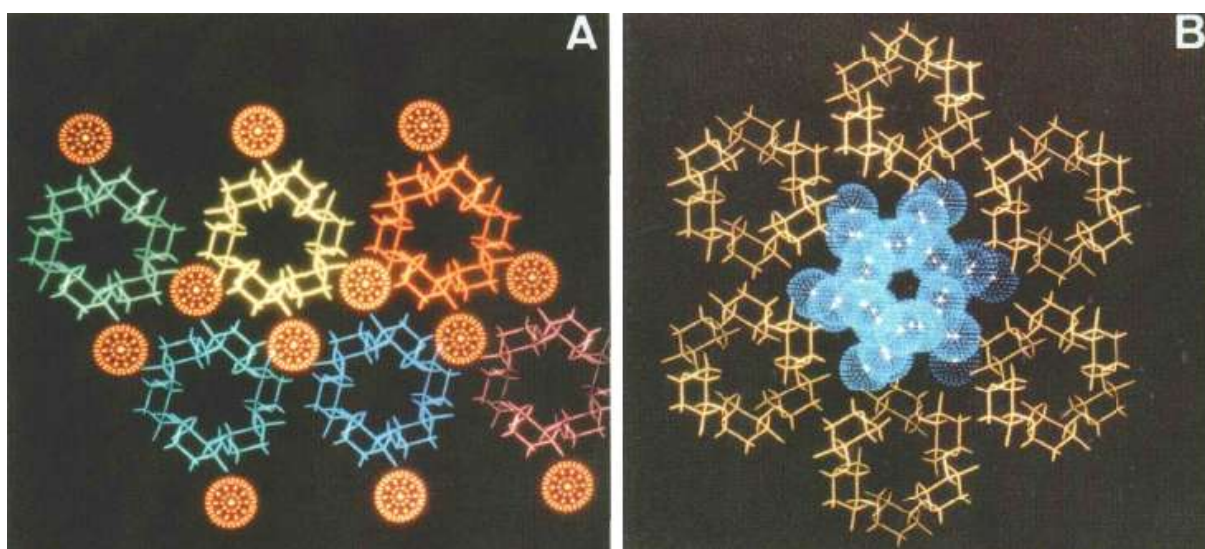
O processo de nanoprecipitação envolve a adição sucessiva de pequenas quantidades de uma solução polimérica em uma quantidade relativamente grande de solvente (chamado de não-solvente) que é miscível com o solvente da solução polimérica, porém não é miscível com o polímero, que é então precipitado da solução.<sup>1</sup> A partir desta técnica, partículas com estreita distribuição de tamanho podem ser obtidas.<sup>1, 29</sup> Como desvantagem, uma grande quantidade de solvente é utilizada.

Tan et al.,<sup>4</sup> por exemplo, prepararam SNPs com estreita distribuição de tamanhos através da nanoprecipitação em água de uma solução contendo amido acetilado em acetona. Os autores observaram que o tamanho das SNPs poderia ser facilmente controlado ajustando a concentração do polímero no solvente e/ou a proporção entre as fases aquosa e orgânica. Chin e colaboradores,<sup>2</sup> por sua vez, formaram SNPs através da técnica de nanoprecipitação em etanol de uma solução contendo amido nativo dissolvido em uma solução de hidróxido de sódio (NaOH). Diferentes tamanhos de SNPs puderam ser obtidas controlando a velocidade de agitação durante a preparação das mesmas.

A respeito da organização estrutural e cristalina após a formação das SNPs, estudos têm revelado diversas conclusões, variando desde a manutenção da organização cristalina,<sup>30</sup> da mudança dessa organização para níveis mais ou menos ordenados em relação ao material de partida<sup>31</sup> e até ao desaparecimento da cristalinidade.<sup>32</sup> De acordo com o arranjo cristalino das cadeias poliméricas que compõem o amido nativo, dois alomorfos são conhecidos: o tipo A e

o tipo B, que correspondem, respectivamente, ao empacotamento monoclinico e hexagonal das duplas hélices.<sup>33-34</sup>

A estrutura do tipo A é empacotada de forma compacta com as moléculas de água entre cada estrutura da dupla hélice helicoidal, caracterizando o amido contido na maioria dos cereais. A estrutura do tipo B, por sua vez, é mais aberta, e as moléculas de água estão localizadas na cavidade central de seis duplas hélices, caracterizando o amido contido em tubérculos e aqueles com alto teor de amilose. A representação tridimensional das estruturas do tipo A e B é dada na Figura 3.1. Uma terceira estrutura, chamada de tipo C, é conhecida por conter ambos os tipos de estrutura descritos anteriormente.<sup>1, 35</sup> A estrutura do tipo V também é relatada na literatura, e deve-se basicamente à formação de cristais de amilose.<sup>36-38</sup>



**Figura 3.1.** Representação tridimensional das estruturas cristalinas em amidos do tipo A (as esferas laranjas representam as moléculas de água) e do tipo B (as esferas azuis representam as moléculas de água) (retirado de Buléon et al.).<sup>39</sup>

Neste capítulo, serão apresentados os resultados de formação e caracterização de SNPs para posterior utilização na formação de microgéis termo-responsivos. A utilização deste tipo de nanopartícula para essa finalidade é dificilmente encontrada na literatura e, geralmente, as publicações incluem apenas a preparação de hidrogéis com amido gelatinizado. Alguns estudos, ainda, incluem SNPs modificadas para a formação de hidrogéis com alta resistência mecânica,<sup>3</sup> para a preparação de hidrogéis de p(NIPAM)<sup>40</sup> e para a síntese de hidrogéis formados *in situ* a partir de reações de Schiff.<sup>6, 41</sup>

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Materiais

Amido de milho regular (Amisol 3408, 19% de amilose) foi doado pela Ingredion (Jundiaí, SP, Brasil) e seco à 60 °C por 48 h antes de sua utilização. Dimetilsulfóxido (DMSO), etanol absoluto e todos outros reagentes não citados são de grau analítico e foram utilizados sem purificação prévia.

### 3.2.2 Preparação das SNPs

Baseado em um método de solubilização dos grânulos do amido<sup>42</sup> (com algumas modificações) e um procedimento de nanoprecipitação *top down* já descrito na literatura,<sup>2</sup> as SNPs foram formadas de acordo com o protocolo descrito abaixo.

Uma solução contendo 2% de amido (m/V) em DMSO/H<sub>2</sub>O (razão 9:1) foi preparada e mantida sob agitação magnética durante 2 horas à 40 °C até completa dissolução dos grânulos, resultando em uma solução com concentração de 20 mg.mL<sup>-1</sup>. Depois de resfriada à temperatura ambiente, a solução (viscosa e turva) foi submetida à tratamento ultrassônico (Branson Sonifier, modelo 250 e 450, 20 kHz, EUA, ponteira DES500) por 1 min, utilizando 100% de amplitude. Um banho de gelo foi utilizado ao redor da amostra submetida ao ultrassom para evitar o aquecimento devido à sonicação. O objetivo dessa etapa foi a diminuição da  $M_w$  dos polímeros do amido. Informações detalhadas sobre o procedimento e otimização dos parâmetros ultrassônicos podem ser encontradas em publicação feita pelo nosso grupo em um sistema semelhante.<sup>42</sup>

Para a formação das nanopartículas, 1 mL da solução descrita acima, de concentração igual a 20 mg.mL<sup>-1</sup>, foi adicionada gota-a-gota de forma constante e com intervalos controlados (1 gota (~15 µL)/segundo) com o auxílio de uma pipeta automática em 20 mL de etanol absoluto, sob agitação magnética a uma velocidade controlada de 900 rpm. Após 1 h de agitação (contado a partir da finalização do gotejamento), a suspensão foi purificada através

de 3 centrifugações sucessivas (3000 rpm, 15 min) e re-suspensões em etanol absoluto para a remoção do DMSO e da água residual e, então, seca à 40 °C por 24 h.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO

#### 3.3.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

As medidas de DLS para a solução diluída de SNPs em etanol foram realizadas à 25 °C utilizando o equipamento Brookhaven (goniômetro BI200M, correlação digital BI9000AT) com laser polarizado vertical He-Ne ( $\lambda = 632,8$  nm) e ângulo de espalhamento fixo de  $\theta = 90^\circ$ . O volume de espalhamento foi minimizado através de uma abertura de 400  $\mu\text{m}$  e um filtro de interferência colocado antes da entrada da fotomultiplicadora. Os dados apresentados são resultantes de uma média de 3 medidas individuais. O tratamento dos dados foi realizado utilizando o algoritmo REPES<sup>43</sup> incorporado ao programa GENDIST. Também foi utilizado o método dos cumulantes para determinação do índice de polidispersão (PD.I).<sup>44</sup>

#### 3.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens foram obtidas utilizando um equipamento EVO (MA10, Zeiss, Alemanha). As SNPs em suspensão foram diluídas e cerca de 2  $\mu\text{L}$  da amostra foram colocadas em lamínulas de vidro e metalizada com uma fina camada de ouro antes da aquisição da imagem. As SNPs secas foram colocadas em fita de carbono e também metalizadas com ouro para aquisição da imagem.

A distribuição quantitativa de tamanho das SNPs em suspensão foi realizada utilizando o software ImageJ.<sup>45</sup> Essa distribuição foi realizada com cerca de 10 imagens de MEV (cada imagem continha cerca de 10 partículas) provenientes de 2 amostras preparadas em dias diferentes.

### 3.3.3 Espalhamento de Raios-X a Altos Ângulos (WAXS)

As análises de WAXS foram realizadas em um Sistema Xeuss (Xenocs). O sistema de raios-X consistiu de um tubo de 30 W CuK $\alpha$  com espelho óptico de ultra baixa divergência (GeniX) e um detector híbrido Pilatus (300 K, 20 Hz, Dectris). A distância amostra-detector foi de 160 mm, calibrado com behenato de prata. Os componentes motorizados foram controlados com o software SPEC. A calibração absoluta dos dados espalhados foi realizada com carbono vítreo tipo 2, amostra P11.<sup>46</sup> Amostras secas (15 mg) foram misturadas com 15  $\mu$ L de água, colocadas em um porta amostra de 1 mm e seladas para prevenir qualquer mudança da razão amostra:água. As medidas foram realizadas em temperatura ambiente. O índice de cristalização ( $I_{CR}$  %) das amostras de amido nativo e das SNPs foi calculado de acordo com a Equação 3.1 baseada na altura dos picos cristalinos e da região amorfa proposta por Hulleman e colaboradores.<sup>47</sup>

$$I_{CR} \% = \frac{H_C}{(H_A + H_C)} \quad (3.1)$$

onde  $H_C$  e  $H_A$  são, respectivamente, a altura do pico cristalino de referência e a altura da região amorfa.

Os padrões de WAXS para o amido nativo e para as SNPs foram deconvoluídos utilizando curvas Lorentzianas através do software Origin (OriginLab, Northampton, MA).

## 3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.4.1 Tamanho e forma das SNPs

O sistema solvente DMSO/H<sub>2</sub>O tem sido largamente utilizado como agente de solubilização dos grânulos do amido e seus polímeros, pois permite a solubilização dos grânulos sob condições moderadas sem a adição de nenhum outro reagente químico.<sup>48</sup> No entanto, a viscosidade e a turbidez dessas soluções são usualmente altas e dependem da

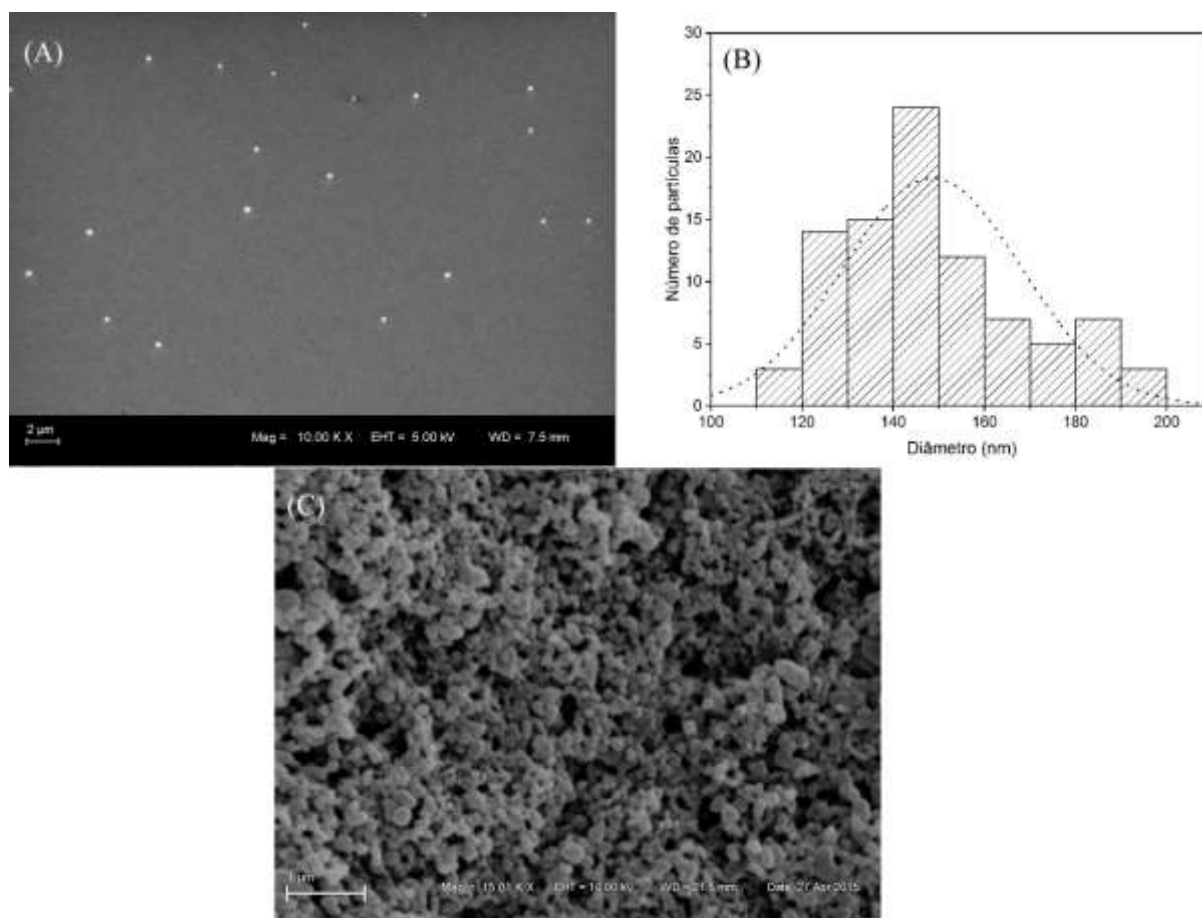
concentração do amido em solução.<sup>49</sup> Durante a solubilização a estrutura granular do amido é destruída, liberando os polímeros amilose e amilopectina que possuem alta massa molecular.

A utilização do ultrassom no auxílio da redução da viscosidade de soluções bem como na redução do tamanho e massa molecular de partículas têm sido bastante explorado.<sup>10, 16, 42</sup> Muito dos efeitos físicos causados pelo ultrassom são atribuídos à cavitação, que consiste no colapso de microbolhas que estouram e se propagam como uma onda sonora através da solução.<sup>50-51</sup> A força de cisalhamento criada devido a esse colapso é capaz de quebrar ligações covalentes em materiais poliméricos, e a exposição prolongada de soluções de macromoléculas a esse tratamento ultrassônico pode produzir uma redução permanente da viscosidade da solução.<sup>52-53</sup>

Após o tratamento ultrassônico, foi observado que a solução polimérica tornou-se límpida. Durante o procedimento de precipitação em não-solvente as gotas da solução tratada no ultrassom se formaram com mais facilidade e uniformidade, devido à diminuição da viscosidade da solução. A técnica de ultrassom objetivou também a redução da  $M_w$  dos polímeros do amido, pois para a formação de microgéis é requerida uma estrutura menor e mais organizada, que pode ser melhor obtida com uma menor  $M_w$ . A determinação da massa molar dos polímeros do amido antes e após o tratamento ultrassônico não foi realizada, porque observou-se uma correspondência dos raios hidrodinâmicos obtidos com a preparação dos polímeros do amido em DMSO/H<sub>2</sub>O após o tratamento ultrassônico apresentada neste capítulo ( $R_h = 108,3$  nm) com o trabalho anterior do grupo ( $R_h = 103,4$  nm),<sup>42</sup> o que permite concluir que houve a redução da  $M_w$  na mesma ordem de grandeza.

A formação das nanopartículas através da nanoprecipitação pode ser explicada pela turbulência interfacial ou agitação espontânea da interface entre duas fases líquidas fora do equilíbrio, envolvendo fluxo, difusão e processos superficiais.<sup>54-55</sup> O não-solvente (etanol) associado com a energia transferida através da regular e elevada velocidade de agitação permitiu a preparação de nanopartículas esféricas pequenas e individuais (quando em suspensão) com distribuição de tamanhos relativamente estreita, como pode ser visto nas imagens de MEV apresentadas na Figura 3.2.





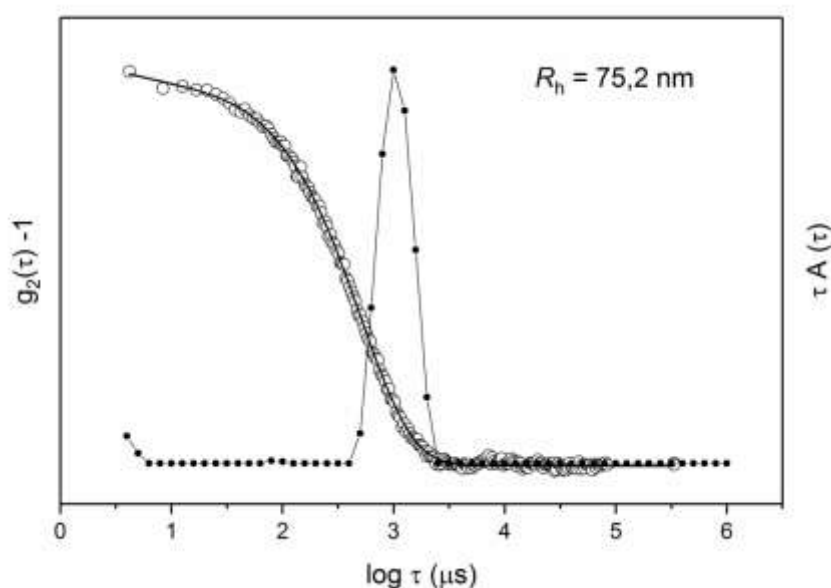
**Figura 3.2.** Imagens de MEV das SNPs. Em (A), imagem das SNPs em suspensão diluída (escala = 2 μm); Em (B), análise de distribuição de tamanho das partículas utilizando ImageJ (total de 90 objetos). Em (C), imagem das SNPs no estado sólido (escala = 1 μm).

As imagens de MEV (Figura 3.2 – A, C) sugerem que após a retirada do não-solvente (etanol) as SNPs permanecem com formato e tamanho semelhante àsquelas em suspensão. A distribuição de tamanhos calculada utilizando o software ImageJ (Figura 3.2 – B) mostra que o diâmetro médio das SNPs é de  $148 \pm 20$  nm.

A razão final da solução polimérica/etanol utilizada para a nanoprecipitação (1:20, v/v) foi de extrema importância para a formação das nanopartículas esféricas apresentadas na Figura 3.2. É relatado na literatura que essa razão possui um significativo impacto na morfologia das SNPs. A razão 1:10, por exemplo, resulta em nanopartículas com formato de fibras, enquanto a razão 1:15 resulta em uma mistura de nanopartículas esféricas e nanopartículas alongadas do tipo fibras.<sup>56</sup>

Quando a concentração da solução polimérica é suficientemente baixa, as cadeias estão em um estado disperso e podem então ser separadas em domínios nanométricos quando adicionadas ao não solvente. Hornig & Heinze<sup>57</sup> relataram que o aumento da polidispersão de nanopartículas aumenta significativamente com o aumento da concentração da solução polimérica. Uma distribuição estreita de tamanhos geralmente é alcançada quando a concentração da solução polimérica utilizada para a nanoprecipitação varia entre 1 e 8 mg.mL<sup>-1</sup>, ocorrendo agregação em concentrações acima de 20 mg.mL<sup>-1</sup>.<sup>4</sup> Neste trabalho, então, a concentração de 20 mg.mL<sup>-1</sup> foi escolhida por não formar agregados em solução e ser uma concentração relativamente alta, aumentando o rendimento e diminuindo o número de preparações e de quantidade de não-solvente.

A Figura 3.3 apresenta os resultados de DLS das SNPs em solução. Por serem partículas isotrópicas, medidas apenas à 90° foram realizadas e consideradas então confiáveis. O experimento resultou em uma distribuição de partículas monodispersas com raio hidrodinâmico médio de 75,2 nm e índice de polidispersão (PD.I) de 0,268.



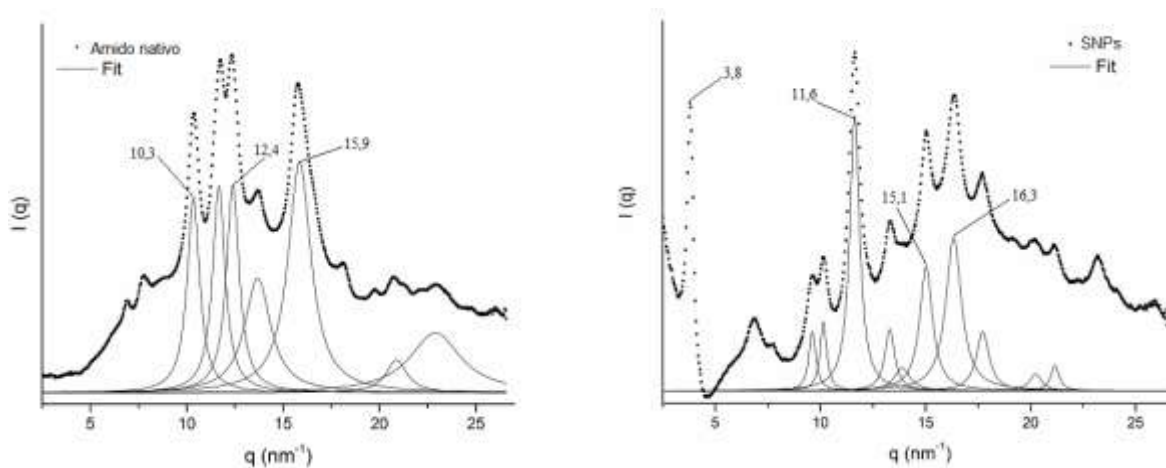
**Figura 3.3.** Função de correlação temporal (círculos pretos abertos), função ajustada (linha preta) e distribuição dos tempos de relaxação (círculos pretos preenchidos) obtidos através do tratamento matemático das funções utilizando o algoritmo REPES para as SNPs em solução (etanol).



### 3.4.2 Estrutura semi-cristalina das SNPs

Os grânulos do amido estão organizados em regiões cristalinas e amorfas, sendo a transição entre elas gradual. A região cristalina é constituída de cadeias laterais da amilopectina, enquanto que os pontos de ramificação e a amilose são os principais componentes das regiões amorfas. Desse modo, a cristalinidade dos polímeros do amido, nativos (grânulos) ou modificados, é descrita principalmente em função das duplas hélices formadas pelas ramificações da amilopectina,<sup>58</sup> exemplificadas na Figura 3.1.

A fim de investigar o efeito de uma eventual recristalização dos polímeros que compõem as nanopartículas, os padrões de WAXS para as amostras de amido nativo e das SNPs foram adquiridos e diferentes perfis foram encontrados (Figura 3.4). A estrutura cristalina do amido granular, como relatado brevemente na introdução, pode ser dividida em 2 tipos: A e B, com adição da estrutura tipo C e V,<sup>59</sup> que depende da origem botânica, do comprimento das cadeias de amilopectina e da densidade de empacotamento dentro da estrutura polimérica.<sup>60</sup>



**Figura 3.4.** Padrões de WAXS para o amido nativo (esquerda) e as SNPs (direita). Uma clara mudança na organização da estrutura cristalina das cadeias poliméricas que compõe o amido após a nanoprecipitação é observada.

O amido nativo apresenta um perfil típico da estrutura cristalina tipo A (Figura 3.4 – esquerda), com picos característicos em  $q$  igual a 10,3, 12,4 e 15,9  $\text{nm}^{-1}$ , usualmente encontrada em espécies de cereais, como o amido de milho utilizado.<sup>39</sup> Entretanto, ao

observarmos o padrão de WAXS adquirido para as SNPs (Figura 3.4 – direta), uma mistura de perfis das estruturas cristalinas do tipo B e V são encontradas, com picos característicos em  $q$  igual a 3,8, 11,6, 15,1 e 16,3 nm<sup>-1</sup>. Essa mudança de padrão cristalino já foi relatada por outros autores,<sup>31, 61-62</sup> e pode ser atribuída ao aumento da mobilidade da porção cristalina nas regiões amorfas, levando à uma reorganização molecular que envolve interações entre as cadeias de amilose-amilose e amilose-amilopectina.<sup>31</sup> O resultado encontrado corresponde com o encontrado na literatura, onde é descrito que baixas temperaturas de recristalização e longas cadeias poliméricas promovem um empacotamento cristalino do tipo B + V.<sup>59</sup> Outra hipótese seria a formação de cristais do tipo V durante a recristalização devido à formação de complexos de inclusão entre a amilose e as moléculas de etanol, como relatado por Rondeau-Mouro<sup>63</sup> e Putaux.<sup>64</sup>

O índice de cristalinidade ( $I_{CR}$  %) das amostras foi calculado e resultou nos valores de 36,5% e 55,3% para o amido nativo e as SNPs, respectivamente. Geralmente o aumento da cristalinidade em grânulos do amido é alcançado através de tratamento ácido ou enzimático, em consequência da hidrólise primária das regiões amorfas que possuem interações intermoleculares mais fracas e baixo grau de organização.<sup>25</sup> Os processos de *annealing* também tendem à formação de estruturas mais organizadas e com maior índice de cristalinidade.<sup>65</sup> No caso de recristalização, sugere-se que a quebra das cadeias dos polímeros do amido na região amorfa permite uma reordenação dos segmentos de cadeia, resultando em uma estrutura mais cristalina.<sup>66</sup> Índices de cristalinidade similares são relatados por outros pesquisadores.<sup>30, 67</sup>

### 3.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A preparação de nanopartículas de amido, apesar de relativamente simples, possui detalhes que, quando atentados, resultam em estruturas bastante interessantes. O protocolo estabelecido para a formação das SNPs foi cuidadosamente elaborado para que as próximas etapas do projeto pudessem ser desenvolvidas. O protocolo de preparação foi repetido diversas vezes e em todas as amostras analisadas o resultado foi de uma distribuição de tamanhos muito semelhante entre si (~75 nm), mantendo o formato esférico e pouco polidisperso.

Apesar de ser baseado em rotas de preparação já descritas na literatura, o protocolo de preparação utilizado levou a resultados ainda não observados por outros autores para este tipo de técnica no que diz respeito à formação de nanopartículas de amido. A existência de um padrão cristalino nas SNPs, ainda que não determinante para as etapas subsequentes do projeto, é muito interessante e pode ser útil para outras áreas de interesse científico. O tipo de arranjo cristalino presente no padrão do tipo V é típico de cristais de amilose que são usualmente estudados e empregados como encapsuladores de fármacos e corantes. A utilização de SNPs com padrão cristalino do tipo B + V, por exemplo, podem levar a um melhor encapsulamento de fármacos do que SNPs com padrão cristalino A, B ou C, somente. Ainda, as SNPs preparadas neste trabalho possuem teor cristalino maior que grânulos de amido nativo, podendo ser úteis em aplicações que exijam uma maior resistência térmica, por exemplo.

### 3.6 REFERÊNCIAS

1. Kim, H. Y.; Park, S. S.; Lim, S. T.; *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*. **2015**, *126*, 607-620.
2. Chin, S. F.; Azman, A.; Pang, S. C.; *J Nanomater*. **2014**.
3. Tan, Y.; Wang, P. X.; Xu, K.; Li, W. B.; An, H. Y.; Li, L. L.; Liu, C.; Dong, L. S.; *Macromol Mater Eng*. **2009**, *294* (12), 855-859.
4. Tan, Y.; Xu, K.; Li, L. L.; Liu, C.; Song, C. L.; Wang, P. X.; *Acs Appl Mater Inter*. **2009**, *1* (4), 956-959.
5. Pei, X.; Zhai, K.; Liang, X.; Deng, Y.; Tan, Y.; Wang, P.; Xu, K.; *Langmuir*. **2017**, *33* (15), 3787-3793.
6. Li, Y. L.; Liu, C.; Tan, Y.; Xu, K.; Lu, C. G.; Wang, P. X.; *Carbohydrate Polymers*. **2014**, *110*, 87-94.
7. Yang, J. S.; Han, S. Y.; Zheng, H. C.; Dong, H. B.; Liu, J. B.; *Carbohydrate Polymers*. **2015**, *123*, 53-66.
8. Fathi, M.; Entezami, A. A.; Arami, S.; Rashidi, M. R.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. **2015**, *64* (10), 541-549.
9. Le Corre, D.; Bras, J.; Dufresne, A.; *Biomacromolecules*. **2010**, *11* (5), 1139-1153.

10. Goncalves, P. M.; Norena, C. P. Z.; da Silveira, N. P.; Brandelli, A.; *Lwt-Food Sci Technol.* **2014**, *58* (1), 21-27.
11. Song, D. L.; Thio, Y. S.; Deng, Y. L.; *Carbohydrate Polymers.* **2011**, *85* (1), 208-214.
12. Gallant, D. J.; Bouchet, B.; Baldwin, P. M.; *Carbohydrate Polymers.* **1997**, *32* (3), 177-191.
13. Tang, H.; Mitsunaga, T.; Kawamura, Y.; *Carbohydrate Polymers.* **2006**, *63* (4), 555-560.
14. Putaux, J.-L.; Molina-Boisseau, S.; Momaur, T.; Dufresne, A.; *Biomacromolecules.* **2003**, *4* (5), 1198-1202.
15. Dufresne, A.; *Canadian Journal of Chemistry.* **2008**, *86* (6), 484-494.
16. Haaj, S. B.; Magnin, A.; Petrier, C.; Boufi, S.; *Carbohydrate Polymers.* **2013**, *92* (2), 1625-1632.
17. Xiao, C. M.; *Starch-Starke.* **2013**, *65* (1-2), 82-88.
18. Ismail, H.; Irani, M.; Ahmad, Z.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials.* **2013**, *62* (7), 411-420.
19. Iida, Y.; Tuziuti, T.; Yasui, K.; Towata, A.; Kozuka, T.; *Innovative Food Science & Emerging Technologies.* **2008**, *9* (2), 140-146.
20. Saari, H.; Fuentes, C.; Sjöö, M.; Rayner, M.; Wahlgren, M.; *Carbohydrate Polymers.* **2017**, *157*, 558-566.
21. Chin, S. F.; Mohd Yazid, S. N. A.; Pang, S. C.; *International Journal of Polymer Science.* **2014**, *2014*, 8.
22. Szymonska, J.; Targosz-Korecka, M.; Krok, F. In *Characterization of starch nanoparticles*, 2nd National Conference on Nanotechnology (NANO 2008), Cracow, POLAND, Jun 25-28; Iop Publishing Ltd: Cracow, POLAND, 2008.
23. Dong, Y.; Chang, Y.; Wang, Q.; Tong, J.; Zhou, J.; *Starch - Stärke.* **2015**, *67* (3-4), 365-372.
24. Liu, D. G.; Wu, Q. L.; Chen, H. H.; Chang, P. R.; *Journal of Colloid and Interface Science.* **2009**, *339* (1), 117-124.
25. Angellier-Coussy, H.; Putaux, J. L.; Molina-Boisseau, S.; Dufresne, A.; Bertoft, E.; Perez, S.; *Carbohydrate Research.* **2009**, *344* (12), 1558-1566.

26. Kim, H. Y.; Park, D. J.; Kim, J. Y.; Lim, S. T.; *Carbohydrate Polymers*. **2013**, *98* (1), 295-301.
27. Hornig, S.; Heinze, T.; Becer, C. R.; Schubert, U. S.; *J Mater Chem*. **2009**, *19* (23), 3838-3840.
28. Bilati, U.; Allémann, E.; Doelker, E.; *Eur J Pharm Sci*. **2005**, *24* (1), 67-75.
29. Lassalle, V.; Ferreira, M. L.; *Macromol Biosci*. **2007**, *7* (6), 767-783.
30. Liu, C.; Qin, Y.; Li, X.; Sun, Q.; Xiong, L.; Liu, Z.; *International Journal of Biological Macromolecules*. **2016**, *84*, 354-360.
31. Kiatpongarp, W.; Tongta, S.; Rolland-Sabaté, A.; Buléon, A.; *Carbohydrate Polymers*. **2015**, *122*, 108-114.
32. Bel Haaj, S.; Thielemans, W.; Magnin, A.; Boufi, S.; *Carbohydr Polym*. **2016**, *143*, 310-7.
33. Imberty, A.; Chanzy, H.; Perez, S.; Buleon, A.; Tran, V.; *Macromolecules*. **1987**, *20* (10), 2634-2636.
34. Imberty, A.; Perez, S.; *Biopolymers*. **1988**, *27* (8), 1205-1221.
35. Bogracheva, T. Y.; Morris, V. J.; Ring, S. G.; Hedley, C. L.; *Biopolymers*. **1998**, *45* (4), 323-332.
36. Putaux, J.-L.; Cardoso, M. B.; Dupeyre, D.; Morin, M.; Nulac, A.; Hu, Y.; *Macromolecular Symposia*. **2008**, *273* (1), 1-8.
37. Cardoso, M. B.; Putaux, J.-L.; Nishiyama, Y.; Helbert, W.; Hÿtch, M.; Silveira, N. P.; Chanzy, H.; *Biomacromolecules*. **2007**, *8* (4), 1319-1326.
38. Cardoso, M. B. From rice starch to amylose crystals: alkaline extraction of rice starch, solution properties of amylose and crystal structure of V-amylose inclusion complexes. Université Joseph Fourier and UFRGS, 2007.
39. Buleon, A.; Gallant, D. J.; Bouchet, B.; Mouille, G.; D'Hulst, C.; Kossmann, J.; Ball, S.; *Plant Physiology*. **1997**, *115* (3), 949-957.
40. Tan, Y.; Xu, K.; Wang, P. X.; Li, W. B.; Sun, S. M.; Dong, L. S.; *Soft Matter*. **2010**, *6* (7), 1467-1471.
41. Li, Y.; Tan, Y.; Xu, K.; Lu, C.; Liang, X.; Wang, P.; *Rsc Advances*. **2015**, *5* (38), 30303-30309.

42. Peres, G. L.; Leite, D. C.; da Silveira, N. P.; *Starch-Starke*. **2015**, 67 (5-6), 407-414.
43. Jakeš, J.; *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **1995**, 60 (11), 17.
44. Koppel, D. E.; *The Journal of Chemical Physics*. **1972**, 57 (11), 4814-4820.
45. Schneider, C. A.; Rasband, W. S.; Eliceiri, K. W.; *Nat Methods*. **2012**, 9 (7), 671-5.
46. Zhang, F.; Ilavsky, J.; Long, G. G.; Quintana, J. P. G.; Allen, A. J.; Jemian, P. R.; *Metall. Mater. Trans. A-Phys. Metall. Mater. Sci.* **2010**, 41A (5), 1151-1158.
47. Hulleman, S. H. D.; Kalisvaart, M. G.; Janssen, F. H. P.; Feil, H.; Vliegenthart, J. F. G.; *Carbohydrate Polymers*. **1999**, 39 (4), 351-360.
48. Kapoor, B.; Bhattacharya, M.; *Carbohydrate Polymers*. **2000**, 42 (4), 323-335.
49. Chamberlain, E. K.; Rao, M. A.; *Carbohydrate Polymers*. **1999**, 40 (4), 251-260.
50. Price, G. J.; Smith, P. F.; *European Polymer Journal*. **1993**, 29 (2-3), 419-424.
51. Langton, N. H.; *Journal of Sound and Vibration*. **1969**, 10 (1), 22-&.
52. Zhang, L. F.; Ye, X. Q.; Ding, T.; Sun, X. Y.; Xu, Y. T.; Liu, D. H.; *Ultrasonics Sonochemistry*. **2013**, 20 (1), 222-231.
53. Farzi, M.; Saffari, M. M.; Emam-Djomeh, Z.; Mohammadifar, M. A.; *International Journal of Food Science and Technology*. **2011**, 46 (4), 849-854.
54. Fessi, H.; Puisieux, F.; Devissaguet, J. P.; Ammoury, N.; Benita, S.; *International Journal of Pharmaceutics*. **1989**, 55 (1), R1-R4.
55. Sugimoto, T.; *Adv Colloid Interfac.* **1987**, 28, 65-108.
56. Chin, S. F.; Pang, S. C.; Tay, S. H.; *Carbohydrate Polymers*. **2011**, 86 (4), 1817-1819.
57. Hornig, S.; Heinze, T.; *Biomacromolecules*. **2008**, 9 (5), 1487-92.
58. Rocha, T. S.; Demiate, I. M.; Franco, C. M. L.; *Food Science and Technology (Campinas)*. **2008**, 28, 620-628.
59. Cheetham, N. W. H.; Tao, L.; *Carbohydrate Polymers*. **1998**, 36 (4), 277-284.
60. Sajilata, M. G.; Singhal, R. S.; Kulkarni, P. R.; *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. **2006**, 5 (1), 1-17.
61. Sun, Q.; Li, G.; Dai, L.; Ji, N.; Xiong, L.; *Food Chemistry*. **2014**, 162, 223-228.
62. Dries, D. M.; Gomand, S. V.; Delcour, J. A.; Goderis, B.; *Food Hydrocolloids*. **2016**, 61, 649-661.

63. Rondeau-Mouro, C.; Le Bail, P.; Buleon, A.; *International Journal of Biological Macromolecules*. **2004**, *34* (5), 309-315.
64. Putaux, J. L.; Nishiyama, Y.; Mazeau, K.; Morin, M.; Cardoso, M. B.; Chanzy, H., Helical Conformation in Crystalline Inclusion Complexes of V-Amylose: A Historical Perspective. In *Polymer-Solvent Complexes and Intercalates - Polysolvat 8*, Guenet, J. M., Ed. Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, 2011; Vol. 303.
65. Tester, R. F.; Debon, S. J. J.; *International Journal of Biological Macromolecules*. **2000**, *27* (1), 1-12.
66. Shujun, W.; Jinglin, Y.; Jiugao, Y.; Haixia, C.; Jiping, P.; *Food Hydrocolloids*. **2007**, *21* (7), 1217-1222.
67. Teng, A.; Witt, T.; Wang, K.; Li, M.; Hasjim, J.; *Carbohydrate Polymers*. **2016**, *139*, 10-19.

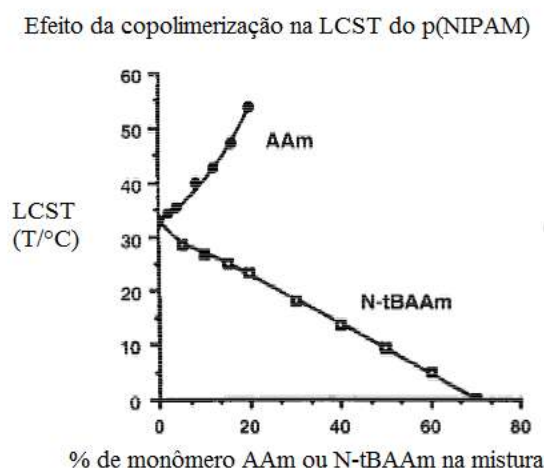
**CAPÍTULO 4**  
**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE**  
**MICROGÉIS HÍBRIDOS**  
**SNP-*co*-p(NIPAM)**



## 4.1 INTRODUÇÃO

A adição de comonômeros têm sido o fator de influência nas propriedades de microgéis mais encontrado na literatura nos últimos anos.<sup>1-2</sup> Dependendo da natureza química do comonômero, é possível modular a VPTT dos microgéis para valores maiores ou menores, bem como alterar o tamanho da partícula.<sup>3</sup> A rota sintética usada geralmente é a polimerização em emulsão na presença ou ausência de surfactante, e os copolímeros sintetizados dessa forma podem exibir uma distribuição estatística maior ou menor dos diferentes monômeros no microgel dependendo da cinética de copolimerização de cada componente.

Hoffman et al.<sup>4</sup> polimerizaram NIPAM com um comonômero hidrofílico (acrilamida, AAm) e com um comonômero hidrofóbico (N-terc-butilacrilamida, N-tBAAm). De acordo com os autores (Figura 4.1), a adição de comonômeros hidrofílicos desloca a VPTT de microgéis para valores maiores, enquanto a adição de comonômeros hidrofóbicos desloca a VPTT para valores menores. As interações polímero-polímero, polímero-solvente e copolímero-solvente são as responsáveis por esses deslocamentos da VPTT, que são maiores ou menores dependendo da quantidade de comonômero adicionada e da polaridade do mesmo.



**Figura 4.1.** Efeito da copolimerização na LCST do p(NIPAM) com a adição de um comonômero hidrofílico (AAm) ou hidrofóbico (N-tBAAm) (adaptado de Hoffman et al.).<sup>4</sup>

Utilizando um derivado substituído de acrilamida, Ma & Xing<sup>5</sup> sintetizaram um microgel contendo NIPAM e metacrilato de trietilenoglicol (TREGMA). Devido ao caráter hidrofílico do comonômero, a VPTT do microgel foi deslocada para valores muito próximos da temperatura normal do corpo humano, além de adquirir uma razão de intumescimento ( $\alpha$ ) muito maior que aquela encontrada para microgéis de p(NIPAM) puros.

Um dos comonômeros mais utilizados na preparação de microgéis nos últimos anos é o ácido acrílico (AA), introduzido como comonômero em microgéis de p(NIPAM) pela primeira vez nos anos 90 por Snowden et al.<sup>6</sup> O interesse nesse comonômero é principalmente devido ao seu caráter aniônico que consequentemente atribui responsividade ao pH aos microgéis de p(NIPAM). Com a adição de comonômeros de caráter iônico, as interações eletrostáticas no interior do gel são acentuadas e o comportamento durante o intumescimento é alterado de diferentes maneiras. Primeiramente, observa-se um deslocamento na VPTT para temperaturas maiores. Ainda, esses copolímeros apresentam responsividade acentuada à mudanças no pH e também na força iônica, visto que esses parâmetros são influenciados pela densidade das cargas da rede polimérica. Hoare & Pelton descrevem com clareza a dependência do pH de copolímeros de p(NIPAM) contendo grupos –COOH.<sup>7</sup>

Devido às interações hidrofílicas, a VPTT do copolímero p(NIPAM-co-AA) é deslocada para valores maiores e, dependendo da concentração de AA, duas temperaturas de transições de fase são observadas,<sup>8</sup> geralmente devido à formação de arquiteturas do tipo caroço-casca (o caroço e a casca transitam de fase em temperaturas diferentes). Khan,<sup>9</sup> visando responsabilidades bem definidas, sintetizou microgéis do tipo caroço-casca no qual o caroço é termo-responsivo (p(NIPAM)) e a casca pH-responsiva (p(AA)). Ácido metacrílico (MAA) também tem sido utilizado como comonômero, muitas vezes em substituição ao ácido acrílico,<sup>10-11</sup> bem como ácido vinilacético (VA).<sup>12</sup>

Atualmente, outras formas de sistemas baseados na preparação usual de microgéis têm sido desenvolvidos, como microgéis híbridos,<sup>13-15</sup> microgéis do tipo caroço-casca (*core-shell*)<sup>16-18</sup> e esferas ocas.<sup>19-20</sup> A arquitetura de microgéis copoliméricos é um dos fatores de maior influência nas propriedades do microgel. Microgéis híbridos, sistema de interesse nesse capítulo, são microgéis que possuem parte orgânica e parte inorgânica em sua composição ou aqueles compostos de partes orgânicas que diferem em sua origem, como macromoléculas de origem natural e sintética.<sup>1</sup>

Usualmente, nanopartículas inorgânicas são escolhidas como componente não polimérico para o *design* de novos microgéis híbridos, agregando propriedades ópticas, magnéticas ou catalíticas aos materiais.<sup>21</sup> A síntese de microgéis híbridos baseados em poliacrilamidas substituídas e componentes de caráter biológico, no entanto, é de interesse crescente.<sup>1, 22</sup> Nos sistemas contendo moléculas de origem natural, as propriedades mais exploradas são deslocamentos da VPTT e compatibilidade com sistemas de interesse biomédico.<sup>23-27</sup>

Biomacromoléculas, tais como a quitosana<sup>28-29</sup> e ciclodextrinas<sup>23</sup> já foram utilizadas em microgéis com o objetivo de atribuir biocompatibilidade em sistemas biológicos. No entanto, com respeito aos microgéis de p(NIPAM) em combinação com polissacarídeos de origem amilácea, há poucos relatos na literatura.<sup>30</sup> Pode-se citar, por exemplo, o trabalho desenvolvido por Chen et al.,<sup>31</sup> que sintetizaram um caroço de p(NIPAM) coberto com uma casca de carboximetil quitosana (CMCS) através de polimerização em emulsão para obter partículas termo-responsivas com caráter biocompatível. Experimentos de DLS revelaram que a VPTT dessas partículas foram deslocadas para valores maiores (~36 °C). Outro comonômero interessante para copolimerizar com NIPAM é a glicose. Lapeyre et al.<sup>32-33</sup> prepararam microgéis caroço-casca contendo glicose na casca através da complexação com um agente adequado.

Até o momento, microgéis formados por p(NIPAM) e polímeros do amido não foram descritos na literatura. Combinando as propriedades responsivas de monômeros sintéticos com as propriedades biocompatíveis de biomacromoléculas, redes poliméricas altamente específicas são esperadas como resultado em microgéis híbridos.<sup>23, 34</sup>

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.2.1 Materiais

Nanopartículas de amido (SNPs) foram preparadas conforme descrito no capítulo 3. N-isopropilacrilamida (NIPAM, recristalizada em hexano), N,N'-metilenobisacrilamida (MBA, agente de reticulação), persulfato de amônio (APS, iniciador) e dodecil sulfato de sódio (SDS, surfactante) foram obtidos da Sigma-Aldrich.

#### 4.2.2 Síntese dos microgéis SNP-co-p(NIPAM)

Uma certa quantidade de SNPs e NIPAM foi adicionada em um balão de 3 bocas de 100 mL contendo água Milli-Q sob atmosfera de nitrogênio (N<sub>2</sub>), à 80 °C, até completa dissolução do NIPAM e dispersão das SNPs. Após equilíbrio térmico, o surfactante (SDS) e o agente de reticulação (MBA) foram adicionados, e N<sub>2</sub> foi borbulhado na solução por pelo menos 30 minutos antes da polimerização e, então, o iniciador (APS) foi adicionado. A mistura tornou-se turva (seguida de um aspecto leitoso) e a reação prosseguiu por 4 h à 80 °C. O tempo de reação e a temperatura utilizada durante a polimerização não foram otimizados, visto que são parâmetros já estudados e conhecidos no grupo. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e continuou sob agitação por cerca de 15 h (*overnight*) (a velocidade de agitação foi de 400 rpm, constante durante toda a reação). Após isso, o microgel foi ultracentrifugado (25.000 rpm, 45 min) e re-disperso em água Milli-Q por 5 vezes consecutivas para a retirada de reagentes residuais e do surfactante (quando presente). As quantidades correspondentes dos componentes da síntese estão listados na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1.** Concentração dos reagentes utilizados na síntese dos microgéis

Identificação da síntese/amostra	Razão NIPAM:SNP (m/m)	NIPAM (mol.L <sup>-1</sup> )	MBA (mol.L <sup>-1</sup> )	SDS (mol.L <sup>-1</sup> )	APS (mol.L <sup>-1</sup> )
NIPAM(1):SNP(0,5)SDS	1:0,5	0,053	0,0041	0,0011	0,0027
NIPAM(1):SNP(0,5)	1:0,5	0,053	0,0041	----	0,0027
NIPAM(1):SNP(1)SDS	1:1	0,053	0,0041	0,0011	0,0027
NIPAM(1):SNP(1)	1:1	0,053	0,0041	----	0,0027
NIPAM(1):SNP(2)SDS	1:2	0,053	0,0041	0,0011	0,0027
NIPAM(1):SNP(2)	1:2	0,053	0,0041	----	0,0027

## 4.3 CARACTERIZAÇÃO

### 4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN $^1\text{H}$ )

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  foram obtidos em DMSO- $d_6$  e  $\text{D}_2\text{O}$  (razão 9:1) para as SNPs e em  $\text{D}_2\text{O}$  para os microgéis (previamente liofilizados e então re-dispersos em  $\text{D}_2\text{O}$ ), em um espectrômetro Bruker Advance de 500 MHz. Cerca de 20 mg de amostra foi utilizado para cada análise.

### 4.3.2 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

As curvas de intumescimento/colapso dos microgéis foram medidas a um ângulo de espalhamento fixo de  $\theta = 60^\circ$  em um equipamento LASER (Toptica Photonics AG), com comprimento de onda de  $\lambda = 661,8$  nm e um correlator rápido (ALV-6010, ALV-GmbH) equipado com banho termostático (Haake Phoenix II, Thermo Scientific). Os experimentos foram realizados entre  $10^\circ\text{C}$  e  $50^\circ\text{C}$ , em intervalos de 1 ou  $2^\circ\text{C}$ , com 5 medidas individuais em cada temperatura. O tratamento dos dados foi realizado através de transformadas inversas de Laplace, conhecido como algoritmo CONTIN,<sup>35</sup> e também pelo método dos cumulantes<sup>36</sup> em ambiente Linux desenvolvido pelo grupo.

#### 4.3.2.1 Descrição do comportamento de intumescimento/colapso através da teoria Flory-Rehner<sup>37</sup>

Para caracterizar a transição de volume de fase (intumescimento e colapso) de microgéis esféricos, a razão de intumescimento ou de colapso ( $\alpha$ ) é amplamente utilizada.<sup>22, 38-</sup>  
<sup>39</sup> Essa razão,  $\alpha$ , descrita brevemente no Capítulo 2 (equação 2.5), também pode ser escrita em função da fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ), para um intumescimento/colapso isotrópico, e relacionado com o raio hidrodinâmico da partícula (determinado experimentalmente) através da equação 4.1:

$$\alpha = \frac{\varphi}{\varphi_0} = \left( \frac{R_{h,0}}{R_h} \right)^3 \quad (4.1)$$

onde  $\varphi_0$  é a fração volumétrica do polímero no estado colapsado de referência.

Uma descrição detalhada do comportamento de intumescimento/colapso de géis é fornecida pela teoria de Flory-Rehner (FRT),<sup>40-41</sup> uma extensão da teoria descrita por Flory-Huggins para soluções poliméricas.<sup>42-43</sup> Na abordagem FRT, assume-se que o equilíbrio termodinâmico de um gel é alcançado quando não há ocorrência de transferência líquida de solvente em toda interface gel-solvente (igualdade do potencial químico do solvente dentro e fora do gel). Quando o equilíbrio é atingido, a pressão osmótica do gel é zero.

A equação de Flory-Rehner é descrita por:

$$\ln(1-\varphi) + \varphi + \chi\varphi^2 + \frac{\varphi_0}{N_{GEL}} \left[ \left( \frac{\varphi}{\varphi_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \frac{1}{2} \frac{\varphi}{\varphi_0} \right] = 0 \quad (4.2)$$

onde  $\chi$  é o parâmetro de interação polímero-solvente que é dependente da temperatura e  $N_{GEL}$  é o grau de polimerização médio da cadeia polimérica entre dois pontos de reticulação. Assim, utilizando dados experimentais de DLS (que provê o  $R_h$ ) é possível ajustar teoricamente as curvas experimentais de intumescimento/colapso à Equação 4.2.

Empiricamente, sabe-se que  $\chi$  pode ser modelado por diferentes funções, como  $\chi = A + B/T$  ou  $\chi = A + B/T + C/T^2$ , onde A, B e C são os coeficientes viriais.<sup>44</sup> Entretanto, funções como estas não se aplicam para descrever adequadamente o comportamento de intumescimento/colapso dos microgéis híbridos SNP-co-p(NIPAM). Alternativamente, e em concordância com a literatura,<sup>45</sup>  $\chi$  pode ser descrito por uma série de potências da fração volumétrica, visto que para alguns sistemas polímero-solvente foi experimentalmente encontrado que  $\chi$  depende da concentração do polímero de maneira não linear.<sup>46</sup> Desta forma,  $\chi$  foi modelado por uma expansão em série até a terceira potência (equação 4.3):

$$\chi(T, \varphi) = \frac{1}{2} - A \left( 1 - \frac{\theta}{T} \right) + \chi_2 \varphi + \chi_3 \varphi^2 + \chi_4 \varphi^3 \quad (4.3)$$

onde  $A$  é o segundo coeficiente virial (que descreve a contribuição entrópica no sistema),  $\theta$  é a temperatura theta,  $T$  é a temperatura termodinâmica e  $\chi_{2,3,4}$  são os coeficientes viriais da expansão em série.

A dependência da temperatura para o parâmetro de interação  $\chi$  também foi modelado utilizando o modelo de Hill para uma agregação termotrópica cooperativa,<sup>47</sup> de acordo com a Equação 4.4:

$$\chi(T) = \chi_0 + a(T - T_0) + b \frac{\left( \frac{T - T_0}{T_{\text{ref}} - T_0} \right)^v}{\left( \frac{T - T_0}{T_{\text{ref}} - T_0} \right)^v + K} \quad (4.4)$$

onde  $\chi_0$  é o parâmetro de interação quando  $T = T_0$ ,  $T_0$  é a primeira temperatura utilizada para análise experimental do comportamento de intumescimento/colapso dos microgéis através do DLS (11,2 °C),  $T_{\text{ref}}$  é a temperatura de referência,  $a$  é a inclinação da linha de base,  $b$  é a amplitude adimensional da transição de Hill,  $K$  é a constante de semi-saturação e  $v$  é o coeficiente de Hill, isto é, o coeficiente estequiométrico da reação  $\alpha(\text{H}_2\text{O})_v \rightleftharpoons \beta + v\text{H}_2\text{O}$ . O símbolo  $\alpha(\text{H}_2\text{O})_v$  denota o estado hidratado do polímero (hidratação do tipo II) abaixo da temperatura de transição de fase, e  $\beta$  corresponde ao estado colapsado após a transição de fase, no qual  $v$  moléculas de água cooperativamente deixam a camada de solvatação.

Na transição termotrópica, o aumento da temperatura causa um aumento nos graus de liberdade das moléculas de água. Devido à entropia,  $v$  moléculas de água da camada de solvatação ao redor das cadeias poliméricas tornam-se cooperativamente livres em solução. Na ausência da camada de solvatação, o volume do microgel diminui (colapso). Diferente da Equação 4.3, o modelo de Hill não contém a variável  $\phi$  e depende somente de  $T$ .

O ajuste das curvas foram realizados com o software Mathcard Prime 3.0 utilizando a função de otimização "minerr".

### 4.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As imagens foram obtidas utilizando um equipamento EVO (MA10, Zeiss). 2  $\mu\text{L}$  de suspensões diluídas dos microgéis foram gentilmente colocadas em lamínulas, secas e metalizadas com uma fina camada de ouro antes da análise. A distribuição quantitativa de tamanho foi obtida através do tratamento das imagens utilizando o software ImageJ.<sup>48</sup>

### 4.3.4 Potencial Zeta (ZP)

As análises de potencial zeta foram realizadas em um equipamento Zetasizer Nano (Malvern) em  $\lambda = 632,8$  nm, usando um laser He-He. Amostras de microgéis diluídas em meio aquoso foram medidas à 20 °C e 45 °C (abaixo e acima da VPTT). A mobilidade eletroforética de cada amostra foi medida 3 vezes e, no mínimo, 10 corridas foram realizadas em cada medida. Os valores de potencial zeta foram calculados através da mobilidade eletroforética de acordo com a equação de Henry (equação 4.5), utilizando a aproximação de Smoluchowski.<sup>49</sup>

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (4.5)$$

onde  $U_E$  é a mobilidade eletroforética,  $\varepsilon$  é a constante dielétrica,  $\zeta$  é o potencial zeta e  $\eta$  é a viscosidade. A função  $f(ka)$  é conhecida como a função de Henry, onde  $k$  é o recíproco do comprimento e refere-se à espessura da dupla camada elétrica e  $a$  é o raio da partícula. Usualmente, o valor de  $f(ka)$  é de 1,5 para partículas em meio aquoso e maiores de 0,2  $\mu\text{m}$ , sendo esta a aproximação de Smoluchowski utilizada no cálculo de  $\zeta$ .

### 4.3.5 Espalhamento de Raios-X a Baixos Ângulos (SAXS)

As análises de SAXS dos microgéis em solução foram realizadas na linha D01B/SAXS1 no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). A distância amostra-detector utilizada foi de 3000 mm, abrangendo um vetor de espalhamento  $q$  entre 0,04 e 1,5



$\text{nm}^{-1}$ . Os experimentos foram realizados abaixo ( $20\text{ }^\circ\text{C}$ ) e acima ( $45\text{ }^\circ\text{C}$ ) da VPTT, controlados através de um banho termostático. O branco foi analisado com água e subtraído das intensidades das amostras. Água também foi utilizada para a normalização absoluta da intensidade.

Os dados foram ajustados para um fator forma de caroço-casca (equações 4.6 – 4.8) e para um fator estrutura de esfera rígida (equação simplificada 4.9) através do método de inclusão de aproximação monodispersa local utilizando o software SASfit (PSI, Suíça). A distribuição de tamanhos foi ajustada aplicando o modelo de Schultz-Zimm (equação 4.10) através do mesmo software.<sup>50</sup>

$$I(q, R_1, R_2, \Delta\eta, \mu) = [K(q, R_1, \Delta\eta) - K(q, R_2, \Delta\eta(1 - \mu))]^2 \quad (4.6)$$

onde  $q$  é o vetor de espalhamento,  $R_1$  é o raio da casca,  $R_2$  é o raio do caroço,  $\Delta\eta$  é o contraste relativo à matriz da casca e  $\mu\Delta\eta$  é o contraste relativo à matriz do caroço.

$$K(q, R, \Delta\eta) = \frac{4}{3} \pi R^3 \Delta\eta \frac{\sin qR - qR \cos qR}{(qR)^3} \quad (4.7)$$

onde  $R$  é o raio da esfera.

$$\lim_{q \rightarrow 0} I(q, R_1, R_2, \Delta\eta, \mu) = \left( \frac{4}{3} \pi \Delta\eta [R_1^3 - R_2^3(1 - \mu)] \right)^2 \quad (4.8)$$

$$S_{HS}(q, R_{HS}, f_p) = \frac{1}{1 + 24 f_p \frac{G(f_p, R_{HS}, q)}{R_{HS} q}} \quad (4.9)$$

onde  $R_{HS}$  é o raio de repulsão entre as partículas e  $f_p$  é a fração volumétrica.

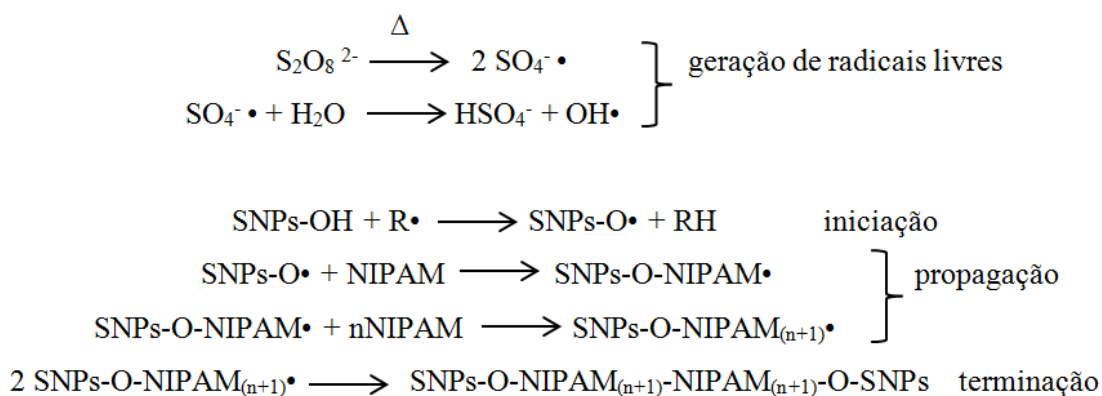
$$SZ(R, N, R_a, k) = \frac{N}{R_a} \left( \frac{R}{R_a} \right)^{k-1} \frac{k^k \exp\left(-kR/R_a\right)}{\Gamma(k)} \quad (4.10)$$

onde  $R$  é raio da esfera e  $N$  é a densidade numérica de partículas.  $R_a$  define o máximo da distribuição de tamanhos para altos valores de  $k$ . O parâmetro  $k$  da distribuição de tamanhos está relacionado com a variância ( $\sigma$ ) através de  $k = 1/\sigma^2$ .

#### 4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao dispersar as SNPs em água para a síntese dos microgéis, observou-se que não ocorreu a dissolução das mesmas e as partículas apresentaram um comportamento coloidal. A elevada fração de amilopectina na nanopartícula polimérica permitiu apenas um inchamento em água e um aumento da mobilidade das cadeias de amilose e amilopectina em solução. Por esse motivo, toda a discussão do efeito dos polímeros do amido nos microgéis será feita mantendo a nomenclatura SNP.

Os microgéis SNP-co-p(NIPAM) foram preparados via SFEP, na presença de APS como iniciador e MBA como agente de reticulação. Também foram preparados microgéis nas mesmas condições e com a presença de surfactante, caracterizando uma polimerização por emulsão (EP). Nesse estudo, uma copolimerização não convencional foi realizada com o polissacarídeo, ou seja, na ausência de ligações duplas nas SNPs o iniciador abstrai radicais hidrogênio do grupo hidroxila dos polissacarídeos,<sup>51</sup> formando radicais nas cadeias poliméricas do mesmo (Figura 4.2).



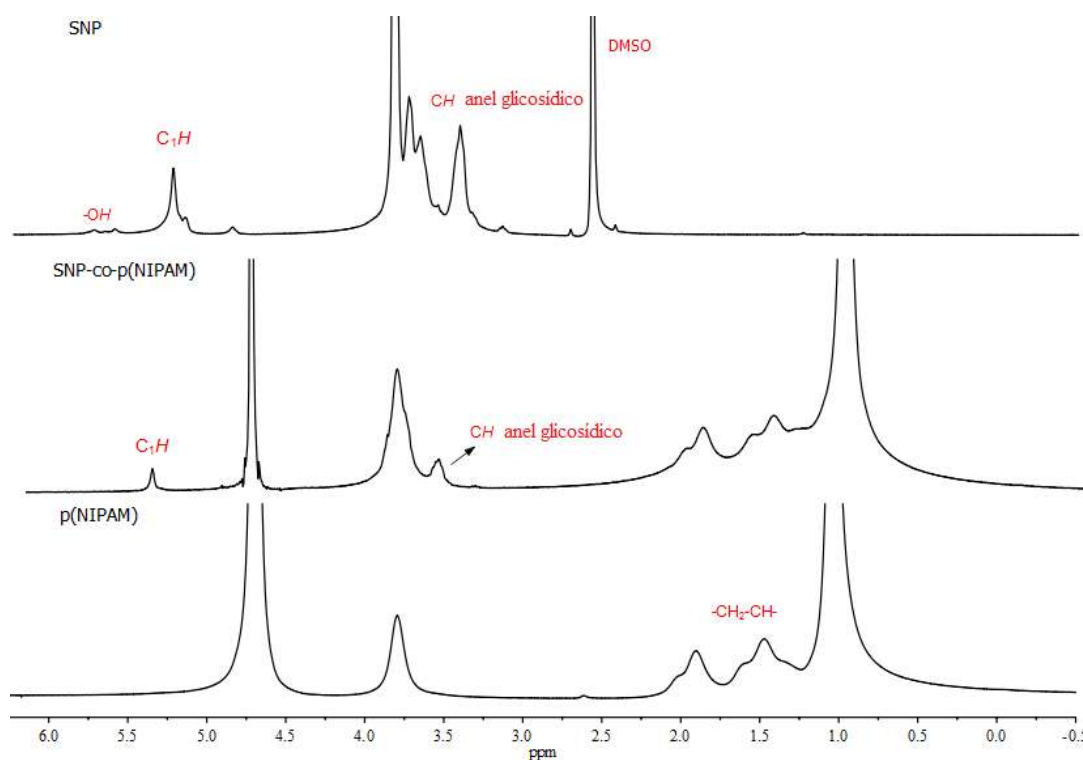
**Figura 4.2.** Mecanismo proposto para a copolimerização dos polímeros do amido com NIPAM em meio aquoso através de um iniciador persulfato, onde R é o radical livre (OH• ou SO<sub>4</sub><sup>-</sup>•). O agente de reticulação, o surfactante e as reações radicalares que formam os homopolímeros correspondentes foram omitidos para melhor visualização.

O iniciador utilizado durante a síntese (APS) é decomposto termicamente, gerando dois radicais sulfato pela dissociação do íon persulfato. Ainda, uma parcela de radicais hidroxila pode ser gerado pela reação entre os radicais sulfato e a água. Na presença de monômeros vinílicos e polímeros do amido, o radical irá reagir tanto com o monômero vinílico bem como com os grupos hidroxila presentes na amilose e na amilopectina, resultando na ocorrência simultânea do copolímero SNP-co-p(NIPAM), da homopolimerização do p(NIPAM) e na eventual homopolimerização dos polímeros presentes na SNP. Ainda, o agente de reticulação participa da reação, reticulando todos os polímeros presentes.

Acredita-se que monômeros vinílicos com caráter polar aproximem-se com maior facilidade da superfície reativa contida nos polímeros do amido.<sup>51</sup> Apesar da cinética de polimerização não ter sido estudada nesta tese, sabe-se que as diferentes reatividades dos componentes influenciam a arquitetura e a disposição dos mesmos na estrutura do microgel. Uma discussão detalhada da organização estrutural dos componentes no microgel será realizada no item 4.4.4.

#### 4.4.1 Caracterização dos microgéis via RMN $^1\text{H}$

A presença do p(NIPAM) e das SNPs na matriz do microgel foram verificadas através de análise por RMN  $^1\text{H}$ . A Figura 4.3 mostra os espectros de RMN  $^1\text{H}$  para as SNPs, SNP-co-p(NIPAM) e p(NIPAM) puro. O espectro de RMN  $^1\text{H}$  do p(NIPAM) puro foi obtido de uma amostra de um colaborador.\*



**Figura 4.3.** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  das nanopartículas de amido (SNPs), do microgel sintetizado SNP-co-p(NIPAM) e do p(NIPAM) puro.

O deslocamento químico entre  $\delta = 5,1$  e  $5,3$  ppm pode ser atribuído ao hidrogênio conectado ao carbono anomérico da unidade de glicose dos polímeros do amido ( $C_1H$ ) enquanto o deslocamento químico entre  $\delta = 3,3$  e  $3,6$  ppm está relacionado aos hidrogênios ligados aos carbonos do anel glicosídico. Ambos os sinais característicos podem ser encontrados nos espectros das SNPs e no microgel SNP-co-p(NIPAM). Os sinais em  $\delta = 3,8$  ppm e  $\delta = 1,0$  ppm atribuem-se ao grupo isopropil do p(NIPAM), bem como os sinais na faixa de  $\delta = 1,3$  à  $2,1$  ppm, relacionado à repetição  $-\text{CH}_2-\text{CH}-$  da cadeia polimérica. O espectro do

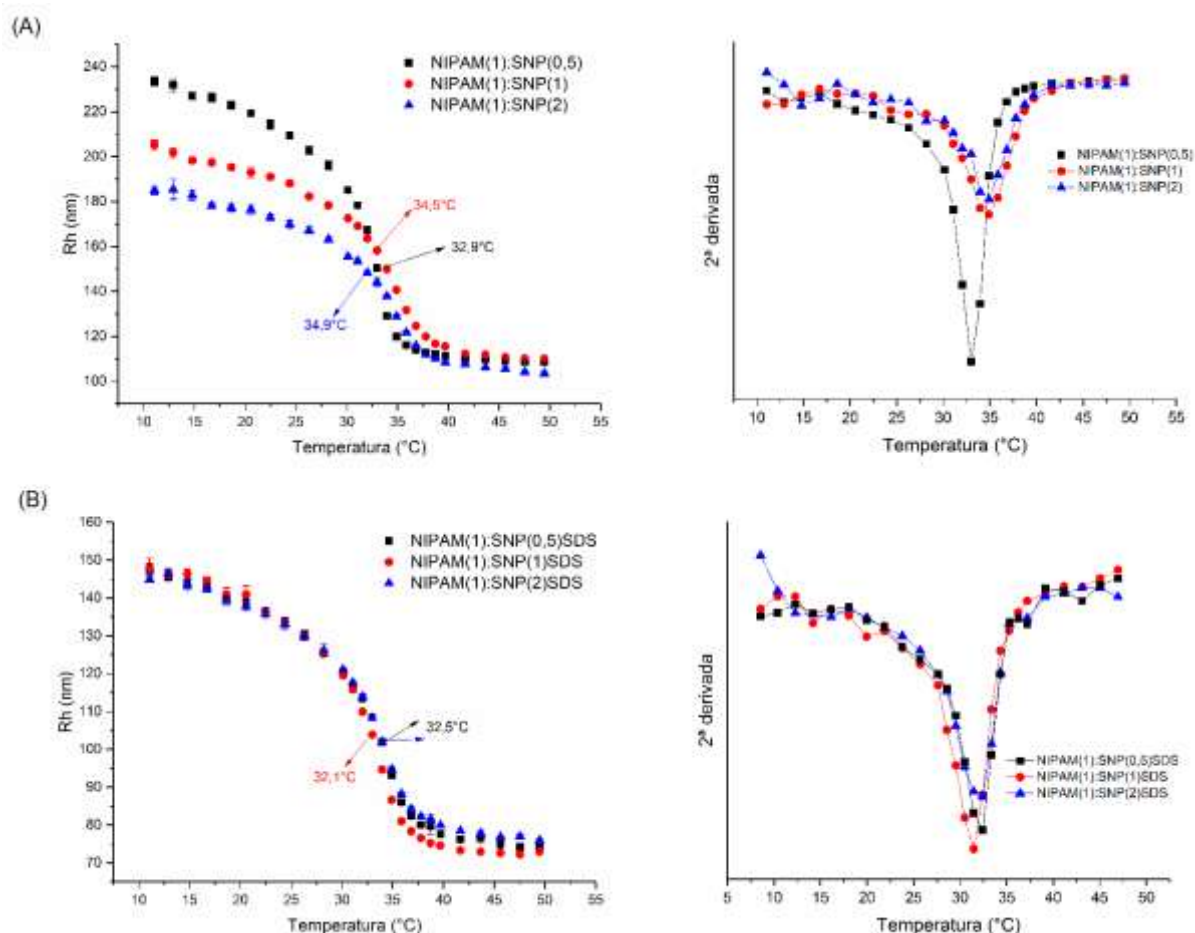
\* Amostra fornecida por Yvonne Hertle (PCIII - Universität Bielefeld).

microgel híbrido SNP-co-p(NIPAM) visualizado na Figura 4.3 tem origem na síntese NIPAM(1):SNP(1)SDS (Tabela 4.1).

#### 4.4.2 Efeito das SNPs no tamanho e transição de fase dos microgéis híbridos

A formação do microgel ocorre por nucleação homogênea, resultando em partículas com estreita distribuição de tamanho. O uso de temperaturas de polimerização bem acima da LCST permite a formação de partículas coloidais que são eletrostaticamente estabilizadas pelos grupos sulfato do iniciador. O surfactante é capaz de manter essas partículas estáveis, evitando a agregação. Na polimerização livre de surfactante, a estabilidade coloidal aumenta de acordo com o crescimento das partículas. As cadeias poliméricas carregadas formadas durante a polimerização agem como moléculas de surfactante e estabilizam as partículas em crescimento.<sup>52</sup>

O efeito das SNPs no tamanho e na VPTT dos microgéis híbridos sintetizados foi realizado através de medidas de DLS (Figura 4.4). A temperatura de transição de fase dos microgéis foi determinada através do ponto de inflexão das curvas (2º derivada, Figura 4.4). De acordo com a Figura 4.4 – A, dois comportamentos distintos podem ser observados nos microgéis sintetizados via SFEP. Primeiramente, dependendo da razão NIPAM:SNP, uma maior quantidade de SNPs leva os microgéis a temperaturas de transição de fase maiores. Além disso, a quantidade de SNPs também influencia o tamanho dos microgéis abaixo da VPTT.



**Figura 4.4.**  $R_h$  (determinado através de DLS) vs. temperatura (aquecimento) para os microgéis sintetizados via SFEP (A) e EP (B). As curvas foram plotadas separadamente (SFEP e EP) para melhor visualização das diferenças em diferentes escalas de  $R_h$ . À direita de cada gráfico  $R_h$  vs. T, os respectivos pontos de inflexão de cada curva.

Como sugerido por Zhang e Zhuo,<sup>53</sup> as SNPs interagem com as regiões hidrofílicas do NIPAM, e essa interação conduz a temperaturas de transição de fase maiores. Como pode ser visto na Figura 4.4 – A, as amostras NIPAM(1):SNP(1) e NIPAM(1):SNP(2) apresentaram maior VPTT (34,5 e 34,9 °C, respectivamente) que a amostra NIPAM(1):SNP(0,5) (32,9 °C), esta última com menor quantidade de SNPs na preparação do microgel. O maior efeito das SNPs é esse leve deslocamento da VPTT para valores maiores, tendo como origem a hidrofiliabilidade dos polímeros do amido. O oposto é encontrado para comonômeros hidrofóbicos.<sup>38</sup> Devido a uma maior interação hidrofílica polímero-polímero e também ligações de hidrogênio polímero-água, mais energia é requerida na liberação dessas moléculas de água confinadas no microgel.

A interação hidrofílica entre o p(NIPAM) e as SNPs também é responsável por diferenças no tamanho do microgel: quando a quantidade de SNP é aumentada, os microgéis tornam-se menores (abaixo da VPTT). Sabe-se que uma boa interação polímero-solvente causa relaxação das cadeias, levando a maiores raios hidrodinâmicos. Entretanto, acredita-se que as ligações de hidrogênio formadas entre as SNPs e o NIPAM nos microgéis sintetizados são fortes o suficiente para superar as interações polímero-água, resultando em microgéis menores. Acima da VPTT, os microgéis tem basicamente o mesmo tamanho.

Um comportamento diferente é observado quando a síntese dos microgéis foi realizada na presença de surfactante (Figura 4.4 – B): a adição de SDS induz certa retenção na rede polimérica, suprimindo o efeito dos polímeros do amido nos microgéis. A termo-responsividade do p(NIPAM) é proveniente do fato de que o polímero tem um caráter hidrofóbico bastante pronunciado e essa característica invoca fortes interações com o surfactante em água. Usualmente, o surfactante afeta o tamanho da partícula formada, refletindo no raio hidrodinâmico médio do microgel. Os raios hidrodinâmicos apresentados na Figura 4.4 – B determinados por DLS são, de fato, menores que aqueles encontrados para microgéis livres de surfactante. Entretanto, a quantidade de SNPs parece não influenciar o tamanho e a transição de fase dos mesmos.

Uma possível explicação é que o surfactante estaria ligado à superfície das partículas primárias de p(NIPAM) e passou a protegê-las contra a agregação com outras partículas do sistema, que neste caso são as SNPs. Outra possibilidade seria de que, durante a polimerização, nem todas as SNPs foram incorporadas durante a síntese dos microgéis, devido a um tamanho crítico alcançado pelo microgel restringido pela concentração do surfactante, bem como o tamanho das SNPs e da reatividade das mesmas. Assim como observado por outros autores,<sup>38</sup> é possível afirmar que o tamanho da partícula é fortemente influenciado pela tensão interfacial durante a fase de nucleação da reação.<sup>54</sup>

#### **4.4.2.1 Descrição do comportamento de intumescimento/colapso através da teoria de Flory-Rehner**

A teoria termodinâmica desenvolvida por Flory-Rehner (FRT) é capaz de explicar o comportamento do volume de transição de fase de géis através do balanço entre o ganho de entropia e entalpia de mistura polímero-solvente com a resposta mecânica da rede polimérica.

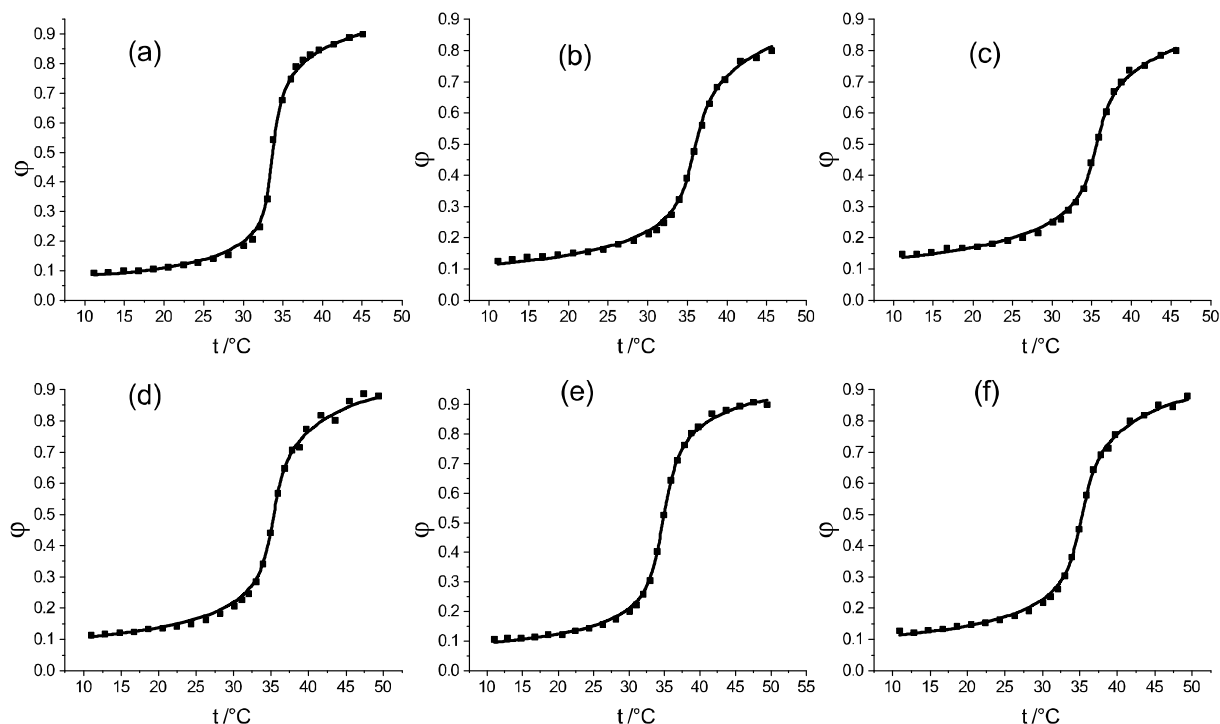
Neste trabalho, uma expansão da FRT clássica foi realizada para que fosse possível a descrição teórica dos sistemas apresentados neste capítulo. Basicamente, o mecanismo que conduz a transição de fases é inteiramente incorporado em  $\chi$ , e por isso uma boa descrição deste parâmetro foi necessária para uma descrição aceitável das curvas de intumescimento.

Os resultados dos parâmetros ajustados utilizando a teoria de Flory-Rehner (Equação 4.2) com a expansão em série de  $\chi$  (Equação 4.3) aos dados experimentais de DLS dos microgéis híbridos podem ser encontrados na Tabela 4.2, enquanto os ajustes podem ser encontrados na Figura 4.5.

**Tabela 4.2.** Parâmetros utilizados para o ajuste das curvas mostradas na Figura 4.5 e valores de qui-quadrado. O parâmetro de interação  $\chi$  foi modelado para uma expansão em série da fração volumétrica até a terceira potência de acordo com a Equação 4.3.

Amostra	$\phi_0$	A	$\theta/K$	$N_{Gel}$	$\chi_2$	$\chi_3$	$\chi_4$	Qui-quadrado/ $10^{-3}$
NIPAM(1):SNP(0,5)SDS	0,88	-9,2	314	35	0,647	0,096	0,273	8,8
NIPAM(1):SNP(0,5)	0,90	-14,7	310	39	0,576	0,385	0,050	7,5
NIPAM(1):SNP(1)SDS	0,88	-10,8	316	36	1,598	-2,114	1,866	5,8
NIPAM(1):SNP(1)	0,80	-7,6	316	34	0,709	$8,43 \cdot 10^{-4}$	0,272	8,6
NIPAM(1):SNP(2)SDS	0,88	-8,0	316	36	0,912	-0,511	0,697	5,7
NIPAM(1):SNP(2)	0,80	-5,5	318	33	0,658	0,023	0,397	5,9
<b>Média</b>	<b>0,88</b>	<b>-9,3</b>	<b>315</b>	<b>36</b>	<b>0,85</b>	<b>-0,35</b>	<b>0,59</b>	<b>7,0</b>
	( $\pm 0,03$ )	( $\pm 2,3$ )	( $\pm 2$ )	( $\pm 2$ )	( $\pm 0,27$ )	( $\pm 0,64$ )	( $\pm 0,46$ )	



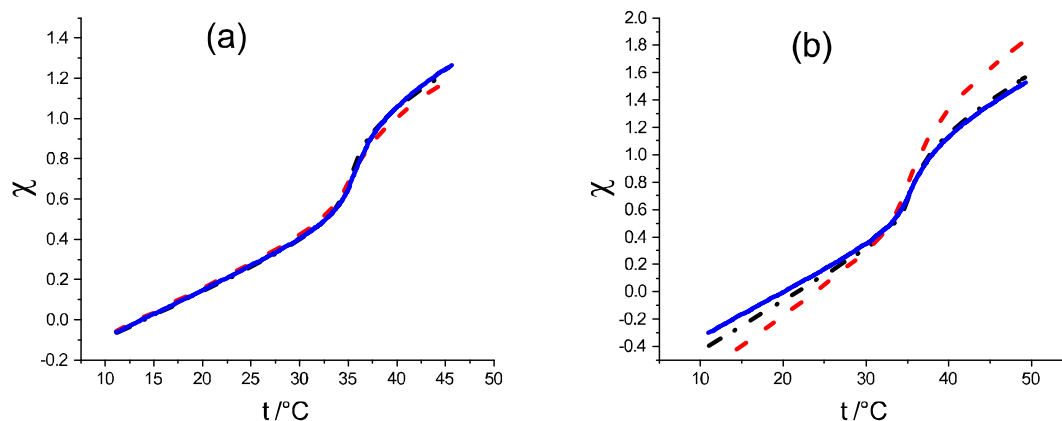


**Figura 4.5.** Fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ) *versus* temperatura. Os quadrados preenchidos referem-se aos valores experimentais, enquanto as curvas contínuas referem-se ao ajuste teórico de acordo com a Equação 4.2 e 4.3. Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5), (B) NIPAM(1):SNP(1), (C) NIPAM(1):SNP(2), (D) NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (E) NIPAM(1):SNP(1)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2)SDS.

O valor médio de  $\phi$  está em concordância com o resultado de vários estudos semelhantes, onde o valor de  $\phi_0 = 0,8$  tem sido comumente escolhido para os ajustes.<sup>38, 55</sup> O grau de polimerização médio  $N_{Gel}$  e o parâmetro  $A$  também concordam com a literatura<sup>55</sup> para dados experimentais de latexes cobertos de NIPAM obtidos com uma expansão em série de  $\chi$  até a segunda potência de  $\phi$  ( $\phi^2$ ). A média para a temperatura- $\theta$  (42 °C) encontrada é maior que a maioria dos estudos e maior que VPTT determinada via DLS, e pode ser atribuída à quantidade de SNPs incorporada na estrutura dos microgéis e a interação hidrofílica com o grupamento amida das cadeias de p(NIPAM), bem como com as moléculas de água, ou seja, mais energia é requerida para o alcance da condição  $\theta$ .

A dependência de  $\chi$  com a temperatura também foi determinada e podem ser observadas na Figura 4.6. Todas as curvas apresentadas na Figura 4.6 apresentam comportamento semelhante, independente da razão NIPAM:SNP. Na ausência de surfactante, as curvas de  $\chi(T)$  se mostram mais próximas, muito diferentes dos resultados experimentais

de DLS (Figura 4.4 – A). Na presença de surfactante, a dependência de acordo com a concentração de SNPs é notável.



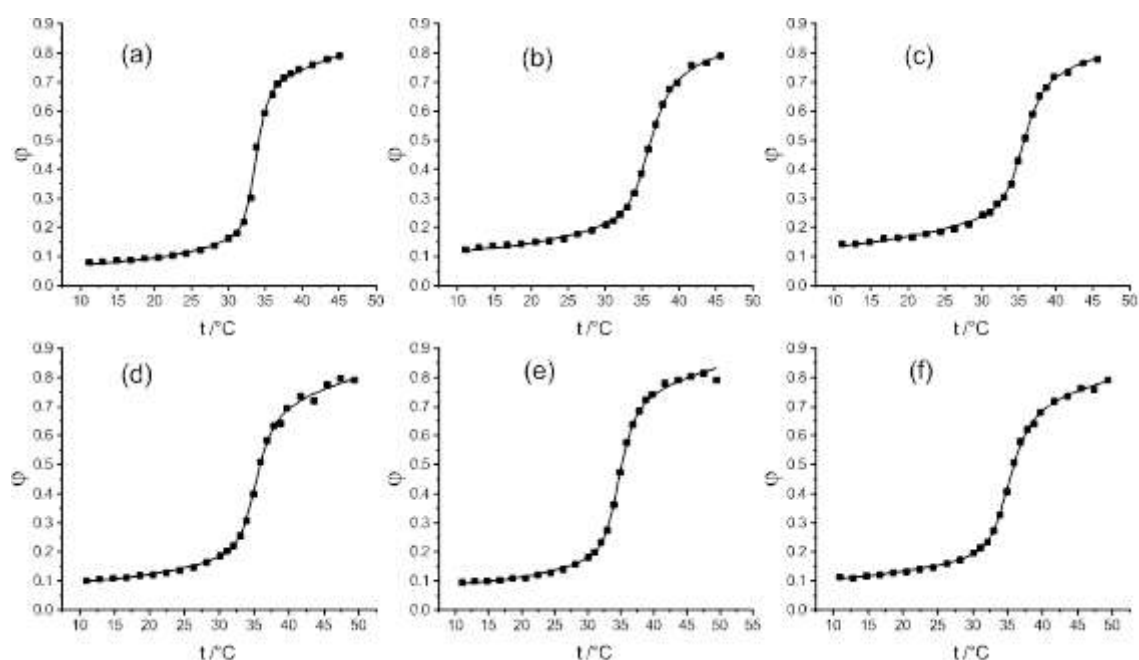
**Figura 4.6.** Parâmetro de interação  $\chi$  versus temperatura. A função  $\chi(T)$  foi modelada de acordo com a equação 4.3. Em (a), microgéis na ausência de SDS; em (b) microgéis na presença de SDS. A razão NIPAM:SNP é de 1:0,5 nas curvas em preto; 1:1 nas curvas em vermelho; e 1:2 nas curvas em azul.

Um segundo conjunto de ajustes teóricos foi realizado utilizando o modelo de Hill para a modelagem de  $\chi$ . De acordo com o modelo, o microgel em baixas temperaturas pode ser relacionado à um estado de hidratação das cadeias de p(NIPAM) (hidratação do tipo II). Em temperaturas acima da VPTT, o comportamento do microgel é entropicamente caracterizado por um estado de desintegração da camada de solvatação ao redor das cadeias poliméricas e o colapso do microgel.

Os resultados dos ajustes obtidos pela combinação da equação de Flory-Rehner (Equação 4.2) com o modelo de Hill para a função  $\chi(T)$  (Equação 4.4) podem ser encontrados na Tabela 4.3, enquanto os ajustes das curvas podem ser observados na Figura 4.7.

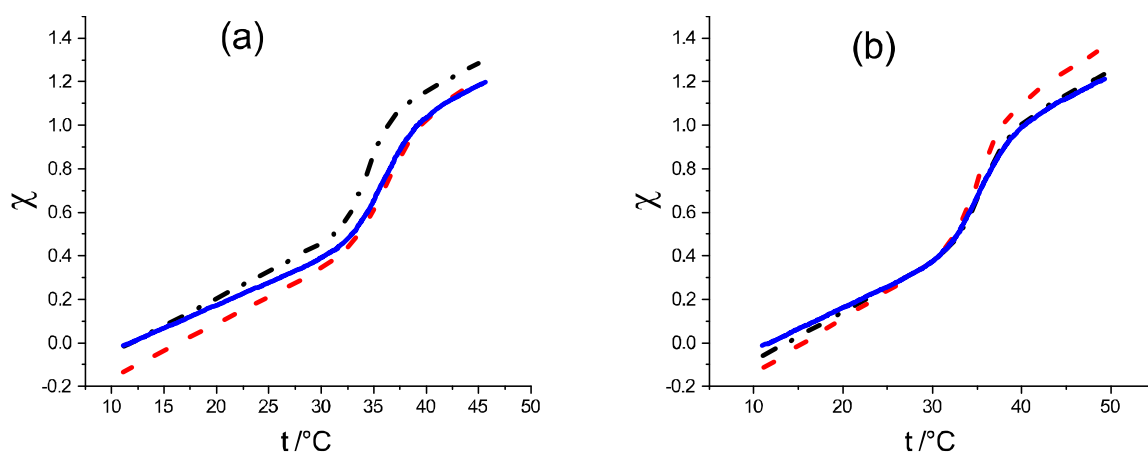
**Tabela 4.3.** Parâmetros utilizados para o ajuste das curvas mostradas na Figura 4.7 e valores de qui-quadrado. O parâmetro de interação  $\chi$  foi modelado de acordo com o modelo de Hill (Equação 4.4).

Amostra	K	$\nu$	$N_{Gel}$	a/K	b	$\chi_0$	Qui-quadrado/ $10^{-3}$
NIPAM(1):SNP(0,5)SDS	0,23	17	60	0,0225	0,44	-0,06	4,4
NIPAM(1):SNP(0,5)	0,015	27	101	0,025	0,45	-0,06	4,8
NIPAM(1):SNP(1)SDS	0,184	17	65	0,0255	0,5	-0,115	4,0
NIPAM(1):SNP(1)	0,46	16	39	0,025	0,5	-0,135	2,4
NIPAM(1):SNP(2)SDS	0,295	14	54	0,0195	0,48	-0,015	2,2
NIPAM(1):SNP(2)	0,34	17	37	0,021	0,49	-0,015	2,5
<b>Média</b>	<b>0,25</b>	<b>18</b>	<b>59</b>	<b>0,023</b>	<b>0,48</b>	<b>-0,010</b>	<b>3,4</b>
	<b><math>\pm 0,11</math></b>	<b><math>\pm 3</math></b>	<b><math>\pm 16</math></b>	<b><math>\pm 0,002</math></b>	<b><math>\pm 0,02</math></b>	<b><math>\pm 0,03</math></b>	



**Figura 4.7.** Fração volumétrica do polímero ( $\phi$ ) versus temperatura. Os quadrados preenchidos referem-se aos valores experimentais, enquanto as curvas contínuas referem-se ao ajuste teórico de acordo com a Equação 4.2 e 4.4. Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5), (B) NIPAM(1):SNP(1), (C) NIPAM(1):SNP(2), (D) NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (E) NIPAM(1):SNP(1)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2)SDS.

A temperatura de referência da equação 4.4 foi ajustada para  $T_{\text{ref}} = 311,9 \text{ K}$  ( $37,7^\circ\text{C}$ ), próxima da temperatura- $\theta$  obtida com a aplicação da equação 4.3 no modelo anterior. A informação mais importante deste ajuste é o valor numérico do coeficiente de Hill,  $v$ . O valor de  $v = 18$  sugere que na temperatura de transição de fases, em média, 18 moléculas de água cooperativamente deixam a camada de solvatação ao redor das cadeias poliméricas hidrofóbicas e vão para a solução. Na ausência de SDS, as curvas de  $\chi$  em função da temperatura (Figura 4.8) são mais distintas entre si, concordando com os dados de DLS apresentados na Figura 4.4 – A.



**Figura 4.8.** Parâmetro de interação  $\chi$  versus temperatura. A função  $\chi(T)$  foi modelada de acordo com a equação 4.4. Em (a), microgéis na ausência de SDS; em (b) microgéis na presença de SDS. A razão NIPAM:SNP é de 1:0,5 nas curvas em preto; 1:1 nas curvas em vermelho; e 1:2 nas curvas em azul.

Ambos os modelos utilizados baseiam-se em diferentes conjuntos de parâmetros e, no geral, não podem ser comparados. Entretanto, os parâmetros  $N_{\text{Gel}}$  e  $\phi_0$  obtidos tanto com a equação 4.3 quanto com a equação 4.4 são bastante comparáveis. Teoreticamente,  $N_{\text{Gel}}$  e  $\phi_0$  deveriam ser independentes do modelo aplicado para modelagem de  $\chi$ . Na prática, o valor de  $N_{\text{Gel}}$  obtido com a equação 4.3 é 1,6 vezes menor que aquele obtido com a equação 4.4. Os valores obtidos, mesmo diferentes, estão dentro dos valores usuais encontrados por outros autores quando a razão molar de MBA/NIPAM se encontra entre 1,25 e 5,00 mol%.<sup>55</sup> No entanto, neste trabalho, a razão MBA/NIPAM é de 7,74 mol%, e não é muito claro o motivo

pelo qual os microgéis sintetizados possuem valores tão altos de  $N_{Gel}$ . Uma possível explicação para este fato é a quantidade real de SNPs incorporada na matriz do microgel, que foi em maior ou menor efetividade de acordo com a rota sintética utilizada. De acordo com a Tabela 4.3, observa-se que o aumento na quantidade de SNPs diminui o valor de  $N_{Gel}$ , refletindo a influência das SNPs nos microgéis. Esta tendência, bem como as diferenças citadas anteriormente, não puderam ser observadas no modelo de expansão de  $\chi$  com  $\phi^3$ . Dessa forma, o modelo mais adequado para a descrição de intumescimento/colapso dos microgéis é feita através do modelo de Hill.

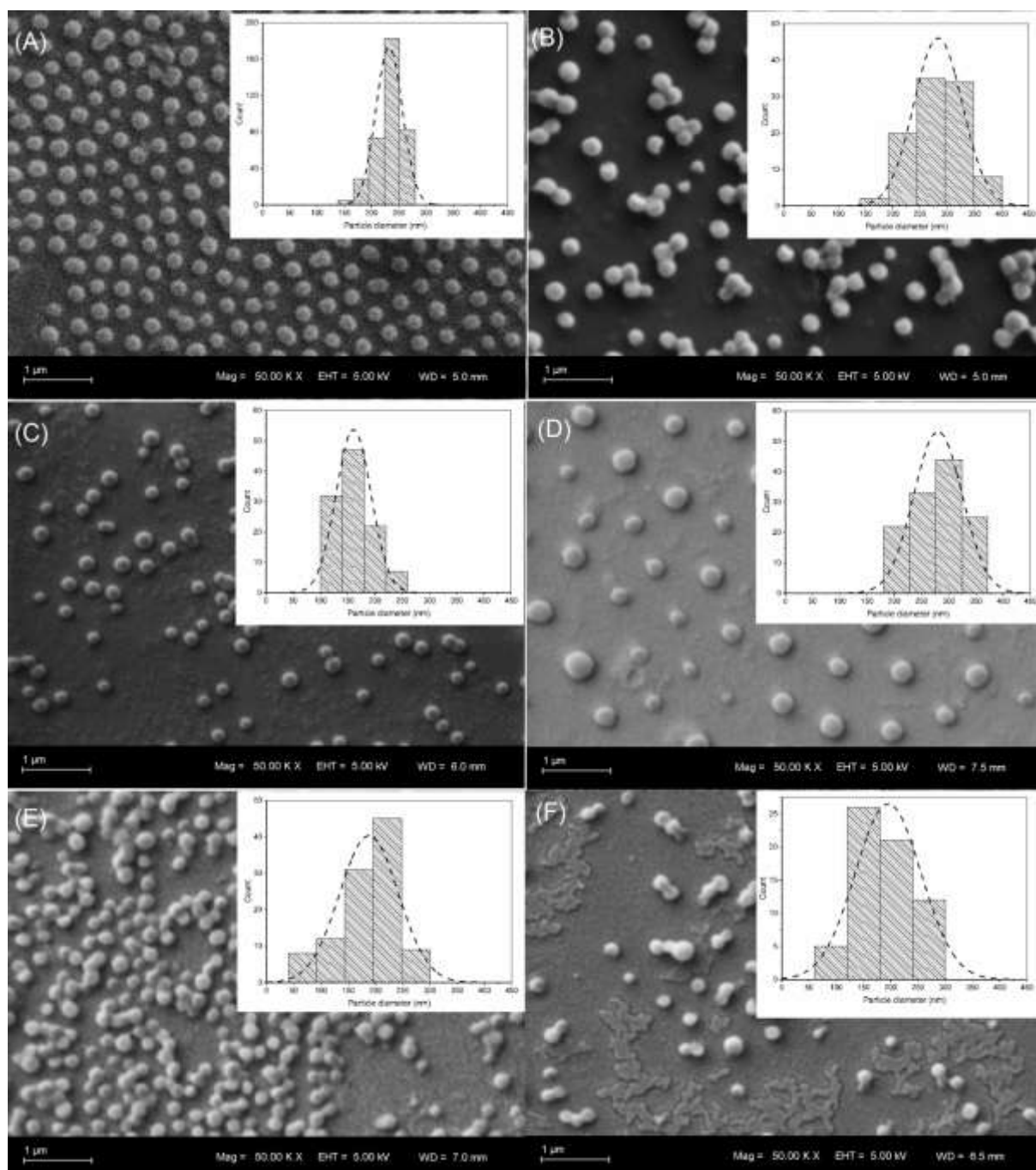
#### 4.4.3 Morfologia dos microgéis híbridos

Algumas observações similares daquelas encontradas na análise de DLS puderam ser observadas nas imagens de MEV (Figura 4.9). Em geral, os microgéis sintetizados via SFEP são maiores e mais polidispersos que aqueles sintetizados via EP (a preparação da amostra bem como a perda de água durante a secagem da lamínula devem ser levados em consideração na comparação de tamanho com aqueles obtidos via DLS). Algumas imagens aparentam partículas um pouco achatadas. Essas deformações, do tipo "panqueca", já foram relatadas por outros pesquisadores e é devido ao depósito das partículas na lamínula a partir do estado intumescido.<sup>56</sup>

A Figura 4.9 (B, D e F) mostra as imagens dos microgéis livres de surfactante. Mesmo utilizando uma polimerização na ausência de surfactante, é possível observar partículas com tamanho semelhante entre si, visto que a chave da SFEP é a rápida nucleação da partícula, que garante partículas com baixa polidispersão.<sup>57</sup> Entretanto, alguns agregados são encontrados (Figura 4.9 – B e F), provavelmente devido à alta concentração de partículas e consequente agregação durante a secagem da amostra nas lamínulas. Até mesmo um baixo percentual de agregação pôde ser observado, devido à não utilização de surfactante durante a síntese. Observa-se também que a polidispersão aumenta com o aumento da quantidade de SNPs no microgel ( $F > D > B$ ), consequência do aumento menos controlado da partícula (ausência de surfactante) e da maior interação polímero-polímero que pode ter causado agregação desuniforme.

Nas imagens da Figura 4.9 (A, C e E), partículas menores, mais esféricas e distintas puderam ser observadas. Novamente, o efeito da quantidade de SNPs é menos pronunciado

nessas amostras, como observado por DLS, provavelmente devido à presença do surfactante durante a síntese que limitou o crescimento dos microgéis e dificultou a interação com os polímeros do amido. Diferente das amostras sintetizadas via SFEP, pouca ou nenhuma polidispersão foi observada. Também observou-se pouca ou nenhuma agregação.



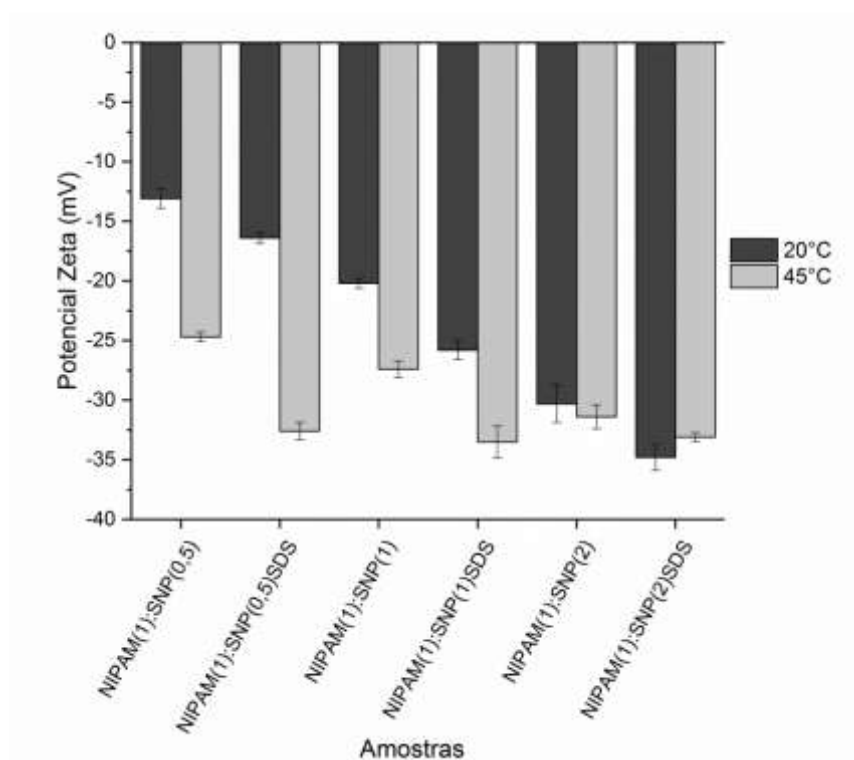
**Figura 4.9.** Imagens de MEV dos microgéis híbridos (escala = 1 μm). Em (A), NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, (B) NIPAM(1):SNP(0,5), (C) NIPAM(1):SNP(1)SDS, (D) NIPAM(1):SNP(1), (E) NIPAM(1):SNP(2)SDS e (F) NIPAM(1):SNP(2). No detalhe de cada imagem, a distribuição quantitativa calculada através do ImageJ.

A distribuição de tamanho resultante da análise por ImageJ contribui para as observações feitas acima, e podem ser superficialmente comparadas com os resultados

obtidos via DLS para os microgéis acima da VPTT. Essas distribuições possuem a mesma ordem de grandeza daquelas obtidas via DLS, levando em consideração a camada de solvatação inerente ao raio hidrodinâmico.

#### 4.4.4 Estabilidade coloidal e estrutura interna dos microgéis híbridos

O efeito dos polímeros do amido e das condições de preparação na estabilidade coloidal dos microgéis foi estudado através de medidas de potencial zeta abaixo e acima da VPTT. De acordo com os resultados apresentados na Figura 4.10, todos aos microgéis híbridos apresentaram valores de potencial zeta negativos, podendo ser atribuídos à presença dos grupos hidroxila das SNPs ligados à superfície dos microgéis e também à carga residual do iniciador iônico, como relatado por outros autores em estudos semelhantes.<sup>58-59</sup>



**Figura 4.10.** Potencial zeta dos microgéis híbridos (NIPAM:SNP) sintetizados. A identificação das amostras segue a descrição da Tabela 4.1.

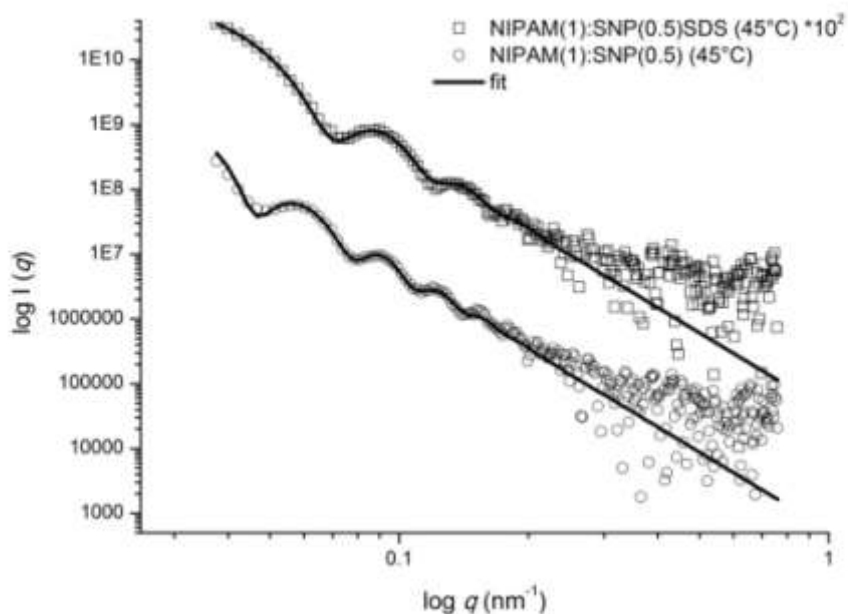


Comparando os microgéis sintetizados via EP (amostras NIPAM(1):SNP(0,5)SDS, NIPAM(1):SNP(1)SDS e NIPAM(1):SNP(2)SDS) com aqueles via SFEP (amostras NIPAM(1):SNP(0,5), NIPAM(1):SNP(1) e NIPAM(1):SNP(2)), uma diminuição significativa dos valores de potencial zeta à 20 °C podem ser vistos, provavelmente devido ao caráter aniônico do SDS. Além disso, de acordo com o aumento da quantidade de SNPs nos microgéis sintetizados uma diminuição linear nos valores de potencial zeta à 20 °C é observada, causada pela alta concentração de grupos –OH das SNPs nos microgéis.

Partículas contendo p(NIPAM) em sua composição podem sofrer aumento ou diminuição de seu potencial superficial eletrostático durante os ciclos de aquecimento e resfriamento, e esse comportamento pode ser observado nas medidas de potencial zeta à 45°C. Todas as medidas nesta temperatura apresentaram valores de potencial zeta menores que -25 mV, podendo ser atribuídos ao colapso do microgel que induz uma elevação na densidade de carga superficial da partícula.

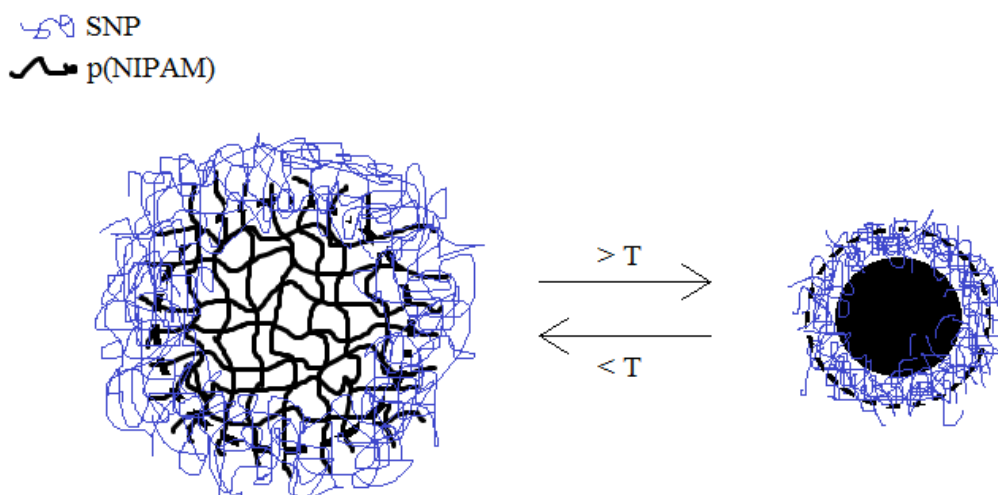
Essa tendência de diminuição de potencial zeta acima da VPTT é menos pronunciada quando uma alta concentração de SNPs foi utilizada durante a síntese (quando comparado as demais amostras), e pode estar relacionada à alta quantidade de SNPs e impedimento eletrostático com o SDS residual. Ainda, nas amostras sintetizadas via EP, observa-se valores de potencial zeta à 45 °C muito semelhantes entre si, apesar de nominalmente possuírem concentrações de SNP diferentes. Esse resultado está relacionado ao observado nos resultados de DLS, no qual a quantidade de SNP foi suprimida no interior do microgel devido à presença do surfactante.

Como interpretado através dos resultados de potencial zeta, as análises de SAXS permitem dizer que as SNPs estão provavelmente na superfície do microgel e, acima da VPTT, os microgéis híbridos exibem uma estrutura do tipo caroço-casca. A Figura 4.11 apresenta duas curvas de SAXS ajustadas utilizando um modelo caroço-casca.



**Figura 4.11.** Curvas obtidas através do experimento de SAXS para dois dos microgéis híbridos acima da VPTT (45 °C).

Considerando o tipo de ajuste realizado, é possível ter uma ideia mais clara do comportamento das SNPs em água. Como relatado no início das discussões deste capítulo, o caráter da amilopectina devido às ramificações presentes em sua estrutura não permite sua dissolução em água, apenas um inchamento e aumento de mobilidade semelhante à um hidrogel. Esta consideração permite entender a disposição destes polímeros do amido ao redor do p(NIPAM), e não emaranhados na estrutura interna como o esperado de um copolímero hidrofílico. Desta forma, apesar do pouco contraste entre os polímeros que constituem o microgel e a água, observa-se certo nível de organização da estrutura interna dos microgéis, levando a uma previsão de como os polímeros interagem e como estão dispostos dentro da partícula. A Figura 4.12 apresenta uma proposta da estrutura do microgel híbrido.



**Figura 4.12.** Estrutura proposta do microgel híbrido SNP-co-p(NIPAM). Acima da VPTT, a estrutura se apresenta do tipo caroço-casca.

O fator forma caroço-casca pode ser compreendido com base na densidade eletrônica levemente mais baixa do polissacarídeo em comparação com o p(NIPAM), assumindo a organização das SNPs ao redor do caroço de p(NIPAM). Os dados fornecidos pelo ajuste das curvas de SAXS apresentados na Figura 4.11 são descritos na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4.** Parâmetros extraídos do ajuste das curvas de SAXS.

Amostra	Distribuição de tamanhos <sup>a</sup>			Fator forma <sup>b</sup>		Fator estrutura <sup>c</sup>
	$N$	$R_a$	$\sigma$	$R_1$	$R_2$	$R_{HS}$
NIPAM(1):SNP(0,5)	0,00067	97,9	0,11	97,9	56,9	130,1
NIPAM(1):SNP(0,5)SDS	0,00011	62,4	0,081	62,4	28,7	182,1

<sup>a</sup>  $N$  – densidade numérica de partículas;  $R_a$  – raio médio máximo da distribuição de tamanhos;  $\sigma$  – polidispersão.

<sup>b</sup>  $R_1$  – raio da casca, igual a  $R_a$ ;  $R_2$  – raio do caroço.

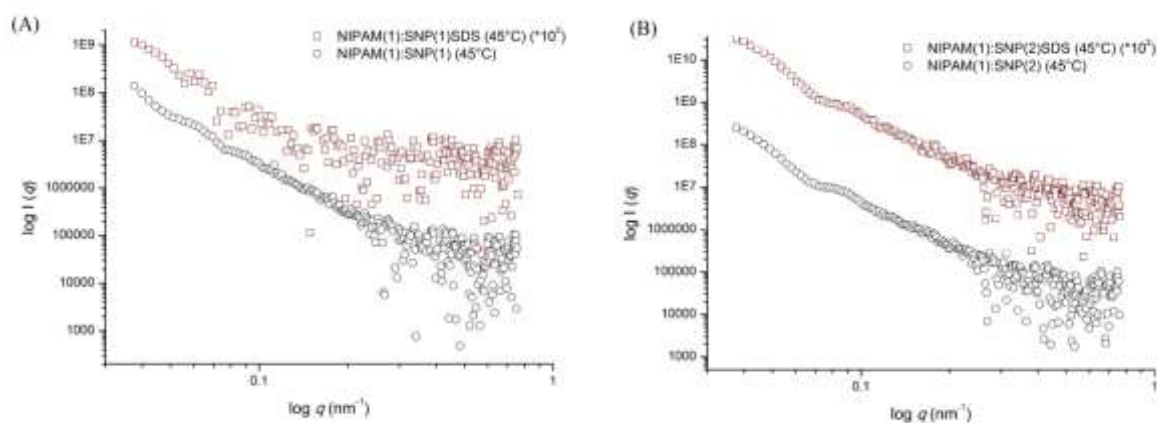
<sup>c</sup>  $R_{HS}$  – raio de repulsão.

Ao interpretarmos os resultados do ajuste das curvas de SAXS, observa-se que os valores de raio encontrados não são semelhantes àqueles encontrados através do DLS, apesar da mesma ordem e grandeza. O raio determinado via DLS é hidrodinâmico, que é de 110 nm

para a amostra NIPAM(1):SNP(0,5) à 45 °C e 75 nm para a amostra NIPAM(1):SNP(0,5)SDS à 45 °C (Figura 4.4), inclui a camada de solvatação. A determinação do  $R_h$  do microgel solvatado descrito no item 4.4.2 é resultado do tamanho do microgel como um todo (caroço, casca e camada de solvatação). Considerando que os ajustes apresentados na Tabela 4.4 são dos microgéis acima da VPTT e de que apenas o caroço colapsa (p(NIPAM)) e é o responsável pela maior densidade eletrônica que permitiu o ajuste das curvas e a previsão de uma arquitetura caroço-casca, os resultados de raio encontrados por SAXS representam basicamente este caroço e possuem pouca contribuição da casca de SNPs. As SNPs contidas na superfície do microgel têm baixo contraste de densidade eletrônica mesmo quando o microgel colapsa, pois continuam hidratadas pela água.

A explicação para a formação da estrutura apresentada na Figura 4.8 ainda pode ser atribuída à forma das SNPs, que são compostas de macromoléculas de tamanho considerável e não monômeros como usualmente se utiliza na preparação de microgéis e, por isso, não são capazes de entrar completamente na rede do p(NIPAM) durante a formação do microgel. Esses polímeros do amido não estão livres em solução e possuem certo grau de orientação que permite uma boa interação com o p(NIPAM). Essa disposição das SNPs ao redor da estrutura do p(NIPAM) provê estabilidade para o microgel como um todo, como observado por Zhang em estudo de hidrogéis híbridos.<sup>53</sup> Devido a essa estrutura proposta, justifica-se o porquê dos ajustes das curvas de intumescimento não convergirem com o modelo clássico de Flory-Rehner, que é aplicável à géis homogêneos.

O ajuste das curvas de SAXS foi alcançado com sucesso apenas para os microgéis híbridos com composição NIPAM(1):SNP(0,5) e NIPAM(1):SNP(0,5)SDS acima da VPTT demonstrados na Figura 4.11. Para os demais, o ajuste não convergiu. A Figura 4.13 apresenta essas curvas, acima da VPTT.



**Figura 4.13.** Curvas obtidas através do experimento de SAXS para os microgéis híbridos. Em (A), com razão NIPAM(1):SNP(1) acima da VPTT (45 °C); em (B), com razão NIPAM(1):SNP(2) acima da VPTT (45 °C). As curvas não foram ajustadas devido à falta de contraste.

A falta de contraste entre o microgel e a água provavelmente foi o fator de maior contribuição para a baixa resolução das curvas. Esta falta de contraste é devida ao aumento da concentração das SNPs ao redor do caroço de p(NIPAM). As SNPs estão hidratadas pela água, e o contraste ficou ainda mais difícil de ser alcançado devido a esta grande estrutura com baixo contraste de densidade eletrônica. Ainda, a polidispersão também tem uma influência marcante na resolução de curvas de SAXS porque mascara os mínimos ou os zeros do fator forma.<sup>60</sup> Apesar da relativa baixa polidispersão determinada pela análise de DLS e vistos nas imagens de MEV, os sistemas contendo concentração de SNPs maiores pode ter influenciado de certa forma a baixa resolução das curvas de SAXS devido à uma polidispersão um pouco maior nesses microgéis.

#### 4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Microgéis híbridos foram preparados com sucesso através da polimerização em emulsão na presença e na ausência de surfactante. Pequenas variações em tamanho, VPTT, forma e estabilidade coloidal dos microgéis híbridos SNP-co-p(NIPAM) puderam ser detectadas, sendo mais pronunciadas nos microgéis preparados via SFEP que apresentaram maior sensibilidade à quantidade SNPs adicionadas na reação de polimerização. Além de

evitar a agregação entre partículas, a presença de surfactante durante a preparação dos microgéis híbridos induziu certa retenção na rede polimérica, suprimindo parcialmente a presença e concentração de SNPs na composição. Esse efeito pode ter resultado na falha de incorporação das SNPs nos microgéis que ficaram em condições restritas de crescimento.

Através da descrição apropriada de  $\chi$  através de dois modelos distintos e aplicação destes na equação de Flory-Rehner, foi possível determinar diversos parâmetros de interesse, com destaque para a temperatura- $\theta$  dos sistemas em estudo, bem como o grau de polimerização médio entre dois pontos de reticulação e o número de moléculas de água que deixam a camada de solvatação das cadeias poliméricas durante o colapso na transição de fase.

Os resultados de potencial zeta combinados com os resultados de SAXS promoveram uma ideia de como os constituintes dos microgéis híbridos interagem e estão dispostos dentro da partícula. Acima da VPTT, uma estrutura do tipo caroço-casca foi proposta através do ajuste de algumas curvas de SAXS para este modelo, no qual a rede polimérica do p(NIPAM) constitui o caroço e as cadeias poliméricas contidas na SNP a casca. A estrutura proposta para os microgéis não era esperada, e acredita-se que as SNPs contribuíram para que esta organização do tipo caroço-casca fosse alcançada. Estudos via espalhamento de nêutrons a baixos ângulos (SANS) poderiam ajudar na elucidação das estruturas dos microgéis híbridos, principalmente naqueles abaixo da VPTT que não puderam ter estrutura proposta com segurança devido à falta de contraste nos experimentos de SAXS.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

1. Hertle, Y.; Hellweg, T.; *J Mater Chem B*. **2013**, *1* (43), 5874-5885.
2. Dai, S.; Ravi, P.; Tam, K. C.; *Soft Matter*. **2008**, *4* (3), 435-449.
3. Dai, Z. J.; Ngai, T.; *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*. **2013**, *51* (14), 2995-3003.
4. Hoffman, A. S.; Stayton, P. S.; Bulmus, V.; Chen, G.; Chen, J.; Cheung, C.; Chilkoti, A.; Ding, Z.; Dong, L.; Fong, R.; Lackey, C. A.; Long, C. J.; Miura, M.; Morris, J. E.; Murthy, N.; Nabeshima, Y.; Park, T. G.; Press, O. W.; Shimoboji, T.; Shoemaker, S.; Yang,

- H. J.; Monji, N.; Nowinski, R. C.; Cole, C. A.; Priest, J. H.; Harris, J. M.; Nakamae, K.; Nishino, T.; Miyata, T.; *Journal of Biomedical Materials Research*. **2000**, *52* (4), 577-586.
5. Ma, X.; Xing, Y.; *Polymer Bulletin*. **2006**, *57* (2), 207-217.
  6. Snowden, M. J.; Chowdhry, B. Z.; Vincent, B.; Morris, G. E.; *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions*. **1996**, *92* (24), 5013-5016.
  7. Hoare, T.; Pelton, R.; *J Phys Chem B*. **2007**, *111* (41), 11895-906.
  8. Kratz, K.; Hellweg, T.; Eimer, W.; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2000**, *170* (2-3), 137-149.
  9. Khan, A.; *J Colloid Interface Sci*. **2007**, *313* (2), 697-704.
  10. Shi, S.; Wang, Q.; Wang, T.; Ren, S.; Gao, Y.; Wang, N.; *The Journal of Physical Chemistry B*. **2014**, *118* (25), 7177-7186.
  11. Kleinen, J.; Richtering, W.; *Macromolecules*. **2008**, *41* (5), 1785-1790.
  12. Höfl, S.; Zitzler, L.; Hellweg, T.; Herminghaus, S.; Mugele, F.; *Polymer*. **2007**, *48* (1), 245-254.
  13. Karg, M.; Hellweg, T.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **2009**, *14* (6), 438-450.
  14. Mastour Tehrani, S.; Lin, W.; Rosenfeldt, S.; Guerin, G.; Lu, Y.; Liang, Y.; Drechsler, M.; Förster, S.; Winnik, M. A.; *Chem Mater*. **2016**, *28* (2), 501-510.
  15. Begum, R.; Naseem, K.; Farooqi, Z. H.; *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. **2016**, *77* (2), 497-515.
  16. Zeiser, M.; Freudensprung, I.; Hellweg, T.; *Polymer*. **2012**, *53* (26), 6096-6101.
  17. Seuss, M.; Schmolke, W.; Drechsler, A.; Fery, A.; Seiffert, S.; *Acs Appl Mater Inter*. **2016**, *8* (25), 16317-16327.
  18. Hellweg, T.; *Journal of Polymer Science*. **2013**, *51*, 1073-1083.
  19. Zha, L. S.; Zhang, Y.; Yang, W. L.; Fu, S. K.; *Advanced Materials*. **2002**, *14* (15), 1090-1092.
  20. Gu, J.; Xia, F.; Wu, Y.; Qu, X.; Yang, Z.; Jiang, L.; *J Control Release*. **2007**, *117* (3), 396-402.
  21. Karg, M.; Hellweg, T.; *J Mater Chem*. **2009**, *19* (46), 8714-8727.

22. Balaceanu, A.; Singh, S.; Demco, D. E.; Möller, M.; *Chemical Physics Letters*. **2014**, *612*, 182-189.
23. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Ascenzi, P.; Simionescu, B. C.; Fundueanu, G.; *Reactive & Functional Polymers*. **2014**, *84*, 1-9.
24. Cao, L. Q.; Chen, L. P.; Chen, X. J.; Zuo, L. H.; Li, Z. W.; *Polymer*. **2006**, *47* (13), 4588-4595.
25. Celli, A.; Sabaa, M. W.; Jyothi, A. N.; Kalia, S., Chitosan and Starch-Based Hydrogels Via Graft Copolymerization. In *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials*, Kalia, S., Ed. Springer International Publishing: Cham, 2016; pp 189-234.
26. Fathi, M.; Entezami, A. A.; Arami, S.; Rashidi, M. R.; *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. **2015**, *64* (10), 541-549.
27. Poorgholy, N.; Massoumi, B.; Jaymand, M.; *International Journal of Biological Macromolecules*. **2017**, *97*, 654-661.
28. Liu, W.; Huang, Y.; Liu, H.; Hu, Y.; *J Colloid Interface Sci*. **2007**, *313* (1), 117-21.
29. Marques, N. d. N.; Maia, A. M. d. S.; Balaban, R. d. C.; *Polímeros*. **2015**, *25*, 237-246.
30. Bao, H.; Li, L.; Gan, L. H.; Ping, Y.; Li, J.; Ravi, P.; *Macromolecules*. **2010**, *43* (13), 5679-5687.
31. Chen, S.-b.; Zhong, H.; Zhang, L.-l.; Wang, Y.-f.; Cheng, Z.-p.; Zhu, Y.-l.; Yao, C.; *Carbohydrate Polymers*. **2010**, *82* (3), 747-752.
32. Lapeyre, V.; Gosse, I.; Chevreux, S.; Ravaine, V.; *Biomacromolecules*. **2006**, *7* (12), 3356-3363.
33. Lapeyre, V.; Ancla, C.; Catargi, B.; Ravaine, V.; *Journal of Colloid and Interface Science*. **2008**, *327* (2), 316-323.
34. Marques, N. D.; Curti, P. S.; Maia, A. M. D.; Balaban, R. D.; *Journal of Applied Polymer Science*. **2013**, *129* (1), 334-345.
35. Provencher, S. W.; *Computer Physics Communications*. **1982**, *27* (3), 229-242.
36. Koppel, D. E.; *The Journal of Chemical Physics*. **1972**, *57* (11), 4814-4820.
37. Kakorin, S., Colaborador na descrição teórica dos dados experimentais. Bielefeld, 2017.



38. Hertle, Y.; Zeiser, M.; Hasenöhrl, C.; Busch, P.; Hellweg, T.; *Colloid and Polymer Science*. **2010**, 288 (10), 1047-1059.
39. Fernandes, P. A. L.; Schmidt, S.; Zeiser, M.; Fery, A.; Hellweg, T.; *Soft Matter*. **2010**, 6 (15), 3455-3458.
40. Flory, P. J., *Principles of Polymer Chemistry*. Cornell University Press: 1953.
41. Flory, P. J.; Jr., J. R.; *The Journal of Chemical Physics*. **1943**, 11 (11), 521-526.
42. Flory, P. J.; *The Journal of Chemical Physics*. **1942**, 10 (1), 51-61.
43. Huggins, M. L.; *The Journal of Physical Chemistry*. **1942**, 46 (1), 151-158.
44. Knychala, P.; Timachova, K.; Banaszak, M.; Balsara, N. P.; *Macromolecules*. **2017**, 50 (8), 3051-3065.
45. Nigro, V.; Angelini, R.; Bertoldo, M.; Bruni, F.; Ricci, M. A.; Ruzicka, B.; *Soft Matter*. **2017**, 13 (30), 5185-5193.
46. Eichinger, B. E.; Flory, P. J.; *Transactions of the Faraday Society*. **1968**, 64 (0), 2035-2052.
47. Hill, A. V.; *Journal of Physiology*. **1910**, 40, iv-vii.
48. Schneider, C. A.; Rasband, W. S.; Eliceiri, K. W.; *Nat Methods*. **2012**, 9 (7), 671-5.
49. Hunter, R. J., Chapter 3 - The Calculation of Zeta Potential. In *Zeta Potential in Colloid Science*, Academic Press: 1981; pp 59-124.
50. Kohlbrecher, J. User guide for the SASfit software package, **2010**.
51. Li, M.-C.; Ge, X.; Cho, U. R.; *Macromol Res*. **2013**, 21 (5), 519-528.
52. Chern, C. S.; *Progress in Polymer Science*. **2006**, 31 (5), 443-486.
53. Zhang, X. Z.; Zhuo, R. X.; *Journal of Colloid and Interface Science*. **2000**, 223 (2), 311-313.
54. Wedel, B.; Brändel, T.; Bookhold, J.; Hellweg, T.; *ACS Omega*. **2017**, 2 (1), 84-90.
55. Crassous, J. J.; Wittemann, A.; Siebenbürger, M.; Schrunner, M.; Drechsler, M.; Ballauff, M.; *Colloid and Polymer Science*. **2008**, 286 (6), 805-812.
56. Saunders, B.; Vincent, B.; *Colloid & Polymer Science*. **1997**, 275 (1), 9.
57. Saunders, B. R.; Vincent, B.; *Adv Colloid Interfac*. **1999**, 80 (1), 1-25.
58. Li, X.; Qin, Y.; Liu, C.; Jiang, S.; Xiong, L.; Sun, Q.; *Food Chem*. **2016**, 199, 356-63.

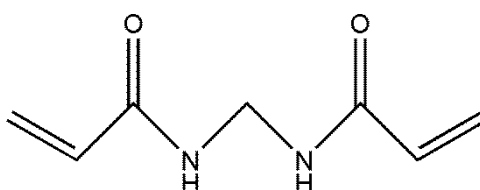
59. El-Naggar, M. E.; El-Rafie, M. H.; El-Sheikh, M. A.; El-Feky, G. S.; Hebeish, A.; *Int J Biol Macromol.* **2015**, *81*, 718-29.
60. Seelenmeyer, S.; Dingenouts, N.; Ballauff, M., Analysis of Polymer Latexes by Small-Angle X-Ray Scattering. In *Structure and Dynamics of Polymer and Colloidal Systems*, Borsali, R.; Pecora, R., Eds. Springer Netherlands: Dordrecht, 2002; pp 117-155.

**CAPÍTULO 5**  
**POLÍMEROS DO AMIDO**  
**FUNCIONALIZADOS PARA**  
**UTILIZAÇÃO COMO AGENTE DE**  
**RETICULAÇÃO**

## 5.1 INTRODUÇÃO

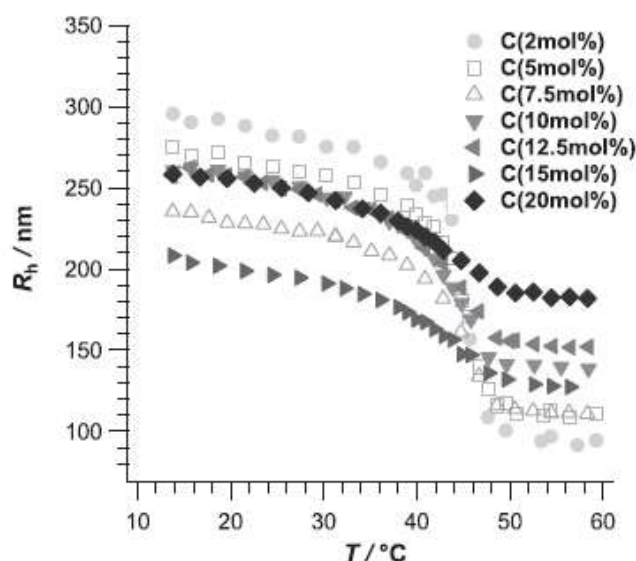
Desde a descoberta por Goodyear que borrachas reticuladas com enxofre (processo conhecido como vulcanização) tinham propriedades muito melhores que aquelas na ausência de reticulação,<sup>1</sup> polímeros reticulados têm sido sintetizados e tornaram-se um importante material para diferentes áreas de interesse científico e industrial, basicamente devido à maior estabilidade da rede polimérica quando reticulada.<sup>2</sup> Em geral, a reticulação provoca mudanças na solubilidade do polímero, na estabilidade térmica, na resistência mecânica, no poder de inchamento e na permeabilidade, entre outros.<sup>3</sup>

O agente de reticulação mais empregado na formação de microgéis é o N,N'-metilenobisacrilamida (MBA),<sup>4-7</sup> ilustrado na Figura 5.1. A principal característica de um agente de reticulação é a presença de, pelo menos, dois grupos funcionais em sua estrutura (geralmente grupos vinílicos), que permitem a formação de ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas.<sup>8</sup>



**Figura 5.1.** Estrutura química do N,N'-metilenobisacrilamida (MBA).

Zeiser et al.<sup>9</sup> demonstraram em um estudo de microgéis do tipo caroço-casca que a concentração de MBA no caroço dos microgéis afeta as propriedades de diferentes maneiras (Figura 5.2). De acordo com os autores, o aumento da concentração de MBA leva a uma diminuição da capacidade de intumescimento do caroço do microgel, bem como um alargamento da VPTT (diminuição da precisão em termos de temperatura de transição de fase).



**Figura 5.2.**  $R_h$  (determinado por DLS) versus temperatura para diferentes sistemas caroço de poli(N-iso-propilmetacrilamida) (p(NIPMAM)) contendo diferentes concentrações de MBA (retirado de Zeiser et al.).<sup>9</sup>

Em relação à influência das ligações cruzadas nas propriedades mecânicas do microgel, alguns estudos foram feitos. Virtanen et al.<sup>10</sup> prepararam microgéis com propriedades mecânicas reforçadas na superfície com o uso de concentrações ultra baixas de agente de reticulação. Diferente dos tradicionais microgéis que possuem densidade de ligações cruzadas maior no interior das partículas, os autores foram capazes de sintetizar microgéis com maior densidade de ligações cruzadas na superfície. Em outro estudo, microgéis com dupla reticulação foram sintetizados por Milani e colaboradores,<sup>11</sup> com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas das partículas.

Na busca de microgéis com características degradáveis ou menos tóxicas,<sup>12</sup> o MBA tem sido substituído por derivados de metacrilatos, dendrímeros e outros.<sup>13</sup> Constantin et al.,<sup>14</sup> por exemplo, sintetizaram um agente de reticulação baseado em ciclodextrinas quimicamente modificadas. Os autores observaram que além de agir como agente de reticulação, a ciclodextrina participou da reação como comonômero, deslocando a LCST do copolímero final. Hu e colaboradores<sup>15</sup> utilizaram N,N'-(1,2-dihidróxi-etileno)bisacrilamida (DHEA) em substituição ao MBA na formação de microgéis biodegradáveis, enquanto Zhang et al.<sup>16</sup> e Gauding et al.<sup>17</sup> utilizaram N,N'-bis(acrilóil)cistamina (BAC) como agente de reticulação

degradável. Poucos trabalhos citam a utilização de amido ou seus polímeros funcionalizados como agente de reticulação em reações de polimerização.

### 5.1.1 Modificação química do amido

Assim como a utilização do amido tem sido expandida, as modificações do amido para alcance de determinadas propriedades também vem crescendo.<sup>18</sup> Algumas aplicações do amido nativo ficam restringidas devido à sua baixa solubilidade e estrutura química, e a modificação química dessa estrutura amplia muito sua utilização. A estrutura química dos polímeros que compõem o amido, rica em grupos hidroxila, permite a exploração de diversas rotas de modificação através desses sítios ativos.

Uma modificação bastante comum é a inserção de "braços" poliméricos na estrutura principal do amido, formando copolímeros do tipo *graft*. Diversas publicações deste tipo de copolímero podem ser encontradas, na sua maioria envolvendo ácido acrílico,<sup>19-20</sup> estireno<sup>21-22</sup> e acrilamida,<sup>23</sup> onde sais de cério e persulfato de amônio são utilizados frequentemente como iniciadores. As principais propriedades buscadas são maior poder de absorção de água, adsorção de efluentes e resistência mecânica.

A funcionalização dos polímeros do amido com o grupamento acetil também é bastante estudada e inclui mais de 150 anos de história, incluindo patentes.<sup>24</sup> O amido acetilado é utilizado em diversos ramos, tais como na estabilidade de produtos alimentícios,<sup>25</sup> na produção de embalagens degradáveis<sup>26</sup> e na área farmacêutica.<sup>27</sup> As mudanças nas propriedades do produto modificado com a inserção do grupo acetil dependem do grau de substituição, variando também o caráter hidrofílico/hidrofóbico e as características morfológicas.<sup>28</sup>

Para o amido exercer a função de agente de reticulação, as cadeias poliméricas que o compõe devem ser funcionalizadas de forma a conter ligações duplas (ou outro grupo funcional capaz que seja capaz de exercer a função de reticulação) em sua estrutura. Para isso, diversos reagentes contendo o grupo funcional de interesse podem ser utilizados. Por exemplo, Tan e colaboradores<sup>29</sup> sintetizaram hidrogéis de NIPAM com forma bem definida e alta resistência mecânica por polimerização fotoiniciada utilizando amido funcionalizado com grupos alílicos como agente reticulante.

Outro grupamento utilizado para a inserção da ligação insaturada na amilose, amilopectina e outras macromoléculas é o grupamento acrilófla. Shi et al.<sup>30</sup> e Constantin et al.<sup>14</sup> sintetizaram acrilóil-ciclodextrinas através de mecanismos bastante semelhantes entre si para a preparação de copolímeros reticulados visando aplicações biomédicas. Fang et al.,<sup>21</sup> em 2005, propôs um método de síntese de acrilóil-amido e, após essa publicação, outros autores utilizaram essa rota sintética sugerida.<sup>31-32</sup> A síntese de acrilóil-amido é capaz de produzir polímeros do amido funcionalizados com diversos graus de substituição, permitindo seu uso em reações de polimerização como copolímero e/ou como agente de reticulação.

Neste capítulo, a síntese de polímeros de amido funcionalizados (ASNPs), a partir das SNPs já preparadas, será descrita para utilização na síntese de microgéis de p(NIPAM). A partir desse novo agente de reticulação, microgéis com diferentes características foram preparados.

## **5.2 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.2.1 Materiais**

Nanopartículas de amido (SNPs) foram preparadas conforme descrito no capítulo 3. N-isopropilacrilamida (NIPAM, recristalizada em hexano), persulfato de amônio (APS, iniciador), trietilamina (TEA) e dodecil sulfato de sódio (SDS, surfactante) foram obtidos da Sigma-Aldrich. Cloreto de acrilófla foi obtido da Alda Aesar. Dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF) e todos outros reagentes não citados neste item são de grau analítico e foram utilizados sem purificação prévia.

### **5.2.2 Funcionalização das SNPs**

Baseado no método de Fang com algumas modificações,<sup>21</sup> 0,270 g de SNPs (5 mmol de grupos OH<sup>-</sup>) foram dispersos em 20 mL de água à 80 °C, durante 1 h. Esta etapa foi realizada para dispersar e inchar a estrutura da nanopartícula, facilitando o acesso para a reação de substituição. Usando um método de troca água-solvente, DMF (3 x 20 mL) foi adicionado à solução com o objetivo de remover a água por destilação. Em seguida, 4,17 mL

de TEA (30 mmol) foram adicionados à reação. A mistura foi resfriada à  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$  e, após equilíbrio térmico, 2,42 mL de cloreto de acrilóila (30 mmol) dissolvidos em 10 mL de DMF foram adicionados gota-a-gota à solução. Alguns miligramas de íon comum (NaCl ou LiCl) foram adicionados para deslocamento da reação no sentido dos produtos. A reação foi mantida à  $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 2 h, e então por 10 h (totalizando 12 horas de reação) ou 22 h (totalizando 24 horas de reação) à temperatura ambiente sob agitação constante. Para a reação com duração de 12 horas, o produto foi nomeado ASNP12; para aquela com duração de 24 horas, o produto foi nomeado ASNP24. Após o tempo de reação estipulado, os produtos (ASNP12 e ASNP24) foram filtrados em filtro de papel de 1  $\mu\text{m}$  (para separação dos subprodutos gerados durante a reação) e precipitados em acetona, lavados com acetona e clorofórmio, e então secos em rotaevaporador. A reação de substituição foi realizada em duplicata.

O grau de substituição (GS) de cada replicata foi calculado utilizando RMN  $^1\text{H}$  de acordo com a equação abaixo:

$$GS = \left( \frac{A_{lig.dupla}}{A_{C1H}} \right) / 3 \quad (5.1)$$

onde  $A_{lig.dupla}$  é o somatório das áreas dos picos relativos aos prótons da ligação dupla inserida e  $A_{C1H}$  é a área do próton ligado ao carbono anomérico da unidade glicosídica que compõem a amilose e a amilopectina. A equação é ainda dividida por 3 devido aos 3 grupos hidroxila da unidade glicosídica disponíveis para funcionalização.

### 5.2.3 Síntese de microgéis de p(NIPAM) utilizando ASNPs como agente de reticulação

NIPAM (0,4355 g) foi adicionado em um balão de 3 bocas de 100 mL contendo água Milli-Q à  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sob atmosfera de  $\text{N}_2$  e agitação constante (400 rpm) até completa dissolução. Após equilíbrio térmico, ASNP12 ou ASNP24 (5 mol% ou 10 mol%) dissolvidos em 1 mL de DMSO e SDS (0,0158 g) foram adicionados, e  $\text{N}_2$  foi borbulhado na solução por, no mínimo, 30 min antes da polimerização. Em seguida, APS (0,0308 g) foi adicionado à solução. O volume final da reação foi de 50 mL. A reação tornou-se turva (seguida de aspecto leitoso), e foi mantida à  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 6 h, seguida de resfriamento à temperatura ambiente e agitação



constante por cerca de 15 h (*overnight*). Após o término da reação, os microgéis sintetizados foram ultracentrifugados (20.000 – 25.000 rpm, 45 min) e re-dispersos em água Milli-Q por 5 vezes consecutivas para a purificação do produto final. As quantidades correspondentes dos componentes da síntese e a identificação das amostras estão listados na Tabela 5.1.

**Tabela 5.1.** Identificação e quantidades correspondentes de cada síntese realizada.

Identificação da síntese/amostra*	NIPAM (mol.L <sup>-1</sup> )	ASNP12 (mol%) <sup>#</sup>	ASNP24 (mol%) <sup>#</sup>	SDS (mol.L <sup>-1</sup> )	APS (mol.L <sup>-1</sup> )
ASNP12-5-p(NIPAM)	0,077	5	-----	0,0011	0,0027
ASNP12-10-p(NIPAM)	0,077	10	-----	0,0011	0,0027
ASNP24-5-p(NIPAM)	0,077	-----	5	0,0011	0,0027
ASNP24-10-p(NIPAM)	0,077	-----	10	0,0011	0,0027

\* A identificação da síntese foi baseada no agente de reticulação utilizado e na concentração do mesmo na entrada da reação. A amostra identificada como ASNP12-10-p(NIPAM), por exemplo, significa que o agente de reticulação utilizado foi o ASNP12, na concentração de 10 mol%.

<sup>#</sup> O cálculo em mol% foi estimado através do número de grupos vinílicos substituídos. O cálculo foi baseado na massa molecular da glucose e no n° de grupos hidroxila substituídos por monômero.

## 5.3 CARACTERIZAÇÃO

### 5.3.1 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN <sup>1</sup>H)

Os espectros de RMN <sup>1</sup>H das ASNPs foram obtidos em DMSO-d<sub>6</sub> em um espectrômetro Bruker Avance de 500 MHz. Cerca de 20 mg de amostra foram utilizados para cada análise. Os espectros foram adquiridos em duplicata.

### 5.3.2 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR-ATR das amostras ASNPs foram determinadas em um equipamento de modelo Alpha-P (Bruker) no modo refletância total atenuada (ATR) entre

4000  $\text{cm}^{-1}$  a 500  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando 24 varreduras em resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . As leituras foram realizadas em duplicata.

### 5.3.3 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Espalhamento de Correlação Cruzada de Fótons (3D-PCCS)

As medidas de DLS para os microgéis ASNP24-5-p(NIPAM) e ASNP24-10-p(NIPAM) foram realizadas à 15 °C e a 45 °C (abaixo e acima da VPTT) utilizando o equipamento Brookhaven (goniômetro BI200SM,  $\lambda = 637 \text{ nm}$ , laser 75 mW He-Ne) com detector fotodiodo de avalanche (BI-APD) em ângulo fixo ( $\theta = 55^\circ$ ). O tratamento dos dados foi realizado utilizando o algoritmo REPES<sup>33</sup> incorporado ao programa GENDIST.

Parte das medidas de espalhamento de luz foi realizada em um 3D-PCCS (microgéis ASNP12-5-p(NIPAM) e ASNP12-10-p(NIPAM)). As amostras utilizadas nesta técnica foram analisadas em função do ângulo de espalhamento ( $\theta = 40 - 125^\circ$ ) em um equipamento da LS Instruments equipado com um modo de correlação digital multi- $\tau$  combinado com um laser de He-Ne com comprimento de onda de  $\lambda = 632,8 \text{ nm}$  (JDSU 1145P). O feixe de luz atravessa um divisor que promove a divisão do feixe em dois através de uma geometria específica de espelhos e lentes. Uma ilustração esquemática do equipamento é apresentada na Figura 5.3. Os experimentos foram realizados abaixo (15 °C) e acima (45 °C) da VPTT, com 3 medidas individuais em cada ângulo. O tratamento dos dados foi realizado através de transformadas inversas de Laplace, conhecido como algoritmo CONTIN,<sup>34</sup> em ambiente Linux desenvolvido pelo grupo.

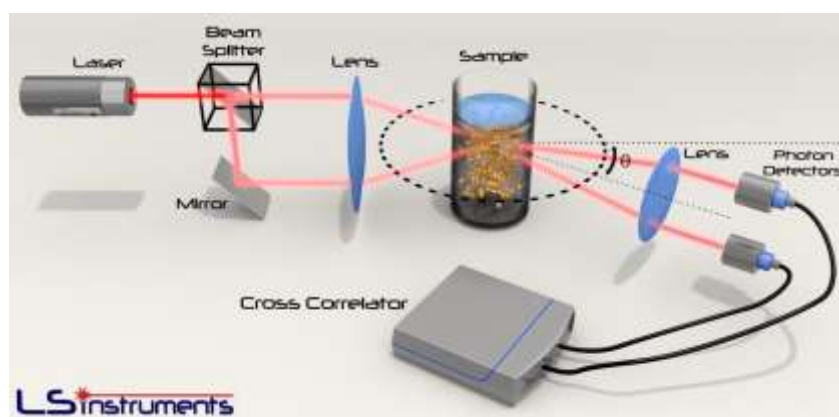


Figura 5.3. Geometria do equipamento 3D-PCCS (LS Instruments).

A técnica de 3D-PCCS é uma extensão da bem estabelecida espectroscopia de correlação de fótons (PCS), porém não limita-se apenas a sistemas diluídos, mas também a sistemas como suspensões e emulsões, que apresentam espalhamento múltiplo, e a partículas grandes, maiores que o comprimento de onda do laser. O princípio da técnica baseia-se no uso de dois feixes de luz de mesmo comprimento de onda que iluminam o mesmo volume de amostra. Desta forma, dois experimentos são realizados simultaneamente e a correlação cruzada de ambas as luzes espalhadas permite a separação de eventos de espalhamento único e múltiplo. Se ambos os experimentos tiverem o mesmo vetor de espalhamento  $q$  (tanto em magnitude quanto em direção), mas utilizam diferentes geometrias de espalhamento, cada detector recebe exatamente a mesma componente espacial de Fourier da amostra.<sup>35</sup>

Quando duas intensidades de luz espalhada (único + múltiplo) são correlacionadas de forma cruzada, correlações não triviais são observadas somente entre as partes de espalhamento único das duas intensidades. O resultado é que a parte dependente do tempo da medida temporal da função de correlação cruzada da intensidade de luz espalhada reflete apenas o espalhamento único. O espalhamento múltiplo contribui apenas para o espalhamento de fundo (*background*) independentemente do tempo. Dessa forma, o comportamento dinâmico de uma amostra turva pode ser analisado pelos mesmos métodos desenvolvidos para amostras transparentes, estudadas pelo DLS convencional.<sup>36</sup>

#### **5.3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

As imagens foram obtidas utilizando um equipamento EVO MA10 (Zeiss, Alemanha) e um equipamento JEOL 6060 (Japão). 2  $\mu\text{L}$  de suspensões diluídas dos microgéis preparados foram gentilmente colocados em lamínulas, secas e metalizadas com uma fina camada de ouro antes da aquisição das imagens.

#### **5.3.5 Determinação da VPTT (via análise turbidimétrica por UV-Vis)**

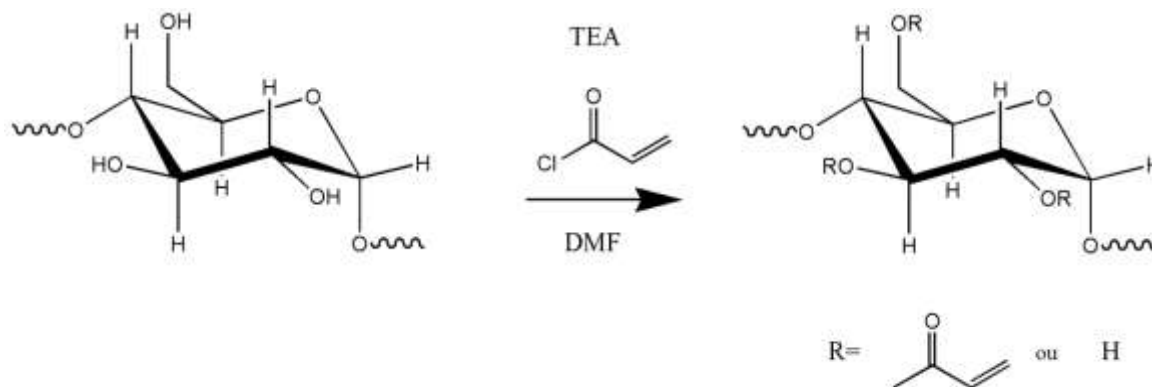
Suspensões aquosas diluídas dos microgéis sintetizados foram utilizadas para a determinação da VPTT. As leituras foram realizadas à  $\lambda = 500$  nm em um espectrômetro UV-

Vis (Cary 50, Varian) no modo absorvância com controle de temperatura acoplado (resolução de 0,1 °C). As medidas foram realizadas entre 15 e 45 °C, com razão de aquecimento variando de 0,5 à 3 °C. A temperatura foi considerada estável após 5 minutos do alcance da temperatura pré-determinada em cada medida.

## 5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

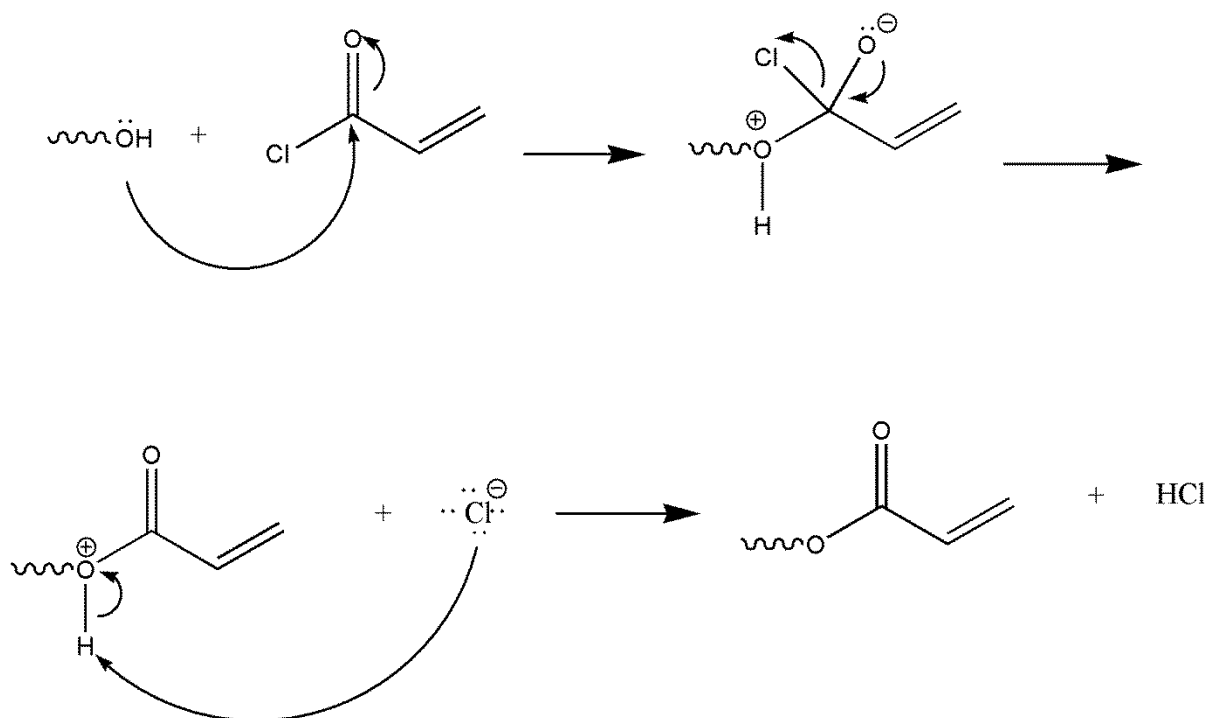
### 5.4.1 Síntese e caracterização das ASNPs

A representação esquemática da funcionalização das SNPs pelo cloreto de acrilóila é apresentado na Figura 5.4. O principal objetivo desta funcionalização é a inserção de ligações duplas nos polímeros do amido (substituindo alguns grupos –OH) visando sua utilização como agente de reticulação em substituição a agentes de reticulação não degradáveis (como o MBA, por exemplo).



**Figura 5.4.** Esquema de reação de funcionalização das SNPs.

Esta reação é conhecida como substituição nucleofílica no grupo acrilóila, semelhante à uma substituição nucleofílica no grupo acila.<sup>37-38</sup> No entanto, possui a diferença no grupamento *R*, que neste caso possui um grupo vinílico. Em geral, ocorre um ataque nucleofílico (adição nucleofílica) na carbonila seguido da perda do grupo abandonador (eliminação) devido à restauração da carbonila, sendo o produto final um derivado de éster vinílico. A Figura 5.5 ilustra o mecanismo desta reação.



**Figura 5.5.** Mecanismo da substituição nucleofílica que ocorre durante a reação entre os polímeros do amido e o cloreto de acrilóila. A cadeia polimérica foi omitida para melhor visualização, mostrando apenas o grupo reativo de interesse (-OH).

A reação entre um álcool e um haleto de acrilóila resulta em um éster vinílico, como ilustrado nas Figuras 5.4 e 5.5. As hidroxilas disponíveis na cadeia polimérica dos polissacarídeos atacam o carbono da carbonila do cloreto de acrilóila, levando à formação de um intermediário tetraédrico. Em seguida, a carbonila é restaurada seguida da eliminação do grupo abandonador (Cl). Como subproduto, ácido clorídrico (HCl) é formado e, por isso, trietilamina foi adicionada para promover a neutralização do ácido. A formação do produto neutralizado resulta em um sal insolúvel no meio, que foi removido através de filtração.

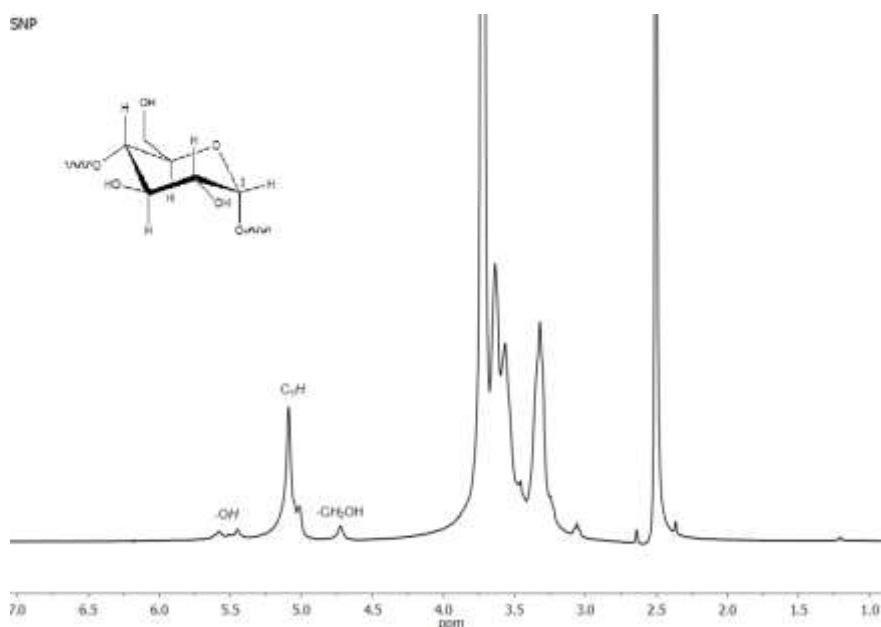
A remoção da água através da destilação foi realizada de forma exaustiva para que o ambiente reacional estivesse livre de água ao máximo possível, evitando a hidrólise do cloreto de acrilóila que forma o ácido carboxílico correspondente, produto indesejado para o objetivo da reação. No entanto, considerando a estrutura hidratada da amilose e da amilopectina e a boa interação destas com as moléculas de água através de ligações de hidrogênio, é possível que resíduos de água tenham permanecido no ambiente reacional.

Uma segunda reação, paralela, entre a trietilamina e o cloreto de acrilóila (formação de uma amida), também não foi descartada e provavelmente ocorreu, diminuindo o rendimento e o grau de substituição do produto de interesse. Assim, a reação foi realizada em excesso de cloreto de acrilóila e de trietilamina, sendo o excesso ou o subproduto indesejado eliminado na etapa de purificação.

A reação ilustrada na Figura 5.4 é sensível a efeitos estéricos, o que pode ser bastante útil para a substituição seletiva de um álcool primário na presença de um álcool mais impedido. Acredita-se que devido a essa seletividade e ao impedimento estérico da cadeia polimérica, as hidroxilas disponíveis ligadas ao carbono primário (C6) das cadeias que compõem os polímeros do amido foram substituídas prioritariamente em relação às demais hidroxilas disponíveis (hidroxilas ligadas aos carbonos secundários do anel glicosídico, C2 e C3). Inclusive, é relatado na literatura a ordem de reatividade das hidroxilas que compõem a unidade monomérica do amido ( $\text{OH}_{\text{C6}} > \text{OH}_{\text{C2}}, \text{OH}_{\text{C3}}$ ).<sup>39</sup>

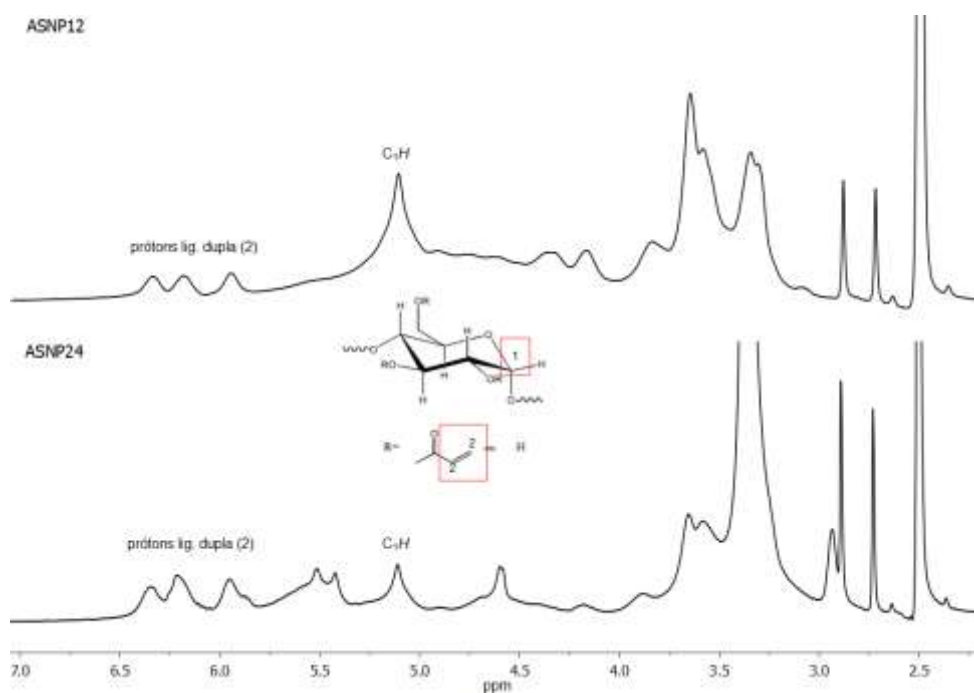
Deve-se também levar em consideração as ramificações  $\alpha(1\rightarrow6)$  das cadeias que compõem a amilopectina,<sup>40</sup> que indisponibilizam a reação na hidroxila ligada ao C6, ficando disponível apenas as hidroxilas ligadas aos carbonos C2 e C3.

A análise de RMN foi utilizada para a comprovação da funcionalização das SNPs e cálculo do GS. A Figura 5.6 mostra o espectro das SNPs, caracterizado pelo sinal em  $\delta = 5,1$  ppm atribuído ao hidrogênio ligado ao carbono anomérico da unidade glicosídica ( $\text{C}_1\text{H}$ ), seguido dos sinais dos grupos  $-\text{OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$  e da faixa entre  $\delta = 3,3 - 3,6$  ppm, atribuído aos hidrogênios ligados aos carbonos do anel de glicose.



**Figura 5.6.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H das SNPs.

Comparado ao espectro das SNPs, novos sinais nos espectros de RMN para as ASNPs puderam ser detectados (Figura 5.7). Os três novos sinais na faixa de  $\delta = 5,9 - 6,5$  ppm são atribuídos às ligações duplas inseridas no material de partida, comprovando o sucesso da funcionalização.



**Figura 5.7.** Espectros de RMN <sup>1</sup>H das ASNPs.

O grau de substituição (GS), definido neste caso como o número de ligações duplas por unidade de  $\alpha$ -D-glicose, foi determinado pela área dos picos de interesse dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 5.7), calculados de acordo com a equação 5.1.

O controle do tamanho e da forma é de importância fundamental na síntese de nanopartículas, como bem fundamentado no capítulo 3, pois o tamanho reduzido das partículas no domínio nanométrico está altamente associado ao aumento da reatividade superficial,<sup>31</sup> e essa propriedade é refletida no GS, como pode ser visto na Tabela 5.2.

**Tabela 5.2.** Grau de substituição (GS) das ASNPs

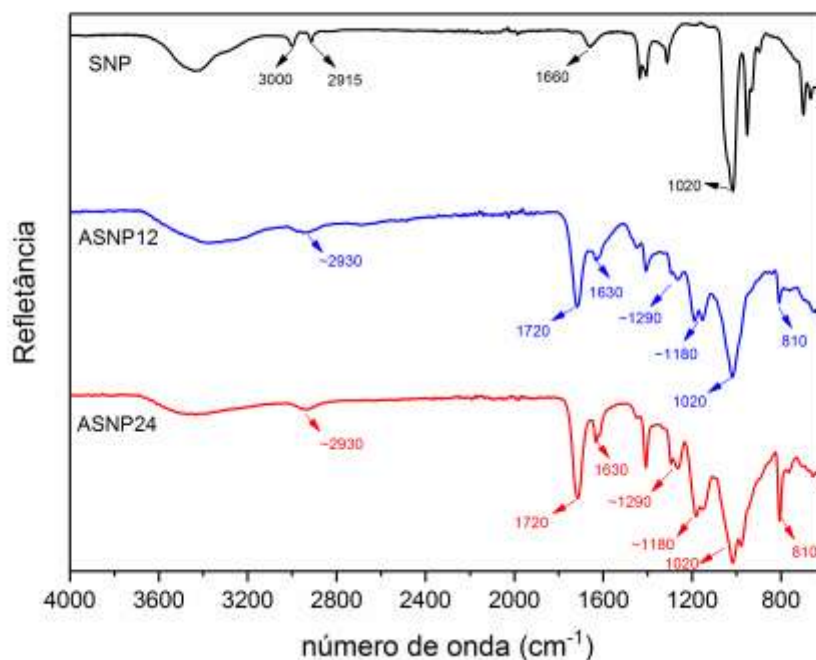
Amostra	GS*
ASNP12	0,78 $\pm$ 0,11
ASNP24	1,37 $\pm$ 0,08

\* Média de dois espectros.

Apesar de ser considerada uma reação rápida devido à qualidade do grupo abandonador (Cl<sup>-</sup>), a estrutura polimérica ramificada da amilopectina não permite o ataque nucleofílico rápido das hidroxilas à carbonila. Assim, o tempo de reação foi essencial para que um grau de substituição maior fosse atingido. O grau de substituição alcançado é considerado bastante alto, considerando o valor máximo igual a 3, e podem ser comparados àqueles encontrados na literatura para sistemas semelhantes.<sup>14, 21, 41</sup>

Análises de espectroscopia na região do infravermelho também foram realizadas para comprovação da funcionalização e detecção de possíveis resíduos e subprodutos no produto final. Os espectros podem ser encontrados na Figura 5.8, os quais contêm destacadas as principais bandas de interesse.





**Figura 5.8.** Espectros na região do infravermelho para a SNP, ASNP12 e ASNP24.

A caracterização das SNPs se dá principalmente pela detecção da banda larga de estiramento das hidroxilas entre de  $3300$  e  $3500\text{ cm}^{-1}$  e pelo estiramento da ligação C-O na região de  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Essa banda larga em frequências maiores é característica de hidroxilas que interagem através de ligações de hidrogênio intra ou intermoleculares. Na região entre  $3000$  e  $2900\text{ cm}^{-1}$ , observa-se a presença de bandas relacionadas ao estiramento C-H, presente em toda extensão do anel glicosídico que compõe os polímeros do amido. A banda em  $1660\text{ cm}^{-1}$  é relativa à deformação da ligação O-H.

Os espectros relativos às ASNPs são muito semelhantes entre si e contém as principais bandas relativas às SNPs, com alguns deslocamentos. Primeiramente, a formação do éster após a funcionalização resulta em uma banda em  $1720\text{ cm}^{-1}$ , característico do estiramento da ligação C=O. No entanto, a banda C=O de ésteres usualmente apresenta valores em frequências maiores ( $1740\text{ cm}^{-1}$ ). Esse deslocamento para frequências menores é devido à insaturação (COOC=C) conjugada no éster formado. O estiramento da ligação C-O do éster insaturado resulta em duas bandas fracas, uma na região de  $1300$ - $1250\text{ cm}^{-1}$  e outra entre  $1200$  e  $1050\text{ cm}^{-1}$ , mostradas no espectro da ASNP12 e ASNP24 ( $1290$  e  $1180\text{ cm}^{-1}$ ). O estiramento

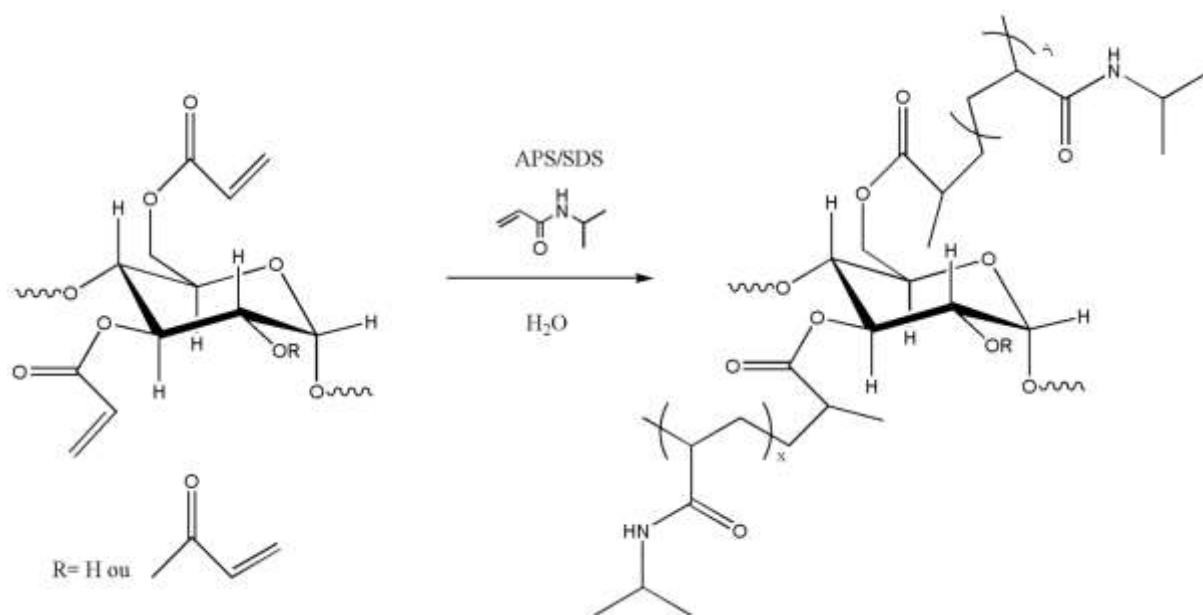
da ligação C=C pode ser observado na região de  $1630\text{ cm}^{-1}$ , enquanto a deformação fora do plano da mesma ligação se dá na região de  $800\text{ cm}^{-1}$ .

A análise ainda permite considerar que houve uma redução na banda de estiramento da hidroxila nos espectros das ASNPs, e é mais evidente naquela com maior grau de substituição (ASNP24). Não foram encontradas bandas características de subprodutos ou de resíduos de reagentes ou do solvente utilizado (vibração de ligações C-Cl, amins ou amidas).

#### **5.4.2 Síntese e caracterização de microgéis de p(NIPAM) utilizando ASNPs como agente de reticulação**

Os microgéis de p(NIPAM) foram sintetizados via EP, utilizando ASNP12 ou ASNP24 como agente de reticulação. Para que as ASNPs pudessem exercer a função reticulante, foi necessária a dissolução em meio adequado (DMSO) para que as cadeias pudessem adquirir efetiva mobilidade e fizessem as pontes entre as cadeias de p(NIPAM) em toda a extensão do microgel. A nomenclatura ASNP será utilizada para facilitar a discussão e a comparação entre os resultados.

Para melhor controle do tamanho e da polidispersão dos microgéis, optou-se pela síntese na presença de surfactante. A Figura 5.9 apresenta o esquema simplificado da reação de polimerização, no qual é apresentada de forma genérica a formação da ligação cruzada do microgel.



**Figura 5.9.** Esquema da síntese polimérica no qual ASNP12 ou ASNP24 foram utilizados como agente de reticulação.

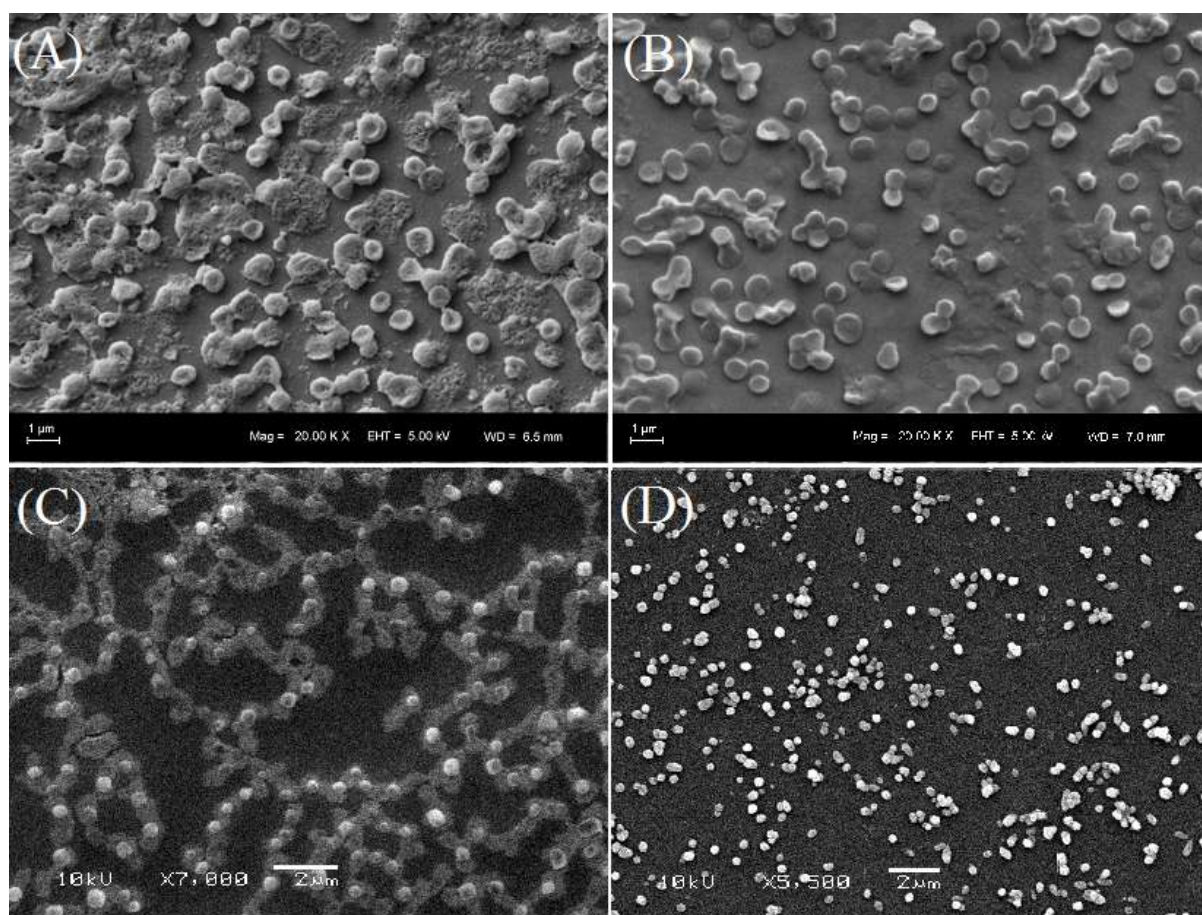
O esquema apresentado na Figura 5.9 ilustra superficialmente a estrutura prevista do polímero resultante. Deve-se levar em consideração o grau de substituição das ASNPs e a concentração do agente de reticulação sintetizado utilizado durante a formação do microgel. Os próximos itens serão dedicados à explanação dos efeitos destes parâmetros na estrutura, VPTT, tamanho e forma dos microgéis preparados.

#### 5.4.2.1 Morfologia dos microgéis

A técnica complementar de MEV foi utilizada basicamente para confirmar que os microgéis de fato foram formados. Isto porque a reação de polimerização utilizada já é amplamente fundamentada na literatura, e era sabido que os polímeros seriam formados (para tal, o monômero e o iniciador são suficientes). No entanto, para a formação de microgéis (e de géis de uma maneira geral), a presença de um agente de reticulação é essencial.

O formato dos microgéis utilizando as ASNPs como agente reticulante na síntese proposta ficou próximo aos típicos encontrados na literatura e podem ser vistos na Figura 5.10. As imagens (A) e (B) da Figura 5.10 apresentam os microgéis sintetizados com ASNP12, enquanto as imagens (C) e (D) apresentam os microgéis sintetizados com ASNP24.

Há relatos na literatura de que o p(NIPAM) pode se auto reticular através de reações de transferência de cadeia,<sup>42</sup> e esse fenômeno não pode ser totalmente descartado. Por isso, a concentração de NIPAM foi mantida constante em todas as formulações propostas. Assim, se houvessem diferenças na morfologia (bem como em outras propriedades das partículas preparadas), estas seriam devido à presença e ação do agente de reticulação sintetizado e utilizado na preparação dos microgéis.



**Figura 5.10.** Imagens de MEV para os microgéis sintetizados com agente reticulante ASNP12 ou ASNP24. Em (A), ASNP12-5-p(NIPAM), (B) ASNP12-10-p(NIPAM), (C) ASNP24-5-p(NIPAM) e (D) ASNP24-10-p(NIPAM).

As imagens dos microgéis formados com menor concentração de ASNP12 (5 mol%, Figura 5.10 - A) apresentaram, além das partículas esféricas desejadas, um depósito de polímero colapsado ou sem formato aparente. Acredita-se que pela baixa concentração de ASNP12 durante a síntese e também pelo próprio baixo grau de substituição, a reação parece

ter certa propensão à formação de polímeros sem arquitetura definida em vez da formação de partículas com forma definida. Além disso, as partículas parecem ter "murchado", provavelmente devido ao baixo número de pontos de reticulação que não foram capazes de manter a estrutura esférica do microgel.

Em concentrações maiores de ASNP12 (10 mol%, Figura 5.10 - B), partículas com formato esférico de forma mais regular puderam ser encontradas. Pela maior concentração de ASNP12, uma distribuição de partículas mais homogênea e com baixa polidispersão aparente é observada, indicando a influência da densidade de ligações cruzadas. Em ambas as preparações com ASNP12, observa-se que, em geral, as partículas são relativamente grandes, o que pode ser o resultado de uma baixa densidade de reticulação, que permite a hidratação da rede polimérica de forma mais intensa abaixo da VPTT.

Nos microgéis sintetizados com ASNP24 (Figura 5.10 – C, D), diferentes aspectos devem ser considerados. O fato do grau de substituição da ASNP24 ser maior levou à formação de microgéis com estrutura esférica muito mais definida e aparentemente mais rígida. Uma limitação do microscópio<sup>†</sup> impediu uma aproximação com foco bem definido, mas observa-se que estes microgéis são ligeiramente menores que aqueles sintetizados com ASNP12. É relatado na literatura que partículas com maior teor de reticulação são capazes de melhor manter a forma esférica após a remoção do solvente.<sup>43</sup>

Em geral, apesar de alguma agregação e polidispersão, os microgéis puderam ser sintetizados utilizando ASNP como agente reticulante, demonstrando que a funcionalização das SNPs foi satisfatória em ambos os graus de substituição e que cumpriu com a função desejada.

#### 5.4.2.2 VPTT dos microgéis

A determinação da VPTT dos microgéis foi realizada através de análise turbidimétrica via UV-Vis no modo absorvância. A VPTT, por análise turbidimétrica, é determinada pelo ponto nuvem (*cloud point*, CP) via UV-Vis. Quando no modo absorvância, a intensidade de luz absorvida pelo microgel à baixas temperaturas ( $T \ll VPTT$ ) é praticamente negligenciável. Com o aumento da temperatura, alcançando a VPTT, o microgel em solução passa a absorver luz devido ao colapso das partículas, que visualmente é detectado pela turvação da solução.

---

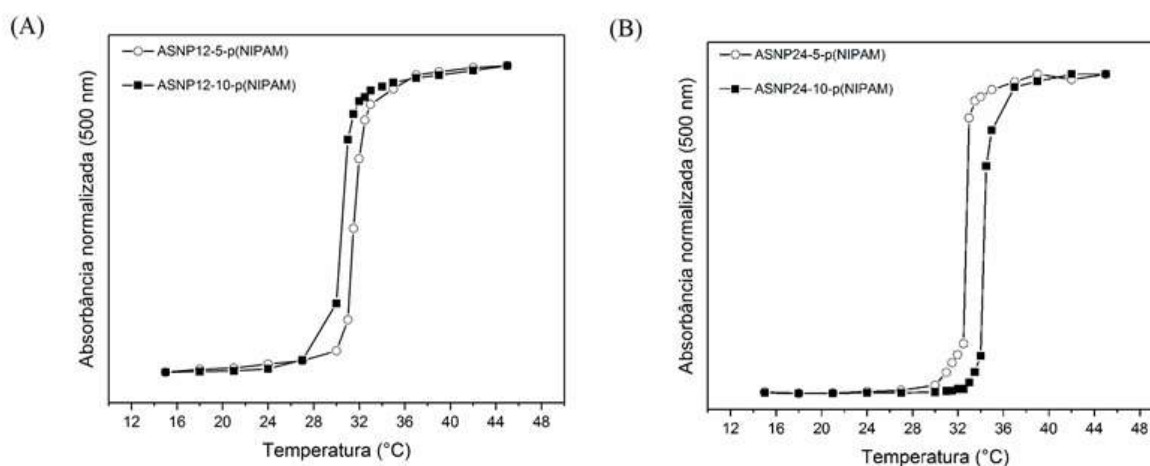
<sup>†</sup> A falta de foco em ampliações muito altas limitou o uso do microscópio em determinadas aproximações.

No entanto, deve-se levar em consideração a concentração do microgel em solução. Isso porque a determinação da VPTT via análise turbidimétrica é dependente da concentração e, quanto maior, menor a temperatura encontrada devido às interações hidrofóbicas mais intensas e a conseqüente turbidez antecipada da solução. Por isso, é importante a utilização de concentrações idênticas quando se quer comparar a VPTT de microgéis ou então normalizar a intensidade de luz pela concentração do microgel em solução.<sup>44</sup> O mesmo é válido para a determinação da LCST de polímeros termo-responsivos lineares.<sup>45</sup> A determinação da VPTT através da análise turbidimétrica é uma boa alternativa quando não é possível a determinação da mesma via DLS, resultando em valores muito semelhantes e em concordância entre si.<sup>44</sup>

O processo de colapso de microgéis termo-responsivos é efeito da difusão da água para fora das partículas, governado pelas interações polímero-polímero e polímero-água. De acordo com a teoria de intumescimento e colapso, quanto menor o tamanho do hidrogel, mais rápida é a difusão da água para fora da partícula e maior a taxa de responsividade,<sup>14</sup> como descrito na revisão bibliográfica (Capítulo 2). Assim, espera-se que em microgéis essa responsividade seja quase instantânea.

A Figura 5.11 apresenta os resultados da determinação da VPTT dos microgéis preparados com os agentes de reticulação sintetizados (ASNP12 ou ASNP24). A partir dos gráficos, é possível observar que todos os microgéis apresentaram uma transição de fase em temperatura bem definida, como esperado a partir da teoria de intumescimento e colapso. Ainda, pode ser observada uma mudança no comportamento da temperatura de transição de fase dos microgéis sintetizados com os agentes de reticulação mais ou menos substituídos.





**Figura 5.11.** Determinação da VPTT para os microgéis sintetizados utilizando (A) ASNP12 e (B) ASNP24 como agente de reticulação.

Na Figura 5.11 – A, é apresentado o comportamento dos microgéis preparados com o agente de reticulação ASNP12, que possui  $GS < 1$ . A transição de fase ocorreu em temperatura muito semelhante ou menor que àquela de microgéis de p(NIPAM) reticulados com MBA descritos na literatura (entre 30°C e 32 °C). Dessa forma, considera-se que os polímeros do amido funcionalizados agiram como o agente de reticulação e tiveram pouco efeito na VPTT dos microgéis. Como observado nas imagens de MEV do item anterior, os microgéis sintetizados com o agente de reticulação ASNP12 apresentaram uma morfologia pouco rígida, provavelmente devido à baixa densidade de ligações cruzadas. Essa hipótese pode ser relacionada ao observado na Figura 5.11 – A à respeito da VPTT encontrada. Considerando que há uma baixa densidade de ligações cruzadas, a presença de cadeias longas entre dois pontos de reticulação permite interações hidrofóbicas de maior intensidade, levando ao colapso de microgéis em temperatura igual ou abaixo do comportamento típico de microgéis de p(NIPAM), assemelhando-se inclusive ao comportamento de polímeros lineares de p(NIPAM).

Quando observamos a Figura 5.11 – B, um comportamento diferente é detectado. Além do deslocamento sutil da VPTT para valores maiores, observa-se uma diferença entre os microgéis preparados com diferentes concentrações de agente de reticulação. O microgel ASNP24-5-p(NIPAM) apresentou VPTT em 33,5 °C enquanto o microgel ASNP24-10-p(NIPAM) apresentou VPTT em 35 °C. Esse deslocamento para valores maiores de

temperatura de transição de fase sugere uma ação dupla da ASNP24: a reticulação da rede polimérica e a participação da ASNP24 como copolímero hidrofílico.

O maior grau de substituição alcançado na ASNP24 permite considerar que a distância entre dois pontos de reticulação, neste caso, é menor. Essa menor distância conseqüentemente diminui a distância entre as cadeias poliméricas dentro do microgel, permitindo uma maior interação hidrofílica entre os segmentos. Acredita-se que essa interação pode ser semelhante àquela descrita no capítulo 4, onde ligações de hidrogênio puderam ser estabelecidas entre os grupos hidroxila remanescentes da estrutura da ASNP com os grupamentos amida do p(NIPAM). O resultado dessa interação é o deslocamento da VPTT para valores maiores e, dessa forma, a ASNP24 agiu também como copolímero na estrutura do microgel, provendo maior estabilidade termodinâmica através da interação com o p(NIPAM).

#### 5.4.2.3 Aspectos dinâmicos dos microgéis

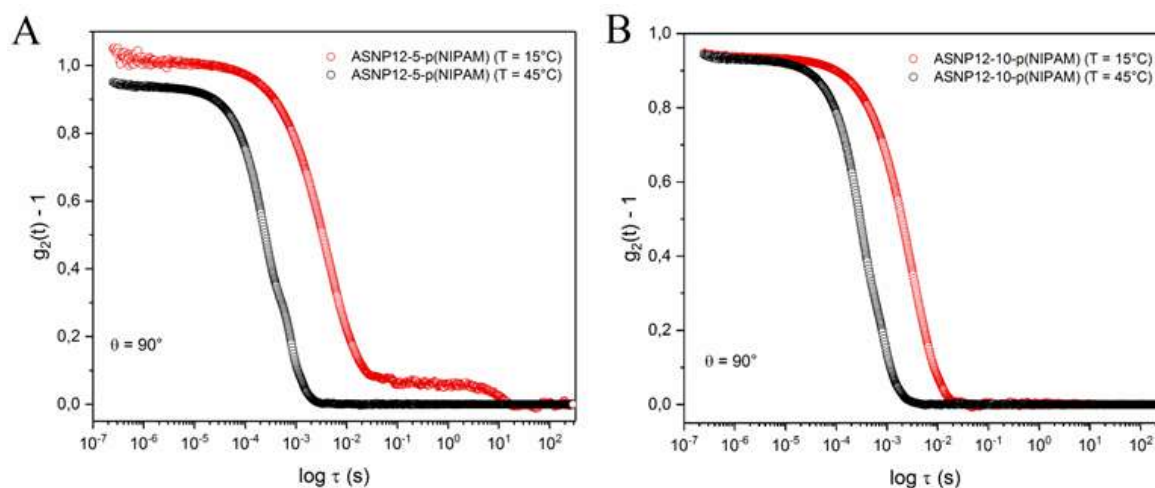
Experimentos de DLS foram realizados para todos os microgéis sintetizados contendo ASNP12 ou ASNP24 como agente de reticulação. Medidas em ângulo fixo com variação de temperatura não puderam ser realizadas devido à limitação técnica do equipamento (em baixas temperaturas os microgéis intumescidos em solução são muito grandes, principalmente aqueles sintetizados com ASNP12, agregando interferência devido ao espalhamento múltiplo). Dessa forma, o  $R_h$  dos microgéis foi determinado à temperatura fixa, ou seja, abaixo (15 °C, partículas intumescidas) e acima (45 °C, partículas colapsadas) da VPTT, através da determinação do coeficiente de difusão.

O uso do DLS permite que a dependência do tempo das flutuações possa ser relacionado com o coeficiente de difusão das macromoléculas.<sup>46</sup> Esse modo é caracterizado como difusivo quando a taxa de relaxação ( $\Gamma$ ) depende linearmente do quadrado do vetor de espalhamento ( $q^2$ ), podendo o coeficiente de difusão ( $D$ ) ser determinado a partir da equação 2.9 (capítulo 2). O  $R_h$ , então, pode ser relacionado com  $D$  utilizando a equação de Stokes-Einstein para uma esfera (equação 2.10, capítulo 2).

Para os microgéis sintetizados com o agente de reticulação ASNP12, os experimentos não puderam ser realizados no equipamento de DLS convencional. Devido ao tamanho desses microgéis abaixo da temperatura de transição de fase e da aparência da solução (levemente turva, mesmo diluída) contendo esses microgéis, as medidas ficaram comprometidas. Assim,



optou-se pela utilização do 3D-PCCS, que minimiza as interferências e separa os eventos de espalhamento único e múltiplo. As Figuras 5.12 e 5.13 apresentam os resultados obtidos no experimento de 3D-PCCS realizado.



**Figura 5.12.** Funções de correlação temporal em  $\theta = 90^\circ$  à  $15^\circ\text{C}$  (curvas em vermelho) e à  $45^\circ\text{C}$  (curvas em preto) para os microgéis sintetizados utilizando ASN12 como agente de reticulação. Em (A), amostra ASN12-5-p(NIPAM); em (B), amostra ASN12-10-p(NIPAM).

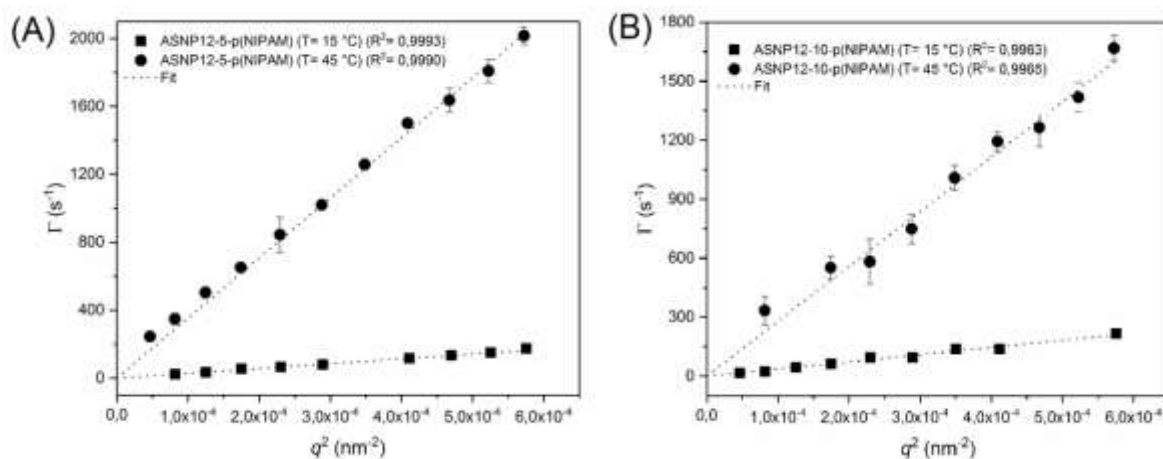
De acordo com as funções de correlação apresentadas na Figura 5.12, todos os sistemas coloidais apresentaram um decaimento exponencial e, em certos casos, desvios desse decaimento são observados. A amostra ASN12-5-p(NIPAM) (Figura 5.12 - A), em ambas as temperaturas, apresentou um comportamento diferente no decaimento frente às curvas da amostra ASN12-10-p(NIPAM) (Figura 5.12 - B), sendo esse comportamento mais pronunciado abaixo da VPTT. A curva em vermelho da Figura 5.12 - A, referente à síntese com 5 mol% de ASN12, apresentou desvios no final do decaimento, com flutuações próximas de zero e longos tempos de relaxação, que podem estar relacionados à formação de agregados e a partículas com coeficiente de difusão menores, caracterizando partículas com difusão mais lenta e, portanto, maiores.

Acima da VPTT (curva em preto da Figura 5.12 - A, referente à síntese com 5 mol% de ASN12), um "ombro" sutil pode ser observado no decaimento da curva e pode estar relacionado também com a formação de agregados. Essa possível agregação pode estar

relacionada com a baixa concentração de SDS utilizada durante a síntese, que pode não ter sido suficiente para a estabilização eletrostática das partículas. Para os microgéis sintetizados com 10 mol% de ASN12 (Figura 5.12 – B), o decaimento das curvas de correlação foram bastante ordinários e nenhum desvio foi observado.

Para ambos os microgéis, observa-se que as curvas de correlação temporal possuem deslocamentos no decaimento exponencial para tempos mais curtos quando estão acima da VPTT (curvas em preto), caracterizando partículas com difusão mais rápida e, portanto, menores, como esperado para microgéis termo-responsivos. Apenas observando as funções de correlação é possível relacionar certa mudança na forma e estrutura desses microgéis quando uma maior quantidade de agente de reticulação é utilizada. Quando 5 mol% de ASN12 é empregado, menos pontos de reticulação estão presentes no microgel, e o tamanho e movimento dessas partículas muda de forma bastante significativa.

A Figura 5.13 apresenta os resultados de  $\Gamma$  vs.  $q^2$  para cada microgel, nas diferentes temperaturas de análise. As regressões lineares da mesma amostra em diferentes temperaturas são mostradas no mesmo gráfico para melhor visualização das diferentes grandezas. A Tabela 5.3 apresenta os valores de  $R_h$  calculados a partir do ajuste das curvas da Figura 5.13.



**Figura 5.13.**  $\Gamma$  vs.  $q^2$  para os microgéis sintetizados com ASN12 como agente de reticulação à 15 °C (quadrados) e à 45 °C (círculos). Em (A), amostra ASN12-5-p(NIPAM); em (B), amostra ASN12-10-p(NIPAM).

**Tabela 5.3.** Coeficiente de difusão ( $D$ ) e raio hidrodinâmico ( $R_h$ ) para os microgéis sintetizados com o agente de reticulação ASNP12.

Amostra	Temperatura (°C)	$D$ (nm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	$R_h$ (nm)
ASNP12-5-p(NIPAM)	15	2,842.10 <sup>5</sup>	654
ASNP12-5-p(NIPAM)	45	3,537.10 <sup>6</sup>	122
ASNP12-10-p(NIPAM)	15	3,656.10 <sup>5</sup>	508
ASNP12-10-p(NIPAM)	45	2,787.10 <sup>6</sup>	155

Apesar de alguns deslocamentos observados no decaimento das funções exponenciais das curvas de correlação vistos anteriormente, o ajuste linear nos gráficos de  $\Gamma$  vs.  $q^2$  da Figura 5.13 mostra que, para estes sistemas, apenas fenômenos difusivos estão relacionados ao movimento dessas partículas em solução. Como previsto pelas curvas de correlação temporal, as amostras analisadas à 15 °C possuem coeficientes de difusão menores, caracterizando microgéis relativamente grandes, como mostrado na Tabela 5.3.

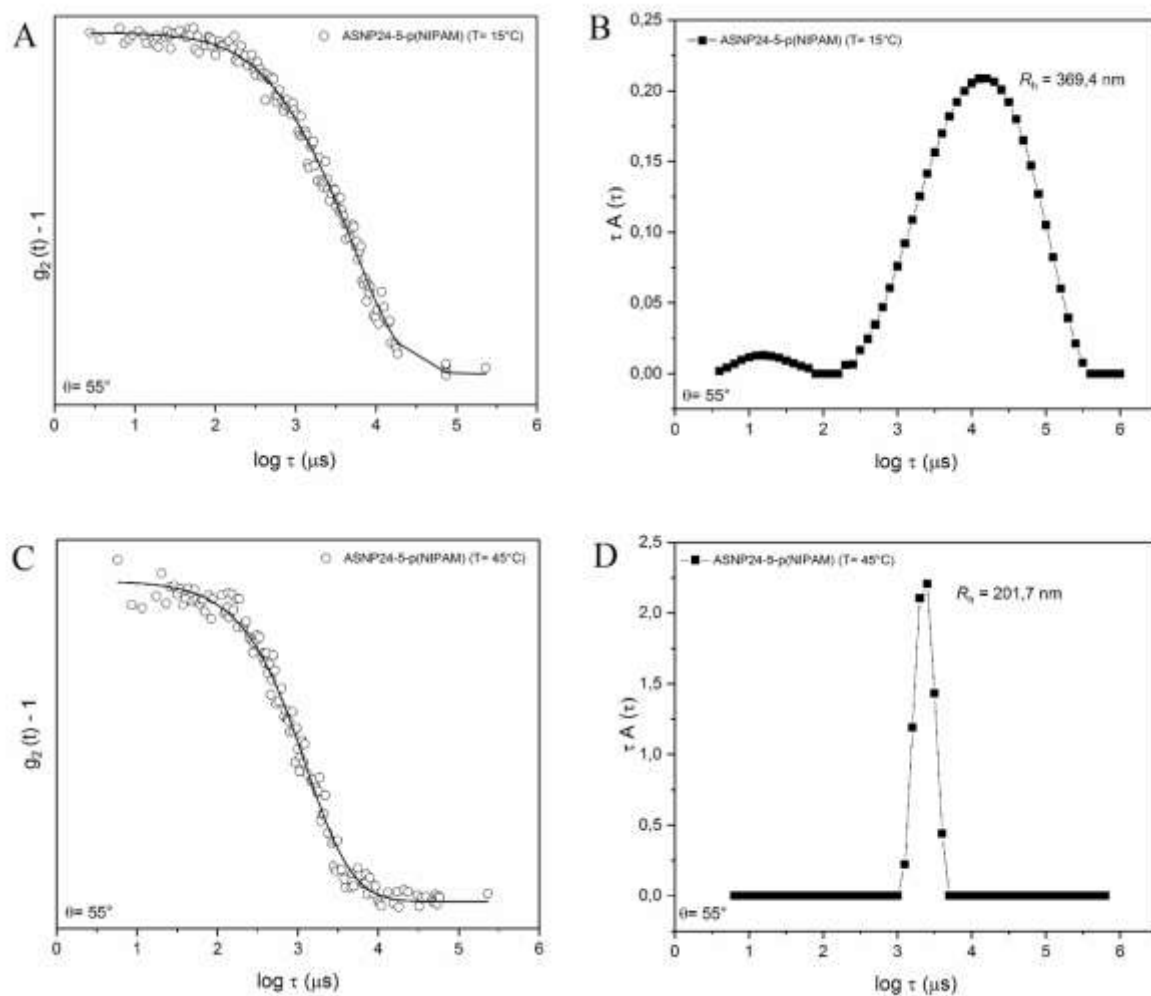
A diferença observada para o  $R_h$  dos microgéis sintetizados com 5 e 10 mol% de ASNP12 à 15 °C é significativa, e pode ser atribuída à maior densidade de reticulação existente no microgel ASNP12-10-p(NIPAM). A razão entre os valores de raio hidrodinâmico da amostra ASNP12-5-p(NIPAM) à 15 °C e à 45 °C é de cerca de 4 vezes, enquanto para a amostra ASNP12-10-p(NIPAM) essa razão é de cerca de 3 vezes. Acredita-se que o maior número de pontos de reticulação na amostra ASNP12-10-p(NIPAM) enrijece parcialmente a estrutura tridimensional e impede sua expansão no solvente. Mesmo assim, o intumescimento desses microgéis é bastante pronunciado, o que provavelmente está relacionado ao baixo grau de substituição da ASNP12.

A Tabela 5.3 ainda apresenta as determinações de  $R_h$  para os sistemas à 45 °C. De acordo com os resultados obtidos os microgéis apresentaram  $R_h$  bastante pequenos quando colapsados, apresentando valores bastante semelhantes entre si. No entanto, se consideramos o valor de  $R_h$  de cada microgel abaixo e acima da VPTT, o colapso do microgel sintetizado com 10 mol% de ASNP12 foi mais limitado, provavelmente devido ao menor empacotamento da rede polimérica devido ao maior número de pontos de reticulação. O  $R_h$  de microgéis colapsados é dependente da densidade de ligações cruzadas,<sup>9</sup> sendo que para baixas densidades das mesmas os microgéis comportam-se como polímeros lineares de alta massa

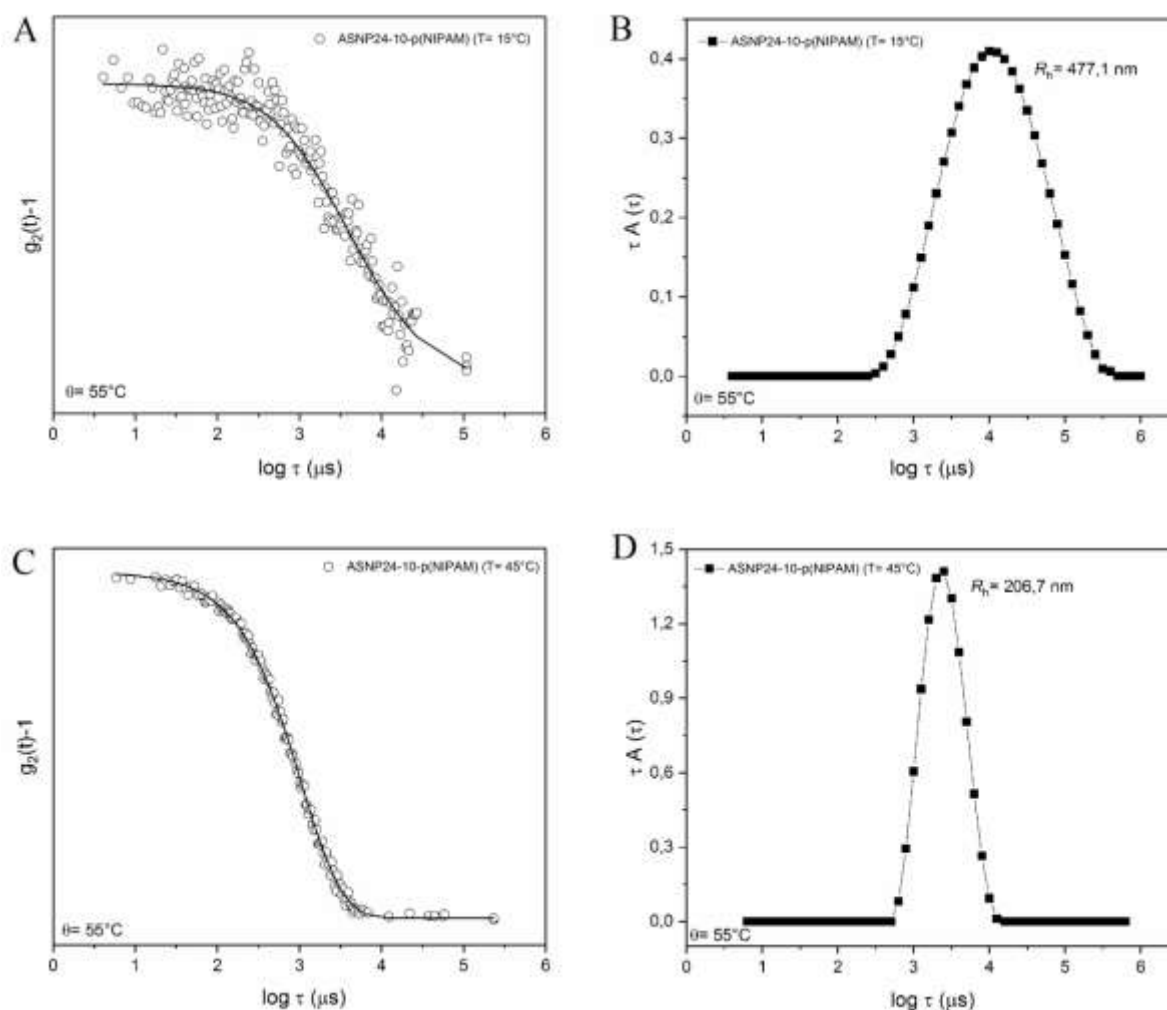
molecular, enquanto à altas densidades de ligações cruzadas os microgéis tendem à um comportamento mais rígido e impenetrável, semelhante à dispersões de esferas rígidas.

Os resultados de DLS para os microgéis sintetizados com o agente de reticulação ASNP24 são apresentados nas Figuras 5.14 e 5.15. Por uma limitação temporal, não foi possível a análise dessas amostras no 3D-PCCS e, por isso, utilizou-se um equipamento de DLS convencional disponível. Apesar da tentativa de correlacionar os dados da mesma forma que o apresentado anteriormente (gráficos  $\Gamma$  vs.  $q^2$ ), uma limitação permitiu medidas em apenas alguns poucos ângulos (baixos). Dessa forma, optou-se pela apresentação dos resultados contendo apenas as funções de correlação e a distribuição dos tempos de relaxação em apenas um ângulo de observação. A observação através das imagens de MEV e a previsão teórica de partículas esféricas forneceram certa liberdade para que a análise fosse realizada em ângulo fixo. No entanto, as partículas quando intumescidas (15 °C) possuem de fato diâmetro elevado e o tratamento dos resultados é realizado no limite da técnica, sendo essa condição de influência importante nos resultados apresentados.

As propriedades da luz espalhada por uma amostra podem ser classificadas em termos da razão entre o caminho livre de um fóton ( $L_p$ ) (distância média de viagem de um fóton no meio antes de ser espalhado) e o tamanho da amostra ( $L_s$ ). Para  $L_p/L_s \gg 1$ , a amostra é transparente, o que significa que os fótons atravessam a amostra sem espalhar ou espalham apenas uma vez, e a probabilidade de espalhamento múltiplo é negligenciável. Quando  $L_p/L_s \sim 1$ , as contribuições de não espalhamento, espalhamento único e espalhamento múltiplo são de magnitudes comparáveis. Nesse caso a amostra possui turbidez, mas ainda é possível ver através dela. Em casos mais extremos, quando  $L_p/L_s \ll 1$ , a amostra é opaca e o espalhamento múltiplo é dominante.<sup>36, 47</sup> Acredita-se que a leve turbidez devido ao tamanho dos microgéis ASNP24-5-p(NIPAM) e ASNP24-10-p(NIPAM) intumescidos influenciou a qualidade dos resultados obtidos pela técnica de DLS convencional, conforme apresentado abaixo.



**Figura 5.14.** Funções de correlação temporal (A e C) e distribuições de tempos de relaxação (B e D) para o microgel ASP24-5-p(NIPAM) à 15 °C (A e B) e 45 °C (C e D).



**Figura 5.15.** Funções de correlação temporal (A e C) e distribuições de tempos de relaxação (B e D) para o microgel ASPNP24-10-p(NIPAM) à  $15^\circ\text{C}$  (A e B) e  $45^\circ\text{C}$  (C e D).

As funções de correlação temporal apresentadas nas Figuras 5.14 e 5.15 para os microgéis intumescidos ( $15^\circ\text{C}$ ) apresentam desvios facilmente observáveis de um decaimento exponencial. Esses desvios são relacionados ao longo tempo de relaxação dessas partículas em solução, que caracterizam sistemas compostos de partículas grandes, como apresentado nos gráficos de distribuição de tempos de relaxação. A tentativa de ajuste das funções de correlação temporal dos microgéis intumescidos, em especial aquele apresentado na Figura 5.15 – A, permite observar uma dispersão grande, principalmente em tempos curtos. Esses desvios podem ser relacionados à polidispersão das amostras, que são refletidos nas largas

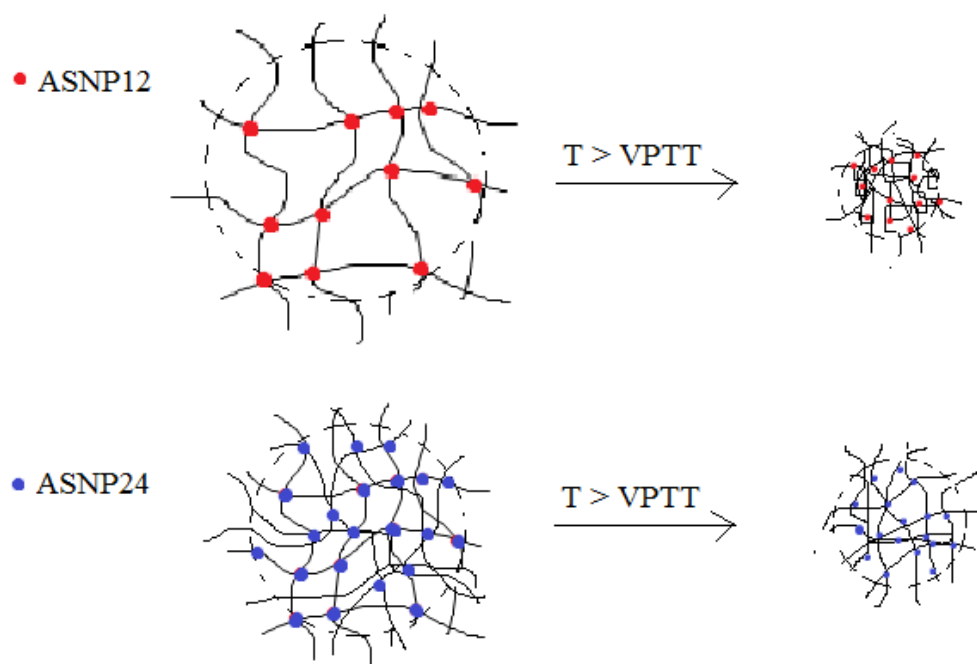
distribuições encontradas. Essas distribuições apresentam um valor de raio hidrodinâmico médio e, nesses casos, com desvios bastante significativos.

A rota de polimerização dos microgéis prevê a formação de partículas pouco polidispersas, como foi o resultado obtido com os microgéis sintetizados com ASNP12 e analisados através do 3D-PCCS. Por isso, consideramos os resultados apresentados nas Figuras 5.14 – A,B e 5.15 – A,B não conclusivos, visto que podem estar contaminados com o sinal de espalhamento múltiplo.

Os resultados do comportamento dinâmico dos microgéis ASNP24-5-p(NIPAM) e ASNP24-10-p(NIPAM) obtidos acima da VPTT podem ser considerados bem mais confiáveis, visto que o tamanho dos microgéis nesta temperatura permite uma aplicação da teoria de espalhamento de luz dinâmico dentro dos limites do equipamento. As funções de correlação temporal apresentam decaimento em tempos mais curtos, característico de partículas com difusão mais rápida, e apresentam poucos desvios, apresentando então distribuições de tempos de relaxação mais estreitos. Resultados em outros ângulos de observação para esses microgéis colapsados apresentaram comportamento bastante semelhante.

Considerando os valores médios de  $R_h$  observados, pode-se prever que a densidade de ligações cruzadas presente nesses microgéis sintetizados com ASNP24 é maior, como previsto pelo maior grau de substituição da ASNP utilizada como agente de reticulação e pelos resultados de VPTT obtidos através do UV-Vis. O maior número de pontos de reticulação resulta em um empacotamento maior da rede polimérica que limita o intumescimento dos microgéis, em comparação com os resultados obtidos para aqueles sintetizados com ASNP12. Esta maior densidade também limita o colapso, porque os segmentos de cadeia entre os pontos de reticulação possuem pouco espaço conformacional para sua organização de forma mais compacta. Os resultados obtidos com essa variação de densidade de ligações cruzadas na estrutura interna do microgel estão em concordância com a literatura, quando comparado à agentes de reticulação usuais.<sup>9, 48-49</sup>

Sintetizando os resultados obtidos da influência da reticulação nos microgéis apresentados neste capítulo, uma proposta da estrutura dessas partículas foi feita e é apresentada na Figura 5.16.



**Figura 5.16.** Ilustração da rede reticulada dos microgéis preparados com os diferentes agentes de reticulação e o efeito causado no  $R_h$  das partículas.

Basicamente, a Figura 5.16 procura ilustrar a discussão realizada nos itens anteriores. O baixo grau de reticulação (representado em vermelho) permite uma hidratação melhor das cadeias abaixo da VPTT. No entanto, acima da temperatura de transição de fase esse mesmo baixo grau de reticulação permite interações hidrofóbicas entre os segmentos com maior intensidade, e a variação do  $R_h$  é muito mais sensível. Com o aumento da densidade de ligações cruzadas (representado em azul), o microgel adquire estrutura mais rígida e não permite uma hidratação tão efetiva abaixo da VPTT. Ao colapsar, os pontos de reticulação em maior concentração não permitem a aproximação dos segmentos hidrofóbicos devido à um relativo impedimento espacial, e a variação do  $R_h$  é mais sutil.

## 5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste capítulo, a proposta de funcionalização das SNPs pôde ser desenvolvida com sucesso e as ASNPs puderam ser utilizadas como agente de reticulação na formação de microgéis de p(NIPAM). A maior área superficial dos polímeros do amido permitiu a substituição das hidroxilas pelos grupos funcionais de interesse em um grau elevado.



Foi observado que o grau de substituição das ASNPs é determinante nas propriedades do microgel formado. Quando o GS do agente de reticulação foi menor que 1, microgéis com intumescimento elevado foram observados devido à baixa reticulação na estrutura do microgel. Nos microgéis reticulados com ASNPs com GS maior que 1, estruturas mais empacotadas e densas em função do maior número de pontos de reticulação foram verificadas. Para estes microgéis, observou-se um deslocamento da VPTT para valores mais elevados, indicando que o agente de reticulação sintetizado participou também como copolímero hidrofílico.

A grande vantagem do uso das ASNPs como agente de reticulação em relação aos reticulantes tradicionais é a possibilidade de atuação também como copolímero hidrofílico, possibilitando então o deslocamento da VPTT dos microgéis para temperaturas maiores. A conhecida biocompatibilidade dos polímeros do amido também traz vantagens para os microgéis preparados, podendo ser testados e aplicados em sistemas diversos.

## 5.6 REFERÊNCIAS

1. Costa, H. M. d.; Visconte, L. L. Y.; Nunes, R. C. R.; Furtado, C. R. G.; *Polímeros*. **2003**, *13*, 125-129.
2. Mane, S.; Ponrathnam, S.; Chavan, N.; *Canadian Chemical Transactions*. **2015**, *3* (4), 13.
3. Maitra, J.; Shukla, V. K.; *American Journal of Polymer Science*. **2014**, *4* (2), 25-31.
4. Dai, Z. J.; Ngai, T.; *Journal of Polymer Science Part a-Polymer Chemistry*. **2013**, *51* (14), 2995-3003.
5. Dickinson, E.; *Trends in Food Science & Technology*. **2015**, *43* (2), 178-188.
6. Hertle, Y.; Hellweg, T.; *J Mater Chem B*. **2013**, *1* (43), 5874-5885.
7. Nolan, C. M. Microgel based materials for controlled macromolecule delivery. Georgia Institute of Technology, Georgia, 2005.
8. Pelton, R. H.; Chibante, P.; *Colloids and Surfaces*. **1986**, *20* (3), 247-256.
9. Zeiser, M.; Freudensprung, I.; Hellweg, T.; *Polymer*. **2012**, *53* (26), 6096-6101.
10. Virtanen, O. L.; Mourran, A.; Pinard, P. T.; Richtering, W.; *Soft Matter*. **2016**, *12* (17), 3919-28.

11. Milani, A. H.; Freemont, A. J.; Hoyland, J. A.; Adlam, D. J.; Saunders, B. R.; *Biomacromolecules*. **2012**, *13* (9), 2793-801.
12. George, J. D.; Price, C. J.; Marr, M. C.; Myers, C. B.; Schwetz, B. A.; Heindel, J. J.; *Toxicol Sci*. **1998**, *46* (1), 124-33.
13. Kratz, K.; Lapp, A.; Eimer, W.; Hellweg, T.; *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **2002**, *197* (1-3), 55-67.
14. Constantin, M.; Bucatariu, S.; Ascenzi, P.; Simionescu, B. C.; Fundueanu, G.; *Reactive & Functional Polymers*. **2014**, *84*, 1-9.
15. Hu, X.; Tong, Z.; Lyon, L. A.; *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*. **2011**, *27* (7), 4142-4148.
16. Zhang, X.; Lu, S.; Gao, C.; Chen, C.; Liu, M.; *Nanoscale*. **2013**, *5* (14), 6498-506.
17. Gaulding, J. C.; Smith, M. H.; Hyatt, J. S.; Fernandez-Nieves, A.; Lyon, L. A.; *Macromolecules*. **2012**, *45* (1), 39-45.
18. Chen, Q.; Yu, H.; Wang, L.; ul Abidin, Z.; Chen, Y.; Wang, J.; Zhou, W.; Yang, X.; Khan, R. U.; Zhang, H.; Chen, X.; *Rsc Advances*. **2015**, *5* (83), 67459-67474.
19. Li, M.; Zhu, Z.; Pan, X.; *Starch - Stärke*. **2011**, *63* (11), 683-691.
20. Mohammed, A. D.; Young, D. A.; Vosloo, H. C. M.; *Starch - Stärke*. **2014**, *66* (3-4), 393-399.
21. Fang, J. M.; Fowler, P. A.; Hill, C. A. S.; *Journal of Applied Polymer Science*. **2005**, *96* (2), 452-459.
22. Kaewtatip, K.; Tanrattanakul, V.; *Carbohydr Polym*. **2008**, *73* (4), 647-55.
23. Song, H.; Wu, D.; Zhang, R.-Q.; Qiao, L.-Y.; Zhang, S.-H.; Lin, S.; Ye, J.; *Carbohydrate Polymers*. **2009**, *78* (2), 253-257.
24. Golachowski, A.; Zieba, T.; Kapelko-Zeberska, M.; Drozd, W.; Gryszkin, A.; Grzechac, M.; *Food Chem*. **2015**, *176*, 350-6.
25. Colussi, R.; El Halal, S. L. M.; Pinto, V. Z.; Bartz, J.; Gutkoski, L. C.; da Rosa Zavareze, E.; Dias, A. R. G.; *LWT - Food Science and Technology*. **2015**, *62* (2), 1076-1082.
26. Guan, J.; Eskridge, K. M.; Hanna, M. A.; *Industrial Crops and Products*. **2005**, *22* (2), 109-123.

27. Ribeiro, A. C.; Rocha, Â.; Soares, R. M. D.; Fonseca, L. P.; da Silveira, N. P.; *Carbohydrate Polymers*. **2017**, *157*, 267-274.
28. Bello-Perez, L. A.; Agama-Acevedo, E.; Zamudio-Flores, P. B.; Mendez-Montevalvo, G.; Rodriguez-Ambriz, S. L.; *Lwt-Food Sci Technol*. **2010**, *43* (9), 1434-1440.
29. Tan, Y.; Xu, K.; Wang, P. X.; Li, W. B.; Sun, S. M.; Dong, L. S.; *Soft Matter*. **2010**, *6* (7), 1467-1471.
30. Shi, Y.; Ma, S.; Tian, R.; Zhao, Y.; Jiao, Q.; Ma, X.; Shang, Q.; *Surface and Interface Analysis*. **2015**, *47* (2), 270-277.
31. Mohammed, A. D.; Onwudiwe, D. C.; Young, D. A.; Vosloo, H. C. M.; *Mater Lett*. **2014**, *114*, 63-67.
32. Mohammed, A. D.; Young, D. A.; Vosloo, H. C. M.; *Starch-Starke*. **2014**, *66* (3-4), 393-399.
33. Jakeš, J.; *Collection of Czechoslovak Chemical Communications*. **1995**, *60* (11), 17.
34. Provencher, S. W.; *Computer Physics Communications*. **1982**, *27* (3), 229-242.
35. Scheffold, F.; Cerbino, R.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **2007**, *12* (1), 50-57.
36. Pusey, P. N.; *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. **1999**, *4* (3), 177-185.
37. Solomons, T. G.; Fryhle, C. B., *Química orgânica*. LTC: 2012; Vol. 2.
38. McMurry, J., *Química orgânica: combo*. Cengage Learning: 2012.
39. Leite, D. C. Estudo teórico-experimental de complexo metálico de amilopectina. UFRGS, Porto Alegre, 2013.
40. Tester, R. F.; Karkalas, J.; Qi, X.; *Journal of Cereal Science*. **2004**, *39* (2), 151-165.
41. Omer, R. A.; Hughes, A.; Hama, J. R.; Wang, W. X.; Tai, H. Y.; *Journal of Applied Polymer Science*. **2015**, *132* (6).
42. Gao, J.; Frisken, B. J.; *Langmuir*. **2003**, *19* (13), 5212-5216.
43. Saunders, B.; Vincent, B.; *Colloid & Polymer Science*. **1997**, *275* (1), 9.
44. Wedel, B.; Hertle, Y.; Wrede, O.; Bookhold, J.; Hellweg, T.; *Polymers*. **2016**, *8* (4), 162.
45. Constantin, M.; Cristea, M.; Ascenzi, P.; Fundueanu, G.; *Express Polym Lett*. **2011**, *5* (10), 839-848.

46. Aivaliotis, M.; Samolis, P.; Neofotistou, E.; Remigy, H.; Rizos, A. K.; Tsiotis, G.; *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. **2003**, 1615 (1–2), 69-76.
47. Dhont, J. K. G.; de Kruif, C. G.; Vrij, A.; *Journal of Colloid and Interface Science*. **1985**, 105 (2), 539-551.
48. Wedel, B.; Zeiser, M.; Hellweg, T.; *Zeitschrift Fur Physikalische Chemie-International Journal of Research in Physical Chemistry & Chemical Physics*. **2012**, 226 (7-8), 737-748.
49. Karg, M.; Prévost, S.; Brandt, A.; Wallacher, D.; von Klitzing, R.; Hellweg, T., Poly-NIPAM Microgels with Different Cross-Linker Densities. In *Intelligent Hydrogels*, Sadowski, G.; Richtering, W., Eds. Springer International Publishing: Cham, 2013; pp 63-76.

**CAPÍTULO 6**  
**CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS**

## 6.1 CONCLUSÕES

Nesta tese, o objetivo principal foi avaliar a influência dos polímeros do amido em microgéis de p(NIPAM) sob duas perspectivas: como comonômero e como agente de reticulação. Inicialmente foi feita a abertura do amido através da dissolução dos grânulos em uma mistura DMSO/H<sub>2</sub>O, seguido da aplicação de ultrassom para diminuição da  $M_w$  e precipitação dos polímeros do amido na forma de nanopartículas (SNPs). Devido à estrutura majoritariamente ramificada, as nanopartículas mantiveram certa estabilidade mesmo após a evaporação do solvente, com  $R_h$  próximos de 75 nm. A opção de precipitação dos polímeros na forma de nanopartículas foi escolhida por se apresentar como uma melhor possibilidade de incorporação destes na composição dos microgéis.

Através de reações de polimerização em emulsão na presença e na ausência de surfactante (EP e SFEP), microgéis híbridos contendo p(NIPAM) e polímeros do amido foram preparados. A proporção de SNPs foi modificada nas formulações, permitindo um maior controle das mudanças ocorridas. Nos microgéis livres de surfactante, observou-se uma influência maior do copolímero hidrofílico. Quanto maior a concentração de SNPs, mais pronunciadas foram essas mudanças: deslocamento da VPTT para temperaturas maiores (~35 °C) em relação a VPTT de microgéis de p(NIPAM) puros, tamanho, morfologia e estabilidade coloidal. Nos microgéis sintetizados com surfactante, mudanças muito sutis foram observadas. Acredita-se que uma limitação na etapa de crescimento dos microgéis, ocasionado pela presença do surfactante, não permitiu a interação com os polímeros do amido de forma intensa. No entanto, nas medidas de SAXS, observou-se a formação do mesmo tipo de arquitetura para ambos os microgéis (preparados por EP e SFEP) acima da VPTT, o que permite concluir que os polímeros do amido estão interagindo na superfície do microgel, mesmo em baixas concentrações e independente da reação de polimerização.

Com o objetivo de substituir os tradicionais reticulantes utilizados na síntese de microgéis, agentes de reticulação foram preparados a partir das SNPs. Dois graus de substituição dos reticulantes sintetizados foram alcançados, e cada um foi utilizado em duas concentrações diferentes na preparação de microgéis de p(NIPAM), totalizando quatro reações de polimerização. Em todos os microgéis preparados ocorreu uma transição de fase em temperatura bem definida, que pode ser reflexo da baixa polidispersão dos sistemas, do tamanho mesoscópico dos microgéis e de certa homogeneidade da estrutura interna.

Observou-se nestes sistemas, principalmente, que tanto o grau de substituição quanto a concentração do reticulante influenciaram os microgéis. Em resumo, a densidade de ligações cruzadas infere mobilidade ou rigidez à estrutura dos microgéis, refletindo principalmente no tamanho dos mesmos. Também foi verificado que o agente de reticulação mais substituído diminuiu a distância entre os segmentos e permitiu um nível de interações hidrofílicas mais efetivo, refletindo na temperatura de transição de fase dos microgéis, que alcançou valores em torno de 35 °C.

Os sistemas resultantes dos experimentos descritos nos Capítulos 4 e 5 (a partir da preparação das SNPs, descrita no Capítulo 3) não são comparáveis estruturalmente, apesar de possuírem resultados semelhantes quanto à temperatura de transição de fase para algumas amostras. A amostra com maior concentração de SNPs nos microgéis copolimerizados (NIPAM(1):SNP(2)) sintetizada através da SFEP possui temperatura de transição de fase muito semelhante ao microgel ASNP24-10-p(NIPAM) sintetizada através da EP. Acredita-se que, em ambos os casos, a presença dos grupos hidroxila presentes ou remanescentes na estrutura do microgel permitiu interações hidrofílicas do tipo ligações de hidrogênio com o grupamento amida do p(NIPAM). Nos sistemas descritos no Capítulo 4, as SNPs interagiram na superfície do microgel, enquanto nos sistemas descritos no Capítulo 5, as ASNPs interagiram no interior do microgel. A concentração de SNPs ou ASNPs utilizada nos sistemas mencionados acima são muito diferentes entre si, o que permite concluir que a arquitetura do microgel é o fator de maior influência nas propriedades dos sistemas estudados.

## 6.2 PERSPECTIVAS

Os sistemas descritos nos Capítulos 4 e 5 são considerados muito interessantes e possuem potencial para exploração de diferentes formas. Por exemplo, esses novos microgéis podem ter potencial aplicação como sistemas de absorção e liberação de fármacos, principalmente aqueles de uso tópico, devido à temperatura de transição de fase encontrada (~35 °C) para alguns dos sistemas preparados.

As perspectivas deste trabalho referem-se ao aprimoramento das composições dos microgéis, para deslocar a VPTT para temperaturas mais próximas de 37 °C. A incorporação de monômeros com sensibilidade ao pH também representa uma perspectiva interessante. De forma mais aplicável, estudos de citotoxicidade e de ensaios com fármacos-modelo para

estudos de encapsulamento e liberação poderão ser realizados. Ainda, o desenvolvimento de microgéis a partir de rotas de polimerização controlada foi iniciado. Apesar dos resultados preliminares, sistemas com temperaturas de transição de fase próximas de 40 °C foram alcançados, demonstrando a versatilidade de sistemas contendo p(NIPAM) e macromoléculas de origem natural.