UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

INTERUNIDADES CIÊNCIAS E ENGENHARIA DE MATERIAIS

USP / IQSC / SBI
8-2-001293

BLENDAS CONDUTORAS DE COLÁGENO E POLI (O-ETOXIANILINA): PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

DEDALUS - Acervo - IQSC
30800010908

MARCOS ANTÔNIO PIZA

Tese apresentada à área de Interunidades em Ciências e Engenharia de Materiais, do IFSC, IQSC, e EESC, para a obtenção do Título de Doutor em Ciências e Engenharia de Materiais

SÃO CARLOS
2001

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Ciência e Engenharia de Materiais

Caixa Postal 369 – CEP 13560-970 - São Carlos-SP – Brasil

Tel: (0xx16) 2739589/ Fax: (0xx16) 2739777 *e-mail: wladerez@if.sc.usp.br*

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA TESE DE DOUTORADO DE MARCOS ANTONIO PIZA, APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO INTERUNIDADES EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS, DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, EM 17/12/2001.

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. **LUIZ HENRIQUE CAPPARELLI MATTOSO** - EMBRAPA (Orientador)

Prof. Dr. **ROBERTO MANUEL TORRESI** - IQSC/USP

Prof. Dr. **JOSÉ PEDRO DONOSO GONZALEZ** - IFSC/USP

Prof. Dr. **NERI ALVES** - UNESP

Prof. Dr. **LUIZ OTÁVIO DE SOUSA BULHÕES** - UFSCar

Como, um dia, a energia alada do prazer
Levou-te sobre os escuros abismos da infância,
Ela agora constrói, para além da própria vida,
O grande arco de pontes não imaginadas

O milagre acontece se somos bem-sucedidos
Na passagem pelo perigo mais árduo;
Mas só na conquista luminosa e pura
Podemos perceber o milagre

Temos o poder e a capacidade
De compreender o indescritível;
O padrão se confunde, torna-se mais sutil,
E devemos reduzir o ritmo para não perdê-lo.
Toma teus poderes e desdobra-se
Até cobrirem o abismo entre duas
Contradições...Pois o deus
Quer, em ti, conhecer-se a si mesmo

Rainer Maria Rilke.

Sabemos que a Terra não pertence ao homem; o homem pertence à Terra. Todas as coisas estão ligadas, como o sangue que une uma família. Tudo o que acontecer à Terra, acontecerá aos filhos da Terra. O homem não teceu a teia da vida; é apenas um de seus fios. O que ele fizer à teia da vida, estará fazendo a si mesmo.

Chefe Seattle.

Os únicos demônios neste mundo são aqueles
que estão em nossos corações, e é ali que todas
as batalhas devem ser travadas.

Mahatma Gandhi

Dedico esta tese à Deus, pela vida. Aos meus Pais, **Sebastião** e **Terezinha** pelo amor, carinho e exemplo de vida.

Aos meus irmãos, **Marleide e Márcio.**
Aos meus sobrinhos: **Talita, Luiz Eduardo e Vitória.**

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique C. Mattoso, pela oportunidade, dedicação, compreensão, incentivo durante a realização deste trabalho e principalmente pela paciência e conhecimentos profissionais e pessoais transmitidos.

Ao Prof. Dr. Luiz Alberto Colnago pela colaboração.

A EMBRAPA Instrumentação Agropecuária por oferecer oportunidade para realização deste trabalho.

Aos Professores: Dr. José Malmonge da Unesp/Ilha Solteira; Dr. Neri Alves e Dr. Aldo Job da Unesp/Presidente Prudente; Dr. Roberto M. Torresi do Instituto de Química de São Carlos/USP; Dr. Rinaldo Gregório Filho do Departamento de Materiais, DEMA/UFSCar, pela atenção, dicas, disponibilização de seus respectivos laboratórios para realização se experimentos contidos neste trabalho e principalmente pelas discussões e análises dos resultados obtidos.

Aos pesquisadores: Dr. Paulo Hermam e Dr. Rubens Bernardes Filho pela atenção dada quando da utilização do microscópio de força atômica.

Ao Ferrazini, Renê, Valentim, Formiga, Marcelo e Edinaldo, pela ajuda, cada um em sua respectiva área, e pela atenção no decorrer deste trabalho.

Às Bibliotecárias do IQSC, IFSC e da EMBRAPA, pela amizade, atenção e competência, contribuindo para o bom andamento deste trabalho.

À Vera Lúcia Octaviano pela leitura e correção desta tese.

A todos os Funcionários da EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, que sempre proporcionou um bom ambiente de trabalho.

Aos amigos que contribuirão tecnicamente diante dos problemas profissionais e aqueles que contribuíram emocionalmente durante os momentos de pouca paz de espírito.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO i

ABSTRACT ii

LISTA DE FIGURAS iii

LISTA DE TABELAS x

INTRODUÇÃO 1

CAPÍTULO I 3

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 3

1.1 Polímeros condutores 3

1.2 Síntese da polianilina 7

1.3 - Síntese da Poli (o-etoxianilina) – POEA 8

1.4 – Dopagem da PANI 8

1.5 – Colágeno 9

1.6 - Blendas poliméricas 13

1.7 - Blendas de colágeno 13

1.8 - Blendas de polianilina 14

1.9 – Técnicas de caracterização de blendas poliméricas 17

1.9.1 – Microscopia de Força Atômica (AFM) 17

1.9.2 - Dicroísmo circular em polímeros condutores (CD) 21

CAPÍTULO II 24

OBJETIVOS 24

CAPÍTULO III 25

PARTE EXPERIMENTAL 25

3.1 – Materiais 25

3.2 - Síntese da Poli (o-etoxianilina) – POEA 25

3.3 - Obtenção de colágeno 26

3.4 – Preparação das soluções 26

3.5 - Preparação dos filmes 26

3.5.1 - Filmes dopados 27

3.5.2 - Filmes desdopados 27

3.5.3 - Solubilização da POEA 27

3.6 - Caracterização microscópica das blendas 28

3.6.1 - Microscopia ótica 28

3.6.2 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 28

3.6.3 - Microscopia de força atômica (AFM) 28

3.7 – Caracterização elétrica das blendas 28

3.7.1 - Medidas de condutividade pelo método de quatro pontas 28

3.7.2 - Medidas de condutividade pelo método de duas pontas 29

3.7.3 - Medidas de condutividade AC 32

3.8 - Caracterização espectroscópica 33

3.8.1 - Espectroscopia na região de Ultravioleta-visível (UV-Vis) 33

3.8.2 - Espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) 33

3.8.3 - Espectroscopia de Ramam 33

3.8.4 - Dicroísmo circular (CD) 34

3.9 - Microbalança Eletroquímica a Cristal de Quartzo (MECQ) 34

3.10 – Estabilidade térmica 35

3.10.1 - Análise termogravimétrica (TGA) 35

3.10.2 - Calorimetria diferencial exploratória (DSC) 35

CAPÍTULO IV 36

4 – Estudo das condições de Preparação de Blendas de Colágeno/POEA 36

4.1 Análise morfológica do colágeno 36

4.2 Efeito do pH na morfologia das blendas 41

4.3 - Análise morfológica das blendas 48

CAPÍTULO V 66

5.1 - Estudos das propriedades elétricas das blendas 66

5.2 - Comportamento Experimental da condutividade AC 70

CAPÍTULO VI 84

Caracterização espectroscópica 84

6.1 - Estudos da interação de colágeno/POEA por espectroscopia na região do UV-Visível. 84

6.2 - Avaliação da interação colágeno/POEA por espectroscopia na região do infravermelho 92

6.3 - Espectroscopia de Raman 97

6.4 – Espectroscopia de dicroísmo circular 103

CAPÍTULO VII 109

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA 109

7.1 - Microbalança de quartzo 109

CAPÍTULO VIII 115

ESTABILIDADE TÉRMICA 115

CAPÍTULO IX 117

PROPOSTA DE INTERAÇÃO COLÁGENO/POEA 117

CAPÍTULO X 122

CONCLUSÕES 122

CAPÍTULO XI 125

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 125

Resumo

Este trabalho apresenta a preparação e caracterização de blendas condutoras de colágeno e poli (o-etoxianilina) – POEA. Blendas, dopadas foram preparadas em pH 3,5, variando-se a concentração de POEA de 0 a 50%, e caracterizadas por técnicas de microscopia (ótica, eletrônica de varredura e de força atômica), condutividade elétrica (quatro pontas, duas pontas e AC), espectroscopia (UV-Vis, FTIR, Raman e dicroísmo circular), eletroquímica (microbalança de quartzo) e estabilidade térmica (TGA e DSC). Foram obtidos filmes auto-sustentáveis com boas propriedades mecânicas em condições otimizadas de preparação. As blendas desdopadas apresentaram morfologia globular, sendo que o tamanho dos glóbulos foi proporcional à quantidade de POEA adicionada. Após a dopagem, foram observados glóbulos menores sobre os anteriores, porém estes não apresentaram variação de tamanho com a quantidade de POEA adicionada. Estas blendas apresentaram propriedades semicondutoras, e observou-se que a condutividade aumenta com o aumento do conteúdo POEA adicionada. O mecanismo de condução foi caracterizado por saltos "hopping", sendo que os ajustes observados foram consistentes com o modelo de RFEB (Random Free Energy Barrier). As medidas de dicroísmo circular mostraram que colágeno induziu atividade ótica na POEA. Por meio da técnica de espectroscopia de Raman foram observadas interações específicas entre os componentes sendo proposto um modelo de interação entre eles. A blenda também apresentou atividade eletroquímica, demostrando que este novo material apresenta propriedades únicas devido à combinação das propriedades dos materiais que o formam.

Abstract

This work presents the preparation and characterization of conducting collagen and poly (o-ethoxyaniline) –POEA blends. Doped blends were prepared in pH 3,5, varying the POEA concentration from 0 to 50%, and characterized by microscopy (optical, electronic scanning, and atomic force), electric conductivity (four probes, two probes, and AC), spectroscopy (UV-Vis, FTIR, Raman, and circular dichroism), electrochemical (quartz crystal microbalance), and thermal analysis (TGA and DSC) techniques. Free-standing films with good mechanical properties were obtained under optimized conditions. De-doped blends presented globular morphology, with globules size proportional to the added POEA. After the doping process, smaller globules were observed, but no variation on the globules size was observed with the POEA content in the blend. The blends presented semi-conducting properties with the conductivity increasing proportionally to the POEA content. The conducting mechanism was dominated by hopping jumps, consistent with the RFEB (Random Free Energy Barrier) model. The measurement of the circular dichroism showed that the collagen induces optical activity in the POEA. The use of the Raman spectroscopy technique revealed specific interactions between the components and a model of interaction was proposed. The blend presented also electrochemical response demonstrating that this new material presents unique properties due to the combination of the properties of its true components.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1: Estrutura geral da polianilina na forma de base..... 5

FIGURA 1.2: Estados de oxidação da polianilina..... 6

FIGURA 1.3: Estrutura da poli (o-etoxianilina) (POEA) (R = OC_2H_5) protonada com HCl 1M..... 8

FIGURA 1.4: Dopagem protônica da polianilina no estado esmeraldina..... 9

FIGURA 1.5: Esquema da formação da matriz de colágeno..... 10

FIGURA 1.6: Esquema das reticulações naturais ao longo das fibras de colágeno..... 11

FIGURA 1.7: Ilustração esquemática de um microscópio de varredura por força..... 19

FIGURA 3.1: Esquema de medida do TSC. V é a fonte de tensão, A o amperímetro e S a amostra. 30

FIGURA 3.2: - Variação da corrente em função do tempo. Ia, é a corrente de absorção dielétrica e Io, a corrente ôhmica..... 30

FIGURA 4.1: Microscopia ótica de filmes de colágeno preparados em diferentes pHs: (a) 3,5; (b) 7,4. Aumento de 400 vezes. 37

FIGURA 4.2: Microscopia eletrônica de varredura de filme de colágeno em pH: (a) 3,5 e (b) 7,4..... 38

FIGURA 4.3: Imagens de microscopia de força atômica (modo de contato intermitente) de filmes de colágeno preparado em pH:

(a) 3,5; (b) 7,4; (c) aumento de varredura de AFM da amostra (b) mostrando a fibra de colágeno..... 40

FIGURA 4.4: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 1. Aumento de 40 vezes. 41

FIGURA 4.5: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 2. Aumento de 40 vezes. 42

FIGURA 4.6: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 3. Aumento de 40 vezes. 42

FIGURA 4.7: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 4. Aumento de 40 vezes. 43

FIGURA 4.8: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 5. Aumento de 40 vezes. 44

FIGURA 4.9: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 6. Aumento de 40 vezes. 44

FIGURA 4.10: Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA nas concentrações de (a) 05, (b)15 e (c) 50% em massa. Estas blendas foram obtidas em pH 7. Aumento de 40 vezes. 44

FIGURA 4.11: Blendas de colágeno/POEA (95/05) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado). 45

FIGURA 4.12: Blendas de colágeno/POEA (85/15) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado). 45

FIGURA 4.13: Blendas de colágeno/POEA (50/50) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado). 45

FIGURA 4.14: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 95/05 desdopadas, obtida pelo modo contato intermitente. 49

FIGURA 4.15: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 95/05 dopadas, obtida pelo modo contato intermitente..... 49

FIGURA 4.16: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 85/15 desdopadas, obtida pelo modo contato intermitente. 50

FIGURA 4.17: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 85/15 dopadas, obtida pelo modo contato intermitente..... 50

FIGURA 4.18: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 50/50 desdopadas, obtida pelo modo contato intermitente. 51

FIGURA 4.19: Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 50/50 dopadas, obtida pelo modo contato intermitente. 51

FIGURA 4.20: MEV do filme de colágeno não-refibrilado, preparado em pH 3,5 52

FIGURA 4.21: MEV da blenda colágeno POEA (95/05), preparado em pH 3,5. 53

FIGURA 4.22: MEV da blenda colágeno POEA (85/15), preparado em pH 3,5. 53

FIGURA 4.23: MEV da blenda colágeno POEA (50/50), preparado em pH 3,5. 54

FIGURA 4.24: Espectros de absorbância de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA tratado com m-cresol por 2 horas, com diferentes conteúdos de POEA (95/05 e 85/15) e da solução de m-cresol, após o tratamento do filme. 56

FIGURA 4.25: MEV do filme de colágeno (pH = 3,5) (aumento de 2000 X) 58

FIGURA 4.26: MEV do filme de colágeno (pH = 3,5) (aumento de 10000 X) 58

FIGURA 4.27: MEV do filme de colágeno (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X) 59

FIGURA 4.28: MEV do filme de colágeno (pH = 3,5),), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 10000 X) 59

FIGURA 4.29: MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5) (aumento de 2000 X) 60

FIGURA 4.30: MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5) (aumento de 10000 X) 60

FIGURA 4.31: MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X) 61

FIGURA 4.32: MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 10000 X) 61

FIGURA 4.33: MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5) (aumento de 2000 X)..... 62

FIGURA 4.34: MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH 3,5) (aumento 10000 X)..... 62

FIGURA 4.35: MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X)..... 63

FIGURA 4.36: MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 1000o X)..... 63

FIGURA 4.37: MEV da sessão transversal do filme de colágeno (pH = 3,5) 64

FIGURA 4.38: MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (95/05). 64

FIGURA 4.39: MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (85/15). 65

FIGURA 4.40: MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (50/50). 65

FIGURA 5.1: Variação da condutividade elétrica (S/cm) da blenda, em função da porcentagem de POEA dopada com HCl. Método de quatro pontas..... 67

FIGURA 5.2: Valores de condutividade elétrica DC em função da porcentagem de POEA, medidos pelo método de duas pontas (TSC), para as blendas de colágeno/POEA, dopadas e desdopadas..... 68

FIGURA 5.3: Condutividade elétrica superficial (S) em função da % de POEA das blendas colágeno/POEA, dopadas e desdopadas. Método de duas pontas com equipamento HP.. 69

FIGURA 5.4: Medidas de condutividade elétrica superficial (S) e volumétrica (S/cm), em função da composição das blendas de colágeno/POEA dopadas com HCl 1,0 M. Método de duas pontas com equipamento HP. 69

FIGURA 5.5: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para o colágeno puro, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 73

FIGURA 5.6: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (95/05 m/m) desdopada, a 25oC. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 74

FIGURA 5.7: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (85/15 m/m) desdopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 75

FIGURA 5.8: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) desdopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 75

FIGURA 5.9: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (95/05 m/m) dopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 76

FIGURA 5.10: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (85/15 m/m) dopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 77

FIGURA 5.11: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) dopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 77

FIGURA 5.12: Comportamento da componente real (σ') da condutividade elétrica, para a blendas de colágeno e POEA (50/50 m/m) desdopada e dopada, a 250C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico..... 79

FIGURA 5.13: Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) dopada nas temperaturas de -125oC até 125oC. As curvas contínuas correspondem ao ajuste teórico obtido a partir da expressão 5.1..... 81

FIGURA 5.14: Componente real da condutividade complexa de filmes de colágeno/POEA (50/50) dopados, com variação de temperatura de –125oC a + 125oC..... 82

FIGURA 6.1: Medidas de UV-Vis, para solução de colágeno/POEA 50/50, em função de tempo de mistura..... 86

FIGURA 6.2: Diminuição do comprimento de onda máximo, em função do tempo de mistura das soluções do colágeno/POEA (50/50 m/m)..... 87

FIGURA 6.3. Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA (85/15) na região azul, amarela e após a completa dopagem com HCl ou desdopagem com NH_4OH..... 89

FIGURA 6.4. Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA dopadas com HCl 1,0 M por 2 horas..... 90

FIGURA 6.5. Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA desdopadas com NH4OH 0,1N por 2 horas..... 91

FIGURA 6.6: Espectros de FTIR de blendas de colágeno/POEA com diferentes conteúdos de POEA, conforme indicado, sendo: a) de 400 a 4000 e b) de 1800 a 1000..... 93

FIGURA 6.7: Espectros de FTIR de filmes de colágeno, blenda com 50% de POEA e POEA pura..... 95

FIGURA 6.8: Espectroscopia Raman para blendas de colágeno/POEA (95/05, 85/15, 50/50) dopadas..... 100

FIGURA 6.9: Espectroscopia Raman para o pó de POEA dopado e para o filme de colágeno..... 100

FIGURA 6.10: Espectroscopia de Raman para as blendas de colágeno/POEA (95/05,85/15, 50/50) desdopadas..... 102

FIGURA 6.11: Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (95/05) dopado..... 105

FIGURA 6.12: Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (85/15) dopada..... 106

FIGURA 6.13: Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (95/05) desdopado..... 107

FIGURA 6.14: Espectro de CD para uma blenda colágeno/POEA (85/15) desdopado..... 107

Figura 7.1: Perfil de j/E e Δm/E para um eletrodo modificado de POEA, em solução de HCSA. v = 50 mV/s..... 112

Figura 7.2: Perfil de j/E e Δm/E para a blenda colágeno/POEA (50/50), em eletrodo modificado em solução de HCSA. V = 50 mV/s..... 113

Figura 7.3: Perfil de j/E e Δm/E para a blenda PVDF/POEA (50/50), em eletrodo modificado em solução de HCl. v = 50 mV/s..... 114

Figura 8.1: Perda de massa, em função da temperatura, para o colágeno, a POEA e blendas de colágeno/POEA, em diferentes concentrações..... 115

Figura 8.2: Termogramas de DSC de filmes das blendas de colágeno/POEA, em função da concentração de POEA..... 116

Figura 9.1: Proposta de interação entre colágeno e POEA: A) proporção entre as dimensões da molécula de colágeno carregada negativamente e a cadeia polimérica de POEA carregada positivamente (pH = 3,5); B) distribuição espacial de um octâmero de POEA, com dois nitrogênios cátions radicais interagindo aminoácidos (aspártico e glutâmico) no modelo pau e bola (cada bola representa um átomo, sendo: branca – hidrogênio; azul – nitrogênio; vermelha – oxigênio; verde – carbono) (pH = 3,5); C) mecanismo de interação do tipo ligação de hidrogênio entre a cadeia lateral de um aminoácido (ácido aspártico) do colágeno com o grupo cátion radical da POEA (pH = 3,5) e D) proposta de não-interação entre o colágeno e a POEA para pH = 7,0. 120

LISTA DE TABELAS

TABELA 4.1: Rugosidade média quadrada (rms) para blendas de colágeno/POEA dopadas e desdopadas..... 48

TABELA 5.1: Condutividades elétricas volumétrica (S/cm) e superficial (S), medidas pelo método de duas pontas no equipamento da HP, para as blendas de colágeno/POEA em diferentes concentrações, para a POEA dopada e desdopada e para o colágeno puro..... 70

TABELA 6.1: Freqüências características dos filmes de poli (o-etoxianilina) na região do infravermelho..... 94

TABELA 6.2: Razão de absorbância (1235/1450 cm-1) no infravermelho dos filmes de colágeno/POEA. 96

TABELA 6.3: Número de onda, largura de banda na metade do máximo de intensidade (full width at half maximum (FWHM)) e a intensidade relativa usando uma função mista de Gauss-Lorentz dos espectros de Raman, adquiridos usando laser 633 nm. 101

INTRODUÇÃO

Blendas de polímeros naturais e sintéticos podem ser consideradas uma nova classe de materiais, com interesse em diversas áreas de pesquisa e aplicações[1]. A possibilidade de combinar, por exemplo, as propriedades mecânicas de polímeros sintéticos com a biocompatibilidade de polímeros biológicos pode ser explorada para produzir materiais denominados "materiais poliméricos bioartificiais" que são utilizados para aplicação no campo biomédico[2]. Outro exemplo é a confecção de blendas entre polímeros convencionais e polímeros condutores. A confecção deste tipo de blenda permite agrupar as propriedades mecânicas (resistência, processabilidade) dos polímeros convencionais com as propriedades elétricas dos polímeros condutores, produzindo blendas condutoras com melhores propriedades mecânicas.

A descoberta dos polímeros[3] condutores atraiu a atenção de vários grupos de pesquisadores, devido ao interesse, tanto para se entender os mecanismos de dopagem e condutividade existentes, quanto na sua aplicação em diversas áreas. Esses polímeros podem combinar as propriedades mecânicas e processabilidade dos polímeros convencionais com um comportamento elétrico, ótico e magnético semelhante ao dos metais e semicondutores. Devido a isso, grande atenção tem sido dada à aplicação tecnológica desses materiais em baterias recarregáveis, dispositivos eletrônicos, sensores, biossensores, janelas inteligentes, diodos

emissores de luz, eliminação de carga estática em microeletrônica, proteção contra corrosão, recobrimento de materiais, indústria têxtil, atuadores (músculo artificial) etc.

No presente trabalho foram investigadas as condições que possibilitaram a preparação de blendas de POEA e colágeno, visando à obtenção de um novo material com propriedades únicas, devido à união de propriedades desses dois tipos de materiais.

A POEA é um polímero condutor intrínseco de eletricidade, derivado da PANI. Apesar da POEA apresentar menor condutividade elétrica do que a PANI, ela tem como vantagem a solubilidade em diversos tipos de solventes, dentre eles a água, permitindo a confecção de blendas de POEA a partir de sua solução com um grande número de polímeros convencionais. A presença do substituinte etoxila (OC_2H_5), que promove um distanciamento entre as cadeias principais do polímero, permite uma maior interação com o solvente e também facilita o seu processamento na forma de filmes[4].

O colágeno é uma proteína fibrosa encontrada em grande quantidade no tecido conjuntivo (tendão, pele, osso etc.), e que tem a função de manter a integridade estrutural do tecido, conferindo-lhe resistência mecânica. Sua estrutura é formada por unidades básicas de tropocolágeno, o qual é constituído de três cadeias polipeptídicas (denominadas α) entrelaçadas em sua maior parte, na conformação de uma tripla hélice[5].

O colágeno é amplamente utilizado em diversas áreas de aplicações, entre elas a médica e a indústria de cosméticos. O processamento do colágeno é preferencialmente feito após a sua solubilização. Para que ele possa ser solubilizado é necessário que as ligações de reticulação sejam rompidas. Dessa forma, obtêm-se moléculas individuais de tropocolágeno, o que torna possível a sua processabilidade para a confecção de fios, filmes, esponjas e géis[6].

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito de diferentes condições de preparação de filmes de colágeno e POEA. Os filmes tanto de colágeno puro como as blendas de colágeno com POEA foram obtidos por

casting em molde de acrílico. Após a determinação das condições otimizadas de preparação dos filmes, os mesmos foram caracterizados por diferentes metodologias, dentre as quais estão: microscopia ótica, eletrônica e de força atômica; propriedades elétricas, com o método de quatro pontas, duas pontas e condutividade AC; espectroscopia de UV-Vis, infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Raman, dicroísmo circular (CD); análises eletroquímicas por meio de microbalança a cristal de quartzo (EQMC); estabilidade térmica por meio de análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).

Referências

1 – MALMONGE, L. F.; MATTOSO, L. H. C.; Efeito das condições de preparação na condutividade elétrica de blendas de poli(fluoreto de vinilideno) e poli(o-metoxianilina).; **Polímeros: ciência e tecnologia**, 72 - 78, jul/set, 1998.

2- LI, H. C.; KHOR, E.; Interaction of collagen with polypyrrole in the production of hybrid materials.; **Polymer International**, 35, 53 – 59, 1994.

3 – CHIANG, C. K.; FINCHER, C.R.; PARK, Y. W.; HEEGER, J. A.; SHIRAKAWA, H.; LOUIS, E. J.; GRAU, S. C.; MACDIARMID, A. G.; Electrical conductivity in doped polyacetylene.; **Phys. Rev. Lett.**, 39, 1098 – 1101, 1977.

4 – MATTOSO, L. H. C.; MANOHAR, S. K.; MACDIARMID, A. G.; EPSTEIN, A. J.; Studies on the chemical synthesis and on the characteristics of polyaniline derivatives.; **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, 33, 1227 – 1234, 1995.

5 - RAMACHANDRAN, G. N.; Treatise on collagen.; V. 1, London, **Academic Press**, 337 – 353, 1967.

6 – NIMNI, M. E.; HARKNESS, R. D.; Molecular structure and functions of collagen In: NIMNI, M. E.; ed. Collagen; Boca Raton, **CRC Press**, 1988.

CAPÍTULO I

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Polímeros condutores

A descoberta dos polímeros condutores[1] atraiu a atenção de vários grupos de pesquisadores, devido ao interesse, tanto para se entender os mecanismos de dopagem e condutividade existentes, quanto na sua aplicação em diversas áreas. Esses polímeros podem combinar as propriedades mecânicas e processabilidade dos polímeros convencionais com um comportamento elétrico, ótico e magnético semelhante ao dos metais e semicondutores. Assim, devido a isso, grande atenção tem sido dada à aplicação tecnológica desses materiais em baterias recarregáveis, dispositivos eletrônicos, sensores, biossensores, janelas inteligentes, diodos emissores de luz, eliminação de carga estática em microeletrônica, proteção contra corrosão, recobrimento de materiais, indústria têxtil, atuadores (músculo artificial)[2,3,4] etc.

O primeiro polímero condutor foi obtido em 1977, pela exposição de poliacetileno na forma isolante (condutividade $\sigma = 10^{-5}$ S/cm) a agentes dopantes, oxidantes ou redutores, tornando-o condutor elétrico intrínseco ($\sigma = 10^{2}$ S/cm). O polímero neutro é transformado em um complexo iônico,

que consiste de um cátion (ou ânion) polimérico e um contra-íon, que é a forma reduzida do agente oxidante (ou a forma oxidada do agente redutor)[1].

Um critério importante para a escolha de um polímero condutor é a facilidade com que o sistema pode ser oxidado ou reduzido. Isso nos leva a optar por polímeros com insaturações conjugadas, os quais possuem baixo potencial de oxidação. Os elétrons de caráter π podem ser facilmente removidos ou adicionados para formarem um íon polimérico, sem destruir as ligações covalentes necessárias para a estabilidade da macromolécula. Baseado nisso, um número crescente de polímeros condutores passou a ser estudado, entre eles o politiofeno, o polipirrol, o polifenileno, a polianilina e seus derivados[3].

As polianilinas (PANI), descobertas inicialmente em 1862[5], foram posteriormente descritas com quatro estados de oxidação diferentes em 1910-1912[6,7], porém as suas propriedades de condução elétrica somente foram descobertas muito tempo depois. Um estudo de primordial importância foi a obtenção de PANI no estado de oxidação esmeraldina, envolvendo o efeito dos ácidos na condutividade, suas características eletroquímicas básicas e o seu possível uso como eletrólito aquoso em baterias recarregáveis[8].

O termo PANI designa um polímero cuja forma de base tem a composição geral mostrada na Figura 1.1:

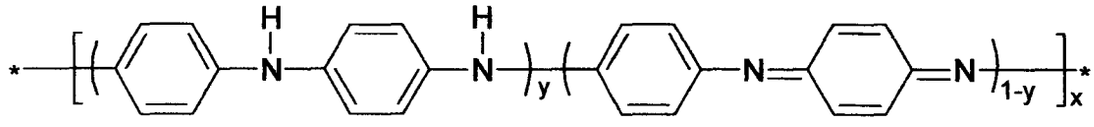


FIGURA 1.1: *Estrutura geral da polianilina na forma de base.*

Essa estrutura consiste de unidades reduzidas e oxidadas, que se alternam ao longo da cadeia. Em princípio, y pode variar continuamente de 1, o que corresponde ao polímero completamente reduzido, até zero, produzindo o polímero completamente oxidado.

A PANI na forma de sal pode ser obtida pela protonação total ou parcial dos nitrogênios imina, sendo que o grau de protonação depende do estado de oxidação e do pH da solução aquosa ácida. Os termos

leucoesmeraldina, esmeraldina e pernigranilina são usados para que os estados de oxidação do polímero sejam diferenciados, para respectivamente y = 1, 0,5 e 0, conforme mostrado na Figura 1.2[8-11].

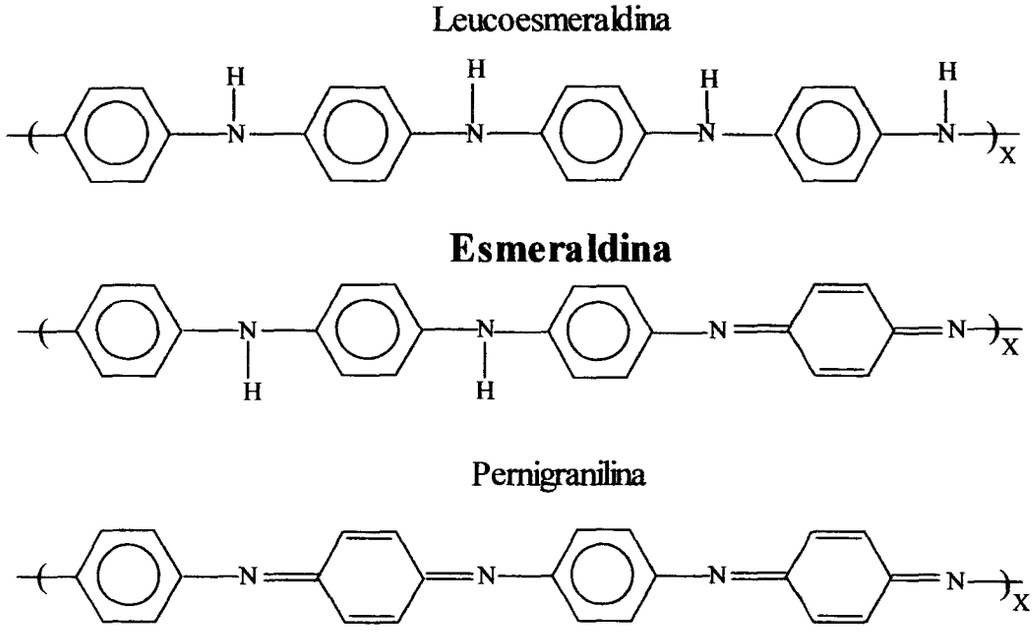


FIGURA 1.2: *Estados de oxidação da polianilina.*

O estado de oxidação em que se consegue a maior condutividade elétrica (1 a 5 S/cm) é o da esmeraldina dopada. Esse estado é obtido por meio de polimerização oxidativa da anilina em solução aquosa ácida em uma variedade de agentes oxidantes. Dentre esses agentes, o mais utilizado é o peroxidissulfato de amônio [$(NH_4)_2S_2O_8$] em meio aquoso de HCl. Esta reação produz um sal de esmeraldina 50% protonado. No processo de dopagem, a PANI se diferencia dos demais polímeros condutores, pois seus átomos de nitrogênio são protonados numa reação do tipo ácido-base. Isso implica manutenção do número de elétrons da cadeia, não ocorrendo, portanto, reações de oxirredução. A carga positiva resultante durante a protonação está localizada nos átomos de nitrogênio e não nos átomos de carbono. Estudos de ressonância paramagnética eletrônica e da susceptibilidade magnética de Pauli indicaram que a PANI dopada é formada por cátions radicais de poli (semiquinona) que originam uma banda de condução polarônica[10, 12-16].

Estudos sugerem que a protonação da PANI não é homogênea, mas a formação de domínios completamente protonados ocorre originando ilhas metálicas condutoras embebidas em regiões não-protonadas isolantes. É proposto que essas ilhas possuam a característica especial de serem simples cadeias poliméricas protonadas e condutoras, já que os pólarons são formados por injeção de carga. Em altos níveis de dopagem, eles tendem a se combinar em bipólarons. Porém, a formação destes é impedida por desordem ou efeitos finais de cadeia. Essa desordem das cadeias poliméricas se mostra como uma característica que deve ser considerada na descrição do mecanismo de condução. O grau dessa desordem depende das condições de preparação desses polímeros[10, 12, 13, 14].

1.2 Síntese da polianilina

A PANI pode ser sintetizada na forma de pó, utilizando-se um oxidante químico apropriado, ou na forma de filmes finos eletropolimerizados sobre eletrodos de diferentes materiais inertes, por meio de oxidação eletroquímica do monômero. O baixo custo do monômero e a facilidade de síntese e de dopagem tornam esse polímero economicamente viável para aplicações industriais. A síntese química convencional da PANI tem a vantagem de produzir um polímero de alta massa molecular com elevada pureza. O mesmo pode ser obtido diretamente no estado dopado e em grandes quantidades. A síntese eletroquímica, por sua vez, não necessita de agente oxidante e catalisador. Tem a facilidade de caracterização "in situ" por técnicas espectroscópicas, sendo o polímero obtido diretamente na forma de filmes finos. No entanto, para o estudo das propriedades físicas e aplicações tecnológicas, a síntese química é a mais indicada[2-4, 15,16]. Outra possibilidade de síntese de PANI é a polimerização enzimática. Liu et al.[17] obtiveram PANI polimerizada pela enzima peroxidase (Horseradish Peroxidase – HRP) na presença de um polieletrólito [poly (sodium 4-styrenesulfonate)]. O polieletrólito tem função de organizar os monômeros de PANI, induzindo a polimerização preferencialmente na posição *para*, dando origem a uma cadeia polimérica linear. O polieletrólito também age como

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

contra-íon, promovendo estabilidade e condutividade ao polímero condutor. Além disso, por este método o polímero condutor obtido é solúvel em água. Neste estudo, o maior valor de condutividade (10^{-3} S/cm) foi alcançado para o polímero condutor produzido em pH entre 4 e 5.

1.3 - Síntese da Poli (o-etoxianilina) – POEA

A POEA é um polímero condutor intrínseco de eletricidade, derivado da PANI. Apesar da POEA apresentar menor condutividade elétrica do que a PANI, ela tem como vantagem a solubilidade em diversos tipos de solventes, entre eles a água, permitindo a confecção de blendas de POEA a partir de sua solução com um grande número de polímeros convencionais. A presença do substituinte etoxila (OC_2H_5), que promove um distanciamento entre as cadeias principais do polímero, permite uma maior interação com o solvente e também facilita o seu processamento na forma de filmes. A estrutura da POEA na forma dopada com HCl (sal de esmeraldina) é mostrada na Figura 1.3, sendo R = OC_2H_5[2, 4].

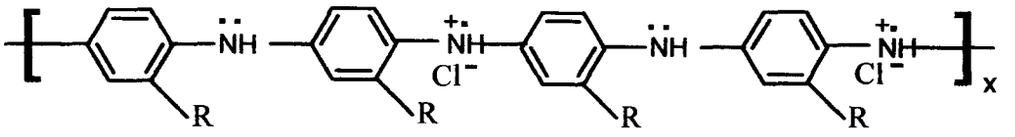


FIGURA 1.3: *Estrutura da poli (o-etoxianilina) (POEA) (R = OC_2H_5) protonada com HCl 1M.*

1.4 – Dopagem da PANI

A condução elétrica da PANI envolve um novo conceito em polímeros condutores, pois a PANI pode ser facilmente dopada por protonação. A condutividade da base de esmeraldina EB (*Emeraldine Base*) (azul) é aumentada em 10 ordens de grandeza, quando esta é protonada em solução aquosa de HCl 1,0 mol.L^{-1} (pH~0), levando à formação do sal hidrocloreto de esmeraldina ES (*Emeraldine Salt*) na forma dopada (verde). Esse estado dopado pode permanecer por longos períodos de exposição ao ar. A desprotonação ocorre reversivelmente por tratamento semelhante com solução aquosa básica (NH_4OH) 0,1 mol.L^{-1}. A base de esmeraldina pode ser dopada com um ácido protônico não-oxidante (Figura 1.4)[2, 4, 14-16].

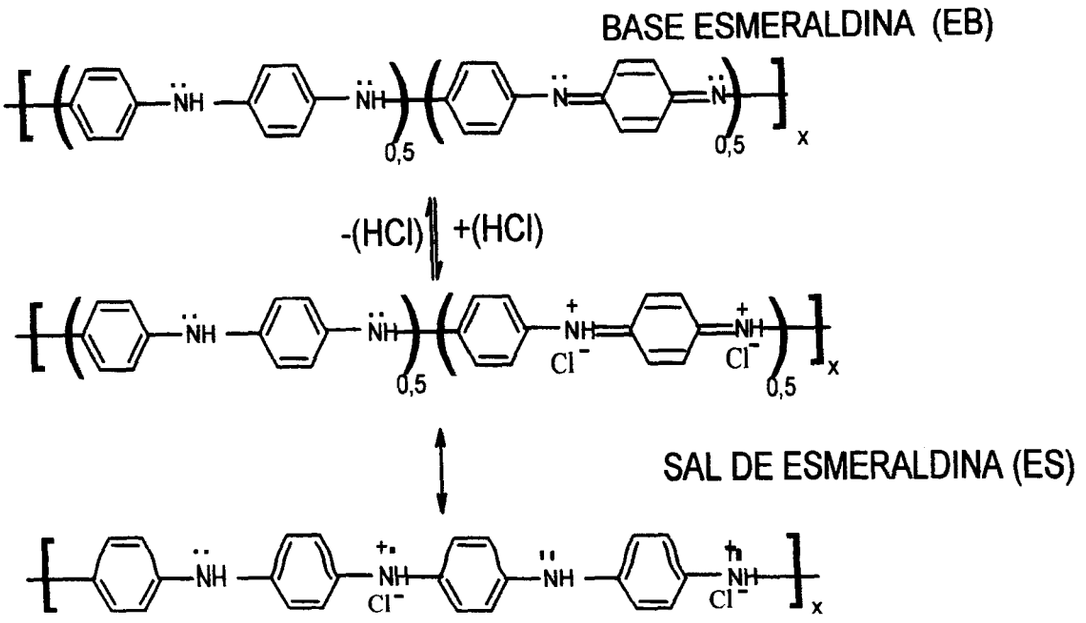


FIGURA 1.4: Dopagem protônica da polianilina no estado esmeraldina.

1.5 - Colágeno

O colágeno[18] é uma proteína fibrosa encontrada em grande quantidade no tecido conjuntivo (tendão, pele, osso etc.), e que tem a função de manter a integridade estrutural do tecido, conferindo-lhe resistência mecânica. Sua estrutura é formada por unidades básicas de tropocolágeno, o qual é constituído de três cadeias polipeptídicas (denominadas α) entrelaçadas em sua maior parte, na conformação de uma tripla hélice. Nas regiões N e C terminais, são encontrados os telopeptídeos, sem a formação de hélice. A macromolécula de colágeno é um filamento de 300 nm de comprimento por 1,5 nm de diâmetro, sendo que cada cadeia α possui cerca de 1000 resíduos de aminoácidos e massa molecular em torno de 100.000 Daltons[19,20].

A organização de cada cinco moléculas de tropocolágeno lado a lado, deslocadas em ¼ de seus comprimentos em relação à molécula adjacente, é responsável pela formação das fibras de colágeno, no modelo conhecido como quarto alternado pentafibrilar[21]. Nesse modelo, as forças resultantes de interações eletrostáticas e hidrofóbicas formam as microfibrilas, que se agregam dando origem às fibras, que compõem a matriz colagênica dos tecidos (Figura 1.5)[22].

O colágeno tem uma estrutura atípica, quando comparado com outras proteínas, sendo todo terceiro resíduo de aminoácido, na sua seqüência primária, uma glicina (Gly). Ele também possui alto teor de prolina (Pro) e hidroxiprolina (Hyp). Estes aminoácidos são encontrados freqüentemente na forma de tripletos repetitivos (Gly-X-Y), onde X e Y podem ser Pro ou Hyp, respectivamente[23]. Esta estrutura é típica do colágeno, não sendo encontrada em outras proteínas.

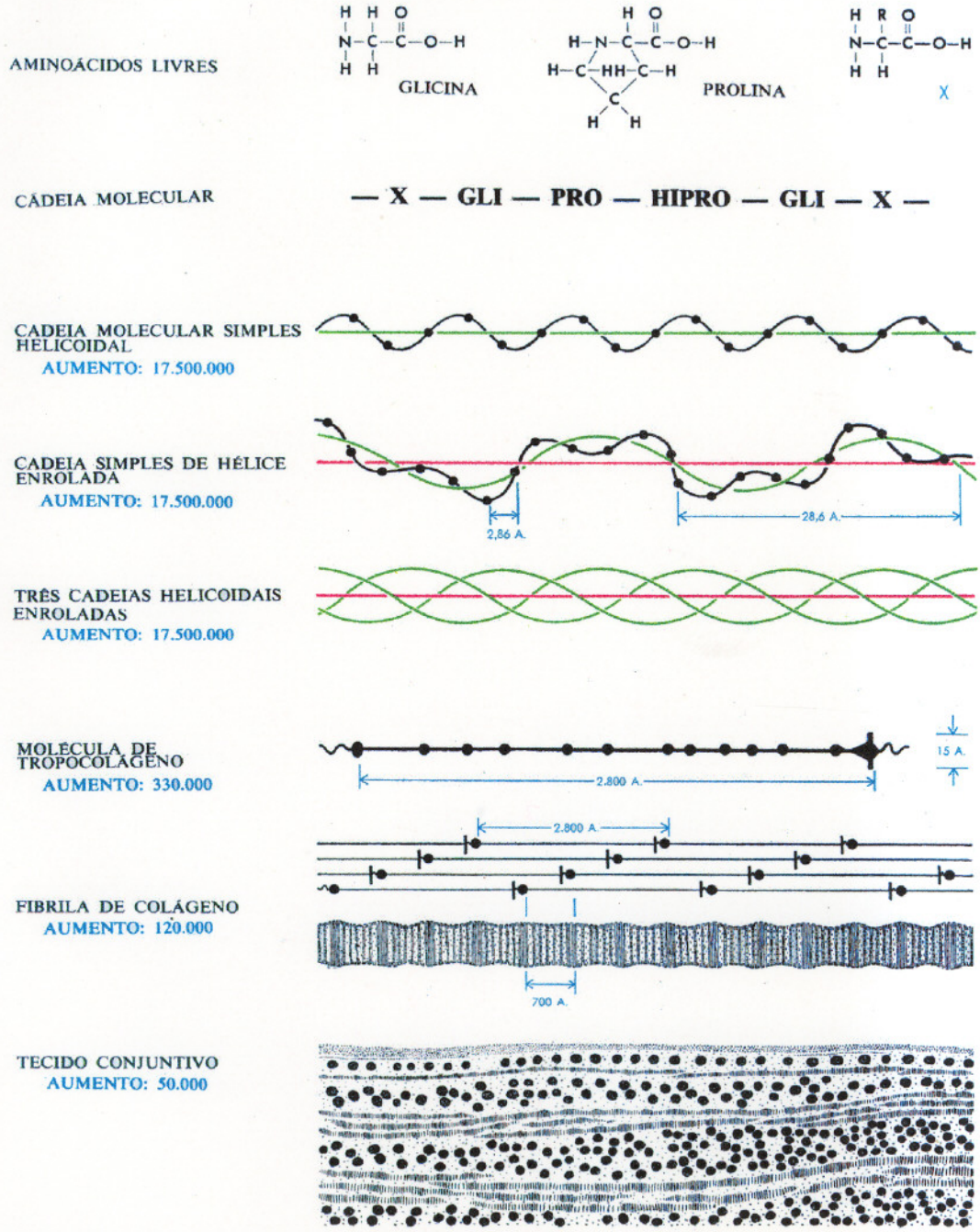


FIGURA 1.5: *Esquema da formação da matriz de colágeno.*

Durante a maturação das fibras, estabelece-se no colágeno o processo de reticulação natural entre resíduos das cadeias laterais de lisinas (lys) e hidroxilisinas (Hyl). Estes resíduos são convertidos enzimaticamente em derivados aldeídicos, resultando em reticulações por reação com grupos amino, com formação de bases de Schiff (RHC=NR') envolvendo diferentes cadeias de estrutura microfibrilar. Esta reação confere estabilidade mecânica e biológica (Figura 1.6) à matriz colagênica[24].

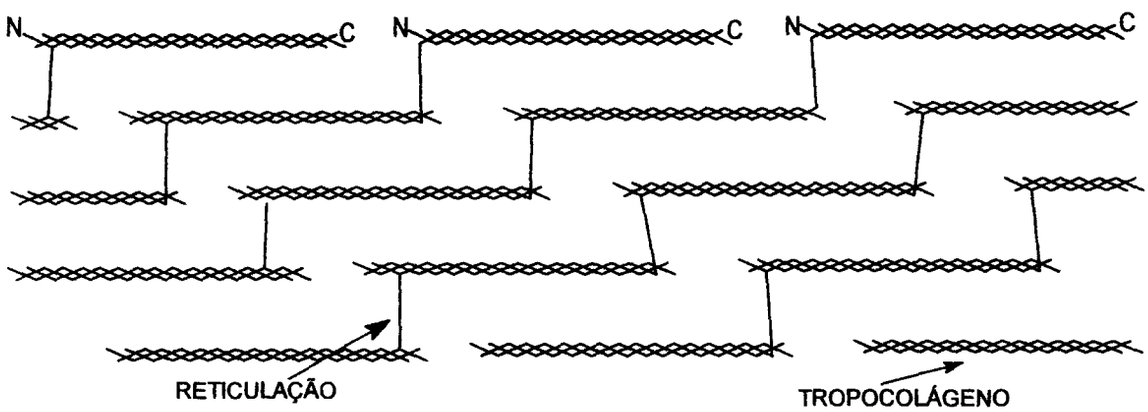


FIGURA 1.6: *Esquema das reticulações naturais ao longo das fibras de colágeno.*

A composição dos diferentes tipos de colágeno varia segundo a necessidade funcional de cada tecido onde ele se encontra, o que caracteriza os vários tipos de colágeno existentes[19, 20].

O colágeno é amplamente utilizado em diversas áreas de aplicações, entre elas a médica e a indústria de cosméticos, na forma de géis, esponjas, fios e filmes. O processamento do colágeno é preferencialmente feito após a sua solubilidade. Para que ele possa ser solubilizado é necessário que as ligações de reticulação sejam rompidas. Dessa forma, obtêm-se moléculas individuais de tropocolágeno, o que torna possível a sua processabilidade para a confecção de fios, filmes, esponjas e géis. As proteínas apresentam diferentes graus de solubilidade, dependendo do pH do meio[25]. Quando o número de cargas positivas (NH_3^+) e negativas ($-COO^-$) é igual, ou seja, a resultante de carga é zero (pI – ponto isoelétrico), a solubililidade se torna difícil, devido à menor interação da proteína com o solvente. Nos pHs fora dos pontos isoelétricos, as proteínas são mais facilmente solubilizadas, devido à presença de cargas positivas ou negativas

nas moléculas. Isso impede aglutinações ou precipitações, como é o caso do colágeno nativo, cujo pI é próximo de 6,6, e fora do seu pI apresenta maior solubilidade[26, 27].

Outro fator determinante na solubilidade de proteínas é a concentração de sais. Os sais exercem grandes efeitos nas proteínas ou polieletrólitos, que dependem tanto da concentração quanto da natureza dos seus íons. Os efeitos desnaturantes ou estabilizantes dos íons sobre as proteínas são demonstrados pela série liotrópica de Hoffmeister[19, 28]. Nesta série, cátions e ânions podem reduzir a solubilidade dos grupos hidrofóbicos da proteína, devido ao aumento da força iônica. Os sais também podem se ligar fortemente aos grupos carregados ou dipolos (ligações peptídicas), reduzindo a quantidade de água estrutural ligada à proteína, tornando-a mais solúvel ou até mesmo desnaturando-a.

As proteínas geralmente possuem múltiplos grupos polarizáveis, ionizáveis ou ainda hidrofóbicos. Sua solubilidade depende da concentração dos sais dissolvidos, do pH do meio, da constante dielétrica e da polaridade dos solventes empregados, que podem afetar as interações eletrostáticas, hidrofóbicas e/ou as pontes de hidrogênio[25, 26].

A solubilidade do colágeno pode ser, ainda, obtida por métodos físico-químicos, que consistem em deixar as amostras do tecido conectivo de animais jovens em soluções ácidas, básicas ou neutras com força iônica variável[29]. Este método produz colágeno solúvel na forma ácida, básica ou neutra, porém com baixo rendimento[30, 31].

Uma alternativa para aumentar o rendimento de colágeno solúvel consiste no método de extração alcalina na presença de sais, com ou sem solventes orgânicos de constante dielétrica menor que a da água[31]. Por meio da aplicação deste método, é possível obter colágeno solúvel. As moléculas de tropocolágeno se encontram dissolvidas em solução. A partir de então, é possível a confecção de filmes, bem como blendas poliméricas de colágeno.

1.6 - Blendas poliméricas

Blendas de polímeros naturais e sintéticos podem ser consideradas uma nova classe de materiais, com interesse em diversas áreas de pesquisa e aplicações. A possibilidade de combinar, por exemplo, as propriedades mecânicas de polímeros sintéticos com a biocompatibilidade de polímeros biológicos pode ser explorada para produzir novos materiais denominados "materiais poliméricos bioartificiais" que são utilizados para aplicação no campo biomédico. Outro exemplo é a confecção de blendas entre polímeros convencionais e polímeros condutores. A confecção deste tipo de blenda permite agrupar as propriedades mecânicas (resistência, processabilidade) dos polímeros convencionais com as propriedades elétricas dos polímeros condutores, produzindo blendas condutoras com melhores propriedades mecânicas[32-36].

No presente trabalho foram investigadas as condições que possibilitaram a preparação de blendas de POEA e colágeno, visando à obtenção de um novo material com propriedades únicas, devido à união de propriedades desses tipos de materiais.

1.7 - Blendas de colágeno

Blendas de colágeno têm sido descritas na literatura[37-51] com o propósito de produzir novos materiais e também investigar as interações que ocorrem entre colágeno e os grupos funcionais característicos dos polímeros sintéticos. Blendas de colágeno com ácido poliacrílico (PAA)[48], polivinilsulfanato de sódio (PVS)[42], polivinil álcool (PVA)[37, 45], polietileno glicol (PEG)[41], poli (2-hidroximetilmetacrilato) (poliHEMA)[40] e polipirrol (PPy)[49-51] foram estudadas por meio de análises térmicas, degradação enzimática, biocompatibilidade, estudos de liberação controlada de droga etc.

Blendas de colágeno e polivinil álcool foram estudadas em função da concentração dos componentes, visando-se diversas áreas de aplicações em biomateriais. Em um estudo de caracterização destas blendas por ESCA (Eletron spectroscopy for chemical analysis), Cascone[48] demonstrou que o

filme destas blendas se comporta como um sistema de duas fases, em que o colágeno é encontrado preferencialmente na superfície da blenda para todas as condições investigadas. Em estudo de adesão celular, a utilização de substratos de colágeno/PVA apresentou melhores resultados de crescimento celular do que quando foram utilizados filmes de colágeno puro. Isso indica que novos materiais, com melhores propriedades, foram alcançados com a combinação destes dois polímeros. Sarti[37] também estudou estas blendas, analisando suas propriedades viscoelásticas e térmicas. Ele concluiu que não houve interação entre os dois componentes. Os resultados encontrados correspondem tipicamente aos componentes isolados, indicando a formação de um sistema heterogêneo, sendo a intensidade dos fenômenos analisados proporcional à quantidade de cada componente na blenda.

Lam[51] sintetizou um monômero de um derivado de polipirrol, o ácido Poli 4-(3pirrolil)-4-oxobutírico, com colágeno e demonstrou a existência de uma interação covalente entre os grupos aminos do polipirrol e os grupos carboxílicos do colágeno. Após a síntese, este composto foi polimerizado utilizando o $FeCl_3$ como agente oxidante do polipirrol. A condutividade máxima encontrada para este composto híbrido foi da ordem de 10^{-7} S/cm para um conteúdo de 50% de polipirrol na blenda.

Li[49] estudou a polimerização de polipirrol e colágeno. A condutividade no híbrido aumentou com a quantidade de polipirrol adicionado. Análises de composição de aminoácidos e de termogravimetria mostraram a coexistência de dois polímeros no híbrido, não sendo encontradas evidências de ligações químicas entre eles. A blenda foi formada por uma mistura física entre seus componentes.

1.8 - Blendas de polianilina

A processabilidade de polímeros condutores é um fator importante no uso de suas propriedades elétricas e eletroquímicas em aplicações tecnológicas. Durante vários anos, os polímeros condutores foram considerados essencialmente insolúveis e não-processáveis, devido à rigidez das conjugações na cadeia polimérica. A obtenção de filmes e fibras

de polianilina por solução deu grande impulso a este campo[52, 53]. Outro fator importante foi o desenvolvimento de métodos para a obtenção de blendas de polianilina com um grande número de polímeros convencionais, tais como: copolímero tribloco de estireno-etileno/butadieno-estireno[54], poliestireno[55], náilon[55], poli (metacrilato de metila)[56], poli (fluoreto de vinilideno)[32-35, 57], poli (vinil cloreto)[58], poliestireno[58], poli (vinil acetato)[58], poli (vinil álcool)[58], nafion[59], poly (ácido acrílico)[60] e polietileno de ultra alta massa molar[61]. Também foram estudadas blendas de polímeros condutores, como o copolímero poli (anilina – co – o – toluidina)[62].

Blendas de polímeros condutores, usualmente polianilina e polipirrol, podem ser eletroquimicamente sintetizadas juntamente com polímeros convencionais, tais como polivinil cloreto (PVC) e poli butadieno-co-acrilinitrila[63, 64]. Neste método, o polímero convencional é depositado no eletrodo de trabalho e embebido em um solvente específico, permitindo a penetração do polímero condutor em sua estrutura. A principal desvantagem deste método são a quantidade e a forma do material produzido, que é limitado à forma e ao tamanho do eletrodo de trabalho[35]. Na polimerização *in situ*, polímeros condutores (polianilina, polipirrol ou politiofeno) são obtidos por polimerização química oxidativa em substratos de vidros ou plásticos (filmes ou fibras) na forma de uma fina camada, preferencialmente na superfície desses materiais[65]. Apesar da estrutura desse material se aproximar mais de um compósito, ele tem sido utilizado em grandes aplicações tecnológicas na fabricação de tecidos condutivos, em combinação com polímeros convencionais, tais como náilon e o poliéster[66]. Uma adaptação deste método que tem sido estudado é a polimerização química do polímero condutor em um volume de polímero convencional embebido com o monômero (ou oxidante) ou um solvente específico, formando uma rede polimérica interpenetrante. Neste último caso, é necessária uma grande quantidade de material condutivo para se obterem altas condutividades, quando comparado àquele em que a deposição ocorre basicamente na superfície[35].

Devido à dificuldade de dissolver ou fundir polímeros condutores, uma idéia extensivamente utilizada é a dispersão do pó desse polímero na matriz de polímero convencional [PVC, polivinil álcool (PVA), poliestireno (PS), polipropileno (PP), náilon e poli (metacrilato de metila)], na forma de blenda a partir da solução ou do processamento por fusão[67]. Neste caso, a condutividade é devida à formação de caminhos condutivos dentro da matriz isolante (percolação do polímero condutor). Este método tem sido utilizado com sucesso na formulação de tintas para aplicação anticorrosiva. No processo de fusão, o uso de ácido funcionalizado como contra-íon tem como função a plastificação do polímero condutor (especificamente polianilina), diminuindo a temperatura de transição vítrea, permitindo a fusão do mesmo com polímeros convencionais, tais como PVC, polietileno de baixa densidade (LDPE), ABS, náilon, PS, copolímero de estireno-etileno/butadieno-estireno (SEBS), bloco de copolímero estireno-butadieno-estireno (SBS), policarbonato (PC). Este método permite a produção em grande escala, o que tem despertado grande interesse tecnológico[35]. Na técnica de formação de blendas a partir de uma solução, deve ser utilizado um solvente ou uma mistura de solventes que dissolva o polímero condutor e que seja miscível com o solvente do polímero convencional, permitindo a obtenção de blendas homogêneas com propriedades uniformes[4, 68]. Dois fatos marcantes que alavancaram este método de produção de blendas foram o uso de PANI substituídas (poli-o-metoxianilina (POMA), poli – o-etoxianilina (POEA)), que possuem maior solubilidade do que a PANI, e mais recentemente o desenvolvimento de solubilidade e processabilidade induzida pelo contra-íon do dopante[4, 53]. Neste último caso, o ácido protônico funcionalizado deixa a PANI na forma de sal de esmeraldina (dopada), em solventes orgânicos não-polares ou moderadamente polares. Uma grande variedade de blendas, principalmente de PANI e seus derivados, pode ser obtida com PMMA, polietileno de ultra alta massa molar (UHMW-PE), PS, PP, PVC, Poli (fluoreto de vinilideno) (PVDF), SEBS e náilon[4, 32-35, 54-58].

Os trabalhos realizados nesta área têm focado os efeitos das condições de preparação nas blendas obtidas, a melhoria na condutividade dos filmes, o grau de percolação, a estrutura e morfologia das blendas

condutoras, bem como suas propriedades mecânicas. As propriedades desses materiais são altamente afetadas pelo método e condições utilizadas na preparação e isso tem levado vários cientistas a se dedicarem a esse estudo.[32-35].

No presente trabalho, blendas de colágeno/POEA foram investigadas por solução. Isso foi possível devido ao fato de tanto o colágeno quanto a POEA serem solúveis em solução aquosa. No entanto, as condições de preparação dessas blendas tiveram que ser otimizadas, conforme será descrito posteriormente, para poder obter filmes auto-sustentáveis.

1.9 – Técnicas de caracterização de blendas poliméricas

1.9.1 – Microscopia de Força Atômica (AFM)

A técnica de microscopia de força atômica (AFM) foi utilizada no presente trabalho, para estudar as propriedades morfológicas de blendas de colágeno/POEA em diferentes condições de preparação (dopada e desdopada). Os resultados obtidos são correlacionados com as demais técnicas de caracterização empregadas, procurando entender o mecanismo de interação entre os dois componentes do novo material, bem como as propriedades do mesmo.

A microscopia de varredura por força, "scanning force microscopy" (SFM), é uma das técnicas mais recentes no estudo de polímeros. A alta resolução da imagem obtida, a facilidade de preparação de amostras para as análises, a disponibilidade de instrumentos comerciais de alta qualidade e de menor custo, quando comparado com metodologias usuais, como a microscopia eletrônica de varredura e transmissão, fazem dessa técnica uma poderosa ferramenta para o estudo de materiais. O campo de aplicação da SFM envolve, além das imagens de topografia dos materiais (micrografias), outras informações na análise de superfície, tais como adesão, dureza, reologia de superfícies, propriedades elétricas, magnéticas

e térmicas, entre outras, dependendo do modo de operação do microscópio[36], que até então exigiriam o uso de um conjunto de diversas outras metodologias[69-80].

O microscópio de AFM, primeiro da linha da SFM, abrange aplicações simples, que vão desde o estudo da morfologia de superfície dos polímeros, até o exame das características morfológicas, estruturais e moleculares em escala nanométrica. Embora os polímeros tenham grande importância tecnológica, muito ainda deve ser feito para o melhor conhecimento de sua morfologia e nanoestrutura. É por isso que o aparecimento da técnica de AFM tem causado um impacto tão grande na pesquisa e desenvolvimento de compostos macromoleculares[69-80].

A técnica de AFM também tem sido utilizada para o estudo do colágeno. O colágeno é a maior proteína fibrosa encontrada na matriz celular e no tecido conectivo, sendo encontrados vários tipos, que variam de acordo com a função e a posição que se encontram no tecido. O colágeno tipo I apresenta uma estrutura fibrilar, com periodicidade de 67nm (período D). Isso é devido ao arranjo das moléculas de tropocolágeno[79-85]. Esses estudos mostraram que tendão de rato, após ser solubilizado, volta a apresentar estrutura fibrilar quando exposto à solução salina de tampão fosfato pH 7,4. A dimensão do período D encontrado após a refibrilação está de acordo com os valores da literatura. Segundo Cotterill et al.[86] e ZHU et al.[87], as fibras de colágeno estão arranjadas numa estrutura em que a hélice sofre uma torção para a esquerda, enquanto que a estrutura de uma única hélice sofre torção à direita.

Lin[79] estudou o processo de síntese e degradação de moléculas de colágeno em substrato de mica, por meio de AFM, em célula úmida em tempo real. Uma solução de colágeno em tampão fosfato pH 7,4 foi adicionada à célula, em que se encontrava a placa de mica. Várias imagens foram adquiridas em função do tempo, sendo possível calcular a cinética de adsorção das fibras no substrato. Após a adsorção, uma solução de colagenase (enzima que degrada colágeno) foi adicionada, substituindo a solução de tampão existente anteriormente, e o efeito cinético da

degradação foi acompanhado. Assim, a técnica de AFM permite obter imagens das transformações sofridas pelo material que se deseja analisar [79 – 87].

No AFM (Figura 1.7), as imagens são geradas por meio de medidas das forças de atração ou repulsão entre a superfície da amostra e a agulha bem-fina que varre a superfície da amostra, construindo uma imagem topográfica da mesma. Essa varredura é feita por intermédio de um sistema piezoelétrico, com deslocamento nas posições x, y e z, com precisão de décimo de angstron. Esse deslocamento se dá por meio da variação de tensão aplicada no sistema[36].

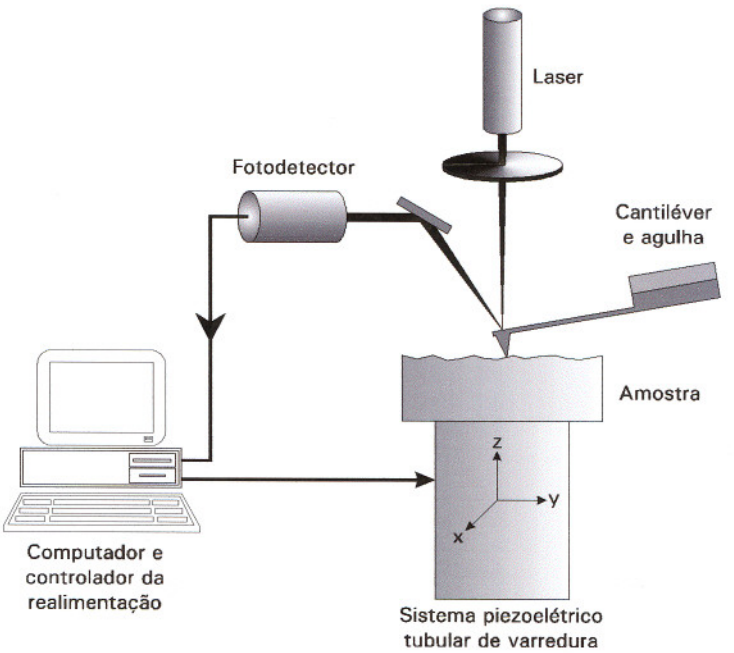


FIGURA 1.7: *Ilustração esquemática de um microscópio de varredura por força.*

As forças de atração ou repulsão envolvidas são da ordem de 10^{-12} N, o que implica necessidade de se desenvolver um sistema de detecção ultra-sensível. Este sistema é constituído de uma agulha (nitreto de silício) colocada na ponta de uma haste (cantiléver) com baixa constante de mola. A interação da agulha com a superfície da amostra causa uma deflexão no cantiléver. Essa deflexão é medida por um sistema ótico com feixe de laser e um foto detector. Um software utiliza os dados da deflexão do cantiléver nos eixos x, y, e z e reconstrói a imagem[36, 69-70].

São vários os tipos de forças que contribuem para a deflexão do cantiléver em um AFM. Essa força está relacionada com a distância de separação entre a agulha e a amostra. De acordo com essa distância, pode-se determinar qual o melhor modo de operação do microscópio, que pode ser o modo contato, não-contato e contato intermitente ou "tapping". No modo contato, a agulha varre a amostra mantendo a menor distância possível, na faixa de distâncias interatômicas. As forças de repulsão estão envolvidas, sendo necessário grande cuidado para que a agulha não danifique a amostra. A força envolvida é calculada pela equação:

$$F = K * Z$$

Onde F é a força em Newton (N), K é a constate de mola ($N.m^{-1}$) e Z é o valor da deflexão do cantiléver. Para o modo contato, essa força é da ordem de 10^{-6} a 10^{-9} N [69, 70].

No modo não-contato, a força atuante é da ordem de 10^{-12} N, o que é menor do que a força utilizada no modo contato. Neste modo de operação, deformações na amostra são evitadas, pois com menor força, os contatos físicos entre a agulha e a amostra diminuem. A distância entre a agulha e a amostra fica em torno de 10 a 100 nm e somente forças de interação de longo alcance interagirão (Van der Waals, eletrostática e força de dipolo magnético). Neste modo, o cantiléver vibra próximo à sua freqüência de ressonância, pelo uso de um elemento piezoelétrico. Mudanças no valor de freqüência de ressonância ocorrerão, devido ao resultado da força de interação entre a agulha e a superfície da amostra[36].

O modo contato intermitente é similar ao não-contato, isto é, o cantiléver vibra, por intermédio de um sistema piezoelétrico, próximo à sua freqüência de ressonância. A agulha, que oscila com uma amplitude de vibração do cantiléver entre 20 e 100 nm, toca levemente a amostra por um curto período de tempo. Esta técnica vem sendo aplicada com bons resultados em alguns tipos de amostras consideradas macias, tais como polímeros e materiais biológicos, eliminando as forças laterais que atuam no modo contato e que podem danificar a amostra. Por esta técnica também é possível explorar a detecção de fase, pois devido à sensibilidade da técnica

é possível extrair informações como, por exemplo, diferenças entre os módulos de elasticidade das fases presentes em uma blenda ou copolímero[36].

1.9.2 - Dicroísmo circular em polímeros condutores (CD)

A atividade ótica na banda de absorção (π e π^*) de polímeros conjugados pode ser induzida pela presença de um íon quiral na cadeia lateral do polímero condutor, visto que o mesmo é aquiral. Estudos dessa natureza têm sido reportados para politiofeno[88-90], polipirrol[91], poli (fenileno-vinileno)[92], poliacetileno[93] e poli diacetilenos[93] substituídos com cadeia lateral oticamente ativa. A regularidade no padrão de substituição dessas cadeias laterais é importante para obtenção de bandas largas de dicroísmo circular (circular dichroism – CD). Este conceito está relacionado ao fato de que o íon dopante se organiza de forma regular na cadeia polimérica por meio de interações eletrostáticas, organizando a geometria da mesma, o que induz a quiralidade no polímero condutor. Pouco ou nenhum CD é esperado se o íon dopante ocupar uma posição mais aleatoriamente distribuída[94].

Outro mecanismo de obtenção de polímero oticamente ativa tem sido utilizado para a PANI, por meio de interação da mesma com solventes dopantes capazes de induzir essa quiralidade. Uma mistura de ácido racêmico tem sido usada em filmes e em solução de polianilina e ácido canforsulfônico (HCSA)[95]. Wallace et al.[96] mostraram que polianilina sintetizada eletroquimicamente na presença de enaltiosseletivo (+) HCSA ou (-) HCSA apresenta imagem de espelho na espectroscopia de CD (CD máximo em 780, 445 e 340 nm). Isso mostrou que a eletropolimerização foi enantiosseletiva, com uma hélice do polímero sendo predominantemente produzida quando os ânions de (+) –CSA^- são incorporados, enquanto que a hélice oposta surge na presença de (-) – CSA^-.

Posteriormente, esses autores demonstraram a síntese química de polianilina com propriedades quirais, a partir da dopagem de polianilina na forma de base de esmeraldina com (+) ou (-) CSA^-. A protonação e

dopagem da EB com ácidos protônicos (HCl, $HClO_4$, HOAc, HPTSA – ácido para-toluenosulfônico) foram relatadas como uma rota para produção de sal de polianilina aquiral. O espectro de UV-Vis da solução de polianilina com o ácido funcionalizado apresentou bandas de absorção máxima em 790, 440 e 350 nm, o que é muito próximo daqueles obtidos com a dopagem protônica com HCl. Isso confirmou a formação do sal de esmeraldina com o dopante [97 - 99].

As propriedades óticas quirais desses polímeros podem ser afetadas pela natureza do solvente. Havinga et al.[95] mostraram que soluções de sal de esmeraldina obtido pela dopagem de esmeraldina base com (+) - HSA em m-cresol não exibiram bandas no espectro de CD. Majidi et al.[96] encontraram atividade ótica em filmes de polianilina dopados com (+) e (-) HCSA depositados na forma de "casting" em substrato de ITO usando como solvente o NMP, DMF, DMSO e $CHCl_3$.

Norris et al. [100] estudaram o efeito do tempo de dopagem do ácido (+) – CSA^- em poli (o-metoxianilina) (POMA), com alto peso molecular (144000 Daltons) e baixo peso molecular (31000 Daltons). Nesse estudo, a POMA solubilizada em dimetil sulfóxido (Me_2SO) foi rapidamente dopada, após a adição do ácido funcionalizado. A banda de absorção máxima inicial foi de 680 nm, indicando uma conformação enovelada e compacta da cadeia polimérica. A posição desta banda, entretanto, mudou gradualmente para 810 nm, após 48 horas da adição do ácido. Essa mudança no vermelho (130 nm) corresponde ao efeito de de-agregação do polímero, causado pelo solvente. Inicialmente, ocorre a formação de agregados/reticulados devido à ligação de hidrogênio entre os nitrogênios amino e imino em cadeias adjacentes. No processo de protonação, pode ocorrer o rompimento dessas ligações de hidrogênio nos centros imina, diminuindo a agregação da cadeia polimérica, o que causa a mudança na banda de absorção para o vermelho. Nesse intervalo de tempo, também foi possível observar o surgimento de uma banda de absorção menor em 430 nm. A intensidade da banda de absorção no espectro de CD na região do visível (345, 400, 445 e 465 nm) para esse material aumentou com o tempo de dopagem. Para a polianilina,

sem grupo lateral, o processo de dopagem e o surgimento de atividade ótica são instantâneos. Isso indica que o grupo metoxi adicionado como grupo lateral na POMA impede a ação do ácido dopante, sendo necessário um tempo maior para que ocorra rearranjo da matriz polimérica.

Nenhum estudo foi encontrado na literatura sobre a possibilidade de obtenção de quiralidade em blendas ou da transferência de quiralidade de polímero para outro, por meio da preparação de blendas poliméricas de um polímero quiral e outro aquiral.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo a preparação, caracterização e estudo de blendas de colágeno e POEA. Estes componentes apresentam propriedades importantes isoladamente, tornando interessante a possibilidade de unir essas propriedades em uma blenda polimérica em busca de um novo material com propriedades únicas, entre elas, óticas e elétricas. As condições ideais de preparação dessas blendas foram investigadas. As blendas foram estudadas por diferentes metodologias, tais como: microscopia ótica, eletrônica e de força atômica; propriedades elétricas, com o método de quatro pontas, duas pontas e condutividade AC; espectroscopia de UV-Vis, infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), Raman, dicroísmo circular (CD); análises eletroquímicas por meio de microbalança a cristal de quartzo (EQMC); estabilidade térmica por meio de análise termogravimétrica (TGA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1 - Materiais

Os ácidos (ácido clorídrico, ácido acético, ácido canforssulfônico, ácido bórico), bases (hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, hidróxido de cálcio, hidróxido de amônio), solventes (m-cresol, N-metilpirrolidona), sais (sulfato de sódio, sulfato de cálcio, cloreto de sódio, EDTA (etileno diaminotetracético)) e agente oxidante (peroxidisulfato de amônio) são todos grau para análise, utilizados conforme recebidos.

3.2 - Síntese da Poli (o-etoxianilina) – POEA

A POEA utilizada foi sintetizada quimicamente, pela reação oxidativa do monômero o-etoxianilina (orto-fenitidina) da marca Aldrich Co. em meio reacional de HCl 1,0 mol.L^{-1}, utilizando persulfato de amônio como agente oxidante. Esta reação foi mantida à temperatura de 0°C. A razão monômero/oxidante foi de 4:1. Após duas horas de reação, obteve-se um precipitado escuro, que foi filtrado em papel de filtro Whatman número 4, em funil de Buchner. O filtrado foi lavado com excesso de solução de HCl 1,0 M, até que a solução filtrante ficasse transparente. Após a lavagem com HCl, o precipitado foi seco em dessecador, sob vácuo dinâmico por 24 h. O material obtido foi mantido em geladeira até o momento de utilização. A massa molar ponderal média do polímero obtido por esta técnica está em torno de 40.000 g/mol, de acordo com a literatura [2-4].

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

3.3 - Obtenção de colágeno

O colágeno obtido do tendão bovino foi utilizado após a remoção do sangue residual. Em seguida, foi desfibrilado em solução de NaCl a 0,9% (m/v) e lavado com água para retirar o excesso de sal. Uma massa de 25 gramas de tendão desfibrilado foi colocada em solução alcalina na presença de hidróxidos (K^+, Ca^{+2} e Na^+), cloretos (K^+ e Na^+), e sulfatos (Ca^{+2} e Na^+), por um período de 48 horas. Após esse tempo, o colágeno foi lavado várias vezes com ácido bórico 3% para remoção de sais residuais, seguido de lavagens com EDTA (etileno diaminotetracético) 0,3% em pH 11. O EDTA foi removido com água deionizada. Esse colágeno, após o tratamento especificado acima, foi homogeneizado em ácido acético pH = 3,5 e uma solução foi obtida com o auxílio de liquidificador[101]. A solução obtida foi armazenada à temperatura entre 5 e 10°C até a sua utilização. A concentração da solução estoque foi de 0,9% (m/v), determinada por meio da perda de massa após secagem em liofolizador. Um volume de 2,0 mL de colágeno foi previamente congelado e colocado em liofilizador até que as amostras atingissem massa constante. O resultado representa a média de três determinações. No momento da utilização, a solução estoque foi diluída em solução de ácido acético pH 3,5, obtendo-se concentração de 0,3% m/v[101].

3.4 – Preparação das soluções

Soluções de colágeno 0,3% m/v foram obtidas a partir da solução estoque, como descrito anteriormente.

A POEA, obtida como descrito anteriormente, foi previamente umedecida com acetona, e em seguida dissolvida em água ultrapura sob agitação magnética por 12 horas. A solução foi filtrada com papel de filtro e a concentração final obtida foi de 3,0 $g.L^{-1}$ (~ $5*10^{-3}$ M).

3.5 - Preparação dos filmes

A grande dificuldade de se obterem blendas por solução é devida geralmente, à falta de miscibilidade encontrada entre diferentes polímeros. Alguns fatores que influem nessa miscibilidade são: polaridade das cadeias poliméricas e solventes comuns para os dois polímeros. Neste caso, a

preparação dessas blendas foi facilitada, pois o colágeno foi solubilizado em solução aquosa de ácido acético, enquanto que a POEA tem como vantagem sobre a PANI a sua solubilidade em água. Uma solução de POEA, com concentração variando de 0 a 50%, foi adicionada a uma solução estoque de colágeno pH 3,5, com concentração de 0,3% m/v. Os filmes foram obtidos por "casting", em molde de acrílico, e o solvente evaporado por circulação de ar, em capela de fluxo laminar. Também foi estudado o efeito do pH na formação dos filmes. Para tanto, o pH variou de 1 a 7. Para o estudo microcópico do colágeno puro em pH 7,4, os filmes de colágeno puro obtidos conforme descrito acima e em seguida foram colocados em solução de tampão fosfato 0,13 Mol L^{-1} pH 7,4 por 24 horas. Após este período, os filmes foram secos e realizou-se as análises de microscopia.

3.5.1 - Filmes dopados

Os filmes obtidos após a evaporação do solvente, conforme descrito acima, foram colocados em solução de HCl 1,0 mol.L^{-1} por um período de 2 horas. Após este tratamento, o filme se tornou dopado. Os filmes foram secos em capela de fluxo laminar.

3.5.2 - Filmes desdopados

Os filmes obtidos após a evaporação do solvente, conforme descrito acima, foram desdopados em solução de NH_4OH 0,1 mol.L^{-1} por um período de 2 horas. Após a retirada da solução, os filmes foram secos em capela de fluxo laminar.

3.5.3 - Solubilização da POEA

Visando avaliar se houve interação entre colágeno e POEA, foi realizado um experimento na tentativa de remoção da POEA dos filmes. A POEA é solúvel em N-metil-pirrolidona e m-cresol, quando no estado desdopado. Para tanto, os filmes foram desdopados, e em seguida, colocados em solução de m-cresol ou N-metil-pirrolidona durante 24 horas, em temperatura ambiente. Após ficarem expostos ao solvente, os filmes foram analisados por UV-Vis e por microscopia.

3.6 - Caracterização microscópica das blendas

3.6.1 - Microscopia ótica

Filmes de colágeno, bem como das blendas de colágeno/POEA preparados em diferentes pHs, foram analisados em um microscópio ótico Olympus BX40.

3.6.2 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As micrografias foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura computadorizado Digital Scanning Microscope DSM 960 (Zeiss West Germany), utilizando-se um feixe de elétrons de 5 e 20 KV e ampliações de 2.000 a 10.000 vezes. As amostras foram fixadas em suporte de alumínio e as bordas pintadas com tinta prata para obter um bom contato elétrico. Em seguida, depositou-se uma camada de ouro de 20 nm, por meio de um Sputter coater (plasma de argônio) da Balzers, modelo SCD 50.

3.6.3 - Microscopia de força atômica (AFM)

Para estudos da morfologia dos filmes, foram feitas imagens de microscopia de força atômica (AFM), utilizando um equipamento da Topometrix modelo TMX-2010. As técnicas empregadas foram as de contato e contato intermitente com agulha de nitreto silício, com freqüência de ressonância de 122 kHz. As imagens adquiridas com 500 linhas foram processadas com *leveling* e *shading*.

Também foram realizados experimentos em célula fluida, a fim de avaliar o efeito do pH sobre os filmes de colágeno. Para esta técnica, o modo de operação foi o de contato.

3.7 – Caracterização elétrica das blendas

3.7.1 - Medidas de condutividade pelo método de quatro pontas

A condutividade elétrica foi medida pelo método de quatro pontas, seguindo o padrão da literatura[102, 103, 48]. A amostra é colocada em um dispositivo que possui quatro contatos elétricos eqüidistantes, que são mantidos sobre pressão na superfície da amostra.

Uma corrente elétrica (1mA a 1A) é aplicada nos contatos das extremidades da amostra, e a diferença de potencial gerada (voltagem) é medida entre os contatos elétricos internos. A condutividade elétrica é calculada pela equação:

$$\sigma = \frac{l * i}{d * t * V}$$

Nessa equação: l = distância entre os contatos elétricos; i = corrente elétrica aplicada; d = largura da amostra; t = espessura da amostra; V = diferença de potencial medida.

Os resultados de medidas de condutividade por este método foram obtidos em uma fonte de corrente Keithley digital, modelo 224, e um multímetro Keithley digital, modelo 617.

3.7.2 - Medidas de condutividade pelo método de duas pontas

Algumas propriedades elétricas dos materiais dielétricos podem ser estudadas quando se observa o comportamento da corrente elétrica em função do tempo, quando uma parte do material é submetida a um campo elétrico. O método de duas pontas consiste em aplicar um campo elétrico através da amostra e medir a corrente elétrica no circuito. Na figura 3.1, tem-se o esquema do circuito para o método de duas pontas no sistema para medida de corrente termo estimulada (TSC – *Thermal stimulated Current*). Para isolantes, quando se aplica um campo elétrico, a corrente no instante inicial (Figura 3.2) atinge um valor alto, que decai com o tempo até um valor de V/R, onde R é a resistência da amostra. Essa variação da corrente é atribuída aos processos de relaxações dielétricas superposto à corrente de condução ôhmica. Muitas vezes a corrente leva várias horas para atingir o valor estacionário[104].

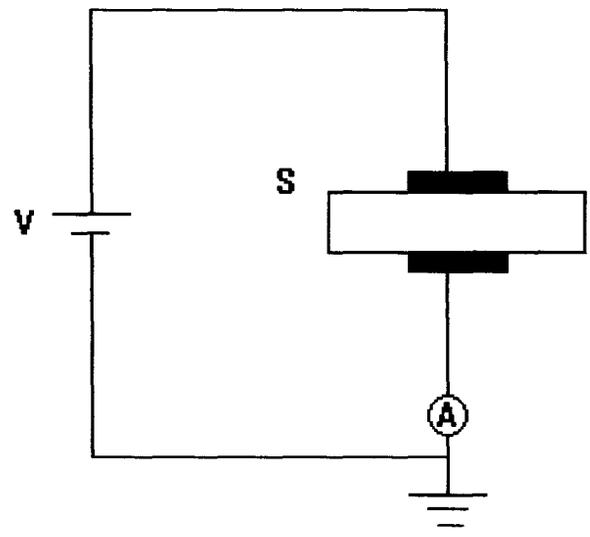


FIGURA 3.1: *Esquema de medida do TSC. V é a fonte de tensão, A o amperímetro e S a amostra.*

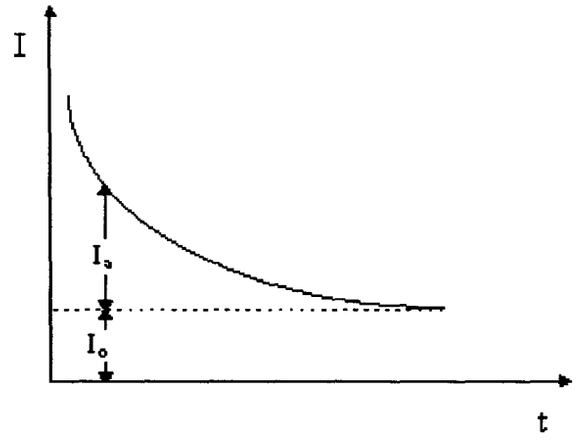


FIGURA 3.2: *Variação da corrente em função do tempo. Ia, é a corrente de absorção dielétrica e Io, a corrente ôhmica.*

A partir da corrente ôhmica (ou estacionária), a condutividade pode ser determinada usando a seguinte expressão:

$$\sigma = Jc / E$$

Sendo Jc a densidade de corrente, σ a condutividade e E o campo elétrico. Se a espessura da amostra for L e V a diferença de potencial aplicada, então o campo elétrico pode ser escrito como:

$$E = V/L$$

Supondo que A seja a área do eletrodo, então a densidade de corrente também pode ser escrita como:

$Jc = I/A$

Substituindo as equações, tem-se:

$$\sigma = \frac{I * L}{A * V}$$

Esta é a equação usada para determinar a condutividade.

As medidas de corrente pelo método de duas pontas foram feitas em um sistema para medida de corrente termo estimulada (TSC – *Thermal stimulated Current*). A técnica consiste na medida de uma corrente elétrica numa amostra dielétrica colocada entre dois eletrodos metálicos. Os eletrodos superior e inferior são banhados a ouro. A resistência para aquecimento é blindada para evitar ruído nas medidas. Para fazer as medidas com a blenda dopada, conectaram-se os eletrodos em uma fonte de corrente fabricada pela Keithley, modelo 316. Esta fonte, ao mesmo tempo em que aplica tensão, mede a corrente do circuito. Para a blenda desdopada, usou-se também um eletrômetro Keithley, modelo 610C. Para a realização dessas medidas, as amostras foram metalizadas nas duas faces para evitar oxidação. A metalização foi feita por evaporação de ouro, em um vácuo de aproximadamente 10^{-4} Torr. A evaporadora utilizada foi fabricada pela empresa Metal – Lux, modelo MV 468 – 78 UF. A área metalizada, em forma circular, foi por volta de 0,5 cm^2 e a área da amostra, sempre maior do que 5 cm^2. Para as blendas dopadas, o potencial elétrico aplicado foi de 1V, com tempo de decaimento até o valor estacionário de 20 minutos. Para as blendas dopadas e para o colágeno puro, o potencial elétrico aplicado foi de 30V e o tempo de decaimento de 2 horas. A corrente medida tem origem no movimento de cargas no interior do material ou na reorientação de dipolos elétricos, devido a movimentos térmicos. As medidas de corrente pelo método de duas pontas foram realizadas em colaboração com o Prof. Doutor José Antonio Malmonge, no Departamento de Física e Química da Unesp de Ilha Solteira.

3.7.3 - Medidas de condutividade AC

A espectroscopia de impedância é uma técnica poderosa, utilizada na caracterização das propriedades elétricas de materiais. Ela pode ser utilizada na investigação de cargas ligadas ou móveis, no volume ou nas regiões interfaciais de qualquer tipo de materiais sólidos ou líquidos, sejam eles iônicos, semicondutores, eletrônicos ou mesmo isolantes (dielétricos)[104].

O procedimento padrão usado neste tipo de análise é o da impedância no domínio da freqüência, pela aplicação da voltagem numa freqüência qualquer (limitada pela capacidade do instrumento), e a medida do deslocamento de fase e amplitude. Obtêm-se, em geral, as partes real e imaginária da corrente resultante na freqüência determinada.

Medidas de condutividade AC foram realizadas utilizando um medidor LCR da HP, modelo 4192^{A}. Eletrodos de ouro foram depositados em ambos os lados do filme, em uma área de 0,28 cm^2, por meio de evaporação. Foram realizadas medidas de admitância e a aquisição de dados foi controlada por um software, programado para operar na faixa de freqüência de 10^2 até 10^6 Hz. As medidas foram realizadas em temperatura variando de –125°C até +125°C.

Para um circuito sujeito a uma tensão alternada, a admitância pode ser escrita como:

$$Y^* = I/V$$

Onde $Y^* = Y' + Y''i$, sendo Y' e Y'' a admitância real e imaginária da amostra, respectivamente, I é a corrente na amostra e V a voltagem aplicada. Substituindo Y^* na equação da condutividade temos:

$$\sigma^* = Y^* L/A$$

Que pode ser escrito como:

σ' = Y'L/A (Condutividade real)

E

σ'' = Y''L/A (condutividade imaginária)

Estas são as expressões usadas para determinar a componente real e imaginária da condutividade.

Essas medidas foram realizadas em colaboração com o Prof. Dr. José Antonio Malmonge, no Departamento de Física e Química da Unesp de Ilha Solteira.

3.8 - Caracterização espectroscópica

3.8.1 - Espectroscopia na região de Ultravioleta-visível (UV-Vis)

A interação das moléculas com a radiação eletromagnética na região do UV-Vis se caracteriza por uma absorção de energia que provoca mudança no estado eletrônico da molécula, o que ocorre quando um elétron (ligante ou não-ligante) de um orbital molecular ocupado é excitado para um orbital molecular de energia superior (orbital antiligante, π^* ou σ^*).

Os filmes foram caracterizados em um equipamento de UV-Vis Hitachi, modelo U2001, controlado por computador. Para as soluções, foram usadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1cm e volume de 1 mL. Para a referência, utilizou-se o mesmo solvente usado na preparação da blenda. Os filmes foram analisados livres ou sobre lâminas de vidro. Os filmes, após o tratamento para remoção da POEA, também foram analisados por essa técnica.

3.8.2 - Espectroscopia na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

O espectrômetro utilizado foi um Perkin Elmer, modelo Paragon 1000. Os espectros foram adquiridos na região de 4000 a 400 cm^{-1}, com uma resolução de 4 cm^{-1} e 16 varreduras. Os filmes foram analisados livres ou prensados em pastilhas de KBr.

3.8.3 - Espectroscopia de Ramam

O espectro de Raman foi obtido com uma linha de laser de 633 nm (Laser HE-Ne mod 127), usando uma imagem de Raman Renishaw (Sistema 3000) equipado com um microscópio metalúrgico Olympus e um detector CCD.

3.8.4 - Dicroísmo circular (CD)

Os espectros de UV-VIS e dicroísmo circular (CD) de filmes de colágeno e POEA no estado dopado e desdopado foram analisados usando um Shimadzu UV –1601 espectrofotômetro e um Jobim Yvon Dichograph 6 respectivamente. Esse estudo foi realizado em cooperação com o Professor Leon Kane-Maguire, especialista em CD de PANI, no *Intelligent Polymer Research Institute, Department of Chemistry, University of Wollonggong,* na Austrália.

3.9 - Microbalança Eletroquímica a Cristal de Quartzo (MECQ)

As medidas de microbalança eletroquímica a cristal de quartzo foram realizadas em colaboração com o Professor Roberto M. Torresi, do Instituto de Química da Universidade de São Paulo, utilizando o *Universal Time Interval counter*, HP 5370B, para medir variações de freqüência. A equação de Sauerbrey[105], $\Delta f = -k\Delta m$, foi utilizada para relacionar variação de massa por unidade de área com a variação de freqüência. O fator de proporcionalidade k (= 5,2 X 107 Hz g^{-1} cm^2) foi determinado pela calibração da MECQ através da deposição de prata[106].

Eletrodos modificados foram obtidos depositando-se as blendas por "casting" no eletrodo de trabalho. Todos os eletrodos foram preparados com 100, 200, 400 e 800 mg cm^2 de POEA, e suas blendas com colágeno. Depois da formação do filme, os eletrodos foram colocados em uma célula eletroquímica convencional de três compartimentos, contendo solução de 0,1 M de HCl ou ácido canforssulfônico (HCSA). Um eletrodo de platina foi utilizado como contra eletrodo e o eletrodo de referência foi o eletrodo de calomelano saturado (SCE). Os eletrodos de trabalhos utilizados foram cristais de quartzo de 26 mm de diâmetro, com freqüência de 6 MHz e ângulo de corte AT (Valpey-Fisher). Ambos os lados do cristal foram cobertos com uma fina camada de ouro (200 nm de espessura) sobre uma camada de adesão de cromo de 5 nm, mas somente uma face foi exposta para a solução de eletrólito (área ativa de 0,2 cm^2). A variação na freqüência pode ser usada para calcular a variação de massa, usando a equação de

Sauerbrey[105]. Medidas eletroquímicas foram realizadas em um potentiostato/galvanostato, modelo FAC 2001[107].

3.10 – Estabilidade térmica

3.10.1 - Análise termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram realizadas em um equipamento NETZSCH, modelo TG 209, com a temperatura variando de ambiente até 600°C, com uma taxa de aquecimento de 10°C por minuto, usando nitrogênio como gás de arraste.

3.10.2 - Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

Utilizou-se um equipamento da TA-Instruments, DSC, modelo 2010. As medidas foram efetuadas numa razão de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N_2, sendo a calibração de temperatura e fluxo de calor feitos com padrão de índio, na faixa de temperatura ambiente até 600°C.

CAPÍTULO IV

4 – Estudo das condições de Preparação de Blendas de Colágeno/POEA

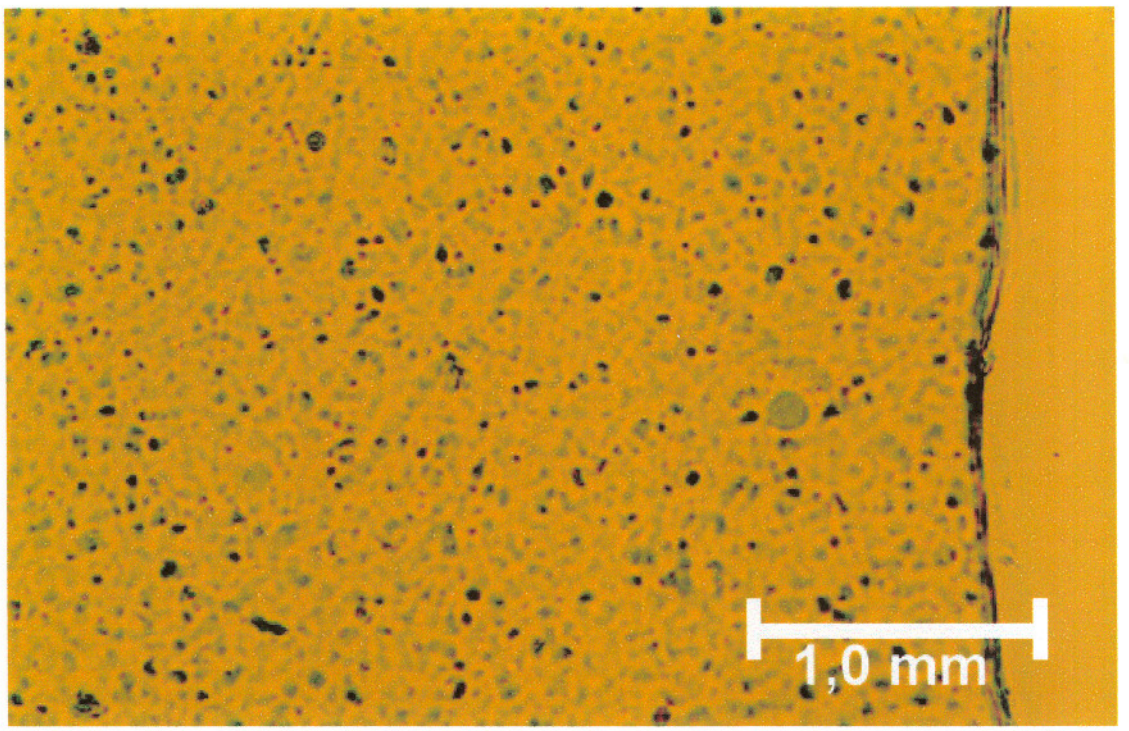
4.1 Análise morfológica do colágeno

Numa primeira parte deste trabalho, filmes de colágeno foram tratados com solução alcalina por 48 horas e posteriormente solubilizados em ácido acético. Após esse tratamento, filmes foram produzidos em diferentes pHs e caracterizados por meio de técnicas de microscopia ótica (MO), eletrônica de varredura (MEV) e de força atômica (AFM). Na Figura 4.1a são apresentados os resultados de microscopia ótica de filmes de colágeno, preparado em pH 3,5, condição esta na qual as fibras foram solubilizadas e não ocorre o processo de re-formação de fibras (fibrilogênese ou refibrilação). A Figura 4.1b apresenta uma imagem de MO do filme de colágeno, preparado em pH 7,4, em que, ocorre o processo de fibrilogênese do colágeno formando uma rede fibrilar no filme.

Os resultados de microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 4.2) dos filmes obtidos a partir de solução de colágeno em ácido acético pH 3,5 (não-fibrilar), após tratamento alcalino por 48 horas, com aumento de 5000 vezes, mostraram que o filme ainda apresenta algumas fibras insolúveis (Figura 4.2a). Os filmes obtidos após tratamento com

tampão fosfato pH 7,4 (Figura 4.2b) apresentou uma rede fibrilar por toda a sua extensão, confirmando os resultados encontrados no MO.

(a)



(b)

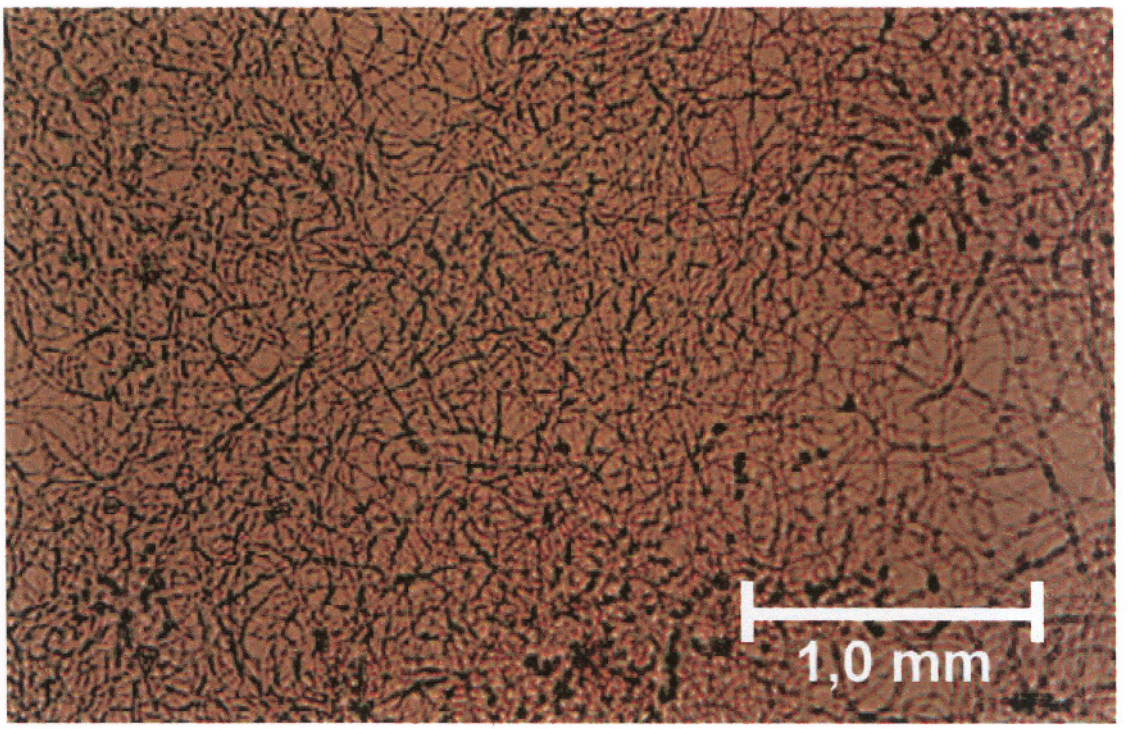
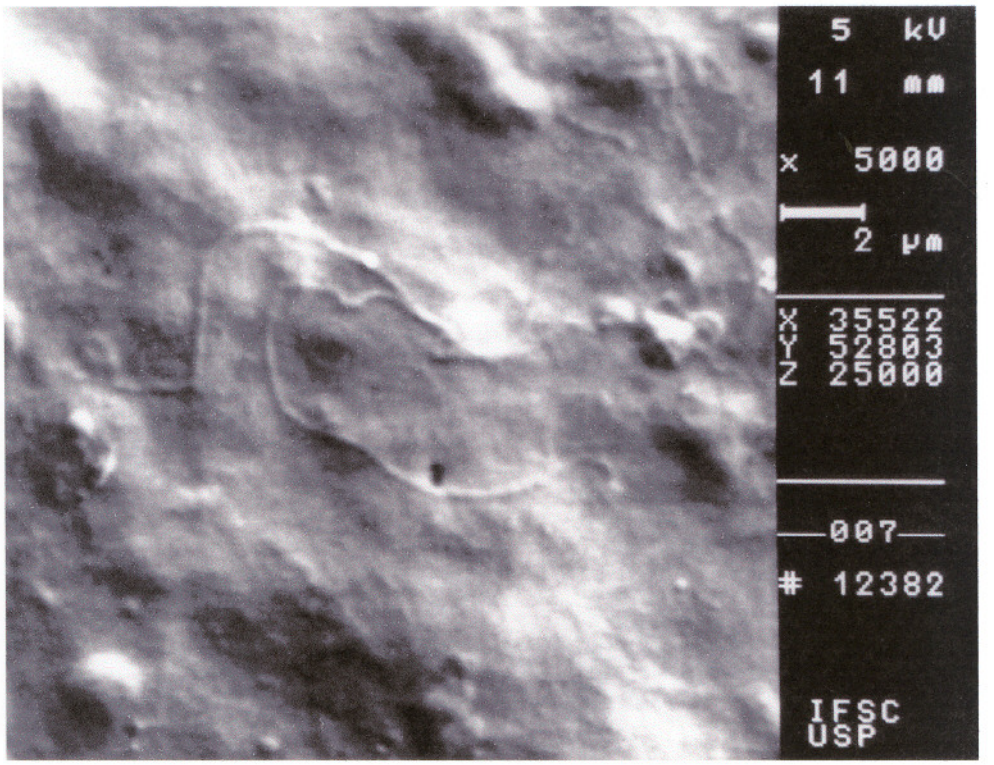


FIGURA 4.1: *Microscopia ótica de filmes de colágeno preparados em diferentes pHs: (a) 3,5; (b) 7,4. Aumento de 400 vezes.*

(a)



(b)

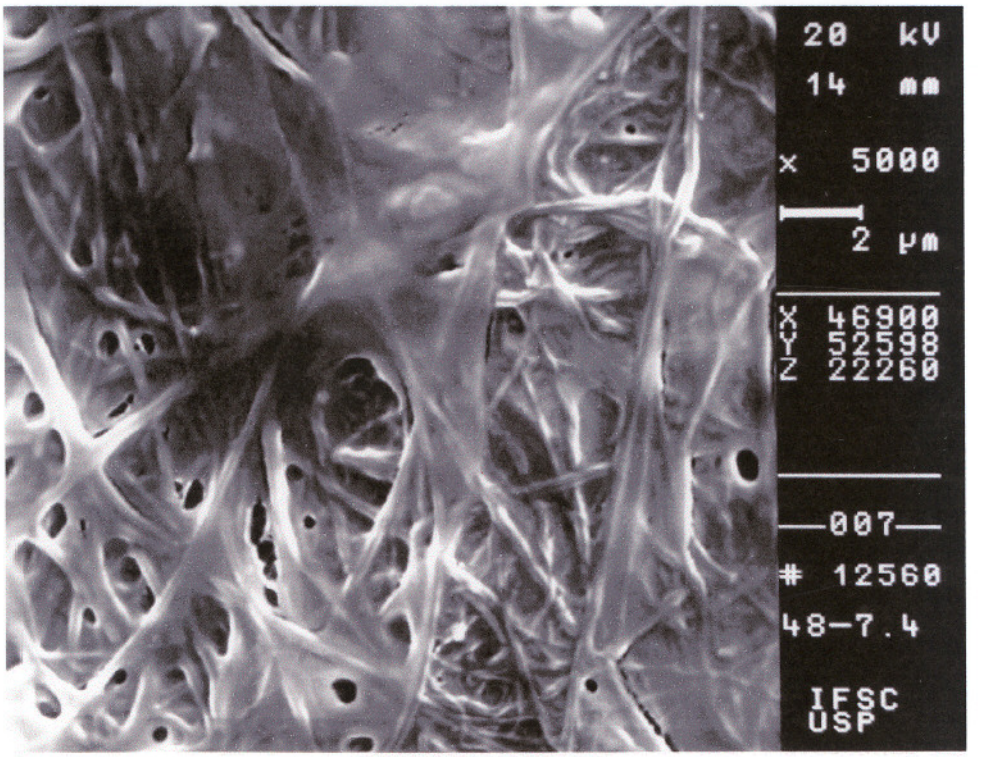


FIGURA 4.2: *Microscopia eletrônica de varredura de filme de colágeno em pH: (a) 3,5 e (b) 7,4.*

Os filmes obtidos a partir de colágeno puro tratado por 48 horas em meio alcalino foram caracterizados por meio de AFM. O AFM tem a vantagem, quando comparado com o MEV, de não necessitar de recobrimento metálico. Também foi possível determinar a rugosidade superficial diretamente na amostra. O AFM gerou imagens tridimensionais da superfície da amostra, sendo possível observar a formação de glóbulos com tamanhos homogêneos no filme de colágeno não-reconstituído (Figura 4.3a). Neste filme a rugosidade média foi de 83 nm, com altura média de 410 nm e máxima de 1400 nm. A morfologia do filme de colágeno refibrilado (pH 7,4) é mostrada na Figura 4.3b. Na Figura 4.3 c é mostrado um aumento da imagem da Figura 4.3 b, com dimensões de 627,5 X 627,5 nm, podendo ser visualizada uma fibra de colágeno. Nesta fibra, observa-se uma unidade com estruturas se repetindo a cada período de aproximadamente 70 nm. Este valor é consistente com aqueles encontrados na literatura[21-24] e que está correlacionado com o período D de 67 nm. Este período D é formado por bandas gap (lacuna) e overlap (sobreposição). Como mostrado na Figura 1.6, as microfibrilas de colágeno são formadas por cinco moléculas de tropocolágeno, que estão dispostas lado a lado, porém, uma se encontra a ¼ de distância da anterior, conforme o modelo conhecido como quarto alternado pentafibrilar. Esta disposição faz com que uma região esteja completa com as 5 fibras (sobreposição) e a outra esteja incompleta, com 4 fibras, formando uma lacuna. Essa repetição entre sobreposição e lacuna forma um período D, que se repete aproximadamente a cada 70 nm, na fibra adulta.

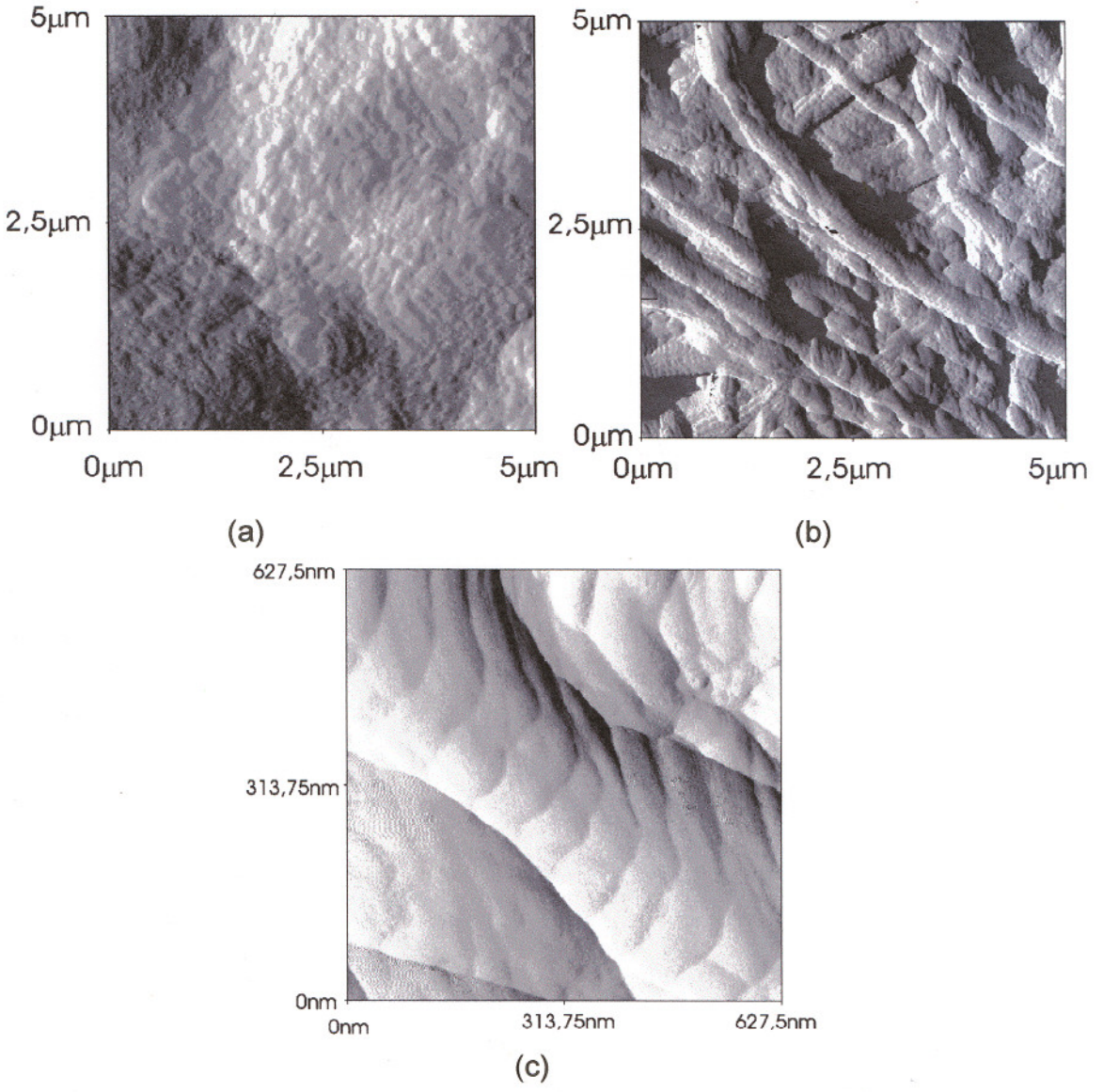


FIGURA 4.3: *Imagens de microscopia de força atômica (modo de contato intermitente) de filmes de colágeno preparado em pH: (a) 3,5; (b) 7,4; (c) aumento de varredura de AFM da amostra (b) mostrando a fibra de colágeno.*

4.2 Efeito do pH na morfologia das blendas

Após a caracterização do colágeno, foram investigadas condições otimizadas de preparação das blendas de colágeno/POEA, com o objetivo de se obterem materiais com melhores propriedades. As blendas de colágeno/POEA foram confeccionadas em diferentes pHs, variando de 1 a 7. O colágeno, após o tratamento alcalino, diminui o seu ponto isoelétrico (PI) de 6,6 para 4,2. Neste estudo, avaliou-se o efeito do pH na preparação de filmes de blendas de colágeno/POEA. Para os filmes produzidos em pHs 1 e 2, observou-se prejuízo nas propriedades mecânicas, não sendo possível remover esses filmes do substrato, ou seja, a blenda ficou aderida ao filme de PVC que foi colocado no fundo do molde de acrílico. Nestas condições, a blenda é quebradiça, e ao se tentar removê-la do substrato, ela se esfarela, formando um pó. Para o filme em pH = 1 (Figura 4.4), além da perda das propriedades mecânicas, observou-se que o mesmo apresentava espessura menor que os demais, sendo heterogêneo, com regiões brancas leitosas observadas a olho nu, espalhadas pelo filme. Para o filme em pH = 2 (Figura 4.5), apesar de o filme não ser auto-sustentável e não se destacar do substrato, o filme com 50% de POEA apresentou coloração verde intensa maior do que o filme em pH = 3. Isso ocorreu devido à maior quantidade de prótons na solução, tornando a POEA mais dopada.

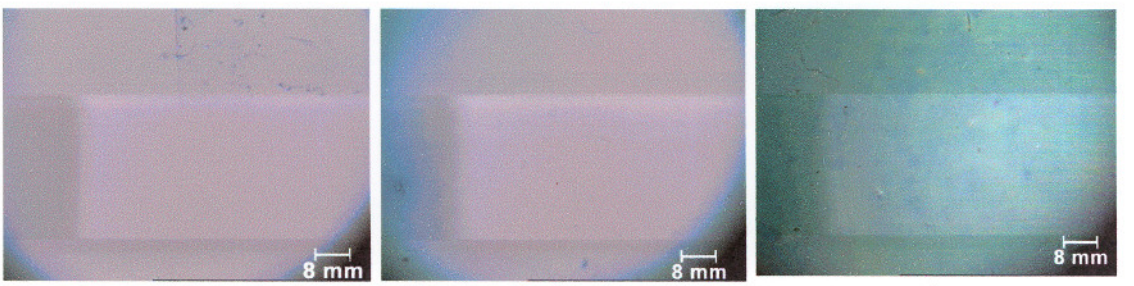


FIGURA 4.4: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 1. Aumento de 40 vezes.*

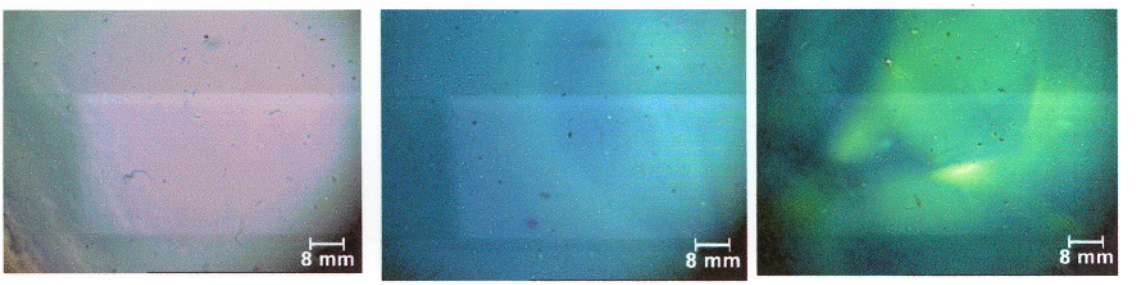


FIGURA 4.5: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 2. Aumento de 40 vezes.*

Blendas de colágeno/POEA preparadas em pH = 3 (Figura 4.6) apresentaram-se homogêneas, sem a presença de agregados de POEA segregados. A intensidade de coloração verde aumentou com o aumento do conteúdo de POEA na blenda. Em algumas regiões da blenda, observou-se uma coloração azulada, apesar de se ter utilizado uma solução com POEA dopada (coloração verde). Essa mudança de coloração sugere que o colágeno desdopa a POEA, o que indica uma interação química entre os dois componentes na blenda. Estas blendas, diferentemente daquelas confeccionadas em pH 1 e 2, destacaram-se facilmente do filme de PVC. Por estas blendas serem auto-sustentáveis, foi possível realizar medidas de FTIR, UV-Vis, Raman, CD e análises de microscopia, diretamente na amostra na forma de filmes.

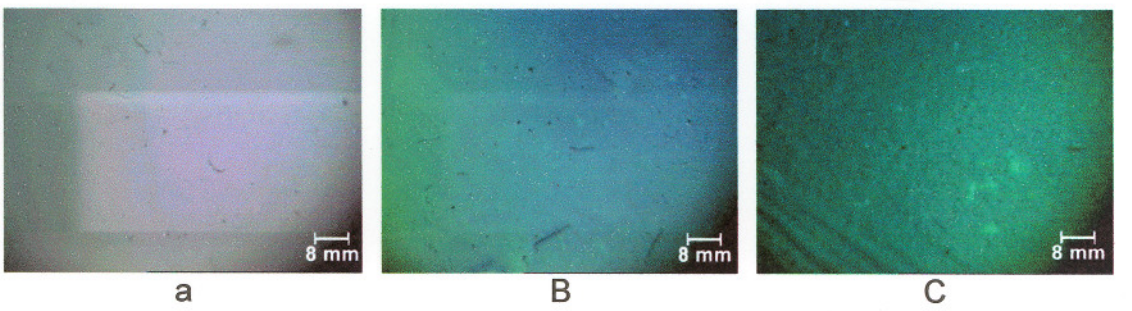
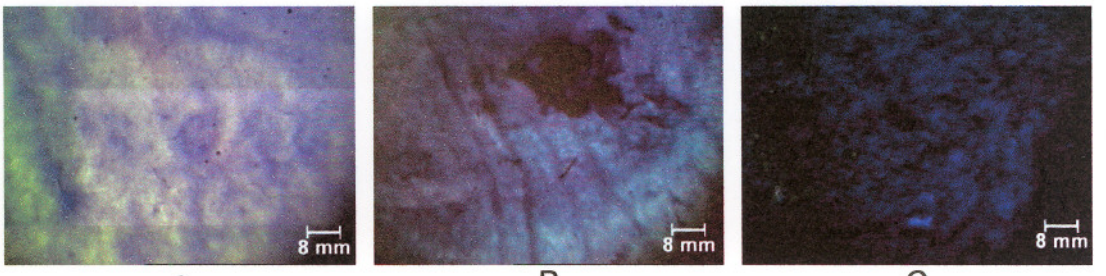


FIGURA 4.6: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 3. Aumento de 40 vezes.*

Com o aumento do pH da solução de preparação para 4 (Figura 4.7), observou-se para a blenda colágeno/POEA (95/05) a formação de pequenos agregados de polímero condutor, e a presença de duas regiões

distintas na mesma, uma esverdeada (dopada) e outra azulada (desdopada). Esse fato mostra que, para baixa concentração de POEA na matriz de colágeno (blenda 95/05), a blenda ainda mantém algumas regiões dopadas. Porém, quando se aumentou a concentração de POEA na blenda, ocorreu a formação de agregados maiores de POEA, e a região esverdeada (dopada) praticamente desapareceu. Isso ocorreu devido à menor interação colágeno/POEA, neste pH, conforme será explicado posteriormente.



a B C

FIGURA 4.7: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 4. Aumento de 40 vezes.*

Nas blendas de colágeno/POEA preparadas em pHs 5, 6 e 7 (Figuras 4.8, 4.9 e 4.10), houve a formação de grandes agregados de POEA, seguindo a tendência de que quanto maior o pH, maior segregação das fases e a formação de agregados de POEA. Nestas blendas, observou-se também a formação de uma estrutura fibrosa em algumas regiões. Essa fibrilogênese é esperada, pois quando se coloca colágeno solúvel em pH fisiológico (7,4), este volta a ter a conformação original, ou seja, semelhante ao colágeno natural, conforme mostrado anteriormente na análise microscópica da fibrilogênese do colágeno. Para os filmes preparados em pHs maiores que 5, observa-se a formação de regiões com diferentes características, por exemplo, uma região com agregados de polímero condutor, uma com polímero condutor disperso e uma terceira sem polímero condutor. Na região fora dos agregados, a quantidade de POEA dispersa no filme foi muito pequena, o que permitiu que ela permanecesse com coloração esverdeada próximo aos agregados. Em regiões mais distantes dos agregados, os filmes se tornaram praticamente transparentes (cor

característica de filmes de colágeno puro), indicando a presença somente de colágeno.

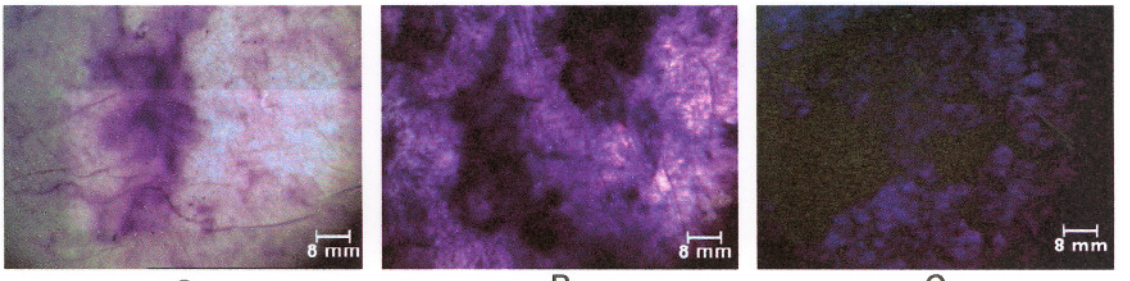


FIGURA 4.8: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 5. Aumento de 40 vezes.*

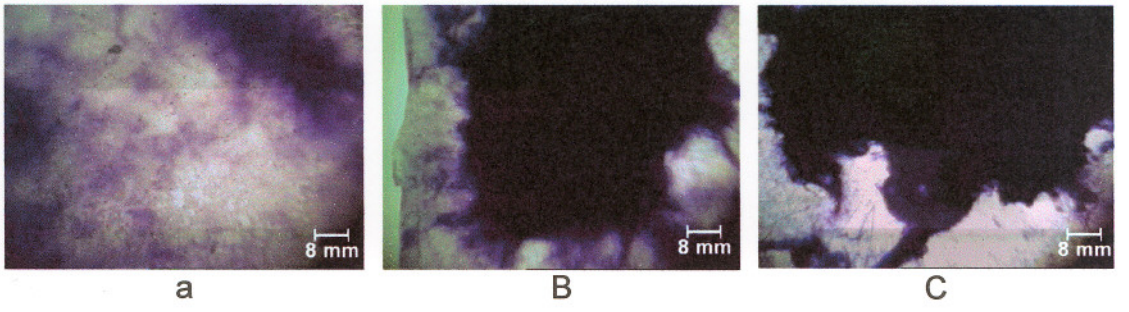


FIGURA 4.9: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 6. Aumento de 40 vezes.*

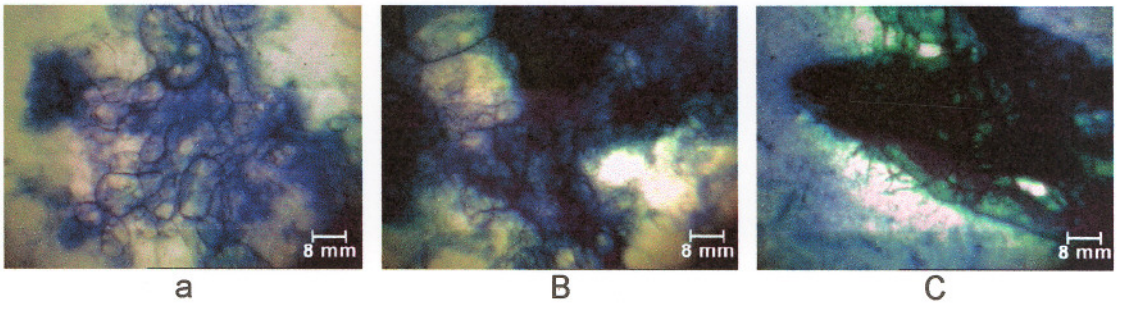


FIGURA 4.10: *Microscopia ótica das blendas de colágeno/POEA, nas concentrações de (a) 05, (b) 15 e (c) 50% em massa. Essas blendas foram obtidas em pH 7. Aumento de 40 vezes.*

Na Figura 4.11 é mostrada uma foto das blendas de colágeno/POEA (95/05) nos diferentes pHs. Observa-se que as blendas são bastante homogêneas até o pH 3. Apesar da homogeneidade, as blendas em pHs 1 e 2 não formaram filmes auto-sustentáveis, e permaneceram aderidas ao PVC, conforme descrito anteriormente. Nas blendas

confeccionadas em pH a partir de 4, começou a ocorrer a formação de agregados. Para pHs 5, 6 e 7, observou-se aumento no número de agregados com o aumento do pH, e perda das propriedades mecânicas. As bordas destas blendas se tornaram quebradiças, embora elas fossem auto-sustentáveis.

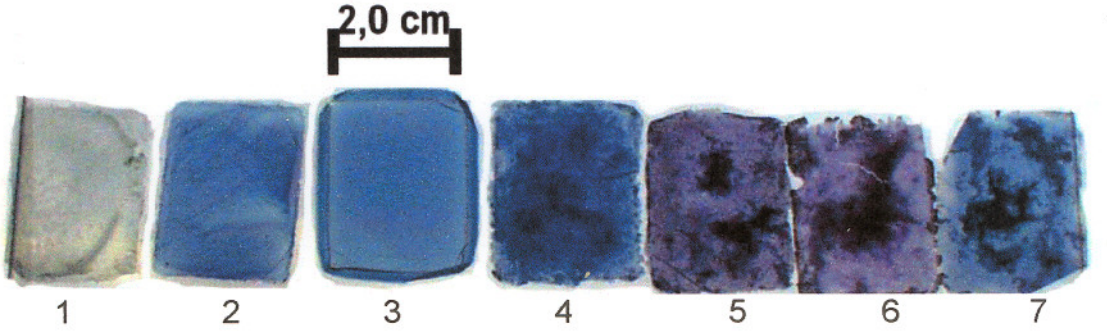


FIGURA 4.11: *Blendas de colágeno/POEA (95/05) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado).*

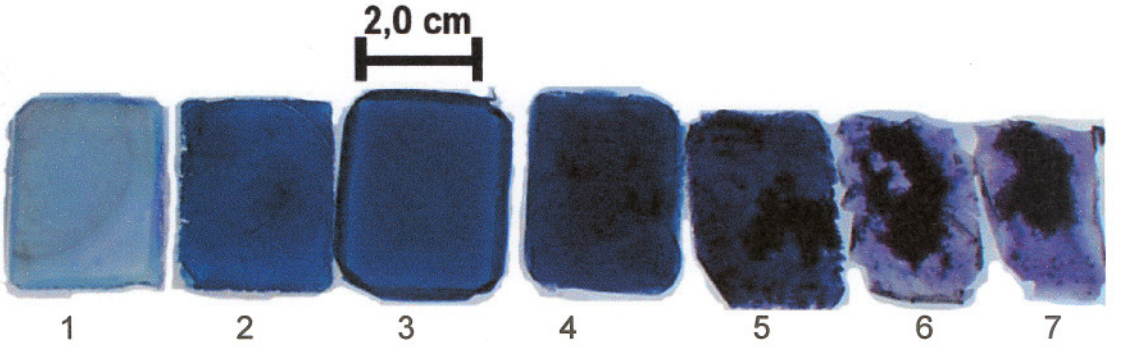


FIGURA 4.12: *Blendas de colágeno/POEA (85/15) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado).*

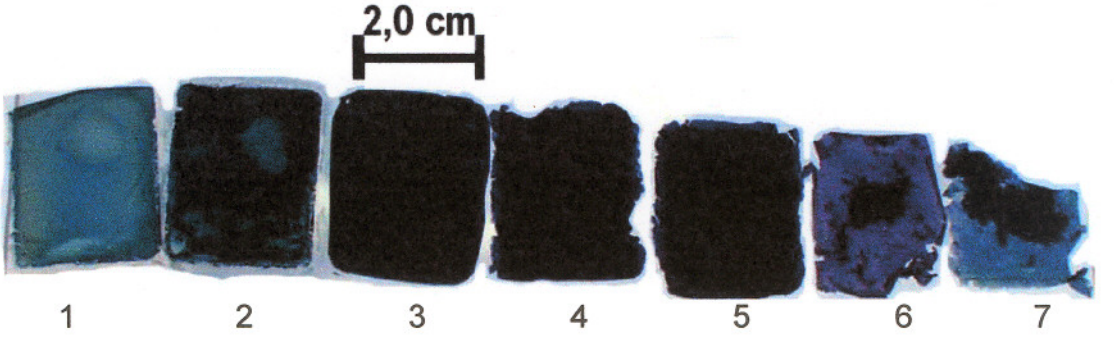
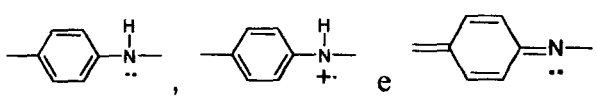


FIGURA 4.13: *Blendas de colágeno/POEA (50/50) preparadas em diferentes pHs (pH de 1 a 7, conforme indicado).*

Nas blendas de colágeno/POEA (85/15) e (50/50) (Figuras 4.12 e 4.13), observou-se efeito semelhante quanto à agregação e propriedades

mecânicas, ao que foi explicado para a blenda (95/05). Como a quantidade de POEA utilizada foi maior, observou-se aumento no tamanho dos agregados, em função do pH.

Esse estudo de obtenção de blendas de colágeno/POEA em diferentes pHs possibilitou determinar qual é a melhor condição de preparação das mesmas. Nos pHs 1 e 2, as blendas são homogêneas, mas nestas condições não foram produzidos filmes auto-sustentáveis, sendo que o filme permanece aderido ao substrato. Nos pHs 4, 5, 6 e 7, além de perda nas propriedades mecânicas, houve a formação de agregados de POEA na blenda, sendo que o tamanho dos agregados aumentou com o aumento do pH da solução. Também foi observada perda das propriedades mecânicas, apesar de as blendas serem auto-sustentáveis. Esta variação nas propriedades mecânicas foi avaliada dobrando-se o filme e observando-se a formação, ou não, de trincas ou quebra no mesmo. No pH 3, obteveram-se blendas com melhores propriedades mecânicas, sendo as mesmas auto-sustentáveis e sem a presença de agregados de polímero condutor. Devido a isso, neste trabalho adotou-se o pH 3,5 como a condição ideal de preparação das blendas. No pH 3,5, as características da blenda foram muito similares àquelas obtidas em pH 3.

Esse estudo das condições de preparação das blendas permitiu elaborar uma proposta de interação entre os componentes da blenda. Em pH de 3 a 3,5, os grupos laterais de ácido aspártico e ácido glutâmico do colágeno se encontram, predominantemente, na forma COOH, porém alguns grupos COO^- também devem estar presentes, visto que este pH está muito próximo de PI do colágeno obtido por tratamento alcalino (PI~4,2). A POEA, nesta condição de pH, encontra-se parcialmente dopada, apresentando os grupos imina protonados, desprotonados e grupos amina (presença de grupos ). Isso permite a interação entre os dois componentes da blenda, por meio de interações eletrostáticas (entre NH^+ da POEA e COO^- do colágeno) ou por meio de ligações de hidrogênio (entre N da POEA e COOH do colágeno). Nessa interação ocorre

também a desdopagem da POEA, o que permite dizer que o próton da POEA é transferido para o colágeno. Este resultado será mostrado posteriormente, no estudo de UV-Vis. Essa interação entre os dois componentes também foi observada no estudo de Raman e dicroísmo circular, conforme será mostrado posteriormente, caracterizando também uma mudança de conformação do polímero condutor devida a esta interação.

Nos pHs acima de 4, não ocorre essa interação de forma significativa entre os componentes da blenda. Nestas condições, os grupos laterais do colágeno estão desprotonados, apresentando cargas negativas (COO^-), visto que estão acima do PI. Entretanto, a POEA se encontra mais desdopada, com predominância de grupos imina não-protonados (-N=). Esse grupo neutro na POEA não interage significativamente com o colágeno. Nesta condição, a POEA também é menos solúvel, o que favorece a formação de agregados de polímero condutor na blenda.

4.3 - Análise morfológica das blendas

Blendas de colágeno/POEA com diferentes composições e estados de dopagem foram analisadas por microscopia de força atômica. Este estudo teve como objetivo avaliar as modificações morfológicas nas blendas, levando em conta fatores como a concentração de polímero condutor e o estado de dopagem nas mesmas. A Figura 4.14 mostra a imagem de AFM de uma blenda de colágeno/POEA 95/05 não-dopada, na qual se observa uma estrutura globular, com diâmetro dos glóbulos variando entre 1,0 μm a 1,5 μm. As rugosidades médias quadradas (rms) das blendas, com diferentes concentrações de POEA, são mostradas na Tabela 4.1 para o estado dopado e não-dopado. Após a dopagem com HCl 1,0 mol.L^{-1} (Figura 4.15), observou-se a mesma estrutura globular, porém com uma diminuição da rugosidade rms. Apesar da diminuição da rugosidade, após a dopagem, observou-se a formação de um largo número de pequenos glóbulos, com diâmetro de 0,20 μm a 0,30μm. Segundo Xie[108], o surgimento de pequenos glóbulos está relacionado com a entrada de contra-íons na matriz polimérica de POEA, causando uma distorção da mesma, o que acarreta mudança morfológica na estrutura do polímero condutor.

TABELA 4.1: *Rugosidade média quadrada (rms) para blendas de colágeno/POEA dopadas e desdopadas.*

	Blendas (colágeno/POEA)		
	95/05	85/15	50/50
Dopado (Rugosidade nm)	46,3	94,5	222,2
Desdopado (Rugosidade nm)	35,7	116,0	115,6

Com a variação da concentração de POEA nas blendas, observou-se aumento no tamanho dos glóbulos para maiores quantidades de polímero condutor adicionado. Entretanto, nas blendas com 85/15 de POEA (Figura 4.16), ao contrário da blenda colágeno/POEA 95/05 (Figura 4.17), observou-se um aumento na rugosidade após a dopagem.

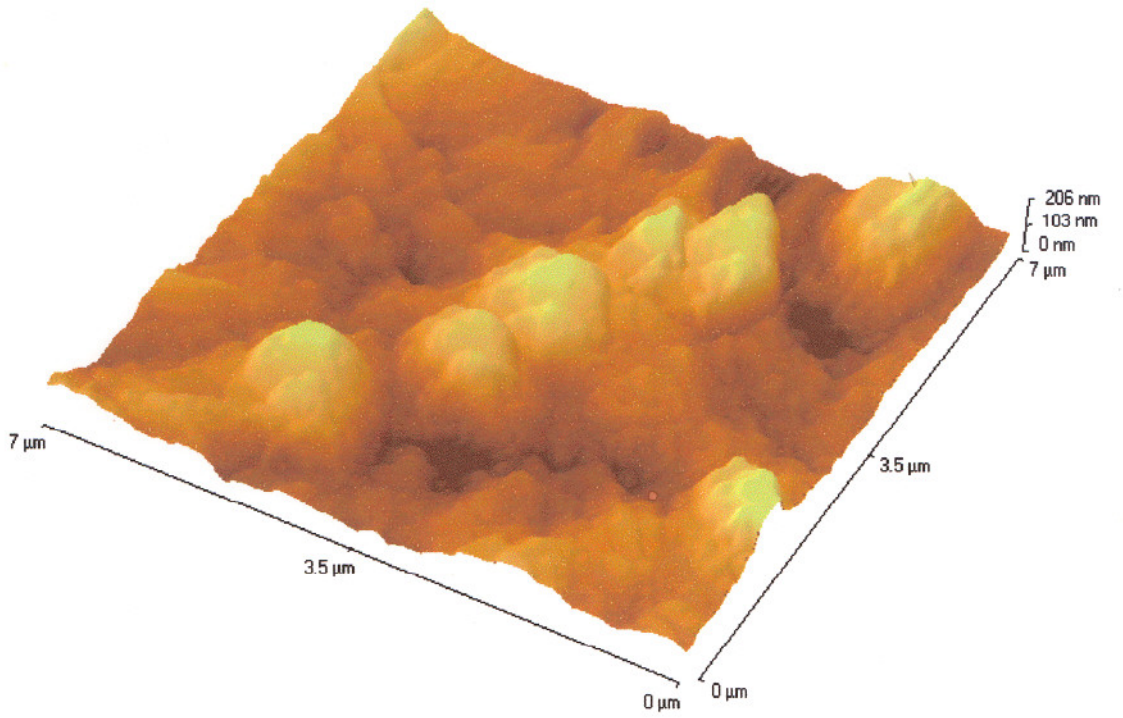


FIGURA 4.14: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 95/05 desdopadas, obtida pelo modo contato intermitente.*

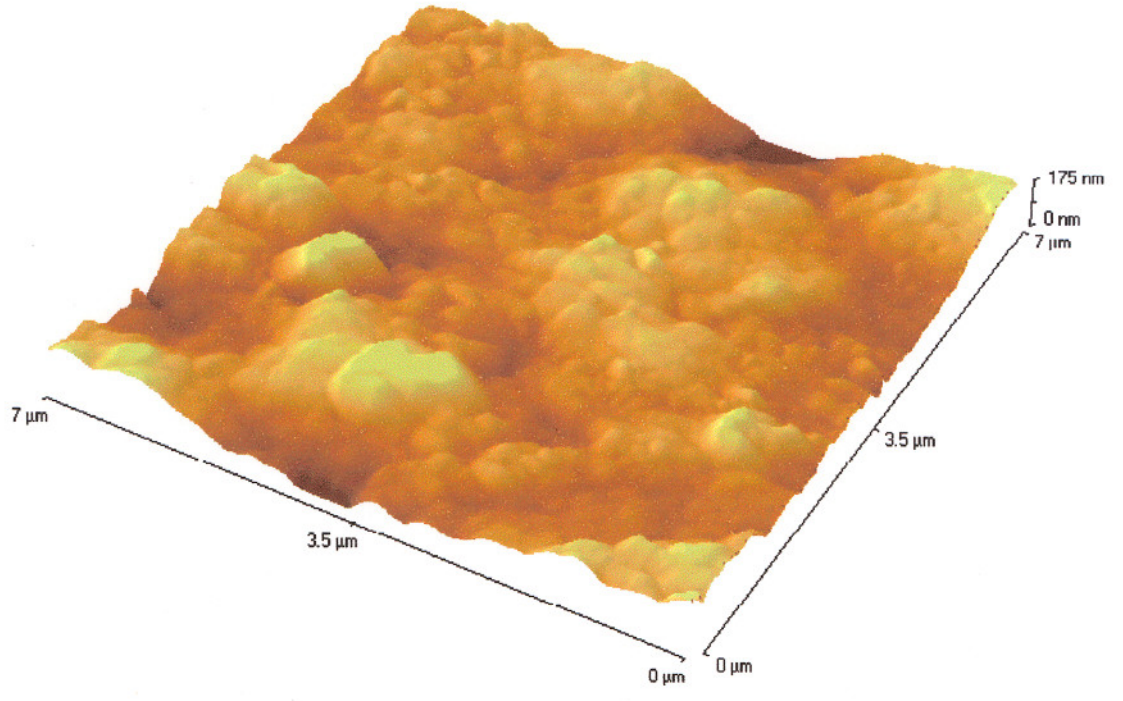


FIGURA 4.15: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 95/05 dopadas, obtida pelo modo contato intermitente.*

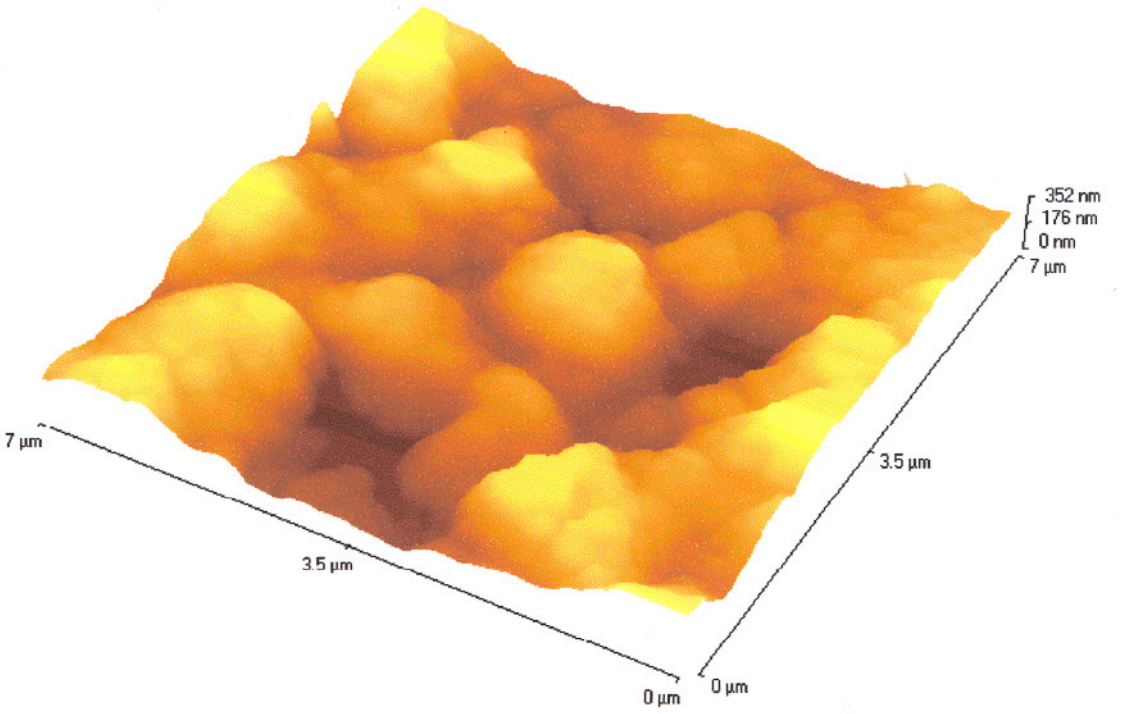


FIGURA 4.16: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 85/15 desdopada, obtida pelo modo contato intermitente.*

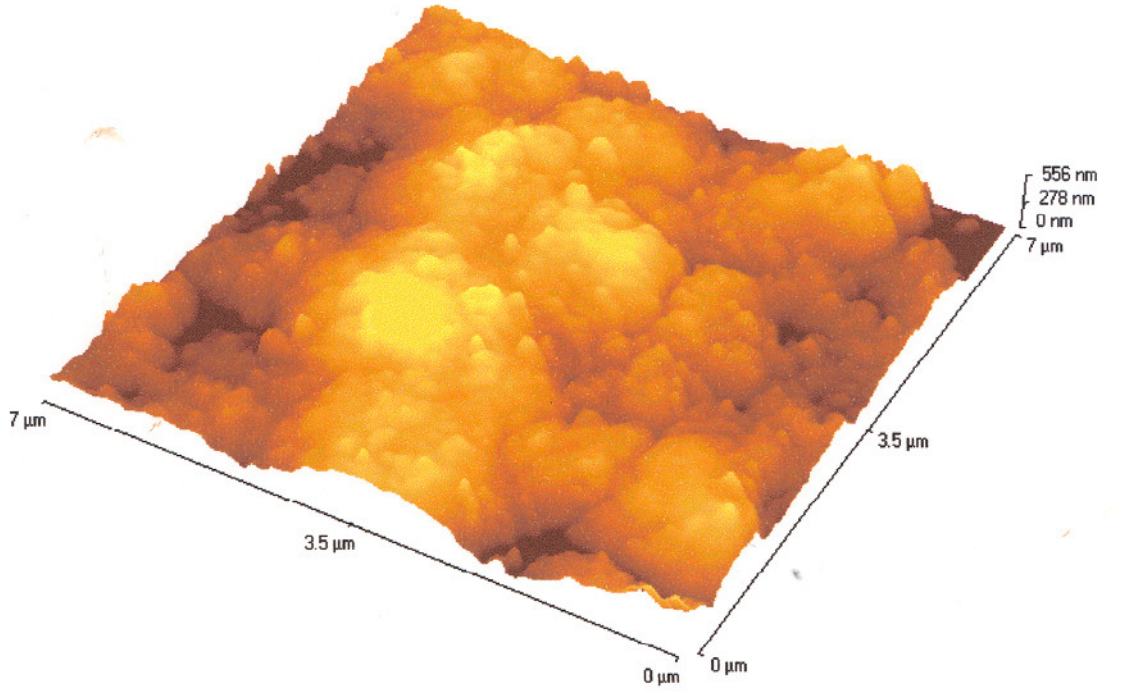


FIGURA 4.17: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 85/15 dopadas, obtida pelo modo contato intermitente.*

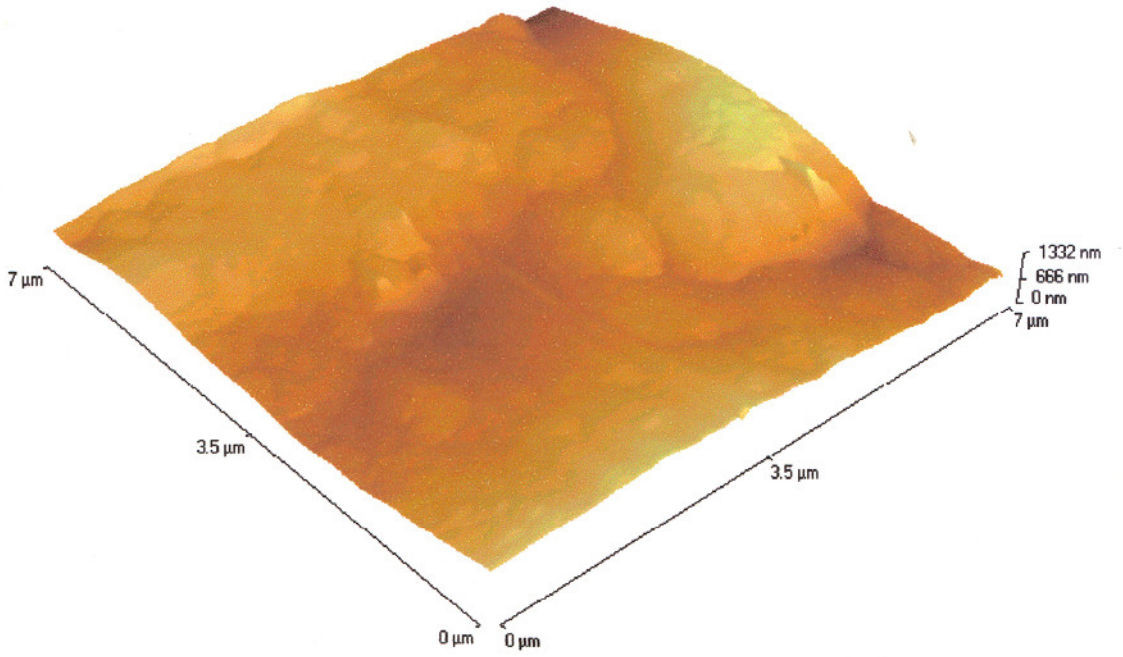


FIGURA 4.18: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 50/50 desdopada, obtida pelo modo contato intermitente.*

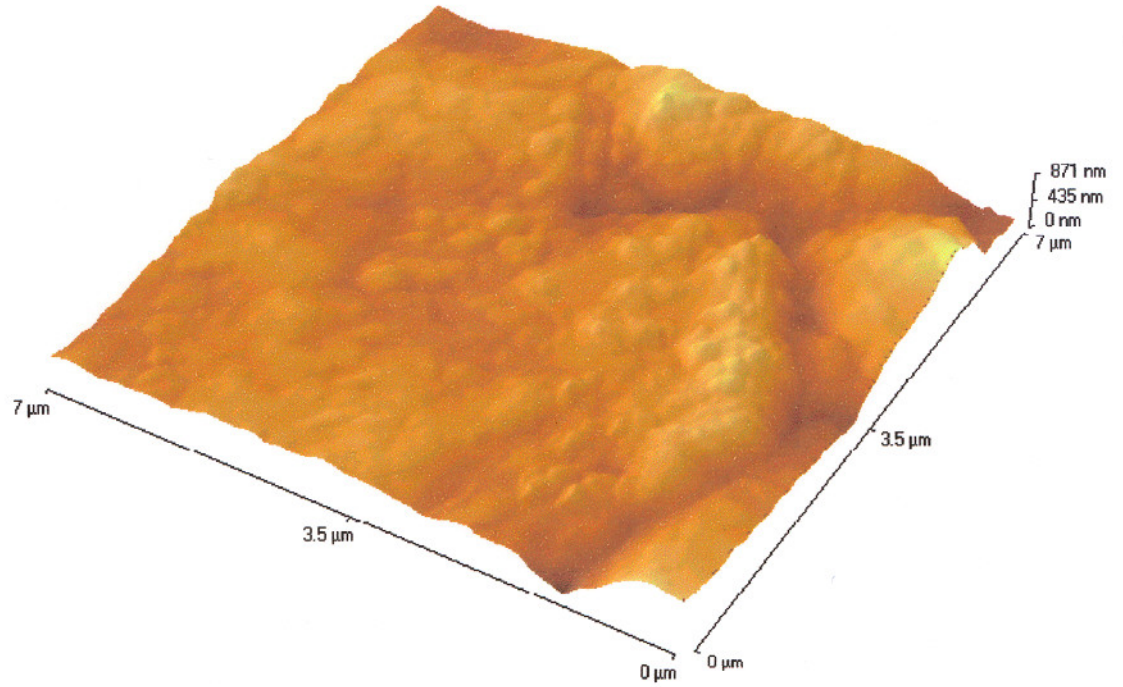


FIGURA 4.19: *Microscopia de AFM de Blendas de colágeno/POEA 50/50 dopada, obtida pelo modo contato intermitente.*

Assim como na blenda colágeno/POEA (95/05), na blenda 85/15 apareceram glóbulos menores, após a dopagem. Para blendas com 50/50 de POEA desdopada (Figura 4.18), a rugosidade foi maior que na blenda 85/15. Após a dopagem (Figura 4.19), novamente observou-se a formação de glóbulos menores e a rugosidade rms para esta blenda diminuiu, similarmente ao que foi encontrado para a blenda 95/05. O tamanho dos glóbulos menores não variou para as diferentes composições de POEA adicionada na blenda, tendo sempre o tamanho de cerca de 0,25μm.

Estudos de microscopia eletrônica de varredura (MEV) também foram realizados para o colágeno puro e para as blendas colágeno/POEA, em diferentes concentrações. Observou-se que o colágeno puro (Figura 4.20) apresentou superfície relativamente lisa, com pequenos glóbulos. Quando a POEA foi adicionada ao colágeno, a superfície se tornou mais rugosa, com o surgimento de glóbulos em toda a extensão do filme. A quantidade de glóbulos aumenta para maiores quantidades de polímero condutor adicionado (Figuras 4.21, 4.22 e 4.23). Estes resultados confirmam aqueles obtidos por AFM.

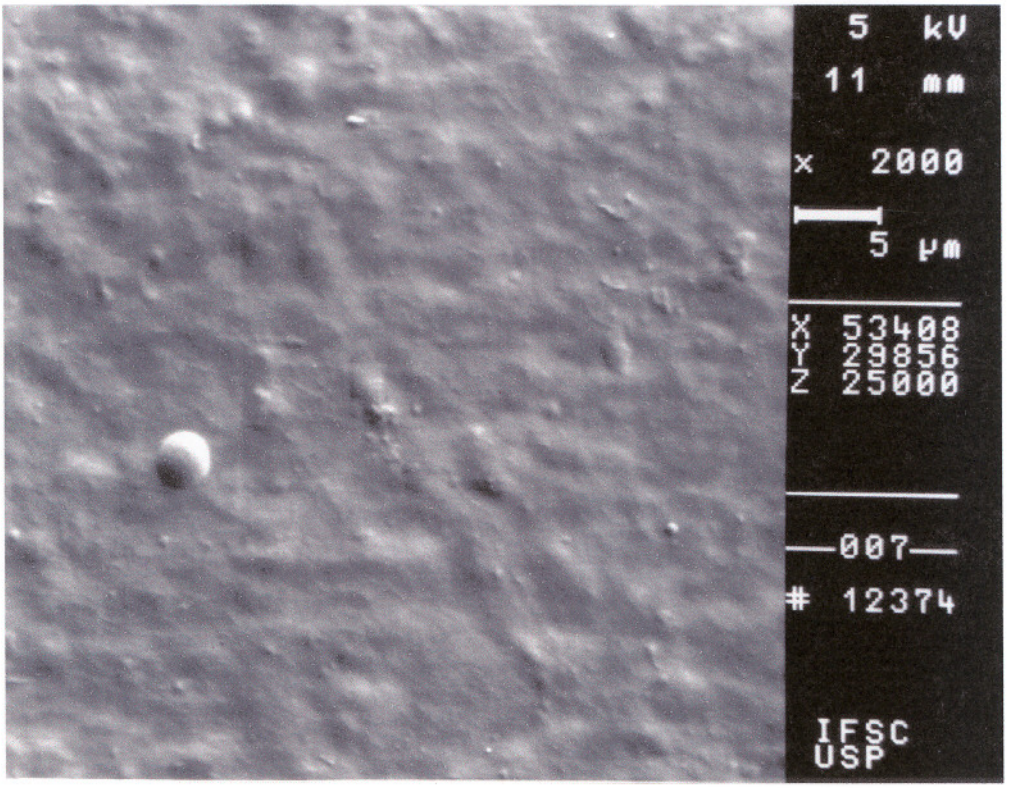


FIGURA 4.20: *MEV do filme de colágeno não-refibrilado, preparado em pH 3,5.*

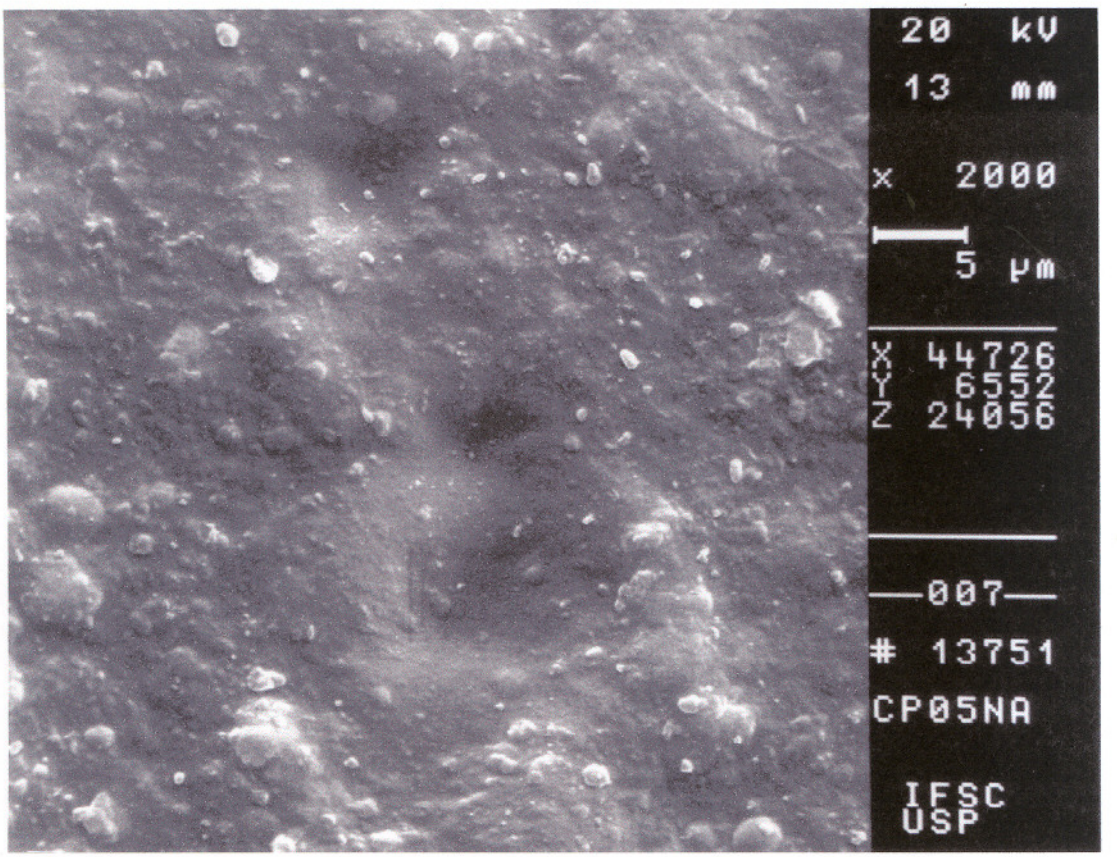


FIGURA 4.21: *MEV da blenda colágeno POEA (95/05), preparado em pH 3,5.*

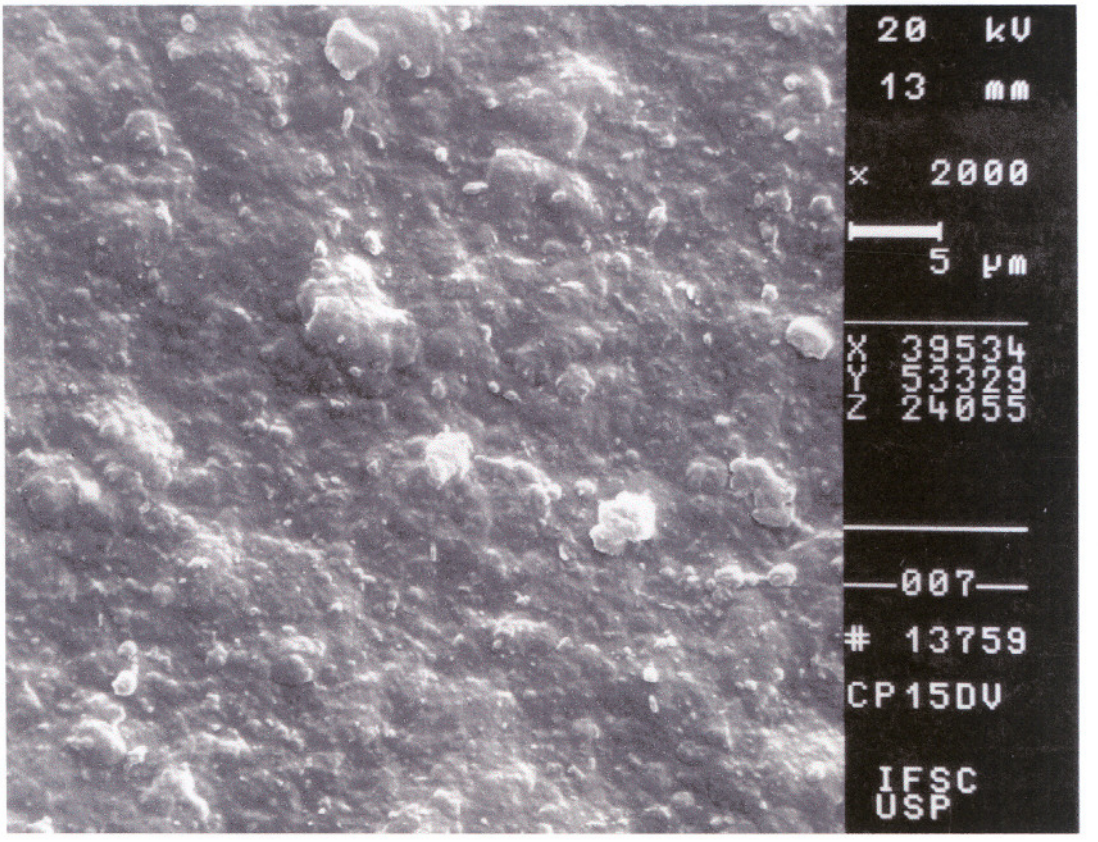


FIGURA 4.22: *MEV da blenda colágeno POEA (85/15), preparado em pH 3,5.*

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

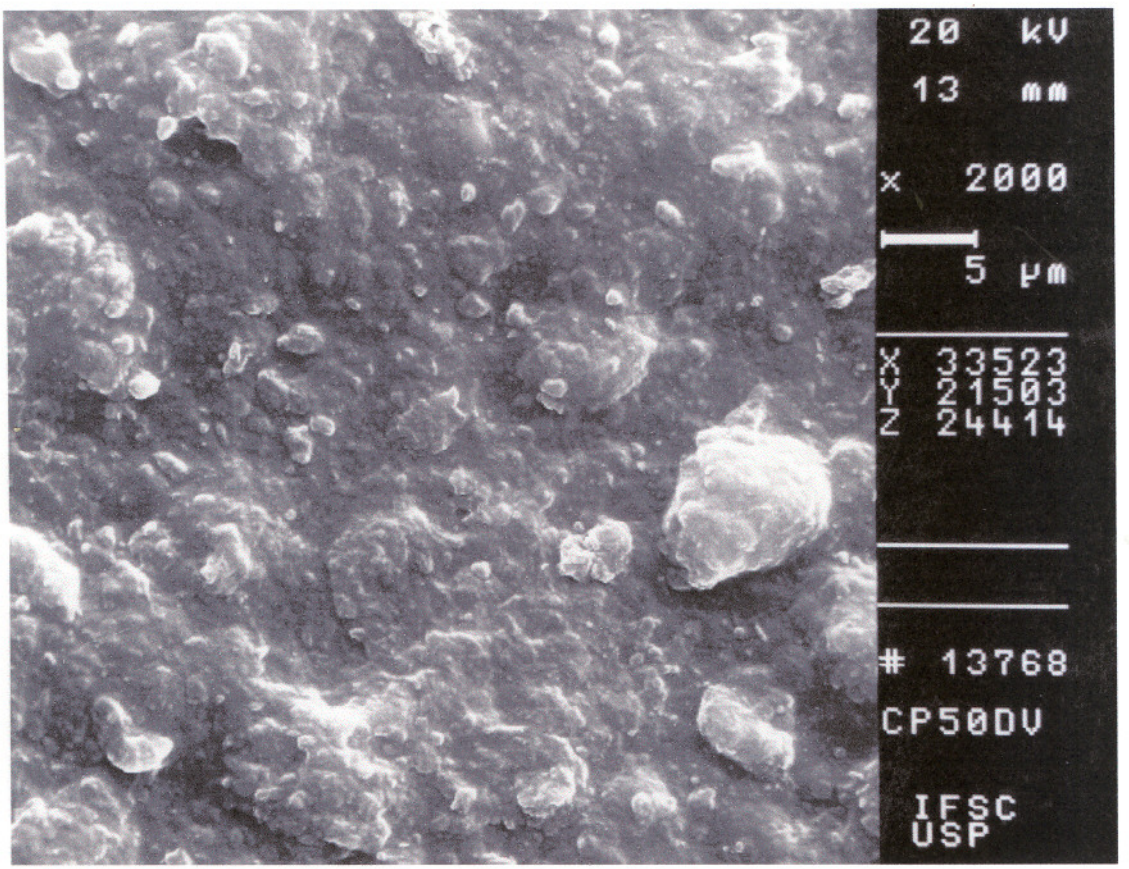


FIGURA 4.23: *MEV da blenda colágeno POEA (50/50), preparado em pH 3,5.*

Um método para se avaliar o grau de interação entre os componentes de uma blenda é fazer a solubilização seletiva de apenas um de seus componentes, em um solvente apropriado. Com base neste princípio, Mattoso et al.[34] estudaram as interações das blendas de poli (o-metoxianilia)/poli (fluoreto de vinilideno) (POMA/PVDF) em m-cresol, visto que a POMA é solúvel neste solvente. Os autores reportaram que, após a imersão da blenda no referido solvente, toda POMA foi removida. Estudo de microscopia eletrônica da blenda POMA/PVDF, após o tratamento com m-cresol, mostrou que o filme apresenta espaços internos vazios. Estes espaços foram atribuídos à posição que a POMA ocupava no filme. Com isso os autores conseguiram observar a presença de duas fases na blenda, uma esferulítica do PVDF e outra fibrilar da POMA. Outra evidência apresentada foi a cor do filme, que era preto antes do tratamento com m-cresol e que se tornou transparente, característico de PVDF puro. Isso

mostrou a não-existência de interações químicas entre os dois componentes da blenda.

Neste trabalho, os filmes de colágeno/POEA desdopados, com diferentes concentrações, foram imersos em solução de m-cresol, por um período de até 24 horas. Para todas as composições analisadas, não foi possível extrair toda a POEA das blendas. Toda remoção ocorreu com o tempo de imersão inferior a 2 horas, e após este tempo não houve mais remoção do polímero condutor. A Figura 4.24 mostra os espectros de UV-Vis para a solução de m-cresol, após o tratamento de extração de colágeno/POEA, bem como os espectros dos próprios filmes, após terem sido retirados da solução de m-cresol. A quantidade de POEA removida foi maior para as blendas com maiores quantidades de polímero condutor. Assim, diferentemente do que foi observado por Mattoso[34], no presente trabalho não foi possível extrair todo polímero condutor (POEA) da blenda. Com isso, além da desdopagem que o colágeno causa na blenda, conforme visto no estudo de variação de pH (seção 4.2), a pouca remoção da POEA da blenda é mais uma evidência de que deve haver algum tipo de interação específica entre os dois componentes. Este experimento foi realizado com blendas desdopadas porque o m-cresol solubiliza POEA, quando esta se encontra no estado desdopado.

O espectro de UV-VIS para os filmes de colágeno/POEA, após tratamento com m-cresol (Figura 4.24), mostrou uma banda forte em 950 nm, que é atribuída aos portadores de carga livres associados à dopagem ácida causada pelo m-cresol na POEA[109].

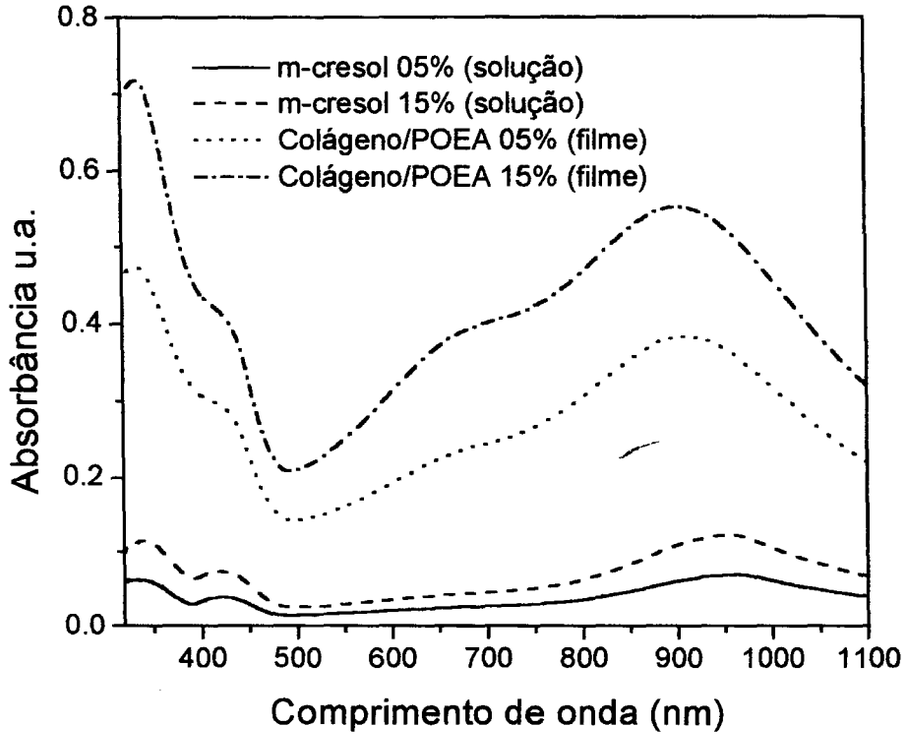


FIGURA 4.24: *Espectros de absorbância de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA tratado com m-cresol por 2 horas, com diferentes conteúdos de POEA (95/05 e 85/15) e da solução de m-cresol, após o tratamento do filme.*

Assim como Mattoso[34], Li et al.[49], analisando blendas poliméricas de colágeno e polipirrol, não encontraram evidências de interações químicas entre esses componentes, contrário ao que foi observado para as blendas colágeno/POEA.

Os resultados de MEV para o colágeno puro, antes (Figuras 4.25 e 4.26) e após tratamento com m-cresol (Figuras 4.27 e 4.28) mostraram que não houve grandes modificações na superfície do filme. Para as blendas de 95/05, observou-se um filme com pequenos glóbulos, antes do tratamento com m-cresol (Figuras 4.29 e 4.30). Após esse tratamento, a estrutura do filme apresentou uma morfologia fibrosa, com a presença de alguns globulos (Figura 4.31). Na micrografia com aumento de 10000 X observamos uma estrutura globular sobre placas e pequenos caminhos criados, devidos à remoção da POEA (Figura 4.32).

Para a blenda 50/50, observa-se, antes do tratamento com m-cresol, um filme com estrutura globular, para um aumento de 2000 X

(Figura 4.33). Com o aumento de 10000 X, observa-se a existência de glóbulos menores, assim como observado por AFM, após a dopagem (Figura 4.34). Após o tratamento com m-cresol, o filme apresentou, assim como na blenda 95/05, estrutura fibrogrobular (Figura 4.35). Porém, com a resolução de 10000 X, observam-se pequenos caminhos por todo o filme. O tamanho dos agregados é bastante uniforme (Figura 4.36).

Análises de AFM para os filmes tratados com m-cresol mostraram, assim como com o MEV, uma redução significativa no tamanho dos glóbulos, quando comparado com os filmes não-tratados com esse solvente.

Estudo de MEV do perfil do filme de colágeno puro e das blendas colágeno/POEA mostrou que o colágeno se deposita na forma de placas, sendo que estas estão muito próximas umas das outras, em toda a extensão do filme (Figura 4.37). O mesmo tipo de arranjo ocorre para as blendas de colágeno/POEA (95/05) (Figura 4.38), (85/15) (Figura 4.39) e (50/50) (Figura 4.40).

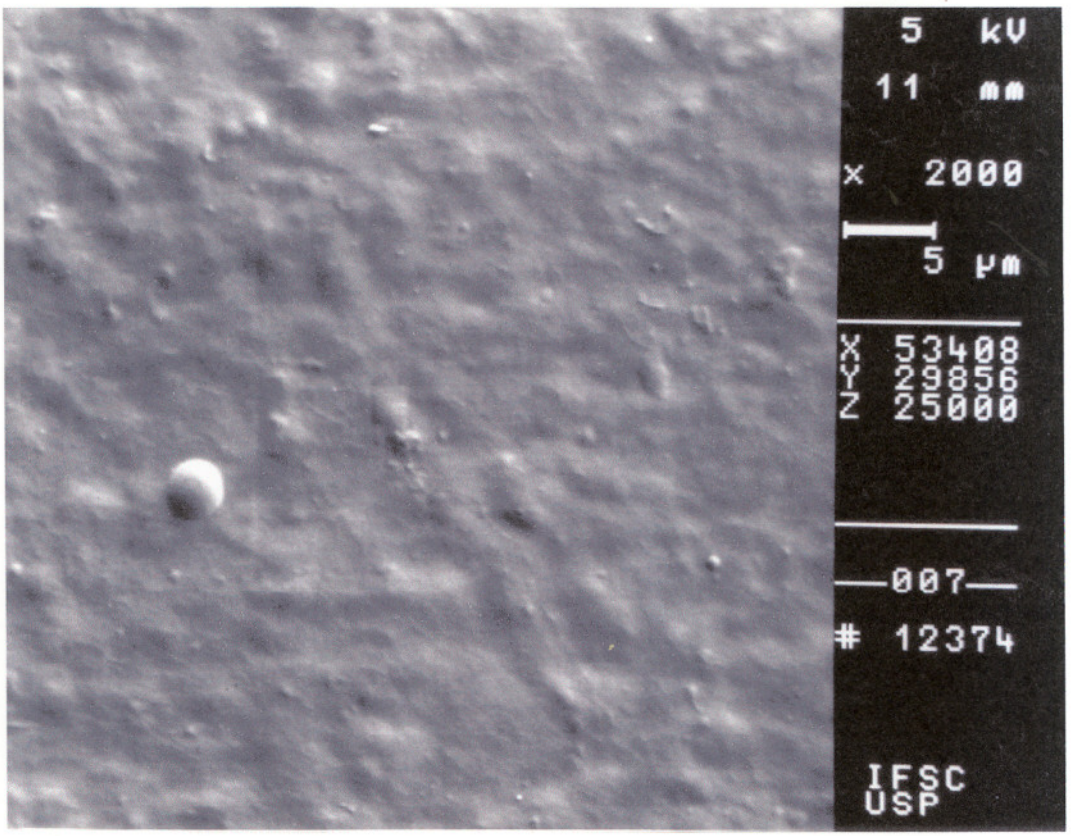


FIGURA 4.25: *MEV do filme de colágeno (pH = 3,5) (aumento de 2000 X).*

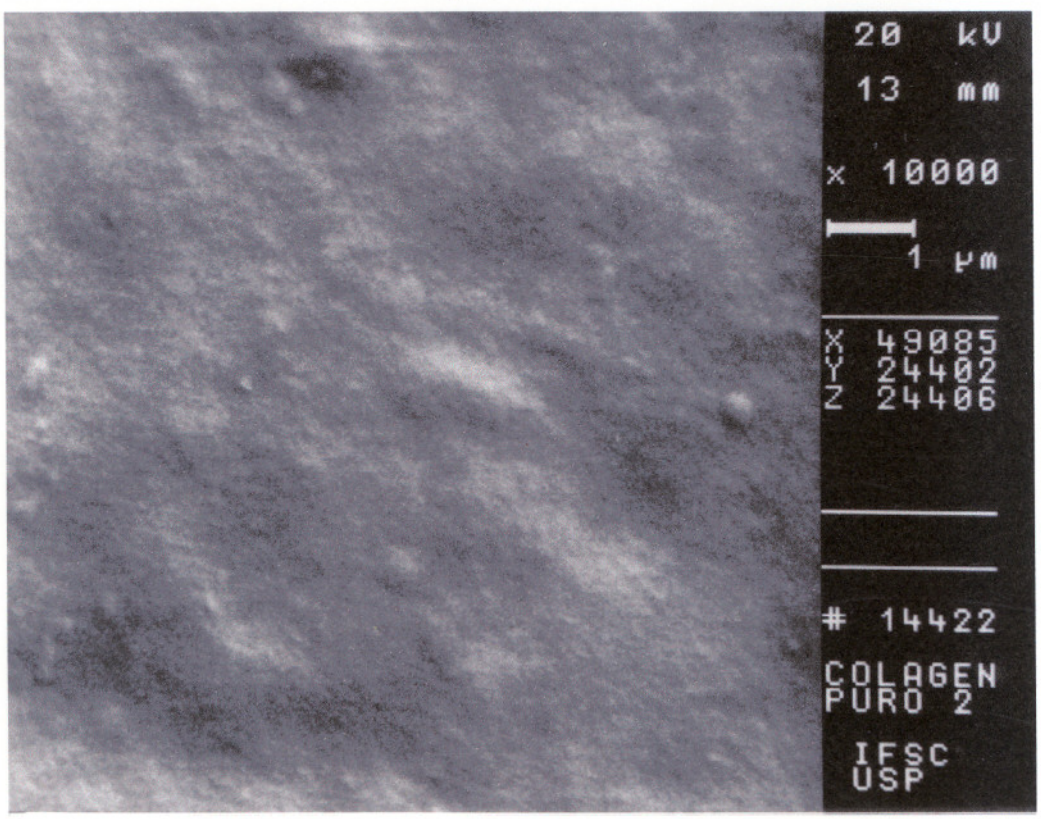


FIGURA 4.26: *MEV do filme de colágeno (pH = 3,5) (aumento de 10000 X).*

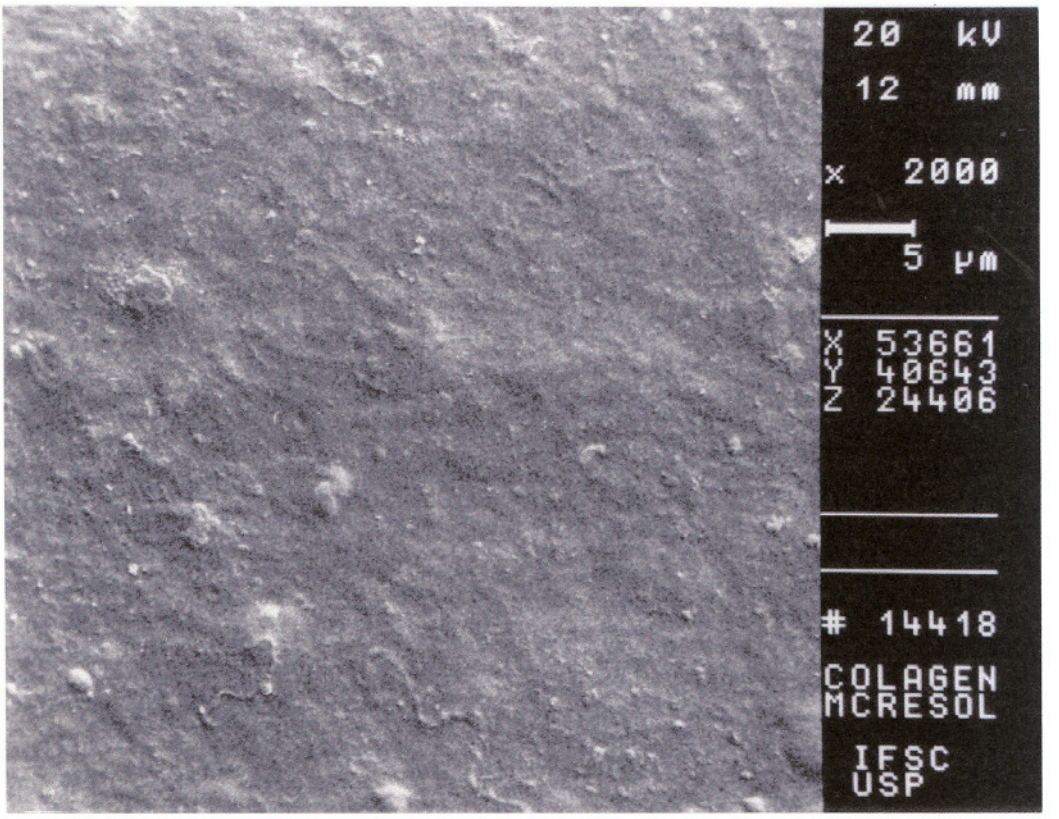


FIGURA 4.27: *MEV do filme de colágeno (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X).*

FIGURA 4.28: *MEV do filme de colágeno (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 10000 X).*

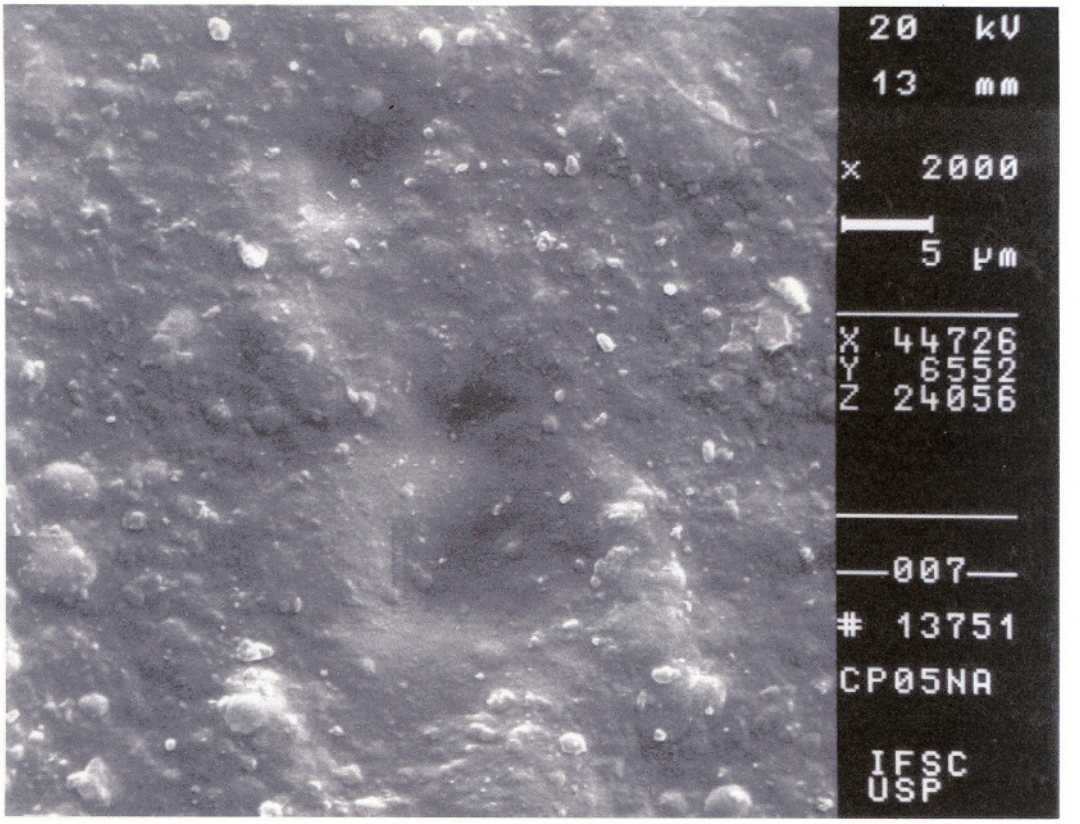


FIGURA 4.29: *MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5) (aumento de 2000 X).*

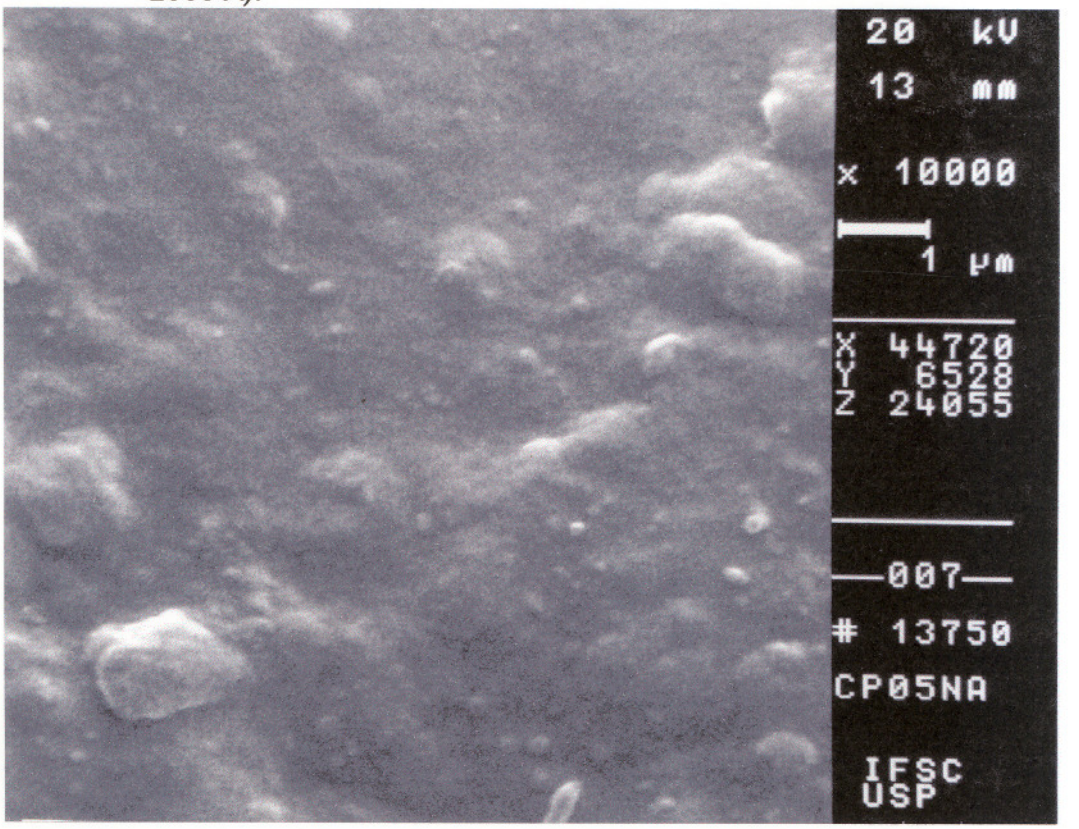


FIGURA 4.30: *MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5) (aumento de 10000 X).*

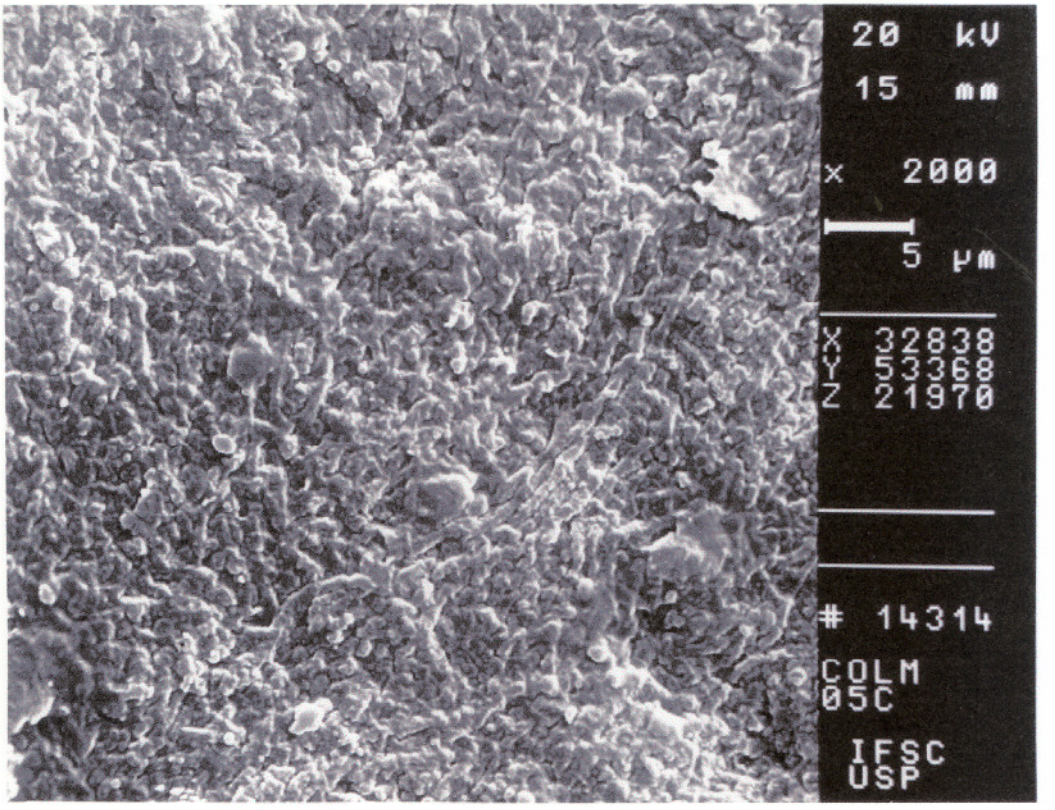


FIGURA 4.31: *MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X).*

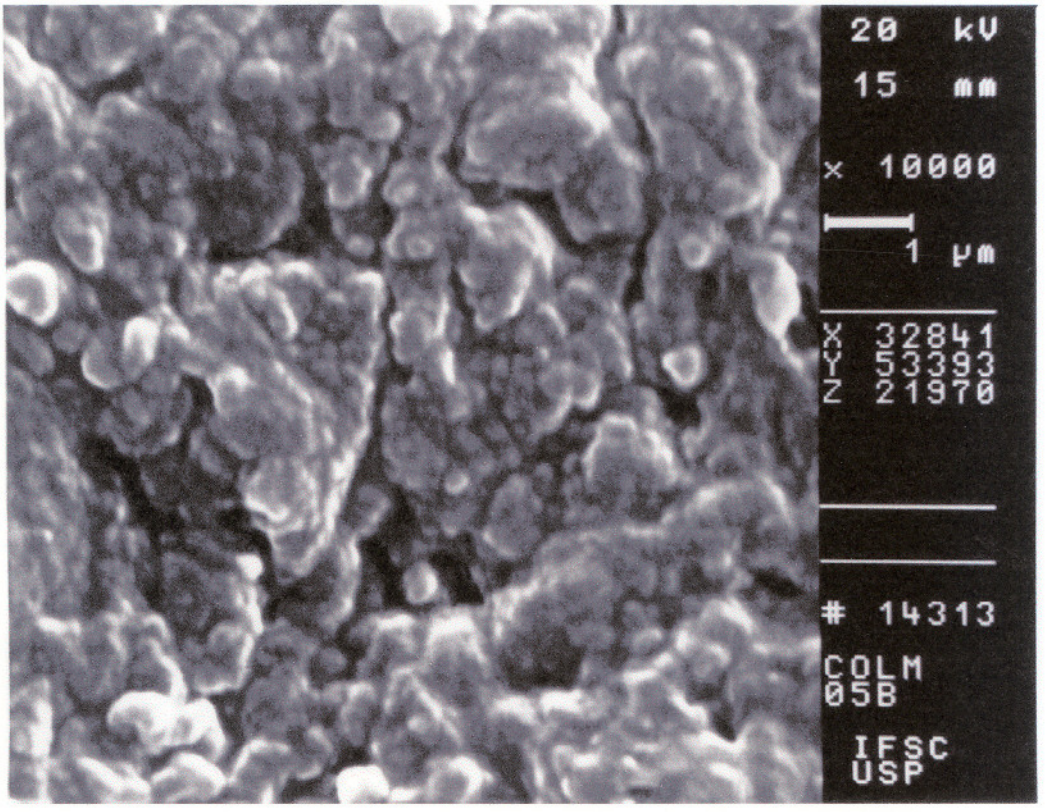


FIGURA 4.32: *MEV da blenda de colágeno/POEA (95/05) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 10000 X).*

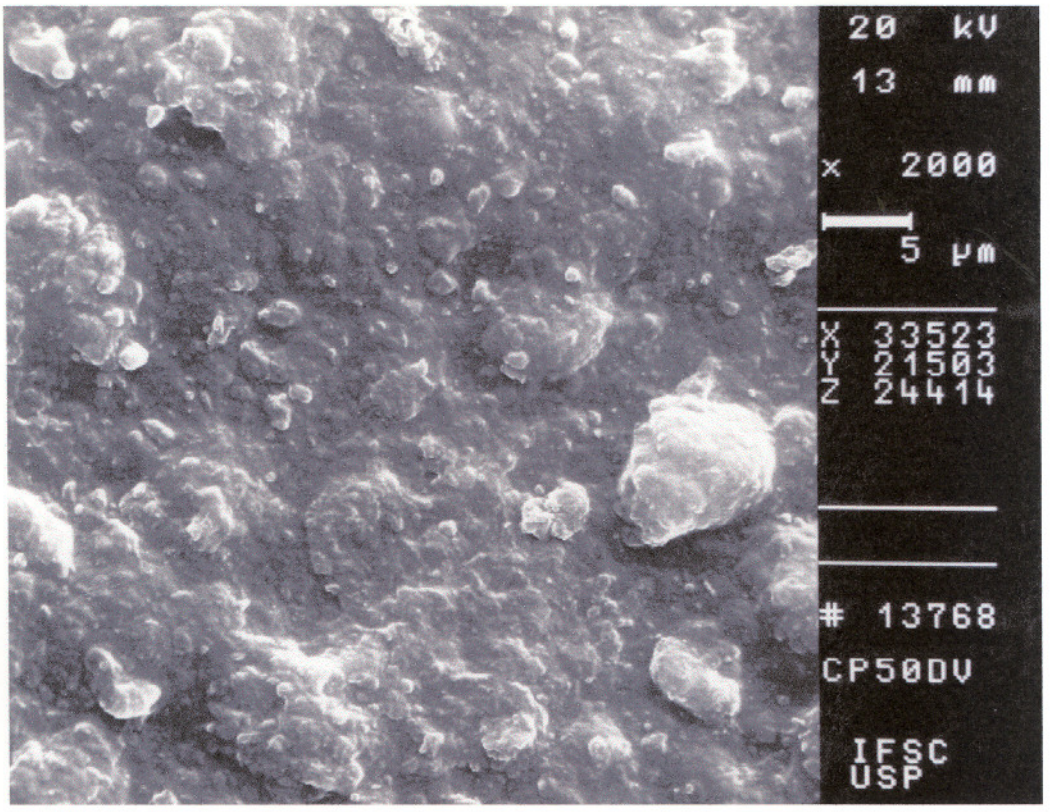


FIGURA 4.33: *MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5) (aumento de 2000 X).*

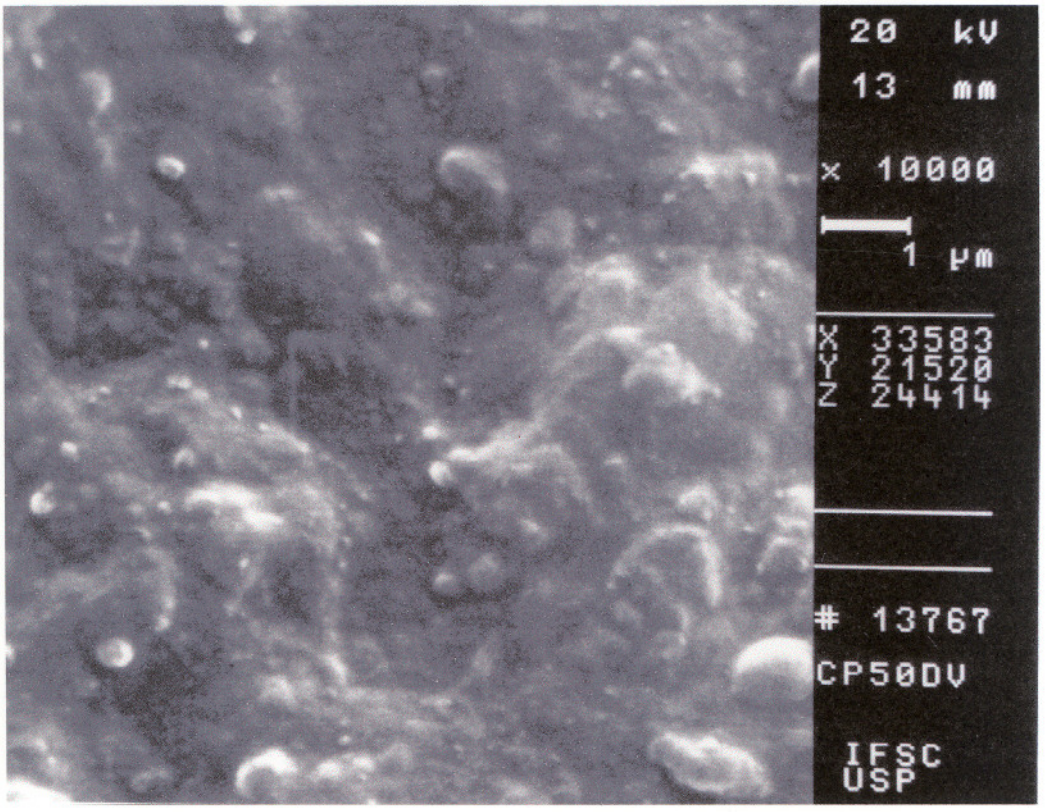


FIGURA 4.34: *MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5) (aumento 10000 X).*

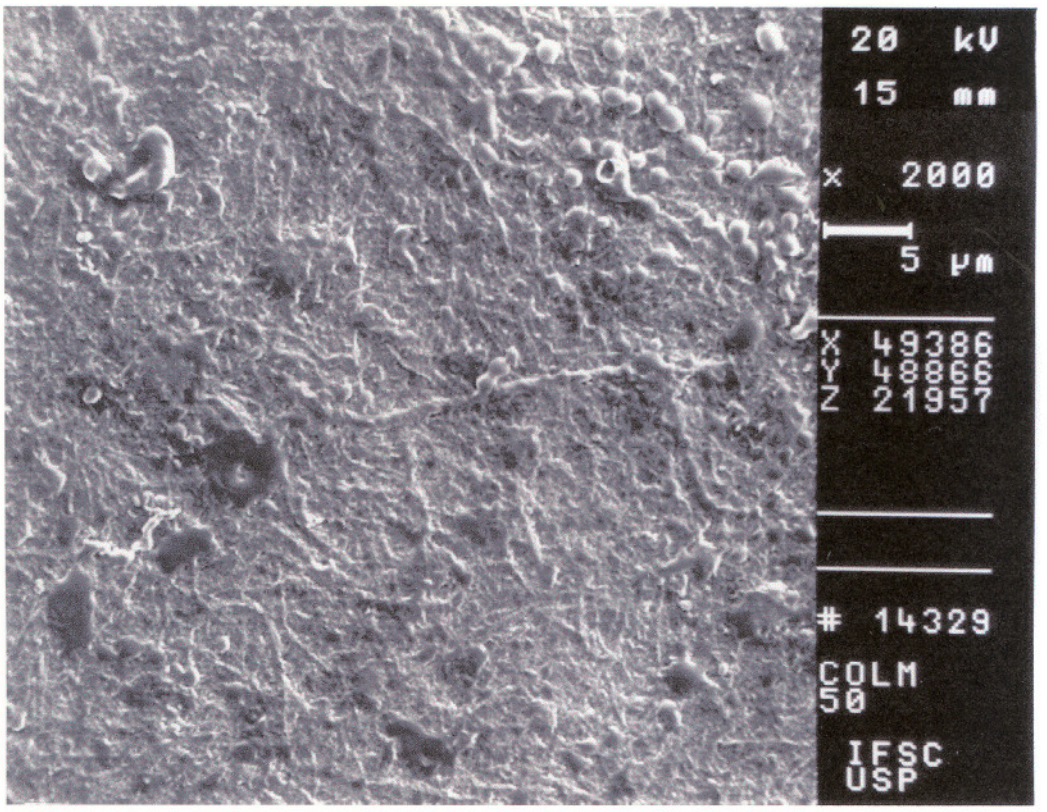


FIGURA 4.35: *MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 2000 X).*

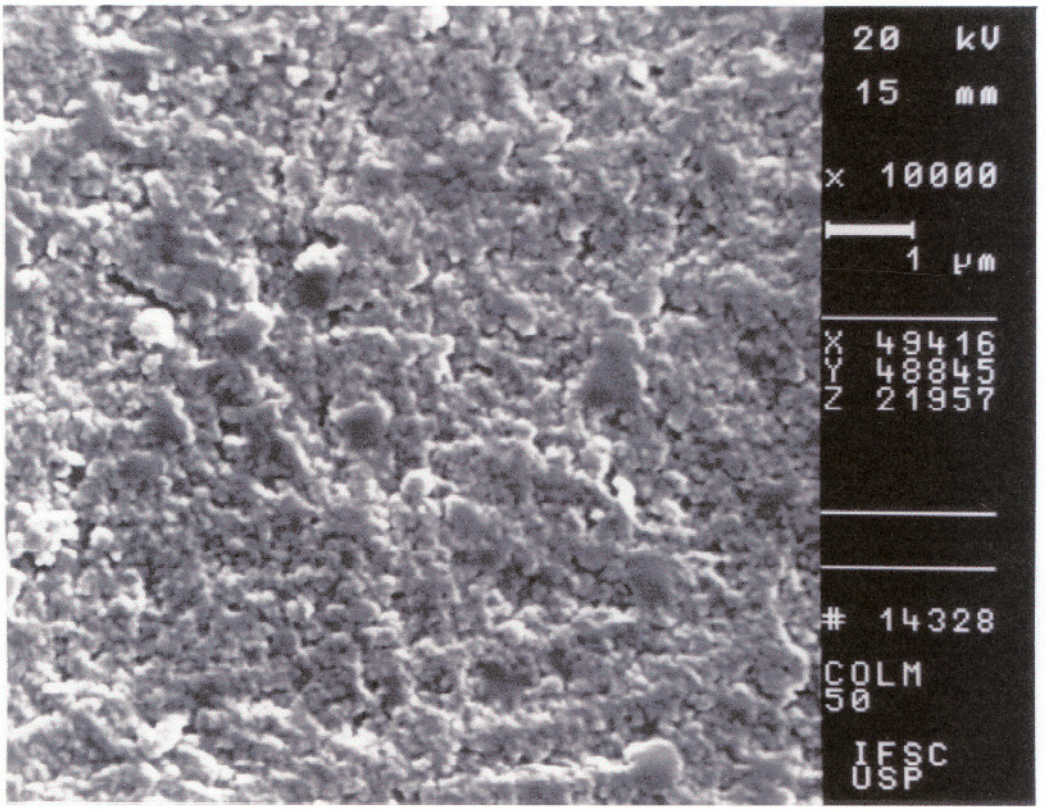


FIGURA 4.36: *MEV da blenda de colágeno/POEA (50/50) (pH = 3,5), após duas horas de imersão em solução de m-cresol (aumento de 10000 X).*

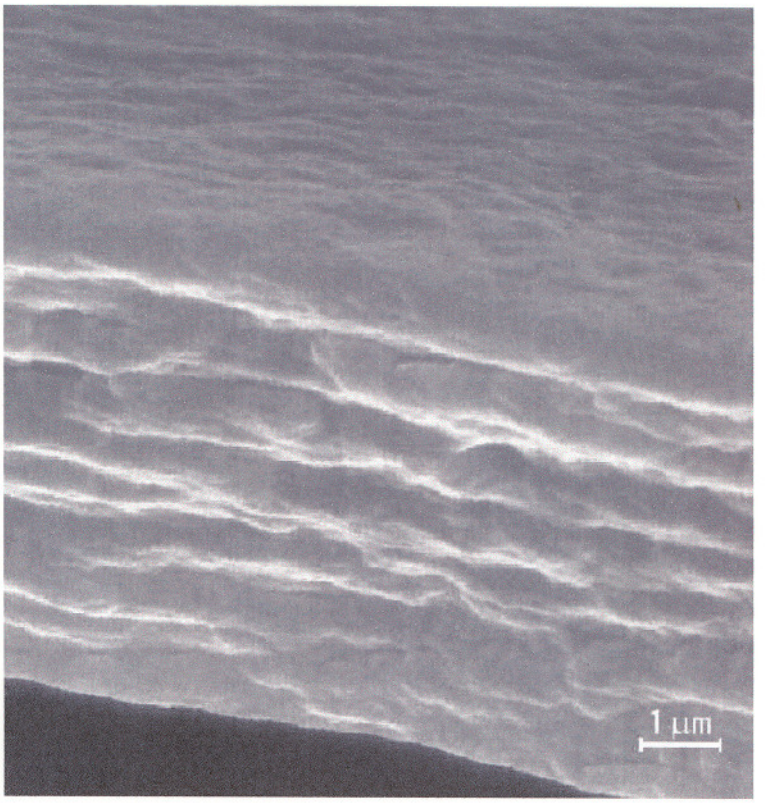


FIGURA 4.37: *MEV da sessão transversal do filme de colágeno (pH = 3,5)*

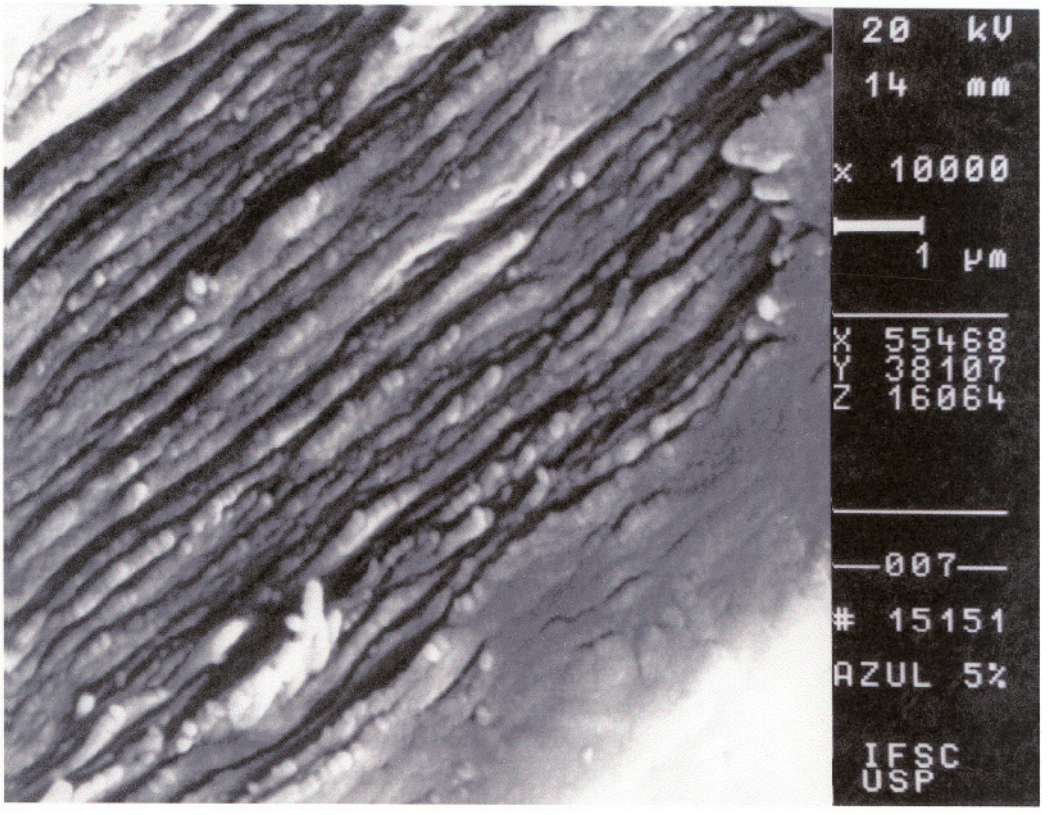


FIGURA 4.38: *MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (95/05).*

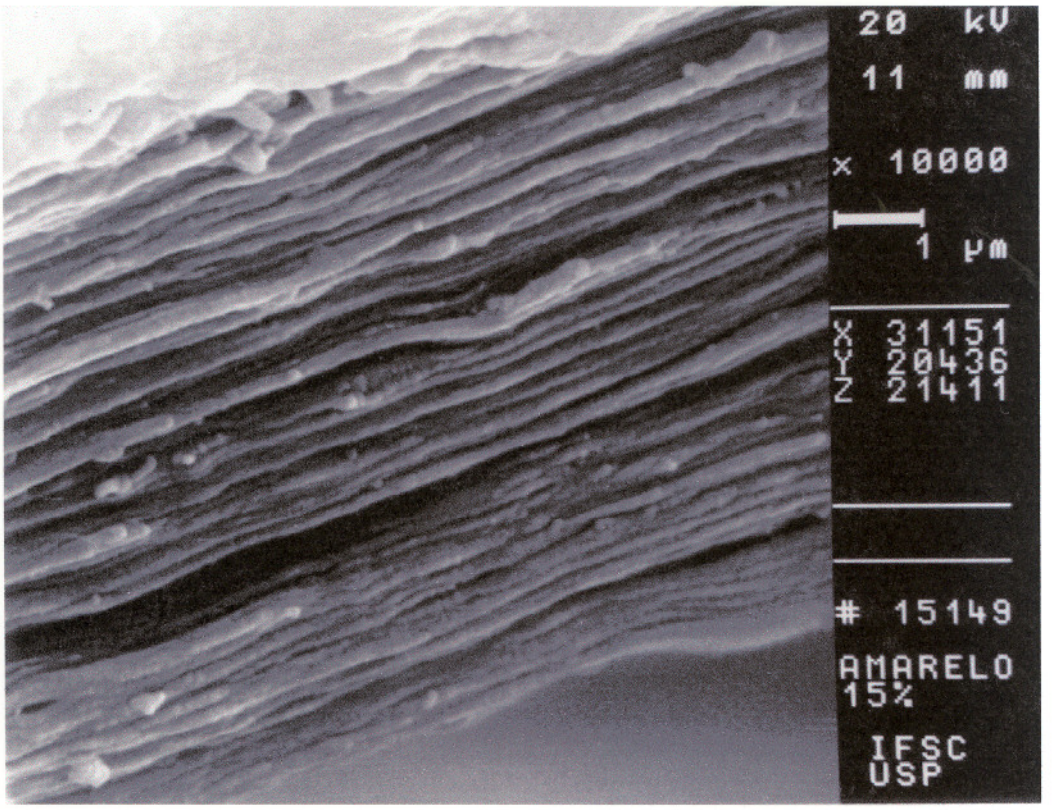


FIGURA 4.39: *MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (85/15).*

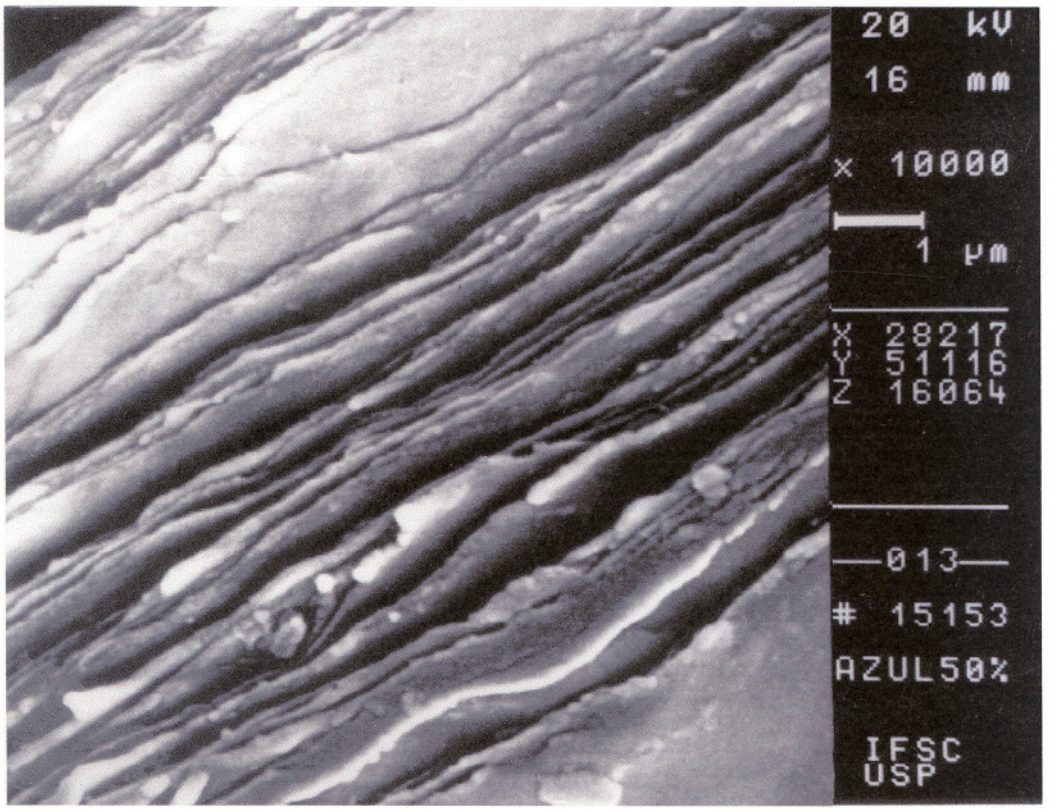


FIGURA 4.40: *MEV do perfil da blenda colágeno/POEA (50/50).*

CAPÍTULO V

5.1 - Estudos das propriedades elétricas das blendas

Medidas de condutividade elétrica (σ) podem ser realizadas por diferentes métodos. Aqui são apresentados alguns desses métodos, bem como os resultados obtidos e a discussão dos mesmos, visando entender os mecanismos de condução elétrica na blenda colágeno/POEA.

As blendas de colágeno e POEA foram preparadas na forma de filmes, com ~10 μm de espessura, pelo método "casting", e tiveram sua condutividade elétrica determinada pelo método de quatro pontas, conforme descrito na seção 3.7.1. A variação da σ em função da concentração de POEA, no estado dopada, para as blendas estudadas, é mostrada na Figura 5.1. O aumento na condutividade elétrica foi proporcional ao aumento de POEA na blenda (Figura 5.1). Essa condutividade aumentou até atingir um aparente patamar acima de 25% de POEA com os valores de condutividade variando entre 5,26 X 10^{-8} a 3,29 X 10^{-5} S/cm, para a concentração de polímero condutor variando de 05% a 50%, respectivamente. Nestas condições, estas blendas podem ser classificadas como semicondutoras. Blendas de colágeno/polipirrol (50/50) apresentaram condutividade de 1 X 10^{-7} S/cm[46,47]. Portanto, obtiveram-se blendas de colágeno/POEA que apresentaram condutividade elétrica com aproximadamente duas ordens de grandeza maior do que as reportadas na literatura[46,47].

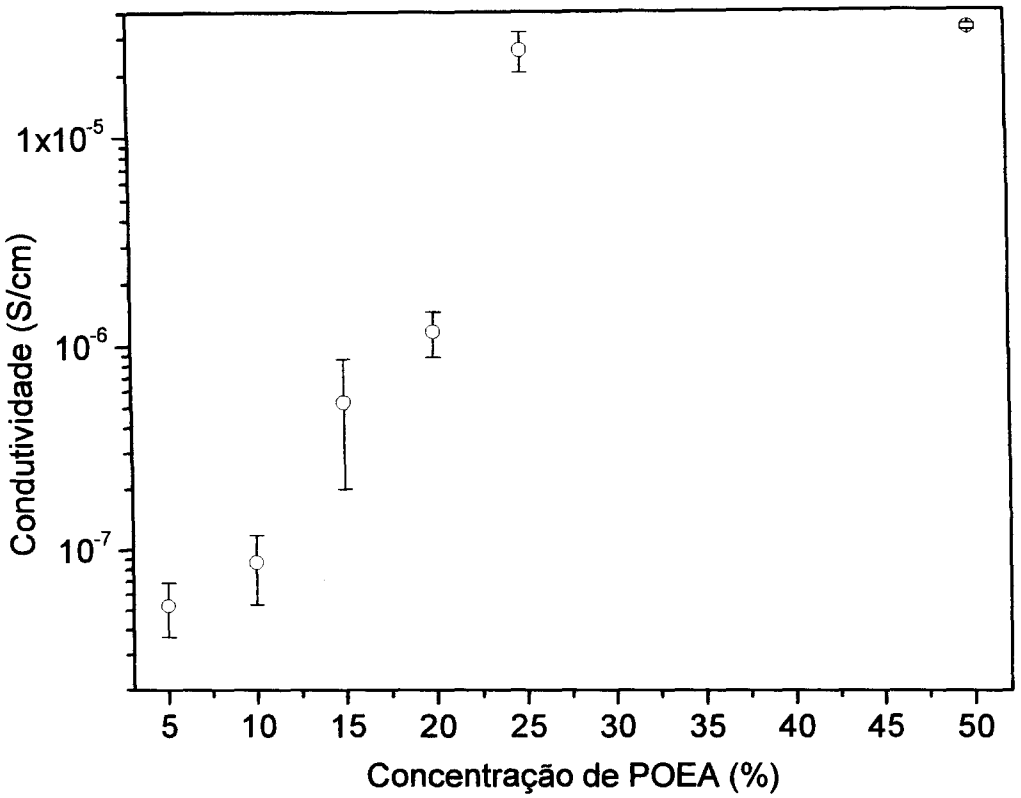


FIGURA 5.1: *Variação da condutividade elétrica (S/cm) da blenda, em função da porcentagem de POEA dopada com HCl. Método de quatro pontas.*

Os valores da condutividade elétrica volumétrica em função da porcentagem de POEA, obtidos pelo método de duas pontas, usando o método do TSC, conforme mostrado na seção 3.7.2, foram uma ordem de grandeza menor que aqueles obtidos pelo método de quatro pontas, para as blendas dopadas, conforme mostra a Figura 5.2. Nessa figura, pode-se observar ainda que, para as blendas com POEA desdopada, a condutividade praticamente não variou com a porcentagem de POEA, demonstrando que a condutividade elétrica está diretamente relacionada com os portadores de carga, no polímero condutor no estado dopado.

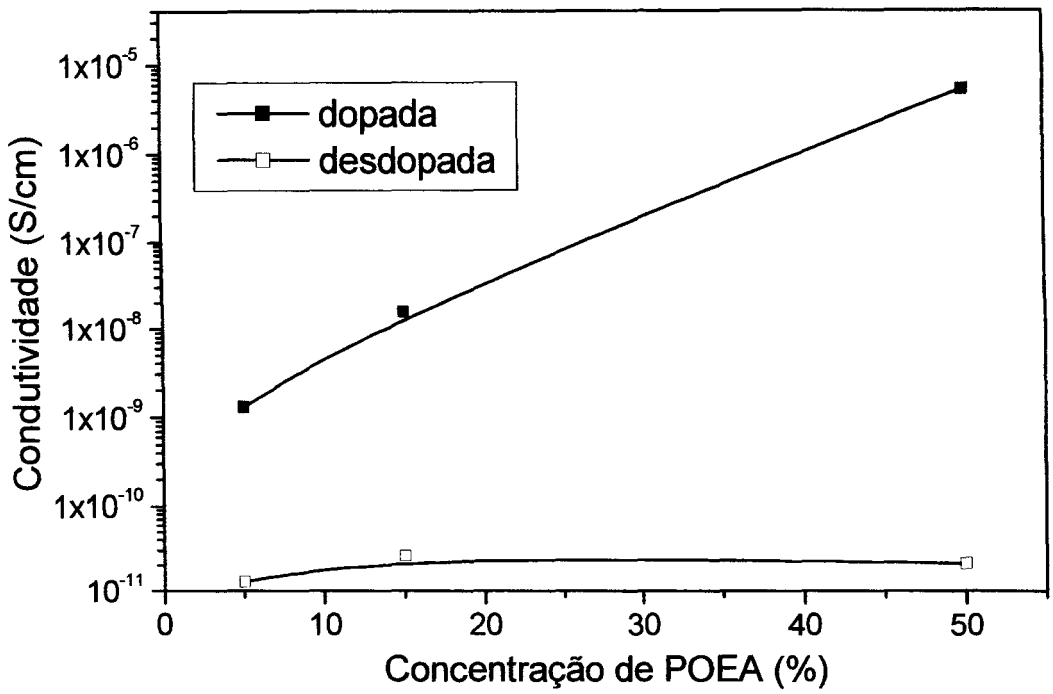


FIGURA 5.2: *Valores de condutividade elétrica DC em função da porcentagem de POEA, medidos pelo método de duas pontas (TSC), para as blendas de colágeno/POEA, dopadas e desdopadas.*

A condutividade elétrica em corrente contínua (DC) também foi avaliada, utilizando o equipamento HP 4339B High Resistence Meter. Este equipamento permite verificar tanto a condutividade volumétrica quanto a condutividade superficial da amostra, e as medidas são realizadas de acordo com a Norma ASTM 257 (com anel de guarda). Os resultados estão apresentados nas Figuras 5.3 e 5.4. Nos filmes com a POEA desdopada (Figura 5.3), a condutividade superficial praticamente não variou com a concentração desse polímero, novamente indicando que a condutividade está diretamente relacionada com os portadores de carga, no polímero condutor no estado dopado.

Para o filme dopado, observou-se que tanto a condutividade superficial quanto a volumétrica aumentou com a concentração de polímero condutor. Entretanto, a condutividade superficial foi aproximadamente duas ordens de grandeza maior do que a condutividade volumétrica para todas as concentrações de POEA na blenda (Figura 5.4). Os valores de condutividade superficial e volumétrica, para o colágeno puro e para as blendas dopadas e desdopadas, são mostrados na Tabela 5.1. Estes resultados mostram que

os valores de condutividade obtidos pelo método de quatro pontas (condutividade volumétrica) se aproximam mais daqueles obtidos para a condutividade superficial, quando medidos pelo equipamento da HP, do daqueles obtidos para a condutividade volumétrica.

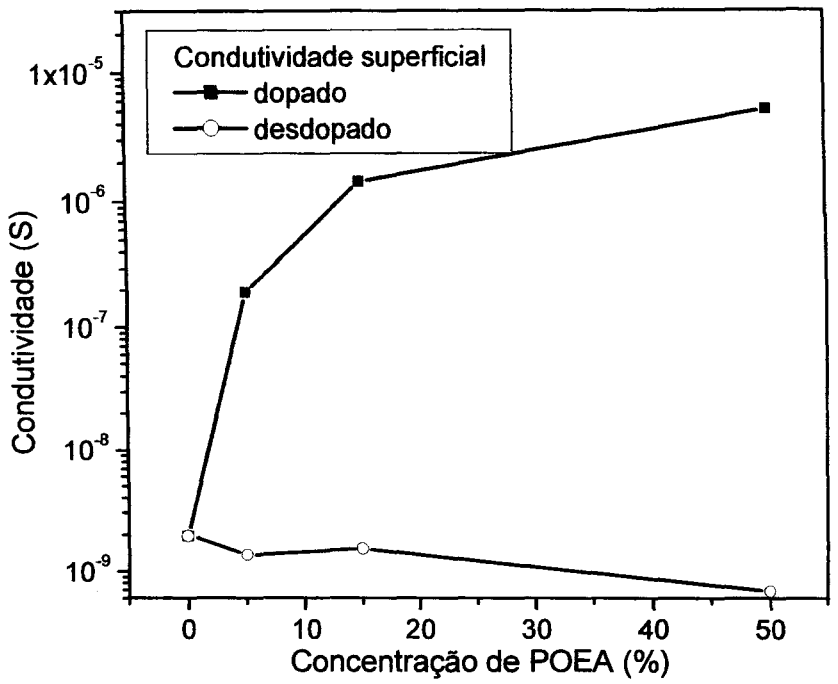


FIGURA 5.3: *Condutividade elétrica superficial (S) em função da % de POEA das blendas colágeno/POEA, dopadas e desdopadas. Método de duas pontas com equipamento HP.*

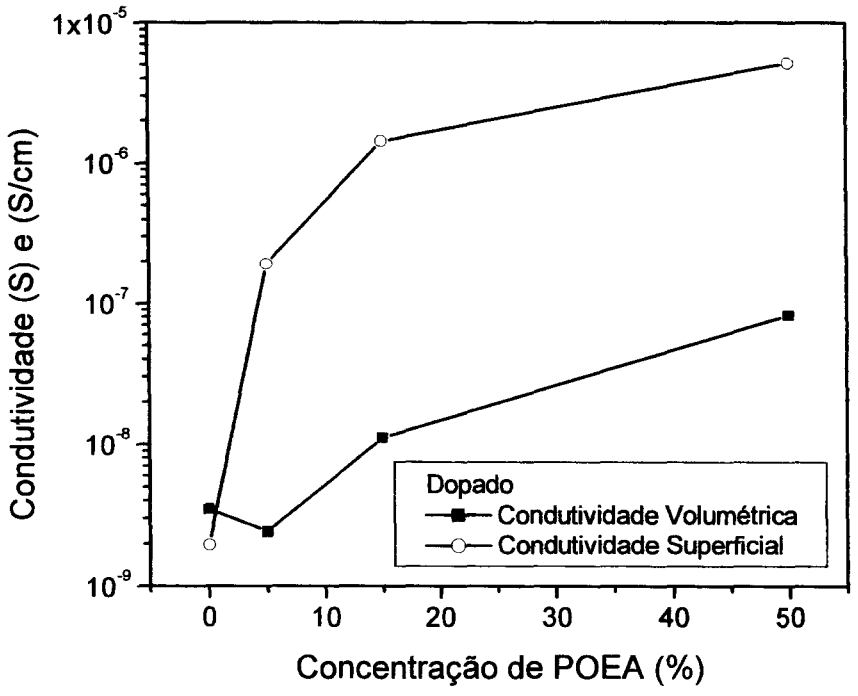


FIGURA 5.4: *Medidas de condutividade elétrica superficial (S) e volumétrica (S/cm), em função da composição das blendas de colágeno/POEA dopadas com HCl 1,0 M. Método de duas pontas com equipamento HP.*

TABELA 5.1: *Condutividades elétricas volumétrica (S/cm) e superficial (S), medidas pelo método de duas pontas no equipamento da HP, para as blendas de colágeno/POEA em diferentes concentrações, para a POEA dopada e desdopada e para o colágeno puro.*

Colágeno/ POEA (%)	σ (volumétrica) (S/cm)		σ (superficial) (S/cm)	
	Dopado	Desdopado	Dopado	Desdopado
100/0	—	$3,8 \times 10^{-9}$	—	$5,3 \times 10^{-9}$
95/05	$2,4 \times 10^{-9}$	$1,0 \times 10^{-10}$,	$1,9 \times 10^{-7}$	$1,1 \times 10^{-9}$
85/15	$1,1 \times 10^{-8}$	$2,7 \times 10^{-10}$	$1,4 \times 10^{-6}$	$3,0 \times 10^{-9}$
50/50	$8,1 \times 10^{-8}$	$1,6 \times 10^{-11}$	$5,1 \times 110^{-6}$	$1,0 \times 10^{-9}$

5.2 - Comportamento experimental da condutividade AC

O modelo do comportamento experimental da condutividade AC descrito aqui se baseia no proposto por Bianchi[110]. Esse modelo teórico descreve o comportamento da condutividade a partir de dados experimentais da condutividade real e imaginária, sendo de fundamental importância para o entendimento do mecanismo de condução elétrica na blenda.

A condutividade AC $\sigma^*(\omega)$ de materiais desordenados, medidos na faixa de freqüência (f) de 0,01 Hz a 10 MHz ($\omega=2\pi f$), apresenta um comportamento universal no qual o logaritmo da componente real da condutividade $\sigma'(\omega)$ apresenta três regiões de freqüência. A primeira, em baixas freqüências, pode ser considerada a condutividade DC e é invariável com a freqüência. Na segunda, a condutividade aumenta com a freqüência, obedecendo à lei de $\sigma'(\omega)\alpha\omega^s$, onde $0 \leq s \leq 1$. A terceira ocorre em altas freqüências, e novamente a condutividade passa a ser independente da freqüência. A transição entre o primeiro e o segundo patamar é definida como a freqüência crítica ω_c. Também são denominados de σ'_{mim} e σ''_{max}, respectivamente, os valores dos patamares em que a condutividade em

baixa e alta freqüências é invariável. A diferença $\Delta\sigma' = \sigma'_{max} - \sigma'_{min}$ tende a diminuir quanto mais condutivo for o material. Também, a extensão do patamar de baixa freqüência , definido por ω_{mim} – valor da interseção entre os comportamentos, independente da freqüência e ω^s – tende a ser menor quanto mais resistivo for o material. Isto é, ω_{min} é menor quanto menor σ'_{min}. Esse comportamento característico foi observado em inúmeros materiais desordenados, orgânicos e inorgânicos[110]. O patamar de σ'_{max} (ou valor de ω_{max}), entretanto, não é observado para a maioria dos casos, devido às limitações experimentais.

Os polímeros condutores são materiais desordenados e sua condutividade pode variar mais de uma dezena de ordem de grandeza, dependendo do grau de dopagem. As polianilinas apresentam duas regiões distintas, sendo uma delas considerada ilhas condutoras distribuídas aleatoriamente em uma matriz isolante.

Em trabalhos recentes[111-112], propôs-se um modelo para ser aplicado a materiais que apresentam duas fases distintas, uma condutora e outra isolante desordenada. Pelo do cálculo da permissividade elétrica efetiva média dessas duas regiões, é possível obter informações importantes sobre o comportamento dos portadores de carga associada à transição isolante/metal dessa classe de materiais, sendo o mecanismo proposto atribuído à parte isolante da amostra. O modelo proposto é o de RFEB (Random Free Energy Barrier) e trata da condução eletrônica e iônica para sistemas desordenados. Ele se baseia em mecanismos de saltos (*hopping*) ou tunelamento assistido por fônons, em que a expressão para $\sigma(\omega)$ é:

$$\sigma_D(\omega) = \frac{\dfrac{\omega}{\gamma_{min}}\sigma_o i}{\ln\left(\dfrac{1+\dfrac{\omega i}{\gamma_{min}}}{1+\dfrac{\omega i}{\gamma_{max}}}\right)} - \frac{\omega\sigma_o i}{\gamma_{min}\ln\left(\dfrac{\gamma_{max}}{\gamma_{min}}\right)} \qquad (5.1)$$

onde

$$\sigma_0 = A.\gamma_{min}.\ln\left(\frac{\gamma_{max}}{\gamma_{min}}\right) \tag{5.2}$$

Nessas expressões, A é uma constante e o parâmetro σ_0 está relacionado com o número de portadores (n) e com a sua distância média de saltos (a), σ_o = na, e pode ser obtida a partir de gráficos experimentais, tomando-se o valor da condutividade quando ω tende a zero, ou seja, condutividade DC. Além disso, γ_{min} está associado ao início da região em que a relação $\sigma'(\omega)\alpha\omega^s$ se torna válida, e γ_{max} é o valor da freqüência para o segundo patamar de condutividade.

Para γ_{max} tendendo para infinito e para $\omega << \gamma_{max}$, tem-se:

$$\sigma_D(\omega) = \frac{\frac{\omega i}{\gamma_{min}}\sigma_0}{\ln\left(1+\frac{\omega i}{\gamma_{min}}\right)} \tag{5.3}$$

Que é a expressão da condutividade de um material que apresenta um segundo patamar de condutividade para freqüências muito acima dos valores medidos experimentalmente.

Neste trabalho, foram preparadas e caracterizadas blendas de colágeno/POEA dopadas e não-dopadas, por meio de medidas de condutividade AC na faixa de freqüência de 10^2 a 10^6 Hz. Os experimentos foram realizados na faixa de temperatura de –125°C até +125°C.

A Figura 5.5 ilustra o comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade complexa, em função da freqüência, para o colágeno puro na temperatura de 25°C, e os ajustes experimentais obtidos pelo modelo RFEB. Nesse gráfico, observou-se que a componente real da condutividade apresenta um comportamento linear em escala log-log em toda a faixa de freqüência analisada, similar ao encontrado para a

componente imaginária, sendo característico de sistemas dielétricos desordenados[111, 112]. Não se observou, na faixa de freqüência analisada, o comportamento de Dyre, onde a condutividade permanece inalterada com a freqüência, até um valor de ω_c crítico.

As componentes σ' e σ'' e os ajustes experimentais para as blendas de colágeno/POEA desdopadas (95/05, 85/15 e 50/50 m/m) são mostrados, respectivamente, nas Figuras 5.6, 5.7 e 5.8, para a temperatura de 25°C. Os resultados encontrados são similares ao relatado acima para o colágeno puro, ou seja, σ' apresenta um comportamento linear dependente da freqüência, semelhante ao encontrado para σ''. Esse resultado é consistente com a literatura[111], pois a POEA, no estado desdopado, não apresenta portadores livres, o que a torna um polímero isolante e o colágeno, conforme visto anteriormente, também é um isolante. As blendas, nestas condições, apresentaram um comportamento típico de um dielétrico desordenado.

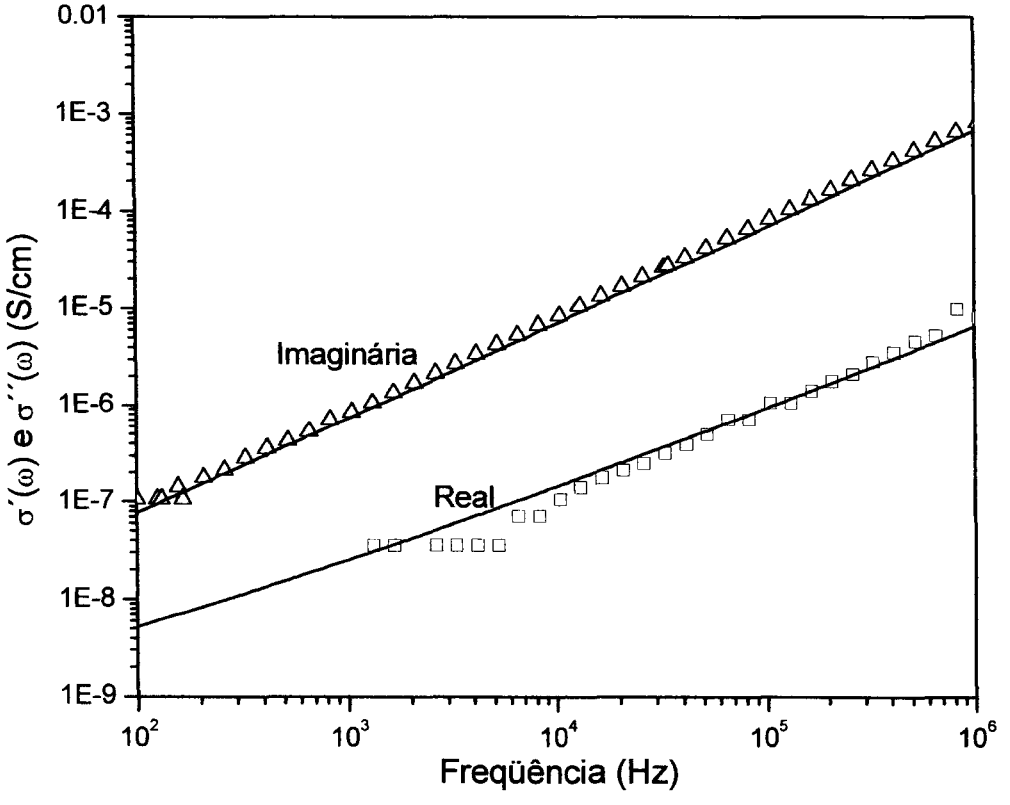


FIGURA 5.5: *Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para o colágeno puro, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

Tanto para o colágeno puro como para as blendas desdopadas, observou-se um patamar para baixas freqüências. Esse patamar está relacionado com as limitações instrumentais nesta faixa de freqüência para material muito resistivo, e não com a condutividade da amostra.

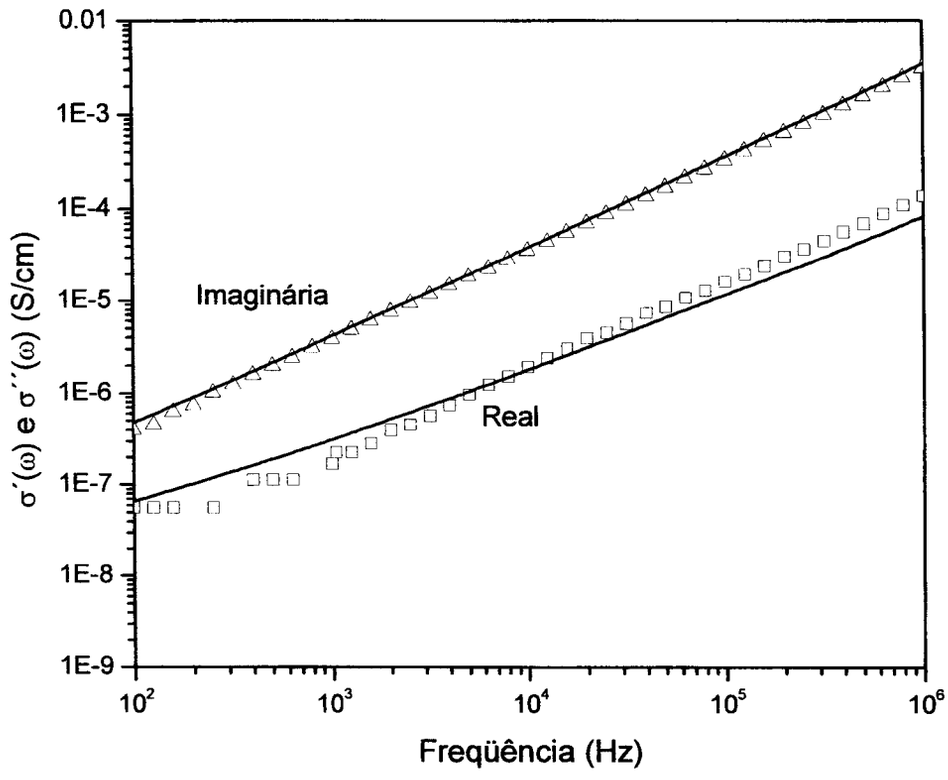


FIGURA 5.6: *Comportamento das componentes real (σ´) e imaginária (σ´´) da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (95/05 m/m) desdopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

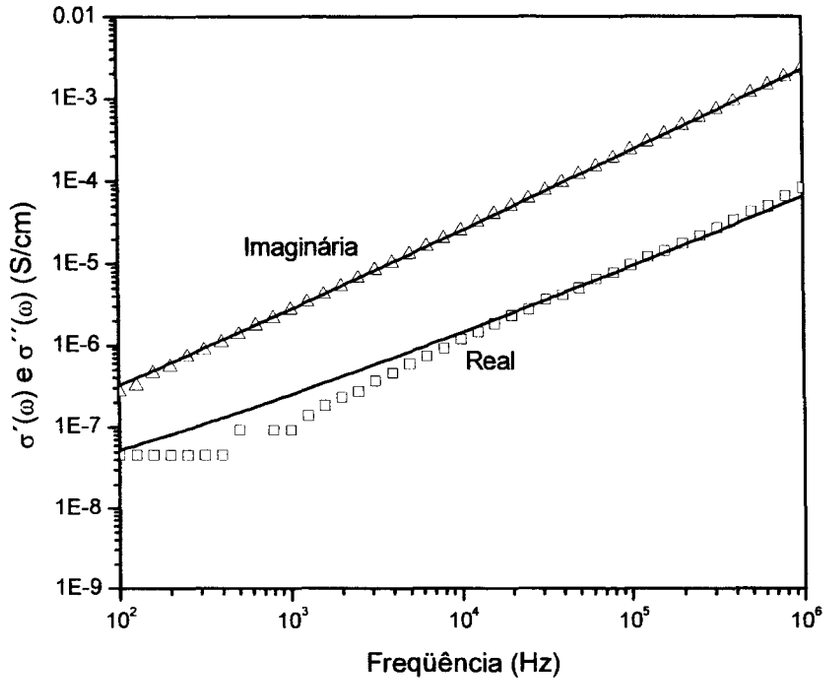


FIGURA 5.7: *Comportamento das componentes real (σ´) e imaginária (σ´´) da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (85/15 m/m) desdopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

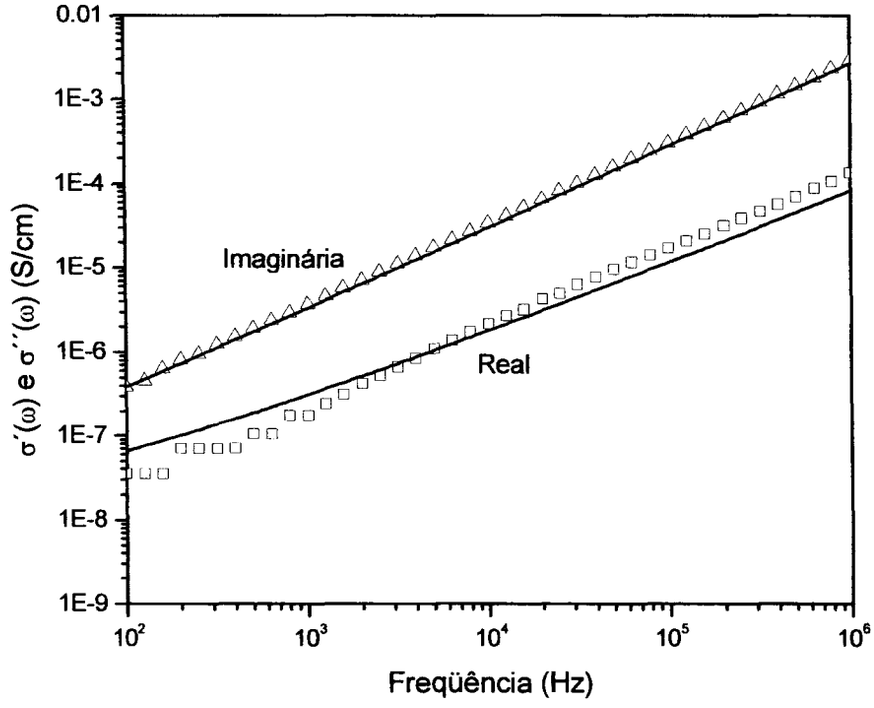


FIGURA 5.8: *Comportamento das componentes real (σ´) e imaginária (σ´´) da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) desdopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

Após a dopagem das blendas por 2h, em solução de HCl 1,0M, observou-se que para baixas concentrações de POEA (95/05 - Figura 5.9), o comportamento de σ' e σ'' é similar àqueles encontrados para as blendas não-dopadas, ou seja, ambos crescem linearmente com o aumento de freqüência. Este mesmo padrão foi observado para a blenda 85/15 (Figura 5.10). No entanto, para a blenda com (50/50) de POEA (Figura 5.11), observou-se um patamar constante para σ' até aproximadamente 10^3Hz, passando a subir suavemente com o posterior aumento de freqüência. A região em que se inicia a dependência da condutividade com a freqüência é denominada valor crítico de condutividade. Extrapolando-se a curva de σ' até a região de freqüência nula, obtém-se o valor da condutividade volumétrica da amostra, que para esta blenda foi da ordem de $9,7 \times 10^{-6}$ Ω/cm.

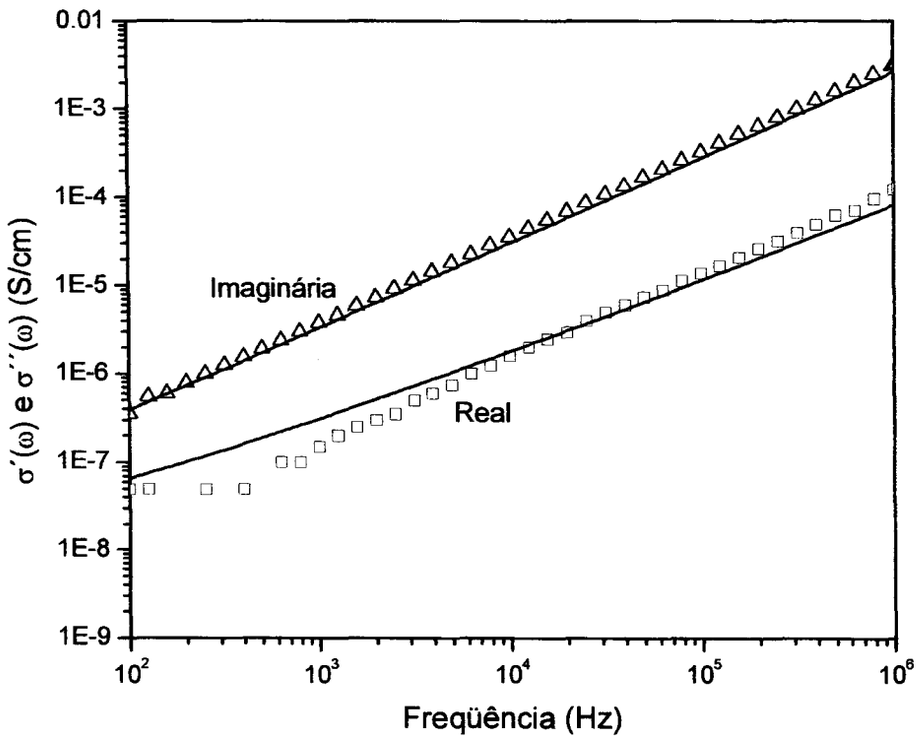


FIGURA 5.9: *Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (95/05 m/m) dopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

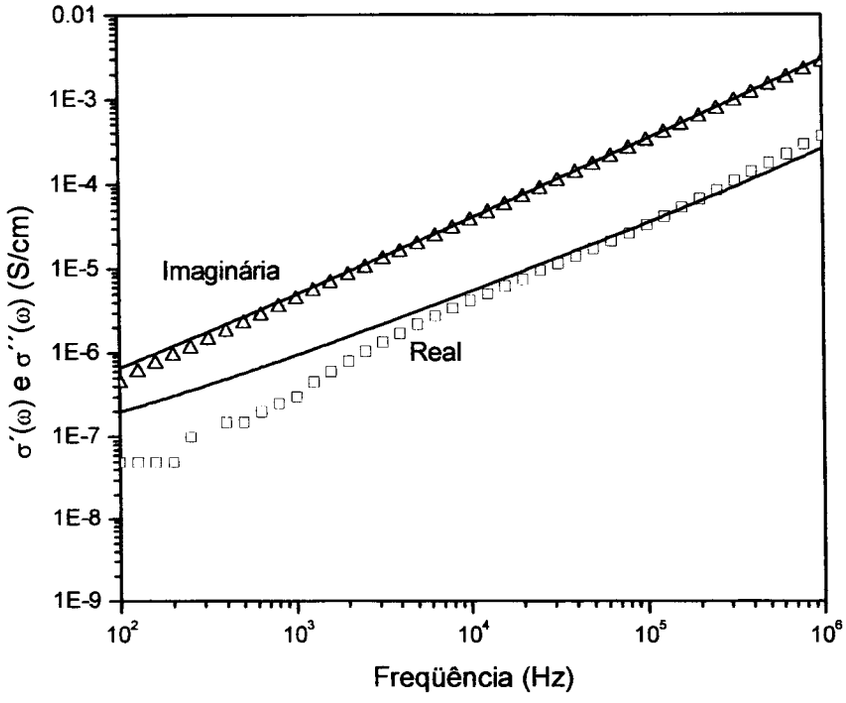


FIGURA 5.10: *Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (85/15 m/m) dopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

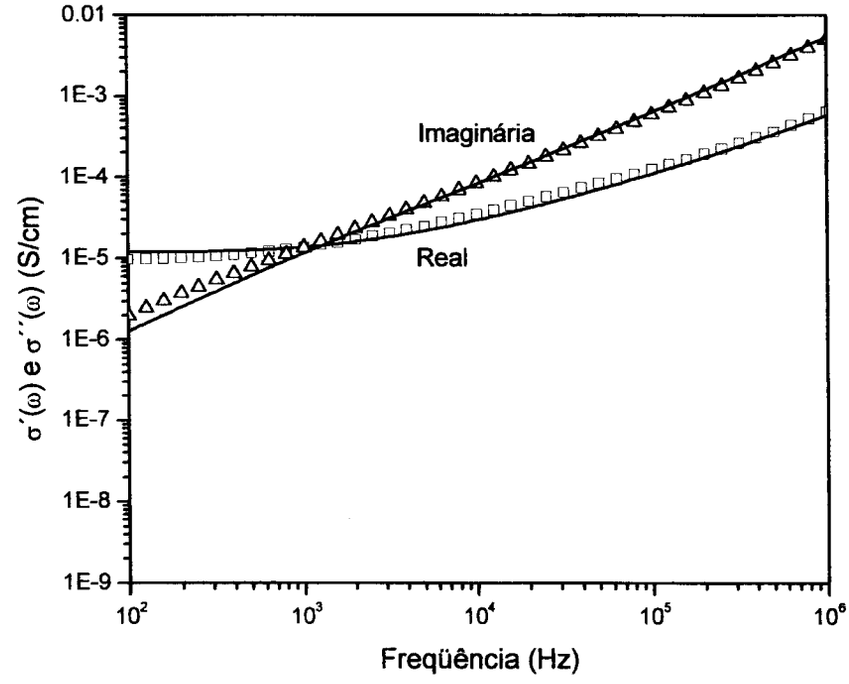


FIGURA 5.11: *Comportamento das componentes real (σ') e imaginária (σ'') da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) dopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

Quando se compararam os resultados entre os materiais estudados, verificou-se que, no colágeno puro e nas blendas desdopadas, a condutividade elétrica é muito pequena. Quando as blendas foram dopadas, estas se tornaram condutivas, sendo o aumento na condutividade proporcional à quantidade de polímero condutor adicionado à mesma. Por isso, a condutividade observada nas blendas (50/50) se deve à mobilidade dos portadores de carga criados no processo de dopagem da POEA.

Foi observado que, para freqüências maiores que 10^3 Hz, a condutividade varia de acordo com a expressão $\sigma(\omega) \alpha \omega^s$, com s ~ 0.82 no caso do colágeno puro, e s ~ 1 para as blendas colágeno/POEA dopada 95/05 e 85/15. Para a blenda colágeno/POEA 50/50, diferentemente dos demais, observa-se que a condutividade é independente da freqüência até um valor crítico de freqüência, a partir do qual passa a ser depende desta. Essa dependência da condutividade com a freqüência é característica da condução por saltos (*hopping*) em sólidos desordenados[113].

Na Figura 5.12, tem-se a componente real da condutividade em função da freqüência, para uma blenda colágeno/POEA 50/50 na forma dopada e desdopada. Observa-se que, para baixas freqüências, a condutividade é praticamente independente da freqüência para a blenda dopada, sugerindo, assim, a superposição de dois modos de condução separados: $\sigma(\omega) = \sigma_{dc} + \sigma_{ac}(\omega)$, onde σ_{dc} é a condutividade em baixa freqüência (10^2 Hz), que está de acordo com a medida da condutividade DC medida pelo método de quatro pontas. Para a blenda desdopada, no intervalo de freqüência em que foi feita a medida, não se observou o patamar σ_{dc}. Verificou-se que a condutividade aumenta linearmente com o aumento da freqüência, sendo que a condutividade para baixa freqüência (10^2Hz) é duas ordens de grandeza menor do que a da blenda dopada.

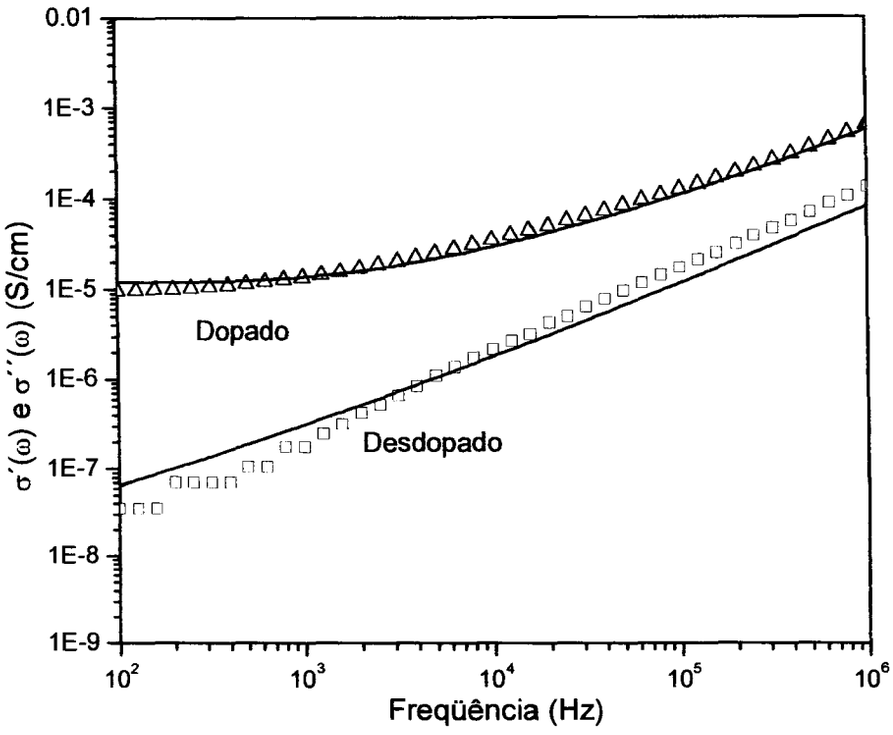
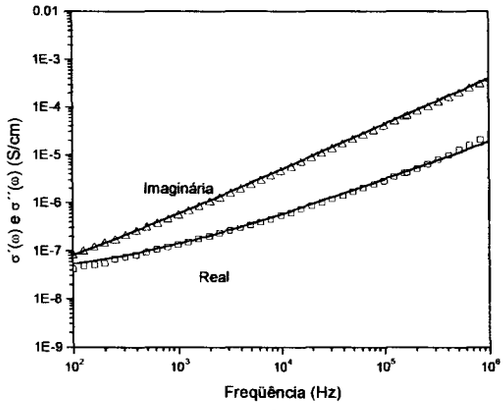
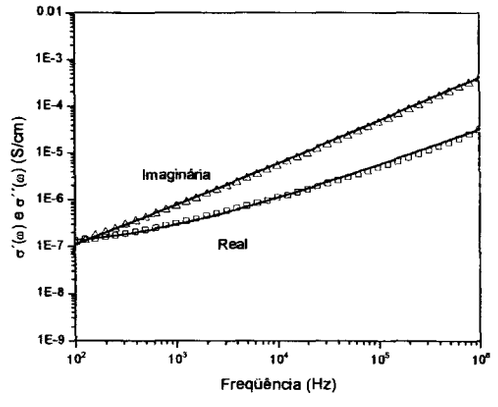


FIGURA 5.12: *Comportamento da componente real (σ') da condutividade elétrica, para a blendas de colágeno e POEA (50/50 m/m) desdopada e dopada, a 25°C. As curvas contínuas representam o ajuste teórico.*

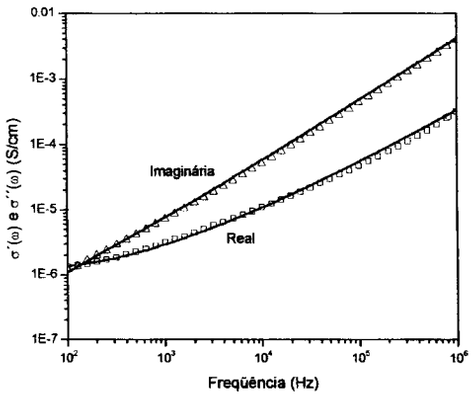
Na Figura 5.13, é mostrado o comportamento das componentes real e imaginária da condutividade, em função da freqüência, bem como os ajustes experimentais obtidos para a blenda com 50% de POEA dopada, na faixa de temperatura de –125 a +125°C.



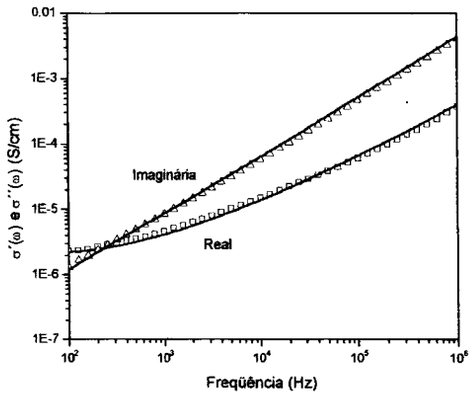
-125°C



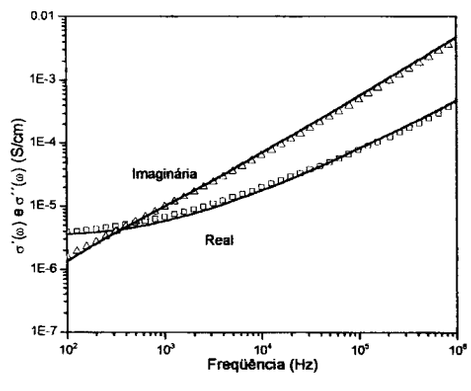
-100°C



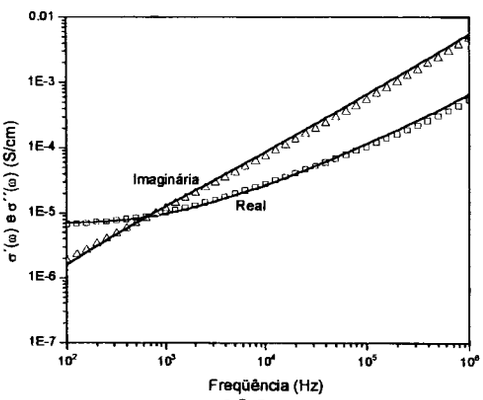
–75°C



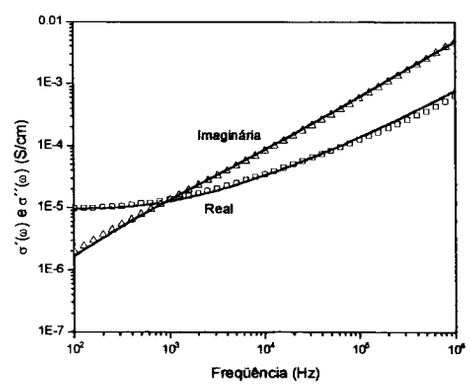
–50°C



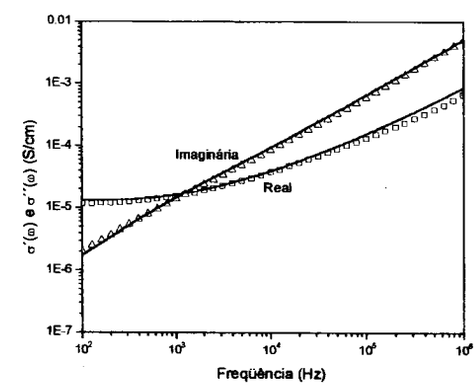
–25°C



0°C



25°C



50°C

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

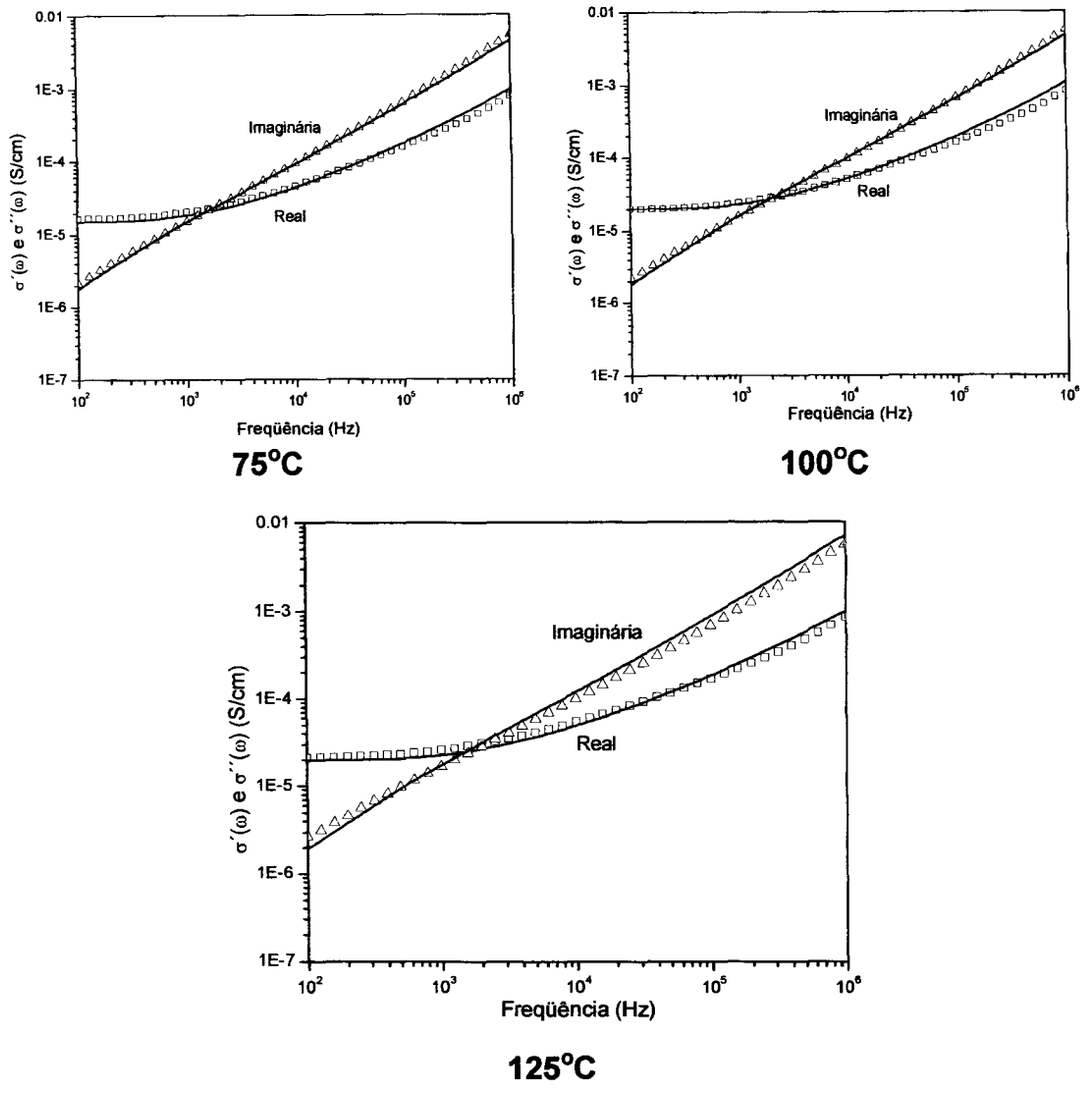


FIGURA 5.13: *Comportamento das componentes real (σ´) e imaginária (σ´´) da condutividade elétrica, para a blenda de colágeno e POEA (50/50 m/m) dopada nas temperaturas de -125°C até 125°C. As curvas contínuas correspondem ao ajuste teórico obtido a partir da expressão 5.1.*

Nos gráficos da Figura 5.13, observou-se que para a temperatura de –125°C e –100°C, a condutividade real aumentou linearmente com a freqüência, não sendo possível observar o valor de ω_c. A partir da temperatura de –75°C, a componente real da condutividade permanece constante em uma faixa de freqüência até atingir um valor crítico, onde essa componente começa a subir suavemente com a freqüência. Esses valores de ω_c foram: 120, 260, 380, 500, 780, 900, 1500, 2000 e 3500 Hz ($\omega=2\pi f$), respectivamente, para as temperaturas de –75, -50, -25, 0, 25, 50, 75, 100 e

125°C. A componente imaginária apresentou comportamento linear, em escala log-log, com a freqüência, para todas as temperaturas analisadas.

A Figura 5.14 mostra o comportamento da condutividade real e o ajuste teórico, para a blenda colágeno/POEA (50/50) dopada, com temperatura variável de –125°C a 125 °C. A condutividade DC aumentou de 4,1 X 10^{-8}, em –125°C, para 2,1 x 10^{-5} para a temperatura de 125°C.

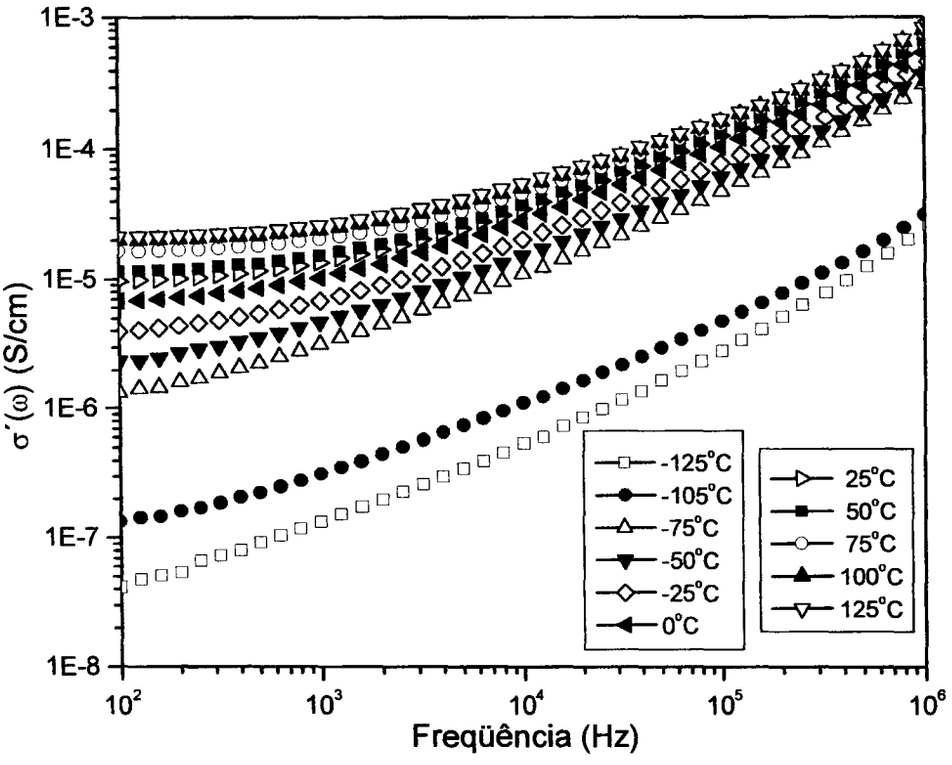


FIGURA 5.14: *Componente real da condutividade complexa de filmes de colágeno/POEA (50/50) dopados, com variação de temperatura de –125°C a +125°C.*

Os resultados de condutividade AC mostraram um comportamento típico de um dielétrico desordenado, e que tende a um comportamento semelhante ao dos materiais condutivos, para temperaturas maiores[110, 112, 114].

O aumento da concentração de POEA dopada na blenda levou a um aumento dos valores das partes real (σ') e imaginária (σ") da condutividade complexa, na faixa de freqüência de 10^2Hz a 10^6 Hz, mesmo para baixas concentrações de polímero condutor. Os resultados para a curva

de σ' mostraram um patamar, que é dependente da temperatura para as blendas analisadas, quando dopadas, e que o valor da condutividade no patamar é o mesmo medido pelo método de duas pontas TSC. A dependência da condutividade com a freqüência obedece à lei $\sigma(\omega) \alpha \omega^s$, onde $0 \leq s \leq 1$, sugerindo que o mecanismo de condução elétrica na blenda seja por salto (*hopping*).

CAPÍTULO VI

Caracterização espectroscópica

6.1 - Estudos da interação de colágeno/POEA por espectroscopia na região do UV-Visível

A caracterização de POEA e suas blendas (em solução e em filmes) por meio de espectroscopia na região de UV-Vis, tem sido amplamente usada, devido às características de interação desses materiais com a radiação eletromagnética nessa região do espectro, resultado de suas propriedades eletrônicas especiais.

Na Figura 6.1 é apresentado o efeito do tempo de mistura para soluções de colágeno e POEA 50/50, com concentração de $3g.L^{-1}$. No instante em que a POEA é adicionada ao colágeno, observa-se um espectro com comprimento de onda (λ) máximo em aproximadamente 778nm, característico do estado dopado do polímero condutor. Após duas horas de mistura dessa solução, esse pico se desloca para comprimentos de ondas menores (753 nm). A partir de 24 horas, esse deslocamento se torna constante em 672 nm, indicando desdopagem da POEA, sem que ocorresse mudança no pH da solução, que sempre se manteve em 3,5. Este processo mostra uma interação entre as duas componentes, ocorrendo uma perda de prótons dopantes pela POEA[114-116]. Outro fator importante observado nestes

espectros é que a banda em 425 nm, associada com a excitação dos elétrons na banda polarônica da POEA dopada (POEA-ES), tende a desaparecer com o aumento do tempo de mistura, desaparecendo quase completamente após 48 horas. Este resultado mostra que o colágeno interage com a POEA, exercendo um poder desdopante na sua cadeia polimérica. Esta interação pode estar relacionada com o fato de não ter sido possível remover a POEA da blenda, conforme mostrado anteriormente no estudo de microscopia.

Os valores de comprimento de onda observados correspondem ao estado de oxidação intermediário esmeraldina e representam as transições características da PANI[2,4]. Na blenda não-dopada, observam-se duas bandas de absorção, sendo a primeira, em torno de 320 nm, atribuída à transição π - π^*, devido aos anéis benzênicos da cadeia polimérica. A segunda banda, em torno de 590 nm, é atribuída à transição do éxciton molecular, que está relacionado com transferência de cargas dos anéis benzenóides para os anéis quinóides. Quando as blendas foram dopadas, observaram-se três bandas de absorção. A primeira, em torno de 340 nm, aparece um pouco deslocada em relação ao polímero não-dopado. A Segunda, em torno de 440 nm, e a terceira, em torno de 800 nm, correspondem à formação de polarons na cadeia polimérica, e estão relacionadas com o processo de dopagem. Porém, com o tempo de mistura, ocorre o deslocamento da banda da POEA próximo a 800 nm, para menores comprimentos de onda, e a banda em 440 nm diminui muito em intensidade, quase desaparecendo para maiores tempos de mistura.

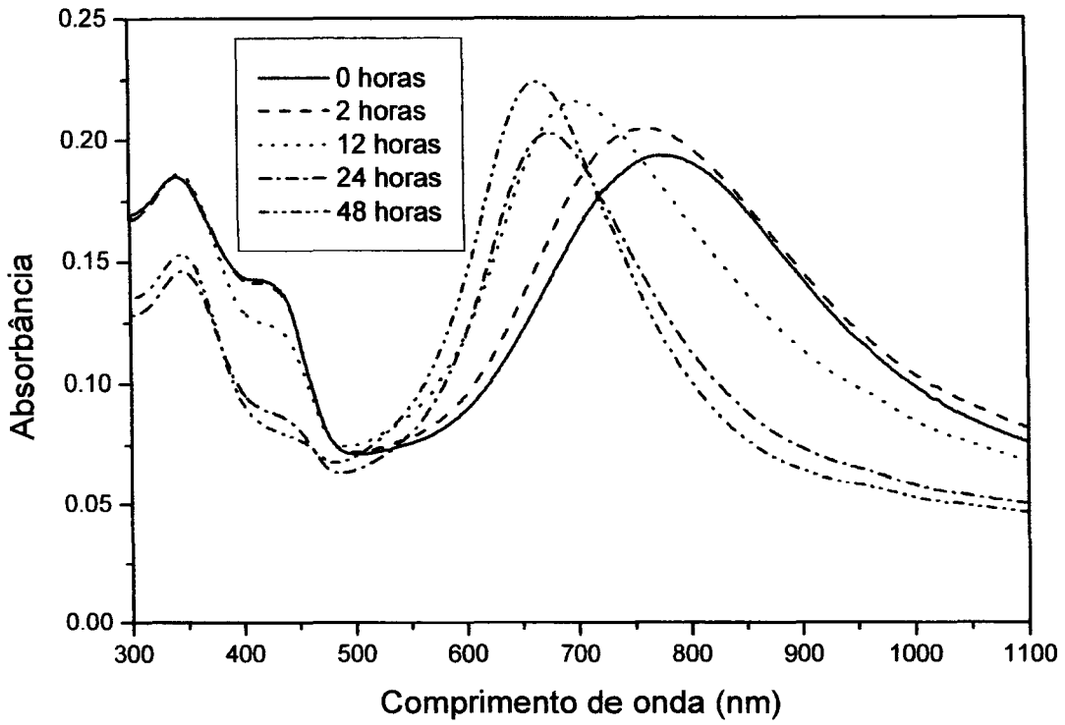


FIGURA 6.1: *Medidas de UV-Vis, para solução de colágeno/POEA 50/50, em função de tempo de mistura.*

Fazendo o gráfico das absorbâncias máximas em função do tempo de tratamento, pode-se ver claramente o efeito da desdopagem da POEA pelo colágeno. Na Figura 6.2, a queda é abrupta para as primeiras horas de mistura, variando de 780 nm para 670 nm e, a partir de então, permanece constante, para tempos superiores a 24 horas. Este resultado indica que ocorre ligação de hidrogênio entre o colágeno e a POEA. Apesar da desdopagem da POEA, o pH da solução não se modificou, evidenciando que o próton foi transferido da POEA para o colágeno.

Os resultados anteriores de mudança de coloração do filme, juntamente com a impossibilidade de solubilizar a POEA, mostram evidências de interação entre as componentes. Os resultados de UV-Vis confirmam estas evidências, mostrando que ocorreu ligação de hidrogênio entre as componentes da blenda e que houve transferência de próton da POEA para o colágeno.

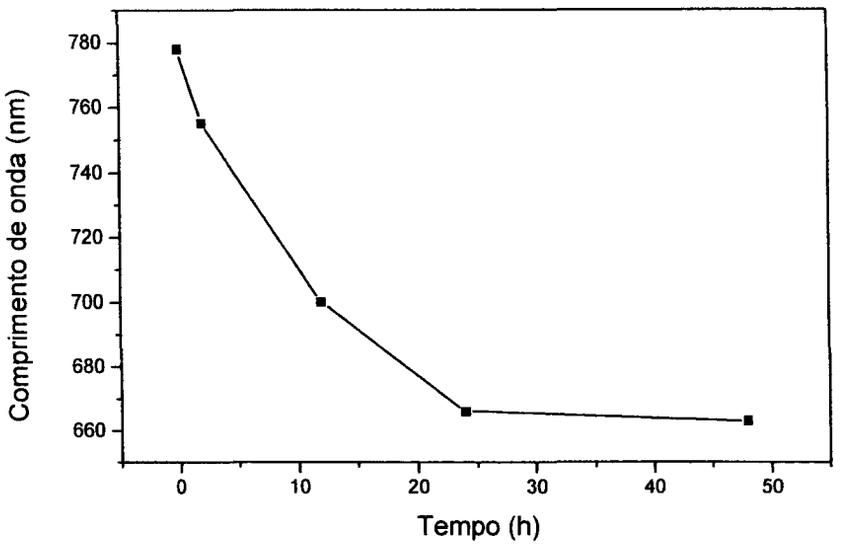


FIGURA 6.2: *Diminuição do comprimento de onda máximo, em função do tempo de mistura das soluções do colágeno/POEA (50/50 m/m).*

Parkhutik e Matveeva[117] estudaram o efeito da dopagem da PANI, em solução de hidroquinona não-substituída (HQ1), tetrafluorhidroquinona (HQ2) e tetrahidroxi-1,4-quinona (HQ3), em função da concentração e do tempo de mistura entre as componentes. Tempos de contato prolongados entre os reagentes, antes da formação dos filmes, beneficiaram a formação de cristais. Os filmes foram produzidos por "casting", sendo que os cristais foram formados em solução de PANI-hidroquinona, durante a evaporação do solvente. O aumento na concentração de hidroquinona resultou em um aumento da banda de absorção em 425 nm. Esta banda está associada com a excitação dos elétrons na banda polarônica da PANI-ES. A presença da banda de absorção em 425 nm, nos espectros com grande concentração de hidroquinona, indica a protonação da cadeia polimérica por um mecanismo de dopagem ácida. Outro fato importante que aconteceu neste estudo foi a diminuição da banda de absorção em 645 nm, como conseqüência da diminuição da quantidade de centros iminas na matriz polimérica. Os espectros de absorção ótica dos filmes esmeraldina base (EB/HQ1, 2, 3) mostraram a presença de interações intermoleculares entre os centros iminas do polímero e o grupo hidroxil das hidroquinonas, causando a conversão de EB em um material ES altamente dopado. O grau de

conversão de EB em ES foi dependente da habilidade da molécula dopante se transformar em íon, que neste caso seguiu a ordem (HQ1 < HQ2 < HQ3).

No presente trabalho, as blendas de colágeno/POEA foram obtidas na forma de filmes por "casting" em diversas concentrações. A maior parte do filme apresentou coloração azulada, enquanto que uma região central teve coloração verde-amarelada. Os espectros de UV-Vis (Figura 6.3) para as blendas, nas duas regiões, mostraram um λ máximo de 655 nm na região azul e 675 nm na região verde-amarelada, para blendas de colágeno/POEA 85/15. A POEA pura utilizada para a preparação das blendas, na forma de filmes, encontra-se dissolvida em solução, na forma dopada (~800 nm), o que seria de se esperar a obtenção de um filme dopado (cor verde característica da POEA neste estado de dopagem). Entretanto, a maior parte do filme se encontra desdopado, mostrando que o colágeno exerce interações que promovem a desdopagem da POEA. Este fato é reforçado pelos estudos feitos para a solução de colágeno e POEA, em que foi observada a desdopagem da POEA pelo colágeno. No filme, o tempo de secagem total está em torno de 24 horas. Esse tempo de secagem coincide com o tempo total de desdopagem observado em solução, justificando a maior parte do filme estar com coloração azul. Outro ponto interessante observado no filme é que a banda polarônica em 425 nm praticamente desapareceu, para a região do filme com coloração azul, indicando a não-existência de grupamentos imina protonados na cadeia polimérica. Para a região verde-amarela do filme, a banda polarônica em 425 nm é bem-definida, assim como foi visto para a solução, indicando a existência de grupamentos imina protonados na cadeia polimérica. Após a desdopagem do filme em NH_4OH, o mesmo se tornou completamente azul (λ = 585 nm), desaparecendo a região amarela. Na Figura 6.3, observa-se que, após o tratamento em NH_4OH, o comprimento de onda diminuiu quando comparado com a região azul antes da desdopagem. Este procedimento também foi observado para o tratamento com HCl, ou seja, o filme apresentou coloração verde em toda sua extensão e o espectro (Figura 6.3)

mostra que o filme se encontra mais dopado do que a região amarela que era observada inicialmente (λ = 720 nm).

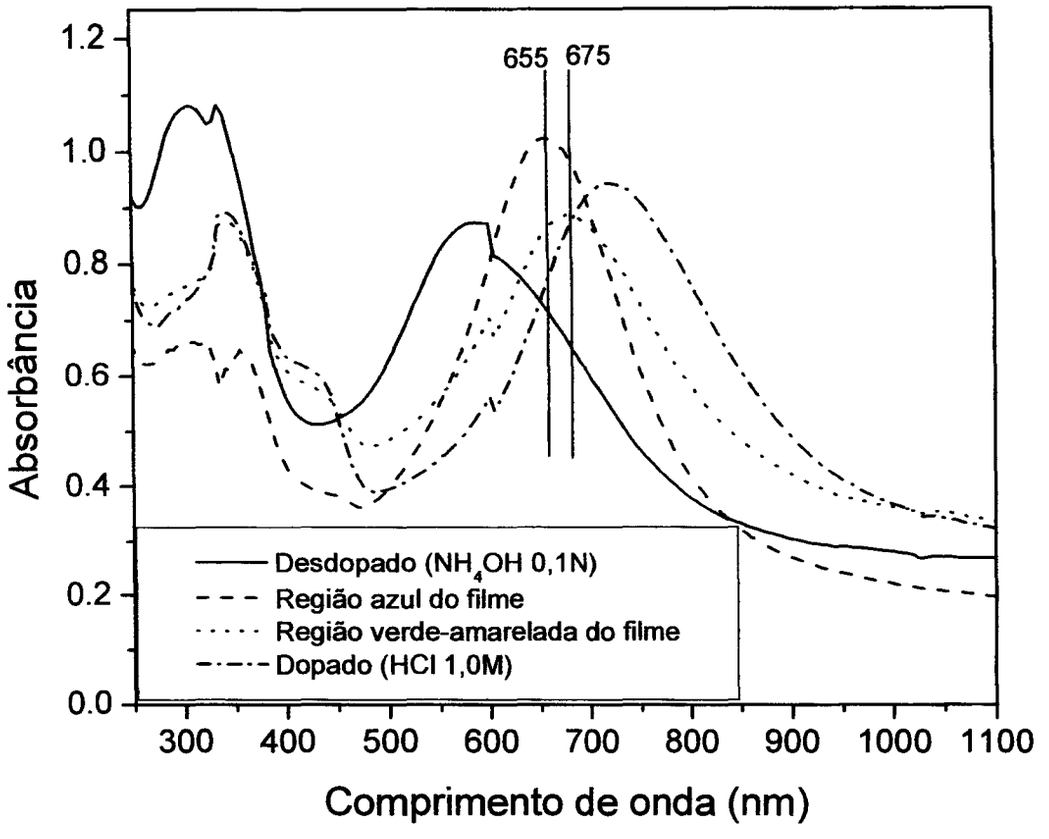


FIGURA 6.3. *Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA (85/15) na região azul, amarela e após a completa dopagem com HCl ou desdopagem com NH_4OH.*

Quando os filmes, após secagem, foram colocados em solução dopante (HCl 1,0 mol.L^{-1}), a variação na cor do filme desapareceu, dando lugar a um filme dopado uniformemente com coloração verde. Após este tratamento, o UV-Vis e a condutividade elétrica permaneceram estáveis, portanto não há mais desdopagem do filme. A Figura 6.4 apresenta os espectros das blendas dopadas, com três bandas de absorção, sendo a primeira em 350 nm e as outras duas em 420 nm e 760 nm. As atribuições destas bandas foram apresentadas anteriormente. Também observou-se que as intensidades das bandas de absorção aumentaram para maiores quantidades de polímeros condutores adicionados.

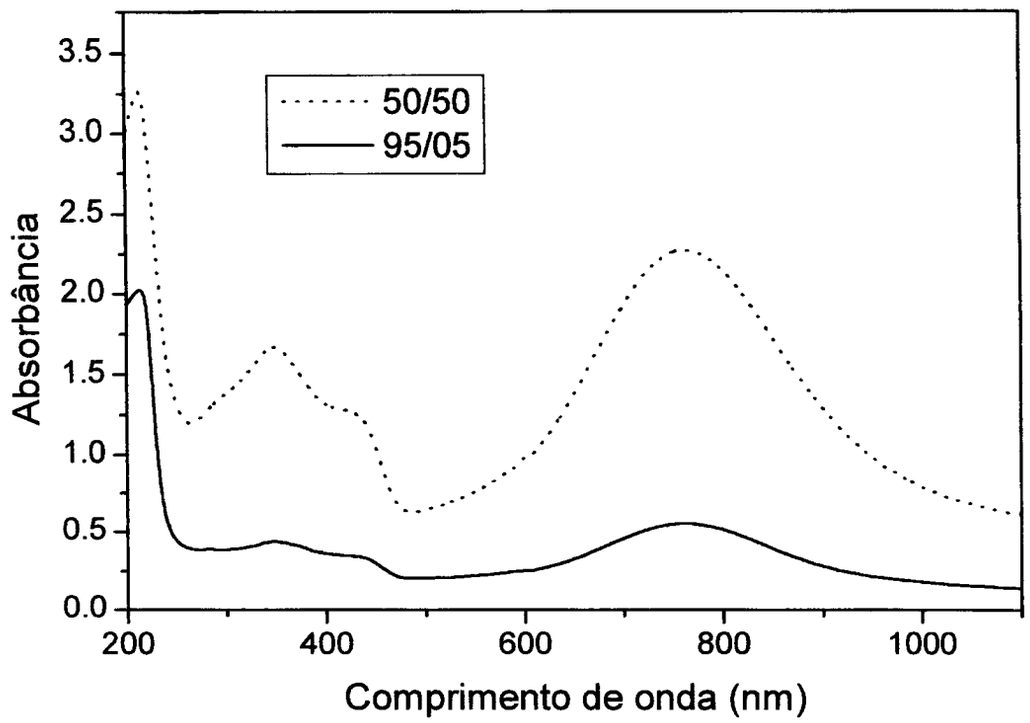


Figura 6.4. *Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA dopadas com HCl 1,0 M por 2 horas.*

Quando os filmes, após secagem, foram colocados em solução desdopante (NH_4OH 0,1 N), a variação na cor do filme desapareceu, dando lugar a um filme desdopado uniformemente com coloração azul. A Figura 6.5 apresenta os espectros das blendas desdopadas, com duas bandas de absorção, sendo a primeira em 350 nm e a outra em 590 nm. As atribuições destas bandas foram apresentadas anteriormente. Também observou-se que as intensidades das bandas de absorção aumentaram para maiores quantidades de polímeros condutores adicionados.

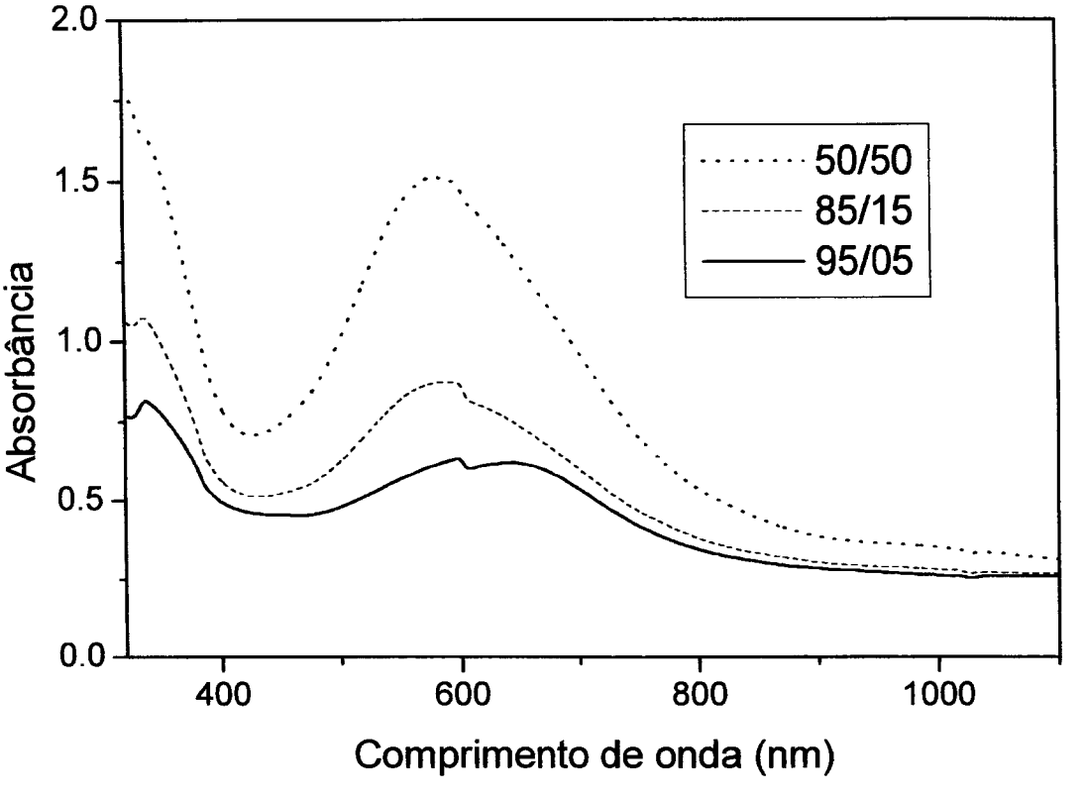


FIGURA 6.5. *Espectro de absorção de UV-Vis de blendas de colágeno/POEA desdopadas com NH_4OH 0,1N por 2 horas.*

6.2 - Avaliação da interação colágeno/POEA por espectroscopia na região do infravermelho

A energia de muitas vibrações moleculares corresponde ao espectro eletromagnético na região do infravermelho (FTIR). Esta região está situada entre o visível e as microondas. Estas vibrações podem ser detectadas e medidas diretamente no espectro de FTIR ou indiretamente, no espectro de espalhamento Raman. Entretanto, o Raman de luz espalhada ocorre nas regiões do visível e do ultravioleta, no espectro eletromagnético. O sistema de detecção no Raman é mais sensível do que aquele na região do FTIR. De todo o espectro de FTIR, a região de 600-1800 cm^{-1} contém muitas bandas, caracterizando-se como a "impressão digital" de uma molécula.

A técnica de FTIR foi utilizada a fim de avaliar as possíveis interações entre o colágeno e a POEA. Na Figura 6.6a é mostrado o espectro de absorbância dos filmes de colágeno, POEA e das blendas de colágeno/POEA. Na Figura 6.6b, expandiu-se a Figura 6.6a para a região de 1800 a 1000 cm^{-1}. O espectro de colágeno puro apresenta três bandas típicas em 1660, 1560 e 1244 cm^{-1}, que correspondem às bandas de amida I, II e III, respectivamente. A banda de amida I está relacionada com o estiramento da carbonila, enquanto que a amida II representa as vibrações no plano da ligação N-H e o estiramento C-N. A banda de amida III corresponde às vibrações no plano, devido ao estiramento C – N, à vibração N – H e à estereoquímica dos anéis pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina[118-120].

As blendas de colágeno/POEA apresentaram espectros de FTIR similares ao espectro de colágeno puro. Entretanto, a presença de POEA é observada nas pequenas modificações no espectro, como em surgimento de duas bandas em 1294 e 1204 cm^{-1}. Estas bandas se encontram na região de absorção da POEA entre 1400 – 1200 e 1275 – 1200 cm^{-1}, o que indica que podem estar ocorrendo interações químicas, do tipo ligação de hidrogênio entre a POEA e o colágeno. Também ocorre um aumento nas bandas de

absorção próximo a 3450 cm^{-1}, característico da superposição das bandas de deformação axial de OH e NH^{3+} [121-124]. As intensidades dessas bandas de absorção aumentaram para maiores quantidades de polímero condutor adicionado na blenda. Outra banda de absorção que aparece com menor intensidade está em 3380 cm^{-1}, que indica uma região de deformação axial N-H[121-124].

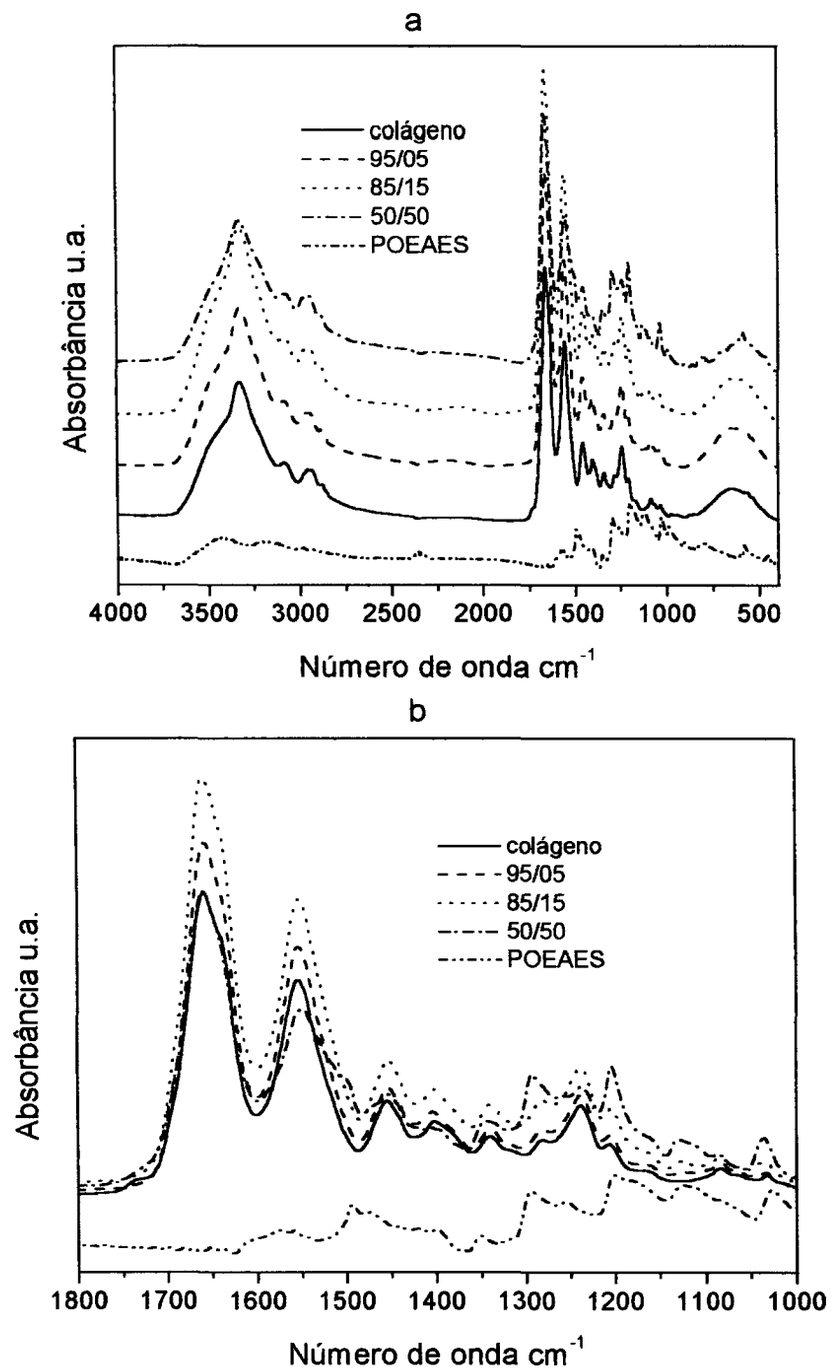


FIGURA 6.6: *Espectros de FTIR de blendas de colágeno/POEA com diferentes conteúdos de POEA, conforme indicado, sendo: a) de 400 a 4000 e b) de 1800 a 1000.*

As bandas com freqüências características para a POEA são apresentadas na Tabela 6.1.

TABELA 6.1: *Freqüências características dos filmes de poli (o-etoxianilina) na região do infravermelho.*

Faixa de freqüência (cm^{-1})	Atribuições
3500 – 3100	N-H associado, região de deformação axial.
3100 – 2800	C – H, deformação axial.
3090 – 3000	Ar – H, deformação axial.
1850 – 1750	Cloreto de ácidos não-conjugados.
1740	C – O, deformação axial.
1600 – 1450	N – H, C = N, região de deformação angular.
1585	N – Q, deformação axial de quinona-nitrogênio.
1495	N – B, deformação axial de benzeno-nitrogênio.
1400 – 1240	C – N, região de deformação axial para aminas aromáticas.
1275 – 1200	C - O – C, região de deformação axial assimétrica.
1020	C – O – C, região de deformação axial simétrica.
1220 – 500	C – H, região de deformação axial simétrica. C – H, região de deformação angular, no plano e fora do plano dessas ligações em anéis aromáticos.

Na Figura 6.7, observa-se que a subtração dos espectros da blenda 50/50 menos a POEA pura forneceu bandas em 1036, 1124, 1202, 1296, 1352, 1428, 1496, 1598 e 1684 cm^{-1}. A intensidade dessas bandas aumentou com a quantidade de polímero condutor adicionado à blenda. Apesar da subtração não confirmar as interações entre as componentes, ela

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

sugeriu evidências dessa interação, principalmente na banda em 1496 cm-^{1}. Uma técnica de detecção mais sensível, o Raman, foi utilizada e confirmou essas evidências, conforme será mostrado no próximo ítem.

A região de maior importância no espectro de absorção é vista entre 1400-1600 cm^{-1}, onde os anéis aromáticos dão sua contribuição no FTIR. Há duas bandas características em 1496 e 1596 cm^{-1}, que representam as vibrações nos anéis aromáticos benzóides e quinóides, respectivamente. O aumento na intensidade da banda em 1496 cm^{-1} indica maior conteúdo de anéis benzóides, caracterizando um material mais desdopado. Este fato está de acordo com o encontrado no UV-Vis, em que se mostrou que o colágeno exerce efeito desdopante sobre a POEA, confirmando a interação por ligação de hidrogênio entre a cadeia polimérica da POEA e o colágeno.

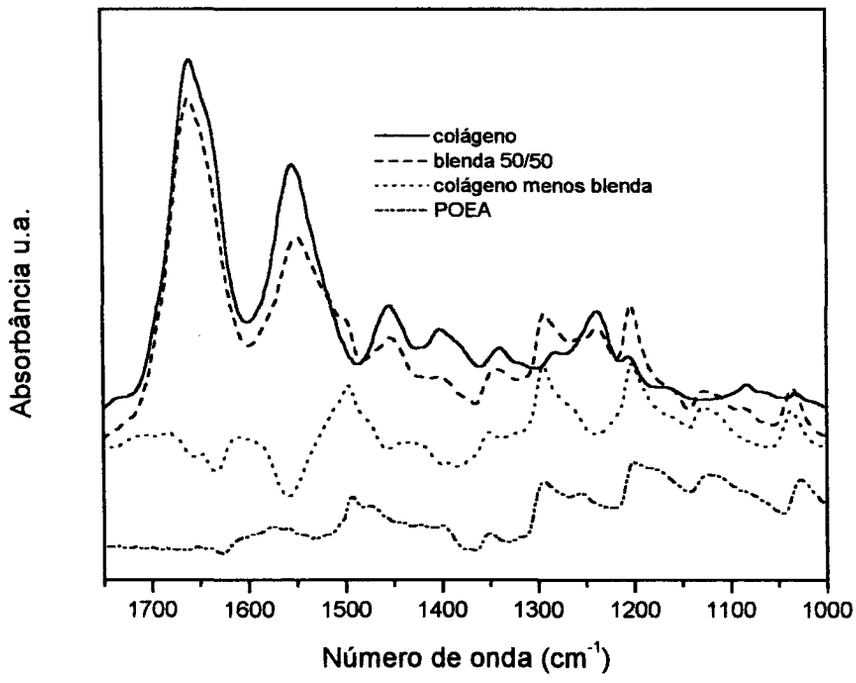


FIGURA 6.7: *Espectros de FTIR de filmes de colágeno, blenda com 50% de POEA e POEA pura.*

A integridade da tripla hélice do colágeno não foi destruída pela adição do polímero condutor. Ela pode ser demonstrada determinando-se a razão entre as absorbâncias das bandas em 1235 cm^{-1} e 1450 cm^{-1}. Essas bandas correspondem às vibrações no plano do tipo amida III, devido ao estiramento C – N, à vibração N – H e à estereoquímica dos anéis

pirrolidínicos de prolina e hidroxiprolina. A integridade da tripla hélice do colágeno fica demonstrada quando a razão entre essas bandas é praticamente igual a 1.0. Quando o colágeno se encontra desnaturado, esses valores são menores e próximos a 0,6. A desnaturação transforma o colágeno em gelatina[121-122].

A Tabela 6.2 mostra que a razão entre as absorbâncias 1235/1450 cm^{-1} é praticamente igual a 1, demonstrando que a formação de blendas de colágeno/POEA não provoca a desestabilização da tripla hélice. Portanto, foi importante ter obtido condições de preparação das blendas com boas propriedades mecânicas e sem que ocorresse a desnaturação do colágeno.

TABELA 6.2: *Razão de absorbância (1235/1450 cm^{-1}) no infravermelho dos filmes de colágeno/POEA.*

Concentração (colágeno/POEA)	Abs1235/Abs1450
100/0	0.97
95/05	0.95
85/15	0.95
50/50	1.09

6.3 - Espectroscopia de Raman

A espectroscopia Raman fornece informações sobre as vibrações moleculares. Na espectroscopia Raman ocorre o espalhamento da luz incidente e a informação é obtida pelas mudanças resultantes na freqüência da luz. Esta é uma técnica analítica que tem sido largamente utilizada para polímeros condutores, sendo que muitos estudos estão na região de ressonância, utilizando luz com freqüência no visível e correspondente às bandas de absorção dos polímeros condutores[125, 126] [Raman ressonante (freqüência de excitação do laser coincide com a absorção do material)].

A espectroscopia Raman ressonante é uma ferramenta eficiente para caracterizar cátions radicais ou dicátions, em polímeros condutores[127]. Informações sobre a quantidade e a natureza dos grupos cromóforos são obtidas variando a energia da radiação incidente, o que produz uma intensificação seletiva nas bandas Raman, dependendo da relação de ressonância da luz de excitação e da absorção do material. O grau de desordem na matriz polimérica também é um fator sensível ao espalhamento Raman.

Neste trabalho, a espectoscopia Raman foi utilizada em filmes de colágeno/POEA em diferentes concentrações, a fim de investigar possíveis interações entre os dois componentes. O espalhamento de luz Raman na região do visível e ultravioleta do espectro eletromagnético é mais sensível do que aquele na região do infravermelho, o que possibilita a observação de interações que não foram possíveis pelo FTIR e vice-versa. O espalhamento Raman e a absorção FTIR são técnicas complementares.

A Figura 6.8 mostra o espectro Raman obtido com Laser de He-Ne em 633 nm, para filmes de blendas de colágeno/POEA com concentração de 95/05, 85/15, e 50/50 dopados com HCl 1molL^{-1}. O espectro Raman, com laser de 633nm, também foi obtido para o colágeno puro e para o pó de POEA dopada com HCl 1 molL^{-1} (Figura 6.9).

Observou-se que o grau de dopagem de POEA por protonação diminuiu com o aumento da concentração de POEA na blenda. Isso é

indicado pela diminuição da intensidade relativa da banda em 1334 cm^{-1} (Tabela 6.3), atribuída ao estiramento do cátion radical C-N^{+}[128-129]. Além disso, o aumento na razão entre a intensidade relativa em 1334 e 1594 cm^{-1} com a porcentagem de colágeno sugere que o mesmo tende a oxidar levemente a POEA, pois as bandas em 1334 e 1594 cm^{-1} indicam a extensão de oxidação e redução de POEA, respectivamente (Tabela 6.3). Também foi observado que a presença de colágeno induziu uma mudança conformacional nas cadeias de POEA, quando a blenda é comparada com o pó de POEA puro. Esta modificação é observada pelo aumento das bandas em 574 cm^{-1} e 1380 cm^{-1}, encontrado nas blendas e pelo surgimento de um ombro em 1640 cm^{-1}, cujas atribuições são dadas na Tabela 6.3[130]. Na Figura 6.9, observa-se a presença de um ombro em 1620cm^{-1} para o pó de POEA. Esta banda não está presente nas blendas colágeno/POEA (Figura 6.8), entretanto, observa-se nas mesmas o surgimento de um ombro em 1640 cm^{-1} e o aumento destes para maiores porcentagens de POEA na blenda.

Segundo Silva et al.[130] e Furukawa[129], a preparação da PANI com m-cresol promove um efeito conhecido como dopagem secundária, que induz mudanças conformacionais na cadeia polimérica e também a transformação de unidades quinóides em unidades semiquinóides. Esses autores reportaram que a dopagem secundária aumenta a intensidade relativa das bandas em 1330 cm^{-1}, 1510 cm^{-1} e 1600 cm^{-1}, atribuídas a estruturas semiquinonas, bem como a diminuição da intensidade relativa das bandas em 1480 cm^{-1} e 1580 cm^{-1}, atribuídas à estrutura quinona[131]. Comportamento similar foi notado quando a PANI foi preparada com m-cresol[131], sendo observado não somente mudanças estruturais e conformacionais, mas também a conversão de estruturas quinóides para semiquinóides.

Também pode-se sugerir a interação entre colágeno-POEA. Ashraf[132] mostrou a influência de diferentes ânions dopantes na conformação da cadeia polimérica. Ele propôs que a interação entre o grupo NH da PANI com o C=O do dopante causa distorção na rede polimérica,

gerando atividade ótica no polímero condutor. No caso da blenda colágeno/POEA, pode ocorrer interação entre o grupo carboxílico da proteína com o NH do polímero condutor, causando mudança de conformação do mesmo.

Cochet[133,134] et al. investigaram a dopagem secundária da PANI exposta ao m-cresol, por meio de Raman. Eles observaram três padrões: a dopagem secundária produz uma banda larga em torno de 1500 cm^{-1}, ocorre um deslocamento na banda em 1584 cm^{-1} para 1592 cm^{-1} e uma diminuição na intensidade relativa da banda em 1620 cm^{-1}. Essa tendência é observada nas blendas colágeno/POEA, sugerindo que o colágeno pode induzir na POEA cadeias com conformação mais estendida, um efeito similar à dopagem secundária.

Também foi visto que a intensidade das bandas em 575 e 1380 cm^{-1} diminui para maiores quantidades de colágeno adicionado. Isso pode ocorrer devido à menor interação entre as cadeias de POEA. O colágeno promove maior separação espacial entre as cadeias, como ocorreu para blendas de PANI-PMMA[135].

O fato mais relevante aqui é que o polímero condutor, isoladamente, não apresenta esse efeito. Isso sugere que o colágeno induz uma orientação preferencial no polímero condutor. A presença de colágeno possibilita um efeito similar à dopagem secundária, estendendo a cadeia da POEA. Essa mudança de conformação deve ser responsável por tornar a POEA oticamente ativa, conforme será mostrado a seguir.

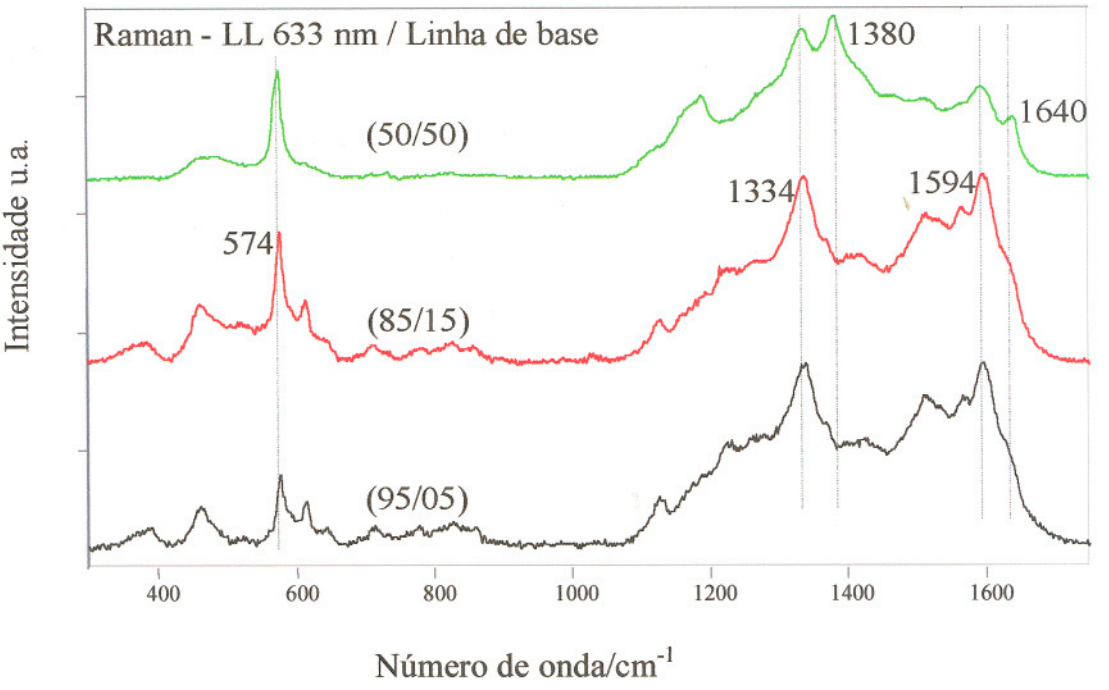


FIGURA 6.8: *Espectroscopia Raman para blendas de colágeno/POEA (95/05, 85/15, 50/50) dopadas.*

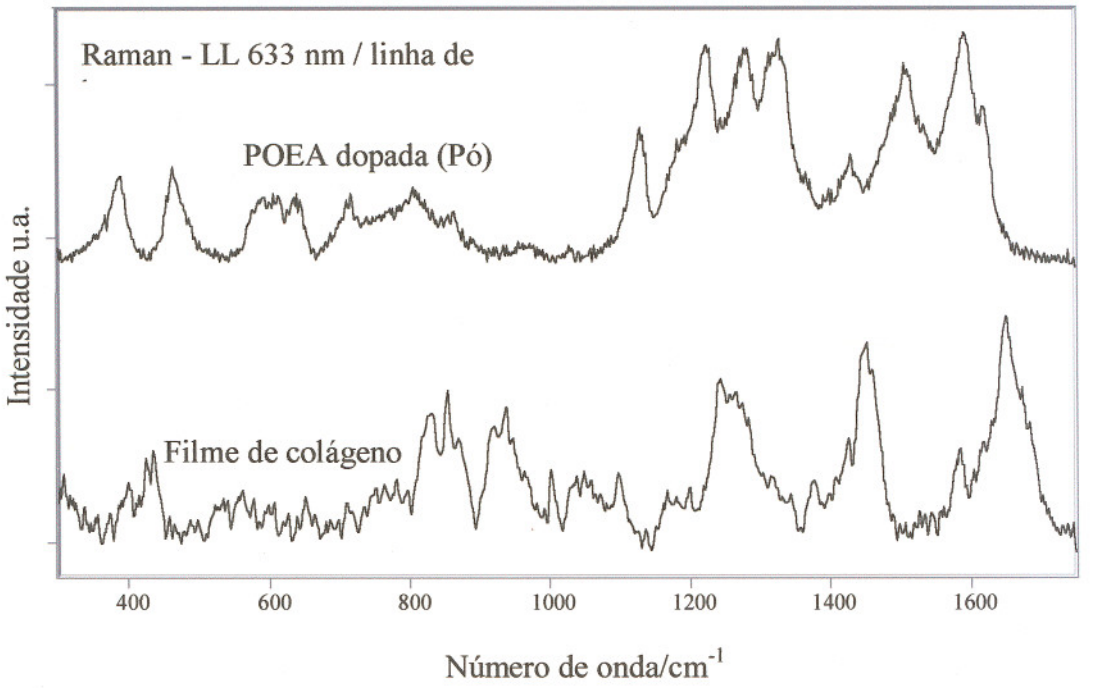


FIGURA 6.9: *Espectroscopia Raman para o pó de POEA dopado e para o filme de colágeno.*

A Tabela 6.3 contém os centros das bandas Raman em cm^{-1}, a largura de banda na metade do máximo de intensidade (*full width at half maximum* (FWHM)) em cm^{-1}, intensidade relativa, calculados usando uma

função mista de Gaussian-Lorentz, além das atribuições das bandas características de POEA.

O FWHM para a banda de absorção em 573 cm^{-1} não mudou para diferentes porcentagens de POEA adicionada no colágeno, indicando que a ordem do meio da POEA é similar ao redor do grupo químico relacionado a essa banda, independente da quantidade de colágeno. Isso mostra que o aumento dessa banda deve estar relacionado a alguma interação química.

TABELA 6.3: *Número de onda, largura de banda na metade do máximo de intensidade (full width at half maximum (FWHM)) e a intensidade relativa usando uma função mista de Gauss-Lorentz dos espectros de Raman, adquiridos usando laser 633nm.*

Poea-Pó	95/05	85/15	50/50	Atribuições
386 (30) 41	379 (46) 10	372 (55) 13		
467 (33) 40	461 (28) 23	462 (35) 27	481 (82) 20	
	577 (13) 40	577 (15) 76	574 (16) 90	Radical benzeno
600 (54) 32				
	611 (46) 19	611 (35) 32	615 (47) 9	Deformação no plano do anel
642 (20) 23				
713 (33) 22	714 (26) 9	712 (28) 10	722 (32)3	
803 (106) 31	832 (73)12	823 (50) 12		C-H fora do plano
1128 (26) 61	1124 (30) 22	1123 (19) 13	1124 (58) 19	
1184 (26) 34	1181 (59) 25		1178 (54) 50	
1223 (36) 96	1223 (30) 23	1235(158)52		C-N estiramento
1277 (41) 80	1263 (88) 47		1292(148)70	
1326 (48) 98	1335 (62) 86	1335 (48) 81	1334 (39) 57	Cation radical ($C-N^+$)
		1370 (10) 8	1380(43)100	Estiramento C-N-C e C=N
1427 (50) 31	1421 (111) 33	1420 (98) 54	1420 (46) 54	
1507 (67) 91	1516 (80) 63	1519 (86) 87	1516 (58) 60	
1594(62)100	1597(75)100	1597(36)100	1594 (47) 72	Estiramento C-C benzenóide
		1632 (39) 57	1639 (28) 46	

A Figura 6.10 mostra o espectro de Raman com laser de 633 nm, para as blendas de colageno/POEA desdopadas com NH_4OH 0,1 N por duas horas. Observa-se que a banda em 1467 cm^{-1} atribuída para estruturas quinóides é dominante, conforme esperado. Entretanto, a banda em 1338 cm^{-1} atribuída para o cátion radical $C-N^+$ ainda está presente, mostrando que o filme não está totalmente desdopado. Três observações

principais podem ser feitas, considerando a concentração de colágeno nos filmes desdopados, confirmando o que foi visto para os filmes dopados: o aumento na intensidade relativa das bandas em 1256 cm^{-1} (atribuída a estruturas semiquinonas) e em 1187 cm^{-1} (relativa a estruturas bezenóides) indicam que maior porcentagem de colágeno pode oxidar e desdopar a POEA[128], respectivamente, enquanto que a diminuição na intensidade relativa da banda em 576 cm^{-1} indica que maior porcentagem de colágeno tende a ser menos eficiente na promoção de interações colágeno/POEA[130].

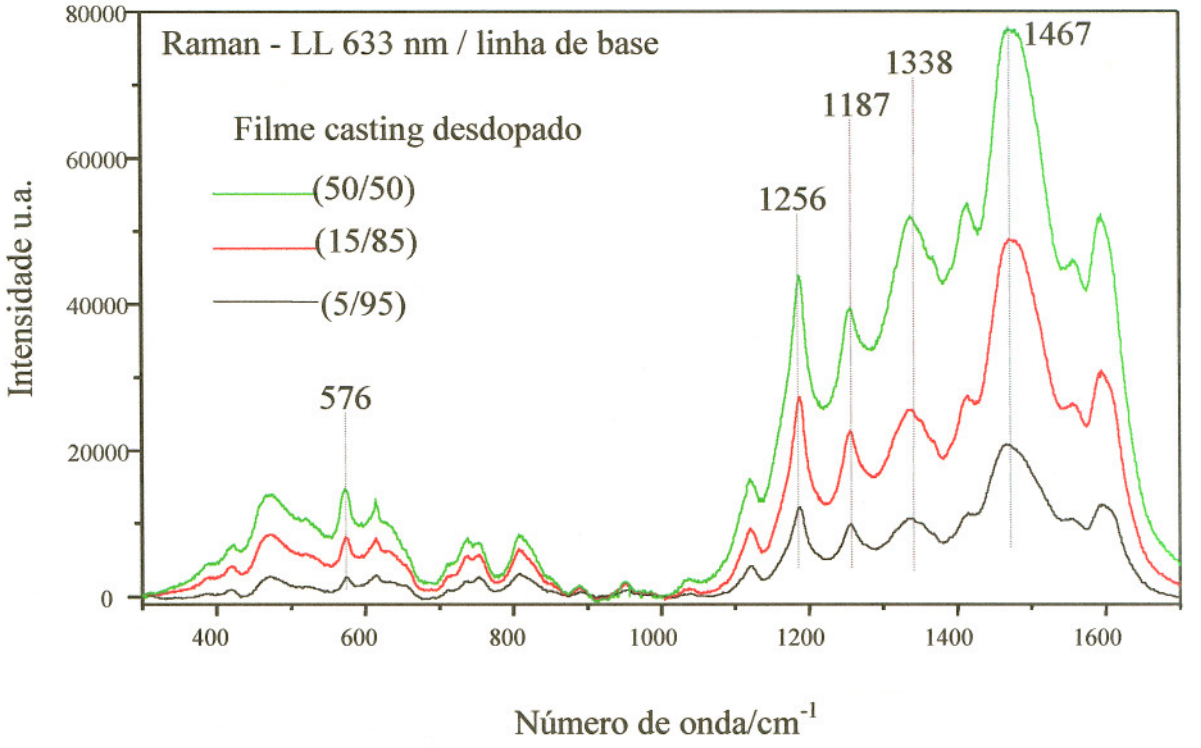


FIGURA 6.10: *Espectroscopia de Raman para as blendas de colágeno/POEA (95/05,85/15, 50/50) desdopadas.*

6.4 – Espectroscopia de dicroísmo circular

A luz circularmente polarizada pode ser decomposta em componentes circularmente polarizadas para a direita e para a esquerda. Um material oticamente ativo mostra birefringência circular, isto é, possui dois índices de refração, um para a luz circularmente polarizada para a direita e outro para a luz circularmente polarizada para a esquerda. Assim, o fenômeno pode ser explicado com base nas diferentes velocidades com que a luz se propaga através do meio.

Na espectroscopia de dicroísmo circular é utilizada luz monocromática circularmente polarizada. Esta luz é composta por um vetor elétrico *E* e um vetor magnético *H*, perpendicular ao vetor *E*. O vetor *E* pode ser considerado como o vetor resultante de dois vetores iguais correspondendo às ondas circularmente polarizadas para a direita E_d e para a esquerda E_e. Em um meio oticamente inativo, os vetores E_d e E_e formam ângulos iguais e o vetor resultante coincide com o raio da luz incidente na amostra, o que caracteriza falta de atividade ótica do material. No meio oticamente ativo "contendo moléculas assimétricas", E_d e E_e têm velocidades de propagação diferentes o que faz com que o vetor resultante do desvio da luz polarizada para a direita e para a esquerda não coincida com a luz incidente. Este vetor soma, então, forma um ângulo α em relação à luz incidente. Quando esses eventos são estudados em um comprimento de onda próximo às bandas de absorção, o ângulo formado pode ser explicado como a diferença entre os desvios da luz circularmente polarizada para a direita e para a esquerda. O ângulo α é proporcional a essa diferença e tanto pode ser positivo quanto negativo[137].

O dicroísmo circular (CD – *Circular Dichroism*) está relacionado com a absorção, e freqüentemente o dicroísmo circular máximo coincide com o máximo de absorção, isto é, as componentes da luz desviada para a direita e para esquerda ocorrem em graus diferentes na região de absorção do cromóforo.

Uma molécula é oticamente ativa se ela interage diferentemente com a luz circularmente polarizada para a direita ou para a esquerda. Na prática, esse fenômeno está relacionado com a transição eletrônica e fornece informações sobre a conformação molecular, podendo estar relacionadas com a estrutura secundária da macromolécula.

Dados da literatura[96,97] mostram que PANI e seus derivados não apresentam atividade ótica, a menos que seja dopada com ácidos funcionalizados e racêmicos. Entretanto, quando blendas de colágeno/POEA foram produzidas e dopadas com HCl, observou-se o surgimento de atividade ótica nas mesmas para diferentes porcentagens dos componentes conforme será demostrado neste item. Isso mostra que, assim como os ácidos funcionalizados, o colágeno induz um arranjo na cadeia polimérica da POEA, tornando a mesma oticamente ativa.

Majidi[96] et al. mostraram que PANI depositada eletroquimicamente com ácidos racêmicos [(+) HSCA e (-) HCSA] apresentaram atividade ótica. Após essas blendas serem desdopadas para base esmeraldina e novamente re-dopadas com HCl, houve retenção da configuração obtida. Essa observação também foi feita por Norris[100] at al., com POMA dopada com (+) HCSA. Após a desdopagem e a redopagem da POMA com reagentes convencionais, as bandas de CD continuaram ativas. Este fato é interessante e mostra que o ácido funcionalizado racêmico induz uma orientação preferencial no polímero condutor e que após essa orientação ter sido formada, ela não é perdida, mesmo com a remoção do dopante.

Havinga[94] et al. atribuíram o surgimento de atividade ótica em PANI após a dopagem com CSA à interação iônica entre o grupo NH^+ e o grupo sulfonado e também à ligação de hidrogênio entre o grupo NH e o grupo cetona do CSA^-. Essas interações poderiam levar a uma organização mais regular da cadeia polimérica, sendo o CSA^- oticamente ativo responsável por induzir orientação específica no polímero condutor, de forma que ele se torne oticamente ativo para a direita ou para esquerda,

dependendo do tipo de ácido utilizado. Esses autores atribuíram a quiralidade ao empacotamento da PANI/CSA^- na forma de hélice.

Ashraf[132] et al. propuseram dois modelos de interação entre o ácido canforsulfônico e a PANI. Em ambos ocorre interação entre os grupos SO_3^- e C=O do ácido com os grupos ^+HN e NH da PANI, respectivamente. Essas interações orientam a PANI na forma de hélice, girando para a direita ou para a esquerda, dependendo do isômero ótico utilizado.

Neste trabalho as blendas de colágeno/POEA foram analisadas em espectro de CD no estado dopado e desdopado. No caso da blenda colágeno/POEA dopada com HCl, o espectro de CD (Figura 6.11) apresenta bandas de CD. Neste, observou-se uma banda em 330 nm, uma banda larga de 390 a 440 nm e outra banda larga em 750 nm. Norris et al. atribuíram as bandas em 335 e 400 nm ao acoplamento éxciton da banda de absorção π-π^* do anel benzênico observado em 335 nm no espectro de UV-Vis, enquanto que a banda de absorção em 435 está associada à absorção do polaron em 430 nm. A banda em 750 nm está relacionada com a formação de polarons na cadeia polimérica e com o processo de dopagem. Não foi possível fazer CD de POEA sem colágeno, pois a mesma, isoladamente não forma filme; entretanto, segundo a literatura, ela não apresenta picos de CD. Como o CD está relacionado com absorção, o colágeno, isoladamente, não apresenta picos de CD nessa região, sendo sua absorção em 270 – 290 nm.

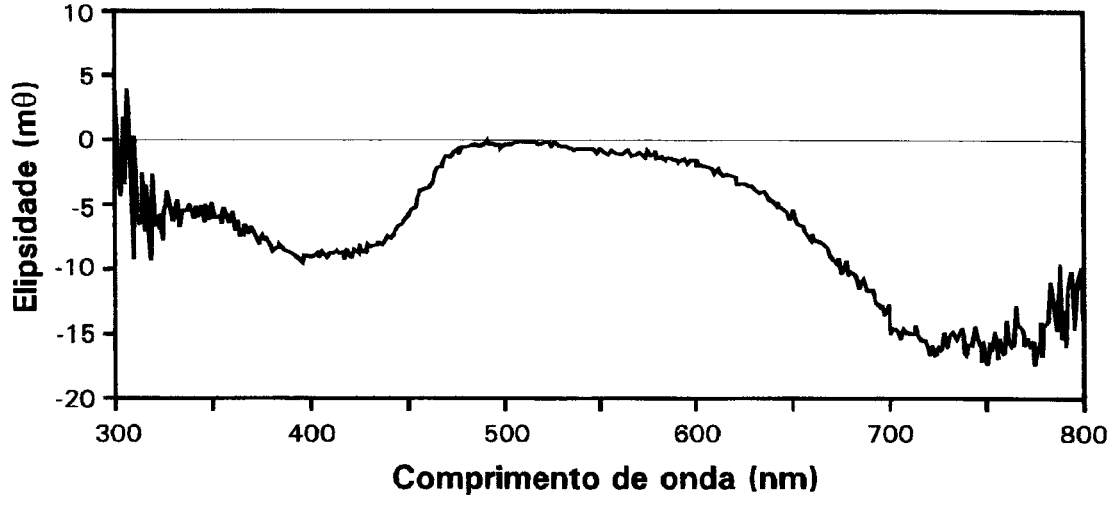


FIGURA 6.11: *Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (95/05) dopado.*

No estado dopado, o aumento da concentração de POEA de 5% (Figura 6.11) para 15% na blenda (Figura 6.12) tornou as bandas de absorção mais intensas, porém foram mantidas a posição e a quantidade das mesmas.

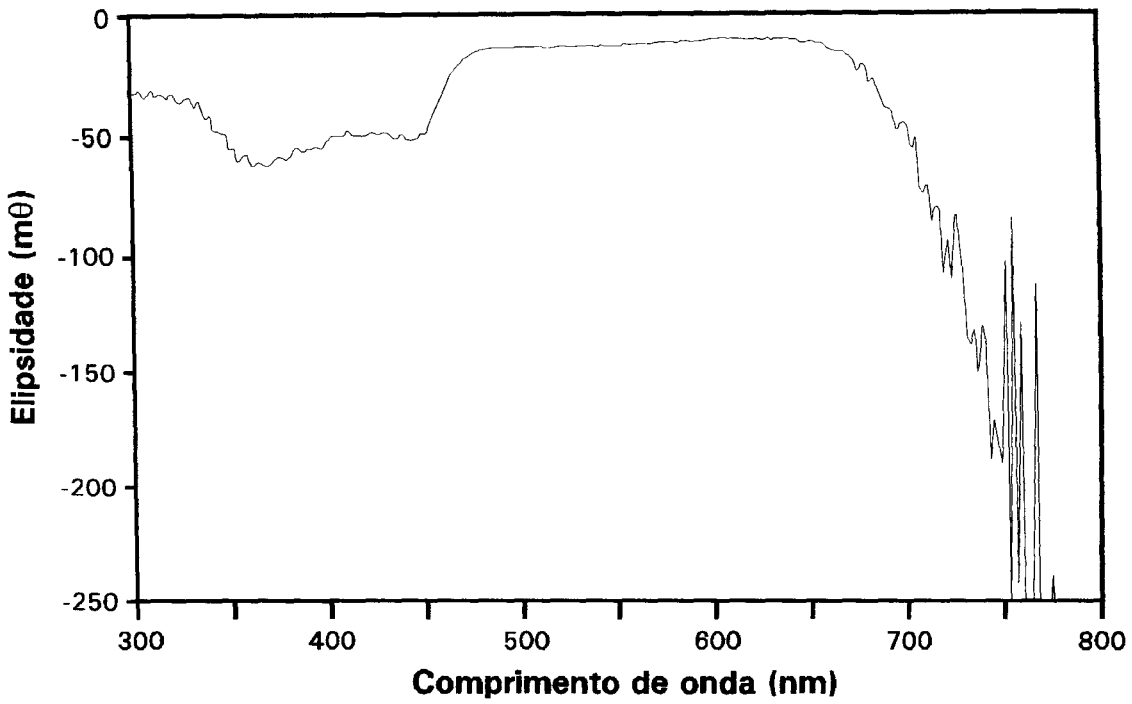


FIGURA 6.12: *Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (85/15) dopada.*

Nos espectros de CD para a blenda colágeno/POEA desdopada (Figura 6.13), aparecem bandas de absorção em 320 nm, 345 nm e uma banda larga de 600 a 700 nm. As bandas de CD em 320 e 345 nm podem estar associadas ao acoplamento éxciton benzenóide π - π^*, relacionado com banda em 330 nm do espectro de UV-Vis. As bandas em 615 e 710 nm são atribuídas à transição do éxciton molecular, que está relacionado com transferência de cargas do anel benzenóide para o anel quinóide e estão associadas à banda de absorção em 640 nm no espectro de UV-Vis.

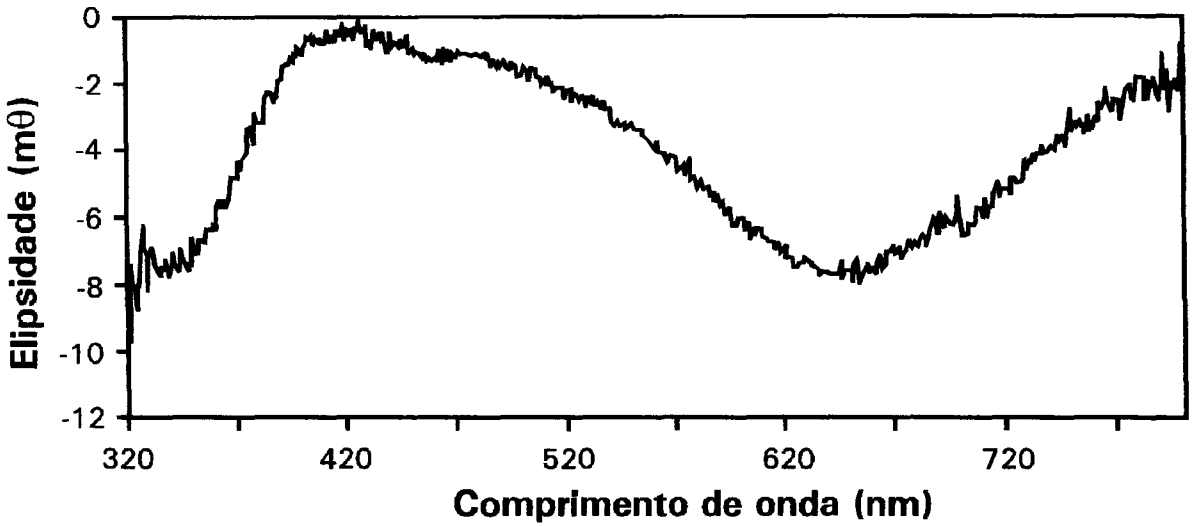


FIGURA 6.13: Espectro de CD para uma blenda de colágeno/POEA (95/05) desdopado.

O espectro de CD da blenda colágeno/POEA (95/05) (Figura 6.14) no estado desdopado apresentou duas bandas muito intensas na região do visível em 320 e em 590 nm. A primeira banda nm é atribuída à transição π - π^* devido aos anéis benzênicos da cadeia polimérica. A segunda banda é atribuída à transição do éxciton molecular, que está relacionado com transferência de cargas do anel benzenóide para o anel quinóide.

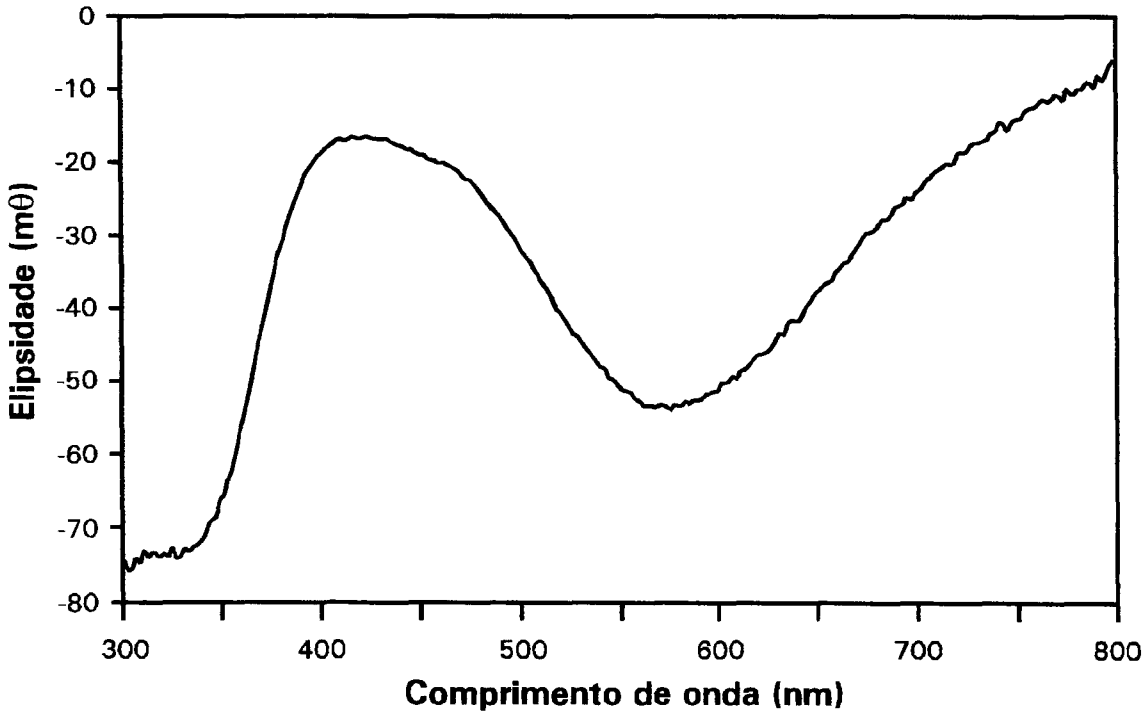


FIGURA 6.14: *Espectro de CD para uma blenda colágeno/POEA (85/15) desdopado.*

Segundo Lacerda[138] et al., o tratamento alcalino do colágeno transforma os grupos asparaginas e glutaminas da proteína em ácido aspártico e glutâmico, gerando cargas negativas na mesma. Essa geração de cargas negativas altera o pI de 6,6 do colágeno nativo para 4,5 para o colágeno, após o tratamento alcalino. Estes grupos negativos no colágeno podem interagir eletrostaticamente com os grupos NH^+ da POEA. Essa interação induz uma conformação mais estendida da cadeia polimérica da POEA, induzindo atividade ótica na mesma, conforme será explicado com mais detalhes no capítulo IX.

CAPÍTULO VII

CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

7.1 - Microbalança de quartzo

A microbalança eletroquímica a cristal de quartzo (MECQ) tem sido uma ferramenta poderosa no estudo de reações eletroquímicas que produzem modificações na interface eletrodo/eletrólito. Ela é importante para o conhecimento dos fluxos de carga e massa através da interface eletrodo/solução que participam de uma reação. A relação entre a natureza físico-química das espécies e o fenômeno eletroquímico em si, ou seja, como estes parâmetros afetam a transferência de carga, é de fundamental importância para se entender os sistemas interfaciais e volumétricos da reação[125, 139].

O princípio de operação da MECQ está relacionado com o efeito piezoelétrico. Este efeito se deve à propriedade que certos materiais apresentam, de gerarem um campo elétrico quando são submetidos a deformações ou pressões externas. Quando a polaridade da perturbação mecânica varia, modifica também a polaridade do campo elétrico gerado. Este fenômeno é chamado efeito piezoelétrico direto e os cristais que exibem este efeito são chamados cristais piezoelétricos. Também é possível aplicar um campo elétrico sobre o material piezoelétrico provocando uma deformação, e essas variações mecânicas no cristal podem seguir as

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

variações de direção da mesma maneira que a perturbação elétrica. Quando a perturbação elétrica tem as características adequadas (amplitude e freqüência), as quais são determinadas pela geometria e propriedades do cristal, este oscilará mecanicamente em um modo ressonante[140]. As freqüências fundamentais mais utilizadas estão entre 5 e 10 MHz porque os cristais têm espessuras razoáveis, que facilitam o manuseio e o arranjo experimental. Como a sensibilidade de detecção depende da freqüência de ressonância, a sensibilidade é maior para freqüências maiores, o compromisso entre a facilidade de manuseio e a sensibilidade indica que, para a maioria dos casos, excelentes resultados são obtidos com cristais cuja freqüência está entre 5 e 10MHz.

O arranjo experimental da MECQ consiste na utilização de uma microbalança a cristal de quartzo (MCQ), com eletrodos metálicos depositados em ambas as faces do disco de cristal. Uma das faces do cristal é colocada em contato com a solução eletrolítica, sendo também o eletrodo de trabalho. Nesse eletrodo, uma reação redox é produzida pela aplicação de um sinal de potencial ou corrente. Neste caso, para induzir a oscilação mecânica, um campo elétrico é aplicado entre os dois depósitos metálicos sobre o cristal. A aplicação de um campo elétrico alternado produz a oscilação no centro do cristal[139].

A relação entre as variações de freqüência de ressonância que correspondem a uma adição ou subtração de massa podem ser descritas utilizando a equação de Sauerbrey[105]:

$$\Delta f = -\left(\frac{2f_0^2}{A\sqrt{\mu_c \rho_c}}\right)\Delta m = -K\Delta M$$

Onde Δf é a variação de freqüência em Hz, A é a área geométrica piezoeletricamente ativa em cm^2, definida pela área dos filmes metálicos depositadas sobre o cristal, μ_c é o módulo de cisalhamento ($2{,}95\ 10^{11}$ g cm^{-1} s^{-2}), ρ_c é a densidade do quartzo (2,65 g cm^{-2}), f_0 é a freqüência fundamental do cristal e Δm é a variação de massa. Para empregar essa equação nas

medidas de variação de massa, deve-se levar em consideração alguns fatores: os filmes devem estar rigidamente ligados ao metal e a variação de freqüência deve ser menor que 2% da freqüência de ressonância. Também deve ser considerado que as variações na viscosidade do filme e do meio, bem como variações na tensão mecânica sobre o cristal, produzem variações na freqüência fundamental. Levando-se em conta todos esses fatores, as variações de freqüências podem ser relacionadas com a variação de massa por meio da equação acima.

Estudos de MECQ em polímeros condutores investigam os processos de transporte de massa com relação à transferência de carga. Esse transporte de massa é originado pela condição necessária de eletroneutralidade no interior do filme polimérico. Essas pesquisas têm como objetivo o entendimento de como se realiza a transferência de massa de íons e solvente através da interface filme/eletrólito, devido ao fato de que o fluxo de espécies através da interface determina a cinética de transferência de carga[141]. A troca de solvente pode estar associada com a camada de solvatação dos íons ou com a diferença de atividade do solvente, dentro e fora do filme[142,143]. Os estudos de MECQ para filmes de polímeros condutores consiste na observação da variação da massa, bem como o processo redox que ocorre no mesmo.

Neste trabalho, estudos de MECQ foram realizados a fim de avaliar os processos redox existentes nas blendas colágeno/POEA, bem como os processos de transferência de massa. A existência de processos redox e a variação de volume dos filmes permitiriam sua aplicação em dispositivos, em que fossem necessárias contrações e expansões do filme a partir de uma corrente elétrica aplicada.

Os resultados de EQMC na Figura 7.1 mostram os perfis da corrente/potencial (j/E) e a variação de massa/potencial (Δm/E) para o eletrodo de POEA em uma solução de HCSA numa faixa de potencial de - 0,1 a 0,6V. A forma do voltamograma mostra um pico de oxidação largo em 0,45V. Neste caso, o pico de corrente anódico pode estar associado com dois passos de oxidação que não são bem-definidos. No processo de

redução, dois picos distintos são mostrados. A carga anódica e catódica total foram muito similares, podendo o processo redox ser considerado pseudo-reversível[144-146].

Analisando o perfil de Δm/E para a POEA, pode-se observar um ganho de massa no processo de oxidação e uma perda de massa no processo de redução. Esses resultados podem ser discutidos em termos da base molar, considerando a quantidade de prótons + água e anion + água. O valor teórico do processo de compensação de carga obtido com a participação somente do CSA- é de 2,40 mg C^{-1}. O valor experimental obtido pela curva de massa foi de 1,68mg C^{-1}. Isso pode ser evidenciado como um fluxo de prótons deixando o filme durante o processo de oxidação. Este resultado está de acordo com dados obtidos na literatura[146] para a PANI.

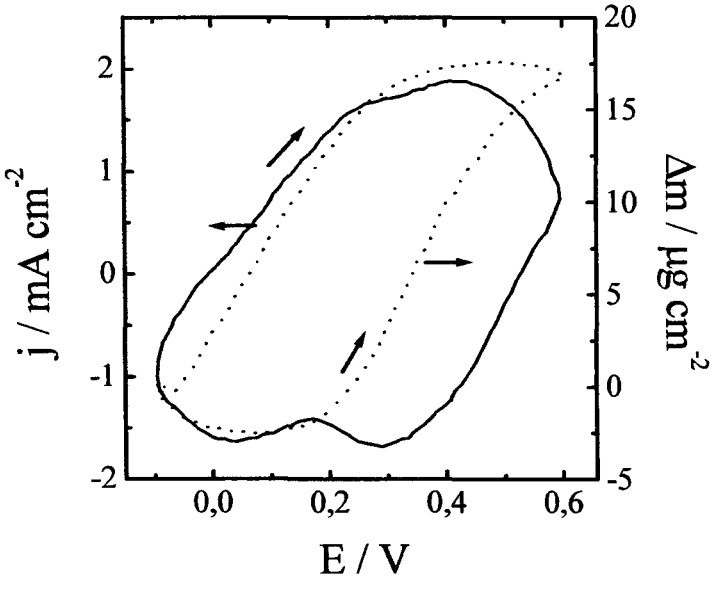


FIGURA 7.1: *Perfil de j/E e Δm/E para um eletrodo modificado de POEA, em solução de HCSA. v = 50 mV/s.*

Os experimentos de EQMC também foram realizados com as blendas contendo 5, 15 e 50% de POEA. Os resultados da blenda com 50% de POEA são mostrados a seguir (Figura 7.2).

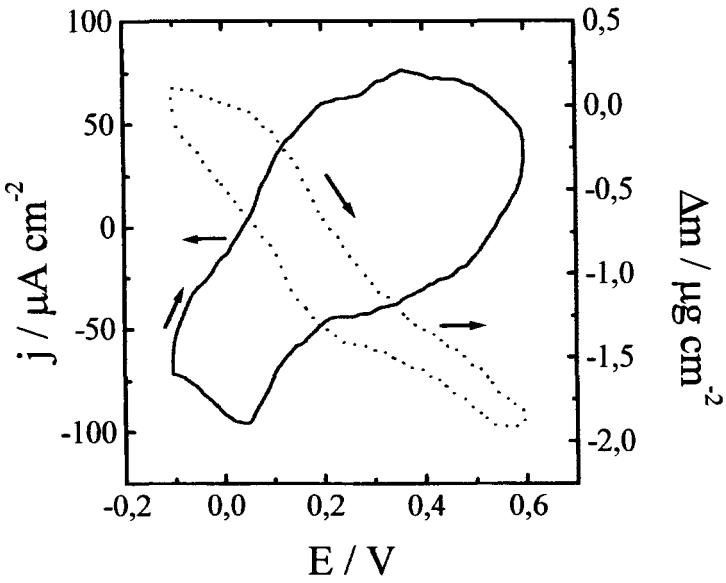


FIGURA 7.2: *Perfil de j/E e Δm/E para a blenda colágeno/POEA (50/50), em eletrodo modificado em solução de HCSA. v = 50 mV/s.*

Os picos de oxidação da blenda ocorrem nos mesmos potenciais que na POEA pura. Entretanto, no processo de redução, o primeiro pico desaparece, produzindo uma histerese entre o processo positivo e o negativo. Isso é uma evidência de uma dificuldade adicional de fluxo iônico dentro da blenda, devido à presença de colágeno. Outro fator importante observado neste estudo foi no perfil de Δm/E, que foi contrário ao observado para a POEA. Aqui é observada uma diminuição da massa durante a oxidação e um ganho de massa durante a redução. O valor experimental de massa para carga, neste caso, foi de –2,56 mg C^{-1}. Esses resultados não podem ser explicados em termos do fluxo iônico que ocorre durante o processo de eletroneutralização, mas pode ser considerado como um processo de embebição do filme, conforme será discutido a seguir. Esse fenômeno pode ser interpretado em termos de uma mudança no pH local dentro do filme. O volume do colágeno muda com a variação do pH, sendo que em baixos pHs ele aumenta de volume por meio de embebição da fibra de colágeno, e em pH próximo à neutralidade ele diminui de volume devido à perda de solvente. Os resultados de Δm/E para as blendas podem ser explicados pela dependência do grau de hidratação do colágeno com o pH. Durante a oxidação, o solvente foi eliminado do filme. Isso pode estar associado a um aumento no pH do colágeno, consequentemente diminuindo

a massa do filme. Durante a redução, o pH no colágeno diminui, induzindo a entrada de solvente no filme, aumentando o seu volume e sua massa, devido à embebição que o mesmo sofreu.

Estudos de EQMC também foram realizados com blendas de PVDF/POEA (Figura 7.3). Assim como no estudo da POEA pura e da blenda colágeno/POEA, o perfil de corrente/potencial (j/E) apresentou um pico de oxidação largo em 0,45V. Este pico pode estar associado a dois passos de oxidação, que não são bem-definidos. No processo de redução são mostrados dois picos distintos, sendo um em 0,25 e outro em 0,5, similar àqueles encontrados para a POEA pura.

O perfil de Δm/E para a blenda PVDF/POEA se comporta de maneira similar à POEA pura. Observa-se um ganho de massa no processo de oxidação e perda de massa no processo de redução. Nestas blendas, o comportamento de variação de massa foi similar ao da POEA pura, indicando que o efeito observado na blenda com colágeno se deve à presença de colágeno e não ao fato de ser uma blenda.

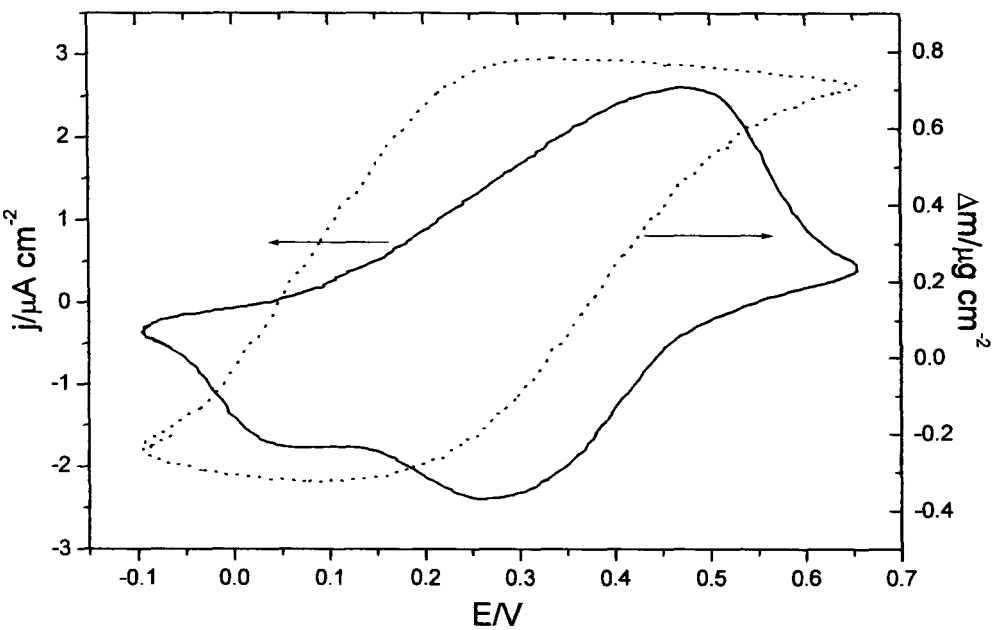


FIGURA 7.3: *Perfil de j/E e Δm/E para a blenda PVDF/POEA (50/50), em eletrodo modificado em solução de HCl. v = 50 mV/s.*

CAPÍTULO VIII

8 - ESTABILIDADE TÉRMICA

O comportamento térmico das blendas foi investigado por meio de análise termogravimétrica (TGA) e Calorimetria exploratória diferencial (DSC). Observa-se, na Figura 8.1, que a adição de pequenas quantidades de POEA causa pouca alteração no comportamento de perda de massa, em função da temperatura, em relação ao colágeno puro. Até a temperatura de 300°C, observa-se alguma melhora na blenda, que apresenta menor perda de massa.

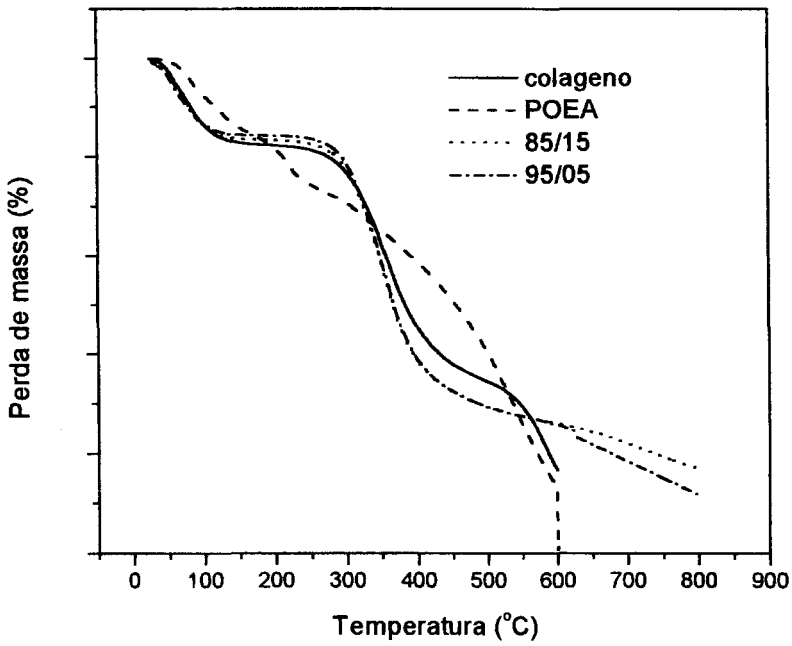


***FIGURA 8.1**: Perda de massa, em função da temperatura, para o colágeno, a POEA e blendas de colágeno/POEA, em diferentes concentrações.*

Os resultados de DSC mostraram um pico endotérmico em 85°C, para o colágeno puro, associado à perda de águas estruturais ligadas ao colágeno. Para as blendas de colágeno/POEA, os valores desse pico são próximos a 85°C, porém não se observou um comportamento padrão com a variação de POEA na blenda. Também foi observado um pico de transição na temperatura de 40°C. Segundo a literatura, esse pico está relacionado com a desnaturação do colágeno[147]. Entretanto, esse pico é praticamente inexistente para as blendas. Aparentemente, a POEA torna a blenda mais estável termicamente.

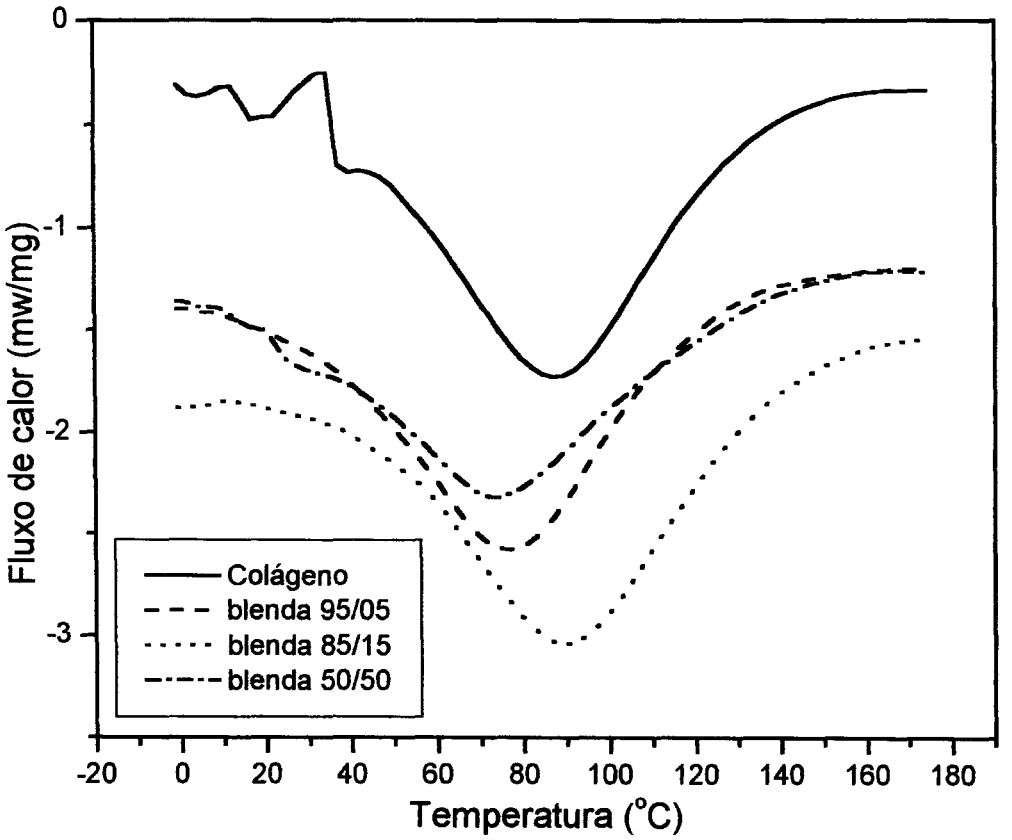
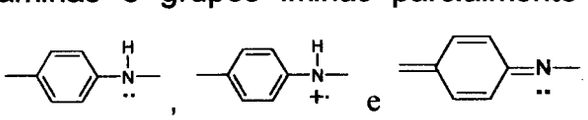


FIGURA 8.2: *Termogramas de DSC de filmes das blendas de colágeno/POEA, em função da concentração de POEA.*

CAPÍTULO IX

10 - PROPOSTA DE INTERAÇÃO COLÁGENO/POEA

O colágeno é uma proteína fibrosa que apresenta uma estrutura atípica, pois todo terceiro aminoácido da cadeia é uma glicina, e ele apresenta ainda um tripleto na forma Gly – X – Y, sendo Gly (glicina), e as posições X e Y são freqüentemente ocupadas por prolina e hidroxiprolina, respectivamente. A molécula de colágeno é formada por três hélices entrelaçadas, sendo que o colágeno do tipo I, é formado por duas hélices α I com 1056 aminoácidos cada, e uma hélice α II com 1038 aminoácidos[148,149].

A seguir, é apresentada uma proposta de interação entre o colágeno e a POEA, baseada nos resultados experimentais que foram encontrados neste trabalho, e também com os dados da literatura. No pH 3,5, os grupos ácidos da cadeia lateral do colágeno (ácidos aspárticos e glutâmicos) se encontram em equilíbrio entre as formas COOH e $COO^- + H^+$. A POEA, no pH 3,5, encontra-se parcialmente dopada, apresentando grupos aminas e grupos iminas parcialmente protonados (presença de grupos ). Isso permite a interação entre os componentes da blenda por meio de interação eletrostática (NH^+ da POEA e COO^- do colágeno) ou por meio de ligações de hidrogênio entre N da POEA e COOH do colágeno, conforme mostra a Figura 9.1.

Uma tripla hélice de colágeno apresenta 3150 aminoácidos, com comprimento total de 280 nm. Deste total, têm-se 49 grupos asparagina, 78 grupos glutamina, 95 grupos ácido aspártico e 154 grupos ácido glutâmico. O tratamento alcalino feito no colágeno transforma os aminoácidos básicos, asparaginas e glutamínas em aminoácidos ácidos (ácido aspártico e ácido glutâmico)[138]. Após o tratamento, o colágeno terá 376 aminoácidos com grupos ácidos distribuídos em toda a tripla hélice. Isso equivale a dizer que há um grupo COOH ou COO^- a cada 8 aminoácidos ou a cada 2,4 nm, visto que o tamanho de um aminoácido é de 0,28nm.

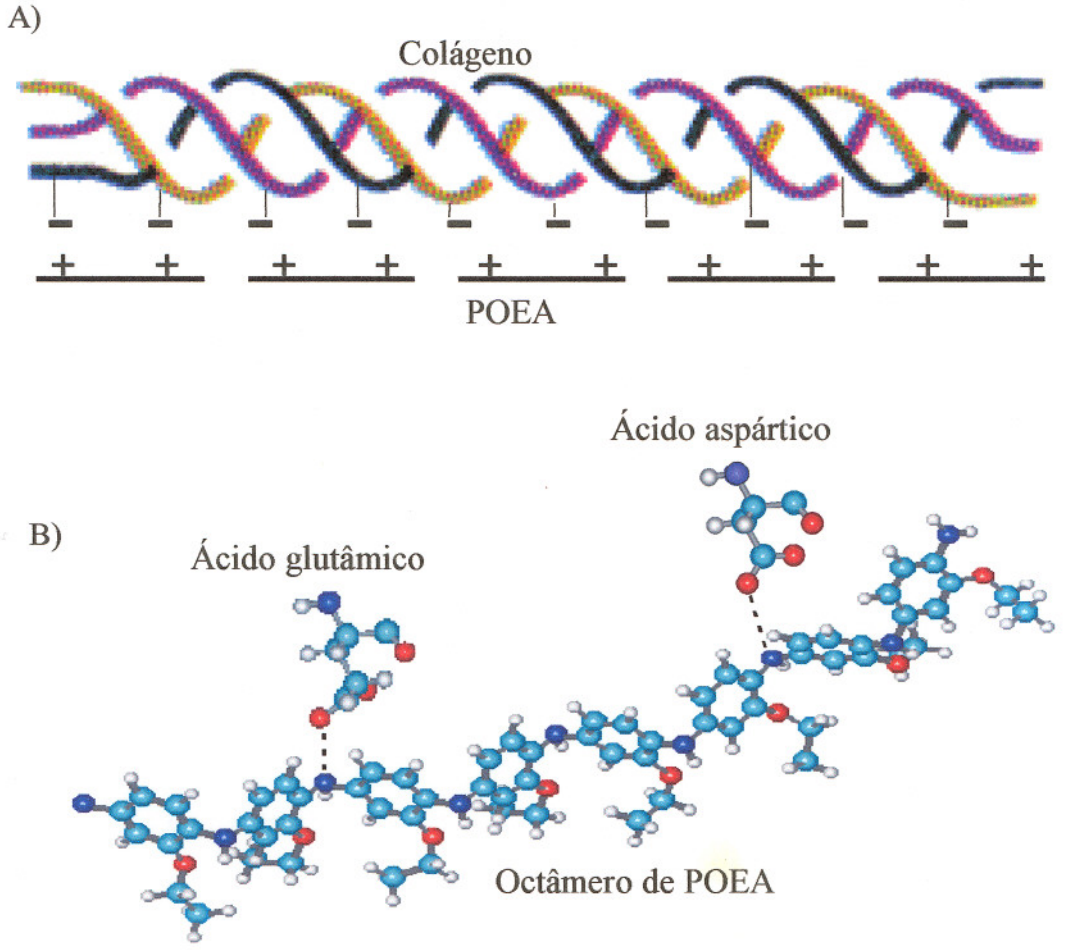
A massa molecular da POEA é 18000 g/mol (determinado com padrão de poliestireno)[3]. O peso molecular de um monômero de OEA (orto etoxi anilina) é 142 g/mol. Pode-se deduzir que um mol do polímero apresenta 126 unidades repetitivas, com comprimento total da molécula de aproximadamente 63 nm, supondo uma cadeia polimérica linear e completamente estendida. A distância entre os nitrogênios (cátions radicais) é de aproximadamente 1 nm.

Pelos valores mostrados acima, pode-se supor que uma molécula de colágeno (comprimento de 280 nm) pode interagir com cinco moléculas de POEA (63 nm) (Figura 9.1A). Na molécula de POEA, os nitrogênios cátions radicais estão intercalados entre nitrogênios aminas. A distância entre dois nitrogênios cátions radicais é de cerca de 1nm. A distância entre os grupos COO^- no colágeno é de 2,4 nm. Com isso acredita-se que deve haver cerca de dois grupos COO^- no colágeno, que poderão interagir com o primeiro e o terceiro nitrogênio cátion radical de cada unidade tetramérica da POEA (Figura 9.1 B). O mecanismo de interação por ligação eletrostática entre o ânion da cadeia lateral de um ácido aspártico e o cátion radical, bem como as interações por ponte de hidrogênio entre cadeia lateral protonada de um ácido aspártico e o nitrogênio imina da POEA, é esquematizado na Figura 9.1C.

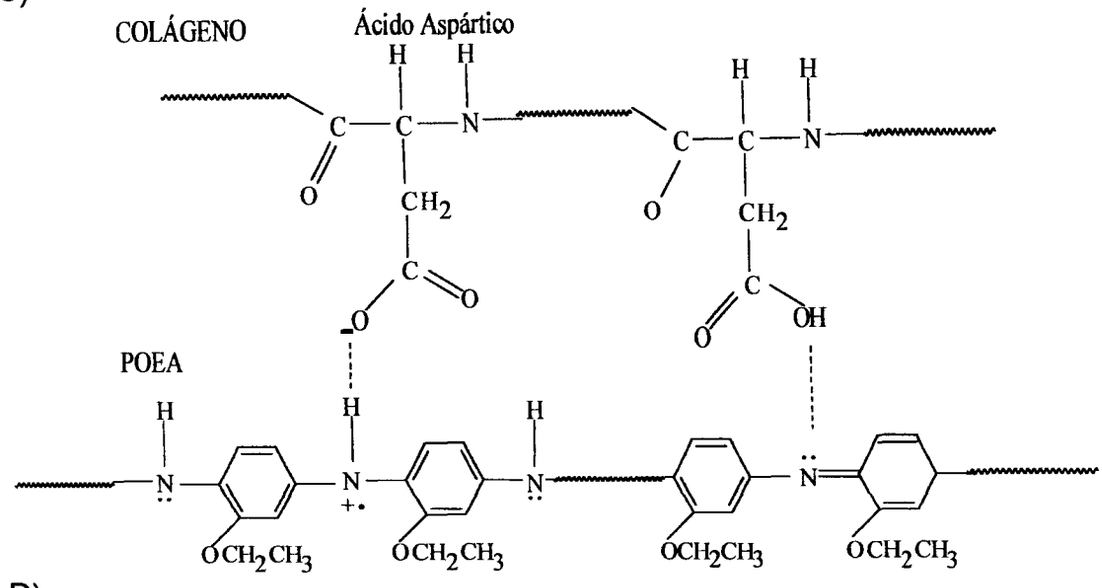
O modelo de interação foi proposto com base nos resultados experimentais encontrados neste trabalho e na literatura. Entre os principais resultados experimentais que corroboram esta proposta de interação,

pode-se citar: i) o colágeno desdopa a POEA; ii) não foi possível remover a POEA da blenda, mesmo utilizando solvente apropriado; iii) o colágeno induz atividade ótica na POEA; iv) observação de interações específicas entre os dois componentes, por meio de espectroscopia de Raman. Os resultados de Raman e de CD mostraram que o colágeno induz uma organização preferencial na POEA.

Em pH 7,0 (Figura 9.1.D), os grupos laterais do colágeno se encontram ionizados (COO^-). A POEA também se encontra desprotonada, apresentando somente nitrogênio imina. Nesta condição, não ocorrem ligações de hidrogênio entre os componentes da blenda, devido à inexistência de cátions radicais na POEA para interagir com os ânions do colágeno. Também os grupos laterais do colágeno estão ionizados e não interagem por meio de ligações de hidrogênio com os nitrogênios imina da POEA. Isso evidencia porquê não foi possível obter blendas homogêneas de colágeno/POEA em pH acima de 4.



C)



D)

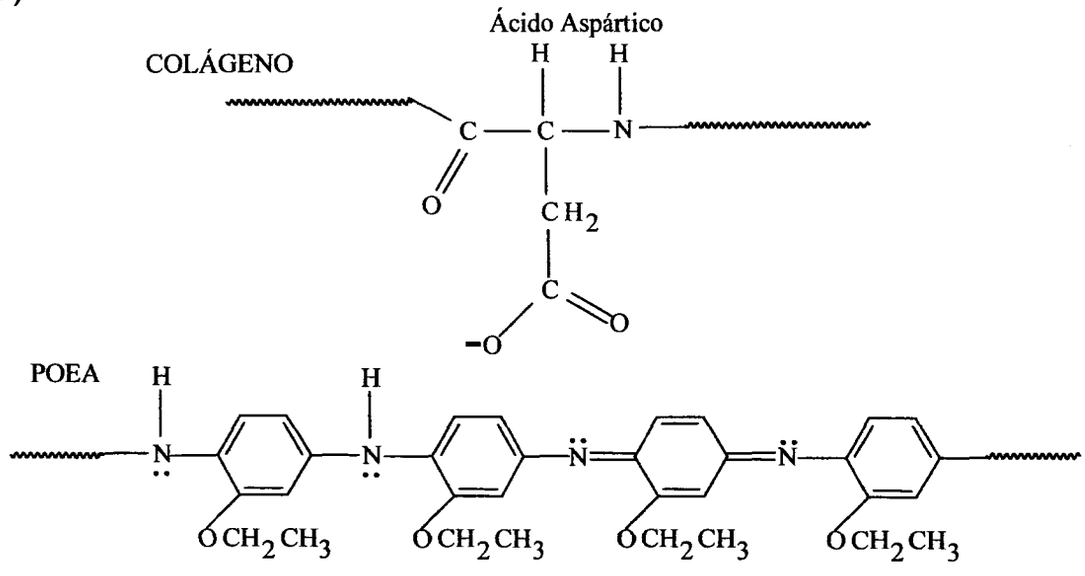


FIGURA 9.1: *Proposta de interação entre colágeno e POEA: A) proporção entre as dimensões da molécula de colágeno carregada negativamente e a cadeia polimérica de POEA carregada positivamente (pH = 3,5); B) distribuição espacial de um octâmero de POEA, com dois nitrogênios cátions radicais interagindo aminoácidos (aspártico e glutâmico) no modelo pau e bola (cada bola representa um átomo, sendo: branca – hidrogênio; azul – nitrogênio; vermelha – oxigênio; verde – carbono) (pH = 3,5); C) mecanismo de interação do tipo ligação de hidrogênio entre a cadeia lateral de um aminoácido (ácido aspártico) do colágeno com o grupo cátion radical da POEA (pH = 3,5) e D) proposta de não-interação entre o colágeno e a POEA para pH = 7,0.*

Os resultados encontrados neste trabalho são corroborados pela literatura. Ashraf[132], utilizando PANI desdopada, mostrou que foi possível dopá-la quando usaram derivados do ácido CSA. Além da dopagem, esses ácidos funcionalizados induziram atividade ótica no polímero condutor. Os autores atribuíram este efeito às ligações de hidrogênio que ocorrem entre o grupo C=O dos ácidos com o grupo NH da PANI. Essa interação torna a cadeia do polímero condutor mais estendida e organizada na forma de hélice para a direita ou para a esquerda, conforme o dopante utilizado. Também foram reportadas interações eletrostáticas entre o grupo SO^{3-} do CSA com o cátion radical (NH^{+}.) da PANI. Quando foi utilizado o ácido amino sulfônico (substituição do grupo C=O por C-NH_2), os autores reportaram que não foi possível dopar a PANI. Este fato foi atribuído à formação de um íon bipolar com um grupo SO_3^- e um grupo NH_3^+ no ácido. Isso implica que a dopagem e a atividade ótica ocorrem devido à formação de ligações entre os grupos NH^+ do polímero condutor com o grupo ácido do dopante. Este fato confirma o fato que o colágeno induziu atividade ótica na POEA devido à interação entre os grupos COO^- da proteína com os grupos NH^+ do polímero condutor.

CAPÍTULO X

10 - CONCLUSÕES

Blendas poliméricas de colágeno e poli (o-etoxianilina) foram obtidas por "casting" na forma de filmes flexíveis e auto-sustentáveis. As condições de preparação das blendas foram investigadas, sendo o pH de 3,5 ideal para a obtenção destas blendas. Neste pH os grupos COO^- e COOH do colágeno interagem com os grupos $-NH^+$- e N imina da POEA, respectivamente. Em pHs superiores não ocorre interação entre os dois componentes da blenda, pois apenas estão presentes os grupos COO^- do colágeno e N imina da POEA se encontra desdopada, tornando-se menos solúvel, o que também promove a formação de agregados na blenda. No pH 3,5, o colágeno se encontra completamente solúvel e também exerce efeito desdopante sobre a POEA. Os filmes puderam ser completamente desdopados ou dopados com a utilização de dopante ou meio básico apropriado. Os filmes desdopados apresentaram superfície globlular, sendo que a quantidade de glóblulos aumenta para maior quantidade de polímero condutor. Após a dopagem, aparecem glóbulos menores na superfície do filme. Esses glóbulos estão relacionados com a entrada do contra-íon, que causa distorção da matriz polimérica. Estes novos glóbulos são de tamanho constante, independente da concentração de POEA na blenda.

A condutividade elétrica dos filmes aumentou com maiores concentrações de POEA, atingindo condutividade da ordem de $3,9 \times 10^{-5}$ S/cm, determinado pelo método de quatro pontas. A condutividade segue o modelo Random Free Energy Barrier (RFEB), sendo caracterizada por um mecanismo de condução por saltos. A condutividade apresentada por essas blendas está na faixa dos semicondutores, sendo maior que os valores da literatura obtidos para blendas de colágeno e polipirrol.

Mesmo com o uso de solvente apropriado, não foi possível extrair a POEA da blenda, o que indica a existência de algum tipo de interação química entre os dois componentes da blenda. Essa interação foi confirmada por meio das seguintes observações: i) O colágeno desdopou a POEA, tanto no filme quanto em solução; ii) Houve o surgimento de bandas de absorção em 1294 e 1204 nm no FT-IR, quando POEA foi adicionada ao colágeno. Neste experimento, também se observou que a adição de POEA não causou destruição da tripla hélice de colágeno, visto que a razão entre as bandas de 1235/1450 foi mantida em torno de 1.

Foi observado atividade ótica na blenda dopada e desdopada, mesmo sem a utilização de dopantes racêmicos. Isso é um forte indicativo de que o colágeno interage com POEA, causando mudança conformacional na mesma. Essa mudança conformacional também foi observada pela modificação no espectro de Raman.

A blenda colágeno/POEA apresentou resposta eletroquímica, com picos de oxidação e redução típicos da POEA. A variação de massa nas mesmas foi oposta ao que ocorre com a POEA pura. Na POEA pura, observou-se um ganho de massa, quando na oxidação, e perda de massa na redução. Para a blenda colágeno/POEA, ocorre perda de massa quando se oxida a blenda e ganho de massa sobre redução. Esse efeito não foi observado em blendas de PVDF/POEA.

Como conclusão final deste trabalho, pode-se afirmar que as blendas de colágeno/POEA apresentam propriedades semicondutoras, com a condutividade aumentada para maiores concentrações de POEA na

blenda. O mecanismo de condução previsto é o de saltos, sendo os ajustes coincidentes com o modelo de RFEB. Os filmes obtidos foram auto-sustentáveis, com boas propriedades mecânicas. O colágeno induziu atividade ótica na POEA. Por meio de Raman, foram observadas interações específicas entre os componentes. Esse é um novo material que apresenta propriedades únicas.

CAPÍTULO XI

11 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 – CHIANG, C. K.; FINCHER, C.R.; PARK, Y. W.; HEEGER, J. A.; SHIRAKAWA, H.; LOUIS, E. J.; GRAU, S. C.; MACDIARMID, A. G.; Electrical conductivity in doped polyacetylene.; **Phys. Rev. Lett.**, 39, 1098 – 1101, 1977.

2 – MATTOSO, L. H. C.; Síntese, caracterização e processamento de polianilina e seus derivados.; Tese – Ciências e Engenharia de Materiais., Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1993.

3 – MATTOSO, L. H. C.; Polianilinas: síntese, estrutura e propriedades.; **Química Nova**, 19, 388 – 399, 1996.

4 – MATTOSO, L. H. C.; MANOHAR, S. K.; MACDIARMID, A. G.; EPSTEIN, A. J.; Studies on the chemical synthesis and on the characteristics of polyaniline derivatives.; **Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry**, 33, 1227 – 1234, 1995.

5 - LETHEBY, H.; On the production of a blue substance by the electrolysis of sulfate of aniline.; **J. Am. Chem. Soc.**, 15, 161, 1862.

6 - GREEN, A. G.; WOODHEAD, A. D.; Aniline black na allied compounds.; Part I.; **J. Chem. Soc. (trans.)**, 97, 2388-2403, 1910.

7 - GREEN, A. G.; WOODHEAD, A. D.; Aniline-black allied compounds. Part II.; **J. Chem. Soc.**, 101, 1117-1123, 1912.

SERVIÇO DE BIBLIOTECA E INFORMAÇÃO
IQSC/USP

8 – OKABAYASHI, K.; GOTO, F.; ABE, K.; YOSHIDA, T.; Electrochemical studies of polyaniline and its application.; **Synthetic Metals**, 18, 365 – 370, 1987.

9 – MACDIARMID, A . G.; EPSTEIN, A . J.; The polyanilines: a novel class of conducting polymers. In: Conducting polymers, emerging technologies, 27, N. J., Technical insights Inc., 1989.

10 – GENIES, E. M.; LAPKOWSKI, M.; Electrochemical in situ EPR evidence of two polaron-bipolaron states in polyaniline.; **J. Electroanal. Chem.**, 236, 199 – 208, 1987.

11 – MACDIARMID, A. G.; CHIANG, J. C.; RICHTER, A. F.; EPSTEIN, A. J.; Polyaniline: A new concept in conducting polymers.; **Synthetic Metals**, 18, 285 – 290, 1987.

12 – MONKMAM, A. P.; BLOOR, D.; STEVENS, G. C.; STEVENS, J. C. H.; WILSON, P.; Electronic structure and charge transport mechanism in polyaniline.; **Synthetic Metals**, 29, 277 - 284, 1989.

13 – KENWRIGHT, A. M.; FEAST, J.; ADAMS, P.; MILTON, A. J.; MONKMAN, A. P.; SAY, B. J.; Solution state NMR studies of polyaniline structure.; **Synthetic Metals**, 55 - 57, 666 - 671, 1993.

14 – MACDIARMID, A. G.; CHIANG, J. C.; RITCHER, A. F.; SOMASIRI, N. L. D.; Polyaniline: synthesis and characterization of the emeraldine oxidation state by elemental analysis.; **Conducting Polymers**, 105 - 120, 1987.

15 – HUANG, W. S.; HUMPHEREY, B. D.; MACDIARMIND, A. G.; Polyaniline, a novel conducting polymer.; **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, 1, 2385 - 2400, 1986.

16 – WNEKK, G. E.; A proposal for the mechanism of conduction in polyaniline.; **Synthetic Metals**, 15, 213 - 218, 1986.

17 – LIU, W.; ANAGNOSTOPOULOS, A.; BRUNO, F. F.; SENECAL, K.; KUMAR, J.; TRIPATHY, S.; SAMUELSON, L.; Biologically derived water soluble conducting polyaniline.; **Synthetic Metals**, 101, 738 - 741, 1999.

18 - BORNSTEIN, P.; TRAUB, W.; The proteins.; **Academic Press**, Neurath., v.4, cap. 4, 411 - 512, 1974.

19 - RAMACHANDRAN, G. N.; Treatise on collagen.; V. 1, London, **Academic Press**, 337 – 353, 1967.

20 - HUFANAGEL, C. A.; HARVEY, W. P.; The surgical correction of aortic insufficiency.; Bull. Georgetown U. Med. Cent., 6, 60 - 65 1953.

21 - SMITH, J. W.; Molecular patterns in native collagen.; **Nature**., 219, 157, 1968.

22 – VEIS, A.; Collagen fibrilogenisis.; **Connective Tissue Research**, 10, 11 - 17, 1982.

23 – NIMNI, M. E.; HARKNESS, R. D.; Molecular structure and functions of collagen In: NIMNI, M. E.; ed. Collagen; Boca Raton, **CRC Press**, 1988.

24 – VIIDIK, A.; VUUST, J.; Biology of collagen.; London, **Academic Press**, 1980.

25- NEMETHY, G.; Orientation of amino acid side chains: intraprotein and solvente interactions.; **Methods Enzimol**., 127, 183, 1986.

26 - BAKER, E. N.; HUBBARD, R. E.; Hidrogen bonding in globular protein.; **Prog. Biophys. Mol. Biol**., 44, 97, 1984.

27 - STRYER, L.; Biochemistry.; New York, W. H. Freeman, 1988.

28 - CREIGHTON, T. E.; Protein structure: Practical approach.; Oxford, IRL Press, Oxford Univesity Press, 1990.

29 - KATO, T., US 4.420339, Dec. 13, 1993.

30 - GOISSIS, G.; E MORIWAKI, C. M. E. Y.; Processo de solubilização de tecido conjuntivo na presença de dimetilsulfóxido e concentração salina variável.; BR9000972, 1990.

31 - MORIWAKI, C. M. E. Y.; Efeito do dimetilsulfóxido sobre a embebição e solubilização da serosa bovina. São Carlos, 1990. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Física e Química de São Carlos: Universidade de São Paulo.

32 – MALMONGE, L. F.; MATTOSO, L. H. C.; Efeito das condições de preparação na condutividade elétrica de blendas de poli(fluoreto de vinilideno) e poli(o-metoxianilina).; **Polímeros: ciência e tecnologia**, 72 - 78, jul/set, 1998.

33 – ROCHA, I. S.; MATTOSO, L. H. C.; MALMONGE, L. F.; GREGÓRIO, Jr, R.; Effect of low contents of a polyaniline derivative on the crystallization and electrical properties of blends with PVDF.; **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, 37, 1219 – 1224, 1999.

34 – MATTOSO, L. H. C.; MALMONGE, L. F.; Morphology variation as a function of composition for blends of PVDF and a polyaniline derivative.; **Polymer**, 40, 513 – 518, 1999.

35 – MATTOSO, L. H. C.; MALMONGE, L. F.; MANTOVANI, G. L.; MACDIARMID, A. G.; Blends of polyaniline and derivatives with conventional polymers.; **Current Trends In Polymer Science**, 3, 99 – 115, 1998.

36 – HERRMANN, P. S. P.; SILVA, M. A. P.; BERNARDES FILHO, R.; JOB, A. E.; COLNAGO, L. A.; FROMMER, J. E.; MATTOSO, L. H. C.; Microscopia de varredura por força: uma ferramenta poderosa no estudo de polímeros.; **Polímeros: Ciência e Tecnologia** – out/dez. 51 – 61, 1997.

37 – SARTI, B.; SCANDOLA, M.; Viscoelastic and thermal properties of collagen/poly(vinyl alcohol) blends.; **Biomaterials**, 16, 785 – 792, 1995.

37 - BARBANI, N.; CASCONE, M. G.; GIUSTI, P.; LAZZERI, G.; POLACCO, G.; PIZZIRANI, G.; Bioartificial materials based on collagen: 1. collagen cross-linking with gaseous glutaraldehyde.; **Journal of Biomaterials Science Polymer**, 7, 461 – 469, 1995.

38 – BARBANI, N.; CASCONE, M. G.; GIUSTI, P.; LAZZERI, G.; POLACCO, G.; PIZZIRANI, G.; Bioartificial materials based on collagen: 2. Mixtures of soluble collagen and poly (vinylalcohol) cross-linked with gaseous glutaraldehyde.; **Journal of Biomaterials Science Polymer**, 7, 471 – 484, 1995.

39 – CASCONE, M. G.; GIUSTI, P.; LAZZERI, L.; POLLICINO, A.; RECCA, A.; Surface characterization of collagen-based bioartificial polymeric materials.; **Journal of Biomaterials Science Polymer,** 7, 917 – 924, 1995.

40 – DUPONT-GILLAIN, C. C.; NYSTEN, B.; ROUXHET, P. G.; Collagen adsorption on poly(methyl metacrylate): net-like structure formation upon drying.; **Polymer International**, 48, 271 – 276, 1999.

41 – DOILLON, C. J.; COTE, M-F.; PIETRUCHA, K.; LAROCHE, G.; GAUDREAULT, R. C.; Porosity and biological properties of polyethylene glycol-conjugaded collagen materials.; **J. Biomater. Sci. Polymer**, 6, 715 – 728, 1994.

42 – HENRIQUEZ, M.; LISSI, E.; ABUIN, E.; CIFERRI, A.; Assembly of amphiphilic compounds and rigid polymers. 1. Interaction of sodium dodecyl sulfate with collagen.; **Macromolecules**, 27, 6834 - 6840, 1994.

43 – SHENOY, V.; ROSENBLATT, J.; Diffusion of macromolecules in collagen and hyaluronic acid, rigid-road-flexible polymer, composite matrices.; **Macromolecules**, 28, 8751 - 8758, 1995.

44 – CASCONE, M. G.; SIM, B.; DOWNES, S.; Blends of synthetic and natural polymers as drug delivery systems for growth hormone.; **Biomaterials**, 16, 569 - 574, 1995.

45 – CASCONE, M. G.; LAZZERI, L.; BARBANI, N.; POLACCO, G.; POLLICINO, A.; GIUSTI,P.; Dehydro-thermally cross-linlked collagen-poly (vinyl alcohol) blends: mechanical, biological and surface properties.; **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 7, 297 - 300, 1996.

46 – WATANABE, K.; NAKAGAWA, J.; EBIHARA, T.; OKAMOTO, Y.; Structural effects of cross-linking reagents on triple-helix reformation of intramolecularly cross-linked collagen.; **Polymer**, 37, 1285 - 1288, 1996.

47 – RAULT, I.; FREI, V.; HERBAGE.; ABDUL-MALAK, N.; HUC, A.; Evaluation of different chemical methods for cross-linking collagen gel, films and sponges.; **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, 7, 215 - 221, 1996.

48 – CASCONE, M. G.; DI PASQUALE, G.; LA ROSA, A. D.; CRISTALLINI, C.; BARBANI, N.; RECCA, A.; An ESCA study of new collagen-based bioartificial polymeric materials.; **Polym.**, 39, 6357–6361, 1998.

49- LI, H. C.; KHOR, E.; Interaction of collagen with polypyrrole in the production of hybrid materials.; **Polymer International**, 35, 53 – 59, 1994.

50 – KHOR, E.; LI, H. C.; WEE, A.; Animal tissue-polypyrrole hybrid biomaterials: shrinkage temperature evaluation.; **Biomaterials**, 17, 1877 - 1879, 1996.

51 – LAM, Y.; CHOW, K. S.; KHOR, E.; Preparation and characterization of covalently bonded biopolymer-polypyrrole hybrids materials.; **Journal of Polymer Research**, 6, 203 - 210, 1999.

52 – ANGELOPOULOS, M.; RAY, A.; MACDIARMID, A. G.; EPSTEIN, A. J.; Processability from aqueous-solutions and effect of water-vapor on conductivity.; **Synthetic Metals**, 21, 21 - 30, 1987.

53 – CAO, Y.; SMITH, P.; HEEGER, A. J.; Spectroscopic studies of polyaniline in solution and in spin-cast films.; **Synthetic Metals**, 32, 263 - 281, 1989.

54 – DAVES, S. J.; RYAN, T. G.; WILDE, C. J.; BEYER, G.; Processable forms of conductive polyaniline.; **Synthetic Metals**, 69, 209 - 210, 1995.

55– MACINNES JR, D.; Contemporary topics in polymer science, v. 7 Edited by J. C. Salamone and J. Riffle, **Plenum Press**, New York, 1992.

56 – YANG, C. Y.; CAO, Y.; SMITH, P.; HEEGER, A. J.; Morphology of conductive, solution-processed blends of polyaniline and poly (methyh methacrylate).; **Synthetic Metals**, 53, 293 - 301, 1993.

57 – MALMONGE, L. F.; MATTOSO, L. H. C.; Thermal analysis of conductive blends of PVDF and poly (o-methoxyaniline).; **Polymer**, 41, 8387 - 8391, 2000.

58 – BANERJEE, P.; MANDAL, B.M.; Conducting polyaniline nanoparticle blends with extremely low percolation thresholds.; **Macromolecules**, 28, 3940 - 3943, 1995.

59 – ORATA, D.; BUTTRY, D. A.; Virtues of composite structures in electrode modification preparation and properties of poly(aniline)/nafion composite films.; **J. Electroanal. Chem.**, 257, 71 - 82, 1988.

60 – CHEN, S.; LEE, H.; Structure and properties of poly (acrylic acid)-doped polyaniline.; **Macromolecules**, 28, 2858 -2866, 1995.

61 – VALENCIANO, G. R.; JOB, A. E.; MATTOSO. L. H. C.; Improved conductivity of films of ultra high molecular weight polyethylene and polyaniline blends prepared from an m-cresol/decaline mixture.; **Polymer**, 41, 4757 - 4760, 2000.

62 – KUMAR, D.; Synthesis and characterization of poly(aniline – co – o – toluidine) copolymer.; **Synthetic Metals**, 114, 369 - 372, 2000.

63 – CHEN, S. A.; FANF W. G.; Electrically conductive polyaniline poly (vinil alcohol) composites films-physical-properties and morphological structures.; **Macromolecules**, 24, 1242 -1248, 1991.

64 – ZOPPI, R. A.; DE PAOLI, M. A.; Poy (3-methyl-thiophene) nitrilic rubber, and electroactive elastomeric composite.; **J. Electroanal. Chem**. 290, 275 - 282, 1990.

65 – KUHN, H. H.; KIMBRELL, W. C.; FOWLEER, J.E.; BARRY, C. N.; Properties and applications of conductive textile.; **Synthetic Metals**, 57, 3707 - 3712, 1993.

66 – HUHN, H. H.; CHILD, A. D.; Electrically conducting textiles.; Skothein, T.AA., Elsenbaumer, R.L. and Reynolds, J.R. (ed) Marcel Dekker, N. York, 1998.

67 – WESSLING, B.; Dispersion as the key to processing conductive polymers.; Skothein, T.AA., Elsenbaumer, R.L. and Reynolds, J.R. (ed) Marcel Dekker, N. York, 1998.

68 – MATTOSO, L. H. C.; FARIA, R. M.; BULHÕES, L. O S.; MACDIARMIND, A. G.; Synthesis, doping, and processing of high-molecular-weight poly (o-methoxyaniline).; **J. Polym. Sci.: Polym. Chem.**, 32, 2147 - 2153, 1994.

69 – BINNIG, G.; QUATE, C. F.; GERBER, C.; Atomic force microscopy. **Phys. Ver. Lett.**, 56, 930 – 933, 1986.

70 - MAGONOV, S. N.; WHANGBO, M.; Surface analysis with STM and AFM. Experimental and theoretical aspects of image analysis.; **VCH Publishers**, Weinheim, 1996.

71 - McCLELLAND, G. M.; ERLANDSSON, R.; CHIANG, S.; Review of Progress in Quantitative Nondestructive Evaluation 6, **Plenum** : New York, 1987.

72 - MARTI, O.; RIBI, H. O.; DRAKE, B.; ALBRECHT, T. R.; QUATE, C. F.; HANSMA, P. K.; Atomic force microscopy of an organic monolayer.; **Science**, 239, 50 – 52, 1988.

73 - ROBERTS, C. J.; WILLIAMS, P. M.; DAVIES, M. C.; JACKSON, D. E.; TENDLER, S. J. B.; Atomic force microscopy and scanning tunnelling microscopy: refining techniques for studying biomolecules.; **Trends in Biotechnology - Elsevier Science**, 12, 127 – 132, April, 1994.

74 - SARID, D.; ELINGS, V.; Review of Scanning Force Microscopy.; **J. Vac. Sci. Technol. B**, 9, 431 - 437, 1991.

75 - AMREIN, M.; MARTI, O.; STM and SFM in biology.; London, **Academic Press**, 2 - 85, 1994.

76 - MORIS, V. J.; Biological Applications of Scanning Probe Microscopies.; **Prog. Biophys. Molec. Biol.**, 61, 131 - 185, 1994.

77 - DUCKER, W.A.; COOK, R.F.; CLARKE, D.R.; Force measurement using an ac atomic force microscope.; **J. Appl. Phys.**, 67, 4045 – 4052, 1990.

78 - FRITZ, M.; RADMACHER, M.; ALLERSMA, M. W.; CLEVELAND, J.P.; STEWART, R. J.; HANSMA, P.K.; SCHIMIDT, C. F.; Imaging microtubules in buffer solution using tapping mode atomic force microscopy.; **Proceedings Reprint**, 2384, 150 - 157, 1995.

79 – LIN, H.; CLEGG, D. O.; LAL, R.; Imaging real-time proteolysis of single collagen I molecules with an atomic force microscope.; **Biochemistry**, 38, 9956 - 9963, 1999.

80 - LYUBCHENKO, Y.L.; JACOBS, B. L.; LINDSAY, S. M.; STASIAK, A.; Atomic Force Microscopy of nucleoprotein complexes.; **Scanning Microscopy**, 9, 705 - 727, 1995.

81 – GALE, M.; POLLANEN, M. S.; MARKIEWICZ, P.; GOH, M. C.; Sequential assembly of collagen revealed by atomic force microscopy.; **Biophysical Journal**, 68, 2124 – 2128, 1995.

82 – CHERNOFF, E. A. G.; CHERNOFF, D. A.; Atomic force microscope images of collagen fibers.; **J. Vac. Sci. Technol. A**, 10, 596 – 599, 1992.

83 – RASPANTI, M.; ALESSANDRINE, A.; GOBBI, P.; RUGGERI, A.; Collagen fibril surface: TMAFM, FEG-SEM and Freeze-Etching observations.; **Microscopy Research and Technique**, 35, 87 – 93, 1996.

84 – GATHERCOLE, L. J.; MILES, M. J.; MCMASTER, T. J.; HOLMES, D. F.; Scanning probe microscopy of collagen I and pN-collagen I. Assemblies and the relevance to scanning tunneling microscopy. Contrast generation in proteins.; **J. Chem. Soc. Faraday Trans.**, 89, 2589 – 2594, 1993.

85 – ODETTI, A. P.; ALTAMURA, F.; CAVALLERI, O.; ROLANDI, R.; Structure rat tail tendon collagen examined by atomic force microscope.; **Experientia**, 51, 1063 – 1067, 1995.

86 – COTTERILL, G. F.; FERGUSSON, J. A. E.; GANI, J. S.; BURNS, G. F.; Scanning tunneling microscopy of collagen I reveals filament bundles to be arranged in a left-handed helix.; **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 194, 973 – 977, 1993.

87 – ZHU, X. Y.; POIRIER, G. E.; WHITE, J. M.; Scanning tunneling microscopy of collagen molecules.; **J. Vac. Sci. Technol. A**, 9, 179 - 181, 1991.

88 – ANDERSSON, M.; EKEBLAD, P. O.; HJETBERG, T.; WENNWRRS-TROM, O.; INGANAS, O.; Thermochromism in poly (3 – pentylthiophene).; **Polymer Communications**, 32, 436 - 438, 1991.

89 – LEMAIRE, M.; DELABOUGLISE, D.; GARREAU, R.; GUY, A.; RONCALI, J.; Enantioseletive chiral poly (thiophene). **J. Chem. Soc., Chem. Commun.**, 10, 658 - 661, 1988.

90 – BOUMAN, M. M.; MEIJER, E. W.; Induced optical – activity in regioregular chiral polythiophenes.; **Abstr. Pap. Am. Chem S.**, 207, 309 – poly Part 2, 1994.

91 – DELABOUGLISE, D.; GARNIER, F.; Chiral metals – amino – acid substituted conducting polypyrroles.; **Synthetic Metals**, 41, 367 - 367, 1991.

92 – HARLEV, E.; WUDL, F.; in W. R. Salaneck, I. Lundstrom and B. Randy (eds), Conjugated polymers and related materials. The interconnection of chemical and eletronic structure, Proc. Eighty-first Nobel Symp., V. 139, Oxford University Press, Oxford, 1993.

93 – DRAKE, A. F.; UDVARHELYI, P.; ANDO, D. J.; BLOOR, D.; OBHI, J. S.; MANN, S.; Chiroptical spectroscopy studies of polydiacetylenes.; **Polymer**, 30, 1063 - 1068, 1989.

94 – HAVINGA, E. E.; BOUMAN, M. M.; MEIJER, E. W.; POMP, A., SIMENON, M. M. J.; Large induced optical activity in the conduction band of polyaniline doped with (1S) – (+) – 10 – camphorsulfonic acid.; **Synthetic Metals**, 66, 93 - 97, 1994.

95 – CAO, Y.; ANDREATTA, A.; HEEGER, A. J.; SMITH, P.; Influence of chemical polymerization conduction on the properties of polyaniline.; **Polymer**, 30, 2305 - 2311, 1989.

96 - MAJIDI, M. R.; KANE-MAGUIRE, L. A. P.; WALLACE, G. G. G.; Chemical generation of optically active polyaniline via the doping of emeraldine base with (+) or (-) – camphorsulfonic acid.; **Polymer**, 36, 18, 3597 - 3599, 1995.

97 – MAJIDI, M. R.; KANE-MAGUIRE, L. A. P.; WALLACE, G. G. G.; Facile synthesis of optically active polyaniline and polytoluidine.; **Polymer**, 37, 359 - 362, 1996.

98 - MAJIDI, M. R.; ASHRAF, S. A.; KANE-MAGUIRE, L. A. P.; NORRIS, I. D.; WALLACE, G. G. G.; Factors controlling the induction of optical activity in chiral polyanilines.; **Synthetic Metals**, 84, 115 - 116, 1997.

99 - KANE-MAGUIRE, L. A. P.; NORRIS, I. D.; WALLACE, G. G. G.; Properties of chiral polyaniline in various oxidation states.; **Synthetic Metals**, 101, 817 - 818, 1999.

100 - NORRIS, I. D.; KANE-MAGUIRE, L. A. P.; WALLACE, G. G. G.; MATTOSO, L. H. C.; Chiral induction in the acid doping of poly (o-methoxyaniline)., **Aust. J. Chem.**, 53, 89 - 92, 2000.

101 – GOISSIS, G.; PLEPIS, A. M.; ROCHA, J. L.; BR. Patente, 9.405.043-0, 1994.

102 – SMITS, F. M.; Measurements of sheet resistivities with the four-point probe.; **The Bell System Technical Journal**, 20, 711 - 718, 1958.

103 – SKOTHEIM, T. A.; Handbook of conducting polymers. New York: Marcel Dekker, 223 - 225, 1986.

104 – MALMONGE, J. A.; Técnica de corrente termo-estimulada em circuito aberto. Aplicação ao estudo do transporte de carga no polímero pet. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de Física e Química de São Carlos. Universidade de São Paulo (USP), 64p, 1988.

105 – SAUERBREY, G.; Verwrndung Von Schwingquarzen zur wagung dunner schichten und zur mikrowagung.; **Z. Phys.**, 155, 206 - 222, 1959.

106 – GABRIELLI. C.; KEDDAM, M.; TORRESI, R.; Calibration of the electrochemical quartz crystal microbalance.; **J. Electrochem. Soc.**, 138, 2657 - 2660, 1991.

107 – BUTTRY, D. A.; WARD, M. D.; Measurement of interfacial processes at electrode surfaces with the electrochemical quartz crystal microbalance.; **Chem. Rev.**, 92, 1355 - 1379, 1992.

108 – XIE, L. K.; BUCKLEY. L. J.; JOSEFOWICZ, J. Y.; Observations of polyanilines surface – morphology modification during doping and de – doping using atomic force microscopy.; **Journal of Materials Science**, 29, 4200 – 4204, 1994.

109 – MACDIARMID, A.G.; EPSTEIN, A. J.; The concept of secondary doping as applied to polyaniline.; **Synthetic Metals**, 65, 103 - 106, 1994.

110 - BIANCHI, R.F.; Aplicações do modelo de distribuição aleatória de barreiras de energia livre em mecanismos de condução iônico ou eletrônico em sistemas desordenados: polianilinas, ormolytes e preovskita tipo Sr Ti $_{(1-X)}$ Ru_XO3.; Dissertação de mestrado apresentada à interunidades Ciências e Engenharia de Materiais, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, 79p,1997.

111 - BIANCHI, R. F.; LEAL FERREIRA, G. F.; LEIENSKI, C. M.; FARIA, R. M.; Alternating electrical conductivity of polianiline.; **Journal Chemical Physics**, 110, 4602 - 4607, 1999.

112 - BIANCHI, R. F.; GUEVARA, J. A.; CUFFINI, S. L.; MASCARENHAS, Y. P.; FARIA, R. M.; Electrical conductivity of $SrTi_1$-xRuxO_3.; **Physical Review B**, 62, 1 – 5, 2000.

113 - DYRE, J. C.; The Random free-energy barrier model for AC conduction in disordered solids., **J. Appl. Phys.**, 64, 2456 - 2468, 1988.

114 – GINDER, J. M.; RICHTER, A. F.; MACDIARMID, A. G.; EPSTEIN, A. J.; Insulator-to-metal Transition in Polyaniline.; **Solid State Comm.**, 63, 97 - 101, 1987.

115 – BYUN, S. W.; IM, S. S.; Physical properties and doping characteristics of polyaniline-nylon composites films. **Polymer**, 39, 485 - 489, 1998.

116 – BAHGERCI, S.; TOPPARE, L.; YURT-SEVER, E.; Hydrogen bonding in polyanilines.; **Synthetic Metals**, 68, 57 - 60, 1994.

117 – PARHUTIK, V.; MATVEEVA, E.; Effects of molecular doping by hydroquinones on morphology and optical properties of polyanilines.; **J. Phys. Chem. B**, 102, 1549 - 1555, 1998.

118 – PAYNE, K. J.; VEIS, A.; Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: Deconvolution of the amide I band for conformational studies.; **Biopolymers**, 27, 1749 – 1760, 1988.

119 – WALLACE, D. G.; CONDELL, R. A.; DONOVAN, J. W.; PAIVINEN, A.; RHEE, W. M.; Multiple denaturational transitions in fibrilar collagen.; **Biopolymers**, 25, 1875 – 1893, 1986.

120 – GEORGE, A.; VEIS, A.; FTIRS in H_2O demonstrates that collagen monomers undergo a conformational transition prior to thermal self-assembly in vitro.; **Biochemistry**, 30, 2372 – 2377, 1991.

121 – ZHENG, W.; ANGELOPOULOS, M.; EPSTEIN, A. J.; MACDIARMID, A. G.; Experimental evidence for hydrogen bonding in polyaniline: mechanism of aggregate formation and dependency on oxidation state. **Macromolecules**, 30, 2953 – 2955, 1997.

122 – STOCKTON, W.B.; RUBNER, M. F.; Molecular - level processing of conjugated polymers. 4. Layer – by – layer manipulation of polyaniline via hydrogen-bonding interactions.; **Macromolecules**, 30, 2717 – 2725, 1997.

123 – VIKKI, T.; PIETILA, L.; OSTERHOLM, H.; AHJOPALO, L.; TAKALA, A.; TOIVO, A.; PASSINIEMI, P.; IKKALA, O.; Molecular recognition solvents for electrically conductive polyaniline. **Macromolecules**, 29, 2945 – 2953, 1996.

124 – GEORGE, A.; MALONE, J. P.; VEIS, A.; The secondary structure of type I collagen N-telopeptide as demonstrated by Fourier transform IR spectroscopies and molecular modeling.; Proceedings of the Indian Academy of Sciences-Chemical Sciences; 111, 121 – 131, 1999.

125 – CAMPBELL, I. D.; DWEK, R. A.; Biological Spectroscopy.; The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1984.

126 – CHANDRASEKHAR, P.; Conducting polymers, fundamentals and applications: a pratical approach. **Kluwer academic publishers**, 11, 291-296, 1999.

127 - EDWARDS H. G. M.; JOHNSON A. F.; LEWIS I. R.; Applications of Raman – spectroscopy to the study of polymers and polimerization processes.; **Journal of Raman Spectroscopy**, 24, 475 - 483, 1993.

128 – FURUKAWA, Y.; UEDA, F.; HYODO, Y.; HARADA, I.; NAKAJIMA, T.; KAWAGOE, T.; Vibrational spectra and structure of polyaniline.; **Macromolecules**, 21, 1297 - 1305, 1998

129 – LOUARN, G.; LAPSKOWSKI, M.; QUILLARD, S.; PRON, A.; BUISSON, J. P.; LEFRANT, S.; Vibrational properties of polyaniline – isotope effects.; J. **Phys. Chem.**, 100, 6998 - 7006, 1996.

130 – SILVA, J. E. P.; FARIA, D. L. A.; TORRESI, S. I. C.; TEMPERINI, M. L. A.; Influence of thermal treatment on doped polyaniline studied by resonance Raman spectroscopy.; **Macromolecules**, 33, 3077 - 3083, 2000.

131 – SILVA, J. E. P.; TEMPERINI, M. L. A.; TORRESI, S. I. C.; Secondary doping of polyaniline studied by resonance Raman spectroscopy.; **Electrochimica Acta**, 44, 1887 - 1891, 1999.

132 – ASHRAF, S. A.; KANE-MAGUIRE, L. A. P.; MAJIDI, M. R.; PYNE, S. G.; WALLACE, G. G.; Influence of the chiral dopant anion on the generation of induced optical activity in polyanilines.; **Polymer**, 38, 2627 - 2631, 1997.

133 – COCHET, M.; LOUARN, G.; QUILLARD, S.; BUISSON, J. P.; LEFRANT, S.; Theoretical and experimental vibrational study of emeraldine in salt form. Part II.; **Journal of Raman Spectroscopy**, 31, 1041 - 1049, 2000.

134 – COCHET, M.; LOUARN, G.; QUILLARD, S.; BUISSON, J. P.; LEFRANT, S.; Theoretical and experimental vibrational study of polyaniline in base forms: non-planar analysis. Part I.; **Journal of Raman Spectroscopy**, 31, 1029 - 1039, 2000.

135 - SILVA, J. E. P.; TORRESI, S. I. C.; TEMPERINI, M. L. A.; Polyaniline conformational studies in conductive blends using resonance Raman spectroscopy.; **Synthetic Metals**, 119, 331 - 332, 2001.

136 - SILVA, J. E. P.; TORRESI, S. I. C.; TEMPERINI, M. L. A.; Redox behavior of crosslinked polyaniline films.; **J. Braz. Chem. Soc.** 11, 91 - 94, 2000.

137 – JIRGENSONS, B.; Optical activity of proteins and other macromolecules.; Molecular biology biochemistry and biophysics 5. Chapman & Hall Limited, London, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg New York, 1973.

138 – LACERDA, C.; PLEPIS, A. M. G.; GOISSIS, G.; Hidrólise seletiva de resíduos de asparagina e glutamina em colágeno: preparação e caracterização de matrizes aniônicas para uso como biomateriais.; **Química Nova**, 21, 267 - 271, 1998.

139 – VARELA, H.; MALTA, M.; TORRESI, R. M.; Técnicas in situ de baixo custo em eletroquímica: a microbalança a cristal de quartzo.; **Química Nova**, 23, 664 - 679, 2000.

140 - LU, C.; CZANDRENA, A.; Applications of the piezoelectric quartz crystal microbalance. Methods and phenomena, Eds. **Elsevier**, New York, vol. 7, 1984.

141 - PERES, R. C. D.; DE PAOLI, M. A.; TORRESI, R. M.; The role of ion – exchange in the redox processes of polypyrrole dodecyl – sulfate films as studied by electrogravimetry using a quartz cristal microbalance.; **Synthetic Metals**, 48, 259 - 270, 1992.

142 - BRUCKENSTEIN, S.; HILLMAN, A. R.; Consequences of thermodynamic restraints on solvent and ion transfer during redox switching of electroactive polymers.; **J. Phys. Chem.**, 92, 4837 - 4839, 1988.

143 - ORATA, D.; BUTTRY, D. A.; Determination of ion populations and solvent content as functions of redox state and pH in poyaniline. **J. Am. Chem. Soc.**, 109, 3574 - 3581, 1987.

144 – VARELA, H.; TORRESI, R. M.; Ion exchange phenomena related to the redox process of polyaniline in nonaqueous media.; **J. Electrochemical Society**, 147, 665 - 270, 2000.

145 – MAIA, G.; TORRESI, R. M.; TICIANELLI, E. A.; NART, F. C.; Charge compensation in the redox process of polypyrrole – modified electrodes.; **J. Phys. Chem.**, 100, 15910 - 15916, 1996.

146 – VARELA, H.; TORRESI, R. M.; BUTTLY, D. A.; Study of charge compensation during the redox process of self doped polyaniline in aqueous media.; **J. Braz. Chem. Soc.**, 11, 32 - 38, 2000.

147 – GOISSIS, G.; PICCIRILLI, L.; PLEPIS, A. M. G.; DAS-GUPTA, D.K.; Preparation and characterization of anionic collagen:P(VDF/TrFe) composites.; **Polymer Engineering and Science**, 39, 474 – 482, 1999.

148 – RAMACHANDRAN, G. N.; Stereochemistry of collagen.; Int. **J. Peptide Protein Res.**, 31, 1 – 16, 1988.

149 – VOET, D.; VOET, J. G.; Biochemistry.; Wiley John Wiley & Sons. 159 – 164; 935 – 938.; 1990.