

• U • C •

FCTUC FACULDADE DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Sofia Fontaínhas Prazeres

Desenvolvimento de sensores poliméricos com ureia para a monitorização da temperatura corporal

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra
para cumprimento dos requisitos necessários à
obtenção do grau de Mestre em Engenharia
Biomédica

Orientador: Prof. Filipe Antunes

Coimbra, 2014

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

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

Agradecimentos

Em primeiro lugar, gostava de felicitar todos os meus colegas que comigo, em 2009, ingressaram no curso de Engenharia Biomédica em Coimbra, pela conquista desta importante batalha nas nossas vidas. Foi um longo e exigente percurso que esperamos, agora, ver recompensado.

Um Muito Obrigada aos Colling:

Ao Professor Filipe Antunes, orientador deste projeto, pela sua disponibilidade e simpatia, e por acreditar nas nossas capacidades para o sucesso da pulseira.

À Carolina, pelo carinho, motivação, companheirismo e disponibilidade.

Ao Fafe, pela paciência em me ajudar a perceber o mistério dos mecanismos da ureia.

A todos os outros membros desta equipa de excelência, pela amizade e entreaajuda que demonstraram ao longo deste ano de projeto.

Agradeço, também, ao Professor Jorge Coelho e Rose Cordeiro, do Departamento de Engenharia Química, pela disponibilização de dois dos polímeros utilizados neste trabalho; à Professora Graça Rasteiro pela autorização do uso do equipamento de DLS.

Às doutoras mais lindas de Biomédica:

Aquelas que conheci nesta cidade de estudantes e que espero nunca mais perder o contacto um OBRIGADA muito especial por todos os momentos partilhados, pelos jantares, cafés, brindes, viagens e tudo o 'resto a que tivemos direito'. Para onde quer que a vida nos leve, a amizade que construímos estará sempre presente.

Ao lar Teresiano,

a minha casa durante estes 5 anos de curso, um Muito Obrigada pelo espaço acolhedor que sempre foi, pelas colegas dos diferentes cursos e culturas que lá conheci, por ter sido uma porta aberta cheia de novas oportunidades à minha espera, por ter encontrado lá a minha melhor amiga.

À Gabi,

Um obrigada muito especial, por seres minha amiga, por acreditares em mim e nas minhas capacidades, por me ajudares, por seres a minha Brasileira favorita.

À minha família: à minha mãe, ao meu pai, ao meu irmão, aos meus avós, à minha madrinha e companhia, aos meus tios, aos meus primos ... que foram sempre o carregador de bateria para mais uma semana de estudo. Um obrigada GIGANTE por terem estado a meu lado e terem contribuído para o meu crescimento saudável e cheio de valores.

Ao João, pela conquista, paciência, disponibilidade, amizade, companheirismo, partilha, por estar comigo nos bons e nos maus momentos. E por muito mais... tu sabes!

“A criatividade é a inteligência a divertir-se.”

A. Einstein

Resumo

Este trabalho retrata o estudo da caracterização de sistemas poliméricos com resposta à temperatura, para aplicação num sensor capaz de sinalizar estados febris em bebês. O produto final prende-se na projeção de uma pulseira que monitorize continuamente o valor da temperatura. Uma temperatura à superfície da pele dos bebês que registe os 38°C é considerada um caso de febre.

Para este estudo, foi utilizada uma classe de polímeros inteligentes, os polímeros termossensíveis. Estes polímeros são capazes de responder à temperatura por um mecanismo de alteração da solubilidade em água devido à sua temperatura crítica característica: a *Low Critical Solution Temperature* (LCST). Abaixo da LCST, o polímero encontra-se solúvel em água e, por isso, apresenta um aspeto transparente. Quando a temperatura começa a aumentar, acima da LCST, as cadeias poliméricas associam-se hidrofobicamente formando agregados que dispersam a luz e a solução torna-se turva. O valor da LCST, característico de cada polímero, pode ser alterado quer pela adição de co-solutos e/ou co-solventes.

Neste trabalho, foram estudados três polímeros termossensíveis distintos: o PNIPAM, o PDMAEMA e o P(DEGMA-TEGMA). Estes polímeros respondem drasticamente a variações de temperatura, e por isso, serão ideias para serem utilizados como sensores de febre. No entanto, nenhum deles apresenta um valor de LCST apropriado (38°C). E, por isso, o objetivo deste trabalho é variar a solubilidade dos diferentes polímeros para ajustar as suas LCSTs.

Devido à habilidade da ureia em desnaturar proteínas, e uma vez que as proteínas são consideradas biopolímeros, este composto orgânico foi adicionado às diferentes soluções poliméricas de forma a estudar a sua influência na temperatura de transição de fase. Recorreu-se, também, à tetrametilureia por ser um derivado da ureia, e assim, por comparação, perceber o mecanismo da ação da ureia no polímero.

Todas as amostras foram caracterizadas utilizando diferentes técnicas: a reologia, a espectroscopia e a dispersão dinâmica de luz. Com estes três métodos foi possível identificar a temperatura a que os polímeros sofrem transição de fase, bem como estabelecer relações entre o aspeto e a viscosidade das soluções e o tamanho hidrodinâmico das partículas formadas, acima da LCST. Com o aumento da temperatura, aumentou a viscosidade das soluções devido ao entrelaçamento das

cadeias poliméricas o que se traduziu no crescimento acentuado dos agregados hidrofóbicos. A contribuição da concentração e do peso molecular dos polímeros em solução foi também considerada para o ajuste da LCST.

Palavras-chave: Polímeros termossensíveis; LCST ('Low Critical Solution Temperature'); Poli (N - isopropilacrilamida) (PNIPAM); Poli (2-dimetilaminoetil metacrilato) (PDMAEMA); Poli((dietileno glicol metil éter metacrilato)-co-(trietileno glicol metil éter metacrilato) (P(DEGMA-TEGMA)); Ureia; Tetrametilureia; Reologia; Espectroscopia UV-vis; DLS (Dispersão dinâmica de luz).

Abstract

This work is about the study of polymeric systems' characterization with temperature response, for application in a sensor capable to detecting febrile states in children. The final product will be the projection of a bracelet that monitors the temperature value continuously. A surface temperature of babies' skin indicating 38°C is considered a case of fever.

For this study has been used a class of smart polymers called thermosensitive polymers. These polymers are able to respond to temperature using a mechanism of change of solubility in water due to its critical temperature characteristic: *Low Critical Solution Temperature* (LCST). Below the LCST, the polymer is soluble in water and therefore presents a transparent appearance. When the temperature begins to rise above the LCST, polymeric chains associate hydrophobically forming aggregates which scatter the light and the solution becomes 'cloudy'. The LCST value of each polymer can be modified by the addition of co-solutes and / or co-solvents.

In this work we were studied three distinct thermosensitive polymers: PNIPAM, PDMAEMA and P(DEGMA-TEGMA). These polymers respond significantly to temperature variations, and will, therefore, be ideal for use as sensor fever. However, none of them has an appropriate LCST value (38°C). And, for that reason, the objective of this work is to vary the solubility of different polymers to adjust their LCSTs.

Due to the ability of urea to denature proteins, and since the proteins are considered biopolymers, this organic compound was added to the various polymer solutions in order to study its influence on the phase transition temperature. Also, we used tetramethylurea which is urea derivative, and so, by comparison, realize the mechanism of action of urea in the polymer.

All samples were characterized using different techniques: rheology, spectroscopy and dynamic light scattering. With these three methods, it was possible to identify the temperature at which the polymers suffer phase transition, and also establish relationships between the appearance and the viscosity of the solutions and the hydrodynamic size of the particles formed above the LCST. With increasing temperature, the viscosity of the solution increased due to the entanglement of polymer chains which resulted in a considerable increase of hydrophobic aggregates.

The contribution of the concentration and molecular weight of the polymers in solution has also been considered for adjusting the LCST.

Keywords: Thermosensitive polymers; LCST ('Low Critical Solution Temperature'); Poly (N-isopropylacrylamide) (PNIPAM); Poly (2-dimethylaminoethyl metacrilato) (PDMAEMA); Poly((diethylene glycol methyl ether methacrylate)-co-(triethylene glycol methyl ether methacrylate)) (P(DEGMA-TEGMA)); Urea; Tetramethylurea; Rheology; Spectroscopy UV-vis; DLS (Dynamic Light Scattering)

Índice de Figuras

Figura 1 - Diferentes tipos de resposta dos polímeros inteligentes a estímulos externos.....	5
Figura 2 - Representação esquemática das cadeias de polímero, bem como do aspeto das soluções, abaixo e acima da LCST.	7
Figura 3 - Estrutura química do Poli(N-isopropilacrilamida).....	10
Figura 4 - Estrutura química do Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato.	12
Figura 5 - Alteração da conformação polar (a) dos grupos oxietileno para uma conformação menos polar (b), com o aumento da temperatura.....	13
Figura 6 - Estrutura química do Poli-dietileno glicol metil éter metacrilato-co-trietileno glicol metil éter metacrilato.....	14
Figura 7 - Estrutura química da ureia.....	15
Figura 8 - Proposta do mecanismo da interação do PNIPAM com a ureia.....	16
Figura 9 - Estrutura química da tetrametilureia.....	17
Figura 10 - Fluido Newtoniano. Tensão da deformação, τ , em função da taxa de deformação, D , (a). Viscosidade, η , em função da tensão de deformação, τ , (b).....	22
Figura 11 - Modelo de duas placas usado por Newton.....	22
Figura 12 - Sistema de cone e prato.....	23
Figura 13 - Flutuações de intensidade ao longo do tempo da luz dispersa, para partículas grandes (a) e pequenas (b).....	26
Figura 14 - Primeiro protótipo do sensor de temperatura com bracelete de silicone.	47
Figura 15 - Cápsula de plástico.....	47
Figura 16 - Cápsula em contacto com a temperatura corporal.	47
Figura 17 - Re-design do protótipo do sensor de temperatura.....	48

Índice de Gráficos

Gráfico 1 - Transmitância das amostras PNIPAM, PDMAEMA, P(DEGMA-TEGMA). Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.....	28
Gráfico 2 - Transmitância das amostras PNIPAM_sigma (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.	29
Gráfico 3 - Transmitância das amostras PDMAEMA (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.....	29
Gráfico 4 - Transmitância das amostras P(DEGMA-TEGMA) (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.....	29
Gráfico 5 - Solução de 2wt% de PNIPAM_EQ e de 5wt% de PNIPAM_sigma. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	31
Gráfico 6 - Solução de 5wt% de PDMAEMA. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	31
Gráfico 7 - Solução de 5wt% de P(DEGMA-TEGMA). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	32
Gráfico 8 - Efeito da variação da concentração de PNIPAM_EQ. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).	34
Gráfico 9 - Efeito da variação da concentração de PNIPAM_sigma. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).	35
Gráfico 10 - Efeito da variação da concentração de PDMAEMA. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).	35
Gráfico 11 - Efeito da variação da concentração de P(DEGMA-TEGMA). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).	35
Gráfico 12 - Efeito da variação do peso molecular do PNIPAM (soluções de 2wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	38
Gráfico 13 - Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de 3wt%.....	39
Gráfico 14 - Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de 3wt%.....	39
Gráfico 15 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de PNIPAM_sigma (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	41

Gráfico 16 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de PDMAEMA (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	41
Gráfico 17 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de P(DEGMA-TEGMA) (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	42
Gráfico 18 - Efeito da adição de diferentes concentrações de tetrametilureia à solução de PNIPAM_sigma (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	44
Gráfico 19 - Efeito da adição de diferentes concentrações de tetrametilureia à solução de PDMAEMA (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).....	44
Gráfico 20 - Variação do diâmetro hidrodinâmico das partículas (Dh) com o aumento da temperatura para as soluções 0.1wt% PNIPAM_sigma só em água e com a adição de ureia e tetrametilureia.	46

Índice

1.	Introdução	1
1.1.	Polímeros “Inteligentes”	3
1.2.	Polímeros Termossensíveis.....	6
1.2.1.	Polímeros com comportamento do tipo LCST.....	8
1.2.2.	Poli-N-isopropilacrilamida.....	10
1.2.3.	Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato.....	12
1.2.4.	Poli-dietileno glicol metil éter metacrilato-co-trietileno glicol metil éter metacrilato.....	14
1.3.	Co-solutos que alteram as propriedades dos polímeros.....	15
1.3.1.	Ureia.....	15
1.3.2.	Derivados da ureia	17
2.	Experimental	19
2.1.	Materiais.....	19
2.1.1.	Método de preparação das amostras.....	19
2.2.	Técnicas.....	20
2.2.1.	Reologia	21
2.2.2.	Espectrofotometria UV-Visível.....	24
2.2.3.	Dispersão Dinâmica de Luz (DLS).....	25
3.	Resultados e Discussão.....	27
3.1.	Turbidez das soluções em função da temperatura.....	27
3.2.	Dependência da viscosidade com a temperatura.....	31
3.2.1.	Influência da concentração dos polímeros em solução	34
3.2.2.	Influência do peso molecular, para o caso do PNIPAM.....	38
3.2.3.	Influência da taxa de arrefecimento e aquecimento, para o caso do PNIPAM.....	39
3.2.4.	Influência da adição de aditivos na temperatura crítica	41

3.2.4.1. Efeito da adição de ureia	41
3.2.4.2. Efeito da adição de tetrametilureia.....	44
3.3. Dimensão das partículas em função da temperatura.....	46
4. O protótipo	47
5. Conclusão	49
Referências	51

Capítulo 1

1. Introdução

Atualmente, não existe no mercado um método rápido e que monitorize de forma contínua a temperatura corporal dos bebés. Uma vez que o controlo da febre é um parâmetro importante para a saúde das crianças, seria bastante vantajoso o desenvolvimento de um sensor externo (inserido, por exemplo, numa pulseira), que permitisse de forma instantânea a verificação da temperatura. A ideia é encontrar um sistema que seja uma mais-valia para os pais, assim como para os educadores de infância. No entanto, este sensor, pensado para crianças dos 0 aos 24 meses, não excluiu a utilização dos medidores de temperatura convencionais. Aquando da alteração da temperatura corporal dos bebés, a pulseira vai emitir um alerta de carácter visual.

Para o desenvolvimento do sensor de febre, propõe-se o uso de polímeros termossensíveis, uma classe de polímeros “inteligentes”, com habilidade para responder à temperatura. Esta classe de polímeros, quando em solução aquosa, exhibe uma temperatura crítica à qual sofre uma transição de fase passando de um estado solúvel (solução transparente) para um estado insolúvel (solução branca opaca). É devido a este mecanismo de alteração da solubilidade, que estes polímeros se apresentam como excelentes candidatos para um alerta eficaz para o sensor em estudo.

As soluções poliméricas terão que apresentar uma temperatura crítica que ronde os 38°C, já que é a partir deste valor que os especialistas consideram ser um estado febril. Os polímeros com interesse para este trabalho exibem a chamada LCST, temperatura acima da qual a solução adquirirá um aspeto branco opaco. A LCST é uma temperatura característica que varia de polímero para polímero, consoante a composição dos grupos que os constituem, e que pode ser alterada pela incorporação de componentes hidrofílicos ou hidrofóbicos, dependendo daquilo que se pretende: aumentar ou diminuir o valor LCST. Uma vez que os polímeros em estudo não apresentam um valor de LCST apropriado para esta aplicação prática, o objetivo deste trabalho é variar a solubilidade dos diferentes polímeros para ajustar as suas

LCSTs. Esta alteração da solubilidade é conseguida pela adição de co-solutos e/ou co-solventes que conduzirá a uma temperatura crítica diferente.

Depois de encontrado um sistema que possa ser usado como sensor de temperatura aos 38°C, as soluções em questão estarão capacitadas para serem usadas no sensor de febre. De notar que estes co-solutos e/ou co-solventes não devem apresentar qualquer risco para a pele dos bebés, já que isso inviabilizaria a sua utilização.

1.1. Polímeros “Inteligentes”

A Natureza apresenta uma quantidade infindável de sistemas vivos, que devido à instabilidade do seu próprio meio ambiente, necessitam de recorrer a determinados mecanismos, como forma de se adaptar às diferentes mudanças.¹ Os componentes básicos dos organismos vivos, como as proteínas e os ácidos nucleicos, são biopolímeros que permanecem estáveis ao longo de uma vasta gama de variáveis externas, mas que sofrem alterações drásticas na sua conformação em determinados pontos críticos.² Estes polímeros naturais, sensíveis às condições do meio, conduziram ao desenvolvimento de polímeros sintéticos, em várias formas funcionais,^{2, 3} e que foram projetados para mimetizar os seus comportamentos adaptativos.^{2, 4, 5, 6} Quando comparados com macromoléculas biológicas, quer a nível estrutural ou funcional, os polímeros sintéticos indicam que a ciência de polímeros é uma área bastante diversificada e cheia de oportunidades.^{5, 7}

De entre as diferentes categorias em que os polímeros sintéticos podem ser classificados, destacam-se os polímeros inteligentes, uma classe de polímeros muito promissoras em diversas áreas e com características muito específicas.^{3, 6, 8} Este tipo de polímeros, também denominados de polímeros com resposta a estímulos, apresenta a capacidade de sofrer alterações reversíveis significativas nas suas propriedades físicas e/ou químicas em resposta a pequenas variações externas nas condições do meio.^{5, 6, 8, 9, 10, 11} Estas variações ou estímulos externos podem ser classificados em três categorias: estímulos físicos (temperatura, luz, ultrassons, magnéticos, mecânicos, elétricos) que normalmente alteram a dinâmica da cadeia; estímulos químicos (pH, solventes, força iónica, eletroquímica) que modelam as interações moleculares; estímulos biológicos (enzimas e recetores de reconhecimento de moléculas).^{5, 11} É de realçar que existem polímeros que respondem simultaneamente a mais que um estímulo e,^{4, 5} por isso, com grande potencial no campo da biomedicina.¹

Tipicamente, as respostas deste tipo de sistemas são manifestadas como modificações na dimensão/forma da própria cadeia polimérica, na solubilidade, no grau de associação intermolecular e/ou nas características da superfície.^{3-4, 5, 11} A resposta macroscópica do polímero está dependente da forma física da cadeia.^{1, 11}

Estes polímeros, no que diz respeito à forma física, podem ser encontrados como cadeias lineares livres em solução, adsorvidos ou enxertados numa superfície ou

reticulados na forma de hidrogéis reversíveis.^{5, 8} Quando a resposta crítica é estimulada, para o caso da cadeia linear do polímero se encontrar em solução sofre um colapso reversível que se traduz num início súbito de turbidez, o que poderá levar à separação de fase. Já aqueles polímeros adsorvidos ou enxertados em superfícies podem expandir ou colapsar, convertendo a interface hidrofílica em hidrofóbica ou vice-versa. Em relação às redes de gel microscópicas ou macroscópicas ligadas covalentemente apresentam uma expansão acentuada desencadeada pelas condições do meio,³ o que poderá ser vantajoso para sistemas de libertação controlada.¹² Nunca é demais salientar que a singularidade destes materiais não reside apenas nas alterações macroscópicas rápidas que ocorrem na sua estrutura, mas também no facto destas transições serem de carácter reversível.³ Em todos estes sistemas quando o estímulo é retirado, o fenómeno correspondente é anulado. Contudo, a taxa de reversão é variável: por exemplo, é mais lenta quando o polímero tem que se redissolver ou quando o gel tem que voltar a expandir num meio aquoso (Figura 1).¹²

Os polímeros inteligentes nas suas três formas - em solução, como hidrogéis e adsorvidos ou enxertados em superfícies podem ser fisicamente misturados ou quimicamente conjugados com biomoléculas. Deste modo, alargaram-se os sistemas polímero-biomolécula com capacidade para responder a estímulos biológicos, mas também a estímulos físicos e químicos,^{3, 12} com grande potencial nas áreas da medicina e da biotecnologia e representam uma importante extensão dos biomateriais poliméricos para aplicações como implantes e dispositivos médicos.^{8, 12}

Diversos investigadores em sectores bastante prósperos como a engenharia de tecidos, sistemas de libertação de agentes terapêuticos, dispositivos de biosseparação, suportes de cultura celular, microfluídos, válvulas químicas, sensores e atuadores, ^{1-3, 6, 10} têm utilizado estes polímeros como opções únicas no desenvolvimento de sistemas inteligentes adequados à prática pretendida. A sua química permite a modulação das propriedades, como por exemplo incluindo grupos químicos sensíveis nas suas cadeias com excelente capacidade de resposta.^{4, 5}

Do ponto de vista biomédico, os sistemas inteligentes, com mais valor, são aqueles que respondem sensivelmente à temperatura e/ou ao pH.^{2, 5, 6} Variações drásticas da temperatura ou do pH em certos tecidos ou órgãos do corpo humano podem ser indicativos de determinada doença.¹ Surge, então, um interesse destacado pela

análise dos polímeros termossensíveis através da qual é possível importar conceitos biológicos de regulamentação.⁷

Os mecanismos de interação molecular, entre as cadeias poliméricas e o solvente, aquando dos polímeros termossensíveis em solução, apresentam um ajustamento abrupto, após pequenos intervalos de variação da temperatura ou do pH do meio. Estes mecanismos traduzem-se por uma transição entre estados (extensão ou compactação) da cadeia.¹

No caso dos polímeros sensíveis ao pH, a presença de um grupo ionizável ligado à cadeia polimérica, faz com que, depois da ação do estímulo, as cadeias estendam devido às repulsões electrostáticas entre os novos grupos gerados (aniões ou catiões).

A estrutura dos polímeros com resposta à temperatura exhibe um balanço entre a componente hidrofóbica e hidrofílica. Após uma pequena mudança à volta de uma certa temperatura crítica, as cadeias poliméricas vão colapsar ou expandir, em resposta ao novo arranjo entre as interações hidrofóbicas e hidrofílicas com o meio aquoso.¹

No que concerne a este trabalho foram estudados três polímeros termossensíveis diferentes: o Poli-N-isopropilacrilamida (PNIPAM), o Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato (PDMAEMA) e o Poli-(dietileno glicol metil éter metacrilato)-co-(trietileno glicol metil éter metacrilato) P(DEGMA-TEGMA). Procura-se propor um mecanismo associado à interação molecular dos três polímeros com a água e com outros co-solutos, em resposta à temperatura.



Figura 1 - Diferentes tipos de resposta dos polímeros inteligentes a estímulos externos.¹²

1.2. Polímeros Termossensíveis

Como já referido anteriormente, os polímeros termossensíveis apresentam-se como um dos conjuntos de moléculas mais interessantes entre os polímeros inteligentes¹³ e têm atraído áreas como a Bioengenharia e a Biotecnologia dado que certas doenças se manifestam por mudanças na temperatura.⁴ Estes sistemas têm sido reconhecidos como um modelo de excelência para compreender a influência das condições do meio sobre a estabilidade das macromoléculas biológicas.¹⁴ É de realçar que, a capacidade deste tipo de materiais para responder a estímulos externos, como a temperatura, é conseguida através da incorporação de múltiplos grupos funcionais nos polímeros sintéticos.¹⁵

Os polímeros termossensíveis, como o próprio nome indica, são sensíveis à temperatura e, após a ação deste estímulo, é desencadeada uma resposta que conduz a alterações nas suas propriedades físico-químicas.^{16, 17} Estas alterações de carácter rápido e reversível caracterizam-se pela mudança de estado da microestrutura.³ Quando em solução e a partir de uma determinada temperatura crítica, estes polímeros exibem uma transição de fase que resulta na alteração da sua conformação, o que é refletido no seu estado de solubilidade.¹⁷⁻¹⁸ Estas alterações podem resultar no colapso ou na expansão da cadeia polimérica.⁴

No que se refere às mudanças de solubilidade em água, estes polímeros podem ser distinguidos em dois tipos consoante o comportamento termossensível.^{11, 15} Aqueles polímeros que são solúveis em água a temperaturas elevadas e insolúveis a baixas temperaturas são chamados de 'Upper Critical Solution Temperature' (UCST). Já os polímeros que são solúveis em água a baixas temperaturas e tornam-se insolúveis a altas temperaturas são sistemas que exibem a chamada 'Lower Critical Solution Temperature' (LCST).^{1, 3-5, 17, 19, 20, 21} Pode-se assim classificar um polímero de LCST se o polímero é monofásico abaixo de uma determinada temperatura e bifásico acima dessa mesma temperatura.¹¹

A separação de fase, tanto em sistemas UCST como em LCST, é vista como um fenómeno governado não só pelo balanço das componentes hidrofílicas e hidrofóbicas na cadeia do polímero, mas também pela energia livre da mistura.^{9, 11} Esta energia livre de associação, intitulada de energia de Gibbs, varia com a entalpia, a entropia e a temperatura ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$).^{10, 22} Diz-se que um processo químico é favorável se ΔG for negativo, logo esta equação mostra como cada termo, ΔH e ΔS ,

determina se o processo é favorecido ou não.^{10, 23} Normalmente, as mudanças na entalpia estão associadas à formação ou à quebra de ligações, enquanto a entropia está relacionada com a solvatação das moléculas.^{1, 5, 23}

Abaixo da LCST, uma vez que se verifica a dissolução do polímero em água trata-se de um processo favorável, logo ΔG negativo. O termo $-T\Delta S$ é maior que o termo ΔH predominando as interações por pontes de hidrogénio entre o polímero e a água.²³

Acima da LCST, o termo ΔG sofre uma mudança de valor negativo (favorável) para positivo (desfavorável), uma vez que o termo $-T\Delta S$ deixa de ser predominante, mesmo com o aumento da temperatura, pois ocorre uma perda de solvatação por parte do polímero.²³ Neste caso, a solubilidade do polímero diminui e ocorre uma separação de fase, microscopicamente falando.

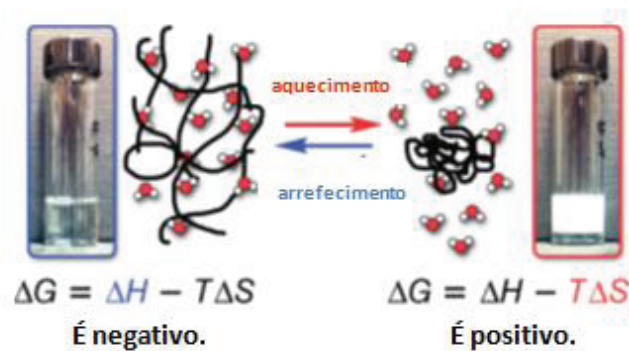


Figura 2 - Representação esquemática das cadeias de polímero, bem como do aspeto das soluções, abaixo e acima da LCST.²³

1.2.1. Polímeros com comportamento do tipo LCST

Os polímeros termossensíveis com especial interesse para este trabalho são aqueles que exibem LCST. A LCST pode ser definida como a temperatura crítica a partir da qual a solução polimérica sofre uma separação de fase, ou seja, é formada uma fase rica em polímero e uma rica em água.¹ Abaixo da LCST, as cadeias poliméricas apresentam-se estendidas e bem solubilizadas pelo solvente, não só, devido às pontes de hidrogénio que se estabelecem com a água circundante,¹⁷ mas também, devido às restrições nas pontes de hidrogénio intra- e intermoleculares no polímero.¹⁵ Quando a temperatura aumenta acima da LCST, as pontes de hidrogénio entre o polímero e a água são quebradas e neste instante, dá-se o colapso das cadeias poliméricas devido à desidratação das moléculas de polímero e as moléculas de água reorganizam-se em volta dos agregados poliméricos que se formam pelo efeito hidrofóbico.¹⁷ Este rearranjo das cadeias em forma de capsulas hidrofóbicas provoca a dispersão da luz através da solução, apresentando-se agora túrbida, quando inicialmente era transparente.^{13, 24} Após o arrefecimento, os polímeros termossensíveis redissolvem-se, voltando ao estado inicial, o que faz da transição de fase um fenómeno reversível (Figura 2).¹⁷ No entanto, no processo de arrefecimento, a solução polimérica, normalmente, volta ao estado solúvel a uma temperatura mais baixa. Isto porque as pontes de hidrogénio intra- e intermoleculares no polímero demoram mais tempo a ser quebradas.

A temperatura à qual ocorre a separação de fase depende do balanço entre os componentes hidrofóbicos e hidrofílicos presentes na cadeia polimérica.^{1, 13, 25} Esta pode ser facilmente ajustada através da incorporação quer de componentes hidrofílicos ou hidrofóbicos por um processo de copolimerização ou simplesmente através da adição de co-solutos/solventes.^{1-2, 15, 17} Com o aumento da natureza hidrofílica de um determinado polímero, a capacidade do mesmo para estabelecer ligações hidrogénio com a água aumenta, o que conduz a um aumento da temperatura de transição, já que este consegue manter-se em solução acima da LCST original. Por outro lado, integrando grupos hidrofóbicos na cadeia polimérica, a entropia do sistema diminui, dificultando a solubilização da cadeia. Deste modo, é induzida a rutura precoce das pontes de hidrogénio com a água, o que melhora as

interações hidrofóbicas e facilita a agregação. Isto leva a uma diminuição do valor da LCST original.^{15, 17}

A literatura faz referência a uma série de polímeros termossensíveis com comportamento LCST. Muitos deles apresentam potencial para aplicações biomédicas uma vez que possuem uma temperatura de transição de fase entre a temperatura ambiente e a temperatura corporal,¹⁵ o que é o caso dos polímeros em estudo neste trabalho.

1.2.2. Poli-N-isopropilacrilamida

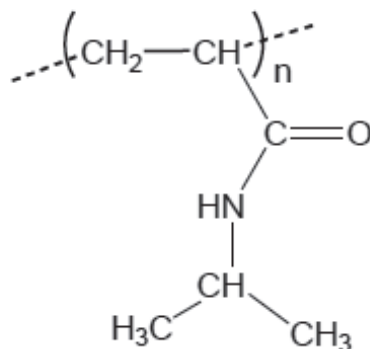


Figura 3 - Estrutura química do Poli(N-isopropilacrilamida).¹

As poliacrilamidas representam o maior grupo de polímeros termossensíveis que exibem LCST.^{1, 11, 6, 26} Dentro desta família, destaca-se o PNIPAM (Figura 3) que tem sido estudado de forma exaustiva porque, para além de apresentar propriedades termossensíveis favoráveis em água, possui ainda valores de toxicidade reduzida.^{1, 17-18, 25} Este polímero por apresentar uma LCST de 33°C, entre a temperatura ambiente e a temperatura corporal fisiológica normal, torna-se um candidato ideal para aplicações biomédicas *in vivo*. Esta temperatura de transição de fase é independente da concentração e do peso molecular do polímero.^{5, 27}

O PNIPAM é um polímero anfifílico neutro.²⁷ Na sua cadeia está presente o grupo isopropil que lhe confere um carácter hidrofóbico e o grupo amida que lhe confere um carácter hidrofílico.^{24, 28} Devido à facilidade do grupo amida em estabelecer pontes de hidrogénio com a água, este polímero dissolve-se bem em água, à temperatura ambiente.²³

A histerese das cadeias de PNIPAM em água, também estudada neste trabalho, aumenta no processo de arrefecimento, uma vez que não se verifica a total remoção das pontes de hidrogénio que se estabelecem entre o estado enrolado das cadeias poliméricas, formadas durante a desidratação.²⁹

Para o mecanismo de transição de fase deste polímero, em solução aquosa, tem sido proposto um mecanismo que consiste num rearranjo das ligações da água ao redor do grupo hidrofóbico nele presente.³⁰ Abaixo da LCST, forma-se uma espécie de "gaiola de água" em torno dos grupos metilo ($-\text{CH}_3$),³⁰ o que impede a interação entre os grupos isopropil de cada monómero. Quando a temperatura aumenta, verifica-se a

dissociação das moléculas de água em torno dos grupos isopropil da cadeia de PNIPAM, que se associam, levando a uma conseqüente agregação intermolecular, originando uma transição de fase.³⁰⁻³¹

1.2.3. Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato

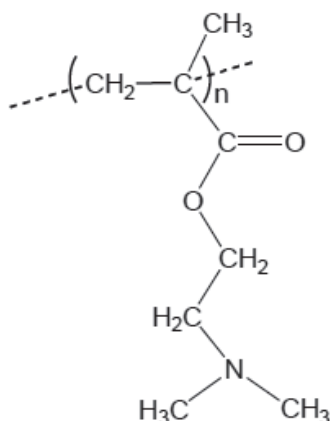


Figura 4 - Estrutura química do Poli-2-dimetilaminoetil metacrilato.¹

O PDMAEMA (Figura 4) é um polímero que para além de ser termossensível,^{10, 15, 32, 33} também apresenta resposta ao pH.^{10, 18, 20, 32} A sua LCST pode variar num intervalo dos 38-50°C,³³ dependendo do peso molecular, do pH da solução e da concentração de polímero.^{10, 15}

Este polímero apresenta, na sua estrutura, grupos de amins terciárias que reagem de forma diferente à alteração do pH do meio.²⁰ A pH baixo, o PDMAEMA é solúvel devido à protonação do grupo amina, sob uma ampla gama de temperaturas. A pH elevado, o PDMAEMA é desprotonado e as interações polímero-polímero são mais fortes que as interações polímero-solvente; neste caso, as cadeias de polímero tendem a agregar-se.^{20, 33} Deste modo, as variações de pH do meio causam mudanças na rede devido à ionização e, também, nas interações entre as cadeias de polímero ou entre as cadeias de polímero e o solvente ao nível molecular.

Analisando a cadeia polimérica do PDMAEMA também se verifica a presença de grupos oxietileno (-O(CH₂CH₂)), possivelmente responsáveis pela termossensibilidade deste polímero.³¹ A literatura refere que os grupos oxietileno podem existir num vasto número de arranjos conformacionais com diferentes energias.³⁴ A baixas temperaturas, estes grupos apresentam uma configuração de menor energia (polares) e possuem um grande momento dipolar. À medida que a temperatura aumenta, as conformações das cadeias destes grupos tornam-se menos polares (Figura 5), o que leva a que a interação com a água seja desfavorecida, reduzindo a hidratação do polímero.³⁴ Desta forma, ocorre o colapso das cadeias

poliméricas de PDMAEMA e segue-se a agregação intermolecular dos glóbulos formados.³¹



Figura 5 - Alteração da conformação polar (a) dos grupos oxietileno para uma conformação menos polar (b), com o aumento da temperatura.³⁴

1.2.4. Poli-dietileno glicol metil éter metacrilato-co-trietileno glicol metil éter metacrilato

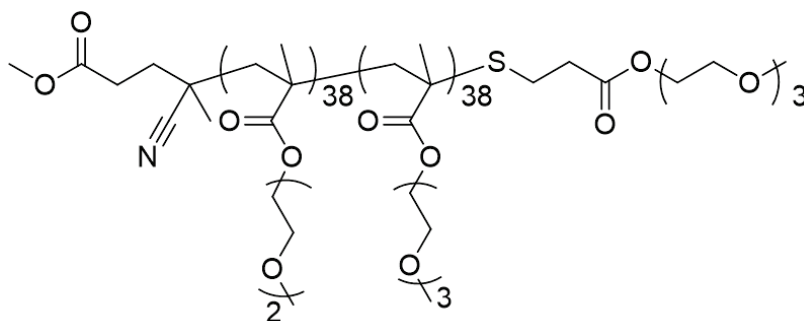


Figura 6 - Estrutura química do Poli-dietileno glicol metil éter metacrilato-co-trietileno glicol metil éter metacrilato.

O P(DEGMA-TEGMA) (Figura 6) sintetizado por um grupo da Universidade de Ghent (Bélgica) é um copolímero com um valor de LCST entre os 34°C e os 35°C. Este copolímero apresenta um peso molecular relativamente baixo o que leva a que, na maioria das soluções, possua uma aparência pouca viscosa para um intervalo de temperaturas entre os 20°C e os 50°C.

Analisando a sua estrutura, verifica-se uma presença abundante de grupos oxietileno que poderão justificar a solubilidade deste polímero em água, a baixas temperaturas. Isto porque, a baixas temperaturas, a cadeia polimérica, com a presença destes grupos, apresenta uma conformação com um momento dipolar maior quando comparada com a conformação adotada para altas temperaturas. O que significa que à medida que a temperatura aumenta, as mudanças conformacionais tornam estes grupos menos polares. Logo, vão ter menos tendência a interagir com a água (solvente polar), tornando-se mais hidrofóbicos e com maior tendência para a separação de fase.³⁴

Este polímero apresenta também alguns grupos carbonilo que, devido à eletronegatividade do oxigénio, apresentam elevada polaridade. A solubilidade em água a baixas temperaturas pode também estar relacionada com a presença destes grupos.

1.3. Co-solutos que alteram as propriedades dos polímeros

1.3.1. Ureia

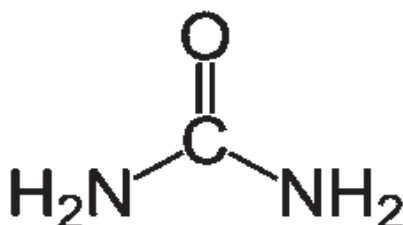


Figura 7 - Estrutura química da ureia.^{35, 36}

A literatura refere que as soluções aquosas de ureia apresentam um número notável de propriedades e destacam-se: o aumento da solubilidade dos hidrocarbonetos, a diminuição da formação de micelas, e a mais importante, a habilidade para desnaturar proteínas.^{29, 35, 36}

A ureia (Figura 7) é um composto orgânico que, apesar do seu efeito em solução ser bastante pronunciado, o mecanismo a nível molecular destes efeitos ainda se encontra por descobrir detalhadamente.²⁹

Ao longo dos anos, têm sido propostos dois mecanismos distintos, o direto e o indireto, para explicar o comportamento da desnaturação de proteínas em soluções aquosas de ureia. No mecanismo direto, a ureia exerce o seu efeito diretamente através da ligação à proteína, por pontes de hidrogénio, interações electrostáticas e de van der Waals. Por outro lado, no mecanismo indireto, as interações são definidas pela ação da ureia em alterar a estrutura molecular da água e assim facilitar a solvatação das porções hidrofóbicas da proteína.^{14, 29, 37}

De forma a perceber os diferentes processos que ocorrem, diversos investigadores utilizaram o PNIPAM, em lugar das proteínas, uma vez que este polímero apresenta uma estrutura química simples, funcionando assim como um bom modelo.^{24, 29, 37, 38}

Neste trabalho, foi analisada a influência da interação da ureia, em solução aquosa, no comportamento LCST dos diferentes polímeros termossensíveis em estudo.

Observando a estrutura do PNIPAM, o grupo amida é o único sítio possível para a ureia interagir diretamente. Isto porque o polímero não apresenta outro grupo capaz

de formar pontes de hidrogénio. Além disso, este polímero é desprovido de cargas o que elimina a necessidade de considerar interações eletrostáticas da ureia com as cargas.³⁸

Embora não totalmente compreendido, vários estudos mostraram que a diminuição da LCST com a adição da ureia é devido às pontes de hidrogénio da ureia com os grupos amida do PNIPAM. Os dois grupos NH₂ da ureia interagem com o grupo amida do PNIPAM estabelecendo pontes de hidrogénio, de forma bivalente e deste modo, a ureia atua como agente reticulante no processo de agregação do polímero.^{29, 37, 38} O grupo NH pertencente ao grupo amida do PNIPAM, cujo grupo carbonilo formou ligação de hidrogénio com a ureia, pode formar pontes de hidrogénio intra- e intercadeia com o grupo carbonilo da unidade de repetição seguinte na mesma cadeia ou numa cadeia diferente do polímero.²⁹ Isto faz com que as cadeias de polímero se aproximem e, deste modo, a ureia ajuda na estabilização do estado de colapso e de agregação do polímero (Figura 8).^{37, 38}

Uma vez que na estrutura do PDMAEMA está, também presente, o grupo carbonilo pensa-se que o mecanismo de interação da ureia com este polímero será idêntico ao do PNIPAM. Ou seja, a ureia irá atuar como agente reticulante ligando as cadeias de polímero entre si, e deste modo induzir a formação de agregados mais cedo.

Em relação ao P(DEGMA-TEGMA), pensa-se que a influência da ureia na transição de fase está relacionada com a sua interação com os grupos oxietileno. Uma vez que a ureia é um composto menos polar que a água, as soluções aquosas com ureia vão ser capazes de manter este polímero solúvel em água durante mais tempo. Ou seja, a alteração da conformação do grupo oxietileno só vai ocorrer a temperaturas mais elevadas.

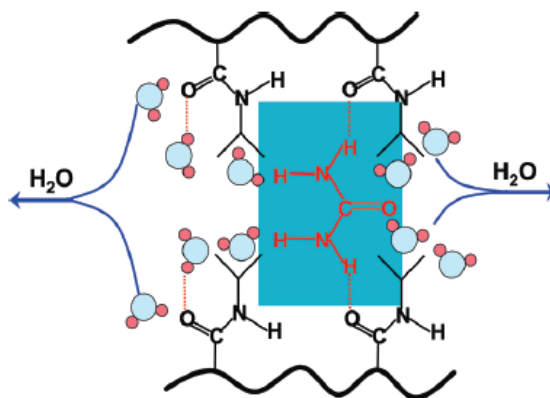


Figura 8 - Proposta do mecanismo da interação do PNIPAM com a ureia.³⁶

1.3.2. Derivados da ureia

A fim de perceber a ação da ureia como agente reticulante, muitos investigadores recorreram à metilação da ureia, como a metilureia, a dimetilureia e a tetrametilureia. Estes derivados da ureia podem ser úteis para perceber o mecanismo de interação entre a ureia e os polímeros. Os estudos demonstraram que, com o aumento do número de grupos metilo (-CH₃), as pontes de hidrogénio com o polímero são dificultadas. Quanto maior o número de grupos metilo presentes em solução, a polaridade do meio torna-se cada vez menor. Deste modo, a estabilidade do estado solúvel do PNIPAM aumenta, levando a uma deslocação da LCST para valores superiores.^{37, 38}

Neste trabalho, para além da ureia, foi adicionada a tetrametilureia (Figura 9), às soluções poliméricas de PNIPAM e PDMAEMA. Para este caso, propõe-se os seguintes mecanismos: quando a tetrametilureia é adicionada, a polaridade do meio diminui e, por isso, as cadeias de polímero permanecem solúveis durante mais tempo, aumentando o valor da LCST; pode, também, pensar-se na tetrametilureia com efeito idêntico a um surfactante não-iónico. Desta forma, cria-se um sistema polímero-tetrametilureia, em que as moléculas de tetrametilureia são adsorvidas na cadeia de polímero, rodeando os grupos hidrofóbicos, e assim, aumenta o carácter hidrofílico do polímero.

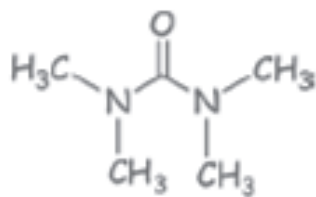


Figura 9 – Estrutura química da tetrametilureia. ^{35, 36}

Capítulo 2

2. Experimental

2.1. Materiais

Para este trabalho foram utilizados três polímeros termossensíveis diferentes. As amostras de PNIPAM_EQ e PDMAEMA foram sintetizadas e disponibilizadas pelo Departamento de Engenharia Química da UC. Já o P(DEGMA-TEGMA) foi sintetizado por um grupo, na Bélgica. Foi também utilizado o PNIPAM_sigma adquirido comercialmente (Sigma Aldrich). Os pesos moleculares (M_n) e os índices de polidispersividade (M_w/M_n) estão indicados na tabela abaixo.

Tabela 1 - Pesos moleculares médios (M_n) das amostras e respectivos índices de polidispersividade (M_w/M_n).

Amostras	(M_n)	(M_w/M_n)
PNIPAM_EQ	330 KDa	2.270
PNIPAM_sigma	19 – 30 KDa	-
PDMAEMA	244 KDa	2.038
P(mDEGMA-mTEGMA)	15.30 KDa	1.27

De forma a estudar os efeitos na estabilidade dos diferentes polímeros em solução, em relação à separação de fase, foram usados aditivos como a ureia e a tetrametilureia adquiridos comercialmente (Sigma Aldrich).

2.1.1. Método de preparação das amostras

As amostras foram preparadas começando por pesar primeiro a massa de polímero pretendida e só depois foi adicionada a água destilada até perfazer o volume pré-definido (3ml). Posteriormente, procedeu-se à agitação das soluções preparadas até à sua total dissolução (agitação manual seguida de placa de agitação). Por uma questão de facilidade, primeiro são pesadas as massas mais pequenas, seguindo-se portanto a ordem: aditivo → polímero → água.

2.2. Técnicas

Depois de preparadas, as soluções poliméricas foram mergulhadas num banho de água termoestatizado, fazendo variar a temperatura ao longo de um determinado intervalo. Esse intervalo, entre os 20°C e os 50°C, para o PNIPAM e o P(DEGMA-TEGMA), e entre os 30°C e os 60°C, para o PDMAEMA, foi escolhido de modo a abranger tanto a LCST como a temperatura corporal normal e em estado febril. Posteriormente, passou-se à caracterização das mesmas recorrendo a diferentes técnicas: a espectrofotometria UV-vis, método analítico capaz de determinar a dispersão da luz durante a formação de agregados poliméricos acima da LCST; a reologia, utilizada para analisar a viscosidade das soluções, abaixo e acima da LCST; a Dispersão Dinâmica de Luz (DLS) para determinar o diâmetro dos agregados em solução, abaixo da LCST, e os formados acima da LCST.

Nos testes reológicos foram utilizadas soluções aquosas com diferentes concentrações de polímero, variando dos 1wt% até aos 5wt% consoante o polímero utilizado. Depois de analisadas, foi escolhida a concentração de 5wt% de cada polímero para a adição dos diferentes co-solutos selecionados para este trabalho. A concentração destes aditivos foi de 3wt% e 6wt% de ureia e de tetrametilureia, para o caso do PNIPAM e do PDMAEMA. Sendo que para o P(DEGMA-TEGMA) foram usadas concentrações de ureia desde os 1wt% até aos 10wt%.

Nos testes de espectroscopia UV-vis as soluções dos polímeros em estudo encontram-se a uma concentração de 5wt% em água destilada. As soluções poliméricas com a adição de aditivos foram as mesmas que foram testadas nos testes reológicos.

Para os testes de DLS, todas as amostras, previamente preparadas com polímero + ureia e com polímero + tetrametilureia, foram diluídas 50 e 500x, para as concentrações de 0.1wt% e 0.01wt% de polímero, repectivamente.

2.2.1. Reologia

A palavra Reologia deriva do vocabulário grego, que significa: 'Rheo' = Deformação, 'Logia' = Ciência ou Estudo. A Reologia pode ser definida como a ciência que estuda a deformação da matéria e o modo como flui.^{39,40}

Esta é uma técnica que é usada para determinar a consistência de certos materiais. Reologicamente a consistência é descrita por duas componentes: a viscosidade e a elasticidade. Deste modo, esta ciência assenta sobre as leis propostas por Newton e Hooke, respetivamente.^{39,40}

Uma das principais questões da reologia é a definição e classificação dos materiais. Os materiais podem ser caracterizados reologicamente pelos termos viscoso, elástico e viscoelástico. Os gases e os líquidos são normalmente descritos como fluídos viscosos. Por definição, um fluido viscoso ideal é incapaz de armazenar qualquer energia de deformação. Por isso, comporta-se de forma irreversível quando sujeito a alguma força. Por outro lado, os sólidos são normalmente descritos como materiais elásticos. Um material elástico ideal armazena toda a energia de deformação e, conseqüentemente, volta ao seu estado inicial depois de retirada a força.⁴⁰

Existe, ainda, uma classe de materiais que apresenta propriedades viscosas bem como elásticas, isto é, armazenam alguma da energia de deformação na sua estrutura, enquanto outra é perdida no ato de fluir. Estes materiais são chamados viscoelástico. As soluções poliméricas inserem-se nesta última classe.³⁴ A contribuição de cada uma destas componentes, elástica e viscosa, varia segundo as condições de tensão, deformação e temperatura, assim como da concentração e distribuição de pesos moleculares.^{40,41}

Viscosidade de fluídos newtonianos

Neste trabalho, a reologia foi utilizada para estudar a viscosidade das diferentes soluções poliméricas em diferentes condições de teste. A viscosidade é definida como uma medida da resistência do material ao ato de fluir. Materiais com viscosidade mais elevada fluem lentamente; materiais com viscosidade mais baixa fluem mais rápido.^{40,41}

Os fluídos podem apresentar dois comportamentos distintos: o Newtoniano e o Não-Newtoniano. Um fluído newtoniano é considerado um fluído ideal e é aquele em que

a viscosidade – embora varie com a temperatura e a pressão – não varia com a taxa de deformação ou com o tempo.⁴¹ Ou seja, a taxa de deformação é linearmente proporcional à tensão de deformação e o coeficiente de proporcionalidade é a viscosidade.^{39, 41}

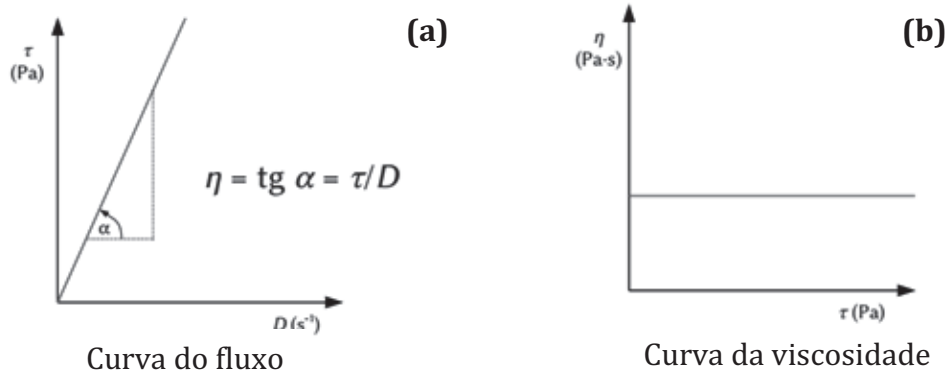


Figura 10 - Fluido Newtoniano. Tensão da deformação, τ , em função da taxa de deformação, D , (a). Viscosidade, η , em função da tensão de deformação, τ , (b).⁴¹

Este tipo de comportamento baseia-se no fluxo laminar simples, postulado por Newton: Se tivermos dois planos paralelos com uma área, A , e se esse espaço for preenchido com um determinado líquido, o plano de cima move-se com uma velocidade relativa U e os comprimentos das setas entre os planos são proporcionais à velocidade local U , do líquido (Figura 11).^{39, 41}

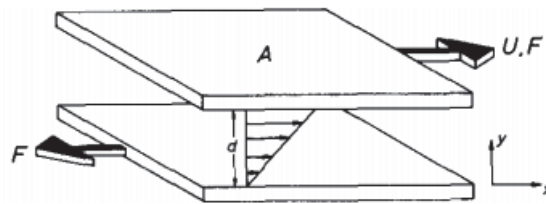


Figura 11 - Modelo de duas placas usado por Newton.⁴¹

Se a relação entre a tensão de deformação, τ , e taxa de deformação, D , não é linear estamos na presença de um fluido Não-Newtoniano.⁴¹

A dependência da viscosidade, em função da temperatura, foi estudada utilizando o ThermoScientific HAAKE MARS III com um sistema de medida de cone e prato e configuração automática do zero (espaço entre a placa e o cone). O ângulo do corpo cônico é $\alpha=1^\circ$ e o diâmetro do cone é de 35mm. A Figura 12 apresenta o esquema de um reômetro, onde N representa a velocidade de rotação. O reômetro utilizado

possui controlo de temperatura por um sistema de Peltier. Este está ligado a um reservatório de água para permitir o controlo de temperaturas (-40 a 150°C).

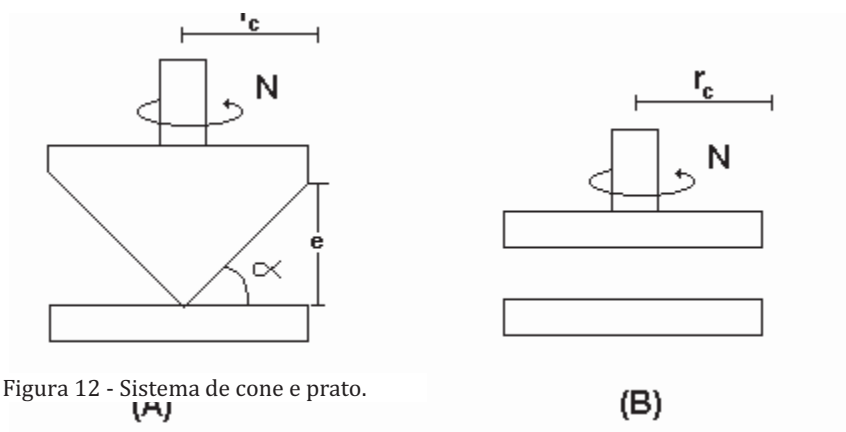


Figura 12 - Sistema de cone e prato.

Testes rotacionais

Para os testes rotacionais, nos quais se pretende que haja movimento do fluido, é exercida uma tensão de corte e subsequentemente observa-se a deformação do mesmo ao longo do tempo ou em função da temperatura. Assim sendo, neste tipo de testes, a viscosidade pode ser obtida de forma direta em função da velocidade de corte ou em função da temperatura para uma determinada velocidade de corte aplicada. Para o caso das soluções poliméricas em estudo que possuem LCST, essa transição de fase faz aumentar a viscosidade do sistema.

Neste trabalho, o intervalo de temperaturas escolhido foi entre os 20-50°C para o caso do PNIPAM e do P(DEGMA-TEGMA). Para o PDMAEMA o intervalo escolhido foi dos 30-60°C, de forma a abranger a LCST. Na maioria dos testes a velocidade de aquecimento utilizada foi de 3°C/min, sendo que foi variada para 1°C/min e 0.8°C/min, a fim de estudar a histerese do PNIPAM_EQ em água destilada.

A tensão aplicada às amostras foi escolhida tendo em conta a fluidez das soluções à temperatura ambiente. Para as soluções de PNIPAM_EQ e de PDMAEMA foi de 10Pa. Já para as soluções de P(DEGMA-TEGMA) 1Pa foi suficiente.

2.2.2. Espectrofotometria UV-Visível

A espectroscopia é a ciência que estuda a interação da luz com a matéria. Consequentemente, surgiu a espectrofotometria que faz parte de uma das classes de métodos analíticos que se baseia nesta ciência.

Os espectrofotômetros são instrumentos que registam dados de absorvância ou transmitância em função do comprimento de onda. Este registro é chamado de espectro de absorção ou de espectro de transmissão.

No presente trabalho, foi usado o *Shimadzu UV-VIS Spectrophotometer (UV-2450)*, ligado a um banho termoestabilizado, para realizar testes de transmitância de luz em função do comprimento de onda, para diferentes temperaturas. Para temperaturas acima da LCST, a transmitância decresce abruptamente uma vez que as soluções se tornam turvas devido à formação de agregados poliméricos que dispersam a luz. Para a realização dos gráficos transmitância vs temperatura, escolheu-se um comprimento de onda no intervalo do espectro de luz visível, e estudou-se a variação da linha de transmitância ao longo das diferentes temperaturas. O intervalo de temperaturas escolhido foi entre os 25-40°C para o caso do PNIPAM e do P(DEGMA-TEGMA). Para o PDMAEMA o intervalo escolhido foi dos 30-60°C.

2.2.3. Dispersão Dinâmica de Luz (DLS)

A dispersão dinâmica de luz, também conhecida como Espectroscopia de Correlação Fotónica (PCS),^{42, 43} é uma técnica não-invasiva⁴⁴ que permite medir o tamanho e a distribuição de tamanhos de moléculas e partículas com diâmetro inferior a 1µm, na região do submicron.^{43, 44} O tamanho é uma das propriedades físicas da partícula mais importante dado que a distribuição do tamanho das partículas influencia, por exemplo, a viscosidade dos materiais.⁴⁵ Esta técnica é tipicamente aplicada a moléculas dispersas ou dissolvidas num líquido, entre as quais podem ser proteínas, polímeros, micelas, nanopartículas e colóides.^{42, 43}

O princípio básico de funcionamento é o seguinte: a amostra é iluminada por um feixe laser e as flutuações da luz dispersa são detetadas, a um ângulo θ conhecido, por um fotodetector. Analisando as flutuações da intensidade da luz, dispersa pelas partículas, obtém-se informação sobre o movimento das mesmas.^{42, 43}

As partículas, quando em suspensão, sofrem um movimento térmico aleatório conhecido como movimento Browniano.⁴³ O movimento Browniano consiste no movimento aleatório das partículas devido ao choque causado pelas moléculas de solvente que as rodeiam. As partículas mais pequenas são projetadas, pelas moléculas de solvente, para mais longe e movem-se mais rapidamente. Logo, o movimento Browniano é maior.⁴⁶ A velocidade do movimento Browniano é definida por uma propriedade conhecida como coeficiente de difusão translacional. O tamanho da partícula é calculado a partir deste coeficiente, usando a equação de Stokes-Einstein.^{43, 46}

$$D_h = \frac{k_B T}{3\pi\eta D_t}$$

Onde,

- D_h é o diâmetro hidrodinâmico (este é o objetivo: tamanho da partícula);
- D_t é o coeficiente de difusão translacional;
- k_B é a constante de Boltzmann's;
- T é a temperatura termodinâmica;
- η é a viscosidade dinâmica.

É de notar que o tamanho da partícula determinado por DLS se refere à forma como a partícula se difunde num fluido, e por isso é referido como diâmetro hidrodinâmico. O diâmetro obtido é o de uma esfera que possui o mesmo coeficiente de difusão translacional que a partícula.^{43, 46}

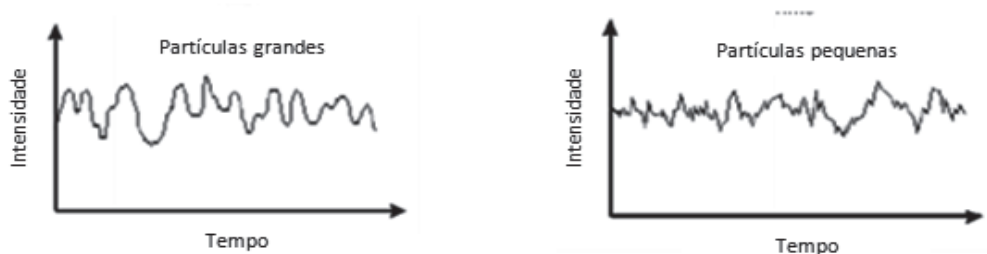


Figura 13 - Flutuações de intensidade ao longo do tempo da luz dispersa, para partículas grandes (a) e pequenas (b).⁴⁶

O coeficiente de difusão translacional é dado pela intensidade de luz dispersa em função do tempo. Este depende não só do tamanho da partícula, como também da estrutura da superfície, assim como da temperatura, concentração e tipos de iões do meio.^{43, 46}

Correlacionando as flutuações de intensidade determina-se o coeficiente de difusão translacional do movimento Browniano e, conseqüentemente, o diâmetro hidrodinâmico característico da partícula.^{42, 43, 46}

Neste trabalho, o DLS foi utilizado para verificar o crescimento de agregados em solução, abaixo e acima da LCST. As amostras de PNIPAM foram analisadas em função da temperatura num intervalo dos 25-40°C. O modelo do aparelho utilizado foi o Zetasizer Nano ZS da Malvern presente no departamento de Engenharia Química da UC. As covetes utilizadas eram de quartzo.

Capítulo 3

3. Resultados e Discussão

A resposta dos polímeros termossensíveis com comportamento LCST, ao aumento da temperatura, é atribuída a uma mudança no estado de solubilidade das soluções poliméricas. De forma a suportar a veracidade desta proposição, recorreu-se a estudos reológicos, espectroscópicos e de dispersão dinâmica de luz (DLS).

3.1. Turbidez das soluções em função da temperatura

De forma a avaliar tanto a turbidez das soluções, como a LCST à qual se inicia, as soluções, dos diferentes polímeros somente em água, foram, inicialmente, mergulhadas num banho de água termoestatizado.

Para as soluções de PNIPAM_sigma e de PNIPAM_EQ, verificou-se uma temperatura de transição de fase entre os 33°C e os 34°C, à qual a solução, inicialmente, transparente sofreu uma alteração repentina para uma solução branca opaca.

Para o caso do PDMAEMA, a transição de fase ocorreu entre os 49°C e os 50°C. No entanto, o processo ocorreu de forma mais gradual, passando primeiro por um aumento da turbidez da solução e só depois para uma solução branca. A LCST do PDMAEMA, como se poderá ver mais à frente, variou consoante a concentração de polímero utilizada em cada solução.

As soluções de P(DEGMA-TEGMA) apresentaram um valor de LCST entre os 34°C e os 35°C, passando de uma solução transparente para uma solução turva. Neste caso, não atingiram um branco opaco como as soluções de PNIPAM.

Posteriormente, recorreu-se à análise espectroscópica da transmitância a diferentes temperaturas, ao longo dos comprimentos de onda da região do visível. Os perfis de transmitância de luz refletem o comportamento típico da separação de fase, em que as soluções 100% transparentes a temperaturas baixas, tornam-se rapidamente turvas (0% de transmitância) acima da temperatura crítica, o que ilustra a queda súbita da solubilidade do polímero em água.

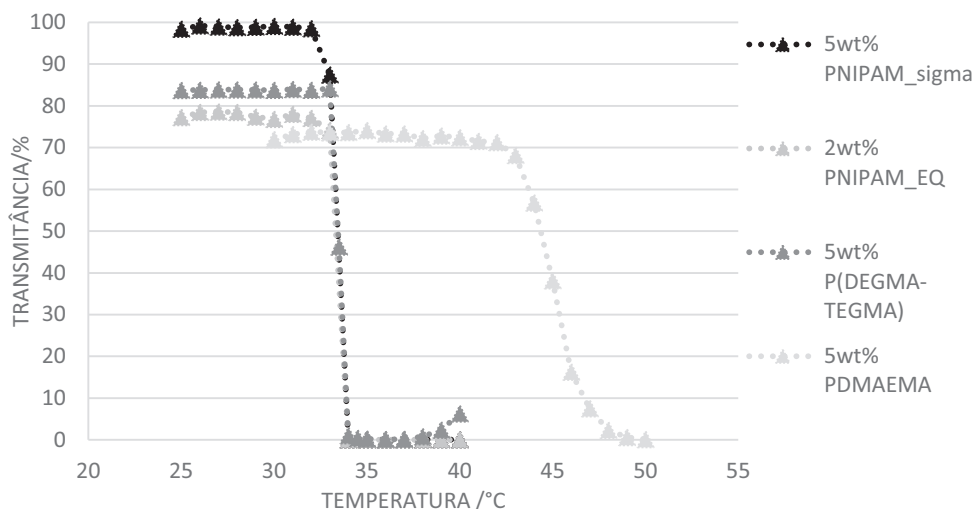


Gráfico 1 - Transmitância das amostras PNIPAM, PDMAEMA, P(DEGMA-TEGMA). Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575 \text{ nm}$.

Para as amostras de PNIPAM_sigma, PNIPAM_EQ e P(DEGMA-TEGMA), a diminuição na transmitância ocorreu aos 34°C, valor que está de acordo com o registado no banho, e que corresponde à LCST destes polímeros. No entanto, o P(DEGMA-TEGMA), aos 33,5°C, apresenta um ponto com transmitância de 50%, que corresponde exatamente ao início de turbidez. Chama-se a este ponto 'cloud point'. Já no caso do PNIPAM_sigma e do PNIPAM_EQ a queda na transmitância ocorre de forma abrupta, passando a solução para um branco opaco. No que se refere à solução de PDMAEMA, a variação da transmitância, ao longo das temperaturas, trata-se de um processo mais gradual. Os valores de transmitância decaem lentamente à medida que a temperatura aumenta. Este facto comprovou-se também no banho, já que a solução foi ficando progressivamente mais turva, até atingir um estado opaco. Comparando os quatro polímeros, verifica-se que para baixas temperaturas a transmitância, sempre perto dos 100%, varia ligeiramente entre eles. As soluções de PNIPAM_EQ e de PDMAEMA apresentam valores de transmitância menores para baixas temperaturas. Isto porque, de entre os quatro polímeros em estudo, estes dois são os que apresentam peso molecular mais elevado, e portanto uma cadeia mais comprida. Logo, a proporção de grupos hidrofóbicos é maior, o que leva a que a solubilidade dos mesmos seja menor e daí não apresentar um aspeto tão transparente. Seguem-se os gráficos da transmitância em função da temperatura, correspondentes às soluções dos diferentes polímeros com a adição de ureia e tetrametilureia.

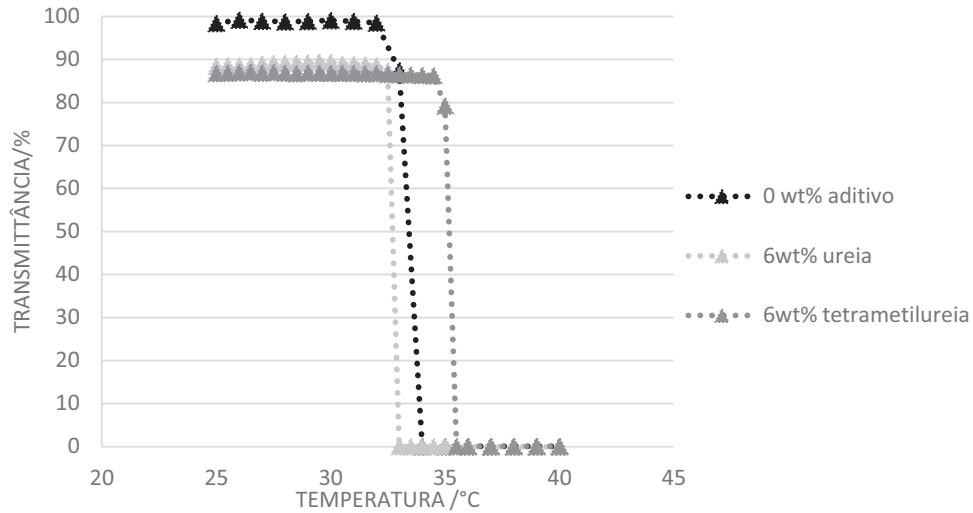


Gráfico 2 - Transmittância das amostras PNIPAM_sigma (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.

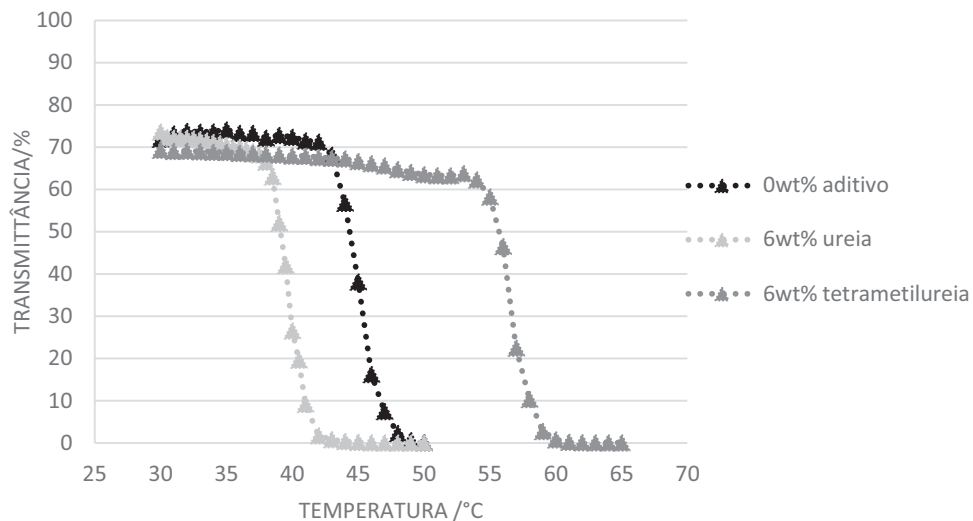


Gráfico 3 - Transmittância das amostras PDMAEMA (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.

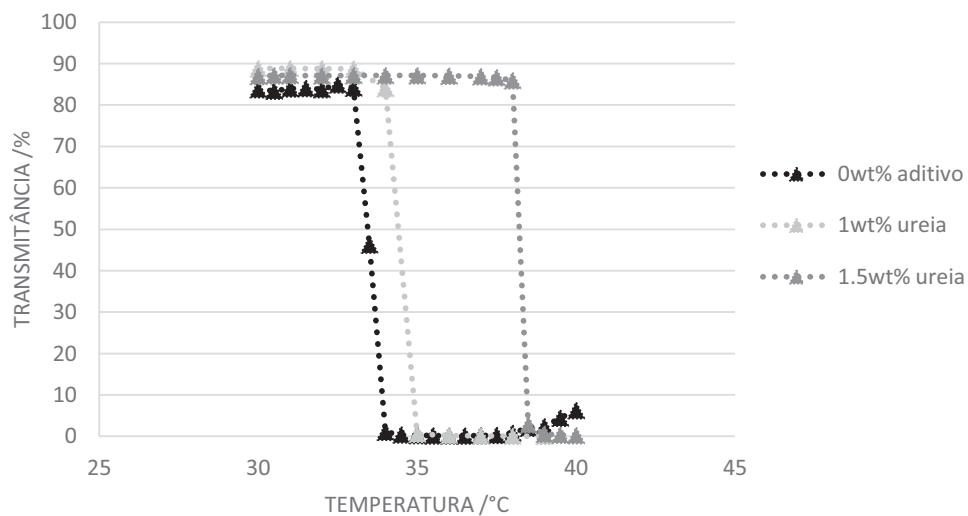


Gráfico 4 - Transmittância das amostras P(DEGMA-TEGMA) (5wt%) com a adição de ureia e tetrametilureia. Comprimento de onda selecionado: $\lambda = 575$ nm.

Como se pode observar, há uma clara distinção no comportamento induzido pela ureia e pela tetrametilureia, no PNIPAM e no PDMAEMA. Genericamente, a ureia poderá conduzir à compactação das cadeias poliméricas, e por isso, leva à diminuição da LCST. Ao introduzir os grupos metilo (-CH₃) na ureia leva à formação de um complexo polímero-tetrametilureia que é mais solúvel em água do que o polímero apenas, a temperaturas elevadas. Desta forma, a LCST aumenta. Com a adição de ureia nas soluções de PNIPAM_sigma, a LCST diminui para 33°C. Por sua vez, com a adição da tetrametilureia a LCST aumentou para 35.5°C, pelo facto dos grupos metilo em solução terem aumentado. O mesmo comportamento se verificou nas soluções de PDMAEMA. Com a adição de ureia a LCST diminuiu para 44°C, e com a adição de tetrametilureia a LCST aumentou para 59°C. Estes valores estão de acordo com os registados no banho de água. Pensa-se que o mecanismo de interação entre estes dois polímeros e a ureia será o mesmo.

No caso das soluções do P(DEGMA-TEGMA), a LCST aumentou à medida que a concentração de ureia, em solução, também aumentou. Este facto terá que ser estudado mais aprofundadamente, mas pode dever-se a que os grupos oxietileno presentes no polímero, e responsáveis pela insolubilidade do polímero a temperaturas elevadas, poderão permanecer na sua conformação inicial hidrofílica quando a ureia está presente. Com a adição da concentração de 1.5wt% ureia, deslocou-se a LCST para 38°C, como comprovado também no banho de água. Este sistema (P(DEGMA-TEGMA) + 1.5wt% Ureia) demonstra ser bastante bom para o sensor de febre.

3.2. Dependência da viscosidade com a temperatura

Depois de verificada a temperatura de separação de fase de cada solução polimérica com e sem a adição dos dois diferentes aditivos, as amostras foram colocadas no reômetro e analisou-se a dependência da viscosidade em função da temperatura. Os resultados obtidos, para os quatro polímeros em solução aquosa, encontram-se nos gráficos abaixo.

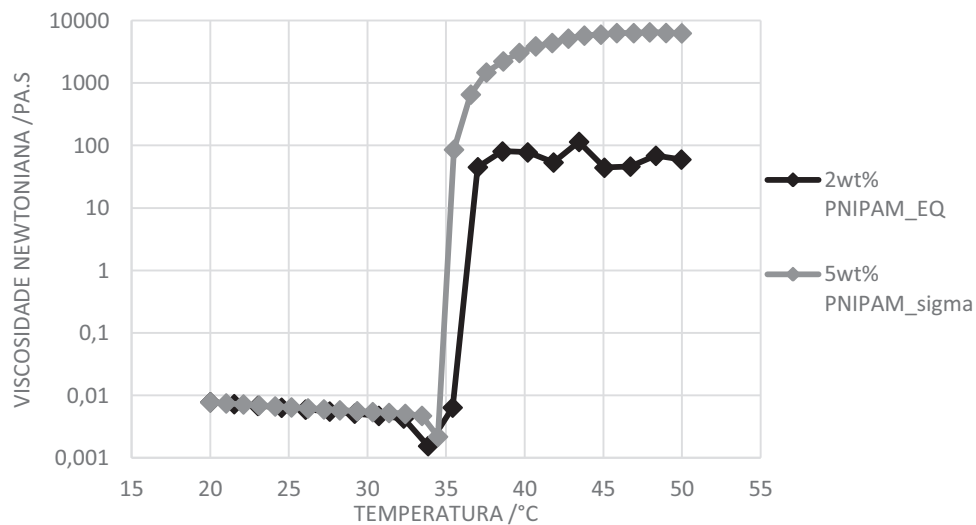


Gráfico 5 - Solução de 2wt% de PNIPAM_EQ e de 5wt% de PNIPAM_sigma. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

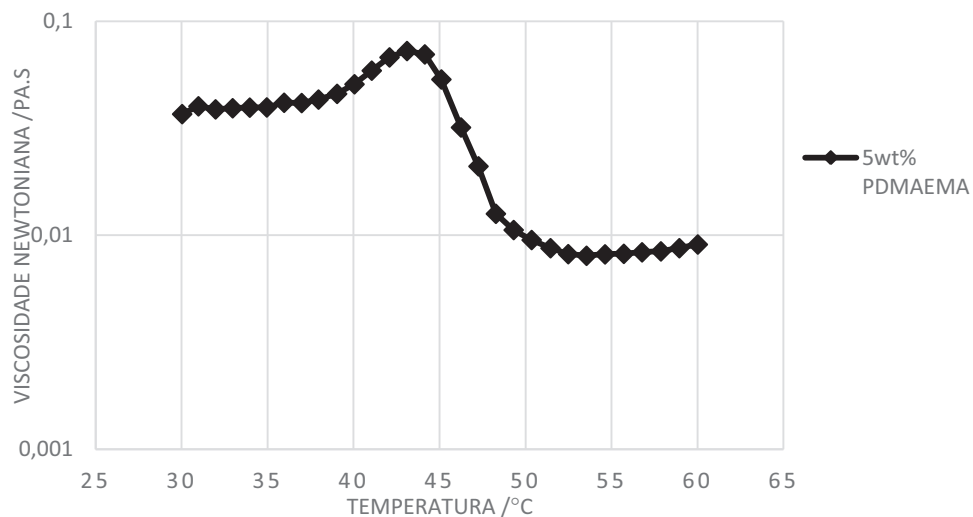


Gráfico 6 - Solução de 5wt% de PDMAEMA. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

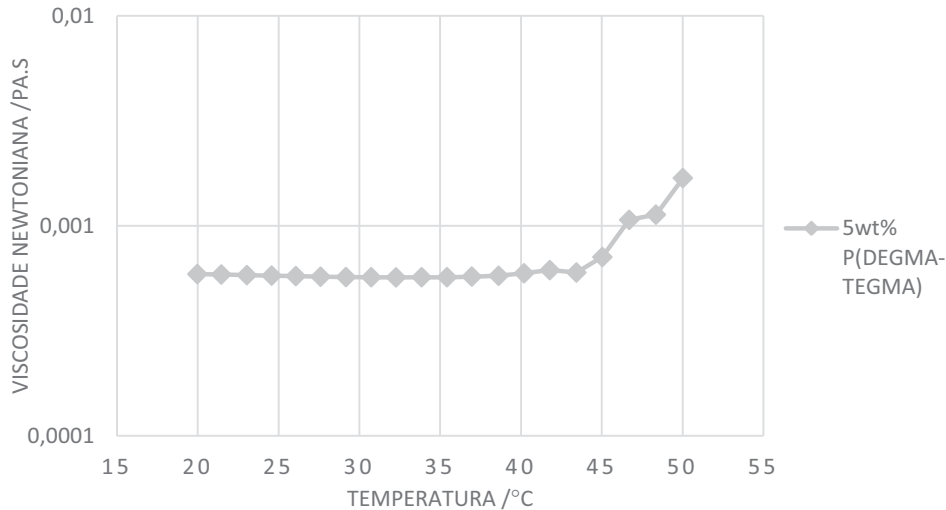


Gráfico 7 - Solução de 5wt% de P(DEGMA-TEGMA). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

Para o caso das soluções de PNIPAM, verifica-se que o fenómeno da transição de fase é facilmente acompanhado pelas mudanças drásticas nos valores da viscosidade. Abaixo da LCST, a viscosidade da solução é reduzida devido à forma estendida que as cadeias poliméricas apresentam. Quando a temperatura crítica é alcançada, pelos 34°C, ocorre uma ligeira redução da viscosidade devido à diminuição do espaço ocupado pelas cadeias que começam a enrolar-se. Imediatamente acima da LCST, os agregados poliméricos juntam-se em aglomerados, levando à formação de uma rede polimérica que se traduz por um aumento acentuado dos valores de viscosidade. Se as concentrações das duas soluções de PNIPAM fossem as mesmas, o PNIPAM_EQ por apresentar peso molecular superior apresentaria, acima da LCST, valores de viscosidade bastante superiores, quando comparado com a solução de PNIPAM_sigma, já que o entrelaçamento entre as cadeias seria mais forte.

Para a solução de PDMAEMA, no gráfico que relaciona a viscosidade com a temperatura, não é possível distinguir detalhadamente o fenómeno da transição de fase, como acontece com o PNIPAM. No entanto, no processo de aquecimento, ocorre um ligeiro aumento da viscosidade que decai quando se atingem temperaturas superiores. Isto porque as cadeias de polímero compactam tanto, que a conectividade entre elas, e que forma os agregados tridimensionais, perde-se, ficando a solução com viscosidade mais baixa.

De entre os três polímeros abordados neste trabalho, o P(DEGMA-TEGMA) é aquele que apresenta peso molecular mais reduzido. Por isto, o comprimento da cadeia polimérica em solução é menor. Logo, os agregados poliméricos formados não são suficientemente grandes para formar uma rede polimérica e, deste modo, o valor da viscosidade mantêm-se constante ao longo do intervalo de temperaturas. Tendo apenas sido verificada uma ligeira subida já perto dos 50°C.

Relacionando estes gráficos da viscosidade em função da temperatura, verifica-se que, no processo de aquecimento, o comportamento reológico para cada polímero em estudo é diferente. Estas diferenças estão, também, relacionadas com as alterações na turbidez das soluções que foram diferentes para cada polímero. No entanto, com o aumento da temperatura, a resposta destes polímeros à transição de fase, está, sempre, relacionada com a quebra das pontes de hidrogénio que se estabeleceram entre o polímero e a água.

3.2.1. Influência da concentração dos polímeros em solução

De forma a analisar se a concentração de polímero em solução tem influência na temperatura de transição de fase (LCST), foram preparadas soluções com diferentes concentrações de polímero. Estas soluções, antes de serem analisadas reologicamente, foram mergulhadas no banho a fim de verificar a LCST.

As soluções de PNIPAM_sigma e de PNIPAM_EQ, embora com peso molecular e concentração diferentes, apresentaram sempre uma temperatura de transição de fase entre os 33°C e os 34°C.

Já a temperatura de transição de fase para as soluções de PDMAEMA, diminuiu à medida que a concentração de polímero em solução aumentou. Para a solução de 3wt% PDMAEMA registou-se um valor entre os 47°C e os 48°C e para a solução de 1wt% foi entre os 44°C e 45°C.

As soluções de P(DEGMA-TEGMA) com diferentes concentrações também apresentaram sempre o mesmo valor de LCST entre os 34°C e os 35°C.

Seguem-se os gráficos que mostram os resultados dos testes reológicos para as amostras de polímero com diferentes concentrações.

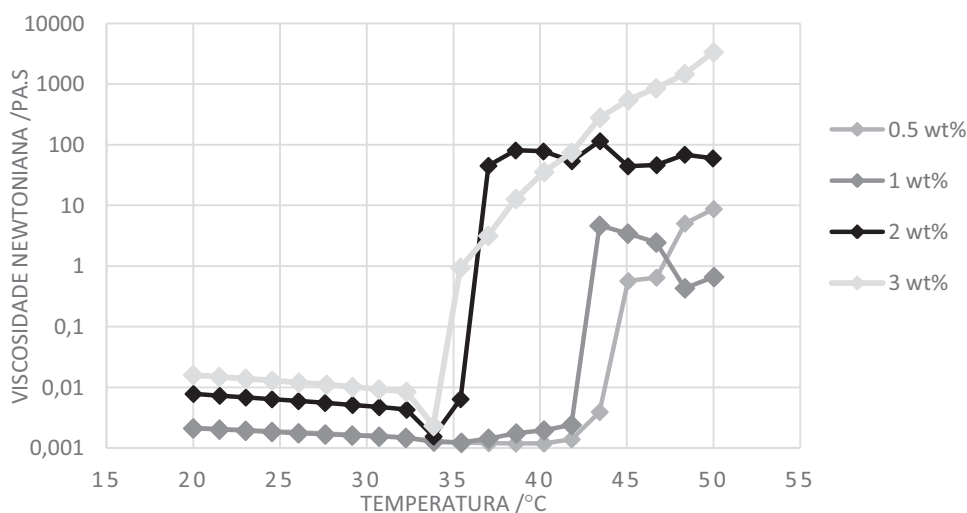


Gráfico 8 - Efeito da variação da concentração de PNIPAM_EQ. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

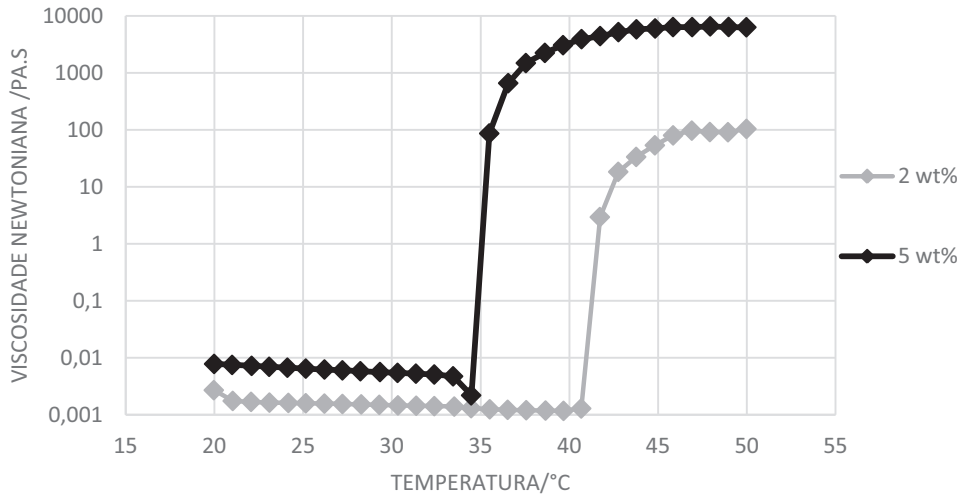


Gráfico 9 - Efeito da variação da concentração de PNPAM_sigma. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

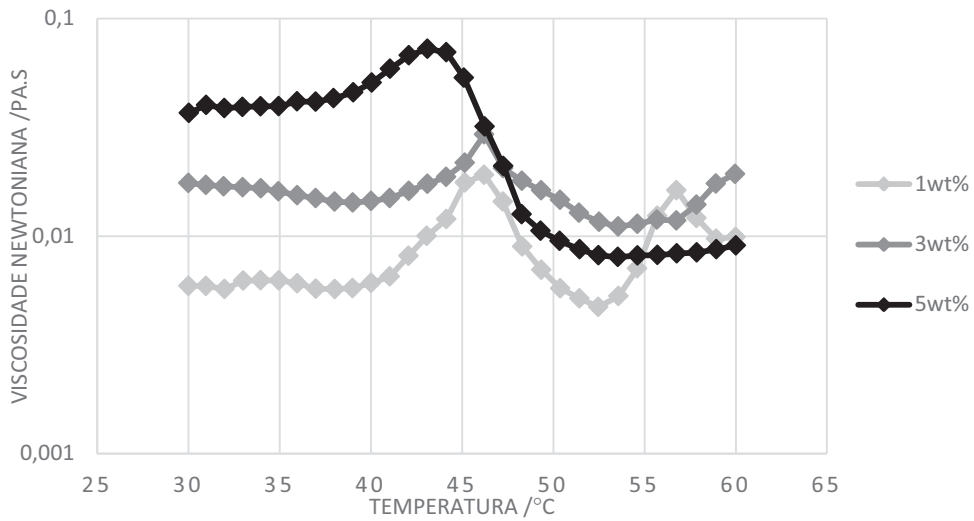


Gráfico 10 - Efeito da variação da concentração de PDMAEMA. Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

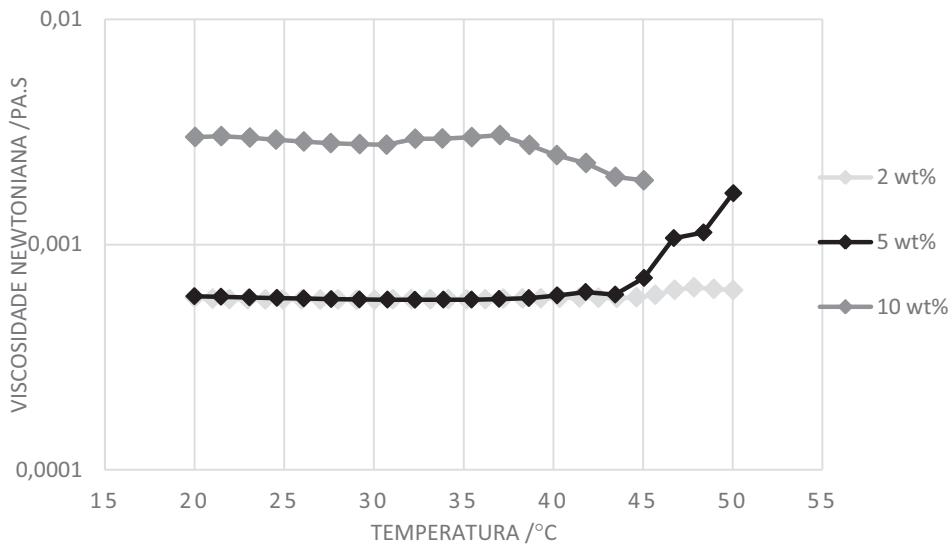


Gráfico 11 - Efeito da variação da concentração de P(DEGMA-TEGMA). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

Analisando as curvas respectivas às soluções de 0.5 e 1wt% de PNIPAM_EQ e 2wt% de PNIPAM_sigma, conclui-se que para concentrações mais baixas a viscosidade não sofre alterações bruscas quando a LCST é alcançada, já que no banho de água se observou que a solução sofreu transição de fase aos 34°C. Isto porque, só a partir de uma determinada quantidade de polímero em solução é que os agregados poliméricos se tornam suficientemente grandes para estabelecer associações hidrofóbicas entre si e, por consequência, dar origem a uma rede tridimensional. No entanto, quando a temperatura atingiu valores superiores, as cadeias de polímero acabaram por se associar entre si, criando uma rede polimérica que fez com a viscosidade aumentasse drasticamente.

Para as soluções de PNIPAM_EQ, as concentrações acima dos 2wt% exibiram curvas da viscosidade similares, sofrendo alterações drásticas quando a LCST foi alcançada. O mesmo aconteceu à solução de PNIPAM_sigma a partir dos 5wt% de concentração. Nestas curvas, a LCST mostrou ser a mesma (34°C) e está de acordo com os valores registados no banho. No entanto, esta diferença do efeito das concentrações deve-se à diferença de peso molecular que existe entre o PNIPAM_EQ e o PNIPAM_sigma. Para o estudo de soluções com a adição de aditivos é suficiente usar a concentração de 5wt% de PNIPAM_sigma.

Para as soluções de PDMAEMA, averiguou-se que quanto maior a concentração de polímero em solução, maior a viscosidade. No entanto, quando a temperatura aumenta, a viscosidade diminui sempre com a mesma tendência. Para as soluções deste polímero, o fenómeno da LCST não é perceptível através destes gráficos. Contudo, como já referido, quando as amostras, com diferentes concentrações de PDMAEMA, foram colocadas num banho de água quente, constatou-se que a LCST diminuiu com o aumento da concentração de polímero em solução, como referido na literatura.¹⁰ Uma vez que a quantidade de polímero em solução aumenta, a associação intermolecular entre as cadeias aumenta e por conseguinte, a solução polimérica sofre uma transição de fase a temperaturas mais baixas.

Relatando, os resultados obtidos com as soluções de P(DEGMA-TEGMA), verifica-se que, embora com diferentes concentrações, a viscosidade mantém-se constante ao longo do intervalo de temperaturas. Todavia, a solução mais concentrada, 10wt%,

apresenta um valor de viscosidade mais elevado entre os 0.001 e os 0.01 Pa.s. Enquanto as outras duas soluções apresentam valores de viscosidade abaixo de 0.001 Pa.s. Logo, o ideal seria utilizar a concentração de 10wt% nas próximas soluções. No entanto, tem que se avaliar também as amostras em termos económicos, porque se pretende um sensor de temperatura o mais económico possível. Por isso, definiu-se a utilização da concentração de 5wt% de polímero, que embora a viscosidade seja inferior, mantêm-se constante como a de 10wt%.

3.2.2. Influência do peso molecular, para o caso do PNIPAM

De forma a analisar as dissemelhanças entre o PNIPAM_EQ e o PNIPAM_sigma, já que apresentam peso molecular diferente, relacionou-se, no mesmo gráfico, as curvas relativas às soluções com a mesma concentração destes dois polímeros.

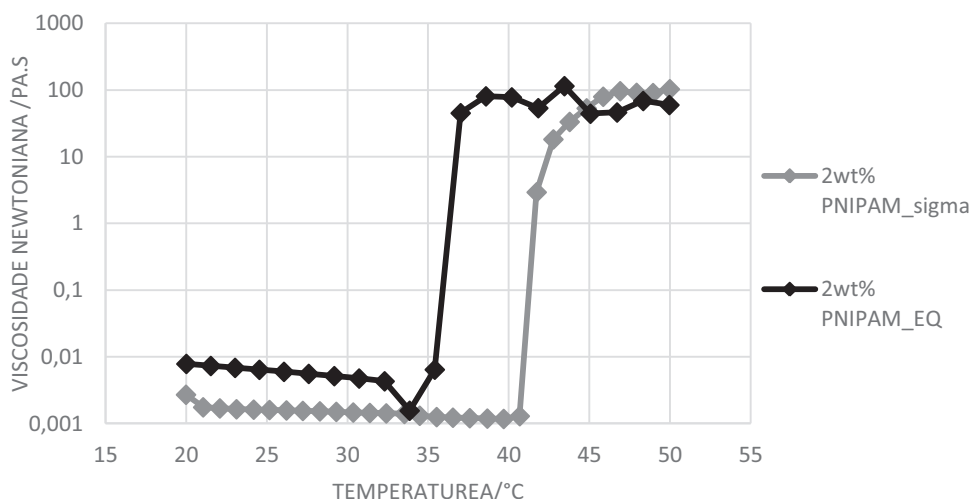


Gráfico 12 - Efeito da variação do peso molecular do PNIPAM (soluções de 2wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

As soluções de PNIPAM, preparadas recorrendo a amostras com peso molecular diferente, apresentam comportamentos distintos no que diz respeito à variação da viscosidade. Para temperaturas mais baixas, a solução de PNIPAM_EQ apresenta valores de viscosidade superiores à solução de PNIPAM_sigma. Como o peso molecular, da solução de PNIPAM_EQ, é maior, o espaço entre as cadeias é menor, o que possibilita um maior número de entrelaçamentos entre as cadeias. Por conseguinte, isto leva à formação de uma rede tridimensional que faz aumentar drasticamente a viscosidade da solução, acima da temperatura de transição crítica. Quando aquecidas num banho de água, ambas as amostras exibiram valor da LCST entre os 33°C e os 34°C. Pode, então, concluir-se que a temperatura de transição crítica deste polímero não está dependente do peso molecular. Na literatura, alguns autores afirmam que a LCST das soluções de PNIPAM é independente do peso molecular,^{5,27} enquanto outros afirmam ser diretamente dependente.⁴⁷

3.2.3. Influência da taxa de arrefecimento e aquecimento, para o caso do PNIPAM

Quando o comportamento reológico do PNIPAM é comparado com os outros polímeros, verifica-se uma notável diferença nos valores da viscosidade, quando o polímero sofre transição de fase. Deste modo, procedeu-se à realização de testes reológicos, num processo de aquecimento seguido de arrefecimento, no intervalo de temperaturas dos 20-50°C, a fim de estudar a histerese do PNIPAM. A histerese do PNIPAM é importante para o sensor de febre, de forma a perceber se a solução volta ao estado inicial à mesma temperatura que sofre transição de fase.

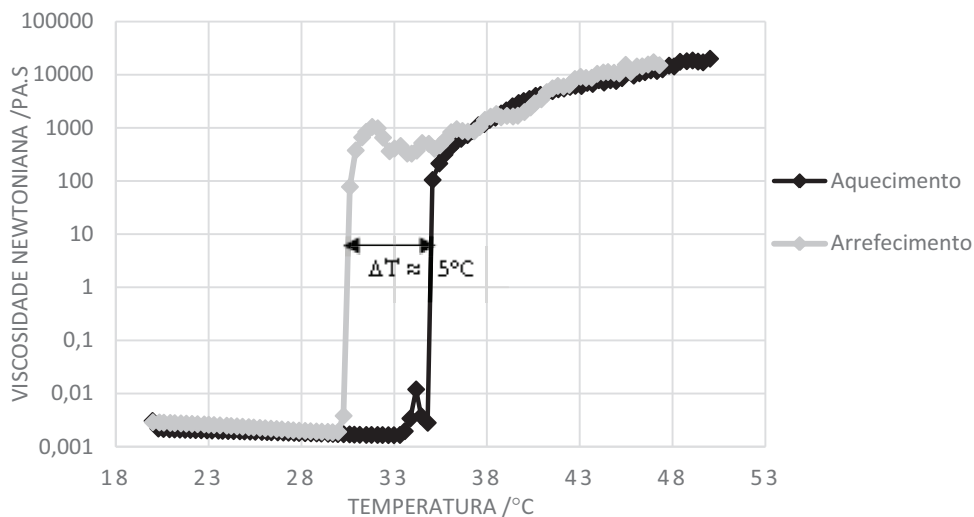


Gráfico 13 - Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de 3wt% PNIPAM_EQ, com velocidades de aquecimento e arrefecimento iguais (1°C/min).

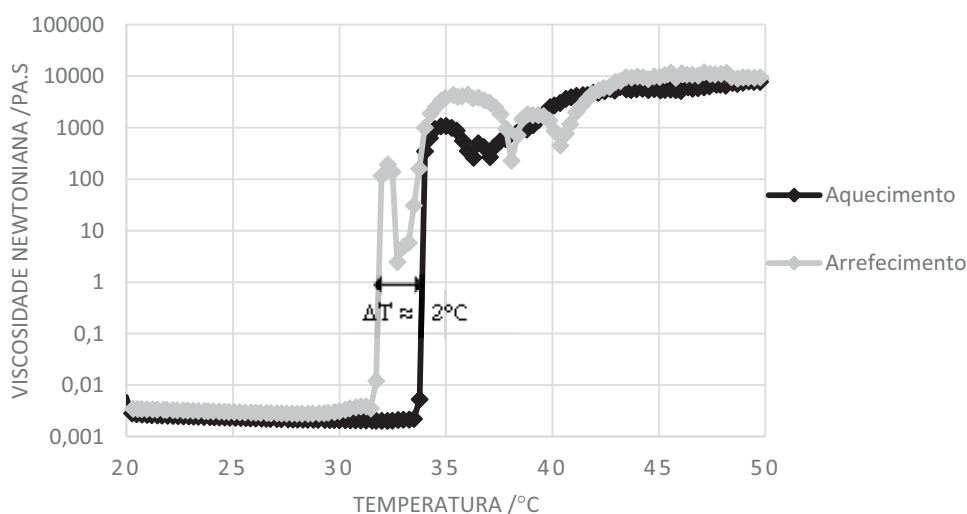


Gráfico 14 - Ciclos de subida e descida da temperatura usando a mesma solução de 3wt% PNIPAM_EQ, com velocidades de aquecimento e arrefecimento iguais ($\approx 0.8^\circ\text{C}/\text{min}$).

Em ambos os gráficos, nas curvas de arrefecimento, quando comparadas com as curvas de aquecimento, verifica-se uma diminuição da LCST. Isto porque, acima da LCST, são formadas “pontes” hidrofóbicas intra e intermoleculares entre as cadeias de polímero, que quando a temperatura começa a diminuir demoram mais tempo a serem quebradas. Deste modo, conclui-se que a reversibilidade do sistema no processo de arrefecimento é mais lenta.

Quando se diminuiu a taxa de aquecimento e de arrefecimento (Gráfico 14), a diferença na LCST entre a curva de aquecimento e arrefecimento diminuiu. Ou seja, esta variação passou dos 5°C para os 2°C. Pode, então, concluir-se que a histerese do PNIPAM_EQ depende fortemente da cinética do sistema.

3.2.4. Influência da adição de aditivos na temperatura crítica

Uma vez que a LCST característica de cada um dos polímeros em estudo não é a indicada para o sensor de febre, foram adicionadas, às soluções poliméricas, a ureia e a tetrametilureia de forma a estudar a sua influência na temperatura de transição de fase de cada polímero.

3.2.4.1. Efeito da adição de ureia

As soluções aquosas de ureia apresentam uma polaridade inferior à da água. Logo, uma possibilidade seria que a solubilidade do polímero aumentasse em soluções aquosas com ureia. E, deste modo, a LCST característica dos polímeros sofreria um deslocamento para valores superiores.

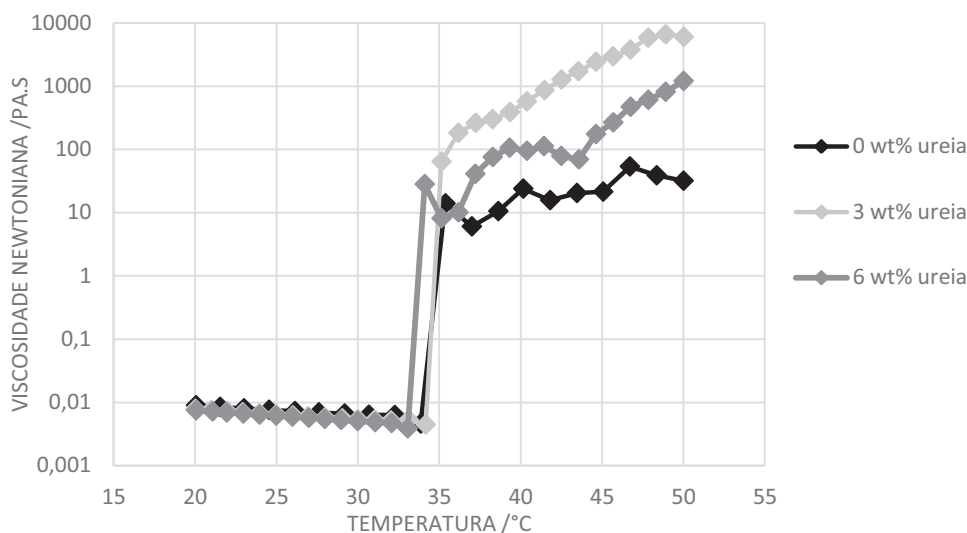


Gráfico 15 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de PNIPAM_sigma (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

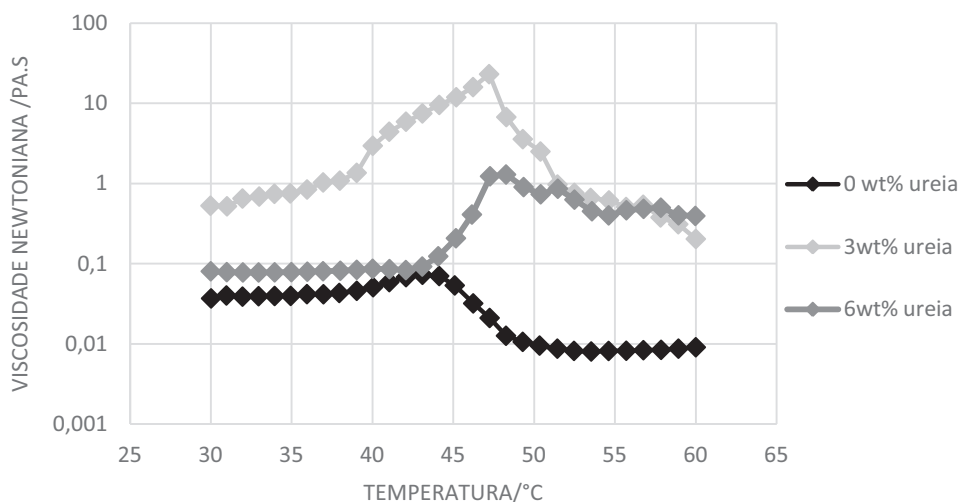


Gráfico 16 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de PDMAEMA (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

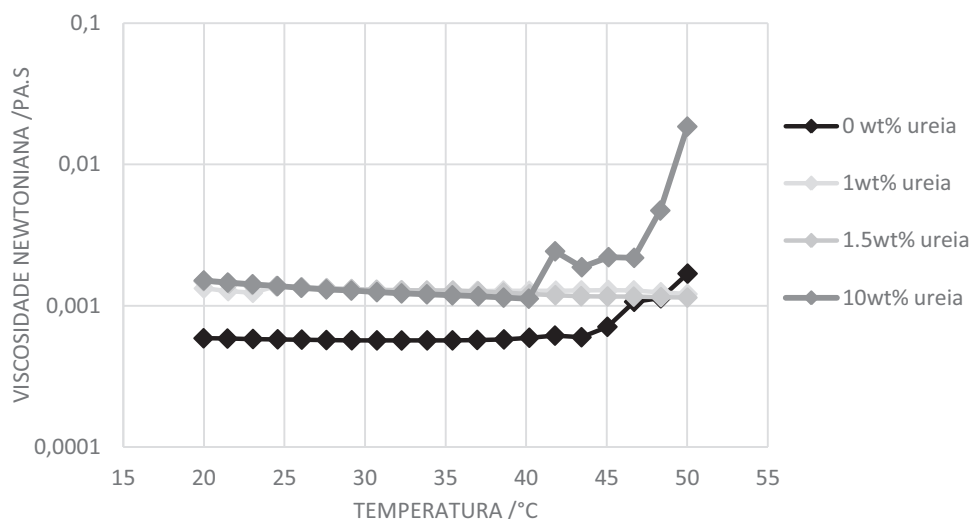


Gráfico 17 - Efeito da adição de diferentes concentrações de ureia à solução de P(DEGMA-TEGMA) (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

Os resultados mostram que, abaixo da LCST, a adição de ureia, nas soluções de PNIPAM_sigma, não interfere nos valores da viscosidade da solução. Isto porque tanto a concentração de PNIPAM como o seu peso molecular já são suficientemente elevados e, por isso, já existe formação de pontes de hidrogénio entre as cadeias. A adição de ureia não favorece, neste caso, a construção de mais pontes. No entanto, acima da LCST, a viscosidade das soluções com ureia aumenta cerca de 10 vezes, quando comparadas com as soluções de PNIPAM só em água. Deste modo, verifica-se a ação da ureia como agente reticulante, proposta pela literatura.^{37, 38} A ureia, acima da LCST, liga fortemente as cadeias de polímero, e, por isso, a viscosidade sofre alterações. É de notar que a solução de PNIPAM com 6wt% de ureia apresenta viscosidade inferior, quando comparada com a solução com 3wt% de ureia. Isto porque para a quantidade de cadeias de polímero presentes em solução (5wt% PNIPAM), os 6wt% de ureia são demasiados. Por isso, há uma parte da ureia que atua como agente reticulante, favorecendo a ligação das cadeias poliméricas (aumentando a viscosidade), e a restante associa-se ao solvente, diminuindo a associação das cadeias.

Relativamente ao valor da LCST das soluções de PNIPAM_sigma, nos testes reológicos, a adição de ureia ao PNIPAM não induz um efeito notório na temperatura crítica. No entanto, tanto no banho de água como no teste de espectroscopia UV-vis ocorreu a diminuição da LCST. Com o aumento da temperatura, o polímero torna-se hidrofóbico, e a ureia, uma vez mais hidrofóbica que a água, terá mais afinidade para

com ele e daí a promove as ligações entre as cadeias, actuando como reticulante, e, conseqüentemente diminuiu a LCST.

As soluções de PDMAEMA apresentam a mesma tendência com e sem a adição de ureia: inicialmente a viscosidade aumenta ligeiramente e depois decai para temperaturas superiores. No entanto, para temperaturas mais baixas, a viscosidade das soluções com adição de ureia é superior às soluções do polímero só em água. Isto porque a ureia, tal como no caso do PNIPAM, estará a atuar como agente reticulante ligando as cadeias poliméricas entre si e, conseqüentemente, favorece o aumento da viscosidade.

Nas soluções de P(DEGMA-TEGMA), observa-se um ligeiro aumento da viscosidade da solução quando a ureia é adicionada. Isto sugere que a ureia é adicionada quando o polímero não forma pontes (valores de viscosidade muito baixos do polímero só em água provam isso), o que significa que a ureia tem um papel importante para a formação de uma rede polimérica. Este facto deve-se ao provável aumento do número de interações entre a ureia e as cadeias de polímero, e conseqüente aumento da viscosidade. Mais uma vez, devido ao peso molecular deste polímero ser reduzido, nestes testes, não é possível observar a que temperatura ocorre a transição de fase.

3.2.4.2. Efeito da adição de tetrametilureia

Ao aumentar-se a hidrofobicidade da ureia, através da introdução da tetrametilureia, é verificado o oposto daquilo que acontece para o caso da ureia. Como já referido pela literatura, a adição de tetrametilureia nas soluções de PNIPAM e PDMAEMA aumenta a sua LCST característica.^{37, 38} De forma a analisar se o mesmo se verifica com os polímeros em estudo, foram adicionadas duas concentrações diferentes de tetrametilureia a cada uma das soluções poliméricas destes dois polímeros.

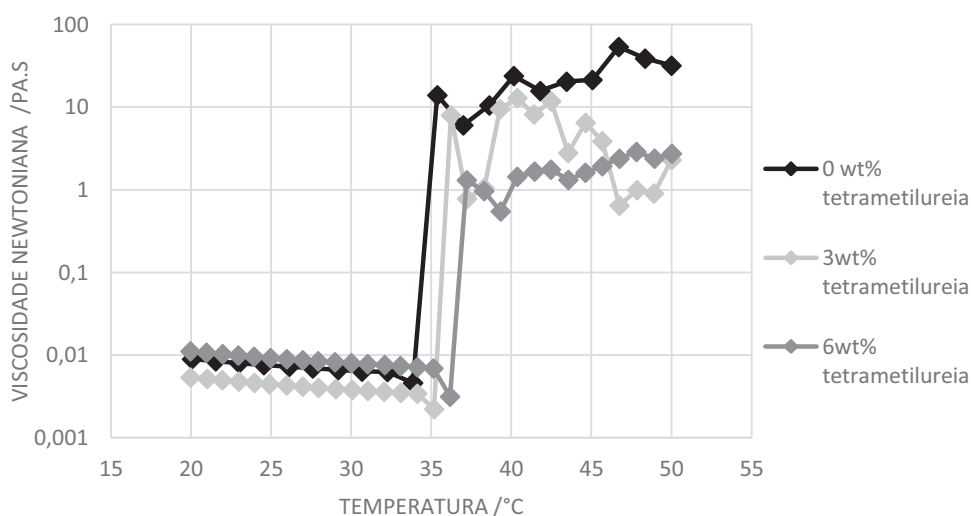


Gráfico 18 - Efeito da adição de diferentes concentrações de tetrametilureia à solução de PNIPAM_sigma (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

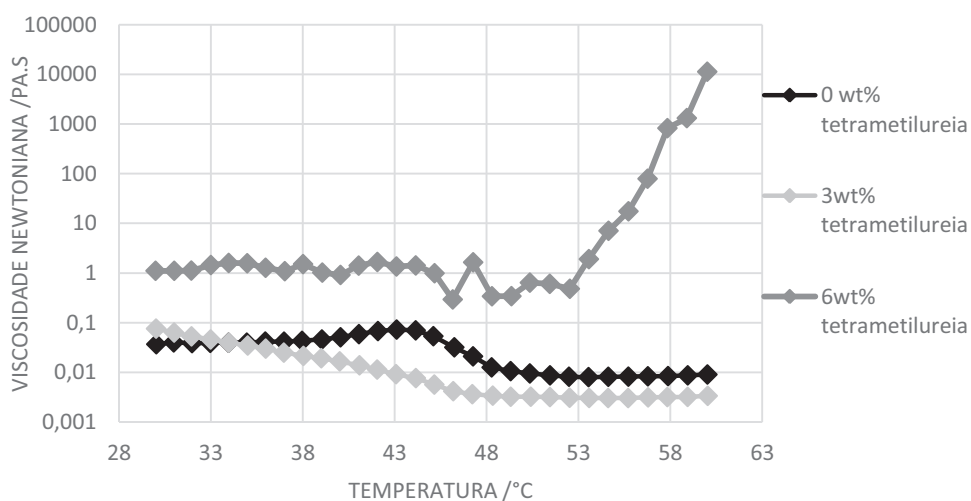


Gráfico 19 - Efeito da adição de diferentes concentrações de tetrametilureia à solução de PDMAEMA (5wt%). Dependência da viscosidade em função da temperatura (aquecimento).

Analisando a dependência da viscosidade em função da temperatura para o caso do PNIPAM_sigma com a adição de tetrametilureia, mais uma vez o fenómeno LCST é bem identificável. A única diferença é que efetivamente ocorre um aumento no valor da LCST com o aumento da concentração de tetrametilureia em solução. Esta alteração no valor da LCST será, então, devido à diminuição da polaridade do meio com o aumento dos grupos metilo (-CH₃). No mesmo gráfico, verifica-se, também, que, abaixo da LCST, não existe uma notável diferença nos valores da viscosidade da solução de PNIPAM_sigma só em água e com a adição de tetrametilureia. No entanto, acima da LCST, na presença de uma maior concentração de tetrametilureia, a viscosidade diminuiu. Para justificar esta alteração dos valores de viscosidade, pode-se, então, pensar na tetrametilureia como um surfactante não-iónico. A tetrametilureia estará a atuar como se fizesse parte do polímero, rodeando os grupos hidrofóbicos, e por isso, levando a uma conformação mais estendida. Desta forma, o efeito hidrofóbico diminui o que faz com que os agregados que se formem sejam mais pequenos e estejam mais dispersos, comprovado também pela técnica DLS (Dispersão dinâmica de luz).

Para o caso do PDMAEMA, com a adição de 3wt% de tetrametilureia, a viscosidade das soluções diminuiu, como aconteceu também nas soluções de PNIPAM_sigma. Isto porque, a tetrametilureia atua como se fizesse parte do polímero, mantendo as cadeias de polímero estendidas.

Por contrapartida, com a adição de 6wt% de tetrametilureia, a viscosidade da solução aumentou, quando comparada com a solução do polímero só em água. A partir dos 53°C verifica-se um aumento acentuado da viscosidade que provavelmente se deve ao elevado peso molecular do PDMAEMA em estudo. Como o polímero por si só é bastante grande, com a adição deste aditivo, a viscosidade da solução aumenta ainda mais.

3.3. Dimensão das partículas em função da temperatura

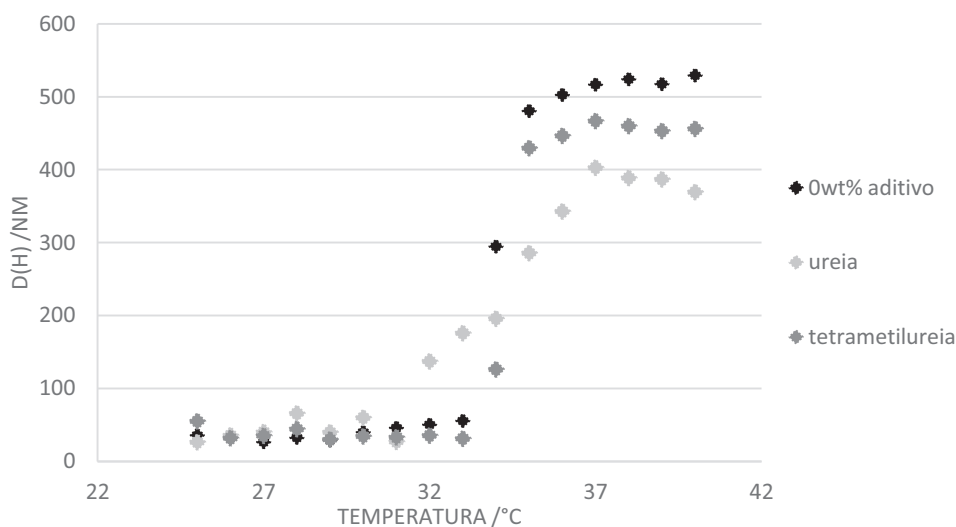


Gráfico 20 - Variação do diâmetro hidrodinâmico das partículas (D_h) com o aumento da temperatura para as soluções 0.1wt% PNIPAM-sigma só em água e com a adição de ureia e tetrametilureia.

Neste gráfico, pode-se observar o crescimento do diâmetro hidrodinâmico das partículas de PNIPAM-sigma só em água e com a adição de ureia e tetrametilureia. Todas as curvas mostram uma transição abrupta a uma determinada temperatura, a LCST. No entanto, existe uma diferença, no valor da LCST, que está de acordo com os testes espectroscópicos apresentados anteriormente. As partículas de PNIPAM aumentam cerca de dez vezes o seu tamanho para valores imediatamente acima da LCST. Com a adição de ureia, verificou-se uma diminuição do diâmetro hidrodinâmico das partículas, formadas acima da LCST. Quando esta amostra foi colocada no banho de água, ocorreu a precipitação do PNIPAM na presença de ureia. O que quer dizer que, as cadeias poliméricas que sobraram em solução, ou seja, que não formaram agregados por intermédio da ureia, e não precipitaram, formam agregados de menores dimensões, devido possivelmente à baixa concentração de polímero em solução. Com a adição de tetrametilureia, a tendência do crescimento das partículas é muito similar às soluções do polímero só em água. No entanto, o tamanho dos agregados é sensivelmente menor, isto porque devido ao aumento dos grupos metilo ($-\text{CH}_3$) em solução, o efeito hidrofóbico do sistema (polímero + tetrametilureia + água) diminui o que faz com que os agregados que se formem sejam mais pequenos.

Capítulo 4

4. O protótipo

Em conjunto com o Centro de Desenvolvimento Rápido do Produto, em Leiria, cujo trabalho incide sobre a construção de protótipos das mais diversas áreas, foi desenvolvido o primeiro protótipo do sensor de temperatura, por prototipagem rápida.

O sensor é composto por uma cápsula de plástico, sendo que num dos lados possui uma chapa de cobre, como se vê na Figura 15. O cobre foi o material escolhido para estar em contacto com a pele uma vez que é um bom condutor de calor. Na pequena cápsula foi inserida a solução, por nós preparada em laboratório. Na Figura 16, pode-se ver que a solução no interior da cápsula quando em contacto com a temperatura corporal, muda de cor. Esta solução apresenta LCST entre os 36 e os 37°C.

Para esta cápsula foram também pensadas outras funções: por exemplo para verificar a temperatura dos biberões para os bebés.

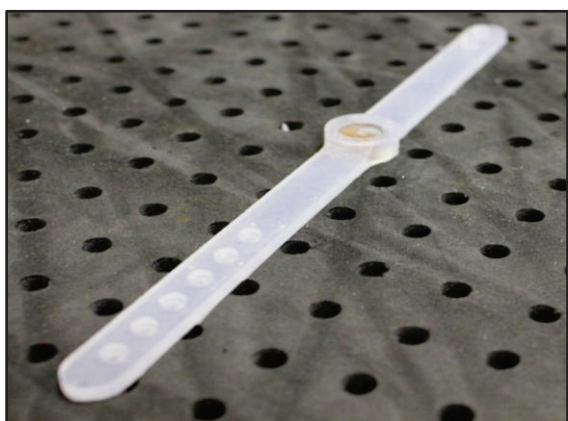


Figura 14 - Primeiro protótipo do sensor de temperatura com bracelete de silicone.



Figura 15 - Cápsula de plástico.

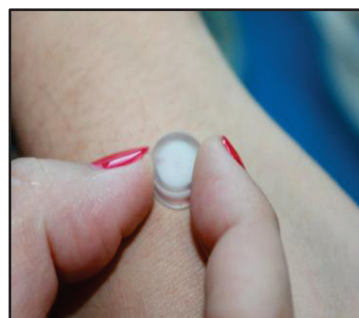


Figura 16 - Cápsula em contacto com a temperatura corporal.

Para este primeiro protótipo foi feito um re-design, com mais pormenor e sem defeitos. A chapa de cobre, presente na cápsula, levará um revestimento especial para não causar reações alérgicas, quando em contacto com a pele dos bebés. Estão pensadas duas cores diferentes para a bracelete da pulseira: a azul para os meninos e a cor-de-rosa para as meninas.



Figura 17 – Re-design do protótipo do sensor de temperatura.

Capítulo 5

5. Conclusão

Este trabalho demonstra como diferentes fatores como a concentração de polímero, peso molecular e adição de co-solutos podem influenciar a estabilidade das soluções poliméricas, afetando a LCST característica.

A variação da concentração de polímero, bem como de peso molecular, não afetou a LCST das diferentes amostras de PNIPAM utilizadas. No entanto, para o PDMAEMA, verificou-se uma forte relação entre a concentração de polímero em solução e a LCST. Com o aumento da concentração de polímero, a LCST diminuiu já que, com o aumento da quantidade de polímero em solução, aumentou, também, a associação intermolecular hidrofóbica entre as cadeias. A temperatura de transição de fase do P(DEGMA-TEGMA) não variou com a concentração de polímero em solução.

A resposta do PNIPAM e do PDMAEMA à transição de fase é acompanhada por alterações na viscosidade das soluções poliméricas. No que diz respeito às soluções de P(DEGMA-TEGMA), o valor da viscosidade manteve-se constante ao longo do intervalo de temperaturas. Isto porque, de entre os três polímeros, é aquele que apresenta peso molecular mais reduzido. Por isto, o comprimento da cadeia em solução é menor. Logo, os agregados poliméricos formados não são suficientemente grandes para formar uma rede polimérica e, conseqüentemente aumentar a viscosidade.

A adição de ureia e de tetrametilureia mostrou resultados que estão de acordo com o proposto pela literatura. Com a adição de ureia, para o caso das soluções de PNIPAM, a LCST diminuiu e a viscosidade das soluções, acima da LCST, aumentou cerca de 10 vezes quando comparada com as soluções de polímero somente em água. Isto poderá efetivamente indicar que a ureia estará a atuar como agente reticulante, visto que, uma vez mais hidrofóbica que a água, induz o enrolamento das cadeias mais cedo. Com a adição de tetrametilureia, a LCST das soluções de PNIPAM aumentou, já que devido ao aumento dos grupos metilo em solução, a polaridade do meio diminuiu, aumentando o carácter hidrofílico do polímero. Desta forma, deslocou-se a LCST para valores superiores.

Para o caso das soluções de PDMAEMA, também se comprova a ação da ureia como agente reticulante já que, para além do aumento da viscosidade, também se verificou uma diminuição da LCST.

Para o caso do P(DEGMA-TEGMA), na presença de ureia, a polaridade do meio diminuiu, o que levou ao aumento da LCST. Muito provavelmente, isto estará relacionado com as propriedades dos grupos oxietileno presentes neste polímero.

É de notar que todos os sistemas poliméricos testados neste trabalho são perfeitamente reproduzíveis, e por isso, os que apresentam LCST apropriada, podem ser implementados no sensor de temperatura. O sistema P(DEGMA-TEGMA) + 1.5wt% Ureia foi aquele que apresentou o valor de LCST indicado (38°C).

De entre os três polímeros em estudo neste trabalho, o PNIPAM será o candidato ideal para o sensor de temperatura. Isto porque, comparativamente aos outros, para além de apresentar uma resposta rápida à temperatura crítica, a opacidade das soluções, acima da LCST, é elevada.

No futuro, seria interessante continuar a testar outras concentrações de ureia e de polímero, assim como de outros derivados da ureia. Uma vez que com a adição de ureia só se conseguiu um sistema ideal para o sensor de febre, propõe-se a adição de outros aditivos que possuam a capacidade de deslocar a LCST para o valor pretendido de 38°C.

Referências

1. M.R.Aguilar, C. E., A. Gallardo, B. Vázquez, and J.S. Román, Smart Polymers and Their Applications as Biomaterials. *Topics in Tissue Engineering* **2007**, Vol. 3.
2. Alarcon, C. d. l. H.; Pennadam, S.; Alexander, C., Stimuli responsive polymers for biomedical applications. *Chemical Society Reviews* **2005**, 34 (3), 276-285.
3. Kumar, A.; Srivastava, A.; Galaev, I. Y.; Mattiasson, B., Smart polymers: Physical forms and bioengineering applications. *Progress in Polymer Science* **2007**, 32 (10), 1205-1237.
4. Etienne Cabane, X. Z., Karolina Langowska, Cornelia G. Palivan, Wolfgang Meier, Stimuli-Responsive Polymers and Their Applications in Nanomedicine. *Biointerphases, Journal for the Quantitative Biological Interface Data* **2012**, 7:9.
5. Schmaljohann, D., Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2006**, 58 (15), 1655-1670.
6. Gil, E. S.; Hudson, S. M., Stimuli-reponsive polymers and their bioconjugates. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29 (12), 1173-1222.
7. Börner, H. G.; Kühnle, H.; Hentschel, J., Making “smart polymers” smarter: Modern concepts to regulate functions in polymer science. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry* **2010**, 48 (1), 1-14.
8. Hoffman, A. S., Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2013**, 65 (1), 10-16.
9. Ward, M. A.; Georgiou, T. K., Thermoresponsive Polymers for Biomedical Applications. *Polymers* **2011**, 3 (3), 1215-1242.
10. Zhang, C.; Maric, M., Synthesis of Stimuli-responsive, Water-soluble Poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate/styrene] Statistical Copolymers by Nitroxide Mediated Polymerization. *Polymers* **2011**, 3 (3), 1398-1422.
11. Priya James, H.; John, R.; Alex, A.; Anoop, K. R., Smart polymers for the controlled delivery of drugs – a concise overview. *Acta Pharmaceutica Sinica B* **2014**, 4 (2), 120-127.
12. Hoffman, A. S., Bioconjugates of Intelligent Polymers and Recognition Proteins for Use in Diagnostics and Affinity Separations. *Clinical Chemistry* **2000**, 46 (9), 1478-1486.
13. Li, W., Novel dendritic macromolecules with water-soluble, thermoresponsive and amphiphilic properties. *ETH - Zürich* **2010**.
14. Reddy, P. M.; Taha, M.; Kumar, A.; Venkatesu, P.; Lee, M.-J., Interruption of hydration state of thermoresponsive polymer, poly(N-isopropylacrylamide) in guanidinium hydrochloride. *Polymer* **2013**, 54 (2), 791-797.
15. Roy, D.; Brooks, W. L. A.; Sumerlin, B. S., New directions in thermoresponsive polymers. *Chemical Society Reviews* **2013**, 42 (17), 7214-7243.
16. Uemukai, T.; Hioki, T.; Ishifune, M., Thermoresponsive and Redox Behaviors of Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Block Copolymers Having TEMPO Groups as Their Side Chains. *International Journal of Polymer Science* **2013**, 2013, 9.
17. Vihola, H., Studies on Thermosensitive Poly(N-vinylcaprolactam) Based Polymers for Pharmaceutical Applications. *Helsinki University* **2007**, 3-10.
18. Plamper, F. A.; Ruppel, M.; Schmalz, A.; Borisov, O.; Ballauff, M.; Müller, A. H. E., Tuning the Thermoresponsive Properties of Weak Polyelectrolytes: Aqueous

- Solutions of Star-Shaped and Linear Poly(N,N-dimethylaminoethyl Methacrylate). *Macromolecules* **2007**, *40* (23), 8361-8366.
19. Vancoillie, G.; Frank, D.; Hoogenboom, R., Thermoresponsive poly(oligo ethylene glycol acrylates). *Progress in Polymer Science* **2014**, *39* (6), 1074-1095.
 20. Liu, G.; Wu, D.; Ma, C.; Zhang, G.; Wang, H.; Yang, S., Insight into the Origin of the Thermosensitivity of Poly[2-(dimethylamino)ethyl methacrylate]. *ChemPhysChem* **2007**, *8* (15), 2254-2259.
 21. Zhou, Y.; Yan, D.; Dong, W.; Tian, Y., Temperature-Responsive Phase Transition of Polymer Vesicles: Real-Time Morphology Observation and Molecular Mechanism. *The Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111* (6), 1262-1270.
 22. Ruel-Gariépy, E.; Leroux, J.-C., In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2004**, *58* (2), 409-426.
 23. Bergbreiter, D. E.; Mijalis, A. J.; Fu, H., Polymer Inverse Temperature-Dependent Solubility: A Visual Demonstration of the Importance of TΔS in the Gibbs Equation. *Journal of Chemical Education* **2012**, *89* (5), 675-677.
 24. Zhang, Y.; Furyk, S.; Bergbreiter, D. E.; Cremer, P. S., Specific Ion Effects on the Water Solubility of Macromolecules: PNIPAM and the Hofmeister Series. *Journal of the American Chemical Society* **2005**, *127* (41), 14505-14510.
 25. Barker, I. C.; Cowie, J. M. G.; Huckerby, T. N.; Shaw, D. A.; Soutar, I.; Swanson, L., Studies of the “Smart” Thermoresponsive Behavior of Copolymers of N-Isopropylacrylamide and N,N-Dimethylacrylamide in Dilute Aqueous Solution. *Macromolecules* **2003**, *36* (20), 7765-7770.
 26. Mao, H.; Li, C.; Zhang, Y.; Furyk, S.; Cremer, P. S.; Bergbreiter, D. E., High-Throughput Studies of the Effects of Polymer Structure and Solution Components on the Phase Separation of Thermoresponsive Polymers. *Macromolecules* **2004**, *37* (3), 1031-1036.
 27. Bischofberger, I.; Calzolari, D. C. E.; De Los Rios, P.; Jelezarov, I.; Trappe, V., Hydrophobic hydration of poly-N-isopropyl acrylamide: a matter of the mean energetic state of water. *Sci. Rep.* **2014**, *4*.
 28. Rashmi R Kokardekar, V. K. S., Hardik R Mody, PNIPAM Poly (N-isopropylacrylamide): A Thermoresponsive “Smart” Polymer in Novel Drug Delivery Systems. *Internet Journal of Medical Update* **2012** *7*(2), 59-62.
 29. Lu, Y.; Ye, X.; Zhou, K.; Shi, W., A Comparative Study of Urea-Induced Aggregation of Collapsed Poly(N-isopropylacrylamide) and Poly(N,N-diethylacrylamide) Chains in Aqueous Solutions. *The Journal of Physical Chemistry B* **2013**, *117* (24), 7481-7488.
 30. Cho, E. C.; Lee, J.; Cho, K., Role of Bound Water and Hydrophobic Interaction in Phase Transition of Poly(N-isopropylacrylamide) Aqueous Solution. *Macromolecules* **2003**, *36* (26), 9929-9934.
 31. Costa, M. Caracterização de Polímeros Inteligentes para Aplicações Biomédicas. Tese de Mestrado Universidade de Coimbra, Coimbra, 2012.
 32. Niskanen, J.; Wu, C.; Ostrowski, M.; Fuller, G. G.; Hietala, S.; Tenhu, H., Thermoresponsiveness of PDMAEMA. Electrostatic and Stereochemical Effects. *Macromolecules* **2013**, *46* (6), 2331-2340.
 33. Orakdogan, N., pH-responsive swelling behavior, elasticity and molecular characteristics of poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate) gels at various initial monomer concentrations. *Polym. Bull.* **2011**, *67* (7), 1347-1366.

34. Krister Holmberg, B. J., Bengt Kronberg and Bjorn Lindman, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution*. Second Edition ed. ed.; John Wiley & Sons, Ltd: 2002.
35. Stumpe, M. C.; Grubmüller, H., Aqueous Urea Solutions: Structure, Energetics, and Urea Aggregation. *The Journal of Physical Chemistry B* **2007**, *111* (22), 6220-6228.
36. Fang, Y.; Qiang, J. C.; Hu, D. D.; Wang, M. Z.; Cui, Y. L., Effect of urea on the conformational behavior of poly(N-isopropylacrylamide). *Colloid Polym Sci* **2001**, *279* (1), 14-21.
37. Cremer, Y. Z. a. P. S., Chemistry of Hofmeister Anions and Osmolytes. *Annual Review of Physical Chemistry* **2010**, *Vol. 61*: 63-83.
38. Sagle, L. B.; Zhang, Y.; Litosh, V. A.; Chen, X.; Cho, Y.; Cremer, P. S., Investigating the Hydrogen-Bonding Model of Urea Denaturation. *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131* (26), 9304-9310.
39. Barnes, H. H., J.; Walters, K., An introduction to rheology. *Elsevier, UK* **1989**.
40. Sperling, L. H., INTRODUCTION TO PHYSICAL POLYMER SCIENCE. *John Wiley & Sons* **2006**.
41. Barnes, H. A., A HANDBOOK OF ELEMENTARY RHEOLOGY. *University of Wales Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics* **2000**.
42. AG, L. I. http://www.lsinstruments.ch/technology/dynamic_light_scattering_dls/ (accessed 2-06-2014).
43. Horiba Dynamic Light Scattering Technology. <http://www.horiba.com/scientific/products/particle-characterization/technology/dynamic-light-scattering/> (accessed 02-06-2014).
44. Malvern Dynamic Light Scattering (DLS). <http://www.malvern.com/en/products/technology/dynamic-light-scattering/> (accessed 02-06-2014).
45. Malvern Particle size. <http://www.malvern.com/en/products/measurement-type/particle-size/> (accessed 02-06-2014).
46. Malvern, Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes Ltd, M. I., Ed.
47. Pamies, R.; Zhu, K.; Kjøniksen, A.-L.; Nyström, B., Thermal response of low molecular weight poly-(N-isopropylacrylamide) polymers in aqueous solution. *Polym. Bull.* **2009**, *62* (4), 487-502.