

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAIS CRISTINE LOPES

OBTENÇÃO DE GÉIS ELETROATIVOS A PARTIR DE POLIPIRROL E PECTINA
CÍTRICA

CURITIBA
2014

LAIS CRISTINE LOPES

OBTENÇÃO DE GÉIS ELETROATIVOS A PARTIR DE POLIPIRROL E PECTINA
CÍTRICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química, sub-área Físico-Química.

Orientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Riegel-Vidotti

Coorientador: Prof. Dr. Marcio Vidotti

CURITIBA
2014

A minha família por todo amor, apoio e incentivo durante toda minha vida, este trabalho dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre estar ao meu lado, principalmente por me sustentar em suas mãos sagradas nos momentos mais difíceis.

Aos meus pais, minha irmã, avós, tios, primos e amigos de Primeiro de Maio, por ser minha base. Por acreditarem e lutarem comigo, e principalmente por entenderem minha ausência. São eles que me mostram diariamente o verdadeiro amor.

A Prof. Dra. Izabel Cristina Riegel-Vidotti, pela confiança e paciência em me orientar. Principalmente pelo apoio durante esses dois anos de trabalho, sempre me dando forças nos momentos que eu mais precisei com toda sua gentileza e carinho.

Ao Prof. Dr. Marcio Vidotti, pela coorientação e por todo conhecimento transmitido.

A Prof. Dra. Fernanda F. Simas Tosin, pela colaboração durante o desenvolvimento desse trabalho, pelas ricas discussões dos resultados, por todo incentivo e atenção, pela amizade e descontrações entre uma discussão e outra.

A Prof. Dra. Elisa, pela colaboração dentro do nosso grupo, sempre prestativa e determinada nos contagiando com seu entusiasmo pela pesquisa e pelas palavras de amizade.

Aos Profs. Drs, Aldo Zarbin e Edvani Curti Muniz por aceitarem o convite para compor a banca.

A todos os amigos do grupo de pesquisa GPMLn, minha família científica linda! Fran, Helo, Aline, Raq, Paty, Ana, Carol, Mari, Igor, Renan, Ronaldo, Leandro, Rafa e Bruno pela companhia diária e principalmente pela amizade dentro e fora do laboratório.

Ao Leandro, que chegou nos últimos meses desse trabalho, talvez os mais difíceis, por todo apoio e carinho nessa reta final.

A Aline Grein, minha grande amiga! Obrigada pelo apoio incondicional, sempre atenciosa, seja para assuntos profissionais ou pessoais. Suas palavras de amizade, amor, carinho e incentivo ficarão sempre guardadas no meu coração.

Ao Bruno, sempre me salvando! Quando precisei de um programa para o computador, quando as análises colorimétricas nunca davam certo, pelas primeiras análises por SEC, enfim, por sempre ser tão prestativo.

A Raq, por não ter medido esforços nessa reta final do mestrado com os estudos eletroquímicos. Pelas conversas e conselhos entre um experimento e outro.

Aos amigos de Maringá, Camila, Vivian, Jorge, Gisele e Ariennes, mesmo a vida levando cada um para um canto é certo que sempre estaremos presente comemorando juntos cada vitória!

A todos os amigos do Departamento de Química e fora do departamento, Agne, Aline, Maya, Fran, Douglas, Ângelo, Prof. Cida, Vivian, Natalia, Paula e Eduardo! Pelos momentos de descontração, pelo incentivo e amizade. Especialmente a Agne e a Aline por estarem ao meu lado me apoiando diariamente.

Ao Dr. Mateus Borba Cardoso (LNLS) por disponibilizar as medidas de potencial zeta.

Ao Fábio, pelos difratogramas de raios-X e pela sincera amizade durante esses dois anos.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR, pela infraestrutura disponibilizada para as análises de MEV e Raman.

A Prof. Dra. Elisa e ao seu aluno José, pela ajuda com o programa BEST7.

Ao Tiago, pelo treinamento no FT-IR.

Ao Prof. Dr. Luís Marchesi, pela colaboração nos experimentos de caracterização eletroquímica.

Ao CNPq, Projetos 308635/2011-6 e 564741/2010-8 (Rede Nanoglicobiotec/CAPES-Brasil).

A CAPES, pela bolsa concedida.

A todos, que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho pudesse ser realizado!

*"Jamais desista daquilo que você realmente quer fazer.
A pessoa que tem grandes sonhos é mais forte
do que aquela que possui todos os fatos."
H. Jackson Brown*

*"Ninguém nunca conseguiu alcançar o sucesso simplesmente fazendo o que
lhe é solicitado. É a quantidade e a excelência do que está além do solicitado
que determina a grandeza da distinção final"
Charles Kendall Adams*

RESUMO

Neste trabalho foram preparados hidrogéis a partir de pectina cítrica e polipirrol (PPy). Foram estudadas comparativamente a pectina bruta (PND) e dialisada (PD). A caracterização das amostras revelou diferenças em sua massa molar média, polidispersividade, teor protéico e grau de metoxilação. A amostra PD é mais metoxilada, menos polidispersa, tem maior massa molar média e teor proteico. Em consequência, as propriedades em solução são diferentes, sendo que a PD é mais viscosa. Tanto a PND quanto a PD foram empregadas como agente de estabilização na síntese de polipirrol em meio aquoso. A formação do polipirrol foi acompanhada por UV-Vis pelo crescimento da intensidade das bandas em 450 e 800 nm. O potencial zeta das partículas de PPy estabilizadas por PND (PND-PPy) e por PD (PD-PPy) é negativo (-25 mV), justificando a estabilidade das dispersões, por no mínimo um mês. A partir das amostras PND-PPy e PD-PPy, foram preparados hidrogéis, por reticulação da matriz péctica com CaCl₂. Géis preparados na ausência de PPy foram também estudados comparativamente. Por espectroscopia Raman, evidenciou-se que o PPy encontra-se mais oxidado na presença de PND em comparação à PD. Ainda, as propriedades de perda de água (sinerese) a 25 °C e 1°C demonstraram o melhor desempenho dos géis empregando PND e na presença de PPy. Quando imersos em fluido de pH simulado gástrico (FSG, pH 1,2) e intestinal (FSI, pH 6,8), os géis na presença de PPy intumesceram até 25% da sua massa em pH 1,2 e perderam completamente sua integridade física em pH 6,8. As caracterizações eletroquímicas por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica mostraram que os hidrogéis formados a partir de pectina e polipirrol são eletroativos e condutores. Visando futuras aplicações, o sistema que apresentou a melhor combinação de propriedades foi o obtido com pectina cítrica dialisada e polipirrol (PND-PPy).

Palavras-chave: pectina, polipirrol, hidrogel, diálise e eletroatividade.

ABSTRACT

Hydrogels were prepared from citric pectin and polypyrrole (PPy). Raw pectin (PND) and dialysed pectin (PD) were comparatively studied. The characterization of both samples revealed differences in their molar weight, polydispersity, protein content and methoxylation degree. The sample PD has a higher methoxylation degree, is less polydisperse, has a higher molar weight and protein content. As a consequence, the solution properties of both samples differ, being the PD the more viscous. Both PND and PD were employed as stabilizers during the synthesis of polypyrrole in aqueous medium. The formation of PPy was accompanied through UV-Vis by the increase in the intensity of the bands at 450 and 800 nm. Zeta potential of the as-formed particles, stabilized by either PND (PND-PPy) or PD (PD-PPy) resulted negative (- 25 mV), explaining the high stability of the dispersions for at least one month. The dispersions, PND-PPy and PD-PPy, were used to prepare hydrogels by crosslinking with CaCl₂. For comparative purposes, gels in the absence of PPy were also prepared. By Raman spectroscopy it was evidenced that PPy are more oxidized in the presence of PND, when compared to PD. Also, the loss of water behavior (syneresis) at 1 °C and 25 °C demonstrated that the better results were obtained with PD in the presence of PPy. When immersed in simulated gastric (FSG, pH 1.2) and intestinal (FSI, pH 6.8) pHs, the hydrogels prepared with PPy have swollen up to 25 wt% in pH 1.2 and have completely lost their physical integrity at pH 6.8. The electrochemical characterization by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy showed that hydrogels formed from pectin and polypyrrole are electroactive and present conductivity. Prospecting future applications, the system that presented the better combination of properties was PND-PPy.

Keywords: pectin, polypyrrole, hydrogel, dialysis and electroactivity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: ESTRUTURAS DO PPy EM DIFERENTES ESTADOS DE OXIDAÇÃO.....	02
FIGURA 2: OXIDAÇÃO DE PIRROL PRODUZINDO POLIPIRROL PROTONADO. FONTE: BLINOVA 2007.....	03
FIGURA 3: ESTRUTURA DA PAREDE CELULAR DA PLANTA. ADAPTADO DE STICKLEN, 2008.....	04
FIGURA 4: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DA PECTINA FORMADA POR UNIDADES DE ÁCIDO α -GALACTURÔNICO COM UM NÚMERO VARIÁVEL DE GRUPOS ÉSTER METÍLICO. FONTE: AINSWORTH (1994).....	05
FIGURA 5: ESQUEMA ILUSTRATIVO DE ÍONS CÁLCIO COM O ÁCIDO GALACTURÔNICO (MODELO “EGG BOX”). OS CIRCULOS ESCUROS REPRESENTAM OS ÁTOMOS DE OXIGÊNIO ENVOLVIDOS NA COORDENAÇÃO DO ÍON CÁLCIO. FONTE: BRACCINI E PEREZ (2001).....	06
FIGURA 6: ESQUEMAS REPRESENTATIVOS DAS ESTRUTURAS DOS HIDROGÉIS RETICULADOS QUIMICA E FISICAMENTE.....	07
FIGURA 7: ESQUEMA ILUSTRATIVO DA SÍNTESE DO POLIPIRROL EM PECTINA.....	13
FIGURA 8: PERFIL CROMATOGRÁFICO (SEC) PARA AS AMOSTRAS PÉCTICAS NÃO DIALISADA (PND) E DIALISADA (PD).....	16
FIGURA 9: TRANSMITÂNCIA (EM UNIDADES ARBITRÁRIAS) EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE ONDA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO, DAS AMOSTRAS PECTINA DIALISADA (PD) E NÃO DIALISADA (PND).....	18

FIGURA 10: REGIÃO DE CAMPO BAIXO DO ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA PND.....	19
FIGURA 11: REGIÃO DE CAMPO BAIXO DO ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA PD.....	19
FIGURA 12: TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA (KOH a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) PARA (A) PND E (B) PD O VALOR DO pK_a EXPERIMENTAL FOI CALCULADO PELO PROGRAMA BEST7.....	20
FIGURA 13: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS (A) PND E (B) PD EM ÁGUA ULTRAPURA EM pH 1 E 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).....	23
FIGURA 14: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS PND E PD EM ÁGUA ULTRAPURA EM pH (A) 1 E (B) 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).....	24
FIGURA 15: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS (A) PND E (B) PD EM SOLUÇÃO AQUOSA SALINA EM pH 1 E 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).....	24
FIGURA 16: COMPORTAMENTO REOLÓGICO COMPARATIVO DAS AMOSTRAS PND E PD EM SOLUÇÃO AQUOSA SALINA EM pH (A) 1 E (B) 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).....	25
FIGURA 17: MODELO DE FORMAÇÃO DE PARTÍCULA COLOIDAL: (A) OLIGÔMEROS DE PIRROL ADSORVIDOS À CADEIA DE ESTABILIZADOR, (B) CRESCIMENTO DE UMA CADEIA DE PPy PRODUZINDO UM NÚCLEO; (C) OUTROS OLIGÔMEROS E NOVAS CADEIAS DE PPy PERTO DO NÚCLEO, AUMENTO DO TAMANHO DA PARTICULA COLOIDAL. ADAPTADO DE IROH E SU, 2000.....	26
FIGURA 18: ACOMPANHAMENTO DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL POR UV-VIS, EMPREGANDO (A) PND E (B) PD COMO ESTABILIZANTE.....	27

FIGURA 19: CURVAS DE POTENCIAL ZETA E OS CORRESPONDENTES AJUSTES GAUSSIANOS DAS AMOSTRAS PND-PPy E PD-PPy.....	28
FIGURA 20: IMAGENS DOS HIDROGÉIS FORMADOS EM 1) PECTINA DIALISADA E 2) PECTINA DIALISADA COM POLÍMERO CONDUTOR.....	28
FIGURA 21: ESPECTROS RAMAN OBTIDOS DAS AMOSTRAS gPND-PPy E gPD-PPy, LIOFILIZADAS E MACERADAS. RADIAÇÃO UTILIZADA: 632,8 NM.....	30
FIGURA 22: MEDIDAS DE PERDA DE ÁGUA DOS HIDROGÉIS DE PECTINA COM E SEM PPy EM DUAS TEMPERATURAS DISTINTAS, (A) 1°C E (B) 25°C.....	32
FIGURA 23: GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PELO TEMPO EM FGS E FIS SENDO (A) SEM PPy E (B) COM PPy.....	33
FIGURA 24: VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 20°C PARA OS HIDROGÉIS (A) gPND E (B) gPD.....	36
FIGURA 25: VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 20°C PARA OS HIDROGÉIS (A) gPND-PPy E (B) gPD-PPy.....	37
FIGURA 26: IMAGENS DE MEV PARA OS HIDROGÉIS A) gPND(500x), B) gPND(10000x), C) gPD(500x), D) gPD(10000x), E) gPND-PPy(500x), F) gPND-PPy(10000x), G) gPD-PPy(500x) E H) gPD-PPy(10000x), APÓS LIOFILIZADOS, MACERADOS E RECOBERTOS COM UMA FINA CAMADA DE OURO.....	38
FIGURA 27: VOLTAMETRIA CICLICA DAS AMOSTRAS gPND-PPy e gPD-PPy COM VELOCIDADE DE VARREDURA A 10 mVs ⁻¹ EM ELETRÓLITO PBS.....	40
FIGURA 28: A) VETOR IMPEDÂNCIA NO PLANO COMPLEXO E B) DIAGRAMA DE NYQUIST OU ARGAND.....	42

FIGURA 29: ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELETROQUIMICA PARA AS AMOSTRAS gPND-PPy e gPD-PPy.....	42
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: COMPOSIÇÃO MÉDIA DE PECTINA A PARTIR DE DIFERENTES FONTES DE EXTRAÇÃO.....	05
TABELA 2: COMPARAÇÃO DA GELIFICAÇÃO DAS PECTINAS HM e LM.....	06
TABELA 3: VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA (\bar{M}_w), GRAU DE POLIDISPERSÃO (\bar{M}_w / \bar{M}_n) E RAIOS DE GIRO (R_g) DAS AMOSTRAS PND E PD OBTIDOS POR SEC.....	16
TABELA 4: PROPRIEDADES DAS AMOSTRAS PND E PD: PERCENTUAL PROTEICO, DE ÁCIDOS URÔNICOS, GRAU DE METOXILAÇÃO, ROTAÇÃO ÓPTICA E pKa.....	20
TABELA 5: VALORES OBTIDOS PELO MODELO DE HUGGINS, COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO (R^2), VISCOSIDADE INTRINSECA $[\eta]$, CONCENTRAÇÃO CRÍTICA (c^*) E MASSA MOLAR (\bar{M}_v) PARA AS AMOSTRAS DE PND E PD EM NaCl 1,0 E 2,0 MOL.L ⁻¹	22
TABELA 6: VALORES DO LIMITE DE ELASTICIDADE (s^{-1}) DA AMOSTRA DE PND COM O AUMENTO DA TAXA DE CISALHAMENTO (IDA) E COM A DIMINUIÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO (VOLTA) EM ÁGUA E NaCl.....	25
TABELA 7: VALORES DO LIMITE DE ELASTICIDADE (s^{-1}) DA AMOSTRA DE PD COM O AUMENTO DA TAXA DE CISALHAMENTO (IDA) E COM A DIMINUIÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO (VOLTA) EM ÁGUA E NaCl.....	25
TABELA 8. PRINCIPAIS PICOS ENCONTRADOS NO PPy, COM SEUS RESPECTIVOS ESTADOS DE OXIDAÇÃO E ATRIBUIÇÕES, EXTRAÍDO DA REFERÊNCIA (CROWLEY, 2003).....	29

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

PND	Pectina não dialisada
PD	Pectina dialisada
PPy	Polipirrol
PND-PPy	Pectina não dialisada com polipirrol
PD-PPy	Pectina dialisada com polipirrol
gPND	Hidrogel pectina não dialisada
gPD	Hidrogel pectina dialisada
gPND-PPy	Hidrogel pectina não dialisada com polipirrol
gPD-PPy	Hidrogel pectina dialisada com polipirrol
FIS	Fluido intestinal simulado
FGS	Fluido gástrico simulado
GM	Grau de metoxilação
HM	High methoxyl
LM	Low methoxyl
Rha	Ramnose
GalA	Ácido galacturônico
Cel	Celulose
η_{red}	Viscosidade reduzida
η_r	Viscosidade relativa
η_{sp}	Viscosidade específica
$[\eta]$	Viscosidade intrínseca
K_H	Constante de Huggins
c	Concentração
c^*	Concentração crítica
Rg	Raio de giro
kDa	Kilodaltons
G'	Módulo de armazenamento
G''	Módulo de perda
SEC	Cromatografia de exclusão por tamanho
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
RMN 1H	Ressonância magnética nuclear de próton
EIS	Espectroscopia de impedância eletroquímica

MEV	Microscopia eletrônica de varredura
DRX	Difratogramas de raios-X
Z'	Impedância real
Z''	Impedância imaginária

SUMÁRIO

1. MOTIVAÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. POLIPIRROL.....	2
2.2. PECTINA.....	4
2.3. HIDROGÉIS A PARTIR DE POLISSACARIDEOS.....	6
3. OBJETIVOS	8
3.1. OBJETIVO GERAL.....	8
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	8
4.1. MATERIAIS.....	9
4.2. CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS.....	9
4.2.1. Determinação da massa molar ponderal média das pectinas	9
4.2.2. Determinação do teor proteico das pectinas	9
4.2.3. Determinação do teor de ácidos urônicos das pectinas	10
4.2.4. Determinação do grau de metoxilação das pectinas por ¹ H RMN E FTIR ..	10
4.2.5. Determinação da rotação óptica específica.....	11
4.2.6. Determinação da constante de ionização (pKa) das soluções pécticas	11
4.2.7. Estudo reológico.....	11
4.3 PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS.....	12
4.3.1. Síntese do polipirrol na presença de pectina.....	12
4.3.2. Potencial Zeta.....	13
4.3.3. RETICULAÇÃO DA MATRIZ PÉCTICA.....	13
4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS.....	13
4.4.1. Comportamento reológico	13
4.4.2. Estudos de intumescimento e perda de água (sinerese).....	14
4.4.3. Espectroscopia Raman	14
4.4.4. Microscopia eletrônica de varredura	14
4.5. CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS HIDROGÉIS.....	15
4.5.1. Voltametria cíclica.....	15
4.5.2. Espectroscopia de impedância eletroquímica.....	15

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
5.1.1. Determinação da massa molar ponderal média das pectinas	15
5.1.2. Caracterização química das amostras PND e PD	17
5.1.3. Viscosimetria capilar das pectinas	21
5.1.4. Comportamento reológico das soluções	23
5.2. SÍNTESE DO POLIPIRROL.....	26
5.2.1. Espectroscopia por UV-Vis para PD/PPy e PND/PPy.....	26
5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS.....	28
5.3.1. Espectroscopia Raman	29
5.3.2. Medidas de perda de água para os géis com e sem PPy (sinerese)	31
5.3.3. Grau de intumescimento dos hidrogéis com e sem PPy em FGS e FIS	32
5.3.4. Medidas reológicas dos hidrogéis produzidos com e sem PPy.....	34
5.3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura	37
5.3.6. Caracterização eletroquímica.....	39
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	44
7. CONCLUSÃO.....	46
8. REFERÊNCIAS.....	47

1. MOTIVAÇÃO

A utilização de materiais poliméricos como biomateriais tem sido objeto de estudo de diversos pesquisadores ao longo das últimas décadas. Tanto os polímeros sintéticos como os naturais têm sido utilizados em aplicações biomédicas, devido às suas estruturas químicas poderem proporcionar funções específicas para aplicações desejadas (BALDWIN e KIIK, 2009).

A pectina é um polissacarídeo amplamente disponível na natureza (MASS *et al.*, 2012) sendo extraída de polpas e bagaços de frutos. Em pH acima de 3, a pectina caracteriza-se por ser um polieletrólito aniônico, devido à ionização dos grupos carboxila presentes em sua cadeia. Este polissacarídeo tem capacidade de formar hidrogéis em condições apropriadas, o que possibilita sua aplicação em diferentes campos (ASPINALL, 1970). Recentemente, relatou-se na literatura que a pectina tem algumas aplicações biológicas que incluem o efeito de diminuir o colesterol (BAE *et al.*, 2009). Portanto, estas funções biológicas podem estender o uso da pectina em aplicações farmacêuticas além do seu uso na indústria alimentícia.

Os polímeros condutores são constituídos por cadeias hidrocarbônicas que possuem segmentos de unidades monoméricas contendo ligações simples e duplas alternadas. Esses materiais têm comportamento que varia de isolante a condutor, dependendo do estado de oxidação, da conjugação das duplas ligações e da orientação das cadeias (FAEZ E REZENDE, 2000; NALWA, 1997). Entre os polímeros condutores, o polipirrol (PPy) recebe grande destaque em relação a outros polímeros (politiofeno ou polianilina, por ex.), pois pode ser sintetizado tanto química quanto eletroquimicamente, por rotas simples em uma variedade de solventes (inclusive água). Além disso, possui boa eletroatividade em uma extensa faixa de pH. A presença de diferentes eletrólitos, inorgânicos ou poliméricos, durante a síntese ou adicionados após a síntese, afetam as propriedades do PPy diretamente, tais como condutividade, morfologia, resistência mecânica e atividade química (ADELOJU, 1996).

Nesse trabalho propomos o desenvolvimento de hidrogéis a partir da pectina, juntamente com o polipirrol, que apresentem propriedades eletroquímicas e de condutividade que permitam sua aplicação na área biomédica. Para tanto, polipirrol foi sintetizado na presença de pectina, em meio aquoso. Posteriormente, o hidrogel foi obtido pela reticulação das cadeias de pectina com CaCl_2 . A grande vantagem está em unir um polímero condutor juntamente com um polissacarídeo natural de baixo custo e abundante na natureza, de tal forma que este possa atuar como um suporte ao polímero condutor sem perda das propriedades. Sendo comprovada sua eletroatividade, este material pode ser aplicado em diferentes áreas, como por exemplo, na elaboração de músculos artificiais e na liberação controlada de fármacos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POLIPIRROL

Polipirrol (PPy), é um polímero condutor intrínseco que tem recebido uma atenção considerável devido à sua elevada condutividade elétrica e estabilidade eletroquímica (SCROSATI, 1995). Estudos têm mostrado que ele é capaz de suportar o crescimento “*in vitro*” de vários tipos de células, incluindo neurônios (GARNER *et al.*, 1999). Estudos “*in vivo*” também provaram que o PPy não é citotóxico usando $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$ de pirrol, assim, o polipirrol foi avaliado como um substrato para melhorar a interação das células nervosas em cultura para estimular a regeneração de nervos periféricos (SCHMIDT *et al.*, 1997). Saber a concentração em que o polímero não apresenta citotoxicidade é fundamental para sua aplicabilidade, especialmente na área biomédica, visto que é preciso saber a dose tóxica para não causar danos ao organismo.

É bastante conhecido na literatura que o PPy pode ser encontrado em diferentes estados em oxidação (ou estados de dopagem): neutro, cátion e dicátion, como esquematicamente ilustrado na FIGURA 1. O grau de dopagem do PPy leva a espécies mais ou menos condutoras, que normalmente são reversíveis entre si, dependendo apenas da quantidade de oxidante empregado (síntese química) ou do potencial aplicado a um eletrodo (síntese eletroquímica) (FURUKAWA 1988; LIU, 2000; DALL’ANTONIA, 2002).

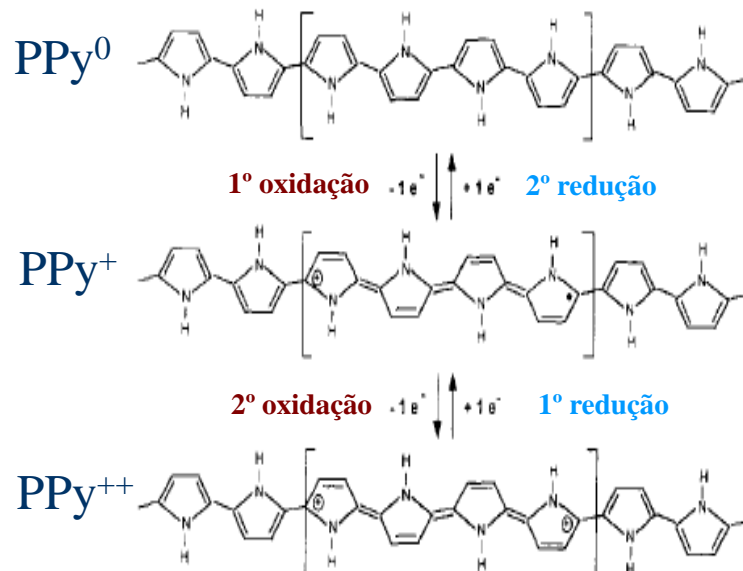


FIGURA 1: ESTRUTURAS DO PPy EM DIFERENTES ESTADOS DE OXIDAÇÃO.

Os polímeros condutores podem ser sintetizados por três diferentes métodos: química, eletroquímica e fotoquímica. A principal rota é a síntese química que proporciona maior

processabilidade, baixo custo, e pode ser empregado em larga escala, sendo assim, mais utilizado na indústria. A síntese eletroquímica também é muito utilizada, pois permite a produção de materiais com condutividade elétrica maior, no entanto, há limitações referentes à forma e a área superficial do eletrodo (SHI ET AL., 2004).

Foi proposto por Blinova (2007) um mecanismo de polimerização do PPy, conforme mostrado na FIGURA 2. A oxidação do pirrol pode ser controlado pelo seu pH. Conhecer a rota de polimerização e o comportamento do polímero condutor nos diferentes meios é um fator importante para melhorar as condições de síntese do PPy com o polissacarídeo.

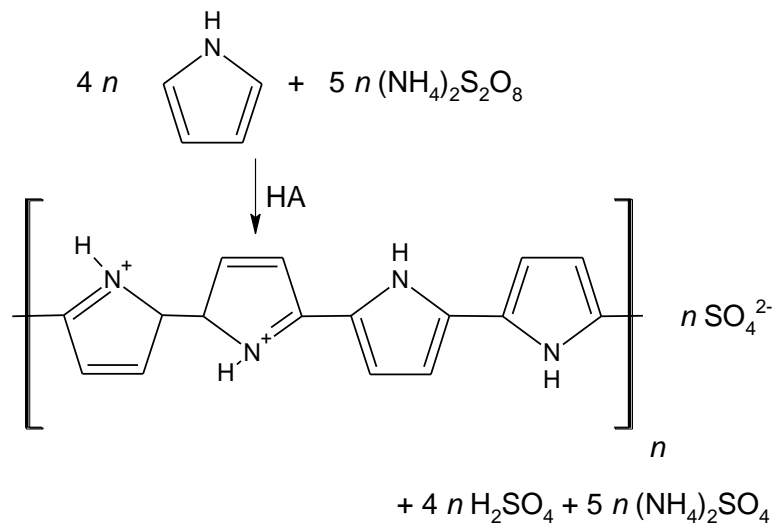


FIGURA 2: OXIDAÇÃO DE PIRROL PRODUZINDO POLIPIRROL PROTONADO. FONTE: BLINOVA 2007.

Otero e Sansinema (1995) foram os pioneiros em estudos usando polímeros condutores no desenvolvimento de músculos artificiais baseados em reações eletroquímicas reversíveis de redução e oxidação do polipirrol. Os autores construíram bicamadas e multicamadas do polipirrol sob fitas adesivas dupla face disponíveis no mercado. Assim, mostraram através de diferentes técnicas que a reprodutibilidade do movimento macroscópico foi muito alto usando bicamadas e ao usar multicamadas de polipirrol o sistema teve uma menor reprodutibilidade.

Há alguns trabalhos na literatura que empregam polipirrol e polissacarídeos. GARNER *et al.*, (1999), estudaram a incorporação de heparina (um polieletrólito) ao PPy para avaliar a aptidão dos materiais resultantes como substrato para crescimento de células endoteliais. Neste estudo, a incorporação e exposição de heparina foram controladas por variação das condições da síntese. Os compósitos eletroativos heparina/polipirrol se mantiveram estáveis após a autoclavagem, com vida útil de dois anos sem perda significativa de sua eletroatividade.

2.2 PECTINA

Polissacarídeos são abundantes na natureza, e uma rica fonte de biomassa, sendo fontes vitais de nutrição para os seres humanos e animais. Os polissacarídeos podem ser extraídos das mais diversas fontes destacando-se as algas que fornecem o alginato e as agaranas; os exsudados de plantas que fornecem a goma arábica; as sementes das quais podem ser extraídos a guar; e os tubérculos, de onde se extrai o amido. De fontes animais, se obtém a quitosana e heparina; de fungos, as glucanas; e de bactérias, a xantana, dextrana, gelanas e celulosas. Ainda, de frutos são isoladas as pectinas, utilizadas nesse trabalho (CUNHA *et al.*, 2009).

Os polissacarídeos mostram propriedades notáveis e às vezes únicas como espessante, estabilizante, gelificante e agentes emulsificantes. Algumas moléculas de polissacarídeo são lineares, enquanto que outras possuem alto grau de ramificação, o que altera suas propriedades físicas tais como solubilidade em água, viscosidade e o comportamento de gelificação (STEPHEN *et al.*, 1995). Ainda, os polissacarídeos contêm um grande número de grupos hidroxilas, átomos de oxigênio, e outros grupos (amina, sulfato, carboxilato) que podem interagir com outras moléculas, principalmente através ligação de hidrogênio (WANG e CUI, 2005). Estudos relacionando estrutura molecular e conformação, com propriedades, funcionalidades e aplicações têm recebido grande atenção por parte dos pesquisadores.

As pectinas compõem, provavelmente, uma das classes mais complexas de polissacarídeos. São heteropolissacarídeos de origem vegetal, encontrados na lamela média e na parede celular primária de tecidos vegetais (FIGURA 3). Podem ser extraídos de vários tipos de frutos e vegetais. Sua aplicação está concentrada, principalmente, na indústria de alimentos (SUTAR *et al.*, 2008).

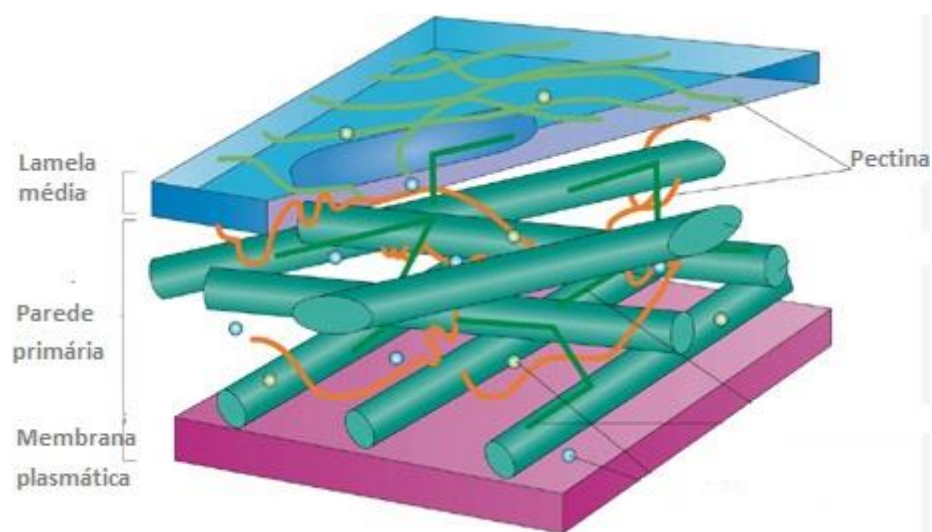


FIGURA 3: ESTRUTURA DA PAREDE CELULAR DA PLANTA. ADAPTADO DE STICKLEN, 2008.

De um modo geral, as pectinas são constituídas por unidades poliméricas de ligações α -(1 \rightarrow 4) de ácido galacturônico (aproximadamente 65% da cadeia) com unidades específicas de ramnose [\rightarrow 4)- α -D-GalA-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rha-(\rightarrow)] (FIGURA 4). Nesta região ocorre perda da linearidade, devido a leves dobraduras da cadeia principal. Ainda, as unidades de ramnose podem se ligar a outros açúcares como D-galactose, D-arabinose, D-fucose, 2-O-metilfucose, D-apiose e outros que variam em proporções dependendo da sua fonte de extração (BROWNLEADER, 1999; MESBAHI, 2005; WILLATSA, 2006). As pectinas comerciais, em sua maioria, são extraídas de maçãs e das cascas dos frutos cítricos.

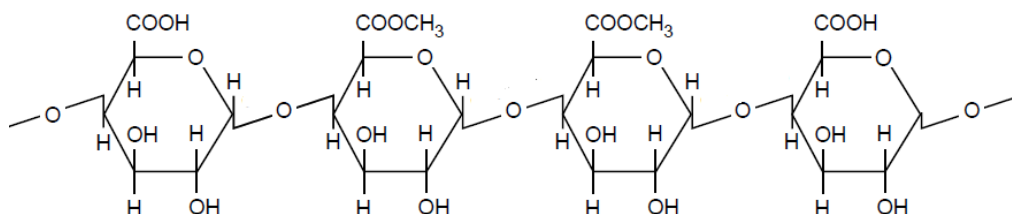


FIGURA 4: REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DA PECTINA FORMADA POR UNIDADES DE ÁCIDO α -GALACTURÔNICO COM UM NÚMERO VARIÁVEL DE GRUPOS ÉSTER METÍLICO. FONTE: AINSWORTH (1994).

A massa molar é um importante fator que controla a viscosidade, solubilidade e a gelificação das pectinas, e pode variar entre 30.000-70.000 g.mol⁻¹ em pectina de frutos cítricos (MC CREADY, 1970). A solubilidade em água é um parâmetro fortemente influenciado pelas propriedades químicas e microestruturais da pectina, tendendo a aumentar com o incremento do grau de metoxilação (GM) e com a redução da massa molar (POMERANZ, 2000). O GM é parâmetro chave para a aplicabilidade das pectinas na indústria. Em geral, as pectinas são divididas entre duas categorias: pectinas com alto grau de metoxilação (HM) com GM > 50% e pectinas com baixo grau de metoxilação (LM) com GM < 50%. O GM depende da origem e do método usado para sua extração e purificação. Alguns dados encontrados na literatura podem ser observados na TABELA 1.

TABELA 1: COMPOSIÇÃO MÉDIA DE PECTINA A PARTIR DE DIFERENTES FONTES DE EXTRAÇÃO.

Fonte	% Pectina	% Ácido Galacturônico	GM
Girassol	10-25	90	30-40
Frutos cítricos	20-30	85	75-80
Beterraba	15-25	50	60
Maçã	15-25	75	75-80
Batata	15	50	30

FONTE: VISSER E VORAGEM (1996).

A gelificação das pectinas HM é mais eficiente em meio ácido na presença de uma grande quantidade de co-solutos (sacarose, por ex.) (BULONE, 2002). A gelificação é

baseada na associação entre os grupos metil éster, por ligações hidrofóbicas (RINAUDO, 1989) além de ligações de hidrogênio entre as cadeias da pectina e do co-soluto. Já para a pectina LM a gelificação ocorre por meio de um mecanismo cujo modelo foi sugerido primeiramente para alginatos, conhecido na literatura como “egg box” (FIGURA 5), envolvendo íons bivalentes. Neste modelo, duas cadeias alinhadas simetricamente, sendo que quatorze ou mais unidades de ácido galacturônico estariam associadas a íons cálcio, que atuam como agentes quelantes (REES, 1972).

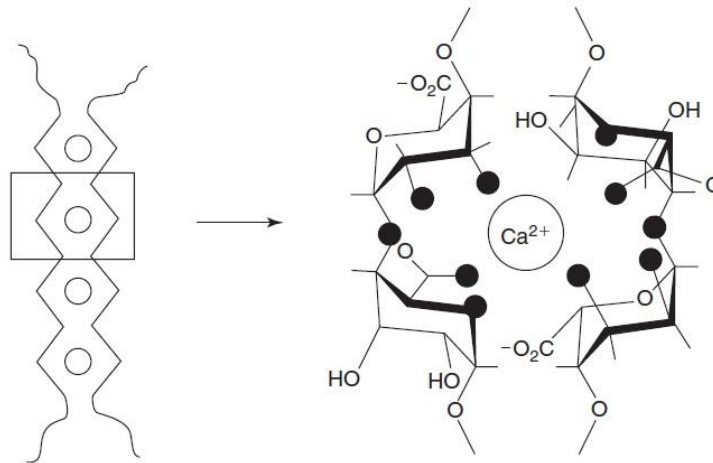


FIGURA 5: ESQUEMA ILUSTRATIVO DE ÍONS CÁLCIO COM O ÁCIDO GALACTURÔNICO (MODELO “EGG BOX”). OS CIRCULOS ESCUROS REPRESENTAM OS ÁTOMOS DE OXIGÊNIO ENVOLVIDOS NA COORDENAÇÃO DO ÍON CÁLCIO. FONTE: BRACCINI E PEREZ (2001).

Na TABELA 2 as condições e o mecanismo de gelificação para as duas classes de pectina, HM e LM estão apresentados de forma resumida.

TABELA 2: COMPARAÇÃO DA GELIFICAÇÃO DAS PECTINAS HM e LM.

	Alto teor de metoxilação (HM)	Baixo teor de metoxilação (LM)
Condições	pH <3,5 e grande quantidade de co-solutos	Presença de íons divalentes.
Mecanismo	Interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio	Ligações com íons Ca^{2+}

2.3 HIDROGÉIS A PARTIR DE POLISSACARÍDEOS

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais hidrofílicas capazes de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos (PEPPAS, 1986). Devido à presença de ligações cruzadas, de natureza química ou física, os hidrogéis se tornam insolúveis (FIGURA 6). As ligações químicas consistem em ligações covalentes irreversíveis, enquanto que as interações físicas se dão por interações eletrostáticas, quelação e outras (RATNER, 1976).

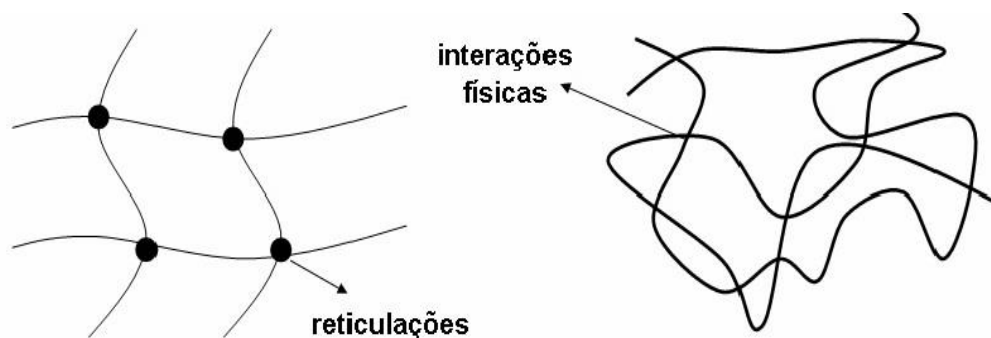


FIGURA 6: ESQUEMAS REPRESENTATIVOS DAS ESTRUTURAS DOS HIDROGÉIS RETICULADOS QUIMICA E FISICAMENTE.

Essa classe de materiais pode apresentar comportamento fisiologicamente responsivo dependendo do ambiente externo em que se encontram. A rede polimérica pode intumescer devido a alguns fatores, entre eles, pH, força iônica, temperatura e radiação eletromagnética. Esse intumescimento também é dependente da estrutura química do polímero, pois os hidrogéis que contêm grupos hidrofílicos tendem a intumescer mais do que os que contêm grupos hidrofóbicos (PEPPAS, 2000), além de depender da massa molar, do grau de reticulação e da presença de outros compostos.

Por se assemelharem ao tecido natural mais do que qualquer classe de biomateriais sintéticos, existem numerosas aplicações para hidrogéis, destacando-se na área médica e farmacêutica (RATNER, 1976). Quando preparados a partir de polímeros naturais, os hidrogéis apresentam propriedades vantajosas que são bicompatibilidade, biodegradabilidade. No entanto, possuem propriedades mecânicas pobres frente a outros polímeros (LIN E METTER, 2007).

Devido à versatilidade e vantagens tecnológicas em relação a outras classes de materiais, o emprego de hidrogéis tem se expandido, no entanto, para viabilizar as aplicações desejadas, uma boa estratégia é sintetizar hidrogéis a partir de polímeros sintéticos juntamente com polímeros naturais.

Nguyen e Liu (2013) estudaram a preparação e a caracterização de hidrogéis a partir de poli (álcool vinílico), o PVA, e a quitosana, QT, produzido pela desacetilação parcial de quitina, que podem ser utilizados em aplicações biomédicas devido às suas boas propriedades muco-adesiva e antibacteriana. A preparação dos hidrogéis se deu por meio da radiação ultravioleta, usando o ácido acrílico como agente de reticulação sem a adição de qualquer outro foto-iniciador. A combinação desses dois polímeros teve como objetivo formar géis com grau de intumescimento controlável, pois o PVA intumescer consideravelmente em água, promovendo a liberação imediata do fármaco no meio. O complexo eletrolítico formado por PVA e QT mostrou-se sensível ao pH e exibiu intumescimento reversível em resposta as alterações no pH, além de possuir estrutura nanoporosa permitindo seu emprego como biomateriais para aplicações médicas.

Hidrogéis superabsorventes de pectina cítrica foram estudados a partir de três agentes de reticulação diferentes por Yoshimura *et al.* (2005) que foram CaCl_2 , etileno glicol ou diglicidil éter (EGE) e glutaraldeído (GA). O gel de pectina com GA, apresentou maior grau de absorção de água em relação aos géis reticulados com CaCl_2 e EGE. As diferenças de absorção de água pelos hidrogéis podem ser discutidas a partir da estrutura e dos seus sítios de ligação cruzada. Os hidrogéis reticulados por CaCl_2 é explicado pelo modelo “egg box”. A reticulação por EGE foi menos eficiente do que com CaCl_2 ou GA, a julgar pela não gelificação. Vale ressaltar que GA e EGE são compostos que apresentam toxicidade, enquanto que o CaCl_2 é atóxico. Tomando como base esse artigo, o presente trabalho seguiu a rota de preparo do hidrogel reticulado com o CaCl_2 , visto que o objetivo era o preparo de um gel absorvente, e não tóxico.

3. OBJETIVOS

3.2 OBJETIVO GERAL

Produzir géis eletroativos constituídos de pectina cítrica e polipirrol.

3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar quimicamente a pectina cítrica bruta e purificada por diálise;
- Caracterizar por meio de estudos reológicos as soluções pécticas em diferentes meios;
- Empregar a pectina na síntese de polímeros condutores (PPy - polipirrol) em meio aquoso;
- Formar hidrogéis a partir da pectina dialisada e não dialisada;
- Formar hidrogéis de pectina na presença e na ausência do PPy;
- Relacionar as propriedades dos hidrogéis na presença e na ausência do polímero condutor;
- Caracterizar os hidrogéis eletroquimicamente por meio de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância eletroquímica.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A pectina cítrica foi adquirida no Mercado Municipal na cidade de Curitiba-PR. Inicialmente a pectina bruta foi purificada por diálise contra água ultrapura, em membrana 12 a 14 kDa, por 24h, seguida de liofilização. O pó gerado após diálise e liofilização foi denominado PD (pectina dialisada). Desta forma, denominou-se PND (pectina não dialisada) a pectina que não passou pelo processo de diálise. O pirrol (SAFC – pureza 98%) foi previamente destilado. Persulfato de amônio ((NH₄)₂S₂O₈), P.A. 98% m/m, hidróxido de sódio (NaOH), P.A. 97% m/m, cloreto de cálcio (CaCl₂), P.A. 99% e fosfato de sódio monobásico (NaHPO₄), P.A. 98,5% foram adquiridos da Empresa Synth. Fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) P.A. 99% foi adquirido do Grupo Química.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS

4.2.1 Determinação da massa molar ponderal média das pectinas

A determinação da massa molar média e distribuição de massas molares das amostras PD e PND foram realizadas por cromatografia de exclusão por tamanhos (GPC/SEC), em cromatógrafo da Viscotek (detector de índice de refração, detectores de espalhamento de luz LALLS (7°) e RALLS (90°), viscosímetro diferencial), conectado a uma coluna Shodex SB-806M-HQ.

O volume de injeção foi de 100 µL a um fluxo de 0,4 mL.min⁻¹. As amostras de PND e PD foram preparadas a uma concentração de 1 mg.mL⁻¹ em solução de NaNO₃ 0,1 mol.L⁻¹ (que também foi empregada como fase móvel), contendo 200 ppm de NaN₃ e filtradas em membranas de éster de celulose de porosidade 0,22 µm (MILLIPORE). O valor de dn/dc usado foi de 0,147 mL.g⁻¹.

4.2.2 Determinação do teor proteico das pectinas

O método descrito por Hartree (1972) foi utilizado para quantificar a dosagem de proteínas totais. Resumidamente, o método consiste em adicionar 0,9 mL do reagente A (solução de 2 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 100 g de Na₂CO₃ dissolvido em 500 mL de NaOH 1 mol.L⁻¹ em água destilada q.s.p 1L) em 1,0 mL de amostra de PD ou PND. A solução foi mantida em banho de água a 50°C por 10 minutos, em seguida foi resfriada à temperatura ambiente. Posteriormente, foi adicionado 0,1 mL do reagente B (2 g de tartarato duplo de sódio e potássio e 1 g de CuSO₄.5H₂O dissolvidos em 90 mL de água destilada,

sobre os quais se adicionam 10 mL de NaOH 1mol.L⁻¹) mantendo por 10 minutos a temperatura ambiente. Foram adicionados 3 mL do reagente C (1 mL de reagente de Folin Ciocalteu 2 molL⁻¹, diluído em 15 mL de água destilada) e a solução foi mantida em banho de água a 50 °C por 10 minutos, em seguida, a solução foi agitada em vortex e deixada para resfriar a temperatura ambiente. Como padrão, foi utilizada solução aquosa de albumina de soro bovino, BSA, (SIGMA) 100 µg/mL. As leituras foram feitas em um espectrofotômetro da marca Biospectro, modelo SP-220 em $\lambda = 650$ nm. Sensibilidade do método: 10-100 µg de proteína.

4.2.3 Determinação do teor de ácidos urônicos das pectinas

A dosagem de ácidos urônicos foi realizada por meio do método Filisetti-Cozzi e Carpita (1991). Resumidamente, adicionou-se 400 µl de amostra em seus respectivos tubos de ensaio. Em seguida, foram adicionados 40 µl de ácido sulfâmico/sulfamato de sódio (pH 1,6) e agitada a solução em vortex. Após a agitação, foram adicionados 2,4 mL da solução de tetraborato de sódio 75 mM e agitou-se novamente em vortex (vigorosamente). Os tubos de ensaio foram colocados em banho fervente por 20 minutos, tampando-os para evitar contaminação. Posteriormente os tubos foram resfriados em banho de gelo por 10 minutos. À solução foram adicionados 80 µl de m-hidroxidifenil em dois dos três tubos de amostra e nos dois tubos de controle do reagente. Nos tubos que não foram adicionados m-hidroxidifenil, foi adicionado NaOH 0,5% e agitado em vortex. A estabilidade de leitura é de 1 hora. As leituras foram feitas em um espectrofotômetro da marca Biospectro, modelo SP-220 com leitura em $\lambda = 525$ nm.

4.2.4 Determinação do grau de metoxilação das pectinas por ¹H RMN e FTIR

O grau de metoxilação das amostras PND e PD foi determinado por experimentos de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e de ¹H RMN.

O estudo por FT-IR foi realizado em um espectrofotômetro BioRad modelo Excalibur. Os espectros foram coletados entre 4000-400 cm⁻¹, no modo transmitância, com resolução de 4 cm⁻¹, empregando 32 *scans*. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr, segundo a relação mássica 9:1 (KBr:amostra). A curva analítica utilizada para determinação do GM foi obtida por Vriesman (2008). O grau de metoxilação das amostras foi calculado a partir da razão da área da banda dos grupos carboxílicos metil-esterificados (1749 cm⁻¹ - COO-R) em relação à somatória das áreas dos grupos carboxílicos metil-esterificados e não esterificados conforme equação 1:

$$GM = \frac{A(\text{COOCH}_3)}{A(\text{COOCH}_3) + A(\text{COO}^-)} \quad (1)$$

Os espectros de ^1H RMN foram obtidos no Departamento de Bioquímica e Biologia Celular da UFPR, em um espectrofotômetro Bruker, modelo AVANCE DRX-400. A amostra foi previamente dissolvida em D_2O a 10 mg.mL^{-1} . Os espectros foram obtidos a 70°C (256 scans). Os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos experimentos de ^1H RMN foram determinados utilizando a sequência de pulsos convencionais providas pelo equipamento e foram expressos em relação à ressonância do deutério.

4.2.5 Determinação da rotação óptica específica

Foi determinada a partir de uma solução aquosa das amostras PND e PD na concentração de 1 mg.mL^{-1} em aparelho P2000, marca Polarimeter, caminho óptico $0,08 \text{ dm}$, a 25°C .

O valor da rotação óptica específica foi calculada por meio da equação 1 (SNYDER *et al.*, 1962):

$$\alpha_{25}^D = \alpha / L.c \quad (2)$$

Onde,

- α é o ângulo de rotação polarizada, expresso em graus;
- L é o caminho óptico, em dm ;
- c é a concentração da solução em $\text{g}\%$.

4.2.6 Determinação da constante de ionização (pKa) das soluções pécticas

Foi utilizada a técnica de titulação potenciométrica para avaliar a constante de dissociação da pectina nas amostras PND e PD, na concentração $2,5\%$ (m/v), em água ultrapura e temperatura de 25°C . A titulação foi realizada com solução de KOH a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. O tratamento dos resultados experimentais foi feito com o programa BEST7 que permite determinar a constante de dissociação.

4.2.7 Estudo reológico

4.2.7.1 Viscosimetria capilar

Para as medidas de viscosimetria capilar foi utilizado um viscosímetro Cannon-Fenske (n° 75) em banho termostatzado a 20 °C. As amostras foram solubilizadas em solução de NaCl 1,0 mol.L⁻¹ e 2,0 mol.L⁻¹ em concentrações que variaram entre 0,1 a 0,25 mg.mL⁻¹.

4.2.7.2 Reometria de torque

Medidas reológicas em reômetro de torque foram realizada nas soluções pécticas (PD e PND) em solução aquosa (pH 1,0 e pH 12) e salina, NaCl 0,1%, (pH 1 e pH 12). Foi empregado um reômetro HAAKE, modelo Rheostress 600, com um sensor cilíndrico modelo Z20 (DIN 53019). A taxa de cisalhamento variou entre 0,001 a 500 s⁻¹, sendo o tempo fixado em 500 segundos. Foram realizadas três repetições.

4.3 PREPARAÇÃO DOS HIDROGÉIS

4.3.1 Síntese do polipirrol na presença de pectina

Para obtenção do sistema pectina-polipirrol, foi utilizada a técnica de dispersão pela rota adaptada proposta por Amarnath *et al.* (2008). O procedimento consistiu em solubilizar a amostra de pectina em água em um reator de vidro com parede dupla com temperatura fixada em 45°C. Após sua completa solubilização, foi adicionada à solução de pectina uma solução ácida (H₂SO₄) de pirrol (pH final igual a 3,0), concentração 3,1 mg.L⁻¹. Após, foram realizadas adições sucessivas de 20 µL, a cada 5 minutos, de solução de persulfato de amônio (1,0 mol.L⁻¹) por 85 minutos (agente oxidante). Optou-se por adições sucessivas, pois pelo método *one-pot* foi observado precipitados na dispersão. Foram retiradas alíquotas de 300 µL em intervalos de 5 minutos e diluídas em 2,7 mL de água ultrapura e transferidas para uma cubeta de quartzo. A síntese foi acompanhada por UV-Vis, pelo acompanhamento da absorbância em na faixa de 300-900 nm, em um espectrofotômetro Agilent 8453 (FIGURA 7). As amostras foram dialisadas contra água destilada por 24 horas.

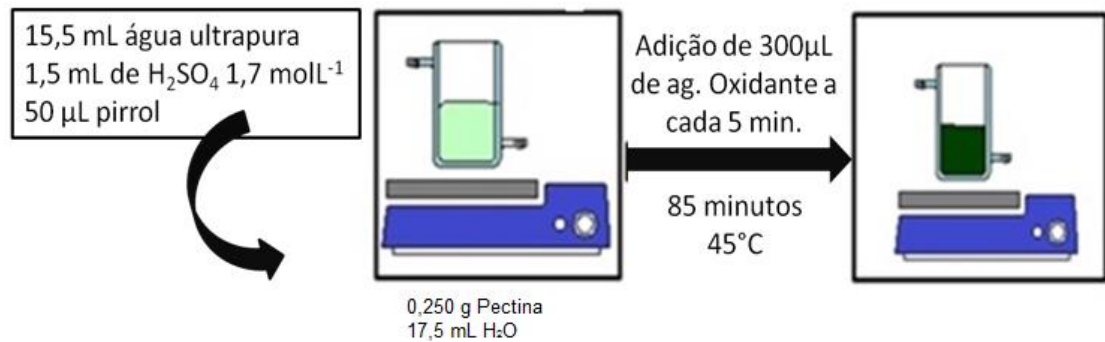


FIGURA 7: ESQUEMA ILUSTRATIVO DA SÍNTESE DO POLIPIRROL EM PECTINA.

4.3.2 Potencial Zeta

A carga superficial das partículas formadas pelas amostras das dispersões PD-PPy e PND-PPy foi determinada utilizando o equipamento Zetasizer Nano ZS, no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS, Campinas) sob a supervisão do Dr. Mateus Borba Cardoso.

4.3.3 Reticulação da matriz péctica

Os hidrogéis foram preparados a partir de PND e PD na presença e na ausência do polímero condutor, seguindo a rota proposta por Yoshimura *et al.*, (2005). À dispersão dialisada contendo os compósitos pectina e polipirrol (PND-PPy e PD-PPy) foram adicionados 0,2 g de pectina. Em seguida, foi adicionado 0,3 mL do agente reticulante, $CaCl_2$ 5% (m/v), sob agitação magnética. Esta dispersão foi deixada em repouso por 24 horas. Após esse tempo, foram adicionados 5 mL de NaOH (10% m/v) e deixado em repouso por mais 24 horas em molde circular. Os hidrogéis preparados conforme descrito anteriormente, foram denominados gPND-PPy e gPD-PPy. Estes foram retirados dos moldes e purificados em água destilada. Hidrogéis foram preparados na ausência do polímero condutor, e denominados gPND e gPD.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS

4.4.1 Comportamento reológico

O estudo reológico dos hidrogéis foi realizado no Departamento de Bioquímica e Biologia Celular da UFPR, em Reômetro Haake Rheostress 75, acoplado a um banho termo circulante HAAKE K15, empregando um termocirculador de água DC5, com controlador

térmico TC 81 (Peltier), com um sensor placa-placa (PP 20). Previamente foi realizada uma varredura de tensão para verificação da região viscoelástica para cada amostra na frequência de 1,0 Hz, variando de 0,01 a 100 Pa. As varreduras de frequência foram conduzidas na tensão de 10 Pa na faixa de 0,02-100 Hz, com temperatura de 20 °C.

4.4.2 Estudos de intumescimento e perda de água (sinerese)

Para determinação do grau de intumescimento ($I\%$), o gel previamente seco (~0,3 gramas) foi submerso em 100 mL do fluido. A massa do gel intumescido com o fluido foi determinada em intervalos de tempo, durante 72 h. Antes da pesagem, o hidrogel foi retirado do meio e seco superficialmente para retirada do excesso de fluido.

O estudo de perda de água foi realizado em estufa a 25°C e na geladeira a 1°C. A massa foi acompanhada com pesagem a cada 30 minutos por 400 minutos.

4.4.3 Espectroscopia Raman

Os hidrogéis (secos e macerados) e as pectinas (PD e PND) foram estudados através de espectroscopia Raman, no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da UFPR, em um espectrógrafo Witec (modelo alpha 300R) equipado com um laser He-Ne, de comprimento de onda de 632,8 nm. Os espectros foram coletados entre 4000-400 cm^{-1} , tempo de integração de 6 s, 36 *scans* para as amostras PND-PPy e PD-PPy liofilizadas e maceradas.

4.4.4 Microscopia eletrônica de varredura

Depois de purificados em água destilada, os hidrogéis foram analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um equipamento JEOL JSM-6360LV, operando em 15 kV, no CME da UFPR. Para isso, os hidrogéis foram congelados e, em seguida, liofilizados por 24 h à -55 °C e fraturados. Antes das análises por MEV foi depositada uma fina camada de ouro sobre a superfície das amostras para torná-las eletricamente condutoras.

4.5 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA DOS HIDROGÉIS

4.5.1 Voltametria Cíclica

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um potenciostato IviumStat utilizando-se um eletrodo Ag/AgCl_{sat} como referência, chapa de platina como contra-eletrodo e eletrodo de platina com área de 0,1963 cm² como eletrodo de trabalho. O meio eletrolítico foi solução tampão fosfato salina (KH₂PO₄/NaHPO₄) 0,2 molL⁻¹ (15 mL). A varredura foi realizada entre -0,8 a 0,6 V com velocidade 10 mVs⁻¹. Foi depositado sobre o eletrodo de Pt uma pequena quantidade do hidrogel úmido e deixado por 24 horas em estufa para secagem a fim de formar um filme na superfície. Todos os experimentos foram conduzidos em temperatura ambiente.

4.5.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

Os filmes das amostras gPND-PPy e gPD-PPy, obtidos por *casting* no eletrodo de platina, foram analisados por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). Os eletrodos foram polarizados no potencial contínuo igual aos valores de pico de oxidação por 20 segundos antes de iniciar as medidas de EIS para que o estado estacionário fosse atingido. A faixa de frequência utilizada foi de 10⁶ a 10⁻¹ Hz, com perturbação senoidal de 5 mV rms (*root mean square*). O sistema químico e o meio eletrolítico foram os mesmos utilizados para as voltametrias cíclicas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS PECTINAS E ESTUDO DO COMPORTAMENTO EM SOLUÇÃO

5.1.1 Determinação da massa molar ponderal média das pectinas

Observou-se, pelos perfis cromatográficos (FIGURA 8), que ambas as amostras eluíram em volumes entre 7 e 13 mL, apresentando duas populações, uma correspondendo a moléculas de maior massa molar (menores tempos de eluição) e outra de menor massa molar (maiores tempos de eluição).

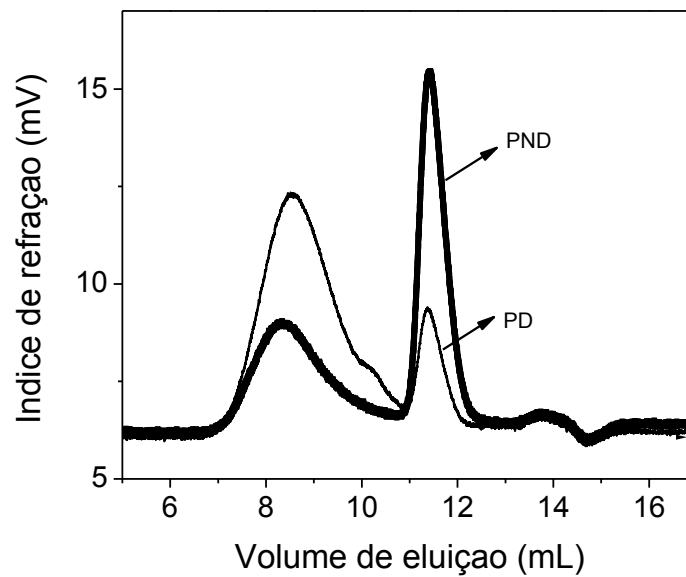


FIGURA 8 - PERFIL CROMATOGRÁFICO (SEC) PARA AS AMOSTRAS PÉCTICAS NÃO DIALISADA (PND) E DIALISADA (PD).

A contribuição das duas populações (visualizado pela intensidade do detector de índice de refração) se inverte quando se compara a amostra não dialisada e dialisada. Este fato relaciona-se a perda de moléculas de menor massa durante o processo de diálise, resultando, no caso da PD em uma amostra com maior concentração de compostos de maior massa. Observando-se a curva correspondente à amostra PD, na região de menores tempos de eluição, observa-se um ombro, em torno de 10 mL, aparentemente ausente na amostra PND. Acredita-se tratar-se de cadeias que sofreram agregação após diálise.

Calculou-se, com o software OmniSEC, a massa molar ponderal média (\bar{M}_w) e grau de polidispersão (\bar{M}_w/\bar{M}_n) das amostras por meio dos perfis cromatográficos obtidos, utilizando o incremento de índice de refração calculado previamente ($dn/dc = 0,147 \text{ mL/g}$). Cada pico foi tratado individualmente, denominados picos (1) e (2), correspondendo, respectivamente, ao menor tempo de eluição (maiores massas) e maior tempo de eluição (menores massas). Os dados estão apresentados na TABELA 3.

TABELA 3: VALORES DE MASSA MOLAR PONDERAL MÉDIA (\bar{M}_w), GRAU DE POLIDISPERSÃO (\bar{M}_w/\bar{M}_n) E RAIOS DE GIRO (R_g) DAS AMOSTRAS PND E PD OBTIDOS POR SEC.

Amostras (picos)	$\bar{M}_w (10^3 \text{ g.mol}^{-1})$	\bar{M}_w/\bar{M}_n	$R_g \text{ (nm)}$
PND (1)	143,7	1,43	26,20
PND (2)	10,50	1,83	3,30
PD (1)	145,6	1,04	24,60
PD (2)	26,70	1,80	2,30

A perda de oligômeros durante o processo de diálise é uma hipótese que pode justificar os resultados da Tabela 1, devido à diferença na polidispersividade do pico (1) da PND (1,43) em relação à PD (1,04) e também pelos menores valores de raio de giro.

Os valores de $[\eta]$ estão diretamente relacionados ao volume hidrodinâmico das partículas e este, por sua vez, está relacionado com o tamanho e a conformação das cadeias em solução. É reportado na literatura um estudo sobre a heterogeneidade da pectina cítrica descrito por BERTH (1988) em que foi obtido um valor de viscosidade intrínseca, $[\eta]$, de 345 mL/g. Por meio da análise por SEC os valores de $[\eta]$ encontrados para as amostras foram 440,60 mL/g para PND e 332,70 mL/g para PD, estando, portanto, na mesma ordem dos valores encontrados na literatura. A partir dos valores de $[\eta]$ pôde-se calcular a concentração crítica (c^*) (EQUAÇÃO 4) que corresponde à limite da passagem do regime diluído para o semidiluído (TAYLOR, 1995; BRANHAM, 1996) encontrando-se os valores 0,002 g/mL e 0,003 g/mL, para PND e PD, respectivamente.

5.1.2 Caracterização química das amostras PND e PD

Cipriani e colaboradores (2012) relataram que a pectina cítrica é composta essencialmente por ácido galacturônico (95,5%), com traços de açúcares neutros como galactose (1,8%), glucose (1,5%), arabinose (0,8%) e ramnose (0,4%).

Quanto ao teor de proteínas, as amostras em estudo foram analisadas pelo método descrito por Hartree (1972) e foram encontrados os valores de 1,3% e 3,9% para PND e PD, respectivamente. Pelo método colorimétrico de Filliseti-Cozzi e Carpita foi encontrado que a PND tem 43% m/m de ácidos urônicos enquanto que a PD tem 73% m/m.

O valor da rotação óptica das amostras também variou com a diálise, sendo este aumentado, de $11,6^\circ \pm 0,05$ para $26,8^\circ \pm 0,008$, PND e PD, respectivamente.

O grau de metoxilação das amostras PND e PD foi determinado por meio da análise dos espectros de ^1H RMN e FT-IR.

A curva analítica utilizada para determinação do GM por FT-IR foi obtida por Vriesman (2008). O grau de metoxilação das amostras foi encontrado a partir da razão da área da banda dos grupos carboxílicos metoxilados (1749 cm^{-1} - COO-R) em relação à área total dos grupos carboxílicos [soma das áreas de 1749 cm^{-1} (COO-R) e 1630 cm^{-1} (COO $^-$)], conforme mostrado na FIGURA 9. A partir da área das bandas foi determinado o GM para cada amostra, obtendo-se 73% para PD e 49% para PND, concluindo-se que a PD é uma pectina HM enquanto que a PND é LM (FIGURA 8). Durante a diálise a perda maior de ácido é devida a sua maior solubilidade frente aos grupos metoxilados.

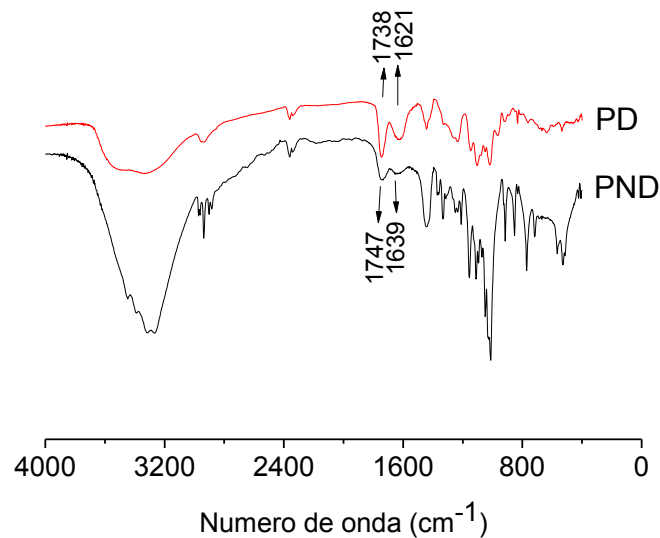


FIGURA 9: ESPECTROS DE INFRAVERMELHO DAS AMOSTRAS PECTINA DIALISADA (PD) E NÃO DIALISADA (PND).

Para verificar a confiabilidade do método anterior na determinação do GM das pectinas, foram realizados experimentos de ^1H RMN. As FIGURAS 10 e 11 mostram respectivamente o espectro de ^1H RMN das amostras PND e PD. Os hidrogênios adjacentes aos grupos carboxílicos livres (H-5) podem ser encontrados em torno de 4,5 ppm enquanto que os hidrogênios H-1 e H-5 adjacentes a carbonos de grupo éster apresentam-se em dois sinais em torno de 5,00 ppm. Devido à proximidade ou até mesmo a sobreposição dos sinais dos H-1 e H-5 somente é possível determinar uma integral combinada destes dois sinais (ROSENBOHM, 2003).

O valor de GM é definido como a quantidade de grupos éster em relação à quantidade total de ácidos carboxílicos livres ou esterificados. Para sua determinação foi utilizada a seguinte equação:

$$GM (\%) = \frac{IA-IB}{IA+IB} \quad (2)$$

Onde I_A representa a integral dos sinais H-1 e H-5 das unidades de Gal_A esterificadas, e I_B representa a integral dos sinais de H-5 das unidades de Gal_A livres.

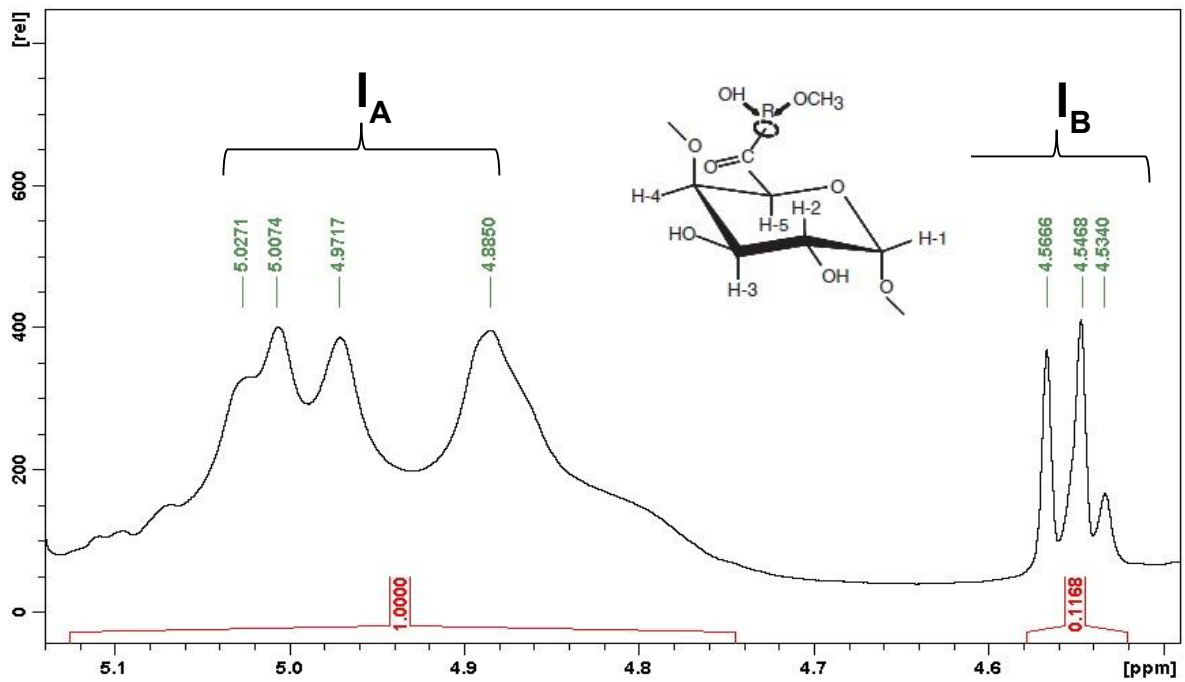


FIGURA 10: REGIÃO DE CAMPO BAIXO DO ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA PND.

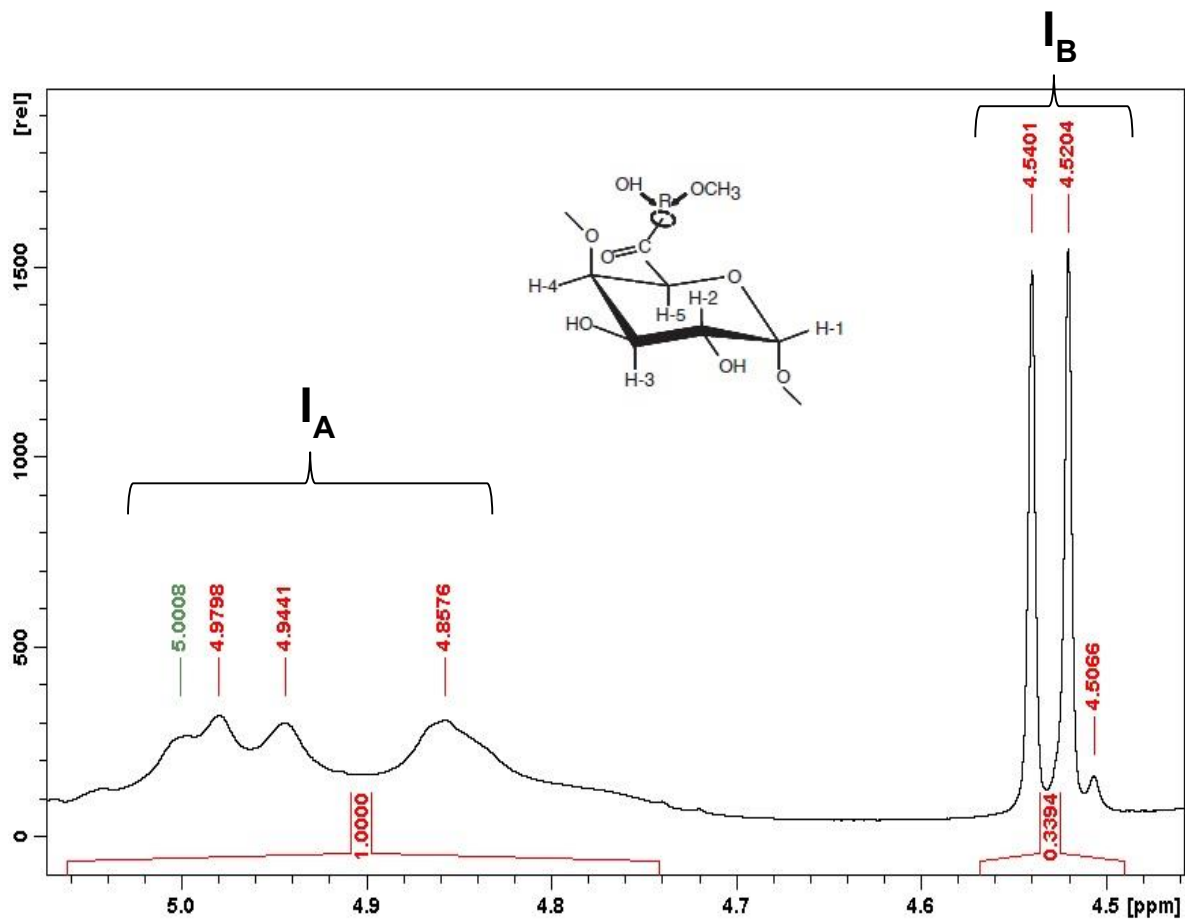


FIGURA 11: REGIÃO DE CAMPO BAIXO DO ESPECTRO DE ^1H RMN DA AMOSTRA PD.

Desta forma, após a integração dos picos utilizando o software TopSpin, foi possível obter os valores do grau de metoxilação para a amostra PND igual a 49% e para PD igual a

79%. Portanto os estudos por FT-IR e ^1H RMN são concordantes. Relacionar PD (mais metoxilada) com menor solubilidade – retido na diálise.

De acordo com os dados da literatura, a pectina possui um valor de pKa de aproximadamente 3,40, podendo apresentar variações nesse valor de acordo com suas características moleculares e estruturais (PLACHINA, 1978; VORAGEN, 1995).

Pelo ajuste da curva de pH em função do volume de base adicionado (FIGURA 12), com auxílio do programa BEST7, foi encontrado para PND o valor de pKa= $3,61 \pm 0,04$ e para a PD pKa= $3,46 \pm 0,05$, evidenciando um caráter mais ácido para a PD. Portanto, a perda de moléculas menores no processo de diálise interfere no valor de pKa da pectina. Considerando que a PD tem maior grau de metoxilação, o maior distanciamento dos grupos carboxílicos nesta amostra favorece a ionização em menores pHs.

Os valores de pKa relacionam-se diretamente à formação do hidrogel. Pectinas com alto grau de metoxilação requerem pHs abaixo do pKa para a formação de hidrogéis, para que os grupos carboxílicos não se encontrem ionizados, favorecendo a associação das cadeias por meio de ligações de hidrogênio (TSOGA, 2004). Os valores encontrados pela caracterização química da pectina estão condensados na Tabela 4.

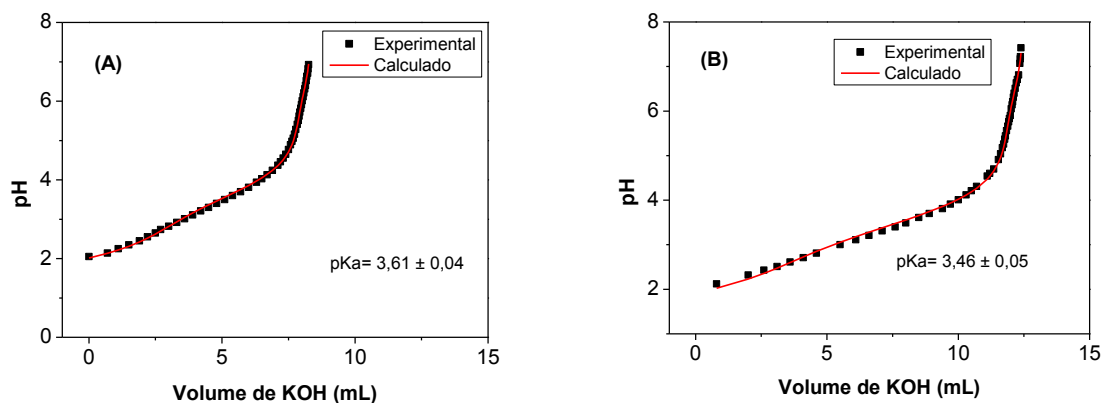


FIGURA 12: TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA (KOH a $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) PARA (A) PND E (B) PD O VALOR DO pKa EXPERIMENTAL FOI CALCULADO PELO PROGRAMA BEST7.

TABELA 4: PROPRIEDADES DAS AMOSTRAS PND E PD: PERCENTUAL PROTEICO, DE ÁCIDOS URÔNICOS, GRAU DE METOXILAÇÃO, ROTAÇÃO ÓPTICA E pKa

Amostra	% proteico (m/m)	% ácidos (m/m)	%metoxilação (FT-IR e ^1H RMN)	α ($^\circ$)	pKa
PND	$1,30 \pm 0,05$	$43,0 \pm 0,8$	43 e 43	$11,6 \pm 0,005$	$3,61 \pm 0,04$
PD	$3,90 \pm 0,08$	$73,0 \pm 0,6$	73 e 79	$26,8 \pm 0,008$	$3,46 \pm 0,05$

5.1.3 Viscosimetria capilar das pectinas

Uma característica importante a ser estudada em soluções poliméricas é a viscosidade intrínseca $[\eta]$ que corresponde ao volume hidrodinâmico (em mL ou dL) por um miligrama ou grama de amostra (volume hidrodinâmico), em uma condição muito diluída. Visto que a $[\eta]$ relaciona-se com a massa molar, diferentes modelos matemáticos são propostos para o cálculo da massa molar viscosimétrica. Empregando a equação de Huggins é possível obter o valor da $[\eta]$ conforme equação abaixo:

$$\eta_{red} = [\eta] + K_H[\eta]^2c \quad (3)$$

Onde η_{red} é a viscosidade reduzida, $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca, K_H é a constante de Huggins e c é a concentração (HUGGINS, 1942; MALKIN, 2006).

Uma vez encontrado o valor da viscosidade intrínseca, a massa molar viscosimétrica média, M_v pode ser calculada através da equação de Mark-Houwink-Sakurada:

$$[\eta] = K.M_v^\alpha \quad (4)$$

Onde K e α são constantes para um determinado par polímero-solvente, a uma determinada temperatura (ROSS-MURPHY, 1994).

A concentração crítica das soluções (c^*), onde pode ser verificada a transição do regime de concentração diluído para o semi-diluído, é estimada pela relação:

$$c^* = 1/[\eta] \quad (5)$$

E através da equação de Flory-Fox, é possível relacionar a viscosidade intrínseca ao raio de giro (R_g) das cadeias poliméricas:

$$[\eta] = \frac{6^{3/2} \Phi R_g^3}{M} \quad (6)$$

Onde Φ é a constante de Flory igual a $2,1 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$, para $[\eta]$ obtida em unidades $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ e M é a massa molar (ROSS- MURPHY, 1994).

A viscosimetria capilar das amostras PND e PD foi realizada em meio salino em duas concentrações diferentes de NaCl 1,0 e 2,0 mol.L⁻¹. A partir do modelo de Huggins e das equações apresentadas na Seção 2.3 foram obtidos os valores de viscosidade intrínseca, concentração crítica, massa molar e raio de giro (TABELA 5):

TABELA 5: VALORES OBTIDOS PELO MODELO DE HUGGINS, COEFICIENTES DE CORRELAÇÃO (R²), VISCOSIDADE INTRINSECA [η], CONCENTRAÇÃO CRÍTICA (c*) E MASSA MOLAR (\overline{Mv}) PARA AS AMOSTRAS DE PND E PD EM NaCl 1,0 E 2,0 MOL.L⁻¹.

Amostras	[NaCl] (mol.L ⁻¹)	R ²	[η] (mL/g)	c* (mg/mL)	\overline{Mv} (10 ³ g/mol)	R _g (nm)	K _H
PND	1,0	0,995	176,0	0,006	194,0	22,4	6,6
PND	2,0	0,933	229,0	0,004	260,0	26,8	2,9
PD	1,0	0,992	224,0	0,004	260,0	26,6	5,4
PD	2,0	0,929	216,0	0,005	245,0	25,8	3,9

O modelo de Huggins mede as interações hidrodinâmicas das moléculas e nos dá informações importantes sobre a interação polímero-solvente. Quando as amostras estão solubilizadas em solvente θ , o K_H adquire valores entre 0,5 e 0,7. Quanto menor seu valor, mais solvatada estará a molécula e melhor deverá ser o solvente (SAKAI, 1968; LAI, 2000). Para as amostras PND e PD, em ambas as concentrações, os valores de K_H estão acima do estabelecido para solventes θ . Esse comportamento é característico de polissacarídeos que são altamente carregados (polieletrólitos) e, portanto estão sujeitos a sofrer interações eletrostáticas. Logo, infere-se que a concentração de sal utilizada não foi suficiente para minimizar as interações eletrostáticas repulsivas entre as cadeias de pectina.

Os valores de [η] estão diretamente relacionados ao volume hidrodinâmico das partículas e este, por sua vez, está relacionado com o tamanho e a conformação das cadeias em solução. Observa-se pelos resultados da Tabela 5, que a amostra PND foi mais afetada pela concentração de sal do que a PD.

A massa molar para as amostras foi calculada a partir da equação de Mark Houwink Sakurada (K= 1,15 e $\alpha = -2,667$). Podemos observar que valores encontrados por viscosimetria capilar para [η], R_g, c* e \overline{Mv} , estão condizentes com os encontrados por SEC, sendo esta última uma técnica mais refinada em relação a viscosimetria.

A amostra PND contém maior concentração de moléculas menores, com maior percentual m/m de grupos carboxílicos (ionizados no pH de estudo) e possivelmente com maior concentração de outros eletrólitos de menor massa, naturalmente presentes em amostras de pectina bruta. Justificando-se, portanto, os resultados encontrados na Tabela 5.

5.1.4 Comportamento reológico das soluções

As propriedades reológicas de polímeros dependem da massa molar e de sua distribuição, da possibilidade de formação de ligações intra e intermoleculares, da conformação adotada pela molécula quando em solução e das variáveis experimentais. A conformação das cadeias em solução, por sua vez, depende da concentração, da temperatura, do pH e da força iônica do meio.

O estudo reológico das soluções pécticas foi realizado em água variando o pH para 1 e 12 e em solução aquosa salina ($\text{NaCl } 2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$) variando o pH para 1 e 12, em banho fechado com temperatura fixada em 20°C , visando elucidar os resultados encontrados no estudo por viscosimetria capilar. De acordo com os valores de pKa encontrados, em pH 1 os grupos ácidos de ambas as amostras encontram-se protonados, enquanto que em pH 12 encontram-se ionizados.

Comparando o comportamento das amostras PND e PD, em água, em pH 1 e em pH 12 (FIGURA 13), pode-se observar que para ambas as amostras, nas duas condições de pH há um aumento acentuado da viscosidade em torno de 300 s^{-1} . O valor exato da taxa de cisalhamento em que a viscosidade aumenta é denominado limite de elasticidade do material e relaciona-se principalmente com a natureza e intensidade das interações intermoleculares (ENDRESS *et al.* 1996). Para a PND, não é possível observar diferenças significativas na viscosidade nos diferentes pHs. No entanto, para a amostra PD, observa-se que em pH 1 a viscosidade é maior em relação ao pH 12.

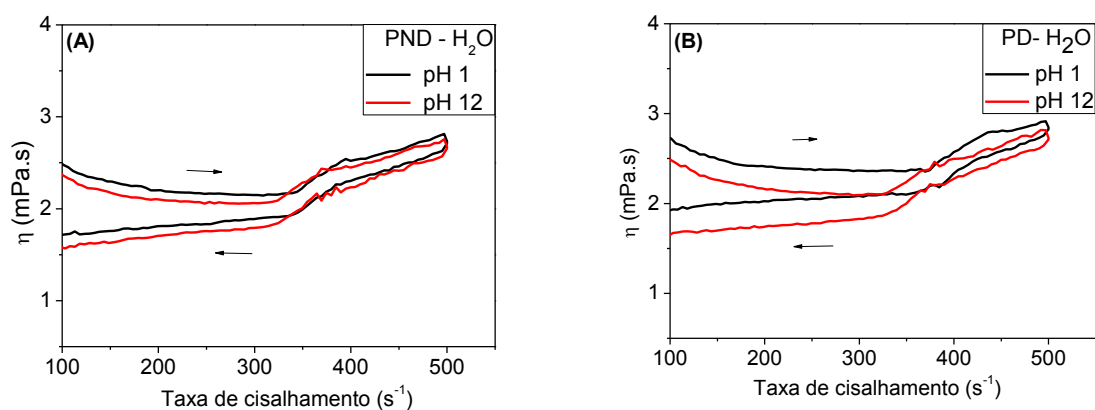


FIGURA 13: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS (A) PND E (B) PD EM ÁGUA ULTRAPURA EM pH 1 E 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).

Ao comparar as amostras PND e PD (FIGURA 14) em pH 1 verifica-se que a amostra PD tem maior viscosidade. Já em pH 12, os valores de viscosidade de ambas amostras estão próximos. Isto pode ser atribuído a não existência de interações de hidrogênio entre as cadeias, visto que acima do pKa , os grupos ácidos estão predominantemente na forma de

carboxilato. Portanto, em pH 1, as interações de hidrogênio são favorecidas e a população com maior massa molar interfere diferentemente na resposta reológica, justificando-se, desta forma, a maior viscosidade da PD em relação à PND neste pH.

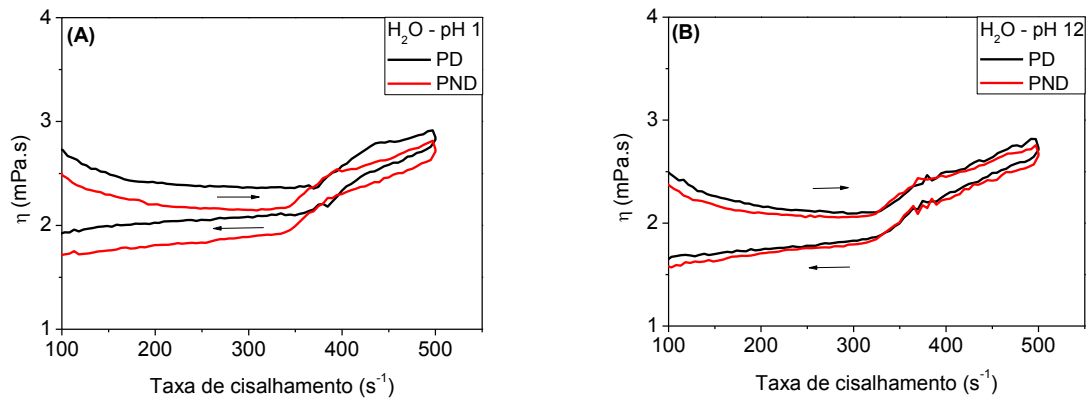


FIGURA 14: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS PND E PD EM ÁGUA ULTRAPURA EM pH (A) 1 E (B) 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).

O mesmo estudo foi realizado para as amostras PND e PD em solução aquosa salina (NaCl , $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) em pH 1 e pH 12 (FIGURA 15). Para a PND pode-se verificar um aumento na viscosidade variando o pH de 1 para 12. Para a PD a variação da viscosidade é bem mais significativa devido à sua maior massa molar e, portanto, a maior quantidade de grupos ácidos possíveis de fazer ligação de hidrogênio.

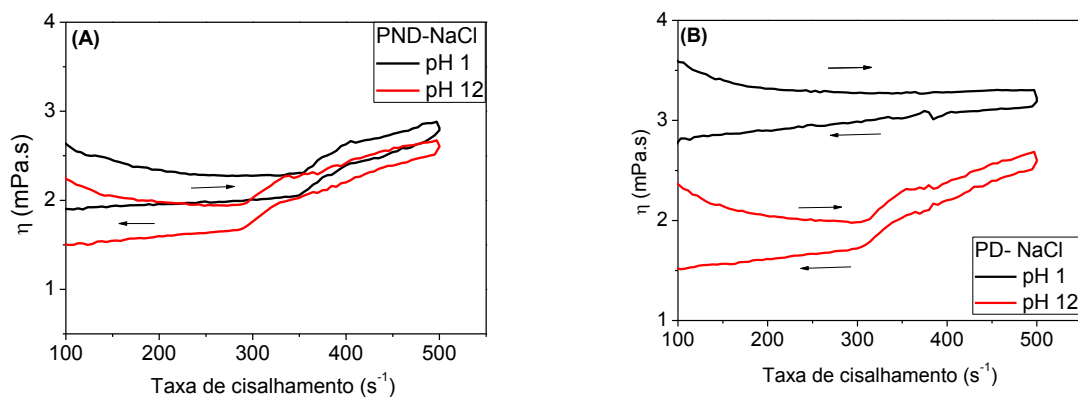


FIGURA 15: COMPORTAMENTO REOLÓGICO DAS AMOSTRAS (A) PND E (B) PD EM SOLUÇÃO AQUOSA SALINA EM pH 1 E 12 ($2,00 \text{ mg.mL}^{-1}$).

Um estudo comparativo entre as amostras em solução aquosa salina também foi realizado (FIGURA 16), mostrando novamente que a PD apresenta maior viscosidade em relação a PND. Em condições acima do pK_a (pH 12) o comportamento de ambas as amostras são semelhantes, analogamente ao que ocorreu em água pura. Em pH 1, e na presença de sal, o aumento da viscosidade da PD em relação à PND é mais significativa do que em água

pura. Este fato pode estar relacionado a maior repulsão entre as cadeias em pH 12, ou seja, maior interação repulsiva entre os grupos carboxilatos que nessa faixa de pH encontram – se carregados negativamente. Vale ressaltar que em pH 1 a presença de sal perturba o estado neutro das cargas enquanto que em pH 12 o sistema não é perturbado.

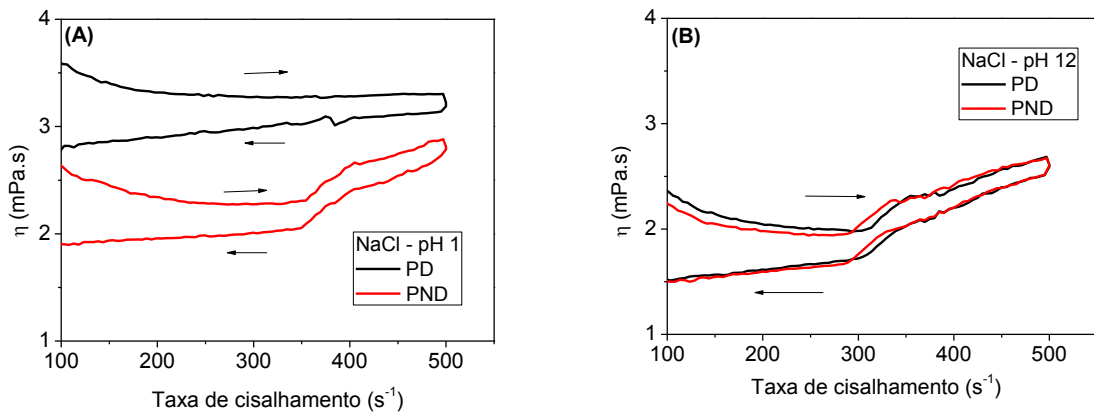


FIGURA 16: COMPORTAMENTO REOLÓGICO COMPARATIVO DAS AMOSTRAS PND E PD EM SOLUÇÃO AQUOSA SALINA EM pH (A) 1 E (B) 12(2,00 mg.mL⁻¹).

Nas TABELAS 6 e 7 são apresentados os valores de viscosidade no limite de elasticidade das pectinas, nos ciclos de aumento de taxa de cisalhamento (ida) e no decréscimo (volta).

TABELA 6: VALORES DO LIMITE DE ELASTICIDADE (s⁻¹) DA AMOSTRA DE PND COM O AUMENTO DA TAXA DE CISALHAMENTO (IDA) E COM A DIMINUIÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO (VOLTA) EM ÁGUA E NaCl.

Amostras(mg/mL)	PND- H ₂ O		PND- NaCl	
	Ida	Volta	Ida	Volta
pH 1	334,4	329,0	323,9	314,4
pH 12	308,8	299,3	278,3	269,2

TABELA 7: VALORES DO LIMITE DE ELASTICIDADE (s⁻¹) DA AMOSTRA DE PD COM O AUMENTO DA TAXA DE CISALHAMENTO (IDA) E COM A DIMINUIÇÃO DA TAXA DE CISALHAMENTO (VOLTA) EM ÁGUA E NaCl.

Amostras(mg/mL)	PD- H ₂ O		PD- NaCl	
	Ida	Volta	Ida	Volta
pH 1	359,4	349,5	-	-
pH 12	318,9	294,2	303,6	279,2

Pelos valores do limite de elasticidade apresentados nas tabelas acima, observa-se a reversibilidade dos processos de deformação por cisalhamento, visto que estes valores não sofrem deslocamentos significativos ao compararem-se as curvas de ida e volta.

Além disso, a redução nos valores do limite de elasticidade para a PND na presença de sal e em ambos os pHs, indica a redução na intensidade das interações intermoleculares

nesta condição. Comportamento semelhante ocorreu para a PD apenas em pH 12. Ao contrário, em pH 1 sugere-se que o limite de elasticidade tenha se deslocado para valores maiores, acima do intervalo experimental (500 s^{-1}).

Dentre as amostras analisadas, maiores viscosidades foram observadas empregando a amostra PD, em NaCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e em pH 1.

5.2 SÍNTESE DO POLIPIRROL

O esquema da FIGURA 17 mostra uma ilustração de uma proposta de como a pode ocorrer a síntese química do polipirrol em presença de pectina. As cadeias de pectina atuam como um estabilizador, visto que monômeros e oligômeros de polipirrol adsorvem no polissacarídeo, produzindo um núcleo de crescimento. Pelo mecanismo de reação em cadeia ocorre a formação de novos oligômeros no meio reacional permitindo que todo o sistema se polimerize. Ocasionalmente, outras cadeias de estabilizador atraem partículas em crescimento, que impedem a agregação. Este crescimento pode ser observado pela mudança da cor da síntese que passa de incolor a preta conforme o pirrol é polimerizado.

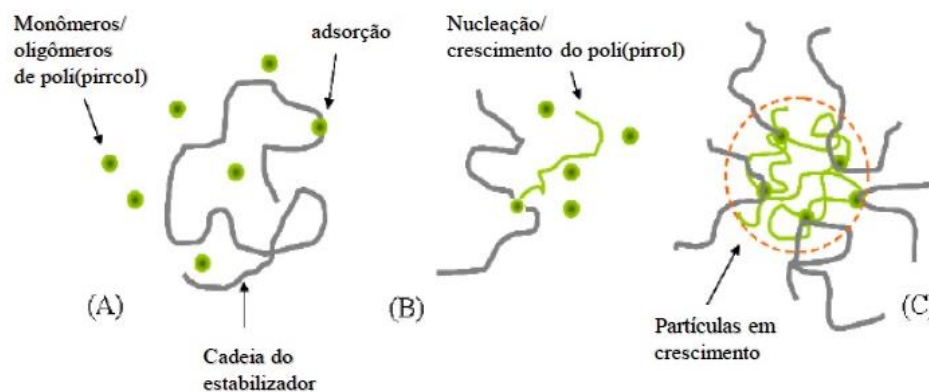


FIGURA 17: MODELO DE FORMAÇÃO DE PARTÍCULA COLOIDAL: (A) OLIGÔMEROS DE PIRROL ADSORVIDOS À CADEIA DE ESTABILIZADOR, (B) CRESCIMENTO DE UMA CADEIA DE PPy PRODUZINDO UM NÚCLEO; (C) OUTROS OLIGÔMEROS E NOVAS CADEIAS DE PPy PERTO DO NÚCLEO, AUMENTO DO TAMANHO DA PARTÍCULA COLOIDAL. ADAPTADO DE IROH E SU, 2000.

5.2.1 Espectroscopia por UV-Vis para PD/PPy e PND/PPy

A síntese do PPy foi realizada da mesma maneira empregando PND e PD como agente estabilizante, a 45°C , e foi acompanhada por espectroscopia no UV-Vis, por 85 minutos (FIGURA 17A e B). O espectro mostra um crescimento das bandas com absorção máxima (λ_{max}) em $\sim 450 \text{ nm}$ e $\sim 800 \text{ nm}$ (FIGURA 18). A primeira é de mais alta energia e a segunda costuma ser atribuída à forma totalmente oxidada do polipirrol (BRÉDAS, 1985; ARJOMANDI, 2011).

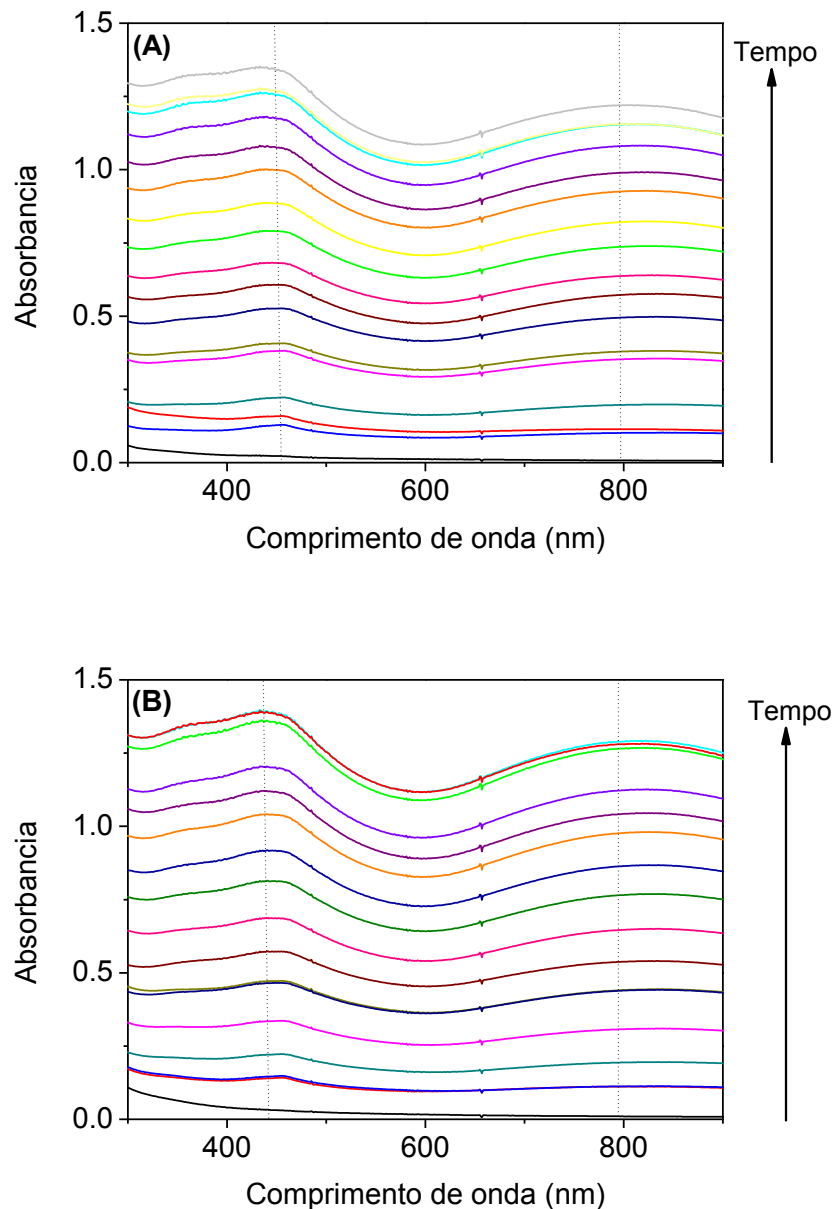


FIGURA 18: ACOMPANHAMENTO DA POLIMERIZAÇÃO DO PIRROL POR UV-VIS, EMPREGANDO (A) PND E (B) PD COMO ESTABILIZANTE.

As dispersões de polipirrol empregando tanto a PD quanto a PND permaneceram estáveis por meses quando armazenadas em geladeira.

Medidas de potencial zeta (ζ) das amostras PND-PPy e PD-PPy foram feitas para relacionar a presença de PND ou PD com a carga superficial das partículas. Como observado na FIGURA 19, as amostras apresentam carga superficial líquida negativa variando de -40 a -15 mV, com valores máximos de $\zeta_{\max} = -30,4$ mV e $\zeta_{\max} = -24,8$ mV, para PD-PPy e PND-PPy, respectivamente. A origem da carga superficial negativa é provavelmente devido à adsorção na superfície das moléculas de pectina, que no pH em estudo apresentam grupos carboxílicos ionizados. Os valores mais negativos na presença de PD deve-se, possivelmente, a maior quantidade de ácidos urônicos nesta amostra em relação à PND (cf. Tabela 4).

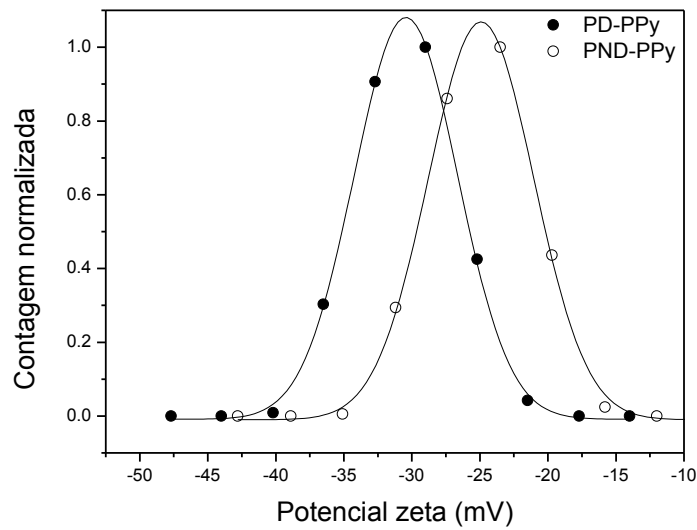


FIGURA 19: CURVAS DE POTENCIAL ZETA E OS CORRESPONDENTES AJUSTES GAUSSIANOS DAS AMOSTRAS PND-PPy E PD-PPy.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DOS HIDROGÉIS

Hidrogéis foram obtidos através da reticulação da pectina com CaCl_2 . Foram preparadas amostras com PND e PD, na ausência e presença de polipirrol. Neste último caso, foram empregadas as dispersões logo após a síntese, conforme descrito na seção anterior. A FIGURA 20 apresenta dois hidrogéis de pectina na ausência e presença de polipirrol, PD e PD-PPy, respectivamente. Além de apresentarem diferenças visuais, ao serem pressionados entre os dedos, nota-se uma maior resistência à deformação do hidrogel sem PPy em relação ao hidrogel com PPy. Os hidrogéis preparados na presença de PPy possuem uma coloração escura, característica da dispersão obtida após a síntese de polimerização do pirrol. Essas diferenças nas propriedades mecânicas foram comprovadas através de estudos reológicos que serão apresentados mais adiante nesta seção.

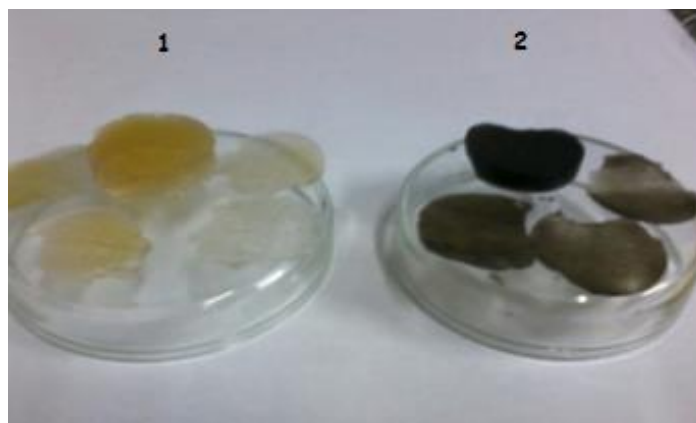


FIGURA 20: IMAGENS DOS HIDROGÉIS FORMADOS EM 1) PECTINA DIALISADA E 2) PECTINA DIALISADA COM POLÍMERO CONDUTOR.

5.3.1 Espectroscopia Raman

Espectroscopia Raman é uma técnica que permite a identificação química e estrutural de diferentes materiais orgânicos ou inorgânicos. As técnicas de espectroscopia no infravermelho e a Raman são complementares para caracterizar de maneira mais efetiva as propriedades vibracionais dos materiais (PRASAD, 2003).

Em um estudo desenvolvido por Crowley (2003), filmes de PPy foram eletroquimicamente sintetizados na superfície de um eletrodo de platina e técnicas espectroscópicas *in situ* foram empregadas para o estudo eletrônico e estrutural das alterações apresentadas pelo PPy mediante diferentes potenciais aplicados. Os autores, por meio da técnica de UV-Vis por reflectância identificaram os estados neutro, cátion e dicátion e atribuíram que estas espécies apresentariam um maior efeito de ressonância nos espectros Raman se excitadas com *lasers* nos comprimentos de onda 457 nm (azul), 514 nm (verde) e 633 nm (vermelho), respectivamente. Na TABELA 8, a seguir, estão identificadas as principais bandas encontradas e suas respectivas atribuições. Estes resultados decorreram da análise dos espectros obtidos em diferentes excitações e aplicando diferentes potenciais ao eletrodo modificado por PPy.

TABELA 8. PRINCIPAIS PICOS ENCONTRADOS NO PPy, COM SEUS RESPECTIVOS ESTADOS DE OXIDAÇÃO E ATRIBUIÇÕES, EXTRAÍDO DA REFERÊNCIA (CROWLEY, 2003).

Bandas / cm⁻¹	Espécie predominante	Atribuição
1619-1622	Dication	C=C, estiramento, curta extensão de conjugação
1570-1590	Cátion	C-C, estiramento no polímero
1555-1560	Neutro	C=C, estiramento no polímero
1312-1315	Neutro	C-C, estiramento
1057-1060	Cátion	CH deformação angular no plano
1042-1045	Neutro	CH, deformação angular no plano
993-995	Neutro	Deformação no anel
968-970	Cátion	Deformação no anel
922-925	Dication	CH deformação angular fora do plano

Foram analisadas por espectroscopia Raman as amostras dos géis macerados e liofilizados, gPND-PPy e gPD-PPy, utilizando radiação *laser* de comprimento de onda 632,8 nm. Assim, a forma dicátion seria melhor identificada, que como mencionado, está diretamente relacionada com o nível de dopagem do polímero. Os espectros Raman dos pós dos géis gPND-PPy e gPD-PPy estão apresentados na FIGURA 21. Os espectros correspondentes aos géis sem PPy (gPND e gPD) foram omitidos por não ser possível observar nenhum pico Raman, devido à fluorescência proveniente desse tipo de material.

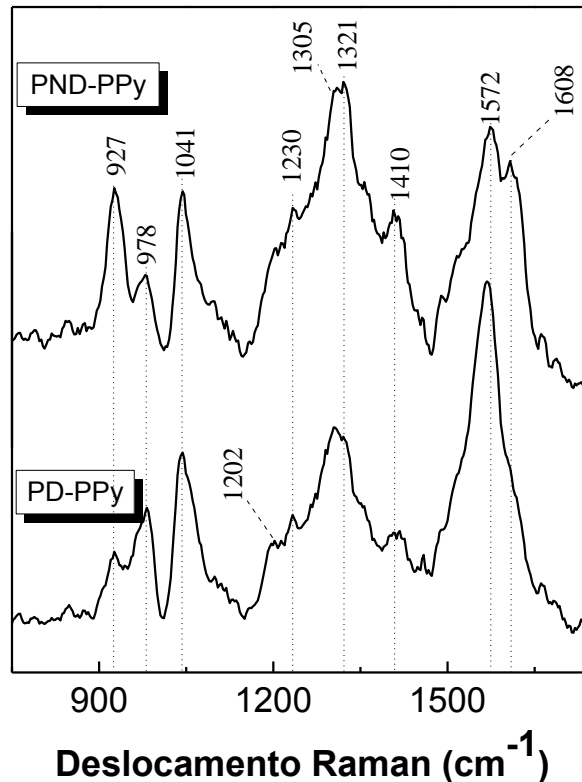


FIGURA 21: ESPECTROS RAMAN OBTIDOS DAS AMOSTRAS gPND-PPY E gPD-PPY, LIOFILIZADAS E MACERADAS. RADIAÇÃO UTILIZADA: 632,8 NM.

Os espectros indicam que ambas as amostras possuem um padrão de bandas concordantes com o descrito em literatura para o PPy e que não são encontrados sinais referentes à pectina. Este é um fato esperado, devido ao intenso sinal do polímero condutor, que possui um efeito forte de ressonância, encobrindo qualquer sinal referente à pectina. Ainda, comparando-se as amostras, não se observa nenhum deslocamento drástico, indicando que não ocorre a quebra da conjugação do PPy pela utilização da pectina, dialisada ou não.

Entre as amostras, as principais diferenças estão nas regiões entre 920-980 cm^{-1} e 1550-1610 cm^{-1} . As bandas em 927 cm^{-1} e 978 cm^{-1} podem ser atribuídas respectivamente à deformação fora do plano da ligação C-H e à deformação do anel. A intensidade relativa dessa última está diretamente relacionada ao estado de oxidação e dopagem do polímero (CROWLEY, 2003; LIU 2000; LIU, 2002). Quanto mais oxidado, maior a relação I_{927}/I_{978} . Comportamento análogo é observado em relação às bandas em 1572 e 1608 cm^{-1} , sendo que ocorre o aumento de intensidade desta última, de acordo com o aumento do grau de oxidação do PPy. As bandas discutidas, portanto, indicam que ao empregar a PND como agente estabilizante, o PPy encontra-se em um estado mais oxidado (ou maior dopagem), possivelmente devido à participação das espécies de menor massa molar (PND) no processo de dopagem do PPy. Na FIGURA 21 são encontradas bandas características do estado

reduzido bem como do estado oxidado para as duas amostras indicando que diferentes estruturas na formação do PPy são obtidas por meio da síntese com PND ou PD.

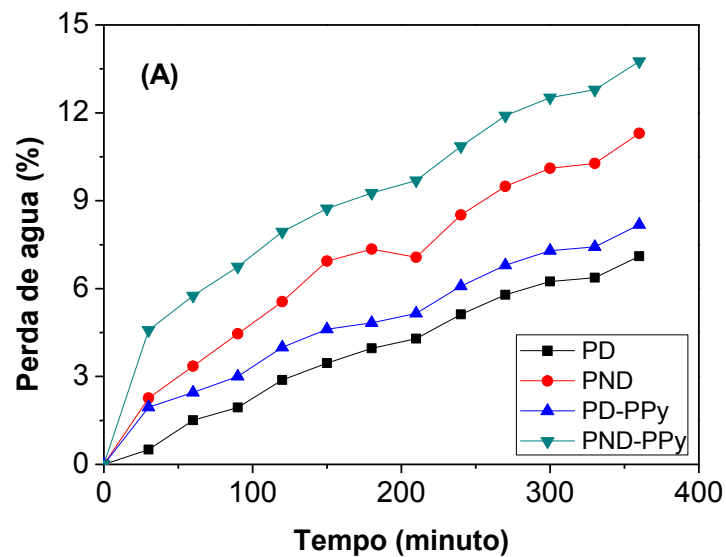
5.3.2 Medidas de perda de água para os géis com e sem PPy (sinerese)

Devida a importância para a adequada aplicação de hidrogéis é o conhecimento do comportamento de perda de água. A porcentagem de perda de água foi calculada pela equação (GANN, 2009):

$$\text{Perda de água (\%)} = [(M_{eq} - M_t) \times (M_{eq})^{-1}] \times 100 \quad (7)$$

Onde, M_{eq} é a massa do hidrogel no equilíbrio (intumescido), e M_t a massa do hidrogel em determinado tempo t de secagem.

A quantidade de água liberada pelo hidrogel foi um parâmetro estudado em duas temperaturas diferentes, 1°C e a 25°C, para avaliar o potencial de aplicação e a capacidade de permeabilidade de géis. Na FIGURA 22 encontram-se os gráficos de perda de água para os géis da PND e PND com e sem polipirrol.



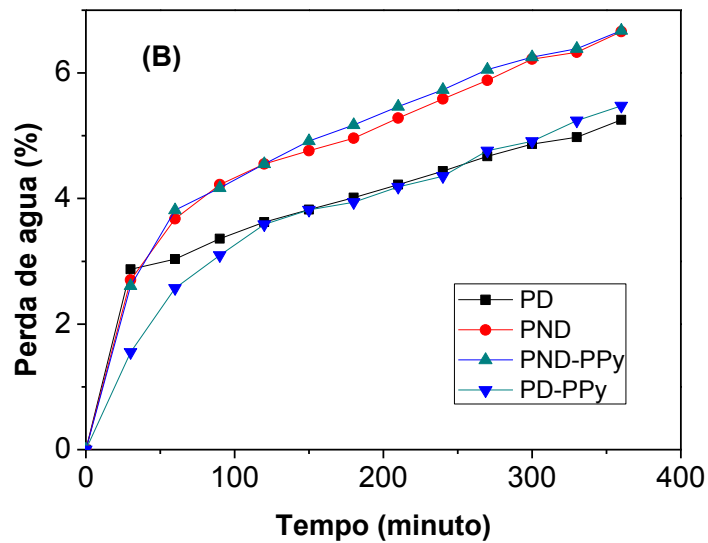


FIGURA 22: MEDIDAS DE PERDA DE ÁGUA DOS HIDROGÉIS DE PECTINA COM E SEM PPy EM DUAS TEMPERATURAS DISTINTAS, (A) 1°C E (B) 25°C.

O processo de expulsão de água devido à contração do gel decorrente da temperatura é também conhecido como sinerese. O comportamento dos géis com e sem PPy seguem a mesma tendência a 1°C sendo a maior porcentagem de perda de água para o gel PND-PPy (~14%). Já em condições de temperatura mais elevada o comportamento difere, sendo a maior porcentagem de perda de água em ~7% também para o PND-PPy. Assim, a temperatura e a presença de PPy tem influência na sinerese dos géis e as amostras não dialisadas e com PPy, devido ao seu caráter hidrofóbico, as mais susceptíveis a perda de água nas duas temperaturas.

5.3.3 Grau de intumescimento dos hidrogéis com e sem PPy em FGS e FIS

O fenômeno de intumescimento é controlado por fatores entrópicos e entálpicos relacionados à conformação macromolecular e suas interações com o meio (FLORY & REHNER, 1943).

Os valores de $I\%$ dos hidrogéis pécticos com e sem polímero condutor foram calculados de acordo com a equação abaixo (SPINKYS, 2006):

$$I\% = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100 \quad (8)$$

Onde M_t é a massa do hidrogel intumescido em um tempo t e M_0 é a massa do mesmo hidrogel após secagem.

O grau de intumescimento dos hidrogéis na presença e na ausência de PPy em FGS e FIS (FIGURA 23) mostraram diferentes comportamentos em relação ao meio e suas composições.

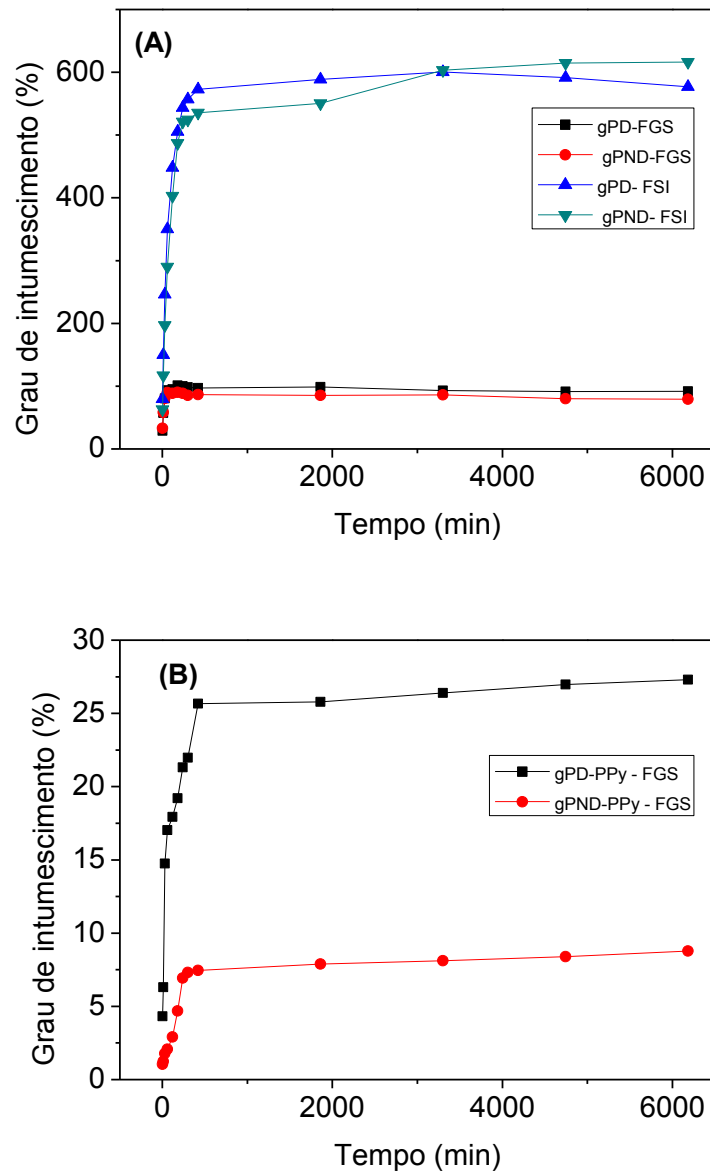


FIGURA 23: GRAU DE INTUMESCIMENTO DOS HIDROGÉIS PELO TEMPO EM FGS E FIS SENDO (A) SEM PPy E (B) COM PPy.

Pela FIGURA 23 pode-se observar que os géis gPND e gPD, em FGS, apresentam um maior grau de intumescimento em relação aos géis gPND-PPy e gPD-PPy, no mesmo meio.

O menor grau de intumescimento dos hidrogéis pode ser atribuído às fortes interações na matriz do hidrogel entre o polímero condutor e o polissacarídeo através de ligações de hidrogênio corroborando assim com os resultados obtidos pela FIGURA 22 (medidas de perda

de água) devido ao PPy ter um caráter hidrofóbico era de se esperar que a matriz contendo o polímero condutor perderia água com mais facilidade.

Os hidrogéis gPND-PPy e gPD-PPy em FIS não foram possíveis de serem comparados, uma vez que, no tempo de 300 minutos eles perderam sua integridade física. Enquanto que os géis gPND e gPD mantiveram-se íntegros apresentando perda de massa somente por volta de 4000 minutos.

Essa diferença de comportamento em diferentes meios pode ser atribuída aos grupos carboxílicos da pectina estarem não ionizados abaixo do pKa e ionizados acima do pKa. Quando os valores de pH são superiores ao pKa da pectina (~3,5), os grupos carboxílicos estão na forma de carboxilatos, favorecendo o aumento do intumescimento do gel. O aumento da quantidade dos grupos carregados negativamente favorece a repulsão ânion-ânion entre as cadeias de pectina, permitindo que haja um aumento no tamanho e número de poros, e em consequência, a quantidade de água absorvida é significativamente maior, levando a desintegração da matriz do hidrogel (GANZA-GONZALEZ, 1999; SUI, 2008; LOPES, 2013).

Com o hidrogel mantendo um menor grau de intumescimento no meio gástrico, o material pode ser utilizado para liberação controlada de fármacos, uma vez que esse tipo de dispositivo busca uma absorção mínima na mucosa gástrica e uma máxima no cólon (FREIRE, 2006).

5.3.4 Medidas reológicas dos hidrogéis produzidos com e sem PPy

O comportamento reológico dos materiais pode ser classificado em sólidos perfeitos (Hookeanos) e fluidos perfeitos (Newtonianos). Os sólidos ideais se deformam elasticamente e a energia de deformação é completamente recuperada, quando cessa o estado de tensão enquanto que os fluidos ideais se deformam de forma irreversível e a energia de deformação é dissipada na forma de calor (PASQUEL, 1999).

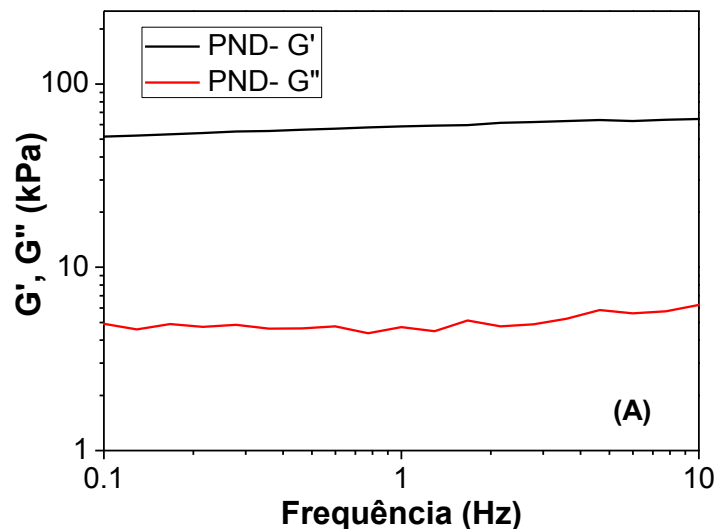
O termo viscoelástico é utilizado para descrever o comportamento intermediário entre sólido e líquido. Alguns fluidos são, no entanto, essencialmente não elásticos, mas tem uma viscosidade que varia com o estado de deformação, eles são chamados de fluidos não newtonianos. A viscoelasticidade é um fenômeno dependente do tempo que, ao contrário dos demais fenômenos, só ocorre em sistemas poliméricos (MACOSKO *ET AL.*, 1993).

No caso da aplicação de uma deformação conhecida, a componente elástica da tensão gerada (resposta) está em fase com a deformação, e quando relacionada com a deformação fornece o módulo de armazenamento (G'). Ao contrário, a componente viscosa da tensão está fora de fase com a deformação, de um valor δ (delta) e, neste caso, ao relacionar-se com a deformação fornece o módulo de perda (G''). Dispersões coloidais e polímeros são exemplos

de fluidos complexos com comportamento viscoelástico devido à sua natureza macromolecular (MASON E WEITZ, 1995).

Após um intervalo de 30 minutos da purificação dos géis, foi iniciado o estudo reológico dos sistemas. Para a determinação do comportamento dos sistemas pécticos, foi realizada uma varredura de tensão para se determinar a região viscoelástica, ou seja, a região onde a estrutura do gel é preservada (pequenas deformações). A região de viscoelasticidade linear usada foi de 10 Pa, porque acima desse valor os módulos elástico e viscoso começaram a apresentar dependência da tensão.

Pode-se observar pela FIGURA 24 que os módulos G' e G'' são maiores para o hidrogel gPD em relação ao gel gPND. Esta diferença pode ser atribuída ao processo de diálise, onde ocorre a perda de oligômeros, que por infravermelho, mostrou tratar-se das moléculas mais metoxiladas. Portanto, os géis gPD são favorecidos pelas interações entre moléculas de maior massa molar (carboxiladas) com os íons divalentes. Outra causa do melhor desempenho dos géis gPD relaciona-se à maior concentração de moléculas de maior massa molar. Assim, pode-se atribuir que a força dos géis pécticos pode estar relacionada aos valores do grau de metoxilação e massa molar média (HAMINIUK 2009).



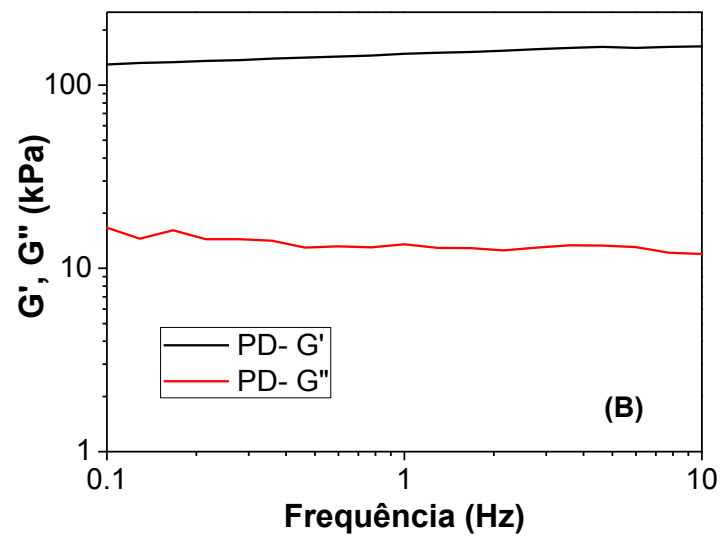
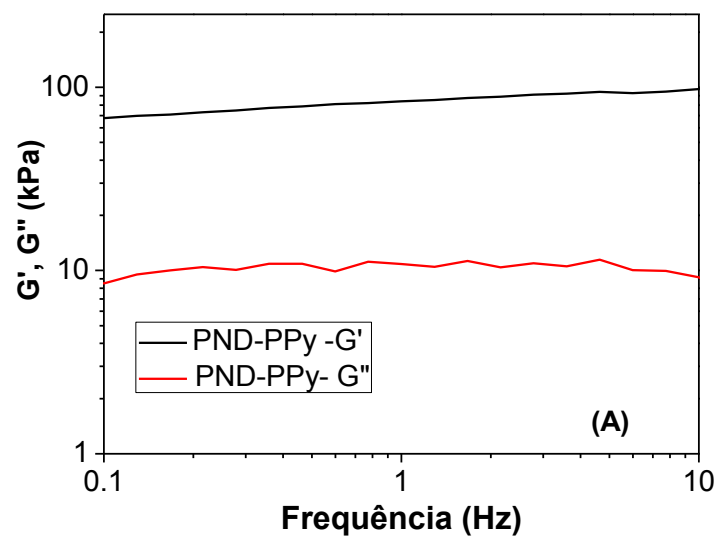


FIGURA 24: VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 20°C PARA OS HIDROGÉIS (A) gPND E (B) gPD

Porém, ao analisar a FIGURA 25 observa-se que a presença do PPy interfere nas propriedades mecânicas dos géis. Foi obtido um menor módulo de armazenamento para a pectina dialisada e um maior módulo para a pectina não dialisada, resposta contrária encontrada para os géis sem o polímero condutor. Este resultado pode ser atribuído à maior interação do polipirrol com a matriz do polissacarídeo, através das moléculas de menor massa molar perdidas durante a diálise, que possivelmente apresentam interações estéricas com as cadeias de PPy. Pode-se observar nas figuras que na faixa de frequência empregada os módulos G' e G'' não se interceptam (*crossover*), o que reflete a existência de uma rede tridimensional.



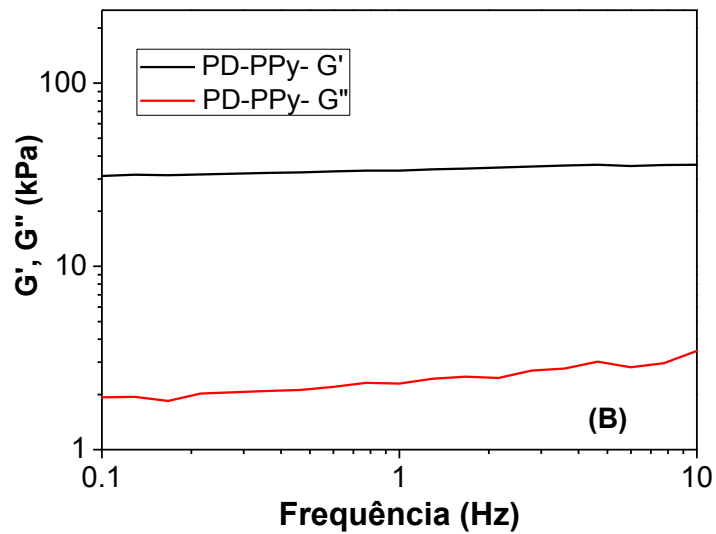


FIGURA 25: VARREDURA DE FREQUÊNCIA A 20°C PARA OS HIDROGÉIS (A) gPND-PPy E (B) gPD-PPy.

5.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

Na FIGURA 26 são apresentadas micrografias dos hidrogéis gPND, gPD, gPND-PPy e gPD-PPy após serem liofilizados e fraturados. Nota-se uma similaridade morfológica entre os hidrogéis A, B, C e D que correspondem a gPND (500x), gPND (10000x), gPD (500x) e gPD (10000x), respectivamente, em que apresentam superfície irregular aproximando 500 ou 10000x. As imagens nomeadas E, F, G e H correspondem aos hidrogéis preparados na presença de PPy. É possível observar uma maior homogeneidade na superfície para ambos os géis, mostrando que ao adicionar o polímero condutor a superfície fica mais uniforme, principalmente para o gel gPND-PPy.

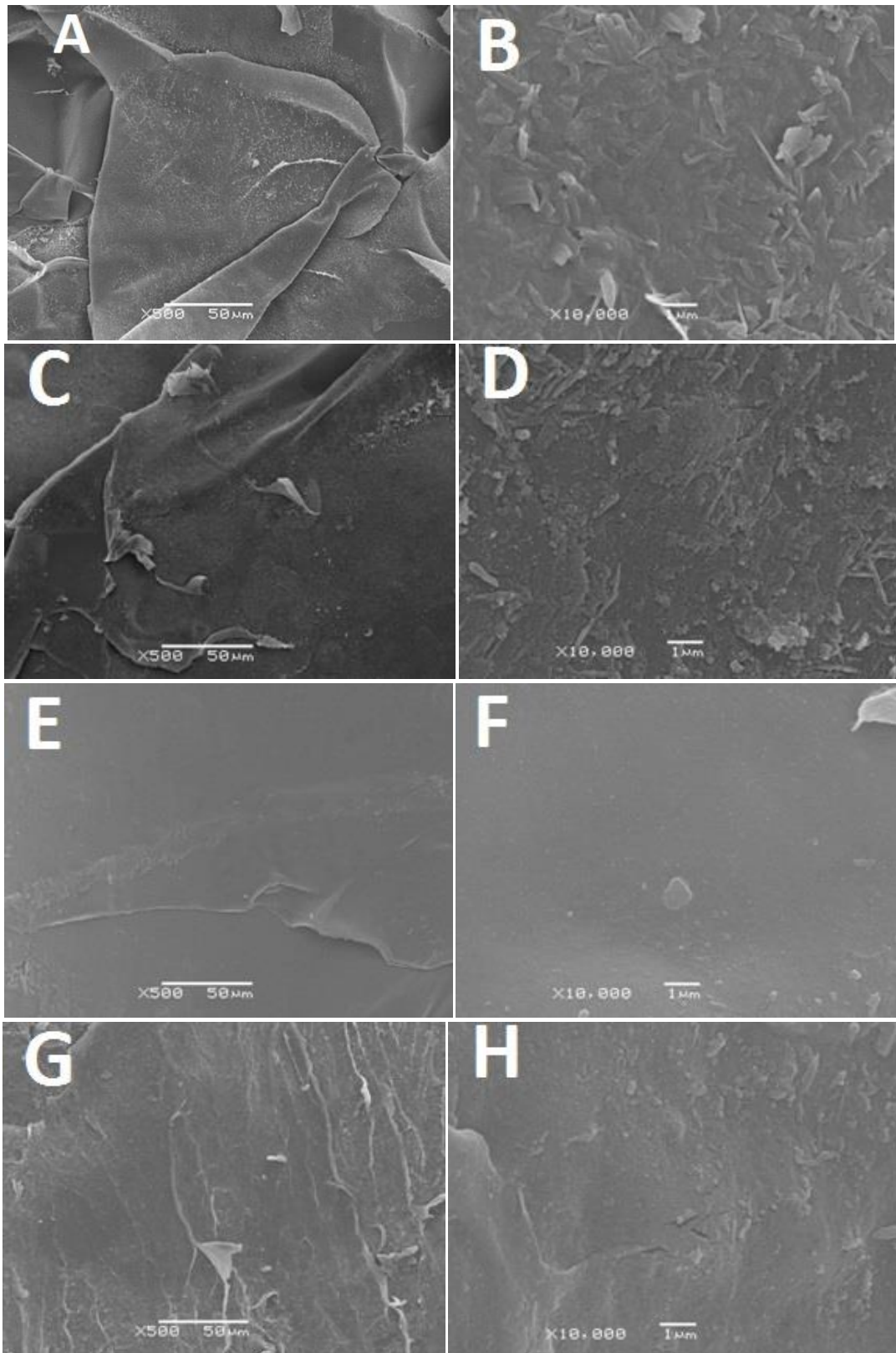


FIGURA 26: IMAGENS DE MEV PARA OS HIDROGÉIS A) gPND(500x), B) gPND(10000x), C) gPD(500x), D) gPD(10000x), E) gPND-PPy(500x), F) gPND-PPy(10000x), G) gPD-PPy(500x) E H) gPD-PPy(10000x), APÓS LIOFILIZADOS, MACERADOS E RECOBERTOS COM UMA FINA CAMADA DE OURO.

5.3.6 Caracterização eletroquímica

Para averiguar o comportamento eletroativo dos materiais sintetizados, as amostras foram submetidas a experimentos voltamétricos. Dois eletrodos de platina foram modificados a partir dos materiais sintetizados utilizando as amostras gPND-PPy e gPD-PPy. A técnica de voltametria cíclica é a mais utilizada para a verificação exploratória da eletroatividade de materiais. Para tanto, é aplicado potencial na superfície do eletrodo, cujo valor varia em função do tempo, através de um parâmetro experimental denominado velocidade de varredura. A varredura pode ser tanto catódica, quanto anódica e através desta é possível analisar a reversibilidade eletroquímica da reação que ocorre na superfície do eletrodo, bem como obter outros parâmetros como os picos de oxidação e redução, que estão relacionados com processos difusionais que ocorrem na superfície do eletrodo (BARD, 2001).

No caso de eletrodos modificados, os processos difusionais são efetuados de forma ligeiramente diferentes, dos relacionados com conceitos de eletroquímica em estado sólido. Nesta situação, a espécie eletroativa já se encontra imediatamente na superfície do eletrodo, não necessitando difundir do seio da solução para a reação redox. No caso dos polímeros condutores, quando estes apresentam uma perda de elétrons, devido à oxidação provocada pelo eletrodo, cargas positivas se acumulam ao longo da cadeia polimérica, fato que não é termodinamicamente estável, desta forma é necessário uma compensação de cargas para o equilíbrio do sistema. Levando em consideração um processo de oxidação, a compensação de cargas pode ocorrer de duas formas: (i) pela expulsão de cargas positivas (cátions) da matriz polimérica para o eletrólito, ou (ii) pela incorporação de cargas negativas (ânions), do eletrólito para o interior do polímero condutor. Estes processos são largamente reportados em literatura e estudados por meio de diferentes técnicas, porém a mais empregada é a microbalança eletroquímica de cristal de quartzo (FOSCHINI, 2009). Na Figura 27 são mostradas as voltametrias cíclicas dos eletrodos modificados gPND-PPy e gPD-PPy, efetuadas em tampão fosfato (pH = 6,8).

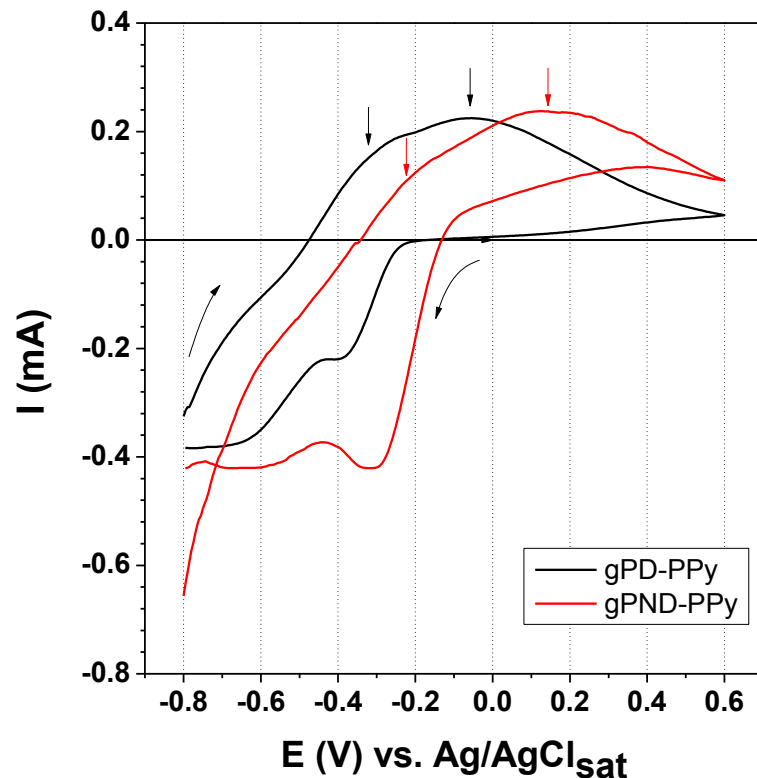


FIGURA 27: VOLTAMETRIA CÍCLICA DAS AMOSTRAS gPND-PPy e gPD-PPy COM VELOCIDADE DE VARREDURA A 10 mVs^{-1} EM ELETRÓLITO PBS.

É possível verificar que ambas as amostras possuem eletroatividade com processo redox bem definidos referentes aos dois processos reversíveis de oxidação/redução (FIGURA 1), em potenciais ligeiramente diferentes ao encontrado em literatura (cerca de 200 mV deslocados para potenciais mais anódicos), se comparados com filmes eletrossintetizados (SOARES *et al.*, 2012; CROWLEY, 2003). Podemos dizer que este fato não é inesperado, uma vez que o PPy está na forma de um compósito, intimamente ligado à pectina. Desta forma, o processo de transferência de carga entre o eletrodo e o material eletroativo é dificultado, explicando a necessidade de um maior valor de potencial para ocorrer o processo redox. O fato dos picos serem indefinidos é indicativo de uma compensação de cargas (eletrólito/material eletroativo) lenta, o que também pode ser explicado pela presença da pectina.

Não é possível apenas com este experimento determinar se o processo de troca iônica é mediante aos mecanismos acima descritos (i), (ii) ou simultâneos, porém, é reportado em literatura que o PPy quando polimerizado na presença de outra estrutura volumosa e com carga negativa (como mencionado anteriormente, a pectina possui cargas negativas devido aos ácidos carboxílicos desprotonados), esta pode se ancorar de forma intensa à matriz do

PPy, fazendo com que desta forma a carga negativa permaneça no composto sem participar da difusão iônica. Porém, leva a uma troca iônica basicamente efetuada por cátions (DALL'ANTONIA et al., 2002). Esta característica leva a uma melhor definição dos picos e também aumenta a eletroatividade e durabilidade do PPy (WANG e YU, 2012).

Comparando as duas amostras, há uma ligeira diferença nos processos de oxidação, para o composto gPND-PPy apresentando valores mais positivos e uma maior intensidade no pico da primeira redução do PPy. É muito difícil atribuir essa diferença baseando somente na presença, ou não, de espécies de menor massa molecular ou de contra-íons da pectina, uma vez que não temos como averiguar qual a proporção destes que permanecem quando o eletrodo modificado é inserido no eletrólito. Mais estudos devem ser realizados no sistema para a elucidação deste fato. Porém, é possível afirmar que ambos compostos possuem boa eletroatividade.

As amostras gPND-PPy e gPD-PPy também foram avaliadas por espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS). A EIS nos permite estudar através de uma caracterização elétrica, o comportamento geral de um sistema quando ocorrem processos intercorrelacionados em diferentes frequências, nos fornecendo uma visão completa e detalhada das características elétricas da interface eletrodo/solução, como por exemplo, a resistência de transferência de carga (R_{ct}), a capacitância da dupla camada elétrica (C_{dl}) e a resistência da solução (R_s). Em sistemas mais complexos, como eletrodos porosos, por exemplo, a medida de EIS nos permite obter valores da difusão iônica nos poros e até mesmo a difusão eletrônica no filme em questão. É por isso que a EIS se tornou uma técnica muito poderosa para uma detalhada investigação eletroquímica do sistema em questão (CARVALHO ET AL., 2006).

A impedância é uma grandeza vetorial, e por isso ela é comumente representada por suas componentes real (Z') e imaginária (Z''). No entanto, existem diferentes modos de representação do comportamento da impedância eletroquímica de um sistema. Porém, como já mencionado acima, a maneira mais usual é através do “plano complexo” (Z' versus Z''), como mostrado na Figura 28B (representação de Nyquist). A desvantagem desse tipo de representação é que não há uma leitura direta da frequência, ou seja, o autor tem que indicá-las nos processos de interesse. Já no gráfico de Bode, cuja representação se dá pelo módulo da impedância em função da frequência, a leitura da frequência é direta, porém, a definição dos processos não fica bem clara como na representação de Nyquist.

A maneira mais simples de interpretar os dados de EIS é através da proposição de um circuito elétrico equivalente, onde resistores, capacitores e indutores são ligados em série e/ou paralelamente de forma a representar os dados de EIS obtidos experimentalmente. Nesse aspecto, tem que se ter um grande cuidado, isso porque vários circuitos elétricos podem reproduzir os dados experimentais. Com isso, um aspecto muito importante é garantir

que o circuito equivalente proposto tenha significado físico. Caso dois ou mais circuitos equivalentes tenham significado físico para o sistema, o mais simples deve ser adotado (MACDONALD, 2006).

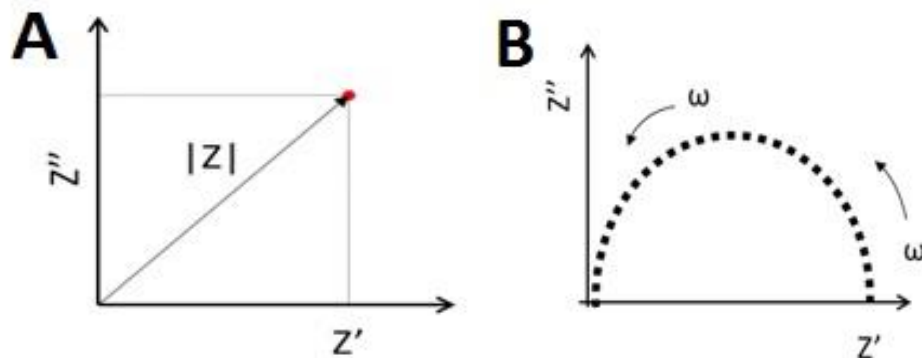


FIGURA 28: A) VETOR IMPEDÂNCIA NO PLANO COMPLEXO E B) DIAGRAMA DE NYQUIST OU ARGAND.

A partir das voltametrias cíclicas foi possível observar que o pico de oxidação na amostra gPND-PPy requer maior energia (0,1V) em relação a amostra gPD-PPy (0,0V). Esses valores foram os mesmos nos três experimentos realizados, verificando assim sua reprodutibilidade.

Os dados de EIS obtidos para as amostras em seus respectivos picos de oxidação não apresentaram diferenças significativas no diagrama de Nyquist (FIGURA 29). Com isso, podemos admitir que os dois filmes se comportam da mesma maneira em seus respectivos estados mais condutores, ou seja, apresentando processos faradâicos semelhantes (R_{ct} e C_{dl}). Em uma análise qualitativa, podemos observar através dos pontos em baixa frequência (princípio de um semicírculo), que R_{ct} é alto para ambos os filmes (na ordem de $k\Omega$). Porém, se há uma R_{ct} , embora que alta, demonstra também que o filme é condutor, uma vez que pode-se observar um processo de transferência de carga.

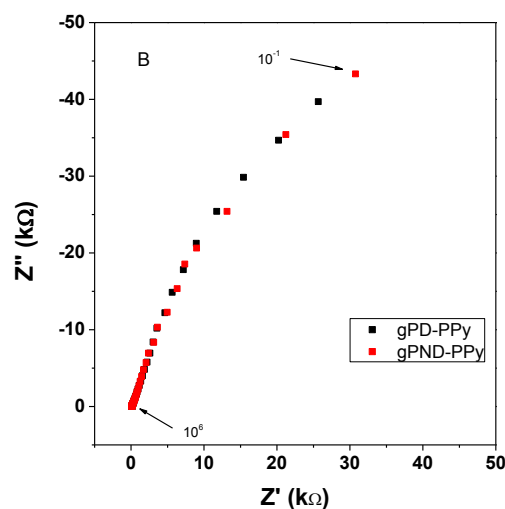


FIGURA 29: ESPECTROSCOPIA DE IMPEDANCIA ELETROQUIMICA PARA AS AMOSTRAS gPND-PPy e gPD-PPy.

Será necessária a realização de mais experimentos para conhecer o sistema e propor um circuito equivalente.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o objetivo de preparar géis eletroativos a partir de pectina e polipirrol (PPy) o presente trabalho teve como ponto de partida a purificação da pectina cítrica, por diálise, durante 24 horas. Quando os materiais, bruto (PND) e dialisado (PD), foram caracterizados, foi observada uma diferença muito rica entre suas propriedades. Os teores de ácido urônico e proteínas aumentaram após a diálise, bem como o grau de metoxilação e a rotação óptica. Por meio do SEC foi possível verificar para a amostra PD que há uma diminuição de compostos de menor massa após a diálise, compostos estes que são perdidos ao longo das 24 horas de diálise. A partir da reologia em meio aquoso e salino das soluções pécticas, em pH 1 e 12, observou-se um comportamento atípico. Foi observado um crescimento significativo da viscosidade por volta de 300 s^{-1} , o qual foi denominado limite de elasticidade. O limite de elasticidade variou de acordo com a amostra (PND ou PD), nos diferentes meios e pHs. Em todas as amostras pôde-se verificar a reversibilidade dos processos de deformação por cisalhamento. Portanto, através de um processo simples e barato, foi obtido de forma eficiente materiais com diferentes propriedades, ampliando a faixa de aplicação.

As amostras PND e PD foram utilizadas como estabilizante na síntese de polipirrol, um polímero condutor que apresenta uma boa eletroatividade. A polimerização foi efetiva para ambas as amostras pécticas, sendo confirmada pelo crescimento das bandas características do PPy ($\lambda = 450 \text{ nm}$ e 800 nm) por UV-VIS. As dispersões de polipirrol empregando tanto a PD quanto a PND permaneceram estáveis por no mínimo um mês quando armazenadas em geladeira. Foram realizadas medidas de potencial zeta (ζ) das amostras PND-PPy e PD-PPy, obtendo valores máximos de $\zeta_{\text{max}} = -30,4 \text{ mV}$ e $\zeta_{\text{max}} = -24,8 \text{ mV}$, para PD-PPy e PND-PPy, respectivamente. O valor mais negativo da amostra PD pôde ser atribuído a maior quantidade de ácidos urônicos.

A partir das dispersões PND-PPy e PD-PPy e PND e PD, foram preparados hidrogéis reticulados com CaCl_2 , posteriormente denominados gPND-PPy, gPD-PPy, gPND e gPD. Os hidrogéis foram caracterizados por diversos métodos e mostraram diferentes comportamentos frente à presença ou não do polímero condutor. Pós dos géis liofilizados e macerados foram submetidos à espectroscopia Raman a qual nos forneceu informações importantes em relação ao estado de oxidação do PPy. Quando se usou a PND como agente estabilizante, o PPy encontrou-se em um estado mais oxidado (ou maior dopagem). Por FT-IR e difratometria de raios-X não foi possível obter resultados conclusivos (Anexo 1). As micrografias se mostraram mais uniformes para os géis com PPy, principalmente o formado a partir da PND.

Os hidrogéis foram submetidos a estudos de perda de água (sinerese) a 1°C e 25°C e mostraram que os géis formados a partir de gPND-PPy perderam mais água nas duas temperaturas estudadas. Para os estudos de grau de intumescimento os hidrogéis foram

analisados em dois fluidos FGS (pH 1,2) e FIS (pH 6,8) a 37°C. Foi possível verificar que tanto os géis com e sem PPy são considerados pH responsivos, ou seja, apresentaram diferentes respostas frente as variações de pH. Os géis intumesceram menos em condições de menor pH e intumesceram mais em pH 6,8. Os hidrogéis formados a partir de gPND-PPy e gPD-PPy por sua vez, em pH 6,8, se desintegraram em pouco tempo de imersão, enquanto que as matrizes sem PPy levaram mais de 4000 minutos para se desintegrarem.

A reologia mostrou que a presença do PPy interfere nas propriedades mecânicas dos géis. Para a amostra gPND-PPy o gel apresentou um maior módulo de armazenamento em relação a gPD-PPy. Para os géis sem o polímero condutor ocorreu o contrário. Os estudos eletroquímicos dos géis mostraram a boa eletroatividade do material, bem como sua reprodutibilidade, no entanto houve um deslocamento do pico para maiores potenciais para a amostra gPND-PPy.

Podemos verificar em todas as análises realizadas para os géis a influência das interações entre a pectina e o polipirrol nas propriedades finais dos hidrogéis, explicada, principalmente, pelo estado de protonação dos grupos carboxílicos presentes na pectina e também pela presença de espécies de menor massa molar presentes na pectina antes de serem dialisadas.

A preparação de um hidrogel eletroativo a partir da pectina com o polirrol foi efetivo podendo ser aplicado em diferentes áreas, entre elas na liberação controlada de drogas através da aplicação de um potencial e na elaboração de músculos artificiais. No entanto, a continuidade nos estudos eletroquímicos é de suma importância a fim de se obter uma melhor caracterização do dispositivo para sua posterior aplicação.

7 CONCLUSÃO

O processo de diálise mostrou ser eficiente para a obtenção de frações de pectina com diferentes propriedades químicas e moleculares. Assim, pode-se concluir que as propriedades das amostras de pectina dependem do processo de purificação.

Tanto a pectina bruta quanto a dialisada podem ser empregadas com sucesso como estabilizantes na síntese de polipirrol em meio aquoso, resultando em dispersões estáveis por no mínimo um mês.

Foram preparados hidrogéis eletroativos e condutores empregando ambas as amostras pécticas e polipirrol. Os hidrogéis apresentaram diferentes respostas frente ao pH e condições do meio.

As propriedades dos hidrogéis variam de acordo com a fração péctica empregada visto que as interações pectina-polipirrol são mediadas pelo estado de protonação dos grupos ácidos da pectina e pela presença de moléculas de menor massa.

Foi demonstrado que os materiais preparados apresentam propriedades interessantes para futuras aplicações, por exemplo, na área biomédica, pois os géis empregam um polímero natural, são eletroativos, responsivos ao meio (pH e presença de sais) e condutores.

8 REFERÊNCIAS

- ADELOJU, S.B.; WALLACE, G.G. Conducting Polymers and the Bioanalytical Sciences: New Tools for **Biomolecular Communications**. *Analyst*. 121, 699-703, 1996.
- AINSWORTH, P. The chemistry of flour and bread. **Nutrition & Food Science**, v. 94, p.25 – 28, 1994.
- AMARNATH, C.A.; PALANIAPPAN, S.; RANNOU, P. Acacia stabilized polyaniline dispersions: preparation, properties and blending with poly(vinyl alcohol). **Thin Solid Films** v. 516, p. 2928-2933, 2008.
- ARJOMANDI, J.; SHAAH, A.U.; BILAL, S.; VAN, H.; Holze, R. In situ de Raman e de UV-vis estudos espectroscópicos de polipirrol e poli (pirrole-2 ,6-dimetil-β-ciclodextrina). **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.** v. 78, p. 1-6, 2011.
- ASPINALL, G.O. "Pectins, plants gums, and other plant polysaccharides" in: **The Carbohydrates Chemistry and Biochemistry**. V. Pigman & D Horton (ed.). New York: Academic Press. v.2b, p. 515, 1970.
- BAE, I.Y.; JOE, Y.N.; RHA, H.J.; LEE, S.; YOO, S.H.; LEE, H.G. Effect of sulfation on the physicochemical and biological properties of citrus pectins. **Food Hydrocolloids** v. 23, p.1980–1983, 2009.
- BALDWIN, A.D.; KIICK, K.L. Polysaccharide-modified synthetic polymeric biomaterials. **Peptide Science** v. 94, p. 128-140, 2009.
- BARD, A. J.; FALKNER, L. R. **Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications**, John Wiley & Sons, N.Y., 2a ed., 2001.
- BRACCINI, I. & PEREZ, S. Molecular Basis of Ca²⁺-Induced Gelation in Alginates and Pectins: The Egg-Box Model Revisited. **Biomacromolecules** v. 2, p.1089-1096, 2001.
- BERTH, G.; Studies on the Heterogeneity of Citrus Pectin by Gel Permeation Chromatography on Sepharose 2 B/Sepharose 4 B, **Carbohydrate Polymers**, v. 8 p. 105-117, 1988.
- BLINOVA, N.V.; STEJSKAL, J.; TRCHOVA, M.; PROKES, J.; OMASTOVA, M. Polyaniline and polypyrrole: A comparative study of the preparation. **European Polymer Journal** v. 43, p. 2331–2341, 2007.
- BRANHAM, K.D.; SNOWDEN, H.S. & McCORMICK, C.L. Water-Soluble Copolymers. 64. Effects of pH and Composition on Associative Properties of Amphiphilic Acrylamide/Acrylic Acid Terpolymers. **Macromolecules** v. 29, p. 254,1996.
- BRÉDAS, J.L.; STREET, G.B. Polarons, bipolarons, and solitons in conducting polymers. **Accounts of Chemical Research** v. 18, p. 309-315, 1985.
- BROWNLEADER, M.D.; JACKSON, P.; MOBASHERI, A.; PANTELIDES, A.T.; SUMAR, S.; TREVAN, M.; DEY, P.M. Molecular aspects of cell wall modifications during fruit ripening. Critical Review of **Food Science Nutrition** v. 39, p.149, 1999.
- BULONE, D.; MARTORANA, V.; XIAO, C.; BIAGIO, P.L.S. Role of sucrose in pectin gelation: static and dynamic light scattering experiments. **Macromolecules** v.35, p.8147, 2002.

CARVALHO, A. L.; ANDRADE, R. A.; BUENO, R. P.; Electrochemical impedance spectroscopy applied in the study of heterogeneous reactions at dimensionally stable anodes, **Quím. Nova**, v.29, p. 796-804, 2006.

CIPRIANI, T.R.; GRACHER, A.H.P.; SOUZA, L.M. de; FONSECA, R.J.C; BELMIRO, C.L.R.; GORIN, P.A.J.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M. Influence of molecular weight of chemically sulfated citrus pectin fractions on their antithrombotic and bleeding effects. **Thromb Haemost** v. 5, p. 860-866, 2009.

CROWLEY, K.; CASSIDY, J. J. In Situ Resonance Raman Spectroelectrochemistry of Polypyrrole Doped With Dodecylbenzenesulfonate. **Electroanal. Chem**, v. 547, p. 75-82, 2003.

CUNHA, R. L. P.; PAULA, M. C. R.; FEITOSA, A. P. J.; Polissacarídeos da Biodiversidade Brasileira: Uma Oportunidade de Transformar Conhecimento em Valor Econômico, **Quím. Nova**, v. 32, p. 649-660, 2009.

DALL'ANTONIA, L.H.; VIDOTTI, M.E.; TORRESI, S.I.C.; TORRESI, R.M. A New Sensor for Ammonia Determination Based on Polypyrrole Films Doped with Dodecylbenzenesulfonate (DBSA) Ions. **Electroanalysis** v.14, p. 1577-1586, 2002.

DUMOULIN, Y.; ALEX, S.; SZABO, P.; CARTILIEI, L.; MATEESCU, M.A. Cross-Linked Amylose ss Matrix for Drug Controlled Release. X-ray and FT-IR Structural Analysis, **Carbohydr. Polym.**, v. 37, p.361-370, 1998.

ENDRESS, H.U.; DOSCHL-VOLLE, C.; DENGLER, K. Rheological methods to characterize pectins in solutions and gels. In: Visser J, Voragen AGJ, editors. **Pectins and Pectinases**. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier Science p. 407-423, 1996.

FAEZ, P.; REZENDE, M.C. Polímeros Condutores Intrínsecos e Seu Potencial em Blindagem de Radiações Eletromagnéticas. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, p. 130-137, 2000.

FILISSETTI-COZZI, T.M.C.C.; CARPITA, N.C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars. **Analytical Biochemistry** v. 197, p. 157-162, 1991.

FLORY, P.J. & RENHER Jr., J. Statistical mechanics of cross-lined polymer networks. I. Rubberlike elasticity. **J. Cem. Phys.** v.11, p.512-520, 1943.

FREIRE, A.C.; PODCZECK, F.; SOUSA, J.; VEIGA, F. Colonic drug delivery. II- Types of delivery systems. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** v.42, p. 337-355, 2006.

FOSCHINI, M. Eletrossíntese e Caracterização de Filmes de Polipirrol-2-ácido Carboxílico para Uso em Biossensores Amperométricos Construídos em Eletrodos Miniaturizados. **Tese de Doutorado em Física** – Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

FURUKAWA, Y.; TAZAWA, S.; FUJII, Y.; HARADA, I. Raman spectra of polypyrrole and its AMAN 2,5-¹³C-substituted and c-deuterated analogues in doped and undoped states. **Synthetic Metals**, v. 24, p. 329 – 341, 1988.

GHAFFARI, A.; NAVAEE, K.; OSKOUI, M.; BAYATI, K.; RAFIEE-TEHRANI, M.; Preparation and Characterization of Free Mixed-Film of Pectin/Chitosan/Eudragit® RS Intended for Sigmoidal Drug Delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 67, p. 175–186, 2007.

GANN, C.L.; HIGGIBOTHAM, L.M.; GEEVER, et al. The synthesis of novel pH-sensitive poly(vinyl alcohol) composite hydrogels using a freeze/thaw process for biomedical applications. **Int. J. Pharm** v. 372, p.154-161, 2009.

GANZA-GONZALES, A.; ANGUIANO-IGEA, S.; OTERO-ESPINAR, F. J.; BLANCO MENDEZ. Chitosan and chondroitin microspheres for oral-administration controlled release of metoclopramide. **J. Eur. J. Pharm. Biopharm** v.48, p.149,1999.

GARNER, B.; GEORGEVICH,B.; HODGSON, A.J.; LIU, L.; WALLACE, G.G. Polypyrrole–heparin composites as stimulus-responsive substrates for endothelial cell growth. **J Biomed Mater Res** v. 44, p. 121– 129, 1999.

GERARD, M.; CHAUBEY, A.; MALHOTRA. Application of conducting polymers to biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, p. 345-359, 2002.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Study of the rheological behavior of combined juices of red fruits. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v.29, p. 225-231, 2009.

HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Analytical Biochemistry** v. 48, p. 422-427, 1972.

Huggins, M. L. The viscosity of dilute solutions of long-chain molecules. IV. Dependence on concentration. **Journal of American Chemical Society**, v. 64, p. 2716,1942.

IROH, J.O.; SU, W. Formation of polypyrrolecoatings on stainless steel in aqueous benzene sulfonate solutions. **Electrochem. Acta** v. 17 p. 2689-2694, 1997.

KIM, S.Y.; HONG, J.; PALMORE, G.T. Polypyrrole decorated cellulose for energy storage applications. **Synthetic Metals** v. 162, p. 1478-1481, 2012.

KOFINAS, P. & COHEN, R.E. Development of methods for quantitative characterization of network morphology in pharmaceutical hydrogels. **Biomaterials** v.18, p. 1361-1369, 1997.

LAI, L. S.; TUNG, J.; LIN, P. S. Solution properties of hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl) leaf gum. **Food Hydrocolloids**, v. 14, p. 287-294, 2000.

LIN, C. C.; METTERS, A. T. Metal-chelating affinity hydrogels for sustained protein release. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, Hoboken, v.83, p. 954-964, 2007.

LIU J., Y.C. Characteristics of Vibration Modes Of Polypyrrole On Surface-Enhanced Raman Scattering Spectra . **Electroanal. Chem** v. 571, p. 255-264, 2004.

LIU, Y. C.; HWANG, B.J., In Situ Cyclic Voltammetry-Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: Studies on The Doping Undoping of Polypyrrole Film. **Synth. Metals**, v.113, pag. 203-207, 2000.

LOPES, L.C.; FAJARDO, A.R.; PIAI, J.F.; RUBIRA, A.F.; MUNIZ, E.C. Incorporation of Theophylline in a Chitosan/Chondroitin Sulfate Hydrogel Matrix: In Vitro Release Studies and Mechanical Properties According to pH Changes. **J. Appl. Polym. Sci** v.128, p. 3417–3424, 2013.

MAAS, N.C.; GRACHER, A.H.P.; SASSAKI, G.L.; GORIN, P.A.J.; IACOMINI, M.; CIPRIANI, T.R. Sulfation pattern of citrus pectin and its carboxy-reduced derivatives: Influence on anticoagulant and antithrombotic effects. **Food Hydrocolloids** v. 23, p. 1980–1983, 2009.

MABBOT, G.A. An introduction to cyclic voltametry. **Journal of Chemistry Education** v. 60, p. 690-706, 1983.

MACDONALD, D.D. Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy. **Electrochimica Acta**, v. 51, p. 1376-1388, 2006.

MACOSKO, W. C.; Rheology: Principles, measurements and application. Wiley-VCH, 1994.

MALKIN, A.Y.; ISAYEV A.I. "Rheology: Conceptions, Methods, Applications". **ChemTec Publishing**, Toronto, p. 140-145, 2006.

MC CREADY, R.M. "Pectin. In methods in food analysis". Nova York. Academic Press, 2^o edição, Ed. M.A. Joslyn p. 565, 1970.

MESBAHI, G.; JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. **Food Hydrocolloid** v. 19, p. 731, 2005.

NALWA, H.S.; **Handbook of Organic Conductive Molecules and Polymers**. New York: John Wiley & Sons, v.2, 1997.

NGUYEN, N. T.; LIU. J.H. Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/chitosan hydrogel thin films via UV irradiation. **European Polymer Journal** v. 49, p. 4201–4211, 2013.

OTERO, T.F.; SANSINENA, J.M. Artificial muscles based on conducting polymers. **Bioelectrochem Bioenerg** v. 38, p. 411–414, 1995.

PASQUEL, A. G.; Utilização e Aspectos Reológicos. **Boletim Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.33, p.86-97, 1999.

PEPPAS, N.A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, London, v. 50, p. 27-46, 2000.

PEPPAS, N.A.; MIKOS, A.G. Preparation methods and structure of hydrogels, in: **Hydrogels in Medicine and Pharmacy**, N.A. Peppas (Ed.), v. 1, CRC Press, Boca Raton, FL, P. 20, 1986.

PLASHCHINA, I.G.; FORMINA, O.A., BRAUDO, E.E.; TOLSTOGUZOV, V.B. Creep study of highly esterified pectin gels. I. The creep of saccharose-containing gels. **Colloid Polym. Sci.** v.257, p. 1180-1187, 1979.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. Food Analysis: Theory and Practice. Nova York, 3^a edição, 1994.

PRASAD, P. N. **Introduction to Biophotonics**, John Wiley & Sons, cap. 4, 2003.

RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S. Synthetic hydrogels for biomedical applications, in: **Hydrogels for Medical and Related Applications**, ACS Symposium Series, J.D. Andrade (Ed.), v. 3, American Chemical Society, Washington, DC, p. 30, 1976.

REES, D. A. Structure, conformation, and mechanism in the formation of polysaccharide gels networks. **Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry**, v. 24, p. 267-332, 1969.

RINAUDO, M.; **Effect of chemical structure of pectins on their interactions with calcium**, in **Plant Cell Wall Polymers: Biogenesis and Biodegradation**, Eds.: Lewis G. and Paice

M.G., ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington D.C., Chapter 23, p. 324–332. 1989.

ROSENBOHM, C.; LUNDT, I.; CHRISTENSEN, T.M.I.E.; YOUNGC, N.W.G. Chemically methylated and reduced pectins: preparation, characterisation by ^1H NMR spectroscopy, enzymatic degradation, and gelling properties. **Carbohydrate Research** v.338, p. 637–649, 2003.

ROSS-MUPHY, J. M.; SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. Lemon albedo cell walls contain distinct populations of pectic hairy regions. **Carbohydrate Polymers** v. 37, p. 159- 166, 1998.

SAKAI, T. J. Huggins constant k' for flexible chain polymers. **Polym. Sci A-2** 6, p.1535, 1968.

SANTOS, M.J.L.Characterização do estado polaron do polipirrol através de Raman e propriedades fotoluminescentes do polipirrol/oxazina 720. **Tese de doutorado em Química** – Centro de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2009.

SCHMIDT, C.E.; SHASTRI V. R.; VACANTI, J.P.; LANGER, R. Stimulation of neurite outgrowth using an electrically conducting polymer. **Proc Natl Acad Sci** v. 94, p. 8948–8953, 1997.

SCROSATI, B. Polymer electrodes. In *Solid State Electrochemistry*. Ed. P. G. Bruce, Cambridge University Press, Inc., Cambridge, p. 229, 1995.

SHI, G.; ROUABHIA, M.; WANG, Z.; DAO, L.H.; ZHANG, Z. A novel electrically conductive and biodegradable composite made of polypyrrole nanoparticles and polylactide. *Biomaterials* v.25, p.2477–2488, 2004.

SOARES, J.C.; BRISOLARI, A.; RODRIGUES, V.C.; SANCHES, E.A.; GONÇALVES, D. Amperometric urea biosensors based on the entrapment of urease in polypyrrole films. **Reactive & Functional Polymers** v.72, p.148–152, 2012.

SNYDER, C.F.; FRUSH, H.; ISBELL, H.S.; THOMPSON, A.; WOLFROM, M.L. Optical rotation. In: WHISTLER, R.L. WOLFROM, M.L. **Methods in Carbohydr. Chem.**, New York: Academic Press, v.1, p. 524-534, 1962.

SPINKS, G.M.; LEE, C.K.; WALLACE, G.G.; KIM, S.I.; KIM, S.J. Swelling behavior of chitosan hydrogels in ionic liquid-water binary systems. **Langmuir**. v.22, p.9375-9, 2006.

STEPHEN, A. M. **Food Polysaccharides and their Applications**. New York, p. 19-65, 1995.

STICKLEN, M.B. Plant genetic engineering for biofuel production: towards affordable cellulosic ethanol. **Nature Reviews Genetics** v.9, p.433-443, 2008.

SUI, W.; HUANG, L.; WANG, J.; BO, Q. Preparation and properties of chitosan chondroitin sulfate complex microcapsules. **Colloids Surf. B** v.65, p.69-73, 2008.

SUTAR, P.B.; MISHRA, R.K.; Pal, K.; BANTHIA, A. Development of pH sensitive polyacrylamide grafted pectin hydrogel for controlled drug delivery system. **J Mater Sci-Mater M**, v. 19, p. 2247-2253, 2008.

SYNYTSYA, A.; COPIKOVA, J.; MATJEKA, P.; MACHOVIC, V. Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. *Carbohydrate Polymers* v.54, p. 97–106, 2003.

TAYLOR, K.C. & NASR-EL-DIN, H.A. Water-soluble hydrophobically associating polymers for improved oil recovery: a literature review. **SPE 29008**, p. 675, 1995.

TSAI, Y. R.; CHEN, W. P.; KUO, Y. T.; LIN, M. C.; WANG, M. D.; HSJEN, Y. T.; HSJEN, J. H.; Chitosan/pectin/gum Arabic polyelectrolyte complex: Process-dependent appearance, microstructure analysis and its application. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 752-759, 2014.

TSOGA, A.; RICHARDSON, R. K.; MORRIS, E. R. Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin—part 1. Comparison of sugars and polyols. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 907-919, 2004.

VISSER, J.; VORAGEN, A. G. J. (Eds.), **Progress in Biotechnology: Pectins and Pectinases**. Amsterdam: Elsevier, v. 14, 1996.

VORAGEN, A. G. J. *et al.* Pectins. In: STEPHEN, A. M. (Ed.). **Food polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker, p. 287- 340, 1995.

VRIESMANN, C.L. Extração, caracterização e aspectos reológicos de polissacarídeos da polpa dos frutos *Theobroma grandiflorum* (cupuaçu). **Dissertação de Mestrado em Ciências - Bioquímica - Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.**

WANG, Q. & CUI, S.W. Understanding the Physical Properties of Food Polysaccharides. Cap. 4, 2005.

WANG, P.C.; YU, J.Y. Dopant-Dependent Variation In The Distribution Of Polarons And Bipolarons As Charge-Carriers In Polypyrrole Thin films Synthesized By Oxidative Chemical Polymerization. **React. Funct. Polymers** v.72, p. 311-316, 2012.

WILLATSA, W.G.T.; KNOXB, P.J.; MIKKELSENC, J.D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. Trends in **Food Science & Technology**, v.17, p.97–104, 2006.

YOSHIMURA, T.; SENGOKU, K.; FUJIOKA, R. Pectin-based superabsorbent hydrogels crosslinked by some chemicals: synthesis and characterization. **Polymer Bulletin** v.55, 123–p.129, 2005.

ZARE, N. E.; LAKOURAJ, M. M.; MOHSENI, M.; Biodegradable Polypyrrole/Dextrin Conductive Nanocomposite: Synthesis, Characterization, Antioxidant and Antibacterial Activity. **Synthetic Metals**, v. 187, p. 9–16, 2014.

ANEXO 1- RESULTADOS ADICIONAIS

FT-IR dos Géis

Os hidrogéis (secos e macerados) e as pectinas (PD e PND) foram estudados por meio de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) em espectrofotômetro BioRad modelo Excalibur. Os espectros foram coletados entre 4000-400 cm^{-1} no modo de absorbância, em resolução de 4 cm^{-1} , com 32 *scans*, empregando as amostras preparadas em pastilhas de KBr.

A espectroscopia na região do infravermelho tem extensa aplicação na identificação da composição de compostos.

Os espectros de infravermelho foram obtidos para PND, PD, PPy e para o pó dos géis liofilizados e macerados conforme estão mostrados na FIGURA A1. As principais bandas no espectro da pectina são relacionadas com o estiramento assimétrico e simétrico do grupo carboxilato em 1624 cm^{-1} e 1423 cm^{-1} , respectivamente. As bandas entre 1760-1730 cm^{-1} são correspondentes ao estiramento vibracional dos grupos carboxílicos metoxilados (carbonila de éster). A banda em 1151 cm^{-1} é atribuída ao estiramento da ligação -C-O-C- devido a presença de ligação glicosídica e a banda em 830 cm^{-1} está relacionada aos hidrogênios anoméricos equatoriais (SYNYTSYA et al., 2003).

As bandas em 3600-3200 cm^{-1} , 2935 cm^{-1} e em aproximadamente 1745 cm^{-1} são atribuídas respectivamente ao estiramento -OH (SILVERSTEIN, 1991).

Para o PPy as principais bandas encontradas estão relacionadas às vibrações do anel de pirrol em 1540-1454 cm^{-1} , 1319 cm^{-1} à deformação =CH no plano, 1170 cm^{-1} , ao estiramento C-N, 1095 cm^{-1} deformação N-H^+ no plano, 1047 cm^{-1} deformação NH e CH no plano, 966 cm^{-1} deformação C-H fora do plano e 796 cm^{-1} deformação C-H fora do plano do anel.

Nos espectros não foi possível observar diferenças entre as amostras, evidenciadas pelo deslocamento de bandas ou pela formação de novas ligações.

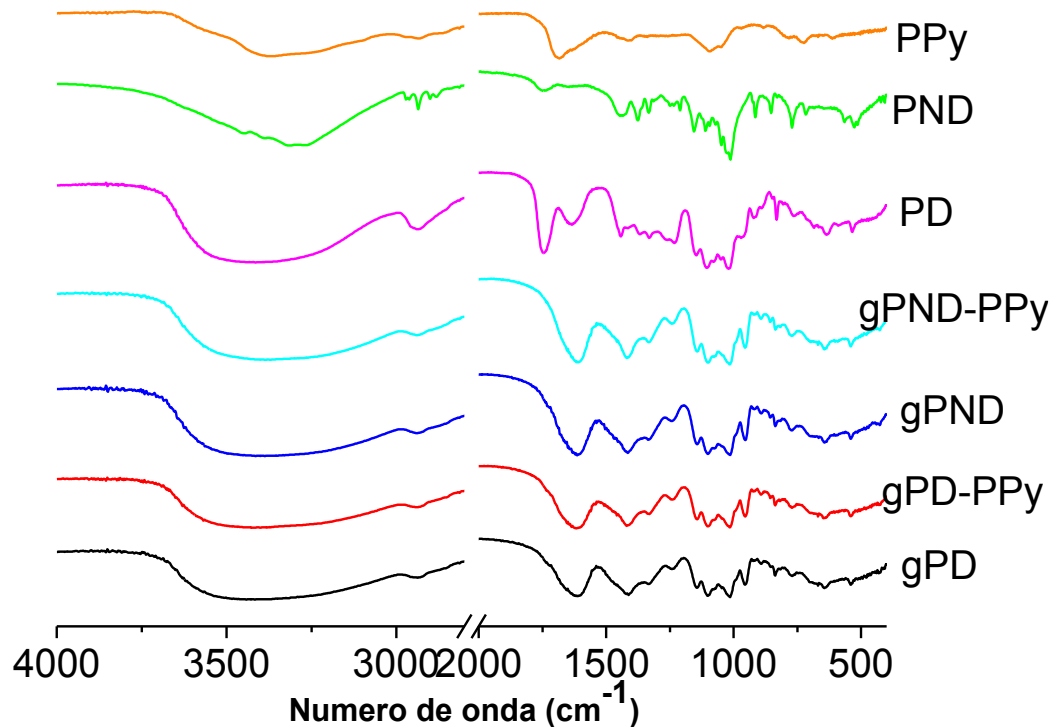


FIGURA A1: ESPECTRO DE FT-IR DAS AMOSTRAS DOS POLIMEROS PUROS (PND, PD E PPy) E DOS GÉIS PND-PPy PD-PPy APÓS SEREM LIOFILIZADOS E MACERADOS.

DRX dos Géis

Os hidrogéis liofilizados e macerados foram caracterizados por meio de difração de raios-X. Os experimentos foram conduzidos em um equipamento Shimadzu XRD-6000, operando na região de 5 ° a 70 ° com resolução 0,02 ° e velocidade de varredura $2\theta = 2^\circ \text{ min}^{-1}$. A radiação foi gerada em linha de $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 0,15418 \text{ nm}$), tensão 40,0 kV e corrente de 30,0 mA. As medidas foram realizadas a partir do posicionamento das amostras em suportes vazados de alumínio. Os experimentos de raios-x medem a intensidade da dispersão em função do ângulo de espalhamento. O ângulo de dispersão θ fornece informações relacionadas a cristalinidade, empacotamento de cadeias e comprimentos de ligação (Kofinas e Cohen, 1997). A técnica emprega para análise a lei de Bragg:

$$n \lambda = 2 d \text{ sen } \theta$$

Onde n corresponde à ordem de difração, λ ao comprimento de onda da radiação incidente, d corresponde ao espaço interplanar do cristal e θ ao ângulo de difração.

Os difratogramas das amostras dos géis gPND, gPD, gPND-PPy e gPD-PPy liofilizados e macerados estão mostrados na FIGURA A2. Não foi possível observar mudanças

significativas entre as amostras, concluindo-se apenas que são predominantemente amorfas. Qualquer indício de cristalinidade pode ser atribuído a presença de sais.

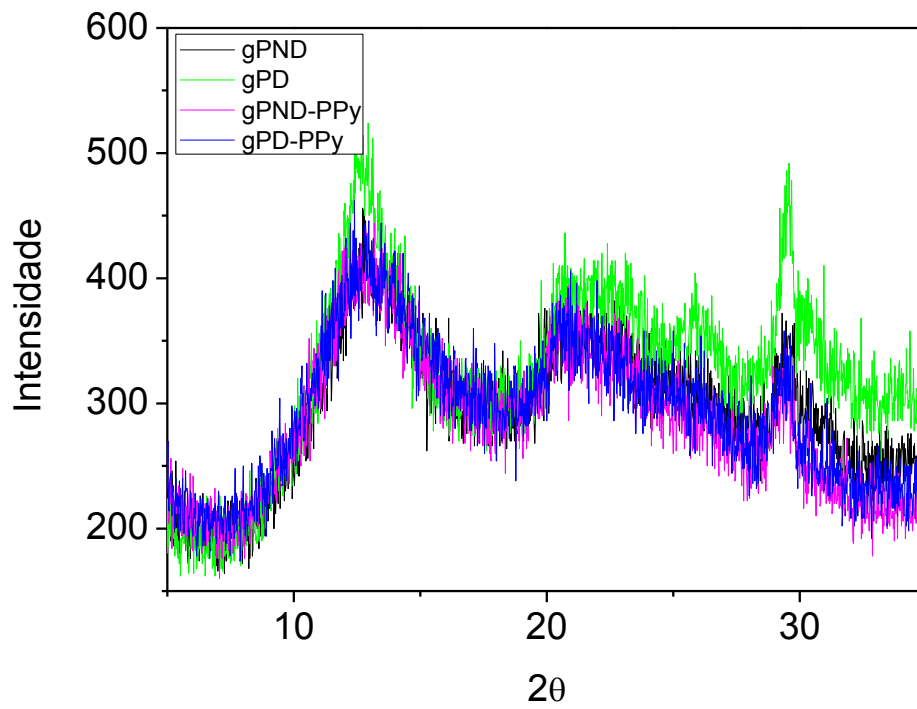


FIGURA A2: DIFRATOGRAMAS DE RAIO-X DOS PÓS DOS GÉIS LIOFILIZADOS E MACERADOS DAS AMOSTRAS gPND, gPD, gPND-PPy E gPD-PPy.

ANEXO 2 – PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

Participação em eventos:

- 1- 19º Encontro de Química da Região Sul, Tubarão, SC, novembro de 2012.
- 2- VI Brazilian Conference on Rheology, Rio de Janeiro, RJ, julho de 2013.
- 3- 12º Congresso Brasileiro de Polímeros, Florianópolis, SC, setembro de 2013.

Trabalhos apresentados em congressos:

- 1- Laís C. Lopes, Letícia M. Ochiai, Amanda Maciel, Marcio Vidotti, Izabel C. Riegel-Vidotti. Preparação de hidrogéis a partir de polímeros naturais e polipirrol. **19º Encontro de Química da Região Sul**, 2013, Tubarão.
- 2- Laís C. Lopes, Leticia M. Ochiai, Fernanda F. Simas-Tosin, Maria Rita Sierakowski, Izabel C. Riegel-Vidotti. Rheological study of citric pectin in various aqueous media: the impact of the purification method. **VI Brazilian Conference on Rheology**, 2013. Rio de Janeiro.
- 3- Laís C. Lopes, Leticia M. Ochiai, Amanda Maciel, Marcio Vidotti, Izabel Riegel-Vidotti. Parâmetro cinético de intumescimento de hidrogéis eletroativos a partir de pectina e polipirrol. **12º Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2013, Florianópolis.

Participação em minicurso:

- 1- Viscosidade e outras propriedades reológicas: medição e aplicações. **VI Brazilian Conference on Rheology**, 2013, Rio de Janeiro.
- 2- Propriedades e aplicações de bipolímeros. **12º Congresso Brasileiro de Polímeros**, 2013, Florianópolis.