



Patrícia Tavares de Castro

Polímeros Inteligentes: Relação entre Reologia e Nanoestrutura

Dissertação na área científica de Engenharia Química, orientada pelo Professor Doutor
Filipe Antunes e pelo Doutor Nuno Rocha e apresentada ao Departamento de Engenharia
Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Julho de 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Patrícia Tavares de Castro

Polímeros Inteligentes: Relação entre Reologia e Nanoestruturas

**Dissertação apresentada para provas de Mestrado em Engenharia Química,
área de especialização em Biosistemas**

Professor Doutor Filipe Antunes

Doutor Nuno Rocha

Julho de 2013

Universidade de Coimbra

Agradecimentos

Este é o final de uma etapa académica com muitos altos e baixos mas muito enriquecedora. Quero aproveitar este momento para agradecer a todos os especialistas que me acompanharam e transmitiram os seus conhecimentos e aos meus amigos que sempre estiveram presentes em todos os momentos importantes da minha vida pessoal, académica e profissional. A contribuição de todas estas pessoas reflecte-se no meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Doutor Filipe Antunes, na qualidade de meu orientador, pelo apoio, ajuda e disponibilidade demonstradas ao longo deste projecto e pela oportunidade de pertencer e aprender com um grupo de amigos e profissionais de excelência.

Ao Doutor Nuno Rocha, na qualidade de meu orientador, pelo incentivo e disponibilidade demonstradas ao longo do projecto mas principalmente pela preocupação e conhecimentos transmitidos.

À Cláudia Duarte pelo apoio, paciência e disponibilidade demonstradas na compreensão e realização das minhas tarefas e por me ter recebido e integrado num novo grupo de laboratório com um vasto conhecimento científico.

À Joana Mendes pela disponibilidade e ajuda despendida bem como pelos conselhos sábios nos momentos de mais desespero.

A todos os meus amigos que nos últimos cinco anos proporcionaram e apoiaram todos os meus momentos académicos. Principalmente por me terem ajudado a levantar e a crescer com os momentos mais difíceis e importantes, tanto a nível pessoal como académico.

Por fim, aos meus pais, irmãs e restante família pela educação, pelo apoio incondicional demonstrado nos momentos mais difíceis e principalmente, por terem demonstrado paciência e compreensão nas minhas ausências dos últimos meses.

Um muito obrigado a todos.

“Se tudo fosse claro, tudo nos pareceria inútil”.

Paul Valéry

Resumo

Nos últimos anos, o crescimento do conhecimento acerca dos polímeros inteligentes tem aberto novas portas na biotecnologia, medicina e engenharia. Estes polímeros são formalmente conhecidos pela sua capacidade de responder, de uma forma reversível, a estímulos provocados no meio ambiente. Entre esses estímulos, os mais estudados são as mudanças de temperatura e de pH, os quais podem provocar variações na estrutura, características da superfície, solubilidade, transição sol-gel, entre outras especificações dos polímeros. Na síntese destes polímeros, a técnica de CLRP é a mais utilizada pois permite obter polímeros e copolímeros com massas moleculares controladas bem como um baixo índice de polidispersividade, permitindo obter uma resposta fina e controlada. Quando incluídos em sistemas copoliméricos, este tipo de comportamento dos polímeros inteligentes desempenha um papel importante nos processos de *self-assembly*. Na resposta a uma variação do meio, as macromoléculas podem formar nanoestruturas estáveis e bem definidas. A predeterminação destas nanoestruturas com base no desenho molecular das estruturas moleculares é um passo importante no avanço da modelação da síntese polimérica de modo a obter as estruturas desejadas.

O copolímero de bloco utilizado como caso de estudo foi preparado com segmentos de um polímero hidrofílico, PEG, e de um polímero que apresenta resposta ao pH, P4VP. A P4VP é um polielectrólito fraco com pKa aproximadamente de 4,5. Quando o valor de pH é superior ao valor do pKa, a P4VP apresenta uma mudança na sua hidrofobicidade, passando a ser um segmento hidrofóbico.

Pretende-se com este estudo, relacionar a estrutura que os polímeros inteligentes formam com as suas propriedades físicas e químicas quando estimulados ambientalmente, nomeadamente através da variação do pH do meio. Com o objectivo de encontrar um equilíbrio e polaridade adequada para o *self-assembly* recorreu-se ao copolímero de PEGx-P4VPy com diferentes comprimentos de cada segmento de polímero. As características físicas e químicas e a estrutura destes copolímeros foram seguidas por métodos reológicos e por métodos de DLS, respectivamente.

Verificou-se que a P4VP promove três comportamentos diferentes quando ocorre variação do pH: viscosidade inicial associada a uma estrutura distendida, devido às interações das cargas positivas do polímero com a água; aumento de viscosidade, associada à formação micelar; e viscosidade constante, associada à existência estável das estruturas micelares. Estes resultados foram verificados com o estudo por DLS, onde se verificou que, a partir do copolímero mPEG-b-P4VP se podem formar estruturas estáveis e de pequenas dimensões, e que o tipo de estruturas formadas depende, não só das condições do meio como do desenho molecular dos copolímeros (composição e peso molecular). Este aumento da área superficial das cargas expostas às interações com a água pode relacionar-se com o aumento da viscosidade.

O tipo de nanoestruturas formadas, para um dado copolímero a um dado pH, é indicada pela determinação de variáveis físicas das dispersões do copolímero, tais como a transparência, a viscosidade e o volume hidrodinâmico. O controlo do tipo de estruturas é conseguido através do balanço entre o comprimento de bloco de PEG e P4VP e a concentração do copolímero em solução.

Verifica-se que a utilização de copolímeros de bloco com maior equilíbrio entre os segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos e de menor peso molecular favorece a formação de nanoestruturas micelares esféricas e estáveis por *self-assembly* ocorre.

Abstract

In recent years, the knowledge about the smart polymers has growth and has open new doors in biotechnology, medicine and engineering. These polymers are known for their ability to be triggered in a reversible way to the stimulus caused in the environment. Among these stimuli, the most studied are the changes in the environmental temperature and pH, which may cause variations in their structure, surface characteristics, solubility, sol-gel transition, among other specifications of polymers. In the synthesis of these polymers, CLRP technique is the most used since it gives polymers and copolymers with controlled molecular weights and a low polydispersity index, to allow a fine and controlled triggering. When these type of polymers is include in copolymeric systems, their responsive behavior can play a critical role on self-assembly mechanisms. When triggered by an environmental stimulus, these systems can form stable and well defined nanostructures. The predetermination of these characteristics on the basis of the copolymers molecular design is an important step in the advancement of modeling the polymer synthesis to obtain the desired structures.

The block copolymer used was prepared with hydrophilic polymer segments of PEG and hydrophobic of P4VP. The P4VP is a weak polyelectrolyte with pKa approximately 4.5. When this value is exceeded, the P4VP presents a change in their hydrophilicity.

The aim of this study was to relate the structure of the smart polymers with their physical and chemical properties when triggered environmentally, namely by varying the pH. With the aim of finding a proper polarity for the self-assembly processed, we evaluated the use of PEG_x-P4VP_y block copolymers with different lengths of each segment polymer. The physical and chemical structure of these copolymers was followed by rheological methods and by DLS analysis.

It was found that P4VP presents three different behaviors with the pH variation: initial viscosity associated to an extended structure due to the interaction of the positive charges of the polymer with water; increase of viscosity associated to micelle formation and; constant viscosity, associated with the stability of micellar nanostructure formed.

These results were verified with the DLS study that show the formation of stable and nano structures. This increase in surface area expose the positive charge to interactions with the water, associated with the increase in viscosity.

The type of nanostructures that are formed, for a given copolymer at a specific pH, is indicated by the determination of physical variables of the copolymers aqueous dispersions, such as the transparency, the viscosity and the hydrodynamic volume. The control of the nanostruturation is accomplished by the balance between block length of PEG and P4VP and the concentration of the P4VP into copolymer solution.

It is noted that the use of block copolymers with greater balance between the hydrophobic and hydrophilic segments and lower molecular weight promotes the formation of nanostructures and stable spherical micelle by self-assembly.

Índice

Resumo	i
Abstract.....	iii
Índice de Figuras	vii
Lista de Abreviaturas.....	ix
1. Introdução.....	1
1.1. Polímeros	2
1.2. Polímeros inteligentes.....	8
2. Metodologia Experimental.....	13
2.1. Materiais	13
2.1.1. Compostos utilizados na síntese dos copolímeros de bloco.....	13
2.1.2. Sais	14
2.2. Métodos de preparação das amostras.....	14
2.3. Técnicas	15
2.3.1. Síntese dos copolímeros de blocos.....	15
2.3.2. Reologia.....	17
2.3.3. Dispersão Dinâmica da Luz (DLS)	20
2.3.4. Titulação	21
3. Resultados e Discussão	27
3.1. Determinação do pKa	28
3.2. Estudos Reológicos.....	29
3.2.1. Influência do pH.....	29
3.2.2. Influência da Concentração	35
3.2.3. Influência da Força Iônica	37
3.3. Relação entre comportamento reológico e distribuição de tamanhos de partículas ..	39
3.4. Estudos Viscoelásticos.....	42
3.5. Determinação da Morfologia do Tipo de Estruturas Formadas.....	43
4. Conclusão	47
5. Perspectivas Futuras.....	48
6. Bibliografia.....	49
Anexos.....	55

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática de um copolímero: a) Copolímero alternado b) Copolímero aleatório c) Copolímero de blocos d) Copolímero de enxerto.	3
Figura 2 - Representação esquemática de um copolímero anfifílico.....	6
Figura 3 - Representação esquemática da micelização de um copolímero anfifílico em água.....	7
Figura 4 - Representação esquemática de P4VP.	11
Figura 5 - Representação esquemática dos copolímeros de blocos utilizados, PEGm-P4VPn.....	14
Figura 6 - Reacção de síntese de mPEG113-Cl.....	16
Figura 7 - Síntese do copolímero de bloco PEG ₁₁₃ -P4VP ₁₂₄	17
Figura 8 - Representação esquemática de perfil de velocidades entre dois pratos paralelos.	18
Figura 9 - Comportamento reológico de a) um fluido não Newtoniano e b) um polímero anfifílico em solução.	19
Figura 10 - Reómetro Thermo Scientific HAAKE MARS III e sistema Peltier.	20
Figura 11 - Sistema de prato e cone	20
Figura 12 - Equipamento <i>Zetasizer Nano ZS</i>	21
Figura 13 - Titulação de um ácido fraco com uma base forte.	22
Figura 14 - Titulação de uma base fraca com um ácido forte.	23
Figura 15 - Representação esquemática do (a) medidor de pH inoLab Level 1 e (b) placa de agitação magnética Heidolph MR 3001.	23
Figura 16 - Representação esquemáticas das forças intermoleculares presentes num líquido.....	24
Figura 17 - Representação esquemática do método do anel Du Nuey.	25
Figura 18 - Tensiómetro TD1 LAUDA.....	26
Figura 19 - Representação do pH em função do volume de base adicionada.	29
Figura 20 - Influência do pH na solução aquosa de PEGx-P4VPy a 0,2% (p/p) a 25°C, sem e com tratamento centrífugo.	31
Figura 21 - Influência do pH na solução aquosa de PEGx-P4VPy a 2% (p/p) a 25°C, sem e com tratamento centrífugo.....	32

Figura 22 - Viscosidade da solução polimérica a 0,2% (p/p) em função do pH a 25°C.	33
Figura 23 - Viscosidade da solução polimérica a 2% (p/p) em função do pH a 25°C.	33
Figura 24 - Viscosidade da solução aquosa PEG ₄₅ -P4VP ₅₉ em função da concentração. ...	36
Figura 25 - Viscosidade da solução aquosa PEG ₁₁₃ -P4VP ₁₂₄ em função da concentração. ...	36
Figura 26 - Viscosidade da solução aquosa PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁ em função da concentração. ...	37
Figura 27 - Influência do sal monovalente na viscosidade da solução PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁	38
Figura 28 - Influência do sal divalente na viscosidade da solução PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁	38
Figura 29 - Distribuição de tamanhos do PEG ₄₅ -P4VP ₅₉ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH. ...	40
Figura 30 - Distribuição de tamanhos do PEG ₄₅ -P4VP ₅₉ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH. ...	41
Figura 31 - Distribuição de tamanhos do PEG ₁₁₃ -P4VP ₁₂₄ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH..	41
Figura 32 - Distribuição de tamanhos do PEG ₁₁₃ -P4VP ₁₂₄ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH..	41
Figura 33 - Distribuição de tamanhos do PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH. ...	42
Figura 34 - Distribuição de tamanhos do PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH. ...	42
Figura 35 – Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 0,2% (p/p) PEG ₄₅ -P4VP ₅₉	43
Figura 36 - Caracterização dos fluídos em função da τ e γ	44
Figura 37 - Viscosidade em função da tensão para 0,2% (p/p) PEG ₄₅ -P4VP ₅₉	45
Figura 38 - Viscosidade em função da tensão para 2% (p/p) PEG ₄₅ -P4VP ₅₉	45
Figura D4 - Viscosidade em função da tensão para 2% (p/p) PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁	64

Lista de Abreviaturas

^1H RMN – Espectro de ressonância magnética nuclear

A – Área da placa

A-/H+ – Espécie ionizada

CLRP – Polimerização radicalar viva controlada

CMC – Concentração micelar crítica

D – Coeficiente de difusão translacional

d – Diâmetro hidrodinâmico da partícula

DLS – Dispersão dinâmica da luz

F – Força aplicada à placa

G' – Módulo elástico

G'' – Módulo viscoso

GPC – Cromatografia de permeação de gel

h – Distância entre placas

HA – Espécie não ionizada

HPMC – Hidroxipropilmetil celulose

k – Constante de Boltzman

K_a – Constante de dissociação

LCST – Temperatura de solução crítica mínima

M_n – Massa molecular média numérica

M_n/M_w – Índice de polidispersividade

Cu_{res} – Quantidade de cobre residual

P4VP – Poli(4-vinilpiridina)

PAA – Políácido acrílico

PDMAEMA – Polidimetilaminoetil metacrilato

PEG – Polietileno glicol

PMAA – Políácido metacrílico

PNIPAA – Poli(N-isopropilacrilamina)

PVP – Policloreto de vinilo

T – Temperatura

u – Velocidade da placa

UCST – Temperatura de solução crítica máxima

α – Grau de ionização

γ – Gradiente de velocidade linear

η – Viscosidade

τ – Tensão de corte

Capítulo 1

1. Introdução

A evolução tecnológica da humanidade nos últimos anos tem levado a ciência a mudar de estratégia quanto à sua investigação. Aprender com a natureza é uma das estratégias novamente adoptadas pelos investigadores na procura de novos processos e materiais capazes de satisfazer a evolução.

Na natureza podemos encontrar diversos fenómenos adaptados à necessidade do ecossistema. A diversidade de materiais compostos por diferentes componentes é um exemplo disso permitindo obter materiais cujas propriedades são combinadas e dependentes da distribuição espacial e dos tamanhos de cada um dos seus constituintes. Estes materiais são tipicamente chamados de compósitos, mas quando o nível da mistura dos componentes se dá à escala nanométrica ou mesmo molecular e são incorporados compostos inorgânicos, são designados de materiais híbridos ^{1,2}.

Segundo diversos estudos, estes materiais podem apresentar propriedades mecânicas, ópticas, electrónicas e magnéticas melhoradas ². No entanto, a nanotecnologia é um ramo da ciência recente, apresentando ainda muitas lacunas por preencher, nomeadamente o baixo conhecimento e o desenvolvimento de ferramentas e estratégias para a compreensão dos princípios envolvidos a esta escala. A actual abordagem empírica utilizada nos estudos não permite prever a estrutura do material.

Actualmente, o recurso a copolímeros de bloco permite a preparação de nanomateriais devido à sua capacidade de *self-assembly*, ou seja, auto organização em formas, tamanhos e morfologias controladas permitindo obter uma variedade de nanoestruturas. No entanto, as metodologias que permitem obter copolímeros de bloco com estruturas bem controladas, bem como os processos de re-organização por *self-assembly*, são muito recentes.

Nos últimos anos o estudo sobre os materiais poliméricos tem sofrido uma grande revolução. Actualmente estes materiais são utilizados em toda a indústria, sendo empregados principalmente em formulações industriais, desde plásticos, tintas, detergentes

e produtos cosméticos e na indústria farmacêutica como transportadores de fármacos. Necessidades específicas e de alto desempenho nestas aplicações levaram a que surgissem novas combinações de segmentos poliméricos, como por exemplo, polímeros orgânicos com espécies inorgânicas, dando origem a materiais híbridos, ou a combinação de segmentos poliméricos hidrofóbicos com hidrofílicos, que podem dar origem a materiais poliméricos anfifílicos.

O projecto *Nanohybrid* (financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia PTDC/EQU-EPR/114354/2009) surge com objectivos que pretendem superar as limitações da síntese e predeterminação da estrutura do material. A ideia de desenvolver técnicas de preparação de macromoléculas com tamanho, forma e composição com resposta a estímulos controlados, poderá levar à criação de novas tecnologias, que representam um passo importante na ciência dos materiais e engenharia. Os principais objectivos deste projecto são a caracterização de nanopartículas funcionalizadas que respondem a estímulos e, a compreensão da química supramolecular envolvida que permite predeterminar o tamanho, composição química e arquitectura da nanoestrutura formada.

Este trabalho insere-se no plano de trabalhos do projecto *Nanohybrid* e pretende contribuir para a compreensão da relação existente entre as características físicas e químicas dos copolímeros de blocos com a sua nanoestrutura. Partindo de uma composição e massa molecular conhecidas, e através do estudo da variação das características do meio envolvente, como a influência do pH, concentração e da presença de sais, é possível estudar as variações provocadas na sua nanoestruturação e no comportamento reológico dos copolímeros, tendo por base alguns conceitos como polímeros anfifílicos e inteligentes e dos seus mecanismos de *self-assembly*. Este estudo tem como objectivo a criação de ferramentas que permitam relacionar variações na estrutura do copolímero com o tipo de nanoestruturas formadas, quando sujeitos a diferentes condições do meio envolvente.

1.1. Polímeros

Um polímero é uma macromolécula de elevada massa molecular, constituído pela repetição de unidades estruturais – os monómeros. Estas unidades ligam-se entre si através de reacções químicas formando ligações covalentes. Ao número de repetições destas estruturas individuais que formam o polímero, dá-se o nome de grau de polimerização ³.

Devido à grande diversidade existente entre os polímeros, existem diferentes níveis de classificação destes. Quanto à sua natureza, os polímeros podem ser naturais ou sintéticos. Os polímeros naturais, como a celulose, proteínas e borracha natural, são extraídos da Natureza, enquanto os polímeros sintéticos, como o policloreto de vinilo (PVC), nylon e silicone, são produzidos sinteticamente pelo Homem através de reacções de polimerização.

Na constituição dos polímeros pode fazer parte um só tipo de monómero, sendo, nesse caso, designados por homopolímeros, ou podem existir mais do que um tipo de monómero, sendo, nesse caso, designados por copolímeros. Os copolímeros podem assumir várias estruturas da cadeia polimérica. Podem assumir uma estrutura alternada, quando os monómeros estão dispostos alternadamente; estrutura aleatória, onde os monómeros estão ligados entre si aleatoriamente; estrutura de blocos, em que os monómeros dispõem-se numa ordem sequencial; estrutura de enxerto, onde uma das cadeias de monómero é inserida na outra cadeia com o outro monómero, formando ramificações. Estas estruturas estão exemplificadas na Figura 1⁴.

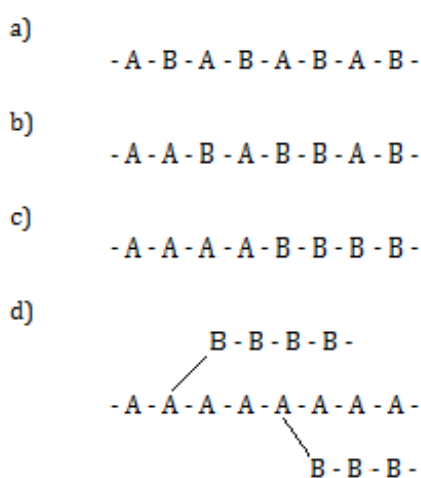


Figura 1 - Representação esquemática de um copolímero: a) Copolímero alternado b) Copolímero aleatório c) Copolímero de blocos d) Copolímero de enxerto.

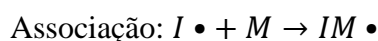
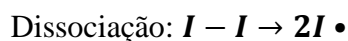
Síntese Polimérica

As estruturas poliméricas são sintetizadas a partir de reacções químicas entre dois monómeros. A estas reacções chamam-se reacções de polimerização e podem ser divididas em dois grandes grupos: polimerização em cadeia e polimerização gradual. Na polimerização em cadeia, os monómeros são adicionados um a um à cadeia polimérica

enquanto na polimerização gradual, os monómeros formam pequenas cadeias que se ligam umas às outras obtendo no fim, uma cadeia polimérica com massa molecular maior.

Relativamente à polimerização em cadeia, o crescimento da cadeia polimérica pode ocorrer através da ligação de espécies reactivas a um monómero. Este processo ocorre em três principais etapas (iniciação, propagação e terminação): na iniciação, o iniciador é dissociado em dois radicais livres que se irão associar a uma molécula de monómero; relativamente à propagação, nesta ocorre a contínua adição dos radicais de monómero; e por último, a terminação, que pode ocorrer em dois processos, combinação de dois radicais de cada cadeia ou por transferência de electrões entre duas cadeias. Quando a espécie iniciadora é um radical livre, o processo designa-se por polimerização radicalar^{3,5,6}.

Iniciação

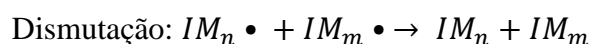
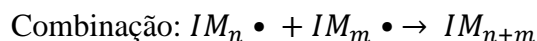


Propagação



...

Terminação



O processo de polimerização radicalar viva (CLRP – *Controlled/Living Radical Polymerization*) tem por base um mecanismo de crescimento de cadeia semelhante ao anteriormente descrito. No entanto, num sistema CLRP existe o estabelecimento de um equilíbrio dinâmico entre a propagação de radicais e espécies dormentes, controlado por um complexo de transição, o que permite manter baixas concentrações de radicais e impedindo que exista uma fase de terminação^{7,8}. Com este processo consegue-se obter um crescimento constante e a velocidade regular de todas as cadeias poliméricas, através de progressão, activação e desactivação dos terminais, permitindo obter cadeias com comprimentos similares. Isto é possível devido a uma iniciação mais rápida que a propagação e, à fase de terminação ser negligenciável. O carácter ‘vivo’ da polimerização

permite preparar copolímeros de blocos, caso a activação ocorra na presença de um novo monómero. Para além disso, o elevado controlo sobre o processo de crescimento das cadeias poliméricas, permite que se obtenham materiais poliméricos com índice de polidispersividade próximo de um e com massa molecular, topologia e composição uniformes e pré-determinados ^{4,9}. O índice de polidispersividade permite aferir se as cadeias possuem o mesmo tamanho: um índice de polidispersividade baixo indica que as cadeias possuem, quase todas, o mesmo tamanho e, um índice de polidispersividade alto indica que as cadeias possuem tamanhos diferentes. A existência de cadeias poliméricas com tamanhos uniformes é determinante para o *self-assembly* de copolímeros bloco, já que é esta característica que permite que sejam obtidos arranjos nanoestruturados com alto grau de uniformidade ¹⁰.

A massa molecular é uma das principais características que influencia as propriedades físicas e químicas de um polímero, razão pela qual é muito importante conseguir um elevado controlo durante a polimerização. Durante o *self-assembly* de copolímeros de bloco, o tamanho das cadeias poliméricas desempenha um papel importante, já que influenciará o tipo de interacções entre os segmentos poliméricos e o meio envolvente. Assim sendo, dado que permite ter grande controlo e precisão sobre a massa molecular, a técnica de CLRP foi utilizada na síntese dos polímeros estudados no decurso deste trabalho, permitindo avaliar o efeito do peso molecular e da composição dos copolímeros de bloco no tipo de nanoestruturas formadas por *self-assembly*.

Propriedades Químicas

À nanoescala, as propriedades dos materiais não são as mesmas que à escala macromolecular, pelo que, muitas vezes, são chamados de novos materiais. Ao combinar este conceito com o de materiais compostos, é possível criar nanoestruturas funcionais e aumentar a afinidade com todos os materiais, como por exemplo em, revestimentos de superfícies, adesivos, enchimentos de plásticos e no aumento da resistência a solventes ¹.

Quimicamente, cada segmento que constitui o copolímero pode também, ter diferente natureza anfifílica. Um copolímero anfifílico é constituído por um segmento hidrofílico, solúvel em água, e por um segmento hidrofóbico, como exemplificado na Figura 2 ¹¹.



Figura 2 - Representação esquemática de um copolímero anfifílico.

Os copolímeros anfifílicos possuem capacidade de *self-assembly* em estruturas de modo a manter a estabilidade cinética e termodinâmica do sistema. Segundo Whitesides⁸, a capacidade *self-assembly* das moléculas representa a associação espontânea das moléculas através de ligações não covalentes, sob condições de equilíbrio, em estruturas estáveis e bem definidas.

Em analogia com os tensoactivos, a interacção que permite a formação destas estruturas deve-se à competição hidrofóbica-hidrofílica, no caso de sistemas aquosos polímero-tensoactivo e, ao balanço entre interacções atractivas e repulsivas, no caso de copolímeros de bloco¹². É necessário ter em conta que, tal como nos sistemas de tensoactivos habitualmente utilizados na indústria, a formação das micelas apenas se verifica quando a concentração do copolímero é suficientemente grande. A essa concentração chama-se concentração micelar crítica (CMC). Abaixo desta concentração o copolímero encontra-se com uma estrutura linear e acima da CMC, forma estruturas micelares. Importa referir que, dada a elevada estabilidade dos sistemas poliméricos, resultantes dos pesos moleculares utilizados, o valor de CMC é tipicamente muito mais baixo que o de tensoactivos tradicionais¹³.

Estes copolímeros formam estruturas em meio aquoso, selectivo para um dos blocos do copolímero, criando uma *driving-force* para expulsar os grupos hidrofóbicos do meio. A capacidade de *self-assembly* resulta de um equilíbrio obtido entre as interacções hidrofóbicas e hidrofílicas do copolímero, conseguida através do desenho do comprimento e arquitectura dos constituintes dos copolímeros de bloco. Quanto maior o comprimento da cadeia do bloco hidrofóbico maiores serão as interacções hidrofóbicas, o que resulta numa diminuição do potencial de estabilização do copolímero em meio aquoso^{8,11}.

Os copolímeros anfifílicos auto-estruturam-se num determinado meio ambiente, para uma forma e tamanho favorável e estável ou em resposta a estímulos externos, com capacidade de reverter a sua estrutura de forma favorável a cada condição ambiental.

Os copolímeros anfifílicos podem adsorver à superfície ou em interfaces, tal como nos tensoactivos. A adsorção à superfície numa solução aquosa (Figura 3 a)), vai orientar o grupo hidrofóbico para fora da superfície e o grupo hidrofílico para a fase aquosa,

diminuindo a tensão interfacial entre a superfície e água. Para além de poderem adsorver à superfície (Figura 3 b)), os copolímeros podem formar estruturas micelares dispostas com o grupo hidrofóbico orientado para o interior do aglomerado e o grupo hidrofílico para o exterior, sem actividade superficial, minimizando o contacto entre a parte hidrofóbica e o ambiente aquoso ¹⁵.

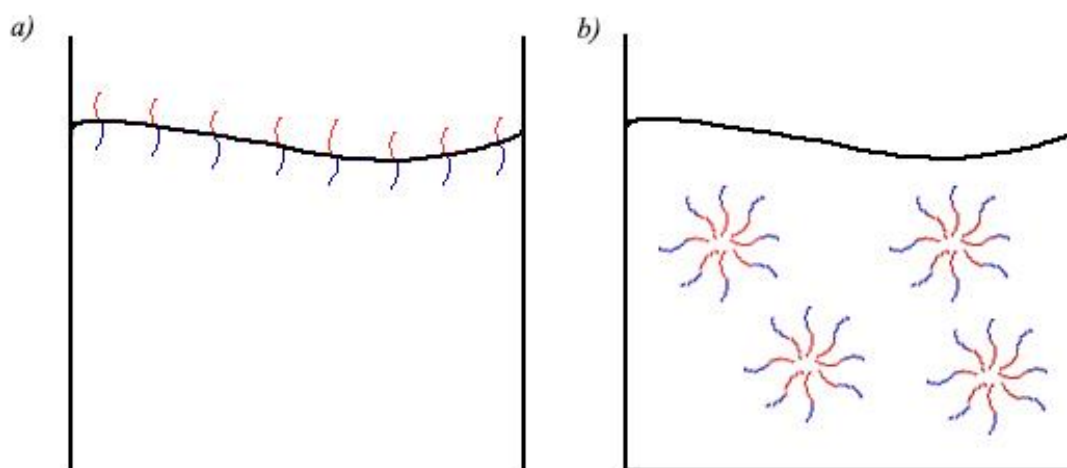


Figura 3 - Representação esquemática da micelização de um copolímero anfifílico em água.

Propriedades Termodinâmicas

O estudo do equilíbrio ácido-base permite compreender o comportamento que um polímero pode ter em certas condições ambientais.

Como definição, o pH é uma medida de potencial de hidrogénio que permite determinar se uma solução é ácida, neutra ou básica. A equação 1.7. mostra o equilíbrio ácido-base, fortemente estudado pela equação de Handerson – Hasselbalch (Equação 1.9.) ¹⁶, onde é definida a constante de dissociação K_a , HA representa o complexo desprotonado, A^- e H^+ , as espécies protonadas ¹⁷.



$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[HA]} \quad (1.8.)$$

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (1.9.)$$

Quando a concentração das espécies HA e A⁻ são iguais, o pKa é igual ao pH (Equação 1.9.), o que se encontra associado, por vezes, a uma transição conformacional reversível da cadeia polimérica. Isto permite definir uma equação em termos de grau de dissociação da macromolécula, α , comparada à equação de Handerson – Hasselbalch, em que o valor de pKa corresponde ao pH a qual a concentração de espécies ionizadas é 50% da concentração total¹⁸ (Equação 1.10).

A equação de Handerson – Hasselbalch permite obter a dependência do pKa em função de α . Na titulação de uma solução contendo um dado material, é possível retirar a informação termodinâmica relevante quanto à sua interação com o pH do meio envolvente, recorrendo às equações 1.10 e 1.11.¹⁹.

$$pK_a = pH - \log \frac{\alpha}{1-\alpha} \quad (1.10.)$$

$$\alpha = \frac{[H^+]}{[H^+] + [HA]} \quad (1.11.)$$

1.2. Polímeros inteligentes

Hoje em dia, a indústria necessita de materiais capazes de ter funções específicas em condições ambientais restritas. Como exemplo dessa necessidade, encontramos os veículos de libertação de fármacos em que, num determinado valor de pH ou temperatura, é necessário que a sua estrutura modifique para que o fármaco seja libertado.

Os polímeros inteligentes têm a capacidade de responder a estímulos, de acordo com o meio onde estão inseridos, através da alteração das propriedades físicas ou químicas, por exemplo, mudar a sua conformação estrutural, cor ou mesmo solubilidade em água. Esses estímulos podem ser mudanças de temperatura, humidade, pH, intensidade luminosa e campos eléctricos e magnéticos. Estes polímeros tornam-se únicos não só por conseguirem rápidas mudanças macroscópicas como por essas mudanças de fase serem reversíveis²⁰.

Os polímeros inteligentes podem ser classificados de acordo com o estímulo ambiental. Os estímulos mais estudados e com maior importância são a variação do pH e da temperatura. Estes polímeros são conhecidos como polímeros sensíveis ao pH e polímeros termossensíveis. Estes estímulos ocorrem naturalmente em diversos ambientes. O corpo humano, é um meio onde muitas destas variações ocorrem, sendo este o motivo

pelo qual a utilização destes polímeros na área biomédica é de elevada importância. Por exemplo, as variações de pH podem ser encontradas no aparelho digestivo ²¹, e vão desde o ambiente ácido do estômago ao ambiente alcalino do intestino; e apresentam variações em tumores ou em diferentes órgãos ²².

Variações anómalas de temperatura corporal, podem ser provocadas pela presença de organismos estranhos ao corpo, os organismos patogénicos ²¹. Os polímeros termossensíveis apresentam uma resposta, ou transição de fase, quando o ambiente atinge uma temperatura crítica. A solubilidade destes polímeros depende de um equilíbrio entre os grupos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes na sua estrutura. Quando expostos a variações de temperatura, este balanço pode sofrer um reajustamento, alterando a solubilidade do polímero ²³.

Os polímeros termossensíveis podem ser incorporados em copolímeros de modo a ajustar a temperatura crítica desejada. Este ajuste pode ser feito através do controlo da massa molecular e do aumento de monómeros hidrofóbicos, para diminuir a LCST ou, aumento de monómeros hidrofílicos, para aumentar a LCST.

De acordo com a aplicação dos polímeros inteligentes, estes podem ser combinados de maneira a conseguirem responder a mais do que um estímulo, como por exemplo, a mudanças de temperatura e pH em simultâneo.

Um dos polímeros que tem vindo a chamar a atenção nos últimos anos é o polidimetilaminoetil metacrilato (PDMAEMA). É um polímero catiónico que consegue responder tanto à temperatura como ao pH e à variação da força iónica do ambiente. O PDMAEMA mostra uma resposta à temperatura dependente do pH do meio: quanto maior o pH menor a LCST ²⁴. Para valores elevados de pH, o polímero encontra-se desprotonado proporcionando uma resposta, mudança de fase, a temperaturas mais baixas. Quando baixamos o pH do meio, o inverso acontece sendo necessário temperaturas mais altas para ocorrer numa mudança de fase ²⁵. É possível assim, controlar a LCST pretendida através do pH do meio envolvente.

Este trabalho foca a classe de polímeros inteligentes anfílicos onde foram combinados segmentos, de polietileno glicol (PEG) com poli(4-vinilpiridina) (P4VP), para o estudo do comportamento de polímeros inteligentes em resposta ao pH. Esta classe de polímeros será abordada a seguir com maior destaque.

O conhecimento da estrutura da cadeia polimérica permite aferir o tipo de resposta e interações polímero-solvente e polímero-polímero que podemos obter. A variação, reversível, da sua conformação dá origem a propriedades diferentes do polímero.

A combinação de dois tipos de monómeros para obter copolímeros inteligentes, onde um dos segmentos tem a capacidade de responder a estímulos, é uma das estratégias adoptadas nos últimos anos. Esta técnica surge para muitas áreas de aplicação industrial, tal como a biomedicina, plásticos, revestimentos ou sistemas electrónicos.

Polímeros sensíveis ao pH

Polímeros sensíveis a esta grandeza sofrem uma transição de fase a um determinado valor de pH, exibindo uma mudança do estado de ionização. Possuem na sua estrutura grupos ácidos ou básicos que através da cedência ou aceitação de prótons, em resposta à mudança do pH no ambiente, fazem variar a sua morfologia e conformação do polímero^{21,23, 31}.

A variação da carga eléctrica (protonação/desprotonação) está na base desta transição de fase que se reflecte na mudança de solubilidade do polímero. O pH a que ocorre esta transição de fase depende do pKa do polímero, que por sua vez relaciona-se com a composição e, geralmente com, massa molecular.

Estes polímeros podem ser classificados em dois grandes grupos quanto à natureza do grupo funcional: polianiões e policatiões. Os polianiões contêm na sua estrutura um elevado número de grupos ionizáveis, como o ácido carboxílico^{23,31}. Quando sujeitos a pH's elevados, os polímeros adquirem maior solubilidade em água devido à ionização dos grupos constituintes, permitindo que a água penetre na rede polimérica, obrigando a uma reestruturação da estrutura. Como exemplo destes polianiões temos o poliácido acrílico (PAA) e o poliácido metacrílico (PMAA). Os policatiões têm tipicamente na sua estrutura grupos amina, que em ambientes ácidos ou abaixo do seu pKa encontram-se carregados positivamente, permitindo que se solubilizem em água e, a valores inferiores ao pKa encontram-se protonados^{31,32}. A existência de um átomo de azoto no anel piridina, faz com que a P4VP também apresente um comportamento policatiónico.

A transição de fases de solubilizado para insolúvel é dependente do equilíbrio entre as interacções electrostáticas e as interacções hidrofóbicas, as quais são as principais responsáveis pela alteração das propriedades estruturais e reológicas destes polímeros. O comportamento das fases pode ser ajustado através do balanço entre as interacções intermoleculares atractivas e repulsivas, ou da utilização de diferentes interacções atractivas de comprimentos de segmentos alquilos e cargas^{12,33}.

A utilização de polímeros sensíveis ao pH como parte de copolímeros tem vindo a crescer nos últimos anos. Apenas um dos segmentos do copolímero apresenta resposta a

modificações do pH enquanto o outro se mantém inalterado. Isto leva à auto – agregação de estruturas com um microambiente, termodinamicamente estável, capaz de incorporar várias substâncias, tornando-se alvo principal de estudo para aplicações biomédicas. Por exemplo, quando aplicado este conceito a sistemas de libertação controlada de fármacos, o uso destas estruturas permite proteger o fármaco da rápida degradação e eliminação do corpo e, a sua libertação no correcto local aumentando a eficiência do mesmo.

A P4VP (Figura 4) é um dos polímeros mais utilizados para a síntese de sistemas poliméricos inteligentes. Os copolímeros de blocos que têm na sua composição um segmento de P4VP têm vindo a ser utilizados formação de complexos metálicos para a preparação de nanopartículas em superfícies semicondutores, utilizadas em aparelhos electrónicos, fotónicos e químicos e plataformas sensíveis^{34,35}. Os segmentos de P4VP estabelecem interações ácido-base com as espécies metálicas através da partilha de electrões com o azoto presente no anel piridino.

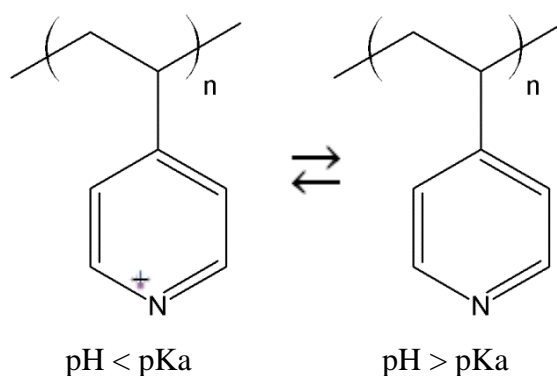


Figura 4 - Representação esquemática de P4VP.

A P4VP apresenta uma resposta a variações do pH do meio. Quando atingido o valor de pH crítico, a P4VP sofre uma mudança no seu estado de ionização. Essa transição crítica é observada a valores de pH entre 4,7 e 5^{32,36}, o que corresponde ao valor de pKa da P4VP. Para valores de pH inferiores ao pKa, a P4VP encontra-se protonada, devido ao grupo piridina presente na sua estrutura. A repulsão electrostática entre as cargas positivas da P4VP proporciona uma organização linear da estrutura. As interações intramoleculares diminuem e as interações polímero-solvente aumentam, observando-se uma solubilização do copolímero. Para valores de pH superiores ao pKa, a P4VP torna-se desprotonada quebrando as ligações com o solvente resultando num aumento de hidrofobicidade.

Neste trabalho foram usados copolímeros de blocos anfifílicos, em que o segmento PEG representa a componente hidrofílica, não apresentando resposta a variações do ambiente envolvente e, o segmento P4VP representa a componente hidrofílica/hidrofóbica em resposta a variações de pH no meio ambiente. Uma vez que o PEG continua hidrofílico e a P4VP se torna hidrofóbica, estes segmentos têm a tendência de se associar em estruturas micelares de modo a criar microambientes hidrofóbicos e estáveis.

Capítulo 2

2. Metodologia Experimental

Ao longo deste trabalho diversos materiais foram utilizados com diferentes objectivos. Os copolímeros são o objecto em estudo e, os sais permitiram o estudo da influência da força iónica e do pH sobre estes copolímeros. Neste capítulo, vão ser apresentados os diferentes materiais e técnicas de reologia e de Dispersão Dinâmica da Luz (DLS) utilizadas.

2.1. Materiais

2.1.1. Compostos utilizados na síntese dos copolímeros de bloco

Neste trabalho foram usados três copolímeros de blocos sensíveis ao pH, sintetizados no Departamento de Engenharia Química da Universidade de Coimbra, através de polimerização radicalar viva.

Para a sua síntese foi usado polietileno glicol metil éter (mPEG) (mPEG113: $M_w=5000$ Da, e mPEG45: $M_w=2500$ Da; Sigma-Aldrich) seco por destilação azeotrópica em tolueno, cloreto de 2-cloropropionil (CPC) (97%; Sigma-Aldrich), CuCl_2 (+99%+extra puro, anidro; Acros), fio de $\text{Cu}(0)$ (99%, Acros) previamente activado com ácido nítrico, lavado com acetona e seco. Isopropanol (IPA) (99.97%; Fisher Chemical), etanol (96%; Panreac), éter etílico (>99.8%; Sigma-Aldrich), metanol (>99.85%; JMGS), clorofórmio (99.99%; Fisher Chemical), dimetilformamida (DMF) (+99.8%, Sigma-Aldrich), clorofórmio deuterado (CDCl_3) (+1% tetrametilsilano (TMS); Euriso-top). 4-vinilpiridina (4VP) (96%; Fluka), trietilamina (TEA) (96%; Sigma-Aldrich) e o diclorometano (DCM) (+99.6%; Fisher Scientific) foram destilados antes de serem usados. 4-Dimetilaminopiridina (DMAP) (99%; ACROS) foi recristalizada e tris(2-

dimetilaminoetil)amina (Me6TREN) foi sintetizado tendo em conta procedimentos descritos na literatura ³⁷.

Inicialmente foi usado PEG₄₅-P4VP₂₄₁, com uma razão de comprimento dos segmentos poliméricos de 5,36 e posteriormente, PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ com razão de 1,10 e PEG₄₅-P4VP₅₉ com razão de 1,31. A variação do comprimento de cada bloco, permitiu identificar a influência deste parâmetro no tipo de estruturas formadas e no desempenho reológico dos copolímeros.

Para as variações de pH das soluções foram usados ácido clorídrico diluído (HCl) e hidróxido de sódio (NaOH) a 5%, como ácido e base, respectivamente, através da adição de pequenos volumes até obter o valor pretendido.

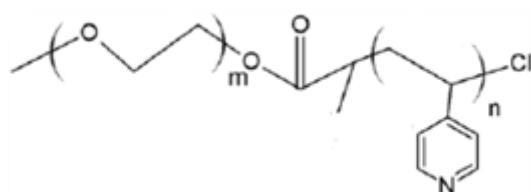


Figura 5 - Representação esquemática dos copolímeros de blocos utilizados, PEG_m-P4VP_n.

2.1.2. Sais

Nos ensaios de força iônica foram utilizados dois tipos de sais: monovalentes e divalentes. O sal monovalente utilizado foi o NaCl com 99,5% de pureza da Panreac e, o MgCl₂ como sal divalente da Sigma Aldrich.

2.2. Métodos de preparação das amostras

Em todas as técnicas usadas, na preparação das soluções, estas são sempre agitadas até se verificar a dispersão total do copolímero.

Para os testes reológicos, foram preparadas soluções aquosas com concentrações de 0,2% (p/p), 2% (p/p), 5% (p/p) e 10% (p/p) de copolímero. As soluções preparadas apenas contêm o copolímero e a água destilada. A dissolução do polímero é conseguida a pH inferiores ao pK_a, sendo posteriormente, ajustado o pH com pequenas adições de HCl ou

NaOH, conforme os valores pretendidos. A estabilidade das soluções foi determinada após uma centrifugação de 3500 rpm, durante 10 min. Foi usada a centrífuga IEC Centra – 3C da International Equipment Company.

No estudo da força iónica, para cada sal usado, as soluções preparadas continham 2% (p/p) de copolímero e 3% (p/p) de sal e, na determinação de CMC, foram utilizadas concentrações de e, 2×10^{-4} % (p/p) a 0,2% (p/p) na preparação das amostras.

Nos testes DLS amostras de 0,2% (p/p) e 2% (p/p) foram preparadas. As soluções com pH entre 1 e 4 foram filtradas com filtros PET de 0,45 μm e com pH por volta de 4, com filtros de fibra de vidro de 1 μm . As soluções de 2% (p/p) com pH a acima de 4 apresentavam alguma opacidade pelo que não serão apresentadas.

Para os ensaios de titulação, as soluções aquosas foram preparadas com concentração de 2% (p/p). A dissolução do polímero foi realizada através da adição sucessiva de 100 μL de ácido diluído até observação da dissolução completa. Na preparação da amostra sem copolímero, usada como referência, à água destilada juntou-se a mesma quantidade de ácido diluído usado para dissolver o polímero.

2.3.Técnicas

2.3.1. Síntese dos copolímeros de blocos

Nesta secção apenas será descrito a síntese para um dos copolímeros a título de exemplo, sendo que os restantes foram preparados do mesmo modo.

Síntese de cloreto polietileno glicol monometil éter (mPEGx-Cl)

O mPEG₁₁₃-Cl (Figura 6) foi preparado adaptando um procedimento da literatura³⁸. DMAP (0.916 g, 7.5 mmol) e TEA (0.7 mL, 5 mmol) foram dissolvidos em DCM (20 mL), num balão de fundo redondo. Após adicionar-se uma solução de mPEG₁₁₃ (10.0 g, 5.0 mmol) e DCM (30 mL) adicionou-se gota a gota, sob azoto, uma solução de CPC (1.21 mL, 12.5 mmol) em DCM (20 mL) em banho de gelo (0°C), formando uma dispersão amarela. A temperatura foi posteriormente aumentada para 25 °C e a reacção prosseguiu por 18h sob agitação magnética. A dispersão obtida foi filtrada, concentrada no evaporador rotativo e o produto foi obtido por precipitação em éter etílico. Após recristalização em etanol durante a noite o macroiniciador foi filtrado e seco em vácuo a 40°C. Este

procedimento foi também utilizado para a síntese de mPEG₄₅-Cl e as estruturas dos macroiniciadores foram confirmados por ¹H RMN em CDCl₃.

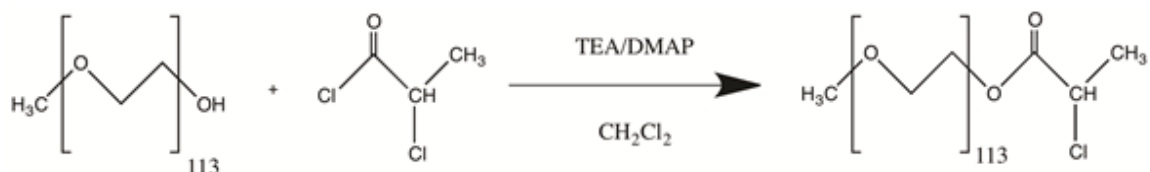


Figura 6 - Reacção de síntese de mPEG113-Cl.

Síntese de copolímero de bloco de mPEG113-b-P4VP124

O copolímero de bloco mPEG₁₁₃-b-P4VP₁₂₄ foi preparado por polimerização radicalar por transferência de átomo (ATRP), usando um sistema catalítico de Cu(0) e [CuCl₂]/[Me6TREN]=1/1 já reportado na literatura ³⁹. mPEG₁₁₃-Cl (0.472 g, 0.09 mmol), CuCl₂ (12.47 mg, 0.09 mmol), Me6TREN (21.36 mg, 0.09 mmol) e IPA (3.11 mL) foram adicionados a um reactor Schlenk que foi imediatamente congelado em azoto líquido. Fio de Cu(0) foi adicionado e o sistema foi desoxigenado com quatro ciclos de descongelamento-congelamento sob vácuo e purga de azoto. 4VP (3.0 mL, 28 mmol), foi adicionada ao sistema sob azoto, e a mistura reaccional foi imediatamente congelada e sujeita a dois novos ciclos de descongelamento-congelamento sob vácuo e purga de azoto. O reactor foi colocado num banho de óleo pré aquecido a 50°C sob agitação magnética. Após 90 min, foi retirada uma amostra de reacção para determinar a conversão por ¹H RMN em CDCl₃ e o copolímero de bloco foi precipitado em éter etílico frio, dissolvido em clorofórmio e passado em colunas de alumina para remover o catalisador. A solução foi concentrada pela evaporação do solvente e o produto precipitado em éter etílico e filtrado. Para remover maior quantidade de catalisador o mPEG₁₁₃-b-P4VP foi dissolvido em metanol e dialisado durante 12h (massa molecular cut-off (MWCO) = 3500 Da). O produto final foi novamente precipitado em éter etílico, filtrado e seco durante 48 h em vácuo a 40°C. Os restantes copolímeros foram sintetizados através do mesmo procedimento, mas variando a composição do meio reaccional, de forma a serem obtidos copolímeros com diferentes composições e massas moleculares.

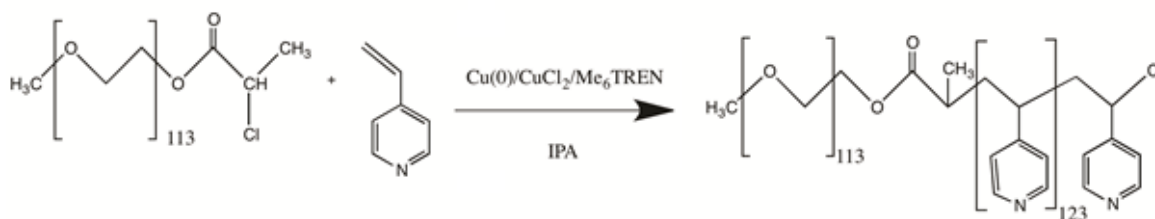


Figura 7 - Síntese do copolímero de bloco PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄.

Na tabela 1, encontra-se em resumo as características dos vários copolímeros. A composição, a massa molecular e a polidispersividade das amostras foram determinadas por ¹H RMN (Anexo A) e por GPC (Anexo B).

Tabela 1 - Caracterização dos copolímeros de bloco

Copolímero	Mn mPEG (g/mol)	Mn P4VP (g/mol)	Mn Total (g/mol)	Mw/Mn	Cu_{res} (% p/p)
mPEG₄₅-b-P4VP₅₉	2 000	6 203	8 203	1,224	0,64
mPEG₄₅-b-P4VP₂₁₄	2 000	25 337	27 337	1,152	0,36
mPEG₁₁₃-b-P4VP₁₂₄	5 000	13 062	18 062	1,274	0,57

2.3.2. Reologia

A reologia é a ciência que estuda as propriedades físicas e químicas do escoamento e deformação da matéria, quando submetida a tensões. O comportamento do material em resposta a uma força vai depender do seu estado físico, podendo este se encontrar no estado sólido, líquido ou gasoso. A deformação dos materiais sólidos, reversível, está relacionada com as leis da elasticidade propostas por Hooke e os fluídos (líquidos ou gases), irreversível, pelas leis da viscosidade proposta por Newton ⁴⁰.

Os estudos reológicos permitem caracterizar as propriedades elásticas e viscosas dos sistemas em estudo. Muitos dos sistemas de interesse têm comportamentos intermédios: possuem propriedades elásticas e viscosas. Os polímeros são sistemas complexos e caracterizam-se pelas suas propriedades intermédias, viscoelásticas, e como tal, a resposta a este comportamento varia consoante as condições a que são submetidos bem como com as propriedades do polímero, como a concentração e massa molecular.

A viscoelasticidade de um material pode ser estudada através de testes rotacionais e oscilatórios. Os testes rotacionais permitem estudar a componente viscosa destes materiais. A viscosidade é a propriedade que reflecte o comportamento do sistema, através da medição da resistência contra a deformação aplicada. O modelo de Newton, para fluidos Newtonianos, permite obter uma relação entre a tensão aplicada e a taxa de deformação. Nos fluidos Newtonianos, a velocidade de deformação é proporcional à tensão aplicada, e a constante de proporcionalidade é a viscosidade (Equação 2.1.). Este modelo pode ser explicado através de um fluido entre duas placas paralelas de área A , separadas por uma distância h , como exemplificado na Figura 8 ¹¹.

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (2.1.)$$

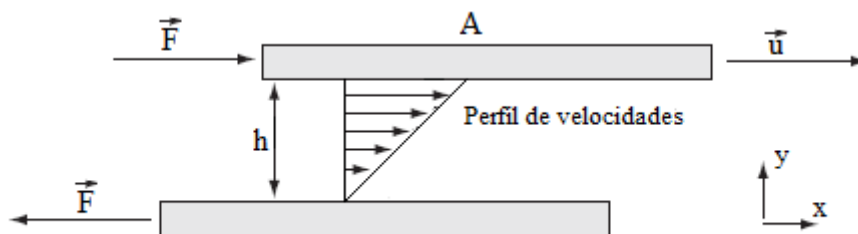


Figura 8 - Representação esquemática de perfil de velocidades entre dois pratos paralelos.

Quando uma força é aplicada a uma placa móvel (placa superior), a parte do fluido em contacto com essa placa adquire uma velocidade u , enquanto que a parte do fluido em contacto com a placa fixa (placa inferior) se mantém imóvel, resultando num gradiente de velocidades linear ($\dot{\gamma}$). Este gradiente provém das forças de coesão do fluido com a placa móvel com sentido inverso à força aplicada, chamadas tensão de corte (τ).

Para os fluidos Newtonianos, a viscosidade mantém-se constante com o aumento da velocidade de corte. Nos fluidos não-Newtonianos, a velocidade de deformação e a tensão de corte não são proporcionais (Figura 9 (a)) ⁴¹. Devido à elevada massa molecular que os polímeros normalmente têm, são necessárias elevadas tensões de corte para quebrar as ligações existentes na estrutura. O comportamento geral destes fluidos passa pela diminuição da viscosidade com a tensão aplicada (Figura 9 (b)) ^{18,29,41}.

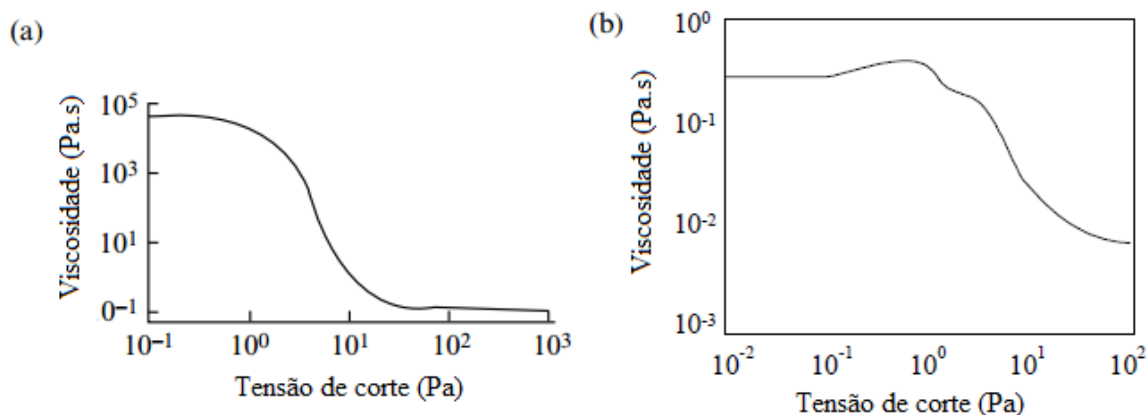


Figura 9 - Comportamento reológico de a) um fluido não Newtoniano e b) um polímero anfifílico em solução.

Foram realizados dois tipos de testes rotacionais: viscosidade vs. tensão de corte (0,2 Pa a 20 Pa) a temperatura constante de 25°C e; viscosidade vs. temperatura (15°C a 100°C) com uma tensão de corte constante de 1 Pa.

Os testes oscilatórios têm por base a medição do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G'') que permitem estudar a estrutura do material quando sujeito a uma deformação²⁹. Quando o sistema tem um comportamento de um líquido, apresenta G'' superior a G' e a viscosidade é independente da frequência de oscilação. Quando o sistema se comporta como um gel, G' é superior a G'' e a viscosidade depende da frequência oscilatória, aumentando. Os testes oscilatórios foram realizados com duas variáveis: G'/G'' vs. tensão de corte (0,1 Pa a 100 Pa) com uma frequência de 0,1 Hz e, G'/G'' vs. frequência (10 Hz a 0,005 Hz) com uma tensão de corte escolhida de modo a que as funções viscoelásticas não dependam do valor da tensão de corte, ou seja, se mantenham lineares.

O estudo reológico foi realizado no reômetro Thermo Scientific HAAKE MARS III (Figura 10), com um sistema de medida de cone e prato (diâmetro: 35 mm; ângulo: 1°), como mostra a Figura 11⁴⁰ e, um sistema de Peltier para controlo da temperatura.



Figura 10 - Reómetro Thermo Scientific HAAKE MARS III e sistema Peltier.

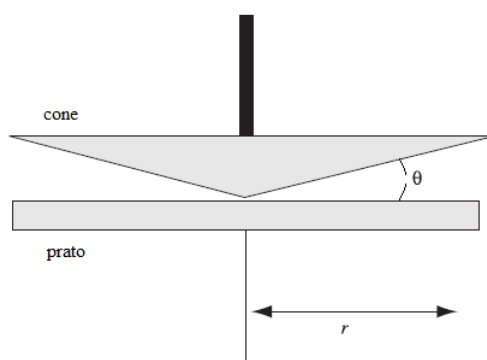


Figura 11 - Sistema de prato e cone. θ ângulo entre o cone e o prato e r raio do prato e do cone.

2.3.3. Dispersão Dinâmica da Luz (DLS)

A DLS é uma técnica de caracterização de moléculas, partículas, ou emulsões dispersas ou dissolvidas num líquido. A caracterização das partículas passa pela determinação de parâmetros, como o tamanho, em regiões do submicron ^{42,43}.

Esta técnica assenta no princípio de movimentação Browniano das partículas em suspensão. A DLS mede a velocidade deste movimento aleatório, causado pelo choque das partículas com as moléculas de solvente, conhecido como o Coeficiente de Difusão Translacional, D ⁴³. O tamanho da partícula é determinado através da relação deste princípio com o pressuposto de que o diâmetro obtido é de uma esfera que tem o mesmo coeficiente translacional, diâmetro hidrodinâmico ⁴⁴. Essa relação é expressa segundo a relação de Stokes-Einstein (Equação 2.2.) ⁴³. Através desta equação é possível determinar que quanto maior a partícula menor será a sua velocidade de movimentação.

$$d = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (2.2.)$$

Sendo d o diâmetro hidrodinâmico, D o coeficiente de difusão translacional, k a constante de Boltzmann, T a temperatura absoluta em graus kelvin e, η a viscosidade.

Quando uma partícula em movimento Browniano é iluminada por um feixe de luz, causa variações do comprimento de onda do feixe disperso, dependendo do tamanho e das interações moleculares das partículas ⁴⁵. A variação da frequência, da distribuição angular e da intensidade do feixe são detectadas por um fotodetector, a um ângulo conhecido.

Para a técnica de caracterização estrutural dos copolímeros recorreu-se ao equipamento Zetasizer Nano ZS (Figura 12) da Malvern Instruments, de alta sensibilidade e medição na gama de tamanhos de 0,3 nm a 10 μ m. Este equipamento permite a detecção e medição de agregados e do tamanho e peso das moléculas através de *Dynamic* e *Static Light Scattering*, respectivamente ⁴².



Figura 12 - Equipamento *Zetasizer Nano ZS*.

2.3.4. Titulação

A titulação é um método químico analítico que permite avaliar o equilíbrio ácido-base de uma solução, através do estudo da variação do pH. Este equilíbrio pode ser estudado através da curva de titulação. Nas figuras 13 e 14, estão representadas as curvas de titulação de um ácido fraco com uma base forte e de uma base fraca com um ácido forte, respectivamente ⁴⁶.

Pela Figura 13, vemos que no início da titulação, a solução se encontra com elevada concentração de espécies ionizadas, $[A^-]$. À medida que a base é adicionada, espécies não ionizadas, $[HA]$, são formadas em quantidade equivalente às espécies ionizadas removidas. Quando a quantidade de base adicionada corresponde à quantidade de espécies ionizadas inicialmente na solução, obtemos um sal a partir de um ácido fraco ⁴⁶. O inverso acontece para uma solução inicialmente alcalina, como mostra a Figura 14.

Vemos que para uma certa concentração de base adicionada, a dado ponto existe uma variação brusca do pH. Este ponto é definido como o ponto de equivalência, onde a concentração do titulante é igual à concentração do titulado, de acordo com a estequiometria da reação de titulação. O valor de pH a qual ocorre esta mudança brusca corresponde ao ponto de equivalência da solução que pode ser superior, inferior ou igual a 7 dependendo do tipo de titulação. No caso da titulação de um polímero variação repetitiva do valor de pH a uma dada quantidade de base adicionada está associada a uma variação do estado de ionização da cadeia polimérica ⁴⁷.

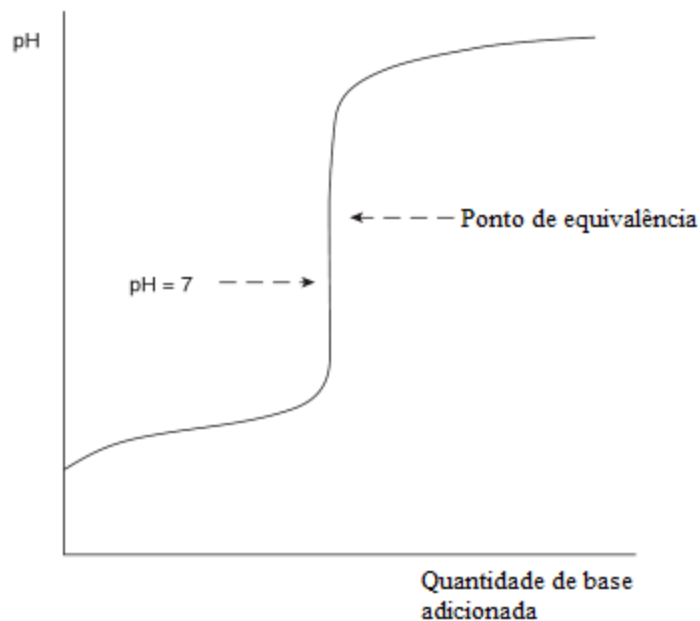


Figura 13 - Titulação de um ácido fraco com uma base forte.

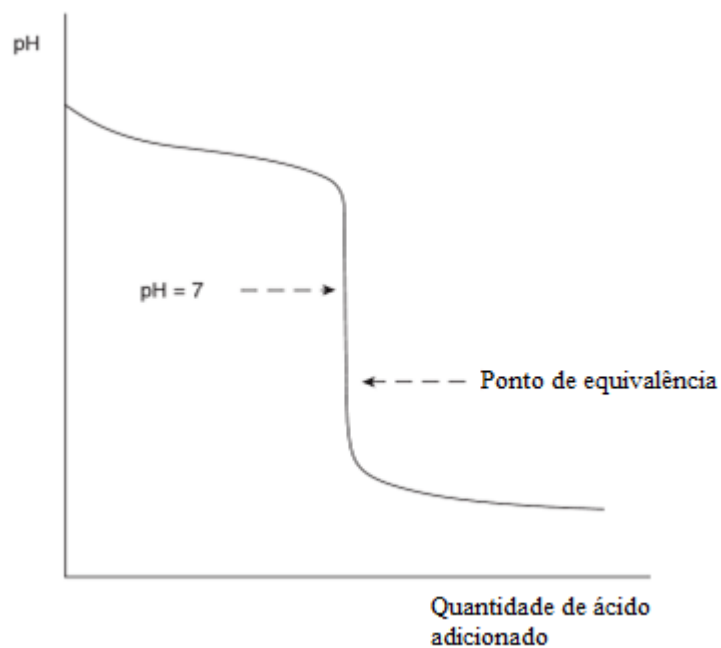


Figura 14 - Titulação de uma base fraca com um ácido forte.

Neste trabalho, a determinação do pKa das soluções poliméricas foi realizada recorrendo ao método de titulação, através de um medidor de pH *inoLab Level 1* (Figura 15 (a)) e a uma placa de agitação magnética Heidolph MR 3001 (Figura 15 (b)). Para esta metodologia de determinação do pKa, a titulação decorreu com adições de 2 em 2 minutos de 100 μ L de 0.1 M de NaOH.

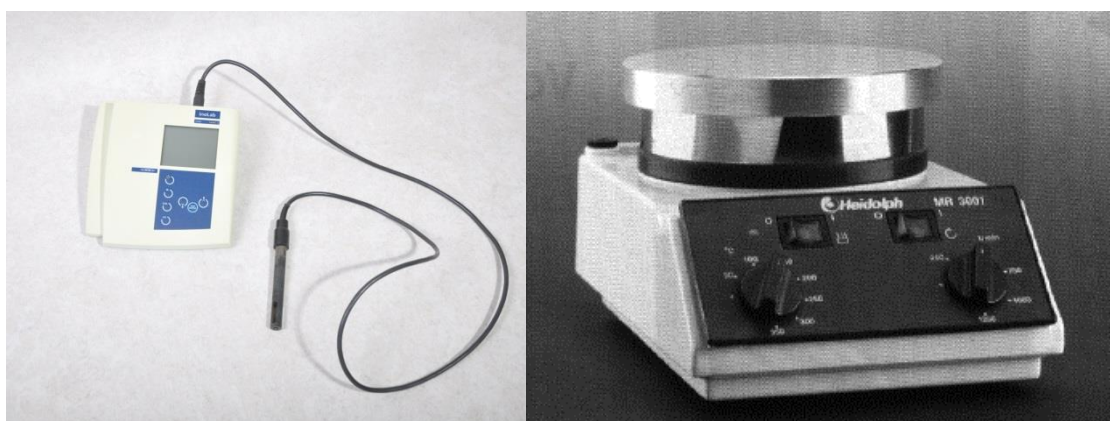


Figura 15 - Representação esquemática do (a) medidor de pH *inoLab Level 1* e (b) placa de agitação magnética Heidolph MR 3001.

2.3.5. Determinação do CMC – Método Anel *Du Nouy*

No interior de um líquido, as moléculas estão sujeitas a forças intermoleculares das moléculas circundantes o que resulta num equilíbrio de forças. Na superfície, o número de moléculas é mais reduzido, o que leva a um desequilíbrio na resultante das forças intermoleculares. Isto resulta numa orientação molecular de modo a conseguir uma menor superfície possível (Figura 16) ⁴⁸. A tensão superficial γ , é uma medida da energia de coesão presente numa interface, explicada pelo trabalho necessário para aumentar a superfície do líquido numa unidade de área (Equação 2.3.).

$$dW = \gamma dA \quad (2.3.)$$

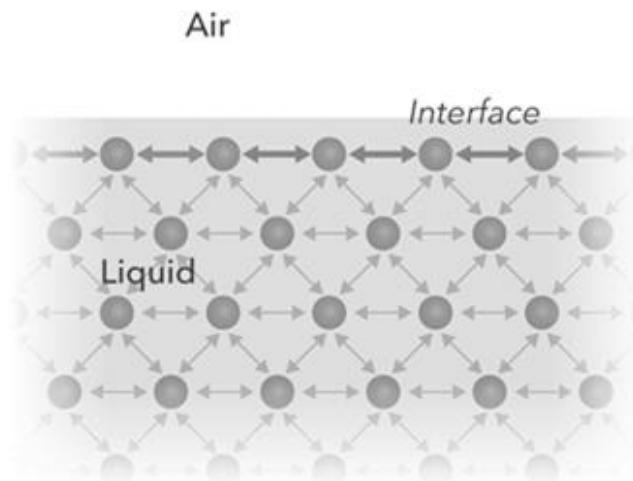


Figura 16 - Representação esquemática das forças intermoleculares presentes num líquido.

Quando uma substância anfifílica é dissolvida em água, a interação entre as moléculas da água e da substância, produz uma variação na tensão superficial, dependente da concentração da substância. Quando esta aumenta, a tensão superficial diminui. Vimos anteriormente, que estas substâncias, normalmente tensoactivos, acumulam-se na superfície da água formando um filme monomolecular e quando atinge uma determinada concentração (CMC), não aceita mais moléculas na superfície ¹⁵. Ao ultrapassar a CMC, a tensão superficial mantém-se constante. Assim, é possível determinar a CMC através do estudo da variação da tensão superficial do líquido. No caso dos copolímeros o CMC corresponde ao momento em que o polímero está totalmente dissolvido (na forma de unímeros) para o estado micelar ⁴⁹.

O método Anel Du Nouy é um dos muitos métodos que permite a determinação da tensão superficial de um líquido. Este método consiste na interação de um anel de platina com a superfície do líquido, onde é medida a força necessária, F , para separar o anel da interface. Assim, é possível calcular a tensão de superfície através da equação 2.4 ^{50,51}.

$$\gamma = \frac{F}{4\pi r} \quad (2.4.)$$

Na figura seguinte (Figura 17) encontra-se representado o funcionamento do método ⁴⁸. O anel é submerso abaixo da interface e, de seguida, é levantado suavemente. À medida que sobe, o anel arrasta consigo o menisco do líquido até este se soltar, voltando à posição original. A força máxima é obtida quando o anel já se encontra fora da superfície do líquido e arrasta consigo o menisco até um certo ponto.

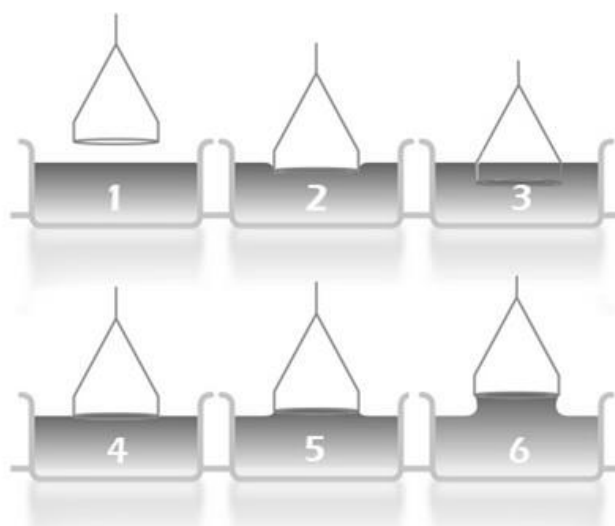


Figura 17 - Representação esquemática do método do anel Du Nuey.

A determinação da CMC, neste trabalho, foi determinada recorrendo ao tensiómetro TD1 da LAUDA (Figura 18). Este tensiómetro permite uma gama de medição de tensão superficial e de superfície estática dos 2 a 100 mN/m através dos métodos do anel Du Nuey e do método de prato Wilhelmy. Tanto o anel como o prato são feitos de platina-irídio ⁵².

Usaram-se soluções de 2×10^{-4} % (p/p) a 0,2% (p/p), a pH superiores a 3. No entanto, considerando os baixos valores de CMC dos copolímeros, esta técnica não permitiu a sua determinação.

Os copolímeros de bloco têm vindo a ser estudados com o principal objectivo de preencher e portanto, substituir, os tensoactivos convencionais. Isto deve-se ao facto de os copolímeros apresentarem um comportamento muito mais estável em soluções aquosas que os tensoactivos. Esta é uma das razões porque não foi possível determinar a CMC do copolímero em estudo com as concentrações estudadas. A enorme estabilidade do copolímero permite-lhe formar estruturas micelares mesmo em concentrações muito pequenas. A CMC para os tensoactivos depende do número de carbonos presente na cadeia, no entanto apresenta uma ordem de valores de 10^{-4} M enquanto os copolímeros apresentam valores na ordem de 10^{-7} M.



Figura 18 - Tensiómetro TD1 LAUDA.

3. Resultados e Discussão

Neste trabalho pretende-se compreender a relação existente entre a estrutura e o comportamento reológico de um copolímero de blocos PEG_x-P4VP_y em solução aquosa, em resposta a variações de pH.

É sabido que a P4VP apresenta características hidrofílicas ou hidrofóbicas conforme o pH do meio em que se encontra inserida. Enquanto exhibe um comportamento hidrofílico para pH a baixo do seu pKa, mostra um comportamento hidrofóbico para pH a cima do pKa. Visualmente foi possível verificar este comportamento, observando um aumento de opacidade com o aumento do pH. Na realidade estudos confirmam que a P4VP quando combinada com um segmento puramente hidrofílico num copolímero de bloco, forma estruturas micelares quando inserida em soluções de valores de pH igual ou superior ao seu pKa^{53,54,55}. Recorreu-se ao estudo do comportamento reológico com o objectivo de perceber como é que o aumento da hidrofobicidade da cadeia influencia a viscosidade e a viscoelasticidade da solução, através de testes rotacionais e oscilatórios, respectivamente.

Posteriormente, promoveu-se um estudo que visava verificar o tamanho da estrutura a diferentes valores de pH. Este estudo realizado através da técnica DLS, permite comparar a conformação que a P4VP toma com os resultados obtidos pela técnica reológica. Com vista a entender melhor o fenómeno por detrás da mudança de conformação foram usados diversos copolímeros com diferentes comprimentos de P4VP e diferentes razões molares de segmentos poliméricos. O uso do PEG no copolímero tem como objectivo estabilizar a P4VP a cima do seu pKa (quando se torna hidrofóbica) impedindo a sua precipitação.

Estudos de titulação foram realizados com o objectivo de verificar a influência do comprimento do segmento de P4VP e da massa molecular no valor de pKa do copolímero de blocos e com o intuito de explicar os fenómenos observados pela transição de fase ocorrida.

3.1.Determinação do pKa

Com o objectivo de uma melhor compreensão dos resultados obtidos pelos estudos reológicos e de DLS efectuados, a determinação do pKa dos copolímeros de blocos em estudo foi verificada. Como valor de referência para este estudo, usámos o valor do pKa do homopolímero da P4VP (~4,5). Nesta secção encontram-se descritos todos os passos usados na determinação do pKa, pelos dados experimentais obtidos pela curva de titulação. Os valores de pKa foram determinados para os copolímeros PEG₄₅-P4VP₅₉ e PEG₄₅-P4VP₂₄₁.

Como referido anteriormente, as curvas de titulação foram obtidas através da adição sucessiva de 100 µL de 0,1 M NaOH dois em dois minutos. Uma vez que estes copolímeros apenas são solúveis em ambientes ácidos, foi necessário adicionar previamente uma quantidade de ácido diluído. Para que a neutralização do ácido adicionado não interferisse nos valores obtidos, foi titulada um ensaio branco com a mesma quantidade de ácido adicionado aos copolímeros.

Na Figura 19 encontra-se representada as curvas de titulação de dois dos copolímeros estudados. Verifica-se que o comportamento dos dois copolímeros apresenta uma resposta ao pH na mesma ordem de grandeza. É visível que durante a titulação ocorre um salto no valor de pH indicando que a quantidade de base utilizada foi utilizada para a total desprotonação da P4VP. Antes do salto do valor de pH, verifica-se que o pH da solução mantém-se aproximadamente constante, existindo um efeito tampão da solução.

Comparativamente às curvas de titulação de PGLx-P4VPy obtidas por Mendrek⁵¹, vemos que as curvas são muito semelhantes, o que seria de esperar já que o PGL é um segmento polimérico hidrofílico à semelhança do PEG. O salto no valor do pH ocorre para valores perto de 4,7, ligeiramente superior ao valor do pKa da P4VP. Mendrek mostrou que as curvas de titulação obtidas com copolímeros de P4VP apresentam comportamentos próximos do homopolímero P4VP, onde o valor de pKa dos copolímeros calculado é semelhante ao valor do homopolímero da P4VP, pKa igual a 4,5. Uma vez que as curvas obtidas neste trabalho são semelhantes às obtidas por Mendrek, o valor de pKa utilizado neste trabalho teve como referência o valor de 4,7.

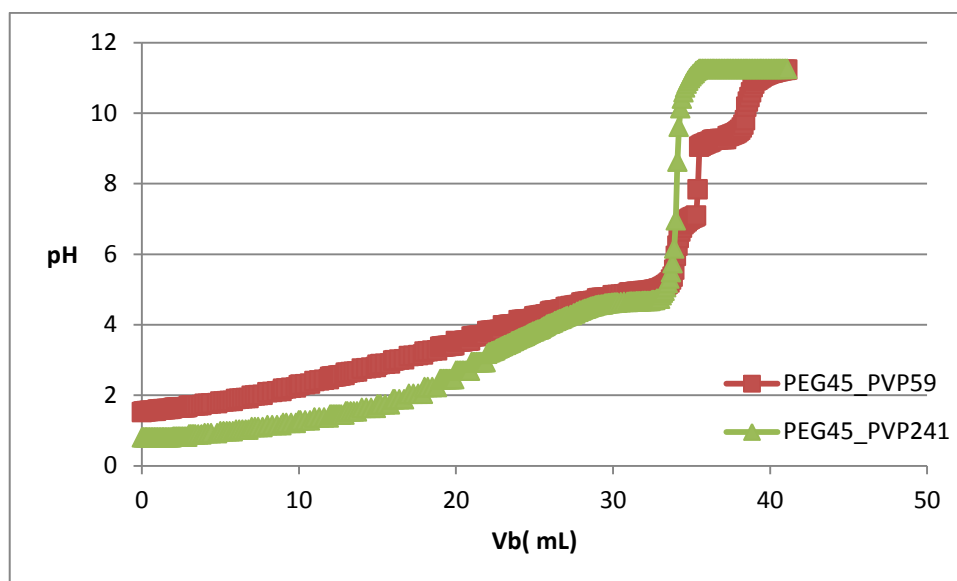


Figura 19 - Representação do pH em função do volume de base adicionada.

3.2. Estudos Reológicos

3.2.1. Influência do pH

Começou-se por estudar a opacidade e o comportamento reológico dos copolímeros quando sujeitos a variações do pH na solução. Este estudo teve como base testes rotacionais em função da tensão aplicada, a 25°C. Para o tratamento dos dados a seguir referidos, foi escolhida uma tensão de 10 Pa. Foram usadas soluções aquosas de copolímero a 0,2% (p/p) e 2% (p/p) a diferentes pH.

Pela observação das figuras 20 e 21, verifica-se que para valores de pH baixos, as soluções apresentam maior transparência. À medida que uma solução alcalina é adicionada, estas tornam-se mais opacas. Este fenômeno está associado a transições de fase, o que acontece quando parte da solução polimérica se torna hidrofóbica. A essa transição de fase está associada a formação de agregados que dispersam a luz, tornando a solução menos transparente. As soluções a 0,2% (p/p) apresentam maior transparência para valores de pH perto do valor de pKa comparativamente ao que acontece à solução a 2% (p/p). Verifica-se que para baixas concentrações a formação de grandes agregados ocorre a pH mais elevados do que a concentrações mais altas. Este comportamento pode ser explicado pela influência da adição de carga iônica quando são atingidos pHs mais altos. O

aumento da carga iónica poderá ter o efeito de destabilizar as estruturas formadas por *self-assembly*.

Os agregados resultantes do aumento do pH podem formar estruturas estáveis em solução, ou estruturas instáveis, levando à sua precipitação. Com o intuito de verificar a estabilidade dos agregados formados, as soluções foram submetidas ao mesmo processo de centrifugação. Com este tratamento, verificou-se a ocorrência de algum precipitado em algumas situações: no PEG₄₅-PVP₅₉ a pH 7,32 e 10,57 para 0,2% (p/p); no PEG₁₁₃-PVP₁₂₄ a pH 6,38 e 10,67 e, 4,43, 6,73 e 9,79 para 0,2% (p/p) e 2% (p/p), respectivamente e; no PEG₄₅-PVP₂₄₁ a pH 7,32 e 10,57 e, 4,50, 5,70 e 10,10 para 0,2% (p/p) e 2% (p/p), respectivamente. Porém, em alguns casos, uma fracção significativa da amostra pode continuar micelizada a estes valores de pH e concentrações. Por exemplo, no PEG₄₅-PVP₅₉ a 0,2% (p/p) não se verifica uma mudança na opacidade da solução apesar de se observar uma quantidade muito pequena de precipitado, mas quando a solução se encontra a 2% (p/p) e para pH 10,76, o copolímero precipita na sua totalidade resultando numa solução límpida. O mesmo fenómeno ocorre para PEG₁₁₃-PVP₁₂₄ a 0,2% (p/p) e PEG₄₅-PVP₂₄₁ a 0,2% e 2% (p/p), indicando que as estruturas formadas são instáveis em solução para pH mais próximos do valor de pKa da P4VP. Para os copolímeros de menor peso molecular, a concentrações baixas, observa-se que a quase totalidade da amostra mantém-se em suspensão, indicando que o *self-assembly* pode permitir a estabilização da amostra. A quantidade de precipitado formado pode ser por isso indicativa do grau de estabilidade das partículas formadas.

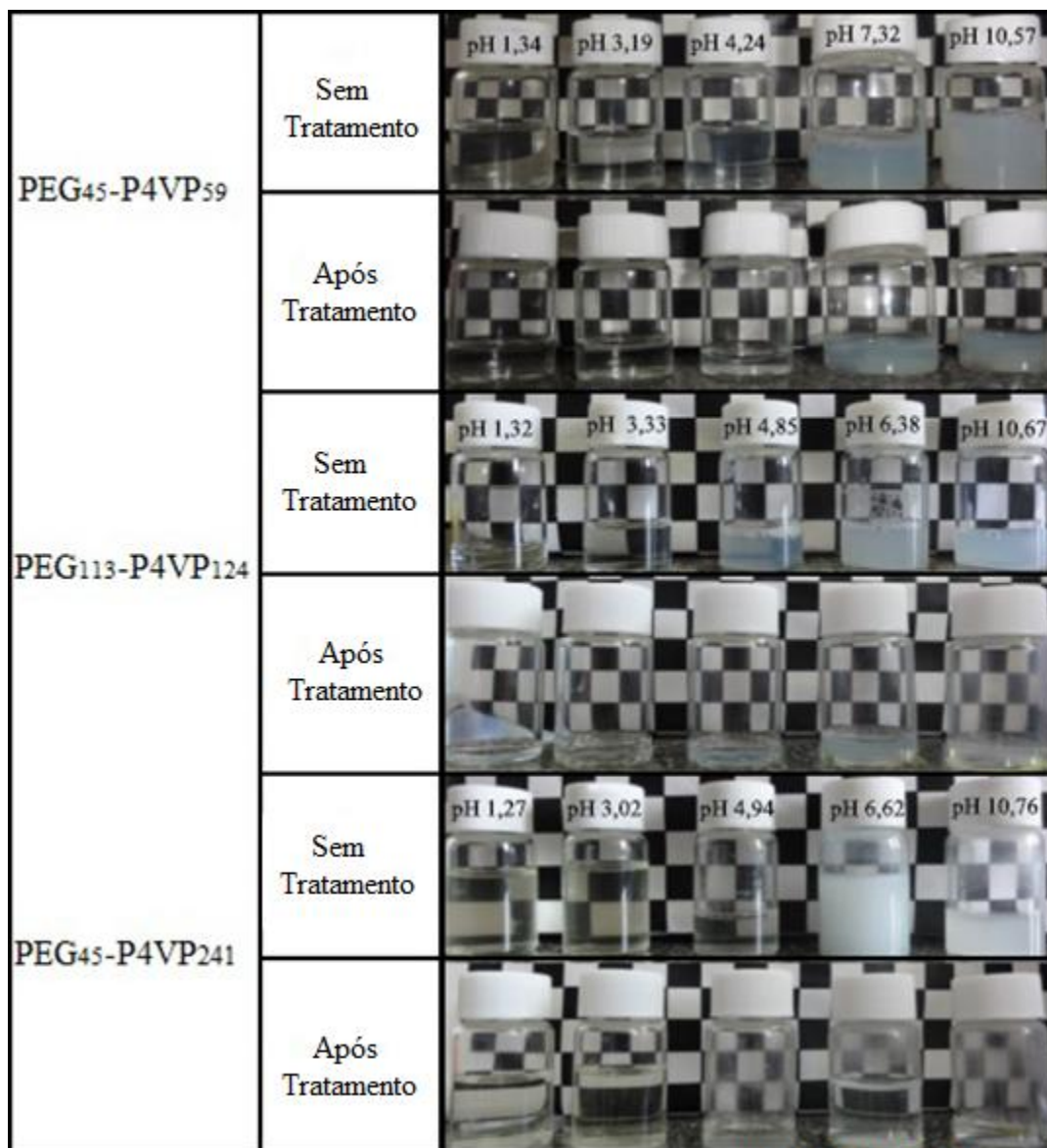


Figura 20 - Influência do pH na solução aquosa de PEGx-P₄VPy a 0,2% (p/p) a 25°C, sem e com tratamento centrífugo.

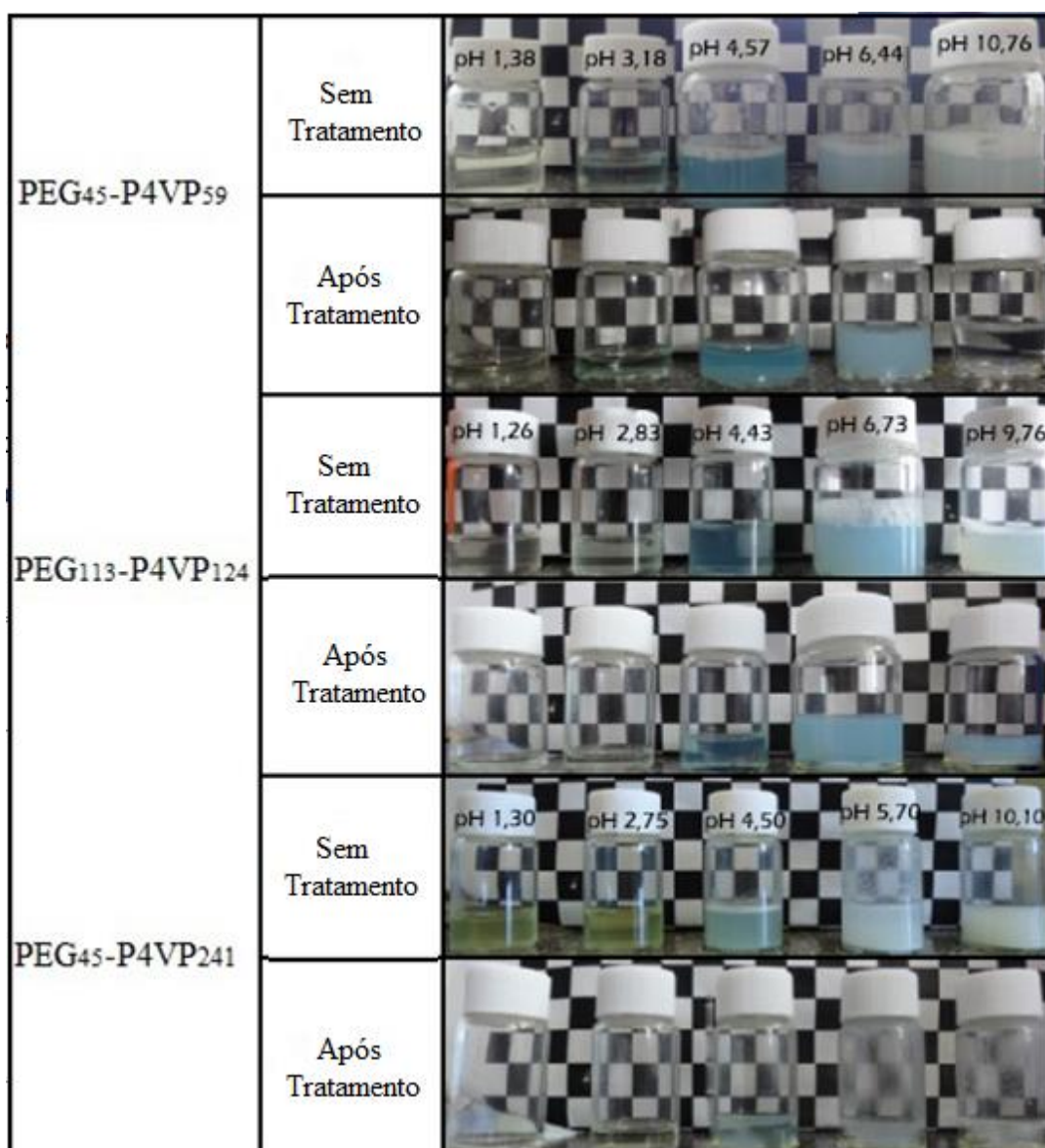


Figura 21 - Influência do pH na solução aquosa de PEGx-P4VPy a 2% (p/p) a 25°C, sem e com tratamento centrífugo.

Quando analisamos a viscosidade destas soluções, tanto para uma concentração de 0,2% (p/p) como para 2% (p/p), é possível distinguir três momentos: viscosidade inicial da solução, aumento da viscosidade da solução e, diminuição da viscosidade da solução. Para concentração de 0,2% (p/p), Figura 22, estes momentos não são tão perceptíveis como para concentração de 2% (p/p) (Figura 23). Os resultados podem ainda identificar que o valor da viscosidade é tanto maior quanto maior o peso molecular do copolímero.

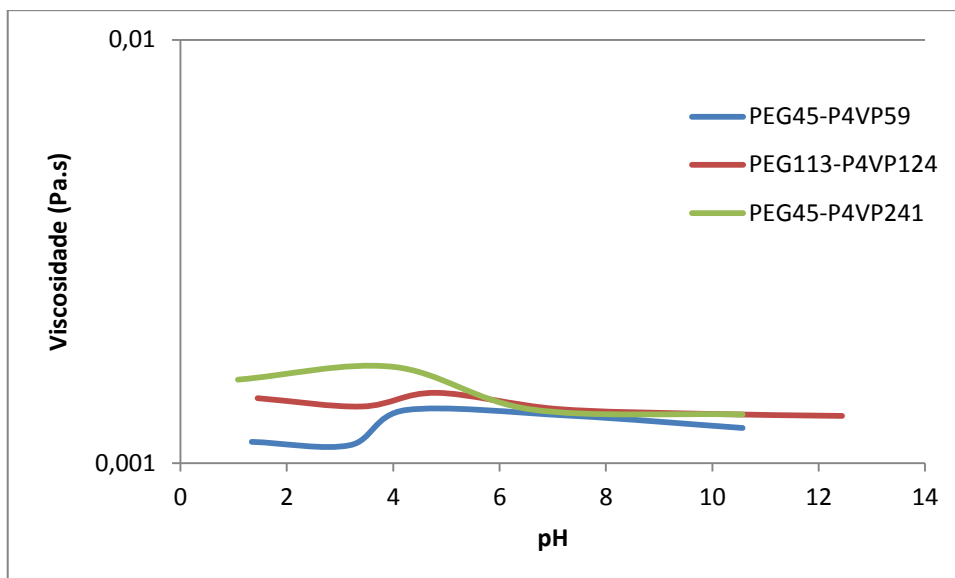


Figura 22 - Viscosidade da solução polimérica a 0,2% (p/p) em função do pH a 25°C e 10 Pa.

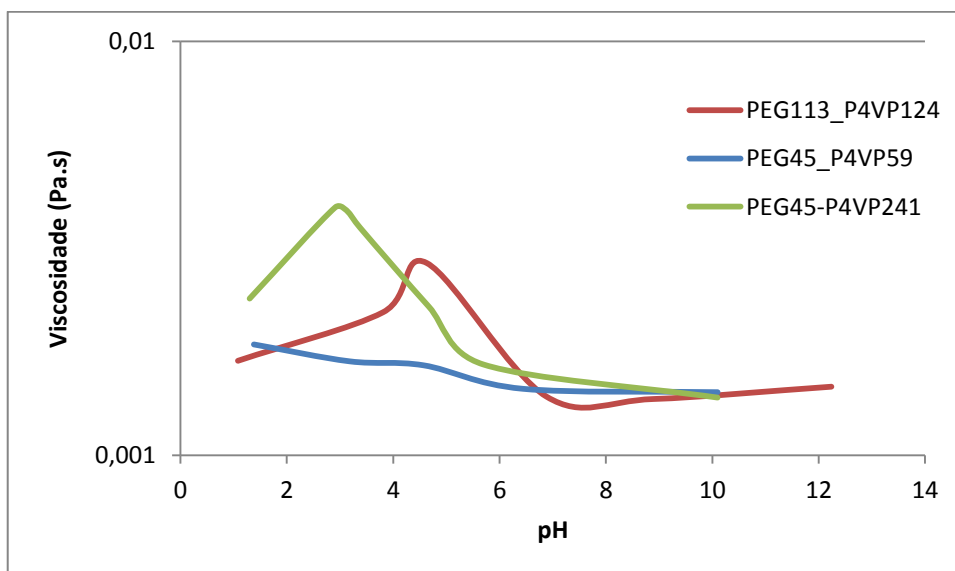


Figura 23 - Viscosidade da solução polimérica a 2% (p/p) em função do pH a 25°C e 10 Pa.

Para concentrações baixas, é visível que a viscosidade se mantém constante para valores de pH próximos de 3. Isto significa que não há alterações estruturais e que os copolímeros se mantêm lineares. A partir deste valor, é visível um ligeiro aumento na viscosidade das soluções o que pode indicar a formação de estruturas micelares. No copolímero de maior peso molecular a variação da viscosidade é ligeiramente maior que nos restantes copolímeros indicando que a formação das estruturas micelares apresenta maior instabilidade. Verifica-se que depois de ultrapassado este valor, para um pH próximo de 4, a viscosidade mantêm-se aproximadamente constante, indicando que não existe alteração da conformação da estrutura do copolímero, mantendo-se uma estrutura micelar.

Quando passamos para concentrações elevadas, a mudança de conformação já é mais instável, visível pela grande variação da viscosidade para valores próximos de 3. Depois de ultrapassado este valor verifica-se que os copolímeros de menor peso molecular conseguem manter constante a viscosidade à medida que o pH aumenta. Os copolímeros PEG₄₅-P4VP₅₉ e PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ têm a mesma razão PEG/P4VP mas apresentam comportamentos diferentes a concentrações altas. No entanto ambos os comportamentos revelam que a conformação resultante do aumento de pH, é estável, o que pode indicar a formação de estruturas diferentes mas estáveis. Isto leva a crer que o peso molecular dos copolímeros tem uma grande influência no seu comportamento e tipo de estruturas formadas.

A carga dos copolímeros carregados é modificada para valores perto do pKa da P4VP. A pH inferiores ao pKa, a P4VP encontra-se protonada promovendo interacções com água, dissolvendo-se. À medida que os valores de pH sobem, a P4VP muda de polaridade, resultando num aumento da viscosidade. Este aumento sugere que alguma modificação na estrutura do copolímero ocorreu: uma transição de uma estrutura linear para uma conformação micelar do copolímero de bloco. As interacções entre o copolímero e a água tornam-se mais evidentes, o que pode estar associado a um aumento da área da superfície polimérica, indicativo de estruturas esféricas.

Na comparação dos resultados obtidos da opacidade e do comportamento reológico, verifica-se uma concordância de observações. A pH baixos, a viscosidade da solução é maior, uma vez que as interacções copolímero – água são favoráveis permitindo a dissolução do polímero, o que se reflecte na transparência das soluções estudadas. À medida que o pH se aproxima do valor de 4, a viscosidade aumenta, associada à formação de estruturas. No copolímero de maior peso molecular, as variações de viscosidade são mais bruscas o que indica que o *self-assembly* não consegue estabilizar o copolímero o que se reflecte nos precipitados verificados nos resultados da centrifugação.

Na literatura o valor do pKa do homopolímero P4VP é 4,5. Para valores de pH superior ao pKa da P4VP, esta encontra-se hidrofóbica em solução. Segundo as figuras 22 e 23, a transição de fases (solúvel para dispersa), pode começar a ocorrer a valores inferiores de pH relativamente ao homopolímero. Este facto pode estar relacionado com o início da desprotonação da P4VP que vai gerando unidades de repetição hidrofóbica e que por isso levam a uma solubilidade inferior em água (início do processo de micelização)

Com o objectivo de perceber a influência da presença de PEG no copolímero de blocos na alteração do valor do pKa, recorreu-se à titulação apresentada anteriormente para

identificar o valor do pKa do copolímero. Os valores de pKa determinados estão de acordo com o comportamento reológico observado. Para o copolímero em estudo, o valor de pH a que a concentração de P4VP protonada é igual à concentração de P4VP desprotonada é em torno de 4,7. Isto pode ser explicado pelo facto do PEG conseguir uma estabilização da P4VP apesar de a P4VP passar para o estado hidrofóbico. A quantidade de PEG utilizada em cada segmento torna-se numa característica importante a analisar na estabilidade de possíveis estruturas formadas com a ocorrência de transição de fase.

Esta análise permite verificar a dependência da viscosidade do copolímero em relação variações no pH do meio envolvente: a viscosidade da solução polimérica aumenta para valores perto do pKa do copolímero e diminui assim que este valor é ultrapassado. Ao aumento de viscosidade pode estar associado um início de micelização.

3.2.2. Influência da Concentração

O comportamento da viscosidade anteriormente referido, depende igualmente da concentração do copolímero presente na solução. Nas figuras de 24 a 26 encontram-se representadas a influência da concentração na viscosidade dos copolímeros PEG₄₅-P4VP₅₉, PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ e PEG₄₅-P4VP₂₄₁, respectivamente, a um pH aproximadamente 3.

Verificam-se maiores valores de viscosidades para concentrações mais elevadas de polímero. Com o aumento da concentração de polímero na solução, o número de entidades que oferece resistência ao fluxo é maior, levando ao aumento da viscosidade.

Analisando os três copolímeros, verifica-se que a variação dos valores da viscosidade, não é a mesma entre os polímeros. A adição de grupos carregados de P4VP é diferente para os três copolímeros pelo que, o aumento da viscosidade verificada no copolímero PEG₄₅-P4VP₅₉ é menor do que nos restantes copolímeros. Quando comparado com o copolímero PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄, a menor viscosidade do PEG₄₅-P4VP₅₉ deverá ser consequência do seu mais baixo peso molecular, já que a concentração de grupos piridina é sensivelmente a mesma. Para o PEG₄₅-P4VP₂₄₁, a adição de grupos carregados ocorre em maior quantidade, levando a um aumento significativo da viscosidade. À medida que a concentração de polímero é maior, observa-se um aumento da opacidade da solução, bem como uma menor variação da viscosidade. Vimos que a opacidade, está relacionada com a formação de agregados. Uma vez que, o pH das soluções se encontra abaixo do valor do pKa, esta agregação da P4VP pode não ser esperada. No entanto, isto é verificado para concentrações iguais e superiores a 5% (p/p). Este fenómeno pode dever-se ao facto das

interacções entre o polímero e a água se encontrarem saturadas levando à instabilidade dos grupos carregados. Para concentrações muito elevadas, a componente das forças de atracção entre moléculas no aumento da viscosidade, torna-se mais evidente, com consequente agregação da instável P4VP e maior opacidade da solução. Uma vez que este copolímero, apresenta um bloco de P4VP muito maior que o bloco de PEG, este não é suficiente para a estabilizar a P4VP mesmo para valores de pH baixos.

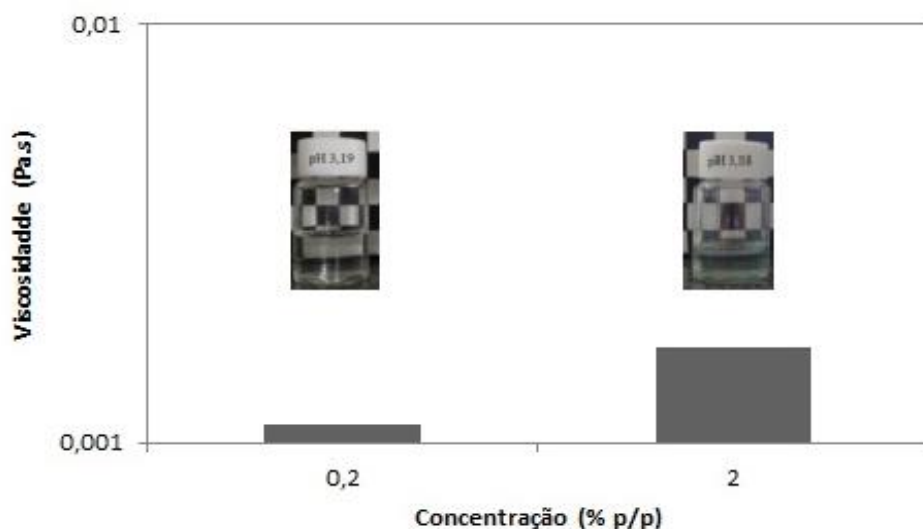


Figura 24 - Viscosidade da solução aquosa PEG₄₅-P4VP₅₉ em função da concentração a 25°C.

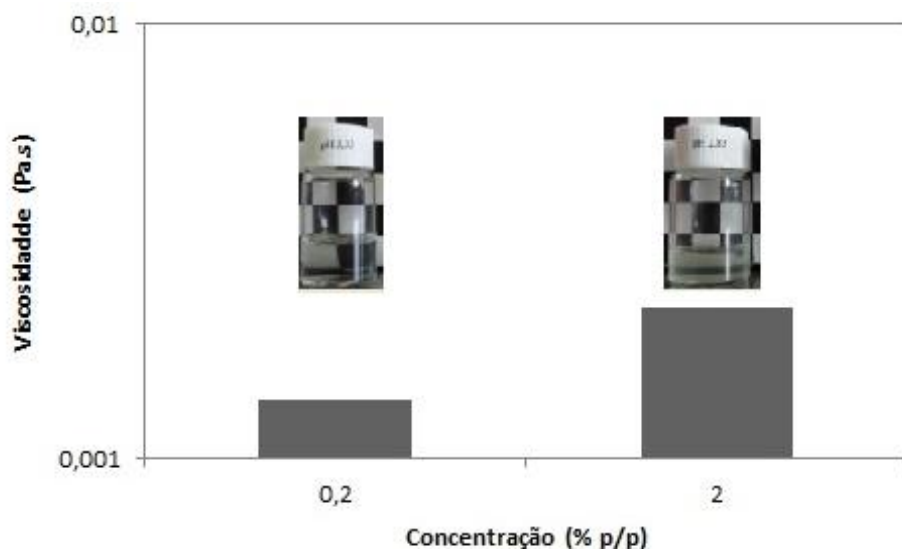


Figura 25 - Viscosidade da solução aquosa PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ em função da concentração a 25°C.

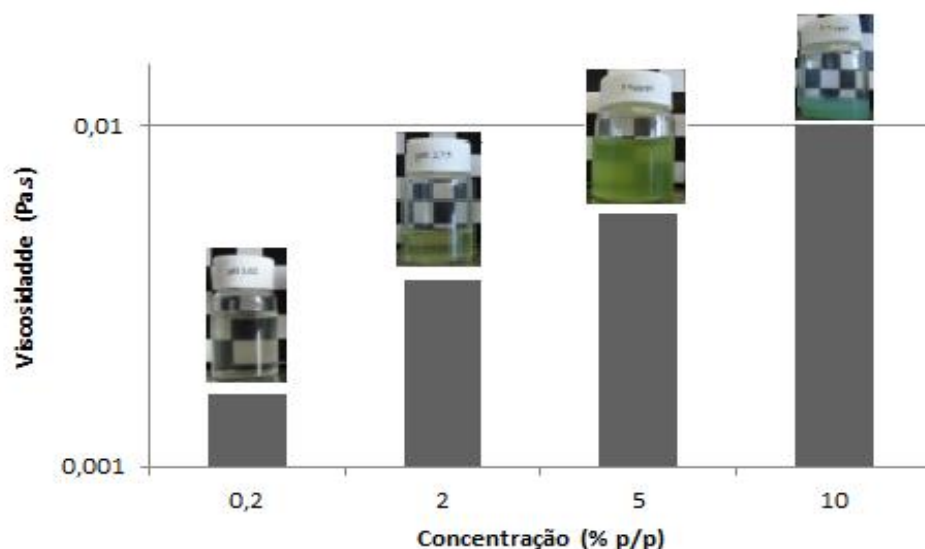


Figura 26 - Viscosidade da solução aquosa PEG₄₅-P4VP₂₄₁ em função da concentração a 25°C.

3.2.3. Influência da Força Iônica

Os estudos da influência da força iônica na viscosidade dos copolímeros foram realizados com dois tipos de sal: NaCl e MgCl₂, apenas para o copolímero PEG₄₅-P4VP₂₄₁ e apenas na zona onde este se apresenta estável (pH < 4).

Começou-se por estudar a influência do sal monovalente, na solução de PEG₄₅-P4VP₂₄₁ a pH 3,3 e a 25 °C. Pela Figura 27, nota-se uma diminuição da viscosidade do copolímero na presença de NaCl. O PEG torna-se desidratado na presença de sal, apresentando um comportamento menos hidrofílico. Para além disso, o sal na solução interage com as cargas da P4VP, reduzindo a repulsão electrostática entre as cargas e consequentemente a viscosidade. Com o PEG menos hidrofílico, a estabilidade conferida à P4VP anula-se, permitindo menos repulsão da P4VP, ocorrendo uma significativa diminuição da viscosidade. A redução da solvatação do PEG com o aumento da concentração da NaCl, permitirá explicar a tendência para o aumento da aglomeração com o aumento do pH.

No estudo com o sal divalente, usou-se a mesma solução de copolímero a um pH inferior, pH ácido (1,4), e a 25 °C (Figura 28). A este pH verifica-se um ligeiro aumento da viscosidade na presença de um sal divalente, contrariamente ao verificado anteriormente. É esperado que a viscosidade das soluções estudadas diminua com adição de sal tal como se verificou no estudo do sal monovalente. No entanto, nos resultados obtidos para o sal divalente isso não acontece o que leva a pensar que um outro fenómeno poderá estar a

compensar a diminuição da viscosidade provocada pela desidratação do PEG e da solvatação da P4VP. Segundo estudos ^{56,57}, estas diferenças comportamentais entre os dois tipos de sal, devem-se à capacidade dos cátions divalentes formarem pontes intermoleculares com substâncias não iônicas. Este pressuposto poderá explicar o ligeiro aumento da viscosidade provocado pela presença do $MgCl_2$.

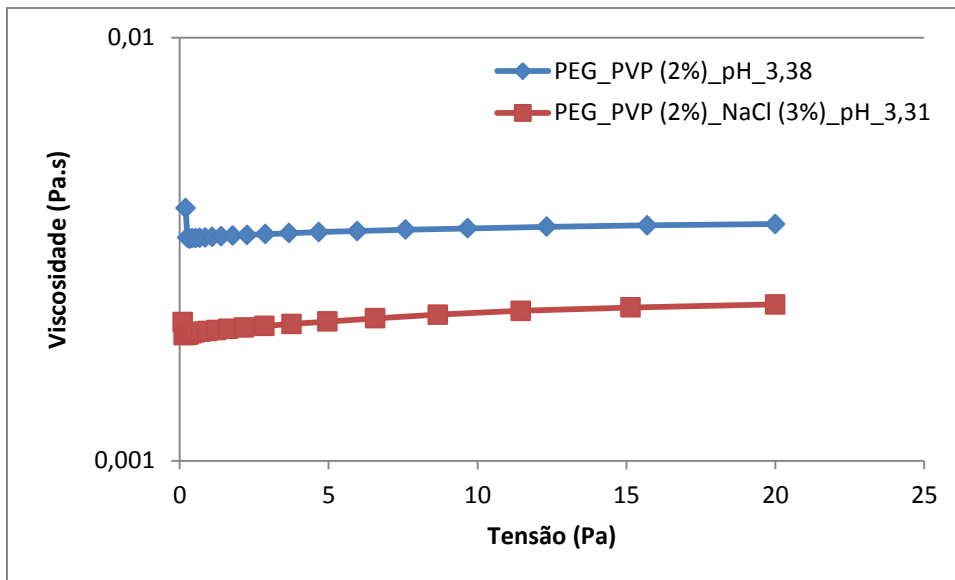


Figura 27 - Influência do sal monovalente na viscosidade da solução PEG_{45} - $P4VP_{241}$ a $25^{\circ}C$.

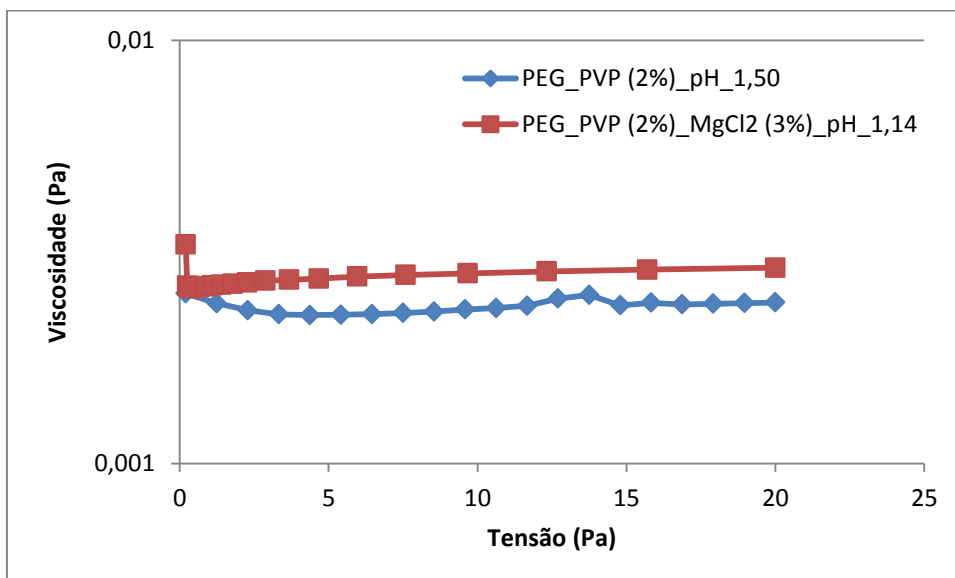


Figura 28 - Influência do sal divalente na viscosidade da solução PEG_{45} - $P4VP_{241}$ a $25^{\circ}C$.

3.3. Relação entre comportamento reológico e distribuição de tamanhos de partículas

Através de DLS é possível estudar as modificações estruturais dos copolímeros que, eventualmente, ocorreram em respostas às variações das condições ambientais em que se encontram inseridos. Para este estudo recorreu-se 0,2% (p/p) de solução de cada copolímero. Neste estudo todas as soluções testadas foram filtradas previamente. Os resultados serão apresentados em duas formas: para pH inferiores a 4 os dados serão apresentados em função do volume e; para pH superiores a 4 os dados serão apresentados em função da intensidade, já que são os que melhor representam o tamanho real da partícula ^{42,43}. Na tabela seguinte encontram-se resumidas os valores estimados do diâmetro hidrodinâmico das partículas representadas nas figuras 29 a 34.

Tabela 2 - Distribuição de tamanhos obtidos para os copolímeros em estudo

Copolímero	Concentração (% (p/p))	d (nm)	d (nm)	d (nm)	d (nm)	d (nm)
		pH ≈ 1	pH ≈ 3	pH ≈ 4	pH ≈ 6	pH ≈ 10
PEG ₄₅ -P4VP ₅₉	0,2	9,522	9,166	49,45	144,9	168,7
PEG ₁₁₃ -P4VP ₁₂₄	0,2	14,57	12,10	50,69	100,2	160,4
PEG ₄₅ -P4VP ₂₄₁	0,2	8,791	487,2	279,2	276,2	259,1

Sabe-se que a pH baixos os copolímeros apresentam uma estrutura rígida devido às repulsões das cargas positivas. À medida que aumentamos o pH, a P4VP torna-se desprotonada, e portanto mais insolúvel, resultando em estruturas micelares estáveis ou aglomerados, dependendo do grau de ionização.

Analisando os resultados obtidos para a distribuição de tamanho de partículas, verificamos que no primeiro copolímero (Figura 29 e 30), a variação do diâmetro hidrodinâmico não é significativa o que resulta numa viscosidade constante para valores de pH baixos, tal como a verificada. Este aumento, pode estar relacionado com a pouca sensibilidade do equipamento, uma vez que para este valor o copolímero mantém-se dissolvido na solução. Quando é ultrapassado o valor de pKa para os copolímeros (~4), são formadas estruturas de maiores dimensões e diversas dimensões o que sugere que o grau de polaridade da P4VP é muito baixo, resultando em aglomerados na ordem dos 100 nm de diâmetro hidrodinâmico.

O mesmo estudo foi realizado para os copolímeros de maior peso molecular. É visível que para o copolímero com a mesma percentagem de carga que o anterior, a gama de diâmetros das estruturas formadas é sensivelmente a mesma. Na verificação da existência de precipitado após centrifugação, na solução de PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄, (Figura 31 e 32) a pH por volta de 4, eram visíveis flocos de polímero que se mantinham suspensos na solução e não precipitavam. Este fenómeno pode indicar a formação de aglomerados de maiores dimensões. Isto é suportado pelos estudos reológicos, onde se observa um aumento da viscosidade para valores de pH próximos de 4, sugerindo que houve uma mudança conformacional das cadeias. Como referido, esta mudança pode estar associada à formação de micelas.

O PEG₄₅-P4VP₂₄₁, (Figura 33 e 34) apresenta estruturas de maiores dimensões quando o pH é elevado. Para além do tamanho deste copolímero ser maior, o tamanho do segmento hidrofílico existente na cadeia polimérica também não é suficiente para colmatar a instabilidade provocada pelo enorme segmento hidrofóbico da P4VP, dando origem a aglomerados de elevadas dimensões. Assim sendo, apesar de ser medidos tamanhos de partículas perto de 200nm, é de esperar que esses correspondam a esta dos intermédios instáveis. O valor de partícula obtido pelo equipamento para pH perto de 4, não corresponde ao valor real, consequência de uma muito baixa estabilidade do copolímero, não está nem na forma de unímero nem de micela.

O comportamento reológico observado indica uma mudança conformacional para valores de pH perto de 4, o que corresponde ao valor próximo de pKa calculado para os copolímeros. Isto é suportado pelo estudo DLS apresentado. Comparando entre os três copolímeros estudados, verifica-se que os dois copolímeros com menor peso molecular, apresentam estruturas mais estáveis.

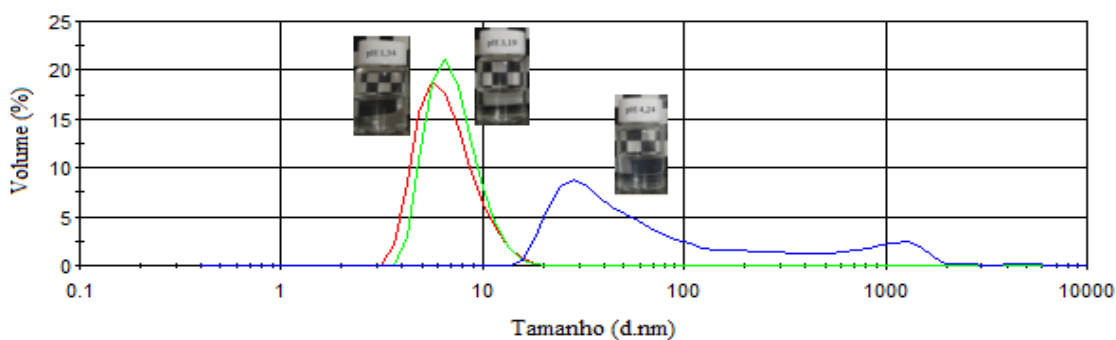


Figura 29 - Distribuição de tamanhos do PEG₄₅-P4VP₅₉ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.

– pH 1,34 – pH 3,19 – pH 4,24.

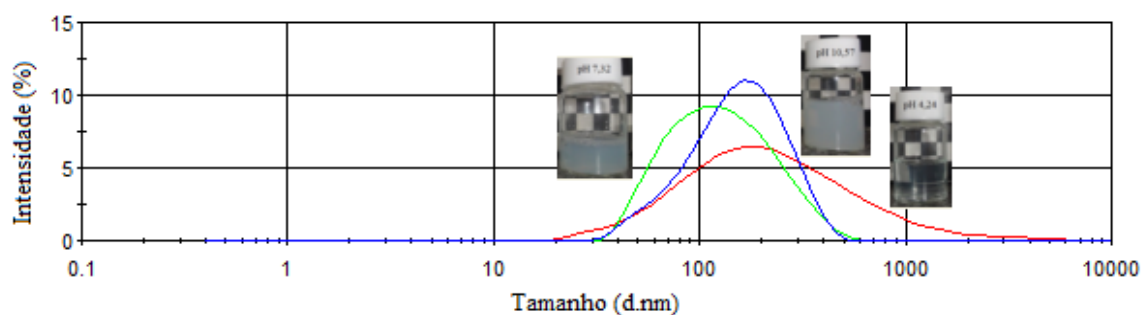


Figura 30 - Distribuição de tamanhos do PEG₄₅-P4VP₅₉ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.

– pH 4,24 – pH 7,32 – pH 10,57.

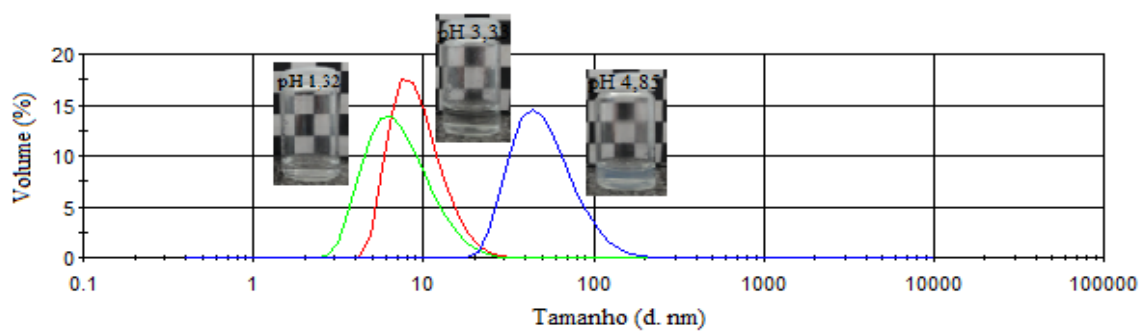


Figura 31 - Distribuição de tamanhos do PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.

– pH 1,32 – pH 3,30 – pH 4,83.

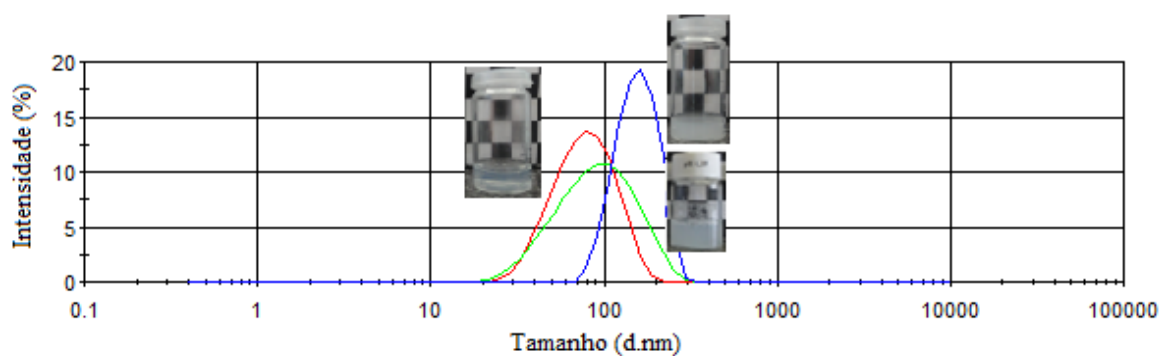


Figura 32 - Distribuição de tamanhos do PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.

– pH 4,83 – pH 6,35 – pH 10,67.

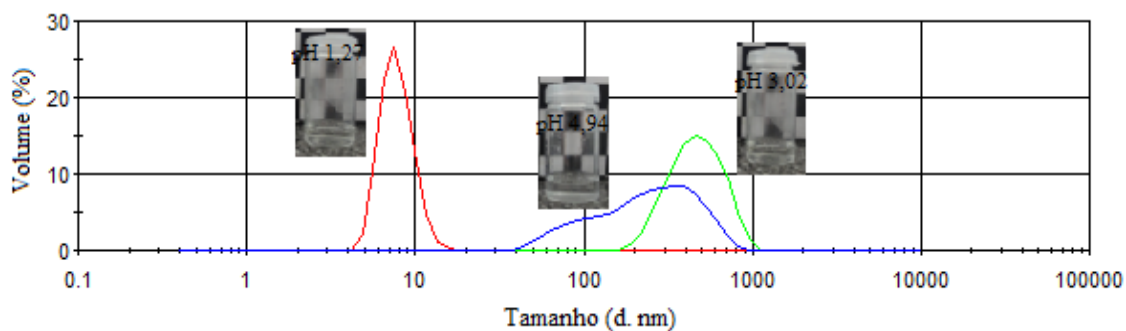


Figura 33 - Distribuição de tamanhos do PEG₄₅-P4VP₂₄₁ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.
 - pH 1,27 - pH 3,02 - pH 4,94.

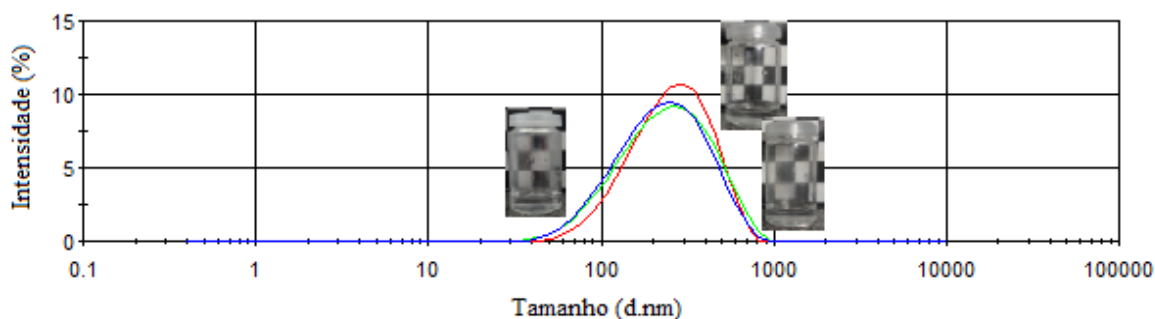


Figura 34 - Distribuição de tamanhos do PEG₄₅-P4VP₂₄₁ a 0,2 % (p/p) a diferentes pH.
 - pH 4,94 - pH 6,62 - pH 10,76.

3.4. Estudos Viscoelásticos

Os estudos oscilatórios têm por base a medição do módulo elástico (G') e do módulo viscoso (G'') de uma solução. Permitem estudar a estrutura do material quando sujeito a uma deformação e verificar o tipo de comportamento obtido. Quando G'' superior a G' , a solução tem um comportamento de um líquido e, quando G' é superior a G'' , a solução apresenta um comportamento de um gel. Para este estudo recorreu-se às soluções a 0,2% (p/p) e 2% (p/p) dos três copolímeros estudados, durante a mudança estrutural observada (pH entre 1 e 3,5).

Analisando a figura 35 verifica-se que as soluções apresentam G'' superior a G' independentemente do copolímero utilizado. Quando olhamos para os valores obtidos a diferentes valores de pH, os módulos viscosos mantêm-se aproximadamente semelhantes quando o pH é alterado, indicando que a tensão e a frequência de oscilação a que os

copolímeros são submetidos não alteram o seu comportamento. A mesma análise foi realizada para os restantes copolímeros (Anexo C). Posto isto, os copolímeros apresentam propriedades de um líquido. Este comportamento é explicado pela sua solubilidade nesta gama de pHs, encontrando-se na forma de unímeros.

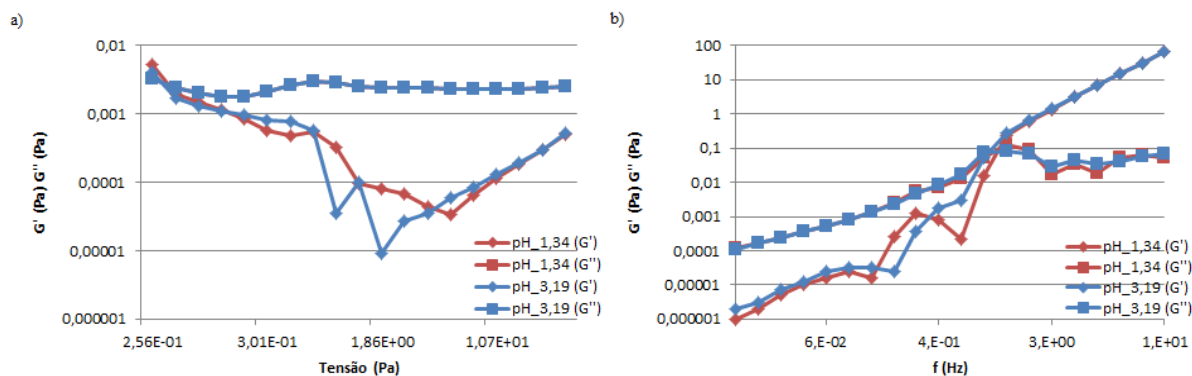


Figura 35 – Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 0,2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₅₉.

3.5.Determinação da Morfologia do Tipo de Estruturas Formadas

O *self-assembly* de copolímeros de blocos pode resultar em estruturas micelares com diversas formas. Sabe-se que para polímeros com comportamento semelhante a fluídos Newtonianos, a viscosidade mantém-se constante para qualquer tensão de cisalhamento aplicada. Quando a viscosidade, representada pelo declive da figura 36, não é constante, estamos perante fluídos com comportamento não Newtoniano. Este tipo de comportamento é muitas vezes utilizado para indicar o tipo de estruturação dos materiais poliméricos em solução: estruturas micelares esféricas são formadas quando o fluído apresenta propriedades Newtonianas; estruturas micelares não esféricas para fluidos com propriedades não Newtonianas.

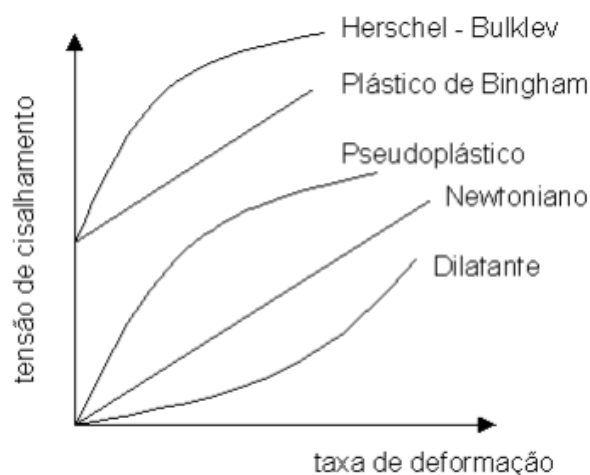


Figura 36 - Caracterização dos fluidos em função da τ e $\dot{\gamma}$.

Antes de proceder à análise da estrutura micelar formada é necessário ter em conta que a pH baixos o copolímero se encontra na sua forma distendida. A mudança conformacional dos copolímeros em resposta à mudança do pH, foi verificada para valores de pH próximos de 4, pelo que a análise vai incidir na observação do comportamento do fluido para esta gama de valores.

Começando a análise da estrutura do copolímero em solução pelo polímero de menor massa molecular, PEG₄₅-P4VP₅₉, verificamos que, segundo a Figura 37, para valores de pH próximos 4, a viscosidade tem um comportamento constante, o que indica que a estrutura formada *self-assembly* potencialmente uma estrutura esférica. A pH superiores, verifica-se que a viscosidade apresenta algumas oscilações ainda que dentro da mesma ordem de grandeza de valores de viscosidade, pelo que, podemos dizer que são formadas estruturas esféricas estáveis. Estes resultados parecem indicar que para valores próximos do pKa da P4VP (altura em que a P4VP se encontra parcialmente protonada) o tipo de interações existentes entre as cadeias levará a que se criem uma estruturação transitória não esférica. Este tipo de nanoestruturação parece ser potenciada para concentrações mais altas. À medida que o pH aumenta, o comportamento do copolímero assemelha-se ao de um fluido Newtoniano, o que nos permite aferir uma estrutura esférica. A análise do tipo de estrutura dos restantes copolímeros foi realizada do mesmo modo, sendo que a sua representação gráfica do perfil de viscosidade em função da tensão de corte pode ser encontrada no Anexo D. Verifica-se que para todos os copolímeros, na gama de valores de pH próximos do pKa da P4VP, o copolímero apresenta um comportamento não Newtoniano. Este comportamento poderá ser explicado pela instabilidade das

estruturas formadas por *self-assembly*, já que a P4VP encontra-se apenas parcialmente protonada.

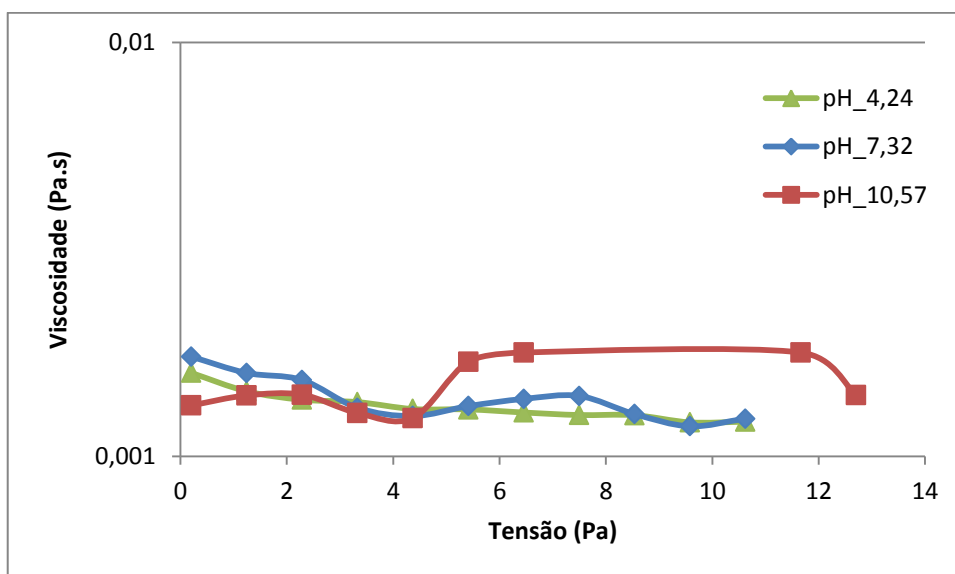


Figura 37 - Viscosidade em função da tensão para 0,2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₅₉.

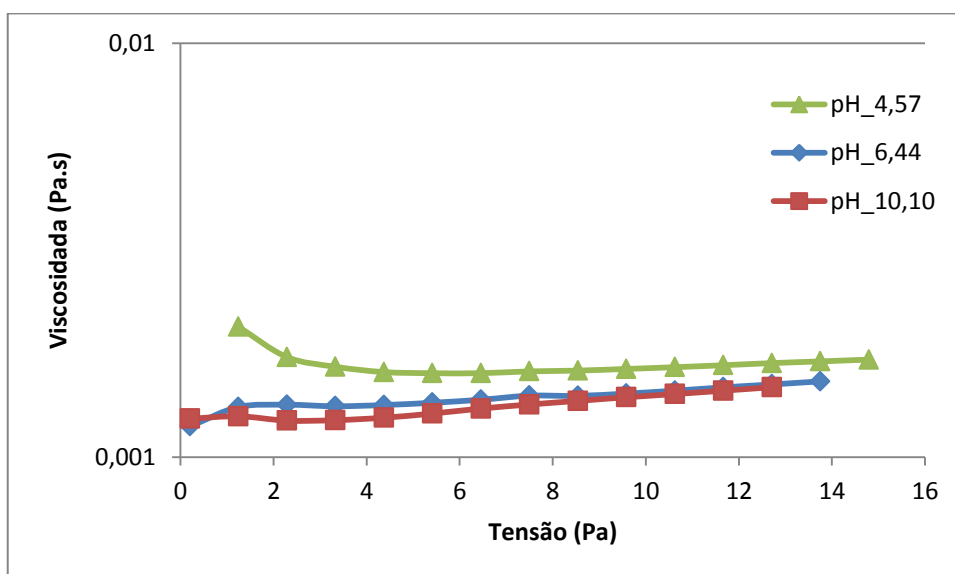


Figura 38 - Viscosidade em função da tensão para 2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₅₉.

Na Tabela 3 encontra-se em resumo as estruturas formadas para cada copolímero com base na mesma análise efectuada para o primeiro copolímero. Verifica-se que para valores de pH perto do valor do pKa da P4VP são formadas estruturas não esféricas associadas à instabilidade da zona de transição estrutural. No entanto, quando o peso molecular e a concentração são baixas é possível obter estruturas micelares esféricas. O

copolímero com maior segmento de P4VP não consegue formar estruturas esféricas, formando aglomerados, devido à elevada instabilidade da componente hidrofóbica. Estas observações são corroboradas pelos resultados reológicos obtidos. A pH perto de 4 existe uma variação de viscosidade associada à transição de fase, onde se observa uma menor estabilidade dos copolímeros resultando em estruturas não esféricas. Quando este valor de pH é ultrapassado, a transição de fase termina, passando de uma estrutura linear para uma estrutura micelar esférica, correspondendo à viscosidade constante verificada para estes valores de pH.

Tabela 3 – Estruturas estimadas para os copolímeros em estudo

Copolímero	Concentração (% (p/p))	Estrutura pH \approx 4	Estrutura pH \approx 6	Estrutura pH \approx 10
PEG₄₅-P4VP₅₉	0,2	Esférica	Esférica	Esférica
	2	Não Esférica	Esférica	Esférica
PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄	0,2	Não Esférica	Esférica	Esférica
	2	Não Esférica	Esférica	Esférica
PEG₄₅-P4VP₂₄₁	0,2	Não Esférica	Aglomerado	Aglomerado
	2	Não Esférica	Aglomerado	Aglomerado

Capítulo 3

4. Conclusão

Este projecto abordou o estudo de polímeros inteligentes que respondem a variações de pH no meio em que se encontram inseridos. Com perspectiva de melhor entender as mudanças físicas e químicas que estes polímeros apresentam, pretendeu-se relacionar o comportamento reológico com as estruturas formadas pelo polímero.

Para este estudo recorreu-se a um copolímero de dois blocos formado por um segmento hidrofílico e um segmento que responde a estímulos externos. A P4VP é um polielectrólito que responde a variações de pH através da mudança da sua hidrofobicidade. É conhecido que a P4VP apresenta um pKa por volta de valores de 4,5 e, quando este valor é ultrapassado, torna-se hidrofóbica, precipitando. Quando combinada com um segmento hidrofílico, tal como o PEG, num copolímero de bloco, pode dar origem a um copolímero anfifílico (acima do seu pKa), e solúvel a pH ácido. Para avaliar o comportamento destes copolímeros em soluções aquosas, foram preparados copolímeros de bloco PEG-P4VP, com diferentes razões de comprimento de segmentos e diferentes massas moleculares. Este tipo de resposta da P4VP foi verificada através de estudos de dispersão de luz e de reologia. Estes parâmetros moleculares foram relacionados com o tipo de estruturas formadas por *self-assembly* e o seu desempenho reológico.

Verificou-se que estes copolímeros apresentam diferentes comportamentos reológicos para diferentes valores de pH. A pH inferiores ao seu pKa, a P4VP encontra-se na sua forma totalmente protonada e as interações entre o polímero e a água são favoráveis, conferindo viscosidade à solução aquosa. Para esta gama de valores de pH, o copolímero apresenta propriedades hidrofílicas tendo uma estrutura linear. Para valores próximos do pKa da P4VP, a viscosidade da solução aumenta indicando um aumento das interações polímero – polímero, criado pela contracção da P4VP, devido à sua progressiva desprotonação. O PEG direcciona a P4VP a formar nano ambientes hidrofóbicos para se manter estabilizada em solução. Aqui, o PEG apresenta um papel importante na formação de nanoestruturas micelares, comprovadas pelos estudos DLS. Para valores superiores ao

pKa da P4VP, a P4VP torna-se cada vez mais hidrofóbica, e a presença do PEG deixa de ter influência, podendo resultar em precipitados de copolímero, dependendo da composição e massa molecular. É possível concluir que estes copolímeros conseguem mudar a conformação da sua estrutura e conseqüente comportamento reológico.

Através dos estudos de determinação de tamanho de partícula e de reologia permitiram identificar que nanoestruturas micelares estáveis são favorecidas quando são utilizados copolímeros de bloco com maiores razões molares PEG/P4VP e para pesos moleculares menores. O adequado equilíbrio entre as cargas positivas de P4VP e o comprimento de PEG é muito importante no *self-assembly* das estruturas e na sua estabilização em solução. Sendo estes os principais factores que afectam a relação estudada, a concentração de copolímero e a presença de sais na solução deve também ser tido em conta, pois permite formar estruturas micelares diferentes.

Foi possível que através do ajuste da composição e do peso molecular do copolímero podem ser obtidas estruturas diferentes, desde estruturas com alto grau de instabilidade, caso não exista um correcto balanço entre os segmentos hidrofílicos e hidrofóbicos, estruturas de transição não esféricas, mas estáveis, que podem ocorrer para diferentes graus de ionização da P4VP, estruturas micelares de diferentes dimensões e estáveis numa vasta gama de pH.

5. Perspectivas Futuras

Numa perspectiva de utilização destes materiais em aplicações convencionais, tal como a aplicação em formulações de revestimento e tintas, deverá ser explorado o comportamentos dos copolímeros a diferentes gamas de valores de pH, com especial foco em pHs mais alcalinos (8-10). A capacidade de se nano-estruturarem por *self-assembly* nessa gama de pH, quando sozinhos ou na presença de outros componentes da formulação, deverá ser relacionada com a sua estrutura molecular (peso molecular, composições e arquitectura) e com as condições do meio envolvente (pH, temperatura, sais, concentração, composição). Adicionalmente, tendo-se verificado que a presença de um segmento hidrofílico pode influenciar parâmetros físicos da P4VP, tal como o seu valor de pKa, deverá ser explorada a influência do componente hidrofílico neste tipo de parâmetros e relacionada com o tipo de estruturação em meio aquoso.

6. Bibliografia

1. Chujo, Y., Organic – Inorganic nano – hybrid materials. Kona, 2005;
2. Fahmi, A.; Pletsch, T.; Mendoza, C.; Cheval, N., Functional hybrid materials. Materials Today, volume 12;
3. Rudin, A., The elements of polymer science and engineering. Academic Press., 1999, Oxford;
4. Elaissar, A., Colloidal polymers: synthesis and characteristics. Dekker Inc., 2003;
5. Misra, G. S., Introductory polymer chemistry. New Age International (P), ltd., 2005, Índia;
6. Mendes, J. S. M. P., Síntese de hidrogéis de base acrílica recorrendo a técnicas de polimerização radicalar viva. Potencial aplicação como fármacos poliméricos. Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2011;
7. Matyjaszewski, K., Controlled/Living radical polymerization: progresso in ATRP. American Chemical Society, 2009, USA;
8. Rocha, N.; Mendonça, P.; Góis, J. R.; Cordeiro, R.; Fonseca, A.; Ferreira, P.; Guliashvili, T.; Matyjaszewski, K.; Serra, A.; Coelho, J., The importance of controlled/living radical polymerization: techniques in the design of tailor made nanoparticles for drug delivery systems, 2013;
9. Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, M., Controlled/living radical polymerization: features, developments, and perspectives. Progress in Polymer Science, 2007, 93-146;
10. Lynd, N. A.; Meuler, A. J.; Hillmyer, M. A., Polydispersity and block copolymer self-assembly. Progress in Polymer Science, 2008, 875-893;
11. Holmberg, K.; Jonsson, B.; Kranberg, B.; Lindman, B., Surfactants and polymers in Aqueous solution. John Wiley & Sons, Ltd, 2002;
12. Ikkala, O.; Ruskolainen, J.; Torkkeli, M.; Tanner, J.; Serimaa, R.; ten Brinke, G., Ordering in Self-Organizing Comb Copolymer-Like Systems Obtained by Hydrogen Bonding Between Charged or Noncharged Polymers and Amphiphiles. Colloids and Surfaces, 1999, 241-248;
13. Riess, G., Micellization of block copolymers. Progress in Polymer Science, 2003, 1107-1170;

14. Li, G.; Song, S.; Guo, L.; Ma, S., Self-Assembly of Thermo- and pH-Responsive Poly(acrylic acid)-b-Poly(N-isopropylacrylamide) Micelles for Drug Delivery. Wiley InterScience, 2008;
15. Alexandridis, P., Amphiphilic Copolymers and their Applications. Colloid & Interface Science, 1996, 490-501;
16. Po, H. N.; Senozan, N. M., The Henderson-Hasselbalch Equation: Its History and Limitations. Journal Chemistry Education, 2003;
17. Bettelheim, F. A.; Brown, W. H.; Campbell, M. K.; Farrel, S. O., Introduction to General, Organic, and Biochemistry. Brooks/Cole Cengage Learning, 2010, USA;
18. Duarte, C. M. G., Caracterização Químico – Física de Novos Polímeros Estabilizantes para Formulações da Indústria de Cosméticos. Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2011;
19. Borukhov, I.; Andelman, D.; Borrega, R.; Cloitre, M.; Leibler, L.; Orland, H., Polyelectrolyte Titration: Theory and Experiment. J. Phys. Chem. B, 2000, 11027-11034;
20. Kumar, A., Smart Polymers: Physical Forms and Bioengineering Applications. Progress in Polymer Science, 2007, 1205-1237;
21. Schmaljohann, D., Thermo- and pH- Responsive Polymers in Drug Delivery. Advanced Drug Delivery Reviews, 2006, 1655-1670;
22. Wei, H.; Zhang, X.; Cheng, H.; Cheng, S.; Zhuo, R., Self-Assembly Thermo- and pH-Responsive Micelles of Poly(10-undecenoic acid-b-N-isopropylacrylamine) for Drug Delivery. Journal of Controlled Release, 2006, 266-274;
23. Almeida, H.; Amaral, M. A.; Lobão, P., Temperature and pH Stimuli-Responsive Polymers and their Applications in Controlled and Self-Regulated Drug Delivery. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2012, 01-10;
24. Sui, K.; Zhao, X.; Wu, Z.; Xia, Y.; Liang, H.; Li, Y., Synthesis, Rapid Responsive Thickening, and Self-Assembly of Brush Copolymer Poly(ethylene oxide)-graft-Poly(N,N-dimethylaminoethylmethacrylate) in Aqueous Solutions. Langmuir, 2012, 153-160;
25. Plamper, F. A.; Schmalz, A.; Ballauff, M.; Müller, A. H. E., Tuning the Thermoresponsiveness of Weak Polyelectrolytes by pH and Light: Lower and Upper Critical-Solution Temperature of Poly(N,N-dimethylaminoethyl methacrylate). J. Am. Chem. Soc., 2007, 14538-14539;

26. Zhang, S.; Zhang, L.; He, B.; Wu, Z., Preparation and Characterization of thermosensitive PNIPAA-coated Iron Oxide Nanoparticles. *Nanotechnology*, 2008;
27. Loos, W.; du Prez, F., The Sol-Gel Approach Towards Thermo-Responsive Poly(N-isopropyl acrylamide) Hydrogels with Improved Mechanical Properties. *Macromol. Symp.*, 2004, 483-491;
28. Antunes, F. E.; Gentile, L.; Tavano, L.; Rossi, C. O., Rheological Characterization of the Thermal Gelation of Poly(N-Isopropylacrylamide) and Poly(N-Isopropylacrylamide) Co-Acrylic Acid. *Appl. Rheol.*, 2009;
29. Silva, S. M. C.; Antunes, F. E.; Miguel, M. G.; Sousa, J. J.S.; Pais, A. A. C. C., Aggregation and Gelation in Hydroxypropylmethyl Cellulose Aqueous Solution. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 333-340;
30. Das, R.; Pal, S., Hydroxypropyl methyl cellulose Graft with Polyacrylamide: Application in Controlled Release of 5-amino salicylic acid. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, 2013, 236-241;
31. Tiwari, A.; Kobayoshi, H.; Turner, A. P. F., *Intelligent Nanomaterials*. Scrivener Publishing LLC, 2012;
32. Zhao, L.; Ma, R., An, Y.; Shi, L., J- and H- Aggregates of 5,10,15,20-Tetrakis-(4sulfonatophenyl)-porphyrin and Interconversion in PEG_P4VP Micelles. *Biomacromolecules*, 2008, 2601-2608;
33. Antunes, F. E.; Alves, L.; Duarte, C.; Lindman, B.; Klotz, B.; Bottcher, A.; Kaake, H., Ionization by pH and Anionic Surfactant Binding Gives the Same Thickening Effects of Crosslinked Polyarylic Acid Derivatives. *Journal of Dispersion Science and Tecnology*, 2012, 1368-1372;
34. Aizawa, M., Buriak, J. M., Block Copolymer Templated Chemistry for the Formation of Metallic Nanoparticle Arrays on Semiconductor Surfaces. *Chemical Material*, 2007, 5090-5101;
35. Kang, N., Kang, B., Koh, H., Changez, M., Lee, J., Block Copolymers Containing Pyridine Moieties: Precise Synthesis and Applications. *Reactive and Functional Polymers*, 2009, 470-479;
36. Ren, Y.; Jiang, X.; Yin, J., Copolymer of Poly(4-vinylpyridine)-g-Poly(ethylene oxide) Respond Sharply to Temperature, pH and Ionic Strength. *European Polymer Journal*, 2008, 4108-4114;

37. Ciampolini, M.; Nardi, N., Five-Coordinated High-Spin Complexes of Bivalent Cobalt, Nickel, and Copper with Tris(2-dimethylaminoethyl)amine. *Inorganic Chemistry*, 1996, 41-44;
38. Jankova, K.; Chen, X. Y., Kops, J., Batsberg, W., Synthesis of Amphiphilic PS-b-PEG-b-PS by Atom Transfer Radical Polymerization. *Macromolecules*, 1998, 538-541;
39. Vidts, K. R. M.; du Prez, F. E., Design of Water-Soluble Block Copolymers Containing Poly(4-vinylpyridine) by Atom Transfer Radical Polymerization. *European Polymer Journal*, 2006, 43-50;
40. Khan, A. U.; Mahmood, N.; Bazmi, A. A., Direct Comparison Between Rotational and Extrusion Rheometers. *Materials Research*, 2009, 477-481;
41. Barnes, H. A.; Hutton, J. K.; Walters, K., *An Introduction to Rheology*. Elsevier B. V., 1989;
42. Malvern Dynamic Light Scattering, 2013. Obtido em 4 de Junho de 2013 em www.malvern.com;
43. Malvern Instruments Ltd, *Malvern Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes*, 2013;
44. Costa, M. C., *Caracterização de Polímeros Inteligentes para Aplicações Biomédicas*. Tese de Mestrado, Universidade de Coimbra, 2011;
45. Sartor, M. *Dynamic Light Scattering to Determine the Radius of Small Beads in Brownian Motion in a Solution*. University of California, San Diego;
46. Wright, M. R., *An Introduction to Aqueous Electrolyte Solutions*. John Wiley & Sons Ltd, 2007, England;
47. Mendrek, S., Mendrek, A., Adler, H., Dworak, A., Kuckling, D., *Synthesis and Characterization of pH Sensitive Poly(glycidol)-b-poly(4-vinylpyridine) Block Copolymers*. Wiley InterScience, 2009;
48. Biolin Scientific, 2009. Obtido em 24 de Junho de 2013 em www.attension.com;
49. Rodriguez-Hernandez, J.; Checot, F.; Gnanou, Y.; Lecommandoux, S., Toward 'smart' nano-objects by self-assembly of block copolymers in solution. *Progress in Polymer Science*, 2005, 691-724.
50. Furlong, D. N.; Freeman, P. A.; Metcalfe, I. M.; White, L., Wall Effects in du Nouy Ring Tensiometry. *Journal Chem. Soc.*, 1983, 1701-1719;
51. Luz, J. A. M.; Lima, R. M. F., *Tratamento de Minérios: Práticas Laboratoriais - Parte VIII: Medições em Laboratório*. Rio de Janeiro, Brasil;
52. LAUDA Dr. R. WOBSE. Obtido em 24 de Junho de 2013 em www.lauda.de;

53. Zhang W., Shi, L., Ma, R., An, Y., Xu, Y., Wu, K., Micellization of Thermo- and Responsive Triblock Copolymers of Poly(ethylene glycol)-*b*-poly(4-vinylpyridine)-*b*-poly(*N*-isopropylacrylamide). *Macromolecules*, 2005, 8850-8852;
54. Li, Z., Ma, R., An, Y., Shi, L., Micellization and luminescence of PEG-*b*-P4VP/Europium(III)/1,10-phenanthroline complex. *Colloid Polymer Science*, 2010, 1041-1046;
55. Bronstein, L. M., et al., Metalated Diblock and Triblock Poly(ethylene oxide)-*block*-poly(4-vinylpyridine) Copolymers: Understanding of Micelle and Bulk Structure. *J. Phys. Chem. B.*, 2005, 18786-18798;
56. Beaudoin, E., Gourier, C., Hiorns, R. C., François, J., Structure and Properties of Hydrophobically End-Capped Poly(ethylene Oxide) Solutions in the Presence of Monovalent and Divalent Cations. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2002, 398-408;
57. Rashidi, M., Blokhuis, A. M., Skauge, A., Viscosity Study of Salt Tolerant Polymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 2010.

Anexos

Anexo A: Espectro de RMN

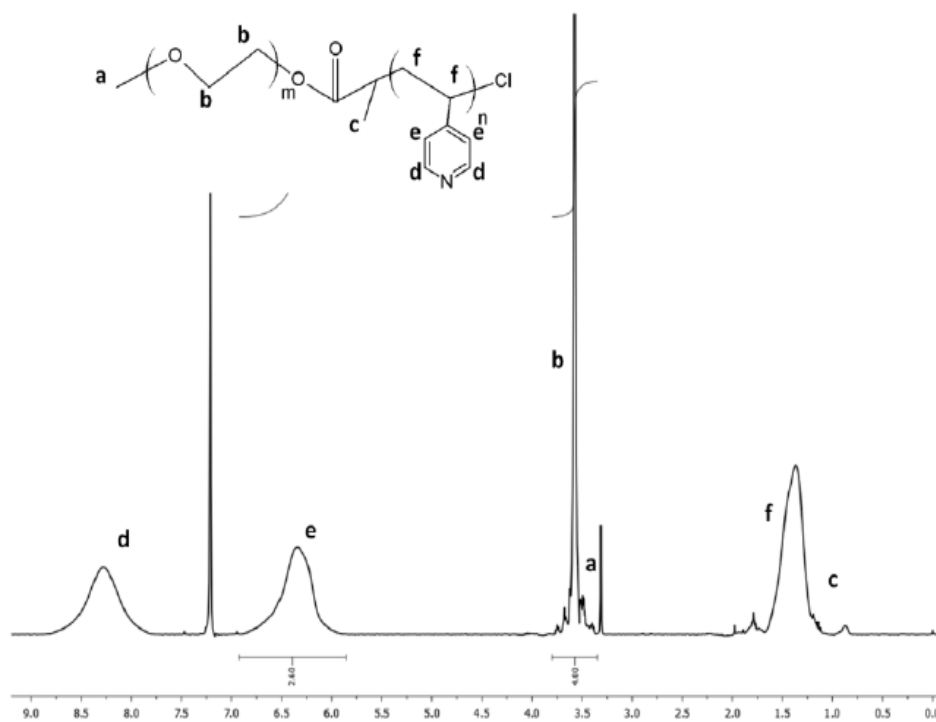


Figura A1 - ¹H RMN de PEG₄₅-P4VP₅₉ a 400MHz em CDCl₃.

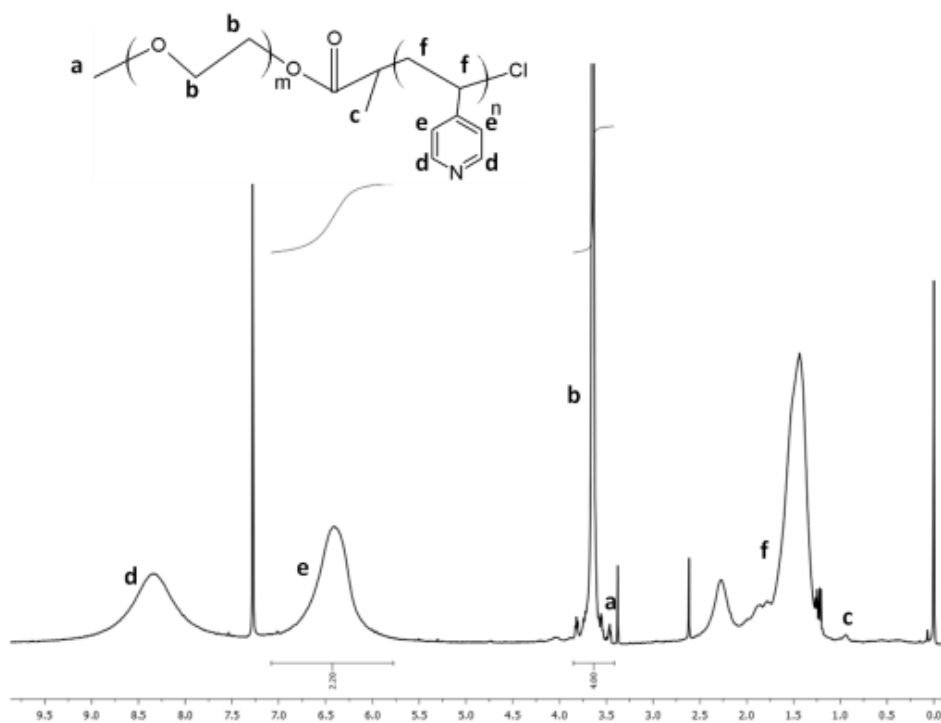


Figura A2 - ¹H RMN de PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄ a 400MHz em CDCl₃.

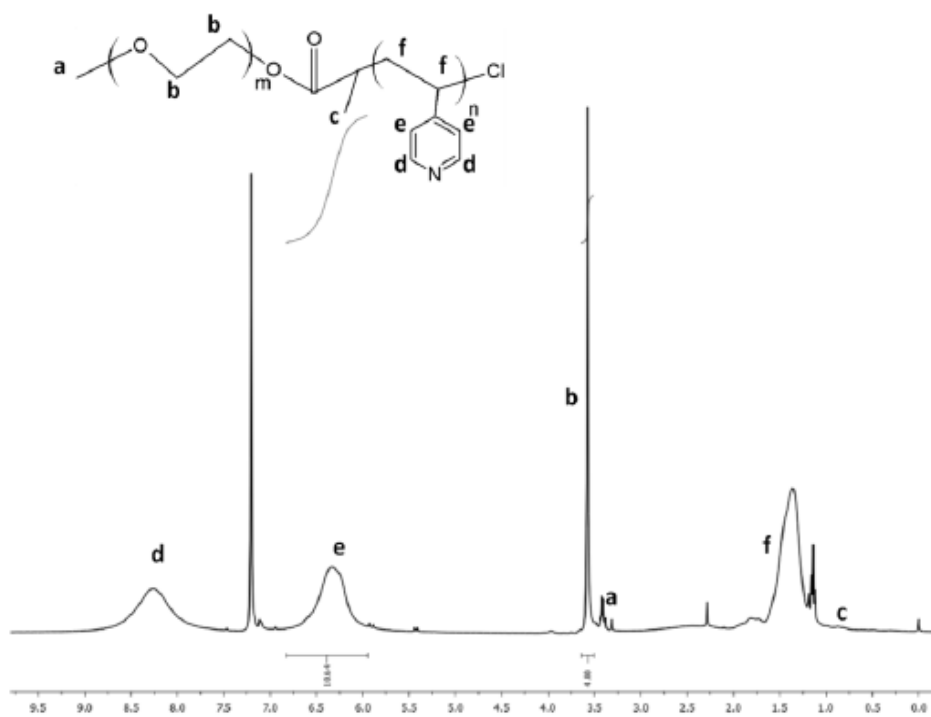


Figura A3 - ¹H RMN de PEG₄₅-P4VP₂₄₁ a 400MHz em CDCl₃.

Anexo B: Caracterização GPC

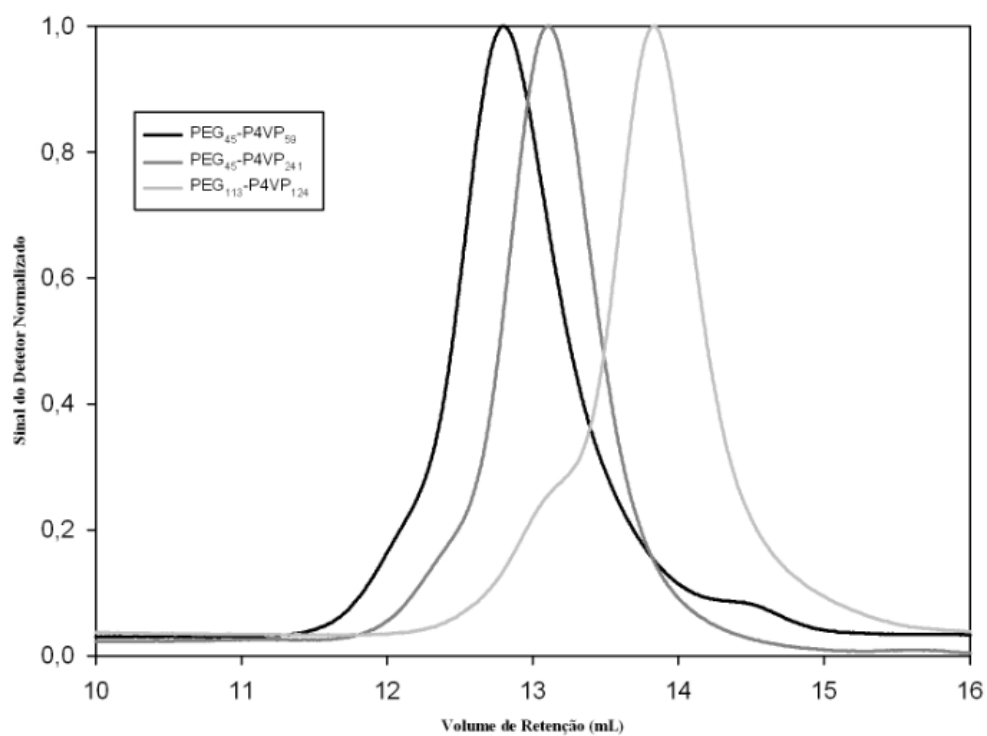


Figura B1 - Cromatograma de GPC: Sinal de detector normalizado em função do volume de retenção.

Anexo C: Estudos Viscoelásticos

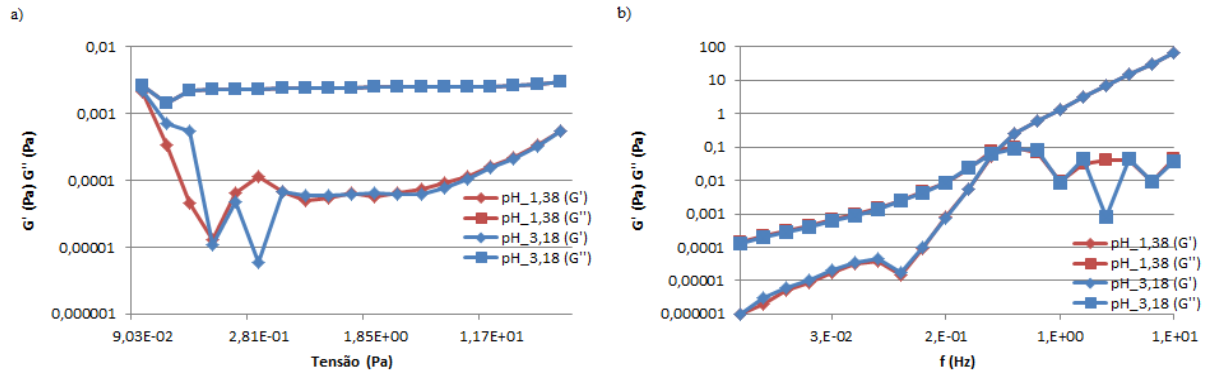


Figura C1 - Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₅₉.

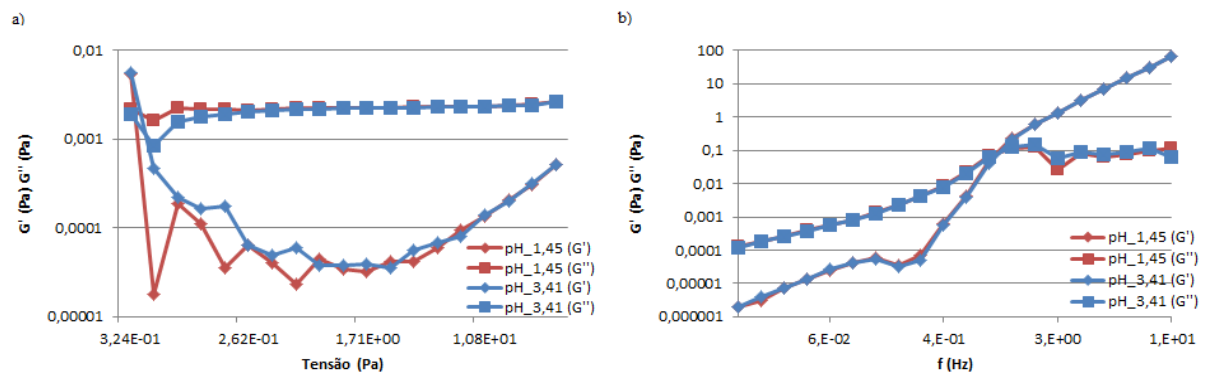


Figura C2 - Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 0,2% (p/p) PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄.

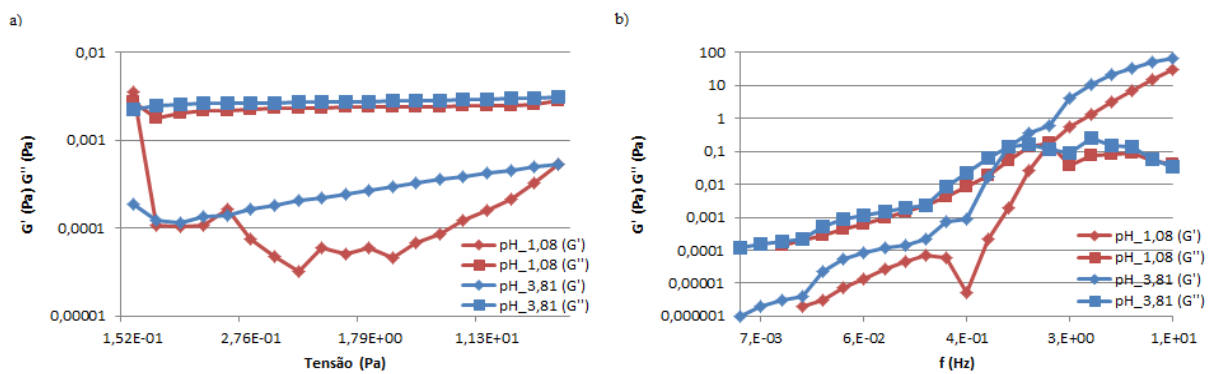


Figura C3 - Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 2% (p/p) PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄.

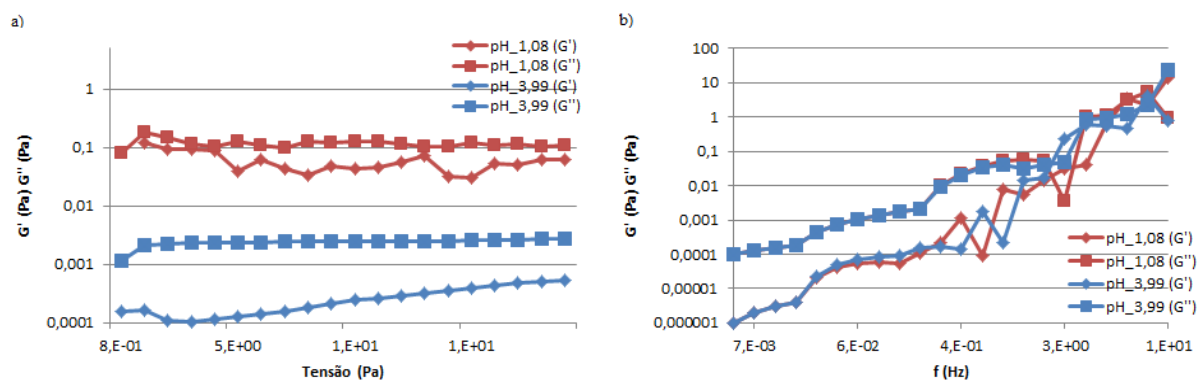


Figura C4 - Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 0,2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₂₄₁.

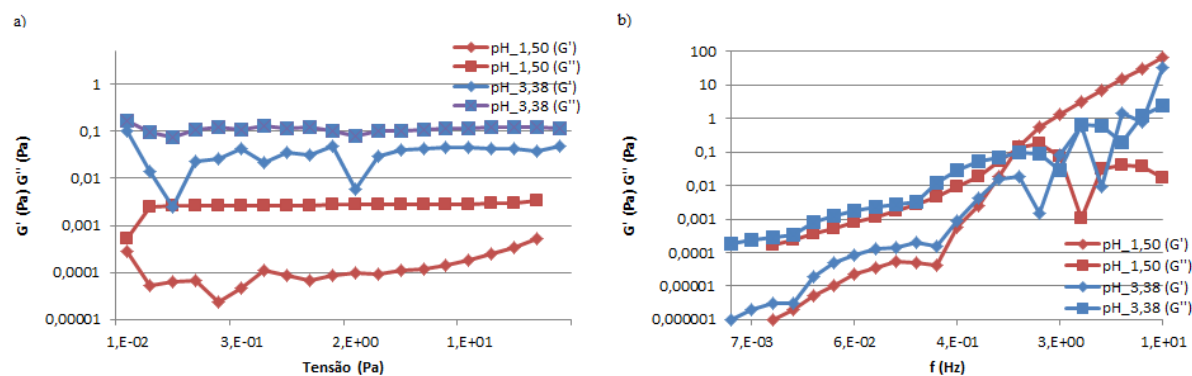


Figura C5 - Módulo elástico (G' , \diamond) e viscoso (G'' , \square) em função da a) tensão aplicada e b) frequência, para a solução de 2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₂₄₁.

Anexo D: Morfologia do Tipo de Estruturas Formadas

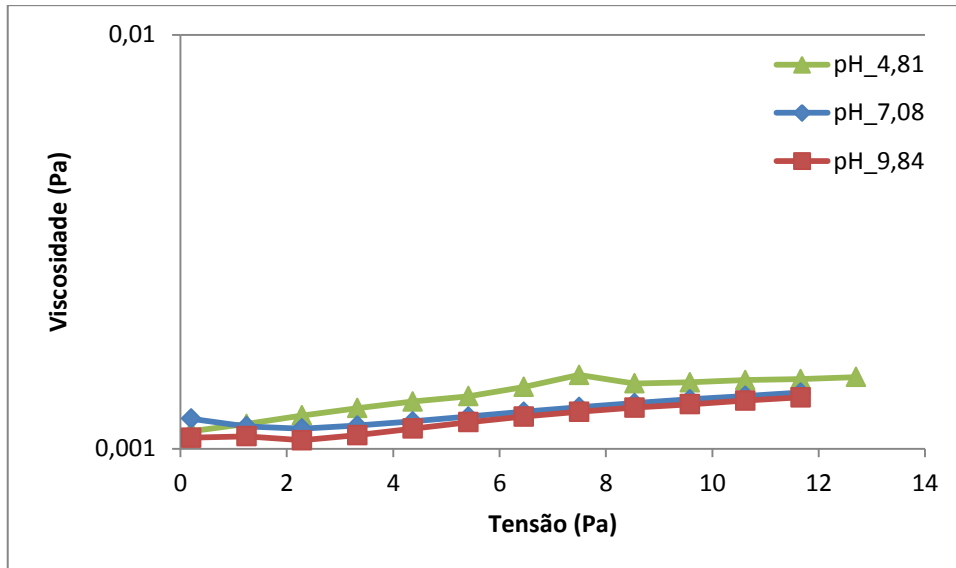


Figura D1 - Viscosidade em função da tensão para 0,2% (p/p) PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄.

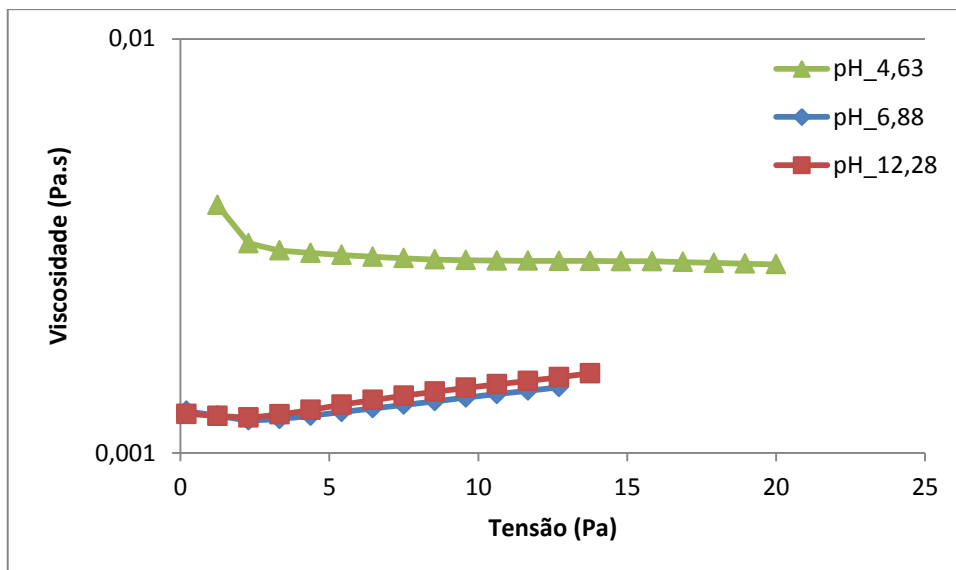


Figura D2 - Viscosidade em função da tensão para 2% (p/p) PEG₁₁₃-P4VP₁₂₄.

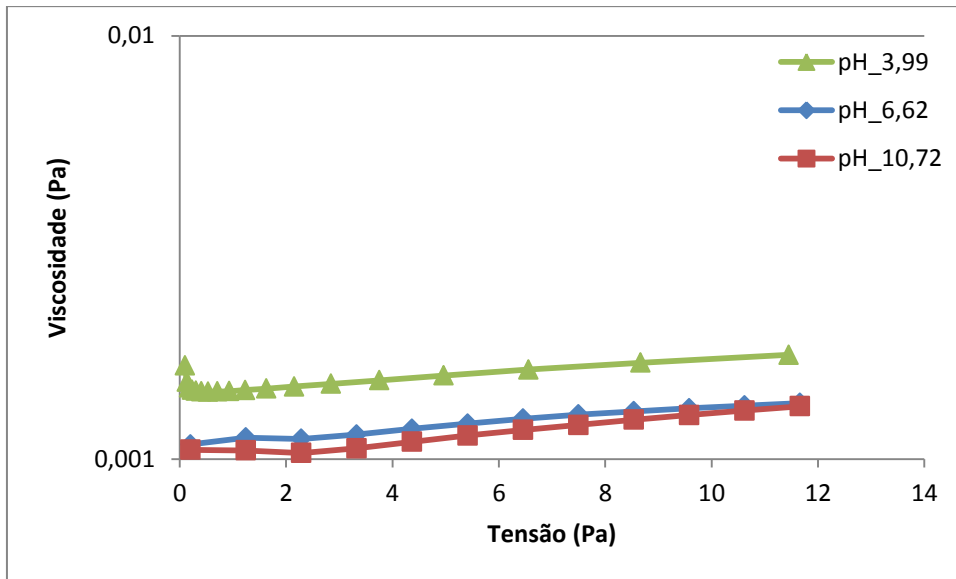


Figura D3 - Viscosidade em função da tensão para 0,2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₂₄₁.

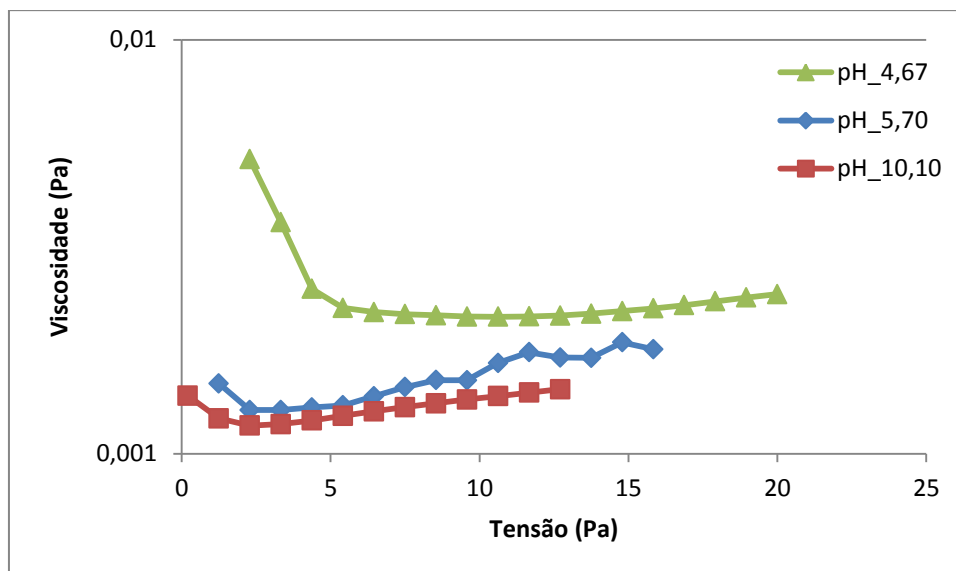


Figura 39 - Viscosidade em função da tensão para 2% (p/p) PEG₄₅-P4VP₂₄₁.