



Andreia Sofia Rodrigues Antunes

Polieletrólitos à base de líquidos iónicos para separação de aminoácidos

Dissertação do Mestrado Integrado na área científica de Engenharia Química, orientada pelo Professor Hermínio José Cipriano de Sousa e pela Doutora Ana Maria Antunes Dias e apresentada ao Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Setembro de 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Dissertação em Engenharia Química

Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Polieletrólitos à base de líquidos iónicos
para separação de aminoácidos



Co-orientador: Professor Hermínio José Cipriano de Sousa

Co-orientador: Doutora Ana Maria Antunes Dias

Aluno: Andreia Sofia Rodrigues Antunes

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

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

“The beginning of all science, is the surprise of what things are what they are.”

Aristóteles

Agradecimentos

A realização desta dissertação é o findar de 5 anos de muito trabalho, nos quais pude contar com o apoio de diversas pessoas:

Em primeiro lugar, quero agradecer aos meus orientadores Professor Doutor Hermínio Sousa e Doutora Ana Dias, pelo apoio prestado, a orientação e dedicação durante este percurso, a disponibilidade, a transmissão de conhecimento e a preparação para a minha carreira profissional.

Aos meus colegas do B18, pela disponibilidade para me ajudarem, simpatia e os conselhos, que me ajudaram a desenvolver o meu trabalho da melhor forma possível. Um especial agradecimento ao Akel Kanaan, que teve sempre disponível para me ajudar não só com a parte experimental, mas também com as minhas dúvidas na parte teórica e por toda a partilha de conhecimentos. À Sofia Marceneiro, pela ajuda na parte experimental e colaboração na edição de imagens. E ao João Pedro Castro, pelo apoio prestado nas tarefas diárias de laboratório.

A toda a comunidade do Departamento de Engenharia Química, os meus colegas, os funcionários, os investigadores e os professores que me ajudaram durante todo este percurso e que me fizeram crescer profissionalmente. Um particular obrigado à minha colega e amiga Carolina Nunes que sempre esteve disponível para me ajudar no meu percurso académico e pela sua amizade e os bons momentos que passamos juntas.

À minha família, dos quais destaco o apoio incondicional dos meus pais, as suas palavras de apoio nos momentos difíceis deram-me força para nunca desistir. Ao Pedro Neves pelo amor, paciência, compreensão e apoio, que me ajudou a terminar a minha formação. À minha prima, que apesar de não partilhar o mesmo interesse por esta área de estudo, sempre me deu o seu apoio.

Por último, mas não menos importante, a todos os meus amigos que sempre me acompanharam e apoiaram, não apenas nesta fase, mas durante todo o curso.

A todos muito obrigada!

Resumo

A recuperação de biomoléculas a partir dos meios reacionais é um dos processos mais importantes em biotecnologia. A sua recuperação representa uma das etapas mais dispendiosas da sua produção sendo essencial separá-las com elevada eficiência, mas sem as degradar de forma a tornar este processo viável. Neste contexto, os polímeros à base de líquidos iónicos (poli(líquidos iónicos)) surgem como uma alternativa às convencionais resinas de troca iónica utilizadas neste tipo de processos. A crescente investigação em torno dos poli(líquidos iónicos) advém das suas propriedades que incluem boa condutividade iónica, estabilidade térmica e química e propriedades ajustáveis em solução.

O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento e caracterização de polieletrólitos reticulados com resposta à aplicação de estímulo de potencial elétrico e à temperatura, usando para esse fim os monómeros cloreto de 1-vinil-3-butylimidazólio (BVimCl) e N-isopropilacrilamida (NIPAM), respetivamente, visando a recuperação do aminoácido L-triptofano. Os hidrogéis foram sintetizados por duas vias diferentes por forma a obter copolímeros e redes poliméricas interpenetrantes (RPIs) sequenciais completas. No caso dos RPIs foi ainda avaliado o efeito da hidrofiliçidade e tamanho de cadeia do monómero espaçador nas propriedades finais dos RPI, substituindo o monómero NIPAM pela acrilamida (AAm). Todos os hidrogéis foram sintetizados por polimerização radicalar livre em solução aquosa, usando a N,N'-metilenobisacrilamida (MBA) como agente reticulante (com 2 graus de reticulação). O monómero BVimCl foi escolhido por ser um líquido iónico quimicamente estável, facilmente polimerizável e pela capacidade de troca de anião com outros sais, facilitando interações físico-químicas com uma gama alargada de moléculas (com ou sem carga, hidrofílicas ou hidrofóbicas). Por outro lado, o monómero de NIPAM foi escolhido pela conhecida resposta à temperatura e como espaçador entre as cadeias de poli(líquidos iónicos) para aumentar o volume livre da rede polimérica e conseqüentemente a sua capacidade de sorção de água e de moléculas carregadas.

As propriedades físico-químicas dos materiais foram analisadas por diferentes técnicas incluindo: ATR-FTIR, DSC, TGA, capacidade de sorção de água (com e sem variação de temperatura) e sorção do aminoácido L-triptofano (com e sem aplicação de potencial elétrico). Para os RPIs foi ainda feita uma avaliação preliminar do efeito da composição química na temperatura de transição de fases (LCST) do PNIPAM e PAAm. Os resultados são discutidos em termos da composição química relativa dos polieletrólitos preparados e grau de reticulação.

Os resultados obtidos comprovam que a capacidade de sorção de água dos copolímeros sintetizados não é influenciada pela variação da temperatura, mas estes apresentam resposta a estímulo de potencial elétrico, devido à presença do líquido iônico na estrutura, o que se traduz numa elevada capacidade de sorção do aminoácido L-triptofano. Os resultados da caracterização dos RPIs revelam uma baixa presença da rede de poli(líquido iônico), sendo consequência disso a baixa remoção de L-triptofano conseguida com estas amostras. Apesar disso, demonstrou-se que os RPIs à base de NIPAM mantêm a resposta em função de variações de temperatura, característica do PNIPAM.

Abstract

The recovery of biomolecules from reactional media is one of the most important processes in biotechnology. It also represents one of the most expensive steps and for this reason it is essential to separate them at the highest efficiency, but avoiding its degradation in order to make this process viable. In this context, poly(ionic liquids) may represent an alternative to ionic resins conventionally used in this kind of separation processes. Poly(ionic liquids) have attracted an increasing interest due to their interesting properties such as high ionic conductivity, chemical and thermal stability and tuneable solution properties.

The main goal of this work was the development and characterization of multi-responsive cross-linked hydrogel-based polyelectrolytes, sensitive to changes in temperature and electrical potential, using 1-vinyl-3-butylimidazolium chloride (B VimCl) and N-isopropylacrylamide (NIPAM) as co-monomers, for the enhanced sorption of the amino acid L-tryptophan. The hydrogels were synthesized by two different methodologies, namely by the synthesis of copolymers and fully sequential interpenetrating polymer networks (IPN). In the second case, IPNs based on acrylamide (AAm), instead of NIPAM, were also synthesized in order to evaluate the effect of the hydrophilicity and of the molecular size of the monomer, on the final properties of the IPN. All the hydrogels were synthesized by free radical polymerization in aqueous media using N,N'-methylenebis(acrylamide) (MBA) as cross-linker (at two crosslinking degrees, 2 and 5 % in molar terms and relatively to the total amount of co-monomers B VimCl and NIPAM/AAm)). The co-monomer B VimCl was chosen mostly due to its easiness to polymerize, high chemical stability and to its ability to undergo anion exchange with other salts, which allow favourable physicochemical interaction with a broad range of molecules of distinct characters (charged/non-charged, hydrophobic/hydrophilic). On the other hand, NIPAM was chosen due to its well-known response to changes in temperature and as a spacer between the units of ionic liquid co-monomers, to increase the free volume in the polymerized network and consequently its sorption capacity for charged molecules.

The hydrogels were characterized for their physicochemical properties by different techniques including ATR-FTIR, DSC, TGA, water swelling capacity (at different temperatures) and sorption capacity towards L-tryptophan (with and without the application of an electrical potential). The effect of the chemical composition on the phase transition temperature (LCST) of the PNIPAM and PAAm based IPNs was also evaluated. The results were discussed in terms of the chemical composition of prepared polyelectrolytes and their cross-linking degrees.

The results obtained show that the synthesized copolymers are not sensitive to changes in temperature but are sensitive to changes in the electrical potential which significantly improve their sorption capacity towards L-tryptophan. The results obtained for the IPNs show that the incorporation of the poli(ionic liquid) network into the PNIPAM network was small, which consequently leads to their observed low sorption capacity towards L-tryptophan. Nevertheless, the results show that NIPAM based IPNs maintain their response to changes in temperature, similar to that observed for PNIPAM.

Índice

| | |
|--|-------|
| Agradecimentos | vii |
| Resumo | ix |
| Abstract..... | xi |
| Lista de Figuras | xvi |
| Lista de Tabelas | xxi |
| Abreviaturas e siglas..... | xxiii |
| Organização da dissertação | xxvii |
| Objetivo e motivações | xxix |
| 1. Introdução..... | 1 |
| 1.1. Processos de separação de biomoléculas..... | 1 |
| 1.2. Materiais para troca iónica | 3 |
| 1.3. Poli(líquidos iónicos) – polieletrólitos especiais..... | 5 |
| 1.4. Polímeros inteligentes – polieletrólitos termossensíveis..... | 11 |
| Poli(n-isopropilacrilamida)..... | 11 |
| 1.5. Redes poliméricas interpenetrantes (RPIs)..... | 12 |
| 2. Materiais e métodos..... | 15 |
| 2.1. Materiais..... | 15 |
| 2.2. Síntese dos copolímeros de cloreto de 1-vinil-3-butimidazólio com N-isopropilacrilamida..... | 15 |
| 2.3. Síntese dos hidrogéis de rede polimérica interpenetrante (RPIs)..... | 18 |
| 2.4. Métodos de caracterização | 22 |
| Teste preliminar para identificação da temperatura de transição de fases (LCST) das redes poliméricas interpenetrantes preparadas..... | 22 |
| Capacidade de sorção de água em função da temperatura..... | 22 |
| Ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo eléctrico | 22 |
| Ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo eléctrico..... | 23 |
| Ensaio preliminar de dessorção do L-triptofano removido | 24 |
| Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR) | 24 |

| | |
|--|----|
| Calorimetria diferencial de varrimento (DSC) | 24 |
| Análise termogravimétrica (TGA)..... | 24 |
| 3. Resultados experimentais e discussão..... | 25 |
| 3.1. Resultados relativos à síntese e caracterização dos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM..... | 25 |
| Rendimento da reação..... | 25 |
| Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)..... | 26 |
| Análise termogravimétrica (TGA)..... | 27 |
| Capacidade de sorção de água | 30 |
| Calorimetria diferencial de varrimento (DSC) | 34 |
| Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros de BVimCl/NIPAM | 35 |
| Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM após a troca de anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻] e com aplicação de campo elétrico..... | 42 |
| 3.2. Resultados relativos à síntese e caracterização das redes poliméricas interpenetrantes à base de BVimCl/NIPAM e BVimCl/AAM..... | 43 |
| Rendimento da reação..... | 44 |
| Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)..... | 44 |
| Análise termogravimétrica (TGA)..... | 46 |
| Ensaio preliminar para identificação da temperatura de transição de fases (LCST) | 48 |
| Calorimetria diferencial de varrimento (DSC) | 50 |
| Capacidade de sorção de água | 50 |
| Sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico pelas redes poliméricas interpenetrantes após a troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]..... | 53 |
| Nova otimização da síntese de redes poliméricas interpenetrantes | 53 |
| Conclusão..... | 57 |
| Trabalhos futuros | 59 |
| Bibliografia | 61 |
| Anexo A – Otimização da síntese de redes poliméricas interpenetrantes à base de NIPAM/BVimCl e AAM/BVimCl | 65 |

| | |
|---|----|
| Anexo B – Curva de Calibração | 68 |
| Anexo C – Resultados da sorção do aminoácido L-triptofano em massa de L-triptofano por massa de polímero | 69 |
| Anexo D – Espectro de UV-Vis da amostra COP_50/50_R2 durante o ensaio de sorção sem aplicação de campo elétrico antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]..... | 72 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1 – Estrutura química do aminoácido L-triptofano, imagem a), e distribuição teórica da concentração das diversas espécies de L-triptofano em fase líquida a 25°C, retirado de Xie et al., 2011..... | 2 |
| Figura 2 - Exemplos de alguns dos catiões e aniões mais comuns em líquidos iônicos. | 5 |
| Figura 3 – Estrutura química da poli(N-isopropilacrilamida). | 11 |
| Figura 4 – Esquema ilustrativo da resposta à temperatura das partículas de hidrogel de poli(N-isopropilacrilamida). | 12 |
| Figura 5 – Exemplo do aspeto macroscópico dos copolímeros após polimerização, imagem a), e após moagem, imagem b). A amostra apresentada corresponde ao COP_50/50_R5..... | 16 |
| Figura 6 – Estrutura química dos monómeros a) BVimCl, b) NIPAM e c) AAm; do reticulante d) MBA; do iniciador térmico e) APS e do catalisador f) TEMED..... | 17 |
| Figura 7 – Representação esquemática da formação das redes poliméricas interpenetrantes..... | 18 |
| Figura 8 – Exemplo do aspeto das redes poliméricas interpenetrantes durante as diversas fases da sua síntese. Após polimerização, imagem a) e d), após lavagem, imagem b) e e), e após liofilização, imagem c) e f). As imagens a), b) e c) correspondem ao RPI_N_33/67 e as imagens d), e) e f) correspondem ao RPI_A_33/67..... | 20 |
| Figura 9 – Estrutura química do copolímero BVimTf ₂ S/NIPAM..... | 21 |
| Figura 10 – Representação esquemática do ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano pelos hidrogéis com aplicação de campo elétrico. | 23 |
| Figura 11 – Espectro de ATR-FTIR da amostra COP_100/0_R2, linha laranja, e da amostra COP_0/100_R2, linha verde (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])...... | 26 |
| Figura 12 – Espectros de ATR-FTIR das amostras COP_0/100_R2, linha verde, COP_33/67_R2, linha azul, COP_50/50_R2, linha vermelha, e COP_100/0-R2, linha laranja (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 27 |
| Figura 14 – Perfil de TGA das amostras COP_0/100_R5, linha contínua, COP_33/67_R5, linha traço e ponto, COP_50/50_R5, linha com tracejada, e COP_100/0_R5, linha pontuada (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])...... | 28 |
| Figura 13 – Perfil de TGA das amostras COP_0/100_R2, linha contínua, COP_33/67_R2, linha traço e ponto, COP_50/50_R2, linha com tracejada, e COP_100/0_R2, linha pontuada (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])...... | 28 |
| Figura 15 – Capacidade de sorção de água (C.S.) pelos copolímeros COP_0/100_R2, COP_0/100_R5, COP_33/67_R2, COP_33/67_R5, COP_50/50_R2, COP_50/50_R5, COP_100/0_R2 e COP_100/0_R5 (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 31 |
| Figura 16 – Variação da capacidade de sorção de água (C.S.) com a temperatura para os copolímeros COP_0/100_R2, COP_0/100_R5, COP_33/67_R2, COP_33/67_R5, COP_50/50_R2 COP_100/0_R2 e COP_100_R5 (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])...... | 33 |

| | |
|--|----|
| Figura 17 – Perfis de DSC das amostras COP_0/100_R2, linha preta, COP_33/67_R2, linha ponteadada, COP_50/50_R2, linha tracejada, e COP_100/0_R2, linha com traço e ponto (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 35 |
| Figura 18 – Cinética de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelas amostras COP_0/100_R2, COP_33/67_R2, COP_50/50_R2 e COP_100/0_R2, imagem (a), e pelas amostras COP_0/100_R5, COP_33/67_R5, COP_50/50_R5 e COP_100/0_R5, imagem (b) (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 37 |
| Figura 19 – Remoção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros, após um dia (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 38 |
| Figura 20 – Cinética de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelas amostras COP_0/100_R2, COP_33/67_R2, COP_50/50_R2 e COP_100/0_R2, imagem (a), e pelas amostras COP_0/100_R5, COP_33/67_R5, COP_50/50_R5 e COP_100/0_R5, imagem (b) (depois da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 39 |
| Figura 21 – Remoção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros, após um dia (depois da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 40 |
| Figura 22 – Aspeto da amostra COP_100/0_R2 no final do ensaio preliminar de sorção com aplicação de campo elétrico (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 40 |
| Figura 23 – Reação de degradação do L-triptofano pelo ácido hipocloroso (Hawkins et al., 2003)..... | 41 |
| Figura 24 – Resultado da sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (depois da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 42 |
| Figura 25 – Espectros de ATR-FTIR das amostras RPI_N_0/100, linha verde, RPI_N_33/67, linha azul, e RPI_N_50/50, linha vermelha (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 45 |
| Figura 26 – Espectros de ATR-FTIR das amostras RPI_A_0/100, linha laranja, RPI_A_33/67, linha azul, e RPI_A_50/50, linha roxa (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 45 |
| Figura 27 – Perfil de TGA das amostras RPI_N_0/100, linha contínua, RPI_N_33/67, linha tracejada, RPI_N_50/50, linha com traço e ponto, e COP_100/0_R2, linha ponteadada (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 46 |
| Figura 28 – Perfil de TGA das amostras RPI_A_0/100, linha contínua, RPI_A_33/67, linha tracejada, RPI_A_50/50, linha com traço e ponto, e COP_100/0_R2, linha ponteadada (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 47 |
| Figura 29 – Aspeto visual dos RPIs à base de NIPAM à temperatura de 0°C, imagem da esquerda, 35°C, imagem do centro, e 50°C, imagem à direita (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 49 |
| Figura 30 – Aspeto visual dos RPIs à base de AAm à temperatura de 0°C, imagem da esquerda, 35°C, imagem do centro, e 50°C, imagem à direita (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 49 |
| Figura 31 – Perfis de DSC das amostras RPI_N_0/100, linha contínua, RPI_N_33/67, linha tracejada, e RPI_N_50/50, linha com traço e ponto (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 50 |
| Figura 32 – Capacidade de sorção de água dos RPIs a 25°C, colunas brancas para os RPIs à base de NIPAM e colunas cinzento claro para os RPIs à base de AAm, e a 37°C, colunas cinza-escuras para os RPIs à base de NIPAM e colunas cinza-escuras pontilhadas para os RPIs à base de AAm, (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻])..... | 51 |

| | |
|--|----|
| Figura 33 – Aspeto da amostra RPI_N_33/67 durante o ensaio da capacidade de sorção de água com variação de temperatura. Na imagem da esquerda a amostra está a 25°C e na imagem da direita a amostra está a 37°C (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 52 |
| Figura 34 – Resultados da remoção do aminoácido L-triptofano pelas amostras RPI_N_0/100, RPI_N_33-67, RPI_N_50/50, RPI_A_0/100, RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50 no final do ensaio de sorção com aplicação de campo elétrico, 100 V durante 3 horas (depois da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 53 |
| Figura 35 – Aspeto macroscópico do novo RPI_N_50/50, após a primeira lavagem, imagem a), após a secagem, imagem b), após a incorporação da solução da segunda rede, imagem c), após a última lavagem, imagem d) e após a liofilização, imagem e). | 54 |
| Figura 36 – Perfis de TGA do novo RPI_N_50/50, as linhas pretas, representam as triplicatas da amostra e a linha cinzenta o PLI (COP_50/50_R2). | 55 |

Lista de Tabelas

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Resumo das principais características das resinas de troca iônica disponíveis no mercado. . | 4 |
| Tabela 2 - Sistemas à base de líquidos iônicos e de poli(líquidos iônicos) para a separação de L-triptofano. | 7 |
| Tabela 3 – Resumo das quantidades de reagentes utilizadas na síntese dos copolímeros à base de B ₂ ViMCl e NIPAM. | 17 |
| Tabela 4 – Resumo das quantidades de reagentes utilizadas na síntese das redes poliméricas interpenetrantes de B ₂ ViMCl/NIPAM e B ₂ ViMCl/AAm. | 20 |
| Tabela 5 – Rendimento da reação dos copolímeros à base de B ₂ ViMCl/NIPAM sintetizados. | 25 |
| Tabela 6 – Estimativa da quantidade de monómeros presentes nos copolímeros, através do método de TGA (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 29 |
| Tabela 7 – Capacidade de sorção de água dos hidrogéis preparados e respetivo rácio entre a capacidade de sorção de água das amostras com 2 % de reticulação e as amostras com 5 % de reticulação (antes da troca do anião Cl ⁻ pelo [(Tf ₂ N) ⁻]). | 32 |
| Tabela 8 – Rendimento da reação das redes poliméricas interpenetrantes sintetizadas. | 44 |

Abreviaturas e siglas

| | |
|---|---|
| %EE | Porcentagem de eficiência de extração |
| AAm | Acrilamida |
| ABS | Sistemas aquáticos bifásicos |
| [Ac] | Acetato |
| [Adi] | Adipato |
| [amin] | 1-Alilo-3-metilimidazólio |
| APS | Persulfato de amónio |
| ATR-FTIR | Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com módulo de Reflectância Total Atenuada |
| BF₄ | Tetrafluoroborato |
| Br | Bromo |
| Br⁻ | Brometo |
| BVimCl | Cloreto de 1-vinil-3-butilimidazólio |
| C | Carbono |
| [C_{1im}] | Metilimidazólio |
| [C_{1SO₃]} | Metilsulfonato |
| [C_{1SO₄]} | Metilsulfato |
| [C_{2C_{2im}]} | 1,3-Dietilimidazólio |
| [C_{2min}] | 1-Etil-3-metilimidazólio |
| [C_{2SO₃]} | Etilsulfonato |
| [C_{3min}] | 1-Propil-3-metilimidazólio |
| [C_{3mpip}] | 1-Propil-3-metilpiperidínico |
| [C_{3mpyrr}] | 1-Metil-1-propilpirolidínico |
| [C_{4min}] | 1-Butil-3-metilimidazólio |
| [C_{4mmin}] | 1-Butil-2,3-dimetilimidazólio |
| [C_{4mpyrr}] | 1-Butil-3-metilpirolidínico |
| [C_{7H_{7min}]} | 1-Benzil-3-metilimidazólio |
| [C_{4(Vim)₂]} | 1-Butil-bis(vinilimidazólio) |
| [C_{5min}] | 1-Pentil-3-metilimidazólio |
| [C_{6min}] | 1-Hexil-3-metilimidazólio |
| [C_{7min}] | 1-Heptil-3-metilimidazólio |
| [C_{8min}] | 1-Octil-3-metilimidazólio |

| | |
|-------------------------------------|--|
| CF₃SO₃ | Trifluorometanosulfonato |
| [Cit] | Citrato |
| Cl⁻ | Cloreto |
| CO₂ | Dióxido de Carbono |
| Conc. | Concentração |
| DSC | Calorimetria diferencial de varrimento |
| H | Hidrogénio |
| H₂O | Água |
| [HEMA] | Metacrilato de hidroxietil |
| [Hex] | Hexanoato |
| HCl | Ácido clorídrico |
| [im] | Imidazólio |
| IUPAC | União Internacional de Química Pura e Aplicada |
| K₃PO₄ | Fosfato de potássio tribásico |
| LCST | Temperatura de Solução Crítica Inferior |
| LI | Líquido iónico |
| L-Lys | L-Lisina |
| L-Pro | L-Prolina |
| MBA | N,N'-Metilenobisacrilamida |
| MiliQ | Água ultrapura |
| Mw | Massa molar |
| N | Azoto |
| [N(CN)₂] | Dicianamida |
| NIPAM | N-Isopropilacrilamida |
| [OHC₂min] | 1-Hidroxietil-3-metilimidazólio |
| [P₄₄₁] | Tributil(metil)fosfónio |
| [P₄₄₄] | Tetrabutílfosfónio |
| [PF₆] | Hexafluorofosfato |
| PFS-Vim | Poli(ferrocenilsilano) vinilimidazólio |
| PLI | Poli(líquido iónico) |
| R² | Coefficiente de determinação |
| RPI | Rede polimérica interpenetrante |
| [SPAK] | Potássio de 3-sulfopropil acrilato |
| TEMED | N,N,N',N'-Tetrametiletilnediamine |

| | |
|--|---|
| ([Tf₂N]⁻) | Bis(trifluorometanosulfonil)imida |
| TFA | Trifluoroacetato |
| UCST | Temperatura de Solução Crítica Superior |
| UV-Vis | Ultravioleta visível |

Organização da dissertação

Esta dissertação está dividida em 3 capítulos principais e em seguida apresenta-se os objetivos e motivações desta dissertação de mestrado. No capítulo 1 encontra-se a introdução onde se aborda a temática dos processos de separação de biomoléculas; os materiais mais utilizados para a separação por troca iónica; as definições, propriedades e aplicações dos poli(líquidos iónicos); e explica-se o que são polímeros inteligentes, mais concretamente polieletrólitos termosensíveis, e o que são redes poliméricas interpenetrantes. Neste capítulo encontra-se ainda o estado da arte sobre líquidos iónicos e poli(líquidos iónicos) utilizados na separação de L-triptofano. No capítulo 2 apresenta-se os reagentes utilizados, o procedimento adotado para a síntese dos materiais pretendidos e os métodos utilizados para caracterizar as propriedades desses materiais. No capítulo 3 apresenta-se e discute-se os resultados obtidos, começando pelos resultados relativos aos copolímeros e de seguida com os resultados relativos as redes poliméricas interpenetrantes. Por último apresenta-se as conclusões obtidas com este trabalho e as propostas para o trabalho futuro.

Objetivo e motivações

Um dos processos mais importantes em biotecnologia consiste na recuperação, separação e/ou purificação de biomoléculas, especialmente no crescente mercado biofarmacêutico. O processo de recuperação e purificação de proteínas e aminoácidos de meios fermentativos representa cerca de 80 % do custo total de obtenção destas biomoléculas pelo que existe atualmente um enorme interesse em tornar este processo mais económico, seletivo e eficiente. Uma metodologia frequentemente usada no processo de separação/purificação deste tipo de biomoléculas consiste no uso de resinas de troca iónica apesar de estas apresentarem algumas limitações, como por exemplo o facto da sua eficiência ser dependente do pH do meio. Por forma a contornar este problema, propõe-se com este trabalho desenvolver e caracterizar hidrogéis termo-responsivos capazes de absorver/adsorver moléculas carregadas, tendo-se usado como molécula modelo o aminoácido L-triptofano.

Os hidrogéis aqui propostos são polieletrólitos sintéticos obtidos a partir de reações de polimerização de radical livre em meio aquoso, usando como monómeros um líquido iónico vinílico (cloreto de 1-vinil-3-butimidazólio), um monómero termo-responsivo (N-isopropilacrilamida) e um agente reticulante (N,N'-metilenobisacrilaminada) em diferentes proporções. Os hidrogéis foram sintetizados através de dois métodos distintos tendo-se obtido copolímeros reticulados e redes poliméricas interpenetrantes. O objetivo deste trabalho consiste no desenvolvimento de materiais que respondam a estímulos externos simultâneos de variações de campo elétrico externo e de temperatura por forma a obter materiais mais eficientes para a recuperação/purificação do aminoácido L-triptofano.

A vantagem destes materiais face às resinas de troca iónica convencionais é que são insensíveis ao pH e por isso podem ser utilizados em qualquer gama de pH. Além disso, a resposta à variação de temperatura destes materiais torna-os seletivos, podendo assim remover apenas as biomoléculas de menores dimensões, devido à diminuição do volume livre na matriz dos materiais com a subida da temperatura acima da temperatura de solução crítica inferior (LCST). Esta é ainda uma forma de regenerar estes materiais, sendo para isso apenas necessário aumentar a temperatura do meio acima da LCST, de modo a libertar as biomoléculas absorvidas/adsorvidas.

1. Introdução

1.1. Processos de separação de biomoléculas

Ao longo dos últimos anos, a recuperação de biomoléculas de meios reacionais tornou-se um dos processos mais importantes em biotecnologia (Tomé *et al.*, 2010). As proteínas pertencem a uma classe de biomoléculas funcionais que desempenham um papel muito importante para os seres vivos, podendo funcionar como enzimas, inibidores, recetores de hormonas e fármacos, ou veículos de transporte (Štěpánová and Kašička, 2016). Além das suas funções biológicas, também são importantes para o crescente mercado “biofarmacêutico”, usados por exemplo como anticorpos monoclonais, muito utilizados no tratamento de cancros e doenças autoimunes (Elvin *et al.*, 2013; Ding *et al.*, 2017). Com o desenvolvimento da engenharia bioquímica tem sido possível produzir biomoléculas sem recorrer à síntese química, modo de produção mais dispendioso. Assim, é de todo o interesse conseguir separar as proteínas, de forma intacta a partir de matrizes biológicas e com uma elevada taxa de eficiência para que este modo de produção seja viável, visto que a recuperação das biomoléculas representa cerca de 80 % do custo total de obtenção das mesmas (Saikia, 2008; Capela *et al.*, 2017).

Os aminoácidos são outra classe de biomoléculas essenciais (Wang *et al.*, 2005), pois têm várias aplicações em cosmética, medicina e alimentação animal e humana, sendo utilizados nesta área como adoçantes artificiais, aditivos e suplementos alimentares (Capela *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017). Assim, a sua presença na alimentação é essencial, porque desempenham uma função crucial a nível fisiológico, sendo responsáveis por diferentes bioatividades tais como: expressão génica, transdução de sinais e metabolismo das células, estando presentes nas estruturas celulares e extracelulares. Os aminoácidos aromáticos, em particular, são dos mais importantes ao nível nutricional, fazendo parte deste grupo o L-triptofano, a L-fenilalanina e a L-tirosina, por exemplo (Capela *et al.*, 2017).

O L-triptofano é um aminoácido essencial e é usado principalmente na medicina e indústria alimentar, sendo o segundo aminoácido menos comum, a sua estrutura química encontra-se na Figura 1 a). Este aminoácido possui o seu ponto isoelétrico a pH=5,9 e encontra-se na forma aniónica a pH=9,39, Figura 1 b), através da dissociação do H⁺ do grupo carboxilo do L-triptofano. O custo de produção deste aminoácido é elevado, principalmente devido ao processo usado na sua purificação, que é constituído por diversas etapas, sendo que a troca

iónica é um dos processos mais utilizados para este fim tanto à escala industrial como laboratorial (Xie *et al.*, 2011).

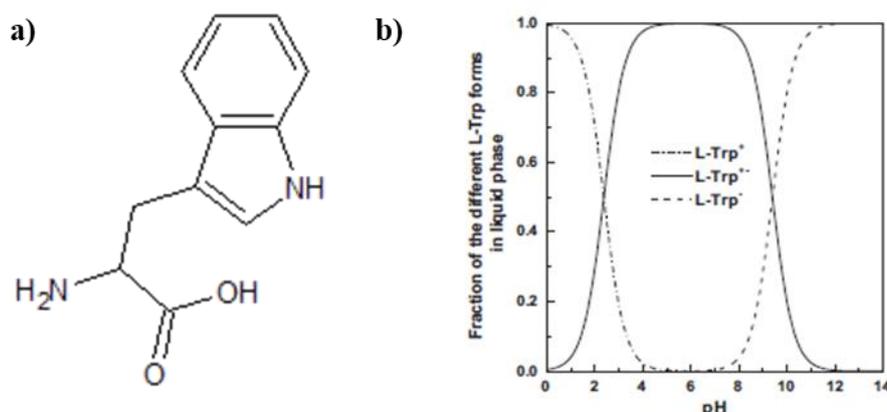


Figura 1 – Estrutura química do aminoácido L-triptofano, imagem a), e distribuição teórica da concentração das diversas espécies de L-triptofano em fase líquida a 25°C, retirado de Xie *et al.*, 2011.

Além da troca iónica existem outros processos de separação de biomoléculas, tais como: técnicas de *salting-out*, baseados na baixa solubilidade das proteínas em soluções muito concentradas em sais; diálise em membranas semipermeáveis, onde as proteínas são separadas de outras moléculas de menores dimensões; cromatografia, onde a separação pode ser baseada no tamanho, pH, interação iónica ou afinidade química entre molécula/matriz; eletroforese, técnica em que as biomoléculas com carga se deslocam numa solução em função do campo eléctrico aplicado, podendo utilizar-se um gel (geralmente de acrilamida) ou outro suporte sólido, para melhorar a separação através da diferença de tamanhos; e finalmente a ultracentrifugação, onde a separação ocorre baseada na diferença de densidades e tamanhos dos constituintes da amostra (Berg *et al.*, 2002). Existem ainda materiais de troca iónica do tipo inorgânico, como o carvão ativado. Este adsorvente tem uma grande área de superfície, devido à elevada porosidade, mas é dispendioso e a sua regeneração não é eficiente. Outro material inorgânico para troca iónica são os zeólitos, um mineral à base de sílica e alumina, que tem um baixo custo e capacidade de troca iónica e adsorção. Estes dois materiais são muito utilizados no tratamento de água (Jiang and Ashekuzzaman, 2012).

À escala laboratorial, os métodos usualmente empregues para a separação de proteínas são a separação por precipitação, a eletroforese em gel de poliacrilamida e dodecil sulfato de sódio, usada para separar biomoléculas de acordo com a sua mobilidade num campo eléctrico, a eletroforese capilar e os vários modos de cromatografia: líquida, de permuta iónica, de exclusão de tamanho e de fase reversa (Elvin *et al.*, 2013; Štěpánová and Kašička, 2016; Ding *et al.*, 2017). À escala industrial são geralmente utilizados métodos de separação por adsorção, cristalização, eletroforese capilar em gel, e ultrafiltração (Saikia and Dutta, 2008; Zhu *et al.*, 2012; Elvin *et al.*, 2013).

1.2. Materiais para troca iónica

Um dos processos mais aplicados para a separação/recuperação de proteínas é a adsorção, através do uso de resinas de troca iónica. Este método baseia-se na troca de iões entre duas fases, em que a resina, constituída por uma rede polimérica iónica reticulada à qual um contra-íão está ligado electrostaticamente, é a fase insolúvel. Esta contacta com uma solução que contem moléculas carregadas, podendo ocorrer uma troca iónica entre as duas fases. A extensão com que a troca iónica ocorre depende de vários fatores tais como o coeficiente de partição do ião a separar entre a fase insolúvel e solúvel, e a concentração do ião na solução. Uma importante vantagem do uso deste método de separação é a possibilidade de reutilização das resinas de troca iónica, dado que no final do processo estas são facilmente recuperadas por filtração e podem ser utilizadas durante vários ciclos de adsorção/regeneração/readsorção (Alexandratos, 2009).

As resinas de troca iónica mais convencionais são compostas por polieletrólitos, que podem ser definidos como polímeros, em que parte substancial das unidades constituintes contêm grupos iónicos, ionizáveis ou ambos. Dependendo da carga dos grupos ionizáveis os polieletrólitos podem ainda ser designados por policatiões quando são constituídos por cargas positivas, polianiões quando as cargas são negativas e polianfólicicos ou zwitteriónicos quando têm ambas as cargas. A principal diferença entre estes dois tipos de polieletrólitos é que no caso do polieletrólito polianfólicico as cargas opostas estão distribuídas ao longo da cadeia do polímero, enquanto que no polieletrólito zwitteriónico as cargas opostas estão presentes na mesma unidade estrutural (Hess *et al.*, 2006). Os policatiões e polianiões podem ainda dividir-se em polieletrólitos fracos e fortes, sendo que o polieletrólito fraco apenas está ionizado para uma certa gama de pH, enquanto que o polieletrólito forte encontra-se sempre ionizado, independentemente do valor de pH. Os polieletrólitos podem ser de base natural/modificado ou sintética (Munir *et al.*, 2016).

Na Tabela 1 encontram-se resumidas algumas características das resinas sintéticas de troca iónica mais comuns disponíveis no mercado (Slagt, 2012). Desta tabela observa-se que a maioria das resinas de troca iónica não opera em toda a gama de pH, o que é limitativo para certos processos de separação. Uma vantagem de utilizar as resinas de troca iónica à base de polieletrólitos sintéticos é que estas permitem um elevado controlo das suas propriedades físico-químicas e conseqüentemente da sua eficiência. Além disso, também é possível controlar o número e tipo de cargas, e o seu peso molecular durante o seu processamento, podendo ser sintetizadas “à medida”, conforme a aplicação desejada (Silva *et al.*, 2016).

Tabela 1 - Resumo das principais características das resinas de troca iônica disponíveis no mercado.

| Tipo de resina | Matriz | Grupo funcional | Características | Exemplo comercialmente disponível / Gama de operação de pH | Referências dos exemplos comercialmente disponíveis |
|------------------------|----------------------|------------------------|---|---|---|
| Catiônica fraca | Acrílico | Ácido carboxílico | <ul style="list-style-type: none"> • Boa estabilidade mecânica e química; • Boa resistência à oxidação; • Separação de bases orgânicas, amino ácidos, vitaminas, antibióticos, entre outros. | <ul style="list-style-type: none"> • DOWEX™ MAC-3 Resin / pH=[5-14] • Amberlite® Weakly Acidic Cation Exchanger / pH=[5-14] | (The Dow Chemical Company, 2017) (SIGMA-ALDRICH, 2017b) |
| Catiônica forte | Estireno | Ácido sulfônico | <ul style="list-style-type: none"> • Sensível à oxidação; • Sensível ao <i>fouling</i> pelo ferro e manganésio; • Aplicada em desmineralização. | <ul style="list-style-type: none"> • DIAION™ SK1B / pH=[0-14] • Dowex® 50WX2 / pH=[0-14] | (Mitsubishi Chemical Corporation, 2017) (SIGMA-ALDRICH, 2017d) |
| Aniônica fraca | Estireno ou Acrílico | Amina Terciária | <ul style="list-style-type: none"> • Boa resistência ao <i>fouling</i> pelos compostos orgânicos; • Aplicado em desmineralização parcial; | <ul style="list-style-type: none"> • Amberlite® IRA-67 / pH=[7-9] • Dowex® 66 free base / pH=[0-7] | (SIGMA-ALDRICH, 2017f) (SIGMA-ALDRICH, 2017e) |
| Aniônica forte | Estireno ou Acrílico | Amina Quaternária | <ul style="list-style-type: none"> • Utilizado na presença de ácidos fracos; • Aplicado para a remoção de carbono orgânico. | <ul style="list-style-type: none"> • Amberlite® IRA-410 chloride form / pH=[0-14] • Dowex® 1X2 chloride form / pH=[0-14] | (SIGMA-ALDRICH, 2017a) (SIGMA-ALDRICH, 2017c) |

1.3. Poli(líquidos iônicos) – polieletrólitos especiais

Os poli(líquidos iônicos) (PLIs), pertencem a uma classe especial de polieletrólitos porque é constituída por monómeros de líquidos iônicos como unidades de repetição, ligados através da cadeia principal, de modo a formar uma arquitetura macromolecular (Yuan *et al.*, 2013). Os líquidos iônicos (LIs) são definidos como sais orgânicos ou inorgânicos, com o ponto de fusão inferior a 100°C (Yuan *et al.*, 2013). A sua forma líquida advém da sua estrutura iônica, com baixa tendência de coordenação com os iões de carga oposta, baixa interação molecular e estrutura química assimétrica (Yuan and Antonietti, 2011).

Na Figura 2 encontram-se algumas das estruturas químicas de catiões e aniões mais comuns nos LIs, e conseqüentemente nos PLIs. Estima-se que existam mais de 10^8 combinações possíveis de catiões e aniões (Joshi and Anderson, 2012).

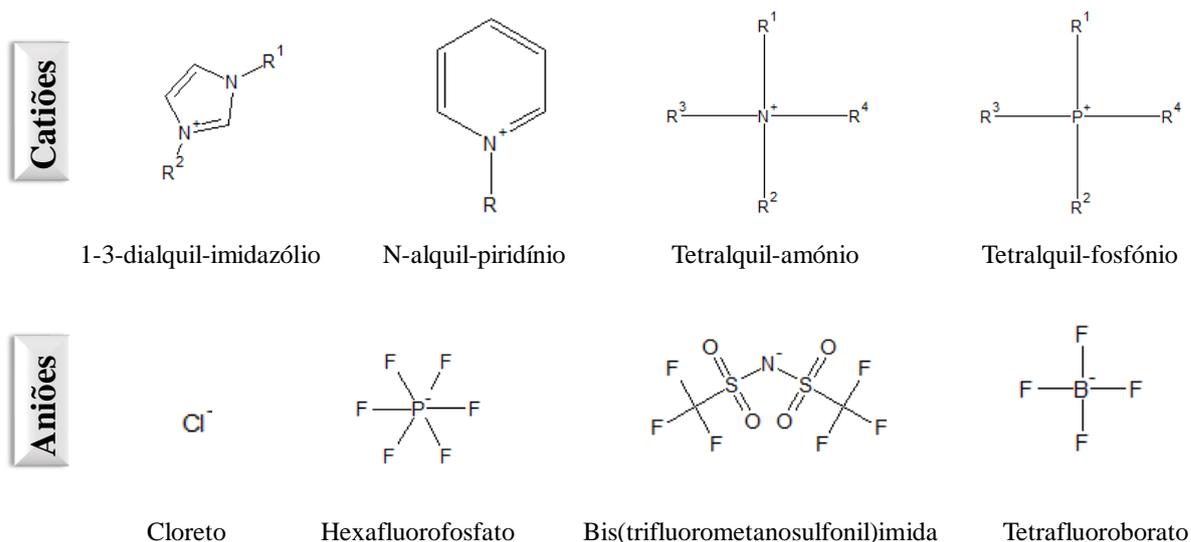


Figura 2 - Exemplos de alguns dos catiões e aniões mais comuns em líquidos iônicos.

Os poli(líquidos iônicos) apresentam algumas das propriedades dos líquidos iônicos, como a condutividade iônica, estabilidade térmica e química e propriedades ajustáveis em solução, além das propriedades típicas dos polímeros, como uma maior estabilidade mecânica e durabilidade (Mecerreyes, 2011). Também é de destacar a excelente capacidade dos poli(líquidos iônicos) para absorver soluções aquosas, podendo aumentar mais do que o dobro do seu volume inicial (Eftekhari and Saito, 2017), podendo assim formar hidrogéis com a capacidade de absorver pelo menos 10 % do seu peso seco em água (Hoffman, 2012) e até superabsorventes com capacidade de absorver 10.000 % do seu peso em água dependendo da composição química do meio (Guilherme *et al.*, 2015).

Os poli(líquidos iônicos) podem ser utilizados em diversas áreas, como energia, química analítica, ambiente ou biotecnologia (Mecerreyes, 2011). Na área dos processos de separação os líquidos iônicos são muito utilizados na captura e separação de CO₂, pois têm a capacidade de facilmente absorver e desabsorver o CO₂ e não são voláteis, contudo tem se investido no uso de PLIs também para este efeito, porque a sua capacidade de absorção e desabsorção é mais rápida e totalmente reversível (Yuan *et al.*, 2013). Aliás, num dos trabalhos desenvolvido sobre esta aplicação, os PLIs à base de imidazólio apresentam maiores capacidades de absorção de CO₂ do que os correspondentes LIs, o que é incomum (Xiong *et al.*, 2012). Ainda na área dos processos de separação, os PLIs têm sido utilizados como fase estacionária em cromatografia, apresentando eficiências superiores aos líquidos iônicos puros, cuja estabilidade diminui com a temperatura devido à diminuição da viscosidade (Anderson and Armstrong, 2005). Além disso, os PLIs também são utilizados em microextração em fase sólida, nomeadamente os PLIs à base do catião imidazólio, tendo-se obtido resultados tão bons como com outras fibras comercialmente disponíveis, neste caso na extração de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (Pang and Liu, 2012). A mesma família de PLIs também foi aplicada com sucesso no processo de microextração em fase sólida de álcoois alifáticos (Feng *et al.*, 2012) e na eletroforese capilar através da modificação das paredes dos capilares (Li *et al.*, 2010). Os PLIs conseguem interagir com outras moléculas através de pontes de hidrogénio, interações hidrofílicas e hidrofóbicas, ligações π - π e interações eletrostáticas, sendo por isso bons candidatos para separações seletivas (Qian *et al.*, 2017).

Neste contexto, tanto os líquidos iônicos como os PLIs, têm sido testados para a separação de aminoácidos, nomeadamente do L-triptofano, tal como se resume na Tabela 2. Tal como se pode constatar, a eficiência de extração do L-triptofano é maior em fases ricas em aniões mais hidrofóbicos, como o [(Tf₂N)⁻], ou aniões halogenados, como o Cl⁻ ou o Br⁻. Constata-se também que a eficiência da extração de L-triptofano diminui com o aumento do tamanho da cadeia alquila do catião. Por fim, o pH do meio é um dos fatores que afeta a capacidade de extração do L-triptofano, sendo esta maior quanto o aminoácido está acima ou abaixo do seu ponto isoelétrico (pH=5,9) (Xie *et al.*, 2011).

Tabela 2 - Sistemas à base de líquidos iônicos e de poli(líquidos iônicos) para a separação de L-triptofano.

| Composição e coeficiente de partição (C.P.) do amino ácido no sistema | Processo de separação | Condições | Referência |
|--|---|---|--------------------------------|
| [C ₆ mim][BF ₄] → pH(6,1) 1,0 < C.P. < 8,6 pH(1,0) | Extração líquido-líquido | T = 20 °C | (Wang <i>et al.</i> , 2005) |
| [C ₈ mim][BF ₄] → pH(5,8) 1,2 < C.P. < 5,9 pH(0,9) | | V _{L-triptofano} = 1 mL | |
| [C ₄ mim][PF ₆] → pH(4,2) 0,014 < C.P. < 0,47 pH(0,9) | | V _{LI} = 1 mL | |
| [C ₆ mim][PF ₆] → pH(2,5) 0,020 < C.P. < 0,10 pH(0,9) | | Duração: 30 min | |
| [C ₂ min][Cl] → C.P.=59,2±0,4 | Extração líquido-líquido com sistema ABSs | T = 25 °C [L-triptofano] = 0,78 g dm ⁻³ Duração: 12h Composição do sistema ABSs: 25 % (m/m) de LI, 15 % (m/m) de K ₃ PO ₄ e H ₂ O no restante | (Ventura <i>et al.</i> , 2009) |
| [C ₂ min][Ac] → C.P.=16,4±0,8 | | | |
| [C ₂ min][C ₁ SO ₄] → C.P.=4,47±0,9 | | | |
| [C ₂ min][C ₂ SO ₄] → C.P.=5,96±0,5 | | | |
| [C ₂ min][CF ₃ SO ₃] → C.P.=17,5±0,8 | | | |
| [C ₄ min][Cl] → C.P.=36,6±0,6 | | | |
| [C ₄ min][Br] → C.P.=35,6±0,8 | | | |
| [C ₄ min][C ₁ SO ₃] → C.P.=10,4±0,4 | | | |
| [C ₄ min][N(CN) ₂] → C.P.=45,1±0,9 | | | |
| [C ₄ min][TFA] → C.P.=36,1±0,7 | | | |
| [C ₄ min][CF ₃ SO ₃] → C.P.=16,6±0,6 | | | |

Tabela 2 - Sistemas à base de líquidos iônicos e de poli(líquidos iônicos) para a separação de L-triptofano - continuação.

| Composição e coeficiente de partição (C.P.) do amino ácido no sistema | Processo de separação | Condições | Referência |
|---|--|--|---------------------------------|
| [amin][Cl] → C.P.=124±5 [OHC ₂ min][Cl] → C.P.=73,1±0,8 [C ₂ min][Cl] → C.P.=59,2 ±0,4 [C ₄ min][Cl] → C.P.=36,6±0,6 [C ₇ H ₇ min][Cl] → C.P.=78,4±0,5 [C ₁ im][Cl] → C.P.=21,3±0,3 [im][Cl] → C.P.=14,2±0,4 | Extração líquido-líquido com sistema ABSs | T = 25°C [L-triptofano] = 0,78 g dm ⁻³ Duração: 12h | (Neves <i>et al.</i> , 2009) |
| [C ₂ min][Tf ₂ N] → C.P.=4,5±0,1 [C ₃ min][Tf ₂ N] → C.P.=1,80±0,02 [C ₄ min][Tf ₂ N] → C.P.=0,93±0,02 [C ₅ min][Tf ₂ N] → C.P.=0,35±0,07 [C ₆ min][Tf ₂ N] → C.P.=0,256±0,001 [C ₇ min][Tf ₂ N] → C.P.=0,11±0,03 [C ₈ min][Tf ₂ N] → C.P.=0,030±0,005 [C ₆ min][BF ₄] → C.P.=7,8±0,1 [C ₈ min][BF ₄] → C.P.=2,8±0,1 [C ₄ min][PF ₆] → C.P.=0,42±0,02 [C ₈ min][PF ₆] → C.P.=0,020±0,005 [C ₃ mpyrr][Tf ₂ N] → C.P.=2,2±0,1 [C ₃ mpyr][Tf ₂ N] → C.P.=1,75±0,02 [C ₃ mpip][Tf ₂ N] → C.P.=1,30±0,08 [C ₂ C ₂ im][Tf ₂ N] → C.P.=1,80±0,01 [C ₄ mpyrr][Tf ₂ N] → C.P.=0,79±0,05 [C ₄ mmim][Tf ₂ N] → C.P.=0,51±0,02 | Extração líquido-líquido | T = 25 °C pH ≈ 1,0 [L-triptofano] = 0,78 g dm ⁻³ V _{L-triptofano} = 2 mL V _{LI} = 2 mL Duração: 3h | (Tomé <i>et al.</i> , 2010) |

Tabela 2 - Sistemas à base de líquidos iônicos e de poli(líquidos iônicos) para a separação de L-triptofano - continuação.

| Composição e coeficiente de partição (C.P.) ou eficiência de extração (%EE) do amino ácido no sistema | Processo de separação | Condições | Referência |
|--|---|--|--------------------------------|
| [C ₆ min][C ₂ SO ₃] (25 %(m/m)) → C.P.=15,6 [C ₆ min][C ₂ SO ₃] (28 %(m/m)) → C.P.=10,0 [C ₆ min][C ₁ SO ₃] (26 %(m/m)) → C.P.=81,4 [C ₆ min][C ₁ SO ₃] (30 %(m/m)) → C.P.=13,9 [C ₄ min][C ₁ SO ₃] (26 %(m/m)) → C.P.=96,0 [C ₄ min][C ₁ SO ₃] (30 %(m/m)) → C.P.=13,8 | Extração líquido-líquido com sistema ABSs | T = 25 °C [L-triptofano] = 0,82 g dm ⁻³ Duração: 24h Composição do sistema ABSs: 25-30 %(m/m) de LI, 15 %(m/m) de K ₃ PO ₄ e H ₂ O no restante | (Patinha <i>et al.</i> , 2013) |
| L-Pro+[P ₄₄₄₄][Br] → C.P.= 0,570 (%EE= 6,26±0,20) L-Lys+[P ₄₄₄₄][Br] → C.P.=4,546 (%EE=85,31±0,09) L-Lys+[P ₄₄₄₁][C ₁ SO ₄] → C.P.=3,220 (%EE=76,63±0,45) L-Lys.HCl+[P ₄₄₄₄][Br] → C.P.=0,220 (%EE=71,62±1,27) L-Lys+[C ₄ min][CF ₃ SO ₃] → C.P.=0,626 (%EE=29,42±1,60) L-Lys+[C ₄ min][N(CN) ₂] → C.P.=0,603 (%EE = 18,98±1,12) | Extração líquido-líquido com sistema ABSs | T = 25 °C Duração: 30 min Composição do sistema ABSs: 36,53-51,50 %(m/m) de LI, 11,40-31,73 %(m/m) de aminoácidos aromáticos e H ₂ O no restante | (Capela <i>et al.</i> , 2017) |

Tabela 2 - Sistemas à base de líquidos iônicos e de poli(líquidos iônicos) para a separação de L-triptofano - continuação.

| Composição e coeficiente de partição (C.P.) e eficiência de extração (%EE) do amino ácido no sistema | Processo de separação | Condições | Referência |
|--|---|---|-----------------------------|
| Poli([Pyr ₁₁][Ac]) → C.P.=126 (%EE = 97,6), pH=12,37 Poli([Pyr ₁₁][Hex]) → C.P.=453 (%EE = 99,0), pH=8,73 Poli([Pyr ₁₁][Adi]) → C.P.=5,41 (%EE = 47,4), pH=7,54 Poli([Pyr ₁₁][Cit]) C.P.=20,0 (%EE = 53,7), pH=6,59 | Extração líquido-líquido com sistema ABSs | T = 25 °C [L-triptofano] = 0,8 g dm ⁻³ Duração: 24h Composição do sistema ABSs: 8-10 %(m/m) de LI, 20-25 %(m/m) de K ₃ PO ₄ e H ₂ O no restante | (João <i>et al.</i> , 2015) |
| Poli([BVimCl] (25 % molar) [SPAK] (75 % molar) [HEMA] (50 % molar)) amostra seca → %EE = 63% Poli([BVimCl] (25 % molar) [SPAK] (75 % molar) [HEMA] (50 % molar)) amostra liofilizada → %EE = 70% Poli([BVimCl] (75 % molar) [SPAK] (25 % molar) [HEMA] (50 % molar)) amostra seca → %EE = 40% Poli([BVimCl] (25 % molar) [SPAK] (75 % molar) [HEMA] (50 % molar)) amostra liofilizada → %EE = 73% | Sorção sólido-líquido | T = 25 °C [L-triptofano] = 50 mg dm ⁻³ V _{L-triptofano} = 10 mL / 50 mL Massa de hidrogel: 10 mg / 120 mg Duração: 9/10 dias | (Valente, 2016) |

1.4. Polímeros inteligentes – polieletrólitos termossensíveis

Os polímeros inteligentes exibem vários tipos de resposta consoante aplicação de estímulos físicos e químicos como a temperatura, o pH, o campo elétrico, a força iónica ou o tipo de solvente (Ullah *et al.*, 2015). De todos os tipos de resposta, os materiais que respondem a estímulos de temperatura ou pH são os mais estudados, porque esses parâmetros podem mudar naturalmente ou ser facilmente controlados (Haq *et al.*, 2017).

Na resposta ao estímulo da temperatura, existem dois tipos principais de resposta, nomeadamente: o polímero apresenta uma temperatura de solução crítica inferior (*Lower Critical Solution Temperature*, LCST em inglês), e quando se encontra acima desta contrai, como é o caso da poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM), o segundo caso o polímero apresenta uma temperatura de solução crítica superior (*Upper Critical Solution Temperature*, UCST em inglês), e contrai abaixo desta temperatura, como é o caso do poli(N-acrilóilglicinamida) (Seuring and Agarwal, 2013).

Poli(n-isopropilacrilamida)

Um dos hidrogéis termossensíveis mais estudado e aplicado é o PNIPAM, Figura 3. Quando a temperatura é mais baixa do que a LCST, $T_{LCST} \approx 32^\circ\text{C}$, o grupo amida, hidrofílico, interage com as moléculas de água ou o fluido circundante formando pontes de hidrogénio, sendo estas responsáveis pelo intumescimento do polímero. À medida que a temperatura aumenta acima do LCST, as interações entre os grupos hidrofóbicos, grupos propilo, tornam-se mais fortes e as pontes de hidrogénio, anteriormente formadas, ficam mais fracas. Este comportamento faz com que a água/fluido absorvido seja libertado e o polímero contraía, tal com representado na Figura 4 (Schild, 1992; Ullah *et al.*, 2015).

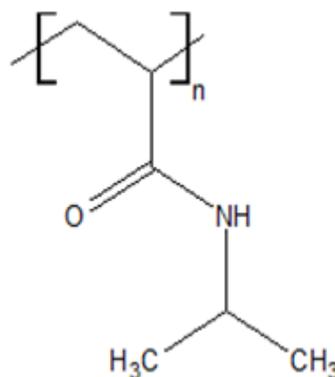


Figura 3 – Estrutura química da poli(N-isopropilacrilamida).

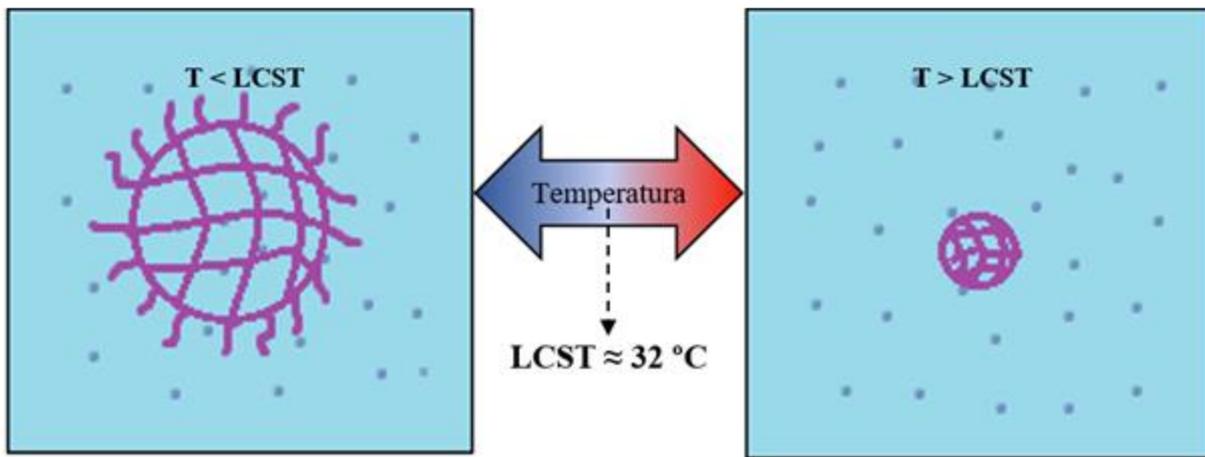


Figura 4 – Esquema ilustrativo da resposta à temperatura das partículas de hidrogel de poli(N-isopropilacrilamida).

Tal como a maioria dos hidrogéis, o PNIPAM não apresenta boas propriedades mecânicas, porque apresenta baixa densidade quando inchado. Isto pode ser uma desvantagem, quando se pretende utilizar este polímero em aplicações que requerem alguma resistência mecânica. Para colmatar esta desvantagem, têm sido desenvolvidas técnicas para melhorar a resistência deste polímero, nomeadamente através da síntese de copolímeros ou de redes poliméricas interpenetrantes (Haq *et al.*, 2017).

1.5. Redes poliméricas interpenetrantes (RPIs)

Para melhorar as propriedades mecânicas dos hidrogéis e a sua capacidade de sorção de água, uma nova classe de materiais foi desenvolvida nos últimos anos, as redes poliméricas interpenetrantes (RPIs) (Dragan, 2014). A síntese de RPIs é uma das alternativas para o desenvolvimento de polímeros inteligentes e tem ganho muito interesse por parte da comunidade científica nos últimos anos (Mu *et al.*, 2017). A vantagem deste método é a liberdade para a combinação de polímeros com diferentes propriedades, complementando deficiências ao nível das propriedades individuais (Maleki *et al.*, 2017).

Segundo a definição da IUPAC, um RPI é uma estrutura que contém pelo menos duas redes que estão pelo menos parcialmente entrelaçadas a uma escala molecular, mas que não estão ligadas covalentemente uma à outra. Estas redes não se conseguem separar, a menos que as suas ligações químicas sejam quebradas (IUPAC, 1997).

Existem várias designações e formas de classificação dos RPIs na literatura, pelo que, neste trabalho será apenas considerada a classificação dos hidrogéis RPIs segundo o modo de preparação, podendo neste caso existir simultâneos ou sequenciais. Os RPIs simultâneos obtêm-se quando se coloca os dois monómeros e os seus respetivos agentes de reticulação e iniciadores, e cada rede é polimerizada por reações independentes, como reação em cadeia e de

adição. No caso dos RPIs sequenciais, estes obtêm-se quando se coloca a inchar a primeira rede, previamente polimerizada, dentro de uma solução composta pelo segundo monómero e iniciador, e que pode ter ou não agente de reticulação. Quando esta solução tem agente de reticulação forma-se um RPI completo e na ausência deste forma-se um semi RPI (Dragan, 2014).

2. Materiais e métodos

Neste capítulo são descritos os materiais necessários para a síntese dos hidrogéis, assim como, o procedimento utilizado durante todas as etapas da sua síntese e os métodos utilizados para os caracterizar.

2.1. Materiais

O cloreto de 1-vinil-3-butilimidazólio ($C_9H_{15}ClN_2$; $M_w=187$ g/mol; 95 %) foi comprado à Iolitec, *Ionic Liquids Technologies GmbH*, Alemanha; a N-isopropilacrilamida ($C_6H_{11}NO$; $M_w=113,16$ g/mol; 97 %), a N,N'-metilenobisacrilamida ($C_7H_{10}N_2O_2$; $M_w=154,17$ g/mol; 99 %), o persulfato de amónio ($H_8N_2O_8S_2$; $M_w=228,18$ g/mol; 98 %), o N,N,N',N'-tetrametiletilnediamine ($C_6H_{16}N_2$; $M_w=116,2$ g/mol; ≥ 99 %), o L-triptofano ($C_{11}H_{12}N_2O_2$; $M_w=204,23$ g/mol; ≥ 98 %), o bis(trifluorometanosulfonyl)imida de lítio ($C_2F_6LiNO_4S_2$; $M_w=287,09$ g/mol), o Trizma[®] HCl ($C_4H_{11}NO_3 \cdot HCl$; $M_w=157,60$ g/mol; ≥ 99 %), o Trizma[®] base ($C_4H_{11}NO_3$; $M_w=121,14$ g/mol; $\geq 99,9$ %) e a acrilamida (C_3H_5NO ; $M_w=71,08$ g/mol; $\geq 99\%$) foram comprados ao Sigma-Aldrich Portugal. Todos os reagentes foram utilizados tal como recebidos, à exceção do cloreto de 1-vinil-3-butilimidazólio, que é liofilizado a 0,1 mbar durante 24 horas antes de ser utilizado, porque é muito higroscópico, sendo posteriormente armazenado num exsiccador.

2.2. Síntese dos copolímeros de cloreto de 1-vinil-3-butilimidazólio com N-isopropilacrilamida

Os copolímeros reticulados foram sintetizados através da técnica de polimerização de radical livre em solução aquosa, usando como iniciador térmico o persulfato de amónio (APS), como catalisador o N,N,N',N'-tetrametiletilnediamine (TEMED), e como agente de reticulação a N,N'-metilenobisacrilamida (MBA). Os monómeros utilizados foram o cloreto de 1-vinil-3-butilimidazólio (BVimCl), juntamente com o N-isopropilacrilamida (NIPAM), a estrutura química dos reagentes está apresentada na Figura 6. A composição molar de BVimCl/NIPAM foi variada entre 0/100, 33/67, 50/50 e 100/0, com o objetivo de estudar a influência da composição relativa de cada monómero na eficiência do copolímero para a sorção do aminoácido L-triptofano. A concentração total de monómeros foi mantida para todos os copolímeros sintetizados, exceto no caso do PNIPAM (BVimCl/NIPAM=0/100), porque a solubilidade do NIPAM em água é baixa. É de referir que para os outros copolímeros não houve

este problema, porque o BVimCl auxilia a dissolução do NIPAM em água. As percentagens molares utilizadas de monómero, iniciador, catalisador e reticulante para cada caso encontram-se resumidos na Tabela 3. A nomenclatura usada para identificar as amostras na Tabela 3 e ao longo do texto significa COP de copolímero, depois a razão entre BVimCl/NIPAM (0/100, 33/67, 50/50 ou 100/0) e por último R2 para as amostras com 2 % de reticulação ou R5 para as amostras com 5 % de reticulação.

Para preparar os copolímeros compostos por BVimCl/NIPAM (50/50 e 100/0), os monómeros, reticulante e iniciador foram dissolvidos em 1 mL de água miliQ num frasco de vidro 20 mL, durante 3 horas com uma velocidade de agitação de 800 rpm. Tal como referido anteriormente, no caso do PNIPAM o monómero NIPAM e restantes compostos foram dissolvidos em 7 mL de água miliQ e nos copolímeros BVimCl/NIPAM=33/67 foi em 1,5 mL de água miliQ para manter a concentração 8,8 M. Nos últimos 10 minutos, a mistura foi colocada no banho de ultrassons para desgaseificar removendo assim o oxigénio dissolvido, porque a sua presença iria prejudicar a ação do TEMED, dado que este é sensível ao ar. A seguir pipetou-se o TEMED e colocou-se a solução a desgaseificar novamente por mais um minuto. De seguida, transfere-se a mistura para um molde constituído por duas placas de vidro, separadas por um espaçador de silicone com 1 mm de espessura. A polimerização ocorreu à temperatura ambiente durante 18 horas. Em seguida as amostras foram colocadas dentro de membranas de diálise Spectra/Por® 1 com *cut-off* de 6-8 kD e imersas em água destilada (cerca de 1 litro de água por amostra) mudando-se a água 3 vezes por dia, durante 4 a 5 dias. Para assegurar que os monómeros não reagidos foram removidos durante a lavagem, fez-se a leitura do espectro UV/Vis da água de lavagem, considerando-se o material lavado quando nenhum pico é detetado no espectro. As amostras foram então secas na estufa a 50°C durante dois dias. Depois foram moídas com uma picadora e peneiradas usando dois peneiros entre as gamas de 1,41 mm e 1 mm. Os ensaios foram efetuados com o material que apresenta granulometria na gama 1-1,41 mm. Um exemplo do aspeto macroscópico dos copolímeros obtidos é apresentado na Figura 5.

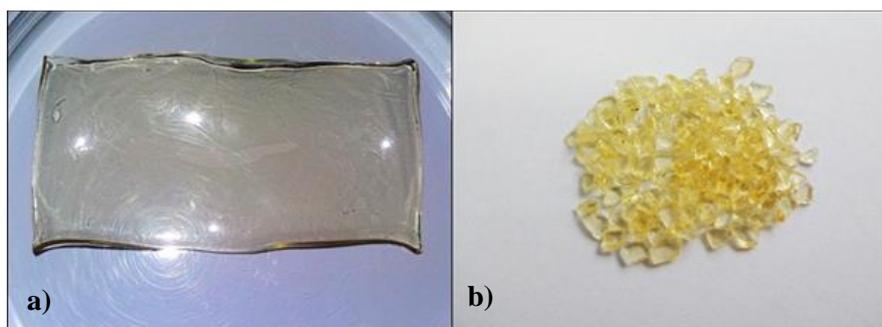


Figura 5 – Exemplo do aspeto macroscópico dos copolímeros após polimerização, imagem a), e após moagem, imagem b). A amostra apresentada corresponde ao COP_50/50_R5.

Tabela 3 – Resumo das quantidades de reagentes utilizadas na síntese dos copolímeros à base de BVimCl e NIPAM.

| Amostra | BVimCl (mmol) | NIPAM (mmol) | Nº Mol Total (mmol) | H ₂ O (ml) | Conc. Total (M) | Razão BVimCl/NIPAM | MBA (% mol) | APS (% mol) | TEMED (% mol) |
|--------------|---------------|--------------|---------------------|-----------------------|-----------------|--------------------|-------------|-------------|---------------|
| COP_0/100_R2 | 0 | 8,8 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0/100 | 2 | | |
| COP_0/100_R5 | 0 | 8,8 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0/100 | 5 | | |
| COP_33/67_R2 | 4,4 | 8,8 | 13,2 | 1,5 | 8,8 | 33/67 | 2 | | |
| COP_33/67_R5 | 4,4 | 8,8 | 13,2 | 1,5 | 8,8 | 33/67 | 5 | 1 | 0,5 |
| COP_50/50_R2 | 4,4 | 4,4 | 8,8 | 1 | 8,8 | 50/50 | 2 | | |
| COP_50/50_R5 | 4,4 | 4,4 | 8,8 | 1 | 8,8 | 50/50 | 5 | | |
| COP_100/0_R2 | 8,8 | 0 | 8,8 | 1 | 8,8 | 100/0 | 2 | | |
| COP_100/0_R5 | 8,8 | 0 | 8,8 | 1 | 8,8 | 100/0 | 5 | | |

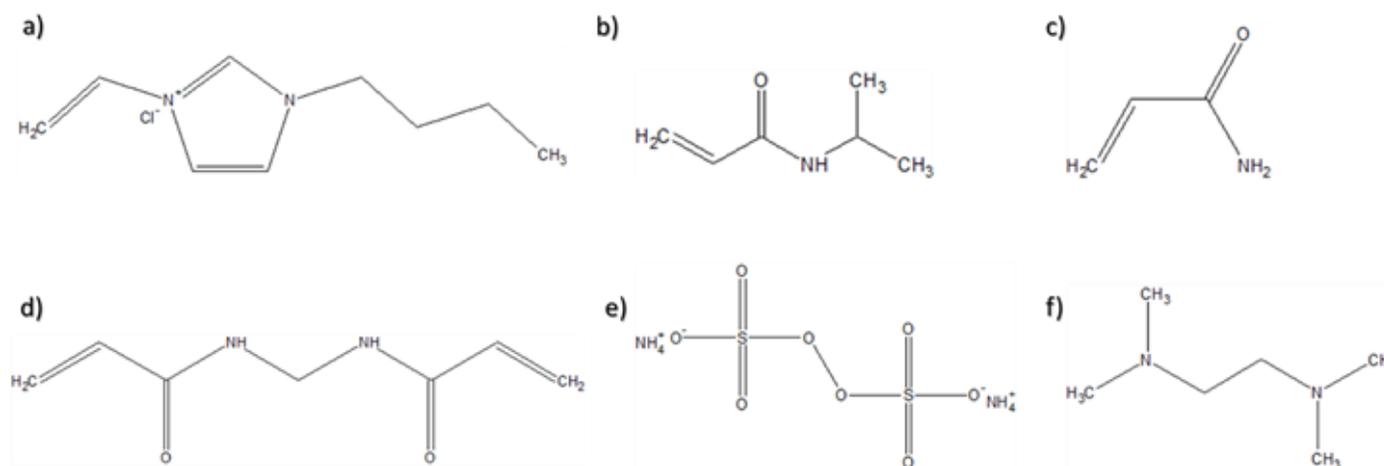


Figura 6 – Estrutura química dos monómeros a) BVimCl, b) NIPAM e c) AAm; do reticulante d) MBA; do iniciador térmico e) APS e do catalisador f) TEMED.

temperatura ambiente durante 18 horas. Os RPIs foram lavados seguindo o mesmo procedimento descrito para os copolímeros. Após esta etapa retira-se o excesso de água dos RPIs, com a ajuda de papel de filtro e as amostras são congeladas e posteriormente liofilizadas a 0,1 mbar durante 36 horas. As amostras obtidas são cortadas em rodela e armazenadas num exsiccador à temperatura ambiente antes de serem usadas para caracterização. Na Figura 8 apresenta-se dois exemplos do aspeto macroscópico dos RPIs após a síntese, depois da lavagem e no final da liofilização.

Tabela 4 – Resumo das quantidades de reagentes utilizadas na síntese das redes poliméricas interpenetrantes de BVimCl/NIPAM e BVimCl/AAm.

| Amostra | 1º parte | | | | | | 2º parte | | | | | |
|-------------|--------------|----------|-----------|---------------|---------------|-----------------|---------------|----------|-----------|---------------|---------------|-----------------|
| | NIPAM (mmol) | H2O (mL) | Conc. (M) | MBA (% molar) | APS (% molar) | TEMED (% molar) | BVimCl (mmol) | H2O (mL) | Conc. (M) | MBA (% molar) | APS (% molar) | TEMED (% molar) |
| RPI_N_33/67 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 4,4 | 2 | 2,2 | 2 | 1 | 0,5 |
| RPI_N_50/50 | 4,4 | 3,5 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 4,4 | 2 | 2,2 | 2 | 1 | 0,5 |
| RPI_N_0/100 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Amostra | AAM (mmol) | H2O (mL) | Conc. (M) | MBA (% molar) | APS (% molar) | TEMED (% molar) | BVimCl (mmol) | H2O (mL) | Conc. (M) | MBA (% molar) | APS (% molar) | TEMED (% molar) |
| RPI_A_33/67 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 4,4 | 2 | 2,2 | 2 | 1 | 0,5 |
| RPI_A_50/50 | 4,4 | 3,5 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 4,4 | 2 | 2,2 | 2 | 1 | 0,5 |
| RPI_A_0/100 | 8,8 | 7 | 1,3 | 0,1 | 1 | 0,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

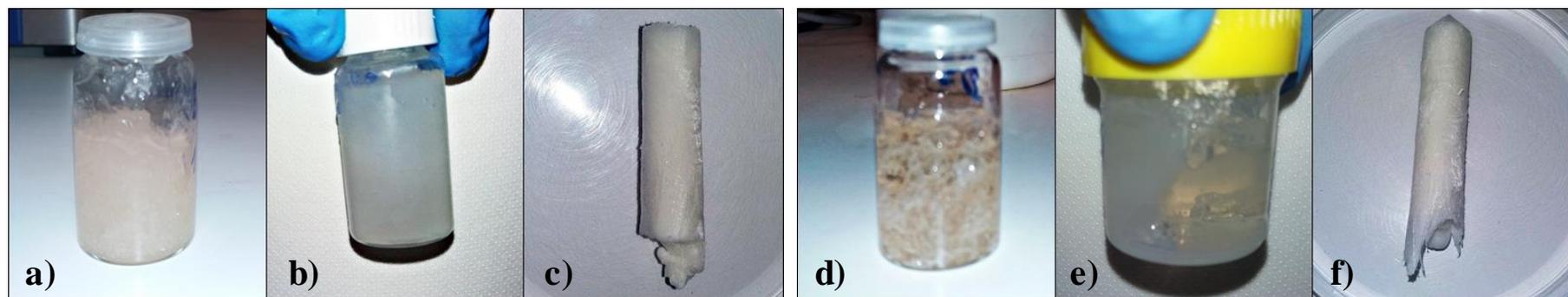


Figura 8 – Exemplo do aspeto das redes poliméricas interpenetrantes durante as diversas fases da sua síntese. Após polimerização, imagem a) e d), após lavagem, imagem b) e e), e após liofilização, imagem c) e f). As imagens a), b) e c) correspondem ao RPI_N_33/67 e as imagens d), e) e f) correspondem ao RPI_A_33/67.

Troca do anião cloreto (Cl⁻) pelo anião bis(trifluorometanosulfonyl)imida de lítio [(Tf₂N)⁻]

Após a síntese dos copolímeros e dos RPIs foi efetuada a substituição do anião cloreto presente na estrutura do monómero BVimCl pelo anião bis(trifluorometanosulfonyl)imida porque durante o ensaio de sorção de L-triptofano com aplicação de campo elétrico detetou-se uma possível degradação do aminoácido pela acidificação do meio causada pela presença do anião cloreto, que posteriormente forma ácido hipocloroso, este assunto é discutido em detalhe na secção 3.1.

No caso dos copolímeros colocaram-se ~50 mg (~0,36 mmol de LI) de cada copolímero sintetizado (à exceção dos COP_0/100_R2 e COP_0/100_R5 que não têm anião) numa solução aquosa de bis(trifluorometanosulfonyl)imida de lítio (Li[Tf₂N]) com concentração 2,75 M, com excesso de número de moles de Li[Tf₂N] (~0,55 mmol). As amostras foram deixadas a agitar (100 rpm) a 25 °C, durante cerca de 60 horas. Após esse tempo foram lavadas com água destilada durante um dia, tendo-se mudado a água 5 vezes. Por fim, as amostras foram secas a 50 °C durante 36 horas. O procedimento utilizado para a troca iónica nos RPIs é semelhante com a exceção de que a massa inicial liofilizada é de ~25 mg (0,18 mmol de LI), tendo-se usado uma solução de Li[Tf₂N] com concentração 1,35 M. Após a lavagem, os RPIs são congelados, retira-se o excesso de água com a ajuda de papel de filtro, e liofilizadas a 0,1 mbar durante 36 horas. A troca iónica para os RPIs foi efetuada para as amostras RPI_N_33/67, RPI_N_50/50, RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50, visto que as restantes não têm líquido iónico na sua constituição.

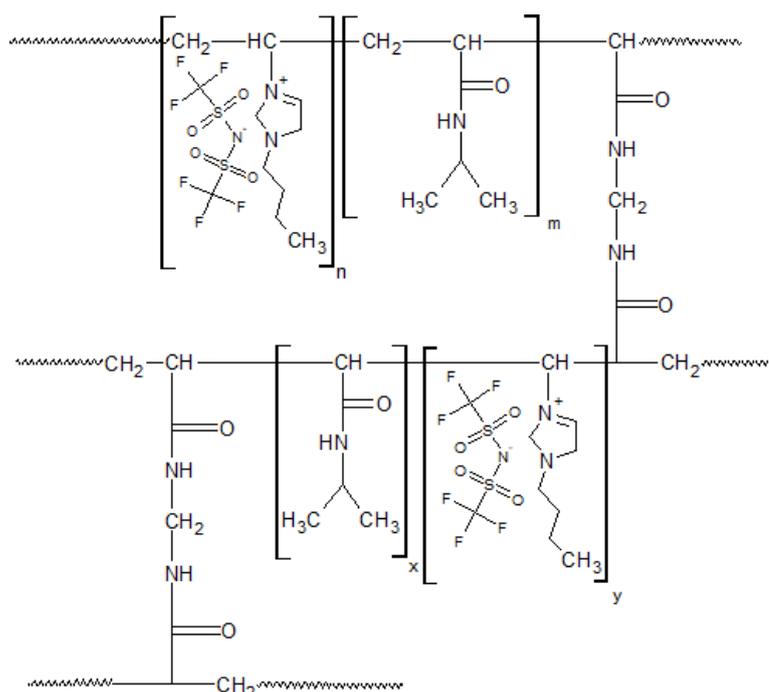


Figura 9 – Estrutura química do copolímero BVimTf₂S/NIPAM.

2.4. Métodos de caracterização

Teste preliminar para identificação da temperatura de transição de fases (LCST) das redes poliméricas interpenetrantes preparadas

Para identificar de forma preliminar a temperatura à qual ocorre a transição de fases nos RPIs sintetizados, colocou-se cada um dos RPIs sintetizados (RPI_N_0/100, RPI_N_33/67, RPI_N_50/50, RPI_A_0/100, RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50) antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻], estes foram colocados após a lavagem, dentro de um frasco, num banho termostático (RE107 LAUDA). O ensaio foi realizado entre 0 e 50°C com incrementos de 5°C e estabilização de 15 minutos, antes de cada alteração de temperatura. Para cada temperatura registaram-se as alterações visuais, como a segregação de fases, observadas em cada uma das amostras.

Capacidade de sorção de água em função da temperatura

Para estudar o efeito da temperatura na capacidade de sorção de água, dos diferentes copolímeros, colocaram-se ~50 mg de cada amostra seca, antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻], em 8 mL de água destilada durante 18 horas para garantir que se atinja o equilíbrio, no banho termostático (RE107 LAUDA) a diferentes temperaturas (15°C, 20 °C; 25 °C; 30 °C; 32 °C; 35 °C; 37 °C; 40 °C, 45°C e 50°C). Por fim, pesou-se a amostra, retira-se o excesso de água com a ajuda de papel de filtro O ensaio foi realizado em duplicata.

A quantidade de água absorvida por cada amostra foi calculada da seguinte forma:

$$C. S. = \frac{m_t - m_s}{m_s} \quad (1)$$

Em que C.S. é a capacidade de sorção, m_t é a massa da amostra quando atinge o equilíbrio, no tempo t e para cada temperatura e m_s é a massa da amostra seca.

Ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo elétrico

Os ensaios de sorção de L-triptofano foram efetuados com os copolímeros sintetizados com e sem troca de anião, Cl⁻ por [(Tf₂N)⁻]. As amostras com ~50 mg de cada copolímero foram colocadas em 18 mL de uma solução de L-triptofano (~50 mg/L), dissolvido numa solução tampão de Trizma base (~1 g/L e pH=9,7) e colocadas a agitador (100 rpm) num *thermoshaker* (Unitron INFORS HT) a 25 °C. Antes do ensaio de sorção as amostras foram inchadas numa solução de Trizma base (~1 g/L) durante 24 horas para evitar alterações de volume durante a realização do ensaio tendo em conta a elevada capacidade de sorção de água destes materiais. A quantidade de L-triptofano removida da solução foi quantificada usando um espectrofotómetro (Jasco, modelo V650, Japão) sem reposição do solvente (retirou-se 2,5 mL

do sobrenadante e mediu-se a sua absorvância, depois devolveu-se ao recipiente inicial), no comprimento de onda de 278 nm e com temperatura controlada de 25 °C. A massa de L-triptofano sorvido foi calculada recorrendo à curva de calibração, apresentada na Figura B1 do Anexo B. Este procedimento foi repetido regularmente durante uma semana. O ensaio foi realizado em duplicado para garantir reprodutibilidade.

Ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico

Os ensaios de sorção de L-triptofano com aplicação de campo elétrico que se descrevem de seguida resultam de um conjunto de ensaios prévios de otimização tal como será descrito na secção 3.1. Para os ensaios de sorção com aplicação de campo elétrico utilizaram-se ~50 mg de amostra de cada um dos copolímeros secos e ~15 mg de cada um dos RPIs, em duplicata, após a troca de anião descrita na secção 2.4. As amostras foram colocadas a inchar numa solução de Trizma base (~1 g/L) durante 24 horas, tal como descrito na secção anterior. Em seguida o excesso de água foi removido com papel de filtro e foram colocadas numa caixa de Petri dentro do sistema Isoelectric Focusing Unit (IEF-SYS SCIE-PLAS), com 3 cm de distância entre o eléctrodo do cátodo e o eléctrodo do ânodo e contendo 18 mL de solução de L-triptofano (~50 mg/L) dissolvido numa solução tampão de Trizma base (~1 g/L), tendo-se aplicado uma diferença de potencial de 100 V durante 3 horas. Na Figura 10 está representado um esquema do ensaio de sorção do L-triptofano com aplicação do campo elétrico. Todos os ensaios foram realizados em duplicata. A quantidade de L-triptofano removida da solução foi quantificada tal como no ensaio de sorção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico.

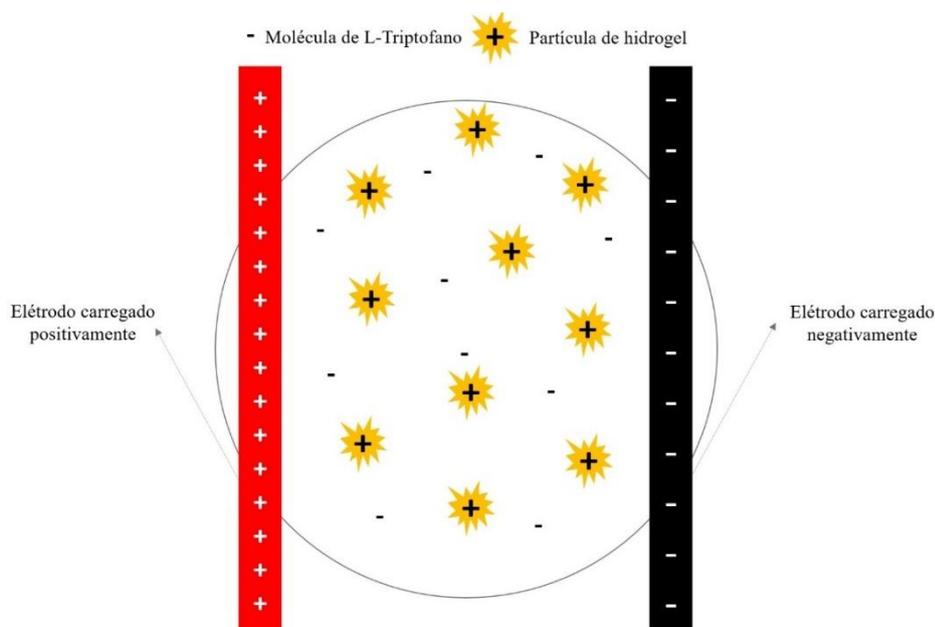


Figura 10 – Representação esquemática do ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano pelos hidrogéis com aplicação de campo elétrico.

Ensaio preliminar de dessorção do L-triptofano removido

Numa primeira avaliação da capacidade de regeneração dos copolímeros após a sorção de L-triptofano, colocou-se as amostras COP_50/50_R2 secas, depois do ensaio de sorção de L-triptofano com aplicação de campo elétrico, numa caixa de Petri com 18 mL de solução tampão Trizma base (~1g/L) dentro do sistema Isoelectric Focusing Unit (IEF-SYS SCIE-PLAS), nas mesmas condições do ensaio de sorção, descrito anteriormente. A quantidade de L-triptofano recuperado foi quantificada tal como no ensaio de sorção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico.

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)

O espectrofotómetro de infravermelho com o módulo de reflectância total atenuada, FT-IR / NIR Spectrometer Frontier (PerkinElmer) com um detetor FR-DTGS, foi utilizado para analisar os hidrogéis sintetizados com uma resolução de 4 cm^{-1} , com 128 scans entre 500 e 4000 cm^{-1} . A análise pretende identificar a presença dos grupos funcionais do BVimCl, do NIPAM e da AAm.

Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

O perfil calorimétrico dos hidrogéis foi obtido usando o equipamento TA Instruments (Q100) numa gama de temperaturas entre 10 °C e 70 °C a uma taxa de 10 °C/min . Os perfis obtidos têm como objetivo identificar a temperatura em que ocorre a transição de fase, LCST. Para realizar esta análise as amostras foram colocadas a inchar em água destilada, 24 horas antes da análise. Posteriormente, colocaram-se ~15 mg de amostra húmida, retirando-se o excesso de água com a ajuda do papel de filtro, em painéis de alumínio hermeticamente seladas.

Análise termogravimétrica (TGA)

A análise termogravimétrica foi usada não só para confirmar a estabilidade térmica dos materiais sintetizados na gama de temperatura de operação para a recuperação do aminoácido L-triptofano, mas também, e principalmente, para indiretamente estimar a composição química dos copolímeros e dos RPIs sintetizados. Esta análise foi realizada para amostras com massas entre 7-10 mg, previamente armazenadas em exsiccadores, usando o equipamento TA Instruments (Q600, USA), numa gama de temperatura entre 25 e 600 °C a uma taxa de 10 °C/min e em atmosfera de azoto usando um fluxo total de 100 ml/min .

3. Resultados experimentais e discussão

3.1. Resultados relativos à síntese e caracterização dos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM

Nesta secção são apresentados e discutidos os resultados experimentais relativos à síntese e caracterização dos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM, começando pela apresentação do rendimento da reação de cada um dos materiais sintetizados. De seguida apresenta-se a caracterização química e termomecânica dos mesmos por análise de ATR-FTIR, TGA e DSC dos materiais, capacidade de sorção de água e por fim, o seu desempenho na sorção do aminoácido L-triptofano, com e sem aplicação de campo elétrico.

Rendimento da reação

Após concluída a síntese e lavagem dos copolímeros, procedeu-se ao cálculo do rendimento da reação pela equação (2), apresentado na Tabela 5.

$$Rendimento (\%) = \frac{m_{seca}}{m_{reagentes}} * 100 \quad (2)$$

Em que m_{seca} é a massa da amostra após a secagem e $m_{reagentes}$ é a massa dos reagentes antes da polimerização.

Tabela 5 – Rendimento da reação dos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM sintetizados.

| Rendimento (%) | | | |
|----------------|--------------|--------------|--------------|
| COP_0/100_R2 | COP_33/67_R2 | COP_50/50_R2 | COP_100/0_R2 |
| 91,1 | 86,1 | 68,7±7,4 | 72,72 |
| COP_0/100_R5 | COP_33/67_R5 | COP_50/50_R5 | COP_100/0_R5 |
| 95,0 | 80,5 | 80,2±10,8 | 75,9±6,9 |

Da Tabela 5, observa-se que o rendimento em todos os copolímeros sintetizados foi superior a 60 %, o que sugere algumas perdas de material durante o processo de lavagem. Assim, os resultados que irão ser apresentados seguidamente não correspondem inteiramente às razões molares apresentadas na Tabela 3 da secção 2.2. Para obter a composição relativa real dos copolímeros sintetizados seria necessário efetuar uma análise elemental, contudo como ambos os monómeros têm azoto na sua composição este método não pode ser utilizado.

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)

A análise por ATR-FTIR tem como objetivo neste trabalho verificar a presença dos monómeros, BVimCl e NIPAM, nos copolímeros sintetizados e as suas possíveis interações. Optou-se por analisar apenas os espectros dos copolímeros com 2 % de agente reticulante, porque os espectros iriam ser semelhantes aos dos copolímeros com 5 % de agente reticulante. Na Figura 11 encontra-se os espectros do poli(líquido iônico) (PLI), COP_100/0_R2, antes da troca do anião cloreto (Cl^-) pelo bis(trifluorometanosulfonil)imida $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$, e do poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAM), COP_0/100_R2, e com setas estão identificados os picos típicos de cada um dos monómeros.

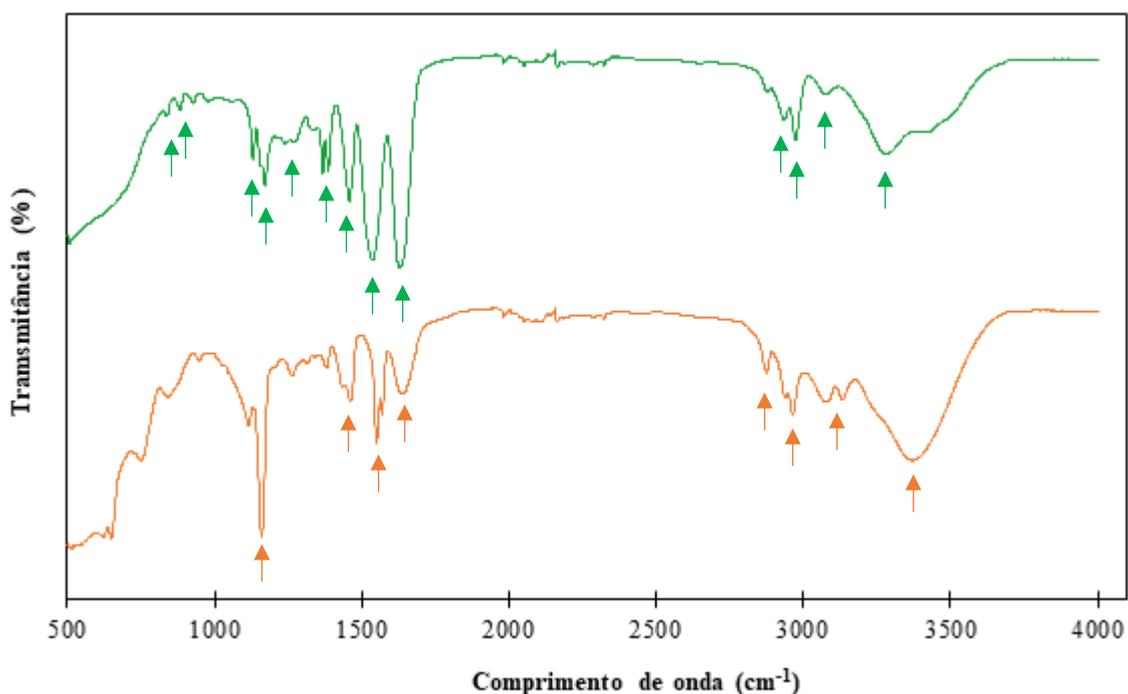


Figura 11 – Espectro de ATR-FTIR da amostra COP_100/0_R2, linha laranja, e da amostra COP_0/100_R2, linha verde (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

As bandas típicas do PIL (COP_100/0_R2), identificam-se entre 3079 e 3370 cm^{-1} , com a vibração das ligações C-H do anel imidazólio (Li and Kobayashi, 2016), nos picos a 1551 cm^{-1} e 1462 cm^{-1} que correspondem à vibração do anel imidazólio (Guo *et al.*, 2011), nos picos a 2963 cm^{-1} e 2876 cm^{-1} que correspondem à vibração do grupo C-H (Cheng *et al.*, 2015), e por último, no pico a 1160 cm^{-1} corresponde à vibração do grupo C-N do anel imidazólio (Minamimoto *et al.*, 2015). O pico 1638 cm^{-1} correspondente à vibração da água que ainda estava presente no material, por causa do líquido iônico ser muito higroscópico (Céline *et al.*, 2014).

As bandas típicas do PNIPAM (COP_0/100_R2), encontram-se entre 3284 cm^{-1} e 3075 cm^{-1} e nos picos 1537 cm^{-1} , 928 cm^{-1} e 883 cm^{-1} correspondendo à vibração do grupo N-H (Zhou *et al.*, 2016), nos picos 2935 cm^{-1} , 2974 cm^{-1} , 1387 cm^{-1} e 1367 cm^{-1} correspondendo à vibração do grupo C-H, no pico 1628 cm^{-1} correspondendo à vibração do grupo C=O (Cheng *et al.*, 2015), no pico 1458 cm^{-1} correspondendo à vibração do grupo C-H (Zhou *et al.*, 2016), por último nos picos 1172 cm^{-1} e 1131 cm^{-1} correspondendo à vibração do grupo C-N (Minamimoto *et al.*, 2015).

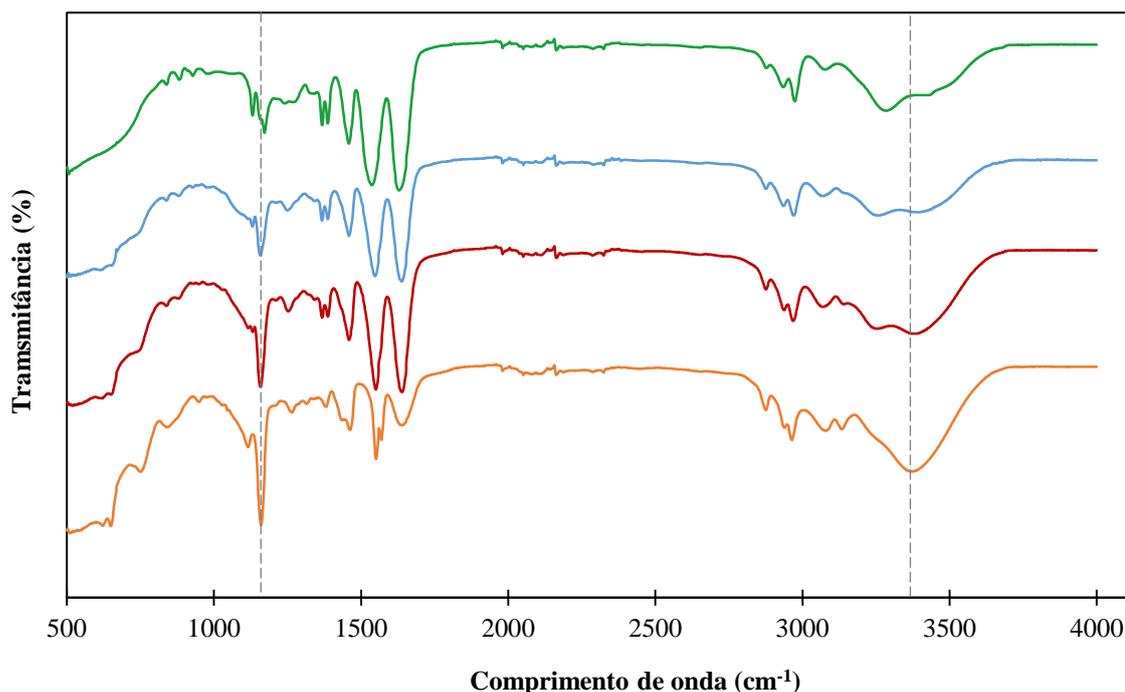


Figura 12 – Espectros de ATR-FTIR das amostras COP_0/100_R2, linha verde, COP_33/67_R2, linha azul, COP_50/50_R2, linha vermelha, e COP_100/0-R2, linha laranja (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

Pela análise da Figura 12, vê-se que os espectros coincidem em todos os picos, à exceção dos picos referentes às vibrações no anel imidazólio do BVimCl, mais concretamente em 1160 cm^{-1} , vibração do grupo C-N, e em 3380 cm^{-1} , vibração do grupo C-H, sendo estes picos mais evidentes na amostra COP_50/50_R2 do que na amostra COP_33/67_R2, o que está de acordo com a percentagem relativa de líquido iónico presente em cada uma destas amostras.

Análise termogravimétrica (TGA)

Esta análise teve como objetivo avaliar a estabilidade térmica dos materiais sintetizados e determinar o perfil de degradação do mesmo, mas também quantificar indiretamente a composição química relativa de cada monómero. Importa referir que esta análise foi feita antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$ e as amostras analisadas estavam guardados em exsiccadores. A estimativa da quantificação dos monómeros está na Tabela 6, os perfis de TGA dos

copolímeros com 2 % de reticulação encontram-se na Figura 13 e os perfis de TGA dos copolímeros com 5 % de reticulação encontra-se na Figura 14.

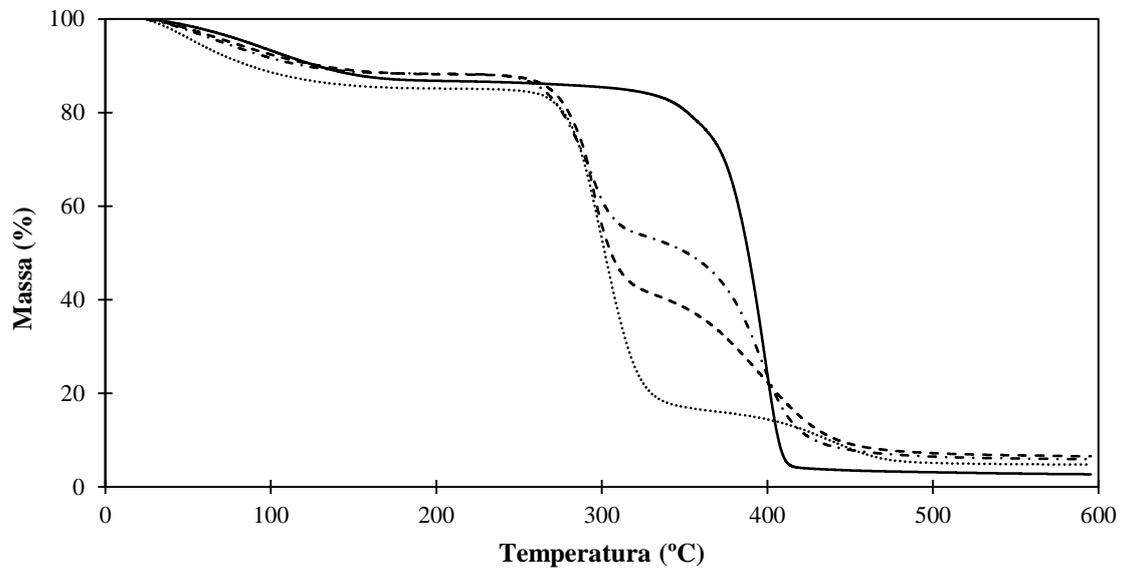


Figura 14 – Perfil de TGA das amostras COP_0/100_R2, linha contínua, COP_33/67_R2, linha traço e ponto, COP_50/50_R2, linha com tracejada, e COP_100/0_R2, linha ponteadada (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

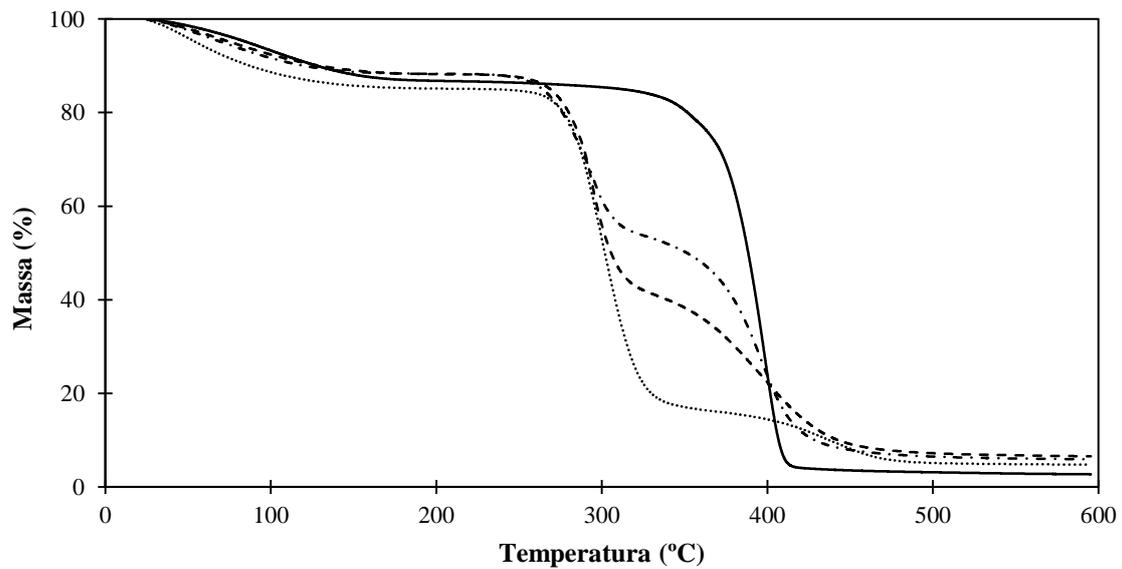


Figura 13 – Perfil de TGA das amostras COP_0/100_R5, linha contínua, COP_33/67_R5, linha traço e ponto, COP_50/50_R5, linha com tracejada, e COP_100/0_R5, linha ponteadada (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Tabela 6 – Estimativa da quantidade de monómeros presentes nos copolímeros, através do método de TGA (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

| | Perda H₂O (até 200°C) (% m/m) | Perda BVimCl (% m/m) | Perda NIPAM (% m/m) | Resíduos (% m/m) |
|---------------------|---|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| COP_0/100_R2 | 14,1 | 0,0 | 83,6 | 2,3 |
| COP_0/100_R5 | 13,1 | 0,0 | 84,2 | 2,7 |
| COP_33/67_R2 | 13,6 | 36,2 | 44,8 | 5,4 |
| COP_33/67_R5 | 11,5 | 34,1 | 48,5 | 5,8 |
| COP_50/50_R2 | 16,7 | 45,3 | 33,7 | 4,3 |
| COP_50/50_R5 | 11,7 | 45,6 | 36,3 | 6,4 |
| COP_100/0_R2 | 17,6 | 78,3 | 0,0 | 4,1 |
| COP_100/0_R | 14,2 | 81,1 | 0,0 | 4,7 |

Da análise das Figuras 13 e 14 verifica-se que não se regista alterações significativas entre os perfis de TGA das amostras com 2 % de reticulação e das amostras com 5 % de reticulação. Todas as amostras perdem massa inicialmente até 200°C devido à perda de água (Schild, 1996). O perfil de degradação do PNIPAM (COP_0/100_R2 e COP_0/100_R5) acontece num único degrau, entre 340 e 390°C, enquanto no PLI (COP_100/0_R2 e COP_100/0_R5) ocorre em duas etapas, a primeira entre 260 e 340°C e a segunda entre 415 e 465°C. Nos copolímeros BVimCl/NIPAM o primeiro pico de degradação ocorre sensivelmente entre 270 e 315°C, correspondendo à degradação do líquido iónico. À medida que a quantidade relativa de BVimCl aumenta no copolímero, aumenta a perda de massa da amostra nesta gama de temperaturas, como esperado. O segundo patamar nas amostras COP_33/67_R2, COP_33/67_R5, COP_50/50_R2 e COP_50/50_R5 ocorre entre 360 e 410°C, correspondendo à degradação do NIPAM. Todos os copolímeros analisados têm estabilidade térmica suficiente para a sorção de L-triptofano a 25°C.

Os resultados da TGA apresentados na Tabela 6, representam apenas uma estimativa da composição dos copolímeros, pois como os perfis de degradação de ambos os monómeros coincidirem em certas gamas, dificulta a determinação da composição dos copolímeros. Além disso, a perda inicial de água é significativa e induz erro na determinação das percentagens de monómero. Contudo, apesar do erro associado é possível comprovar que as amostras COP_33/67_R2 e COP_33/67_R5 têm menor quantidade relativa de líquido iónico do que as amostras COP_50/50_R2 e COP_50/50_R5, respetivamente, como esperado.

Capacidade de sorção de água

Uma das propriedades mais importantes para a caracterização de hidrogéis é a sua capacidade de sorção de água que resulta de um processo complexo, composto por diversas etapas. Inicialmente, os grupos hidrofílicos polares do hidrogel são hidratados pela água, formando-se água ligada primária. Posteriormente, a água interage com os grupos hidrofóbicos, originando água ligada secundária. O total de água ligada resulta da soma destes dois processos. Há ainda uma terceira etapa, que consiste na sorção de mais água, através da força motriz da pressão osmótica da rede polimérica em direção à diluição infinita, que é contrariada pelo agente reticulante. A água sorvida durante o máximo da capacidade de sorção (sorção de equilíbrio), e que preenche os poros e os espaços entre as cadeias, é chamada de água livre. Diversos fatores influenciam a capacidade de sorção de água pelos hidrogéis, como a temperatura, as interações entre as moléculas de água e as cadeias do polímero, a quantidade de agente reticulante e a composição do meio onde se dá a sorção (Ullah *et al.*, 2015; Khan and Lo, 2016).

Neste trabalho a capacidade de sorção de água dos copolímeros foi estudada a 25°C, por forma a discutir a influência da composição química (quantidade de monómeros e do grau de reticulação) dos copolímeros nesta propriedade. Posteriormente, também se estudou o efeito da temperatura (15°C, 25°C e 50°C para os copolímeros BVimCl/NIPAM=100/0 e 33/67, e 20°C, 25°C e 40°C para o COP_50/50_R2) na capacidade de sorção de água, comparando os resultados obtidos para os copolímeros BVimCl/NIPAM com os obtidos pelo PNIPAM, cujo efeito da temperatura foi estudado numa gama mais alargada (15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 32°C, 35°C, 40°C, 45°C e 50°C).

Efeito da quantidade de monómeros no hidrogel

Na Figura 15 observam-se os resultados da capacidade de sorção de água dos copolímeros a 25°C, antes da troca de anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N⁻)].

Segundo as definições apresentadas na secção 1.3. todos os polímeros apresentados na Figura 15 são de fato hidrogéis, sendo que nenhuma das amostras apresentadas corresponde à definição de polímero superabsorvente, C.S.>100.

Deste logo é visível que a capacidade de sorção de água é maior no caso dos copolímeros de BVimCl/NIPAM (33/67 e 50/50), como esperado. Comparando as amostras COP_50/50_R2 e COP_50/50_R5, com as que têm maior percentagem molar de NIPAM (COP_33/67_R2 e COP_33/67_R5), verifica-se que o C.S. é superior quando a quantidade relativa de BVimCl é maior. Isto acontece porque, quando as moléculas de líquido iónico contactam com a água, o

anião cloreto dissocia-se tornando o material carregado positivamente, o que faz com que a água migre para dentro do polímero de forma a haver equilíbrio da força iônica. Como o monômero de NIPAM é neutro, o mesmo não acontece, pelo que é esperado que apesar de a sua presença aumentar o volume livre dentro do material, e consequentemente a sua capacidade de sorção de água, dado que, todos os copolímeros (BVimCl/NIPAM = 33/67 e 50/50) têm maior C.S. que o PLI (COP_100/0_R2 e COP_100/0_R5), a sua presença diminui a quantidade de cargas presentes no copolímero, o que causa a diminuição do C.S.

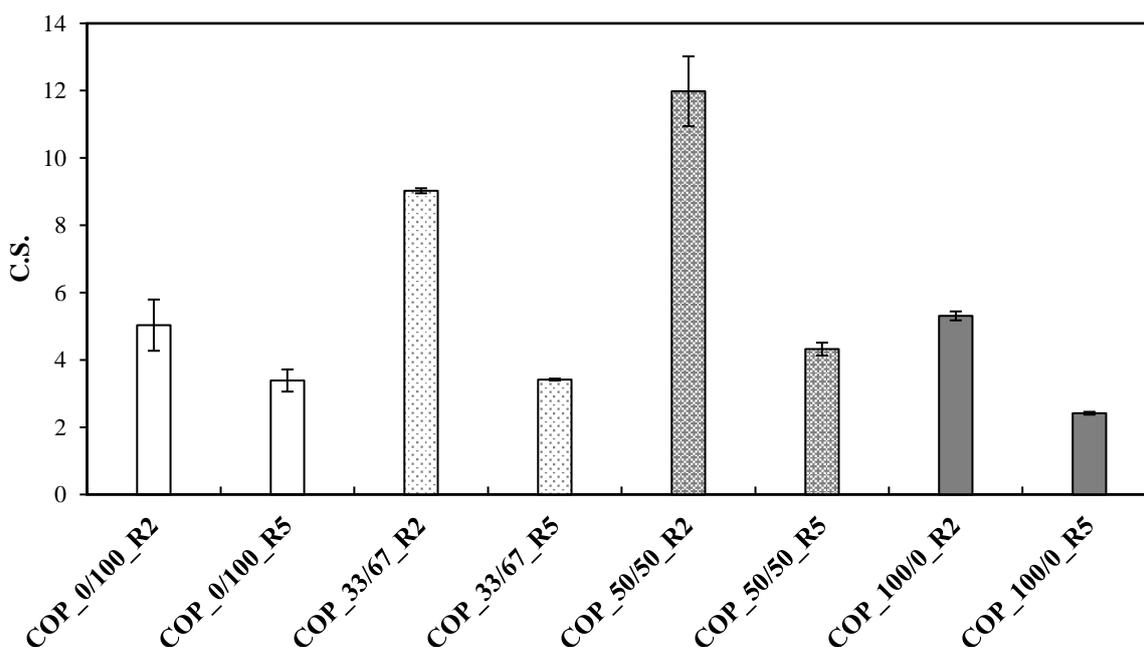


Figura 15 – Capacidade de sorção de água (C.S.) pelos copolímeros COP_0/100_R2, COP_0/100_R5, COP_33/67_R2, COP_33/67_R5, COP_50/50_R2, COP_50/50_R5, COP_100/0_R2 e COP_100/0_R5 (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Na Figura 15, pode-se ainda verificar que a tendência da capacidade de sorção de água é a mesma, tanto para uma percentagem molar de agente reticulante menor (2 %), quanto para uma percentagem de agente reticulante maior (5 %), sendo o efeito do agente de reticulação discutido de forma mais aprofundada na secção seguinte.

Na literatura foram reportados inúmeros hidrogéis baseados em NIPAM e diferentes líquidos iônicos, mas ainda nenhum com o BVimCl. Feng *et al.*, sintetizou um hidrogel de PNIPAM/PFS-VIm equimolar, sem nenhum agente reticulante, obtendo C.S.=9 (Feng *et al.*, 2016). Comparando o valor obtido com o da amostra COP_50/50_R2, esta obteve um C.S. superior, C.S.=12, mesmo com uma percentagem molar de agente reticulante de 2%. Ainda comparando a mesma amostra, com o copolímeros de NIPAM/[C₄(Vim)₂]Br₂ sintetizado por Zhou *et al.*, e com uma percentagem molar de agente reticulante ligeiramente inferior (1,8 %), o valor da capacidade de sorção de água obtido continua inferior, C.S.=4,5, ao obtido neste

trabalho, o que sugere que a presença de dois anéis imidazólio e do anião brometo não melhora a capacidade de sorção de água (Zhou *et al.*, 2016).

Efeito do grau de reticulação

O fator responsável pela integridade estrutural dos hidrogéis durante o processo de sorção de água é a presença de agente reticulante na matriz do polímero (Ullah *et al.*, 2015). O grau de reticulação dos polímeros é uma forma de controlar a sua capacidade de sorção de água, geralmente, quanto maior for o grau de reticulação menor será a capacidade do hidrogel de sorver água, o que influencia o volume livre disponível na matriz, para as moléculas de água ocuparem. Além disso, aumentar o grau de reticulação é uma forma de produzir hidrogéis mais robustos (melhores propriedades mecânicas), ainda que em demasia possa torná-los quebradiços, porque a sua flexibilidade fica limitada. Assim, a otimização do grau de reticulação é essencial para obter um hidrogel resistente e ao mesmo tempo flexível, e com uma boa capacidade de sorção de água (Khalid *et al.*, 2009; Khan and Lo, 2016).

Neste trabalho foram estudados dois graus de reticulação diferentes, em que o agente reticulante estudado foi o MBA. A capacidade de sorção de água obtida está presente na Figura 15. Tal como seria de esperar, as amostras com uma percentagem molar de 2 % de agente reticulante têm uma maior capacidade de sorção de água, do que as amostras com uma percentagem molar de agente reticulante de 5 %. Na Tabela 7 encontra-se os resultados do C.S. e o respetivo rácio entre as amostras com 2 % e com 5 % de agente reticulante (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Tabela 7 – Capacidade de sorção de água dos hidrogéis preparados e respetivo rácio entre a capacidade de sorção de água das amostras com 2 % de reticulação e as amostras com 5 % de reticulação (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

| Amostra | Capacidade de sorção de água | Rácio entre amostras com: 2 % reticulante/5 % reticulante |
|---------------------|-------------------------------------|--|
| COP_0/100_R2 | 5,0 | 1,5 |
| COP_0/100_R5 | 3,4 | |
| COP_33/67_R2 | 9,0 | 2,6 |
| COP_33/67_R5 | 3,4 | |
| COP_50/50_R2 | 12,0 | 2,8 |
| COP_50/50_R5 | 4,3 | |
| COP_100/0_R2 | 5,3 | 2,2 |
| COP_100/0_R5 | 2,4 | |

Pela análise da Tabela 7 é possível constatar que o efeito do grau de reticulação é semelhante para todas as amostras, porém o efeito de reticulação é mais importante para as amostras que contêm o monómero BVimCl quando comparado com os hidrogéis de PNIPAM. Efetivamente em todos os hidrogéis, quando se diminui a percentagem de agente reticulante de 5 % para 2%, a capacidade de sorção de água é superior ao dobro, com exceção do hidrogel de PNIPAM.

Efeito da temperatura

Um dos principais motivos para a utilização do monómero NIPAM neste trabalho foi a conhecida resposta à temperatura que apresentam os polímeros obtidos a partir deste mesmo monómero tal como já foi abordado na secção 1.4. Através do teste da capacidade de sorção de água com variação de temperatura, é possível analisar se a resposta se mantém nos copolímeros de BVimCl/NIPAM, antes da troca de anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$. Estes resultados são apresentados na Figura 16.

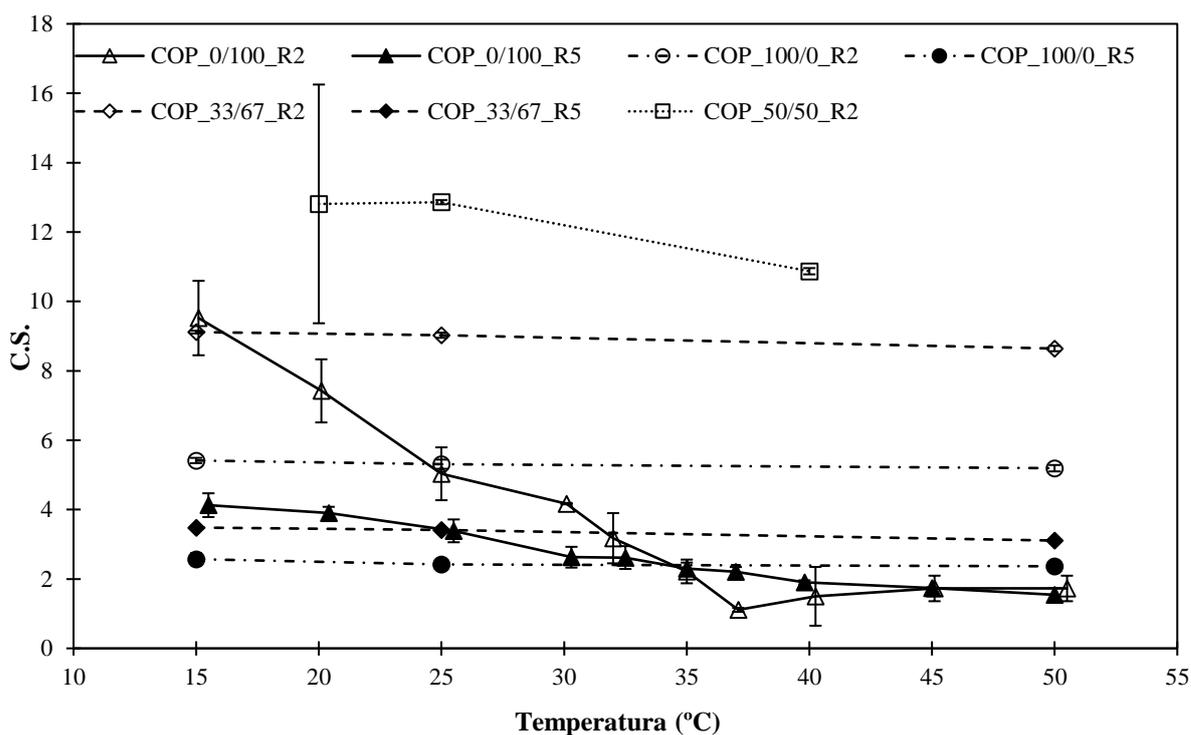


Figura 16 – Variação da capacidade de sorção de água (C.S.) com a temperatura para os copolímeros COP_0/100_R2, COP_0/100_R5, COP_33/67_R2, COP_33/67_R5, COP_50/50_R2 COP_100/0_R2 e COP_100_R5 (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

Pela análise da Figura 16, a resposta do PLI (COP_100/0_R2 e COP_100/0_R5) e do hidrogel de BVimCl/NIPAM (COP_33/67_R2, COP_33/67_R5 e COP_50/50_R2) à temperatura é praticamente desprezável, quando comparada com a do hidrogel de PNIPAM (COP_0/100_R2 e COP_0/100_R5), o que sugere que a quantidade de NIPAM utilizada nos

copolímeros BVimCl/NIPAM é insuficiente para que se mantenha uma resposta à temperatura típica do PNIPAM, ou seja uma transição de fase, LCST. Como a amostra COP_50/50_R2 não tem resposta significativa à temperatura, optou-se por não avaliar a capacidade de sorção da amostra COP_50/50_R5 a estas temperaturas, dado que o aumento da quantidade de reticulante iria condicionar ainda mais uma possível resposta à variação da temperatura.

Para as amostras de hidrogel de PNIPAM (COP_0/100_R2 e COP_0/100_R5) é ainda de referir que a temperatura em que ocorre a transição de fases, LCST, não é perceptível, uma vez que a capacidade de sorção de água decresce para toda a gama de temperatura analisada, apesar da amostra COP_0/100_R2 obter um mínimo de C.S. a 37°C, este não corresponde à LCST, visto que esta é caracterizada por uma transição brusca do declive da curva de C.S. com a temperatura (Burmistrova *et al.*, 2011).

No que diz respeito ao efeito da quantidade de agente de reticulação, os resultados obtidos estão em concordância com o discutido anteriormente, quanto maior a quantidade de agente reticulante menor a capacidade de sorção de água pelos hidrogéis.

Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

Uma forma de identificar se os copolímeros sintetizados têm resposta à temperatura é através do seu perfil de DSC. A LCST aparece no perfil de DSC como uma transição endotérmica, sendo que a temperatura a que ocorre corresponde ao mínimo dessa transição (Boutris *et al.*, 1997). Esta transição é devido à variação da energia de hidratação do polímero, já que abaixo do LCST, o PNIPAM está hidratado, devido às ligações entre o grupo hidrofílico e a água, e acima do LCST as interações entre os grupos hidrofóbicos são predominantes, quebrando as ligações anteriormente formadas (Zhang *et al.*, 2001). Os perfis de DSC dos copolímeros com 2 % de agente reticulante encontram-se na Figura 17, optou-se por não analisar os copolímeros com 5 % de agente reticulante porque não são esperadas alterações significativas nos perfis e além disso, só o COP_0/100_R5 é que apresentou resposta a variações de temperatura no ensaio de sorção de água.

Assim, da análise da Figura 17, observa-se na amostra de PNIPAM (COP_0/100_R2) o seu ponto endotérmico característico, a 32,45°C, correspondente à transição de fase LCST, de acordo com o valor de temperatura reportado na literatura, $T_{LCST} \approx 32^\circ\text{C}$ (Schild, 1992). O perfil do PLI (COP_100/0_R2) apresenta um pico exotérmico a $T=41,33 \pm 1,17^\circ\text{C}$. A amostra COP_50/50_R2 não apresenta nenhum evento térmico no perfil de DSC, o que sugere que a interação entre os monómeros, presentes no copolímero, anulou as propriedades intrínsecas tanto do BVimCl, como do NIPAM. Já a amostra COP_33/67_R2 apresenta o evento

exotérmico característico do PLI, ainda que de forma mais subtil, a $T=40,16\pm 1,69^{\circ}\text{C}$. Contudo o evento endotérmico devido à presença de NIPAM não se observa, como seria de esperar, visto estar em maior percentagem relativa na amostra.

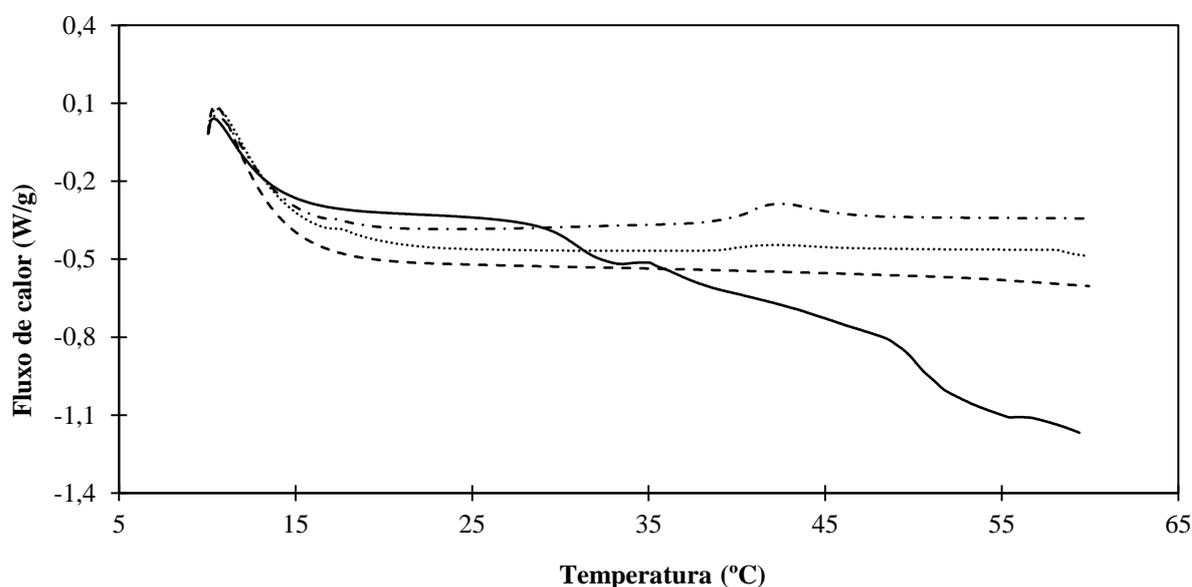


Figura 17 – Perfis de DSC das amostras COP_0/100_R2, linha preta, COP_33/67_R2, linha pontilhada, COP_50/50_R2, linha tracejada, e COP_100/0_R2, linha com traço e ponto (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

Os resultados obtidos no DSC confirmam a ausência de resposta a variações de temperatura dos copolímeros, COP_33/67_R2 e COP_50/50_R2, verificadas durante o teste de sorção de água com variação de temperatura. Feng *et al.*, investigou o rácio entre NIPAM/PFS-Vim necessário para uma resposta à temperatura, concluindo que, para um rácio menor que 10/1, o pico endotérmico característico da transição LCST desaparece no DSC (Feng *et al.*, 2016). Apesar de neste trabalho se ter usado um líquido iónico diferente, o resultado obtido está em concordância com a literatura. Neste trabalho decidiu-se não aumentar o rácio NIPAM/BVimCl para não comprometer o seu objetivo principal, que consiste na sorção de moléculas carregadas, como irá ser discutido de seguida.

Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros de BVimCl/NIPAM

Como se discutiu na secção 1.2, a sorção de aminoácidos pelas resinas iónicas é feita com base na troca de iões entre o material e o aminoácido (Alexandratos, 2009). Contudo, a troca iónica pode ser ineficiente, pela baixa afinidade entre os iões ou porque não há atração eletrostática entre os iões do material e do aminoácido, devido à distância entre eles. Para ultrapassar este problema, neste trabalho propôs-se realizar a sorção com aplicação de campo elétrico, onde se cria uma força motriz que promove a deslocação das moléculas carregadas de L-triptofano para o eléctrodo de carga oposta permitindo que, durante essa deslocação, as

moléculas de L-triptofano sejam atraídas electrostaticamente pelos hidrogéis e assim sorvidas por estes.

Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros à base de BVimCl/NIPAM sem aplicação de campo elétrico

Os resultados apresentados na Figura 18 (a e b) mostram que o copolímero (COP_50/50_R2), teoricamente equimolar e menos reticulado, foi o que apresentou maior capacidade de remoção de L-triptofano, cerca de 47,6 %, ao fim de um dia. Este copolímero foi também aquele que apresentou maior capacidade de sorção de água de acordo com os resultados discutidos anteriormente. Estes resultados mostram que a presença do co-monomero NIPAM é necessária para melhorar a capacidade de sorção do copolímero, já que a amostra de PLI (COP_100/0_R2), apresentou uma capacidade de sorção inferior, ~ 41,1 %, apesar de ter maior quantidade de cargas. O volume livre entre as cargas do BVimCl, que o NIPAM insere no copolímero, parece influenciar a capacidade de sorção de água destes materiais e conseqüentemente da sua capacidade de sorção do aminoácido. Finalmente, e como era esperado, a remoção de L-triptofano foi desprezável para as amostras COP_0/100_R2 e COP_0/100_R5, dada a ausência total de cargas nestas amostras. No Anexo C encontra-se os resultados deste ensaio mas em termos de massa de aminoácido por massa de polímero, Figuras C1 e C2.

É de referir ainda que o efeito da quantidade de agente reticulante não foi muito sentido, visto que os resultados para as amostras com 2 % de agente reticulante são praticamente da mesma ordem de grandeza do que o das amostras com 5 % de agente reticulante, Figura 19. Contudo os resultados apresentados têm um erro associado ainda significativo, pelo que não permitem uma conclusão clara.

Durante este ensaio não foram sentidos os mesmos efeitos da degradação pelo ácido hipocloroso que ocorreram durante o ensaio de sorção de L-triptofano com aplicação de campo elétrico, este assunto irá ser abordado com detalhe posteriormente no subcapítulo relativo a esse ensaio, pois a solução continuou transparente e o espectro UV-Vis não apresentou sinais de degradação, Figura D1 do Anexo D.

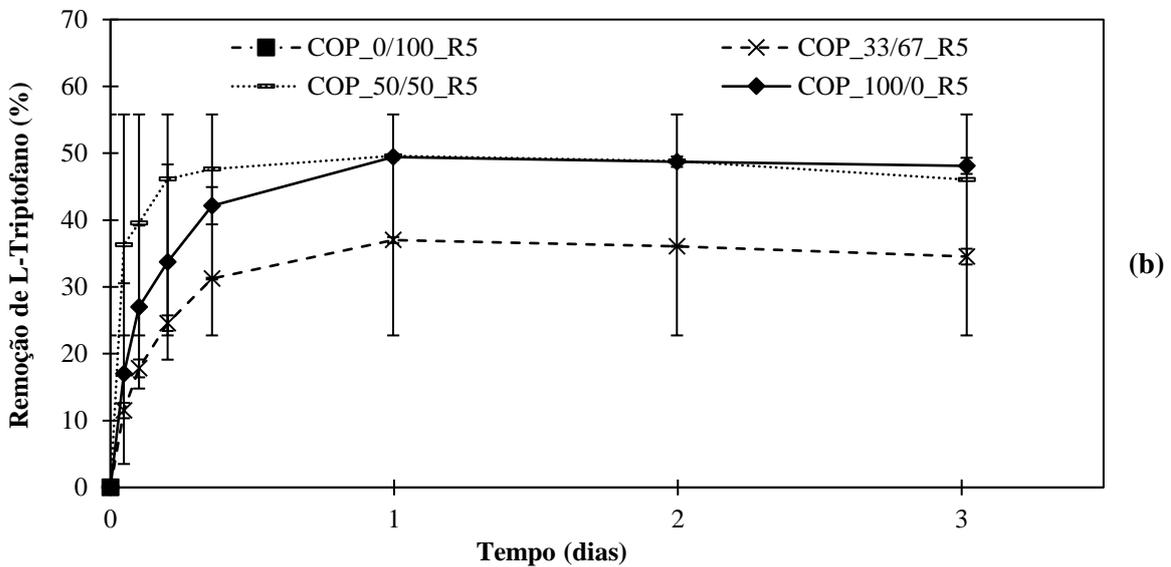
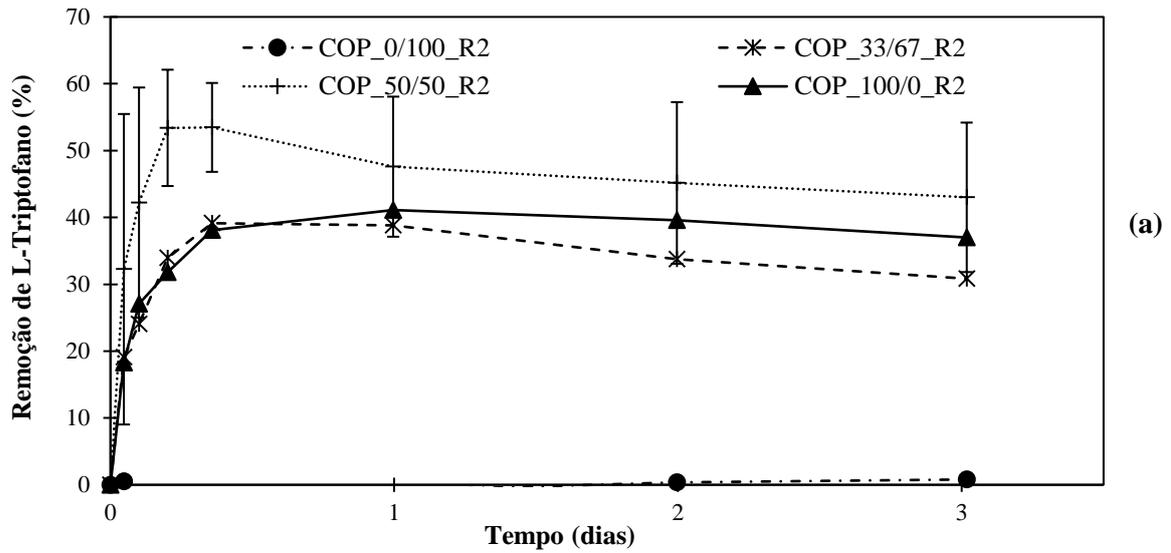


Figura 18 – Cinética de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelas amostras COP_0/100_R2, COP_33/67_R2, COP_50/50_R2 e COP_100/0_R2, imagem (a), e pelas amostras COP_0/100_R5, COP_33/67_R5, COP_50/50_R5 e COP_100/0_R5, imagem (b) (antes da troca do ânion Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

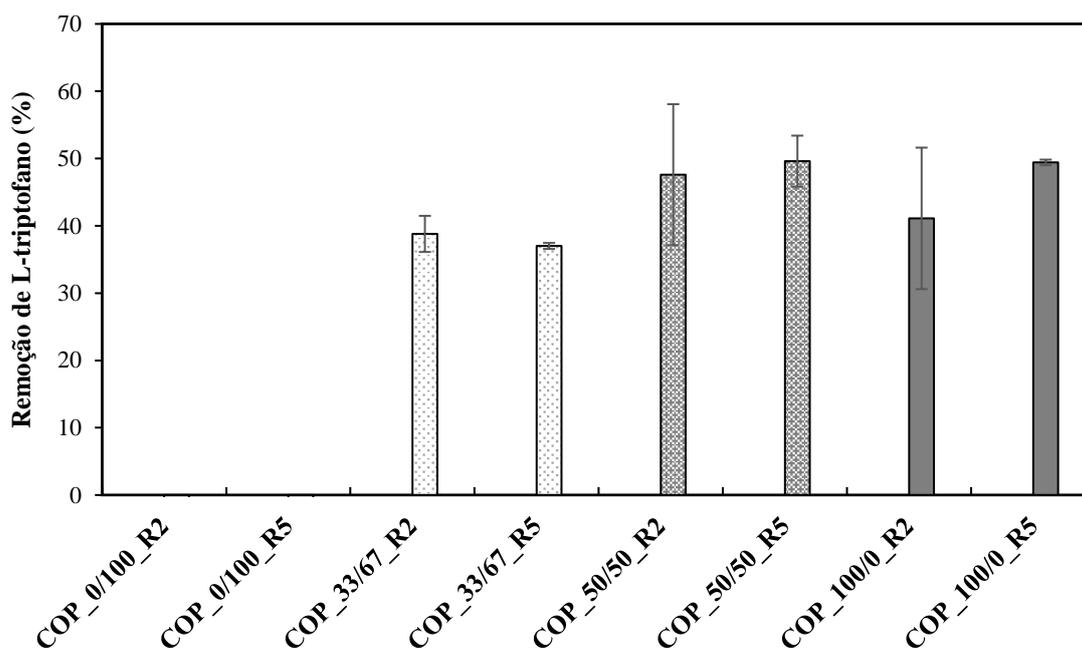


Figura 19 – Remoção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros, após um dia (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros após a troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$ e sem aplicação de campo elétrico

O efeito do contra-íon do LI na capacidade de sorção dos copolímeros foi também estudado e os resultados apresentam-se na Figura 20 (a e b). Os resultados mostram que a troca do contra-íon não altera significativamente a capacidade de sorção de L-triptofano pelos copolímeros. Neste ensaio a amostra que apresenta melhores resultados também foi a COP_50/50_R2, com 47,5 % de remoção de L-triptofano ao fim de 24 horas. Neste caso, o aumento da quantidade de reticulante (de 2 para 5 %) causou uma diminuição não muito significativa ($< \sim 5\%$) na capacidade dos copolímeros para a sorção do aminoácido, Figura 21. No Anexo C encontra-se os resultados deste ensaio, mas em termos de massa de aminoácido por massa de polímero, Figuras C3 e C4.

No geral ao trocar de anião a capacidade de sorção de L-triptofano sofre uma diminuição pouco significativa ($< \sim 2\%$). Na literatura foi reportado estudos da remoção de L-triptofano com diversos líquidos iônicos e constatou-se que o aminoácido L-triptofano tem maior afinidade por líquidos iônicos com aniões halogenados, como o Cl^- , ou com aniões muito hidrofóbicos, como o $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$ (Ventura *et al.*, 2009). Neste caso a troca de anião teve pouco impacto na capacidade de sorção do aminoácido L-triptofano, contudo é indispensável pelos motivos referidos a seguir.

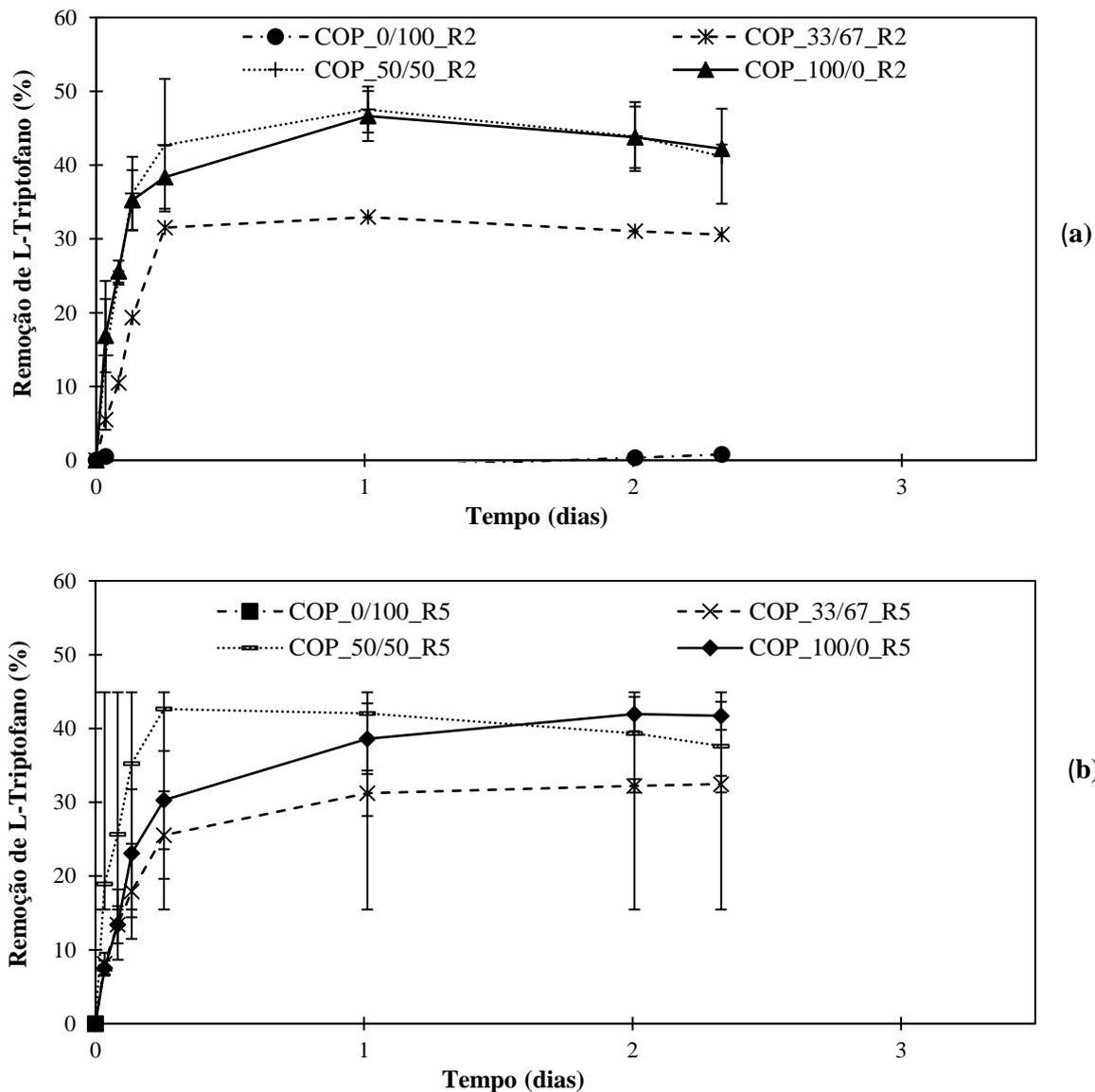


Figura 20 – Cinética de sorção do aminoácido L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelas amostras COP_0/100_R2, COP_33/67_R2, COP_50/50_R2 e COP_100/0_R2, imagem (a), e pelas amostras COP_0/100_R5, COP_33/67_R5, COP_50/50_R5 e COP_100/0_R5, imagem (b) (depois da troca do ânion Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

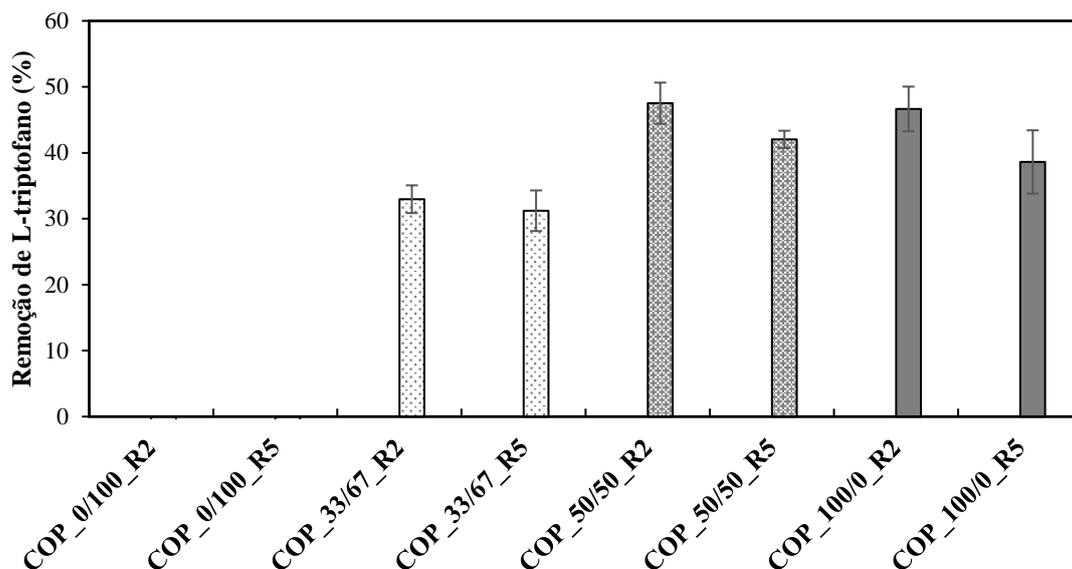


Figura 21 – Remoção de L-triptofano sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros, após um dia (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

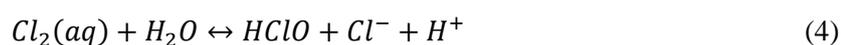
Otimização da sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros BVimCl/NIPAM com aplicação de campo elétrico

Os ensaios de sorção de L-triptofano induzido pelo campo elétrico resultaram de um processo de otimização que se descreve de seguida. O primeiro ensaio foi realizado para o PLI (COP_100/0_R2), tendo-se colocado o material inchado em água numa solução aquosa de L-triptofano e aplicado uma diferença de potencial de 100 V. Após 30 min o hidrogel mudou de cor, esbranquiçado para castanho, Figura 22, e o pH da solução passou de 6,46 para 4,31. O ensaio foi repetido aplicando uma diferença de potencial mais baixa de 10 V, tendo-se observado o mesmo resultado.



Figura 22 – Aspeto da amostra COP_100/0_R2 no final do ensaio preliminar de sorção com aplicação de campo elétrico (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

A diminuição do pH observada deve-se à formação de ácido hipocloroso a partir do ião cloreto dissociado de LI (BVimCl) potenciada pelo potencial elétrico, de acordo com as seguintes reações (Folkes *et al.*, 1995).



facilmente atraído, electrostaticamente, para o hidrogel, que é catiónico. Em seguida apresentam-se os resultados dos ensaios de sorção de L-triptofano com aplicação de potencial elétrico.

Sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros à base de B₂ViMCl/NIPAM após a troca de anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻] e com aplicação de campo elétrico

Na Figura 24 encontram-se os resultados da sorção do aminoácido L-triptofano pelos copolímeros sintetizados, com aplicação de campo elétrico de 100 V por 3 h, após a troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]. De forma complementar no Anexo C encontra-se os resultados deste ensaio, mas em termos de massa de aminoácido por massa de polímero, Figura C5.

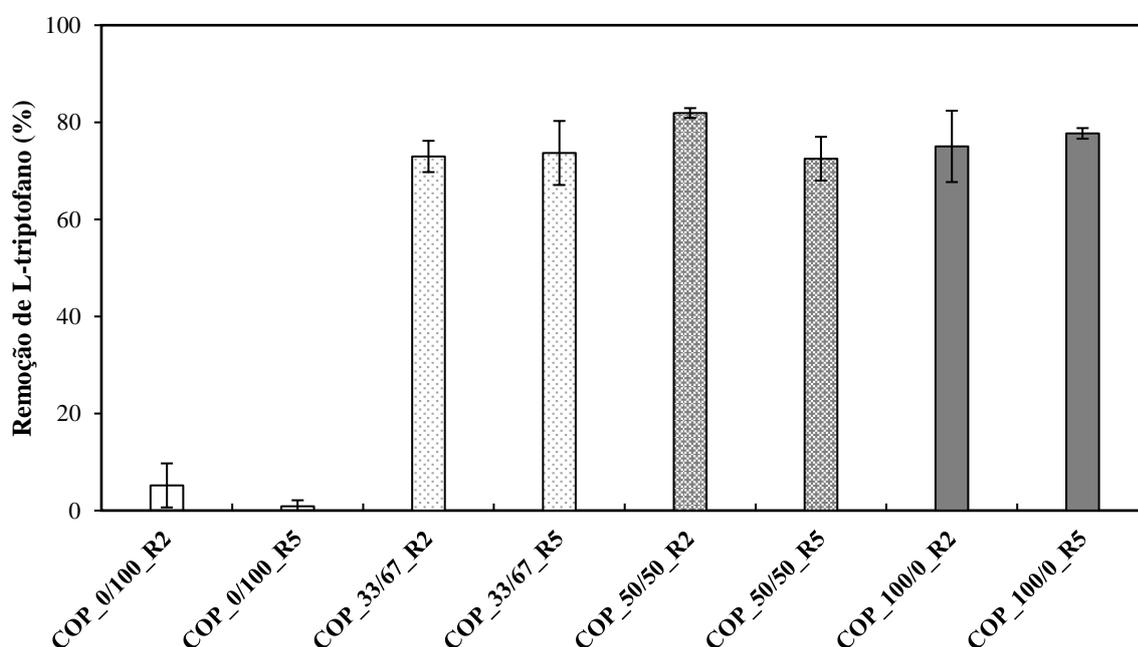


Figura 24 – Resultado da sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Da análise da Figura 24 é visível a melhoria dos resultados, quando se aplica uma diferença de potencial durante a sorção do aminoácido L-triptofano. Em apenas 3 horas todos os copolímeros contendo B₂ViMTf₂N conseguiram remover mais de 76 % de L-triptofano, valor que em nenhum dos ensaios de sorção sem aplicação de campo elétrico foi possível atingir. Mais uma vez, o melhor resultado (81.9 % de remoção de L-triptofano) foi obtido para a amostra COP_50/50_R2. Como era esperado, os hidrogéis de PNIPAM continuam a obter uma remoção de L-triptofano desprezável, dada a ausência total de cargas.

Através de um ensaio preliminar de dessorção do aminoácido L-triptofano da amostra COP_50/50_R2 obteve-se uma recuperação do L-triptofano sorvido de ~22±11 %, após 3 horas com aplicação de campo elétrico (100 V) numa solução de Trizma base (~1g/L). Este valor carece de otimização das condições de dessorção.

Os resultados obtidos neste trabalho são satisfatórios quando comparados com outros já reportados na literatura para a sorção do aminoácido L-triptofano. Especificamente, os resultados obtidos são da mesma ordem de grandeza dos reportados para sistemas ABS de L-Lys+[P₄₄₄₄][Br] (%EE=85), L-Lys+[P₄₄₄₁][C₁SO₄] (%EE=77) e L-Lys.HCl+[P₄₄₄₄][Br] (%EE=72). Mas são superiores (em mais do que 50 %) aos resultados obtidos com os sistemas ABS L-Pro+[P₄₄₄₄][Br], L-Lys+[C₄min][CF₃SO₃], L-Lys+[C₄min][N(CN)₂] (Capela *et al.*, 2017). Contudo é importante referir que a duração do processo de separação de Capela *et al.* foi de 30 minutos, enquanto no presente trabalho foi de 3 horas, não sendo conhecidos os valores que obteriam após 3 horas de extração. Os resultados reportados para a remoção do aminoácido com hidrogéis à base de B_{Vi}mCl, HEMA e SPAK, foram da mesma ordem de grandeza, mas os 70 % de remoção só foram atingidos após cerca de 10 dias (Valente, 2016).

3.2. Resultados relativos à síntese e caracterização das redes poliméricas interpenetrantes à base de B_{Vi}mCl/NIPAM e B_{Vi}mCl/AAm

Tendo em conta os resultados discutidos no capítulo anterior, foram desenvolvidas redes poliméricas interpenetrantes (RPIs) do tipo sequencial completa, usando os mesmos monómeros, iniciador, catalisador e agente de reticulação usados na síntese dos copolímeros, visando com esta estratégia obter materiais com resposta a variações de temperatura e com cargas suficientes para a sorção eficiente de moléculas carregadas. Além disso, também se desenvolveram RPIs sem resposta à temperatura, usando o monómero de acrilamida em vez da N-isopropilacrilamida (NIPAM), para estudar o efeito da hidrofiliicidade e tamanho de cadeia do monómero espaçados nas propriedades finais dos RPIs.

Neste capítulo descreve-se o processo de otimização da síntese dos RPIs e posteriormente, os resultados da síntese e caracterização dos mesmos, incluindo os rendimentos da reação, análise química e termomecânica (ATR-FTIR, TGA e DSC), identificação da temperatura de transição de fases LCST, capacidade de sorção de água e de sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico.

A síntese dos RPIs divide-se em duas partes, onde na primeira se sintetiza a primeira rede de polímero de NIPAM ou AAm e que posteriormente se incha com uma solução contendo o monómero (B_{Vi}mCl), o agente reticulante e o iniciador, que darão origem à segunda rede. Quando a solução está bem incorporada na primeira rede polimérica adiciona-se o catalisador, dando início à segunda etapa de polimerização.

A otimização do modo de preparação dos RPIs teve em consideração um conjunto de variáveis tal como se descreve no Anexo A.

Rendimento da reação

Concluídas as sínteses dos RPIs, procedeu-se ao cálculo do rendimento das reações também pela equação (2) da secção 3.1., os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Rendimento da reação das redes poliméricas interpenetrantes sintetizadas.

| Rendimento da reação (%) | | |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|
| RPI_N_0/100 | RPI_N_33/67 | RPI_N_50/50 |
| 79,0 | 44,2±3,0 | 32,3±5,0 |
| RPI_A_0/100 | RPI_A_33/67 | RPI_A_50/50 |
| 81,3 | 36,6±7,7 | 27,8±0,7 |

Analisada a Tabela 8, observa-se que só as amostras RPI_N_0/100 e RPI_A_0/100 resultaram em rendimentos superiores a 78 %, as restantes têm rendimentos inferiores a ~45 %, o que sugere que a polimerização foi incompleta e que as perdas devem ter ocorrido durante o processo de lavagem, provavelmente devido à polimerização incompleta da segunda rede.

Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier com Reflectância Total Atenuada (ATR-FTIR)

As análises por ATR-FTIR dos RPIs à base de NIPAM e AAm são apresentadas e comparados nas Figuras 25 e 26, respetivamente.

Como se pode ver na Figura 25, os espectros coincidem e não se identificam de forma evidente os picos característicos do monómero BVimCl (1160 e 3380 cm^{-1}) o que também indica que a incorporação do líquido iónico nos RPIs à base de NIPAM não foi bem-sucedida, contudo na amostra RPI_N_50/50 há uma alteração ténue do espectro na zona correspondente a um dos picos característicos do BVimCl (1160 cm^{-1}), o que sugere a presença do líquido iónico nesta amostra.

Os espectros obtidos para os RPIs à base de acrilamida, Figura 26, permitem identificar para a amostra RPI_A_50/50 o pico em 1162 cm^{-1} , que corresponde à vibração do grupo C-N do anel imidazólio do monómero de BVimCl (Minamimoto *et al.*, 2015), indicando a sua presença na amostra. O espectro da amostra RPI_A_33/67 coincide com o da amostra RPI_A_0/100, o que indica que neste caso a incorporação do BVimCl no RPI não foi bem-sucedida.

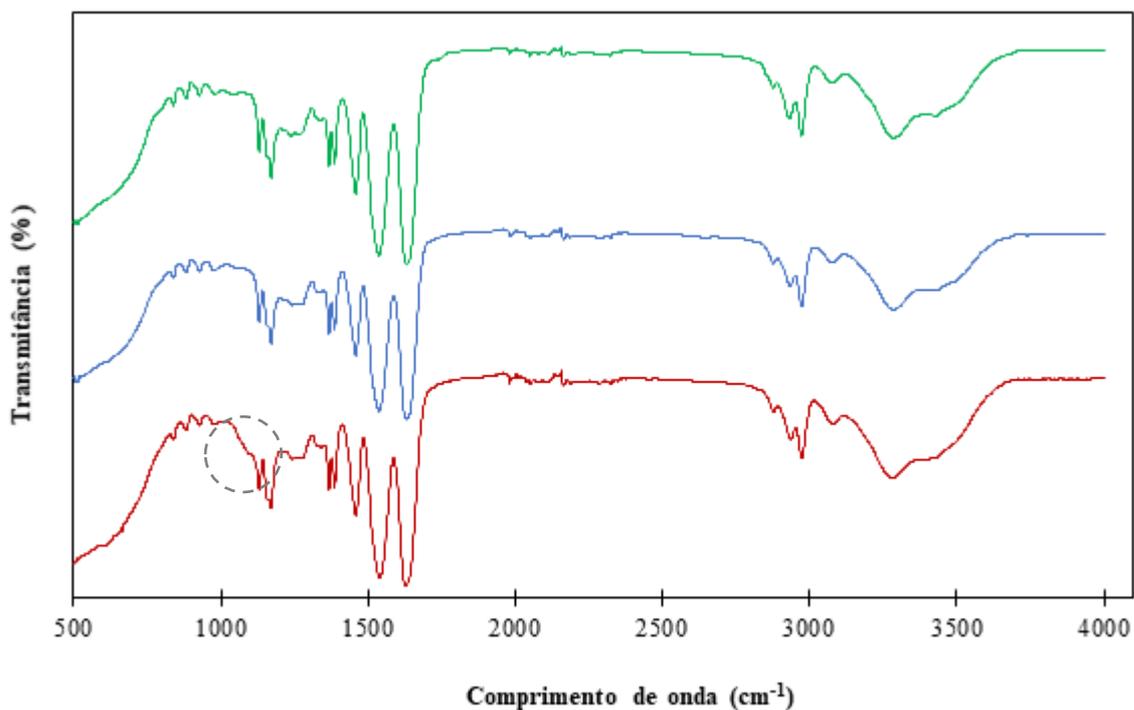


Figura 26 – Espectros de ATR-FTIR das amostras RPI_N_0/100, linha verde, RPI_N_33/67, linha azul, e RPI_N_50/50, linha vermelha (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

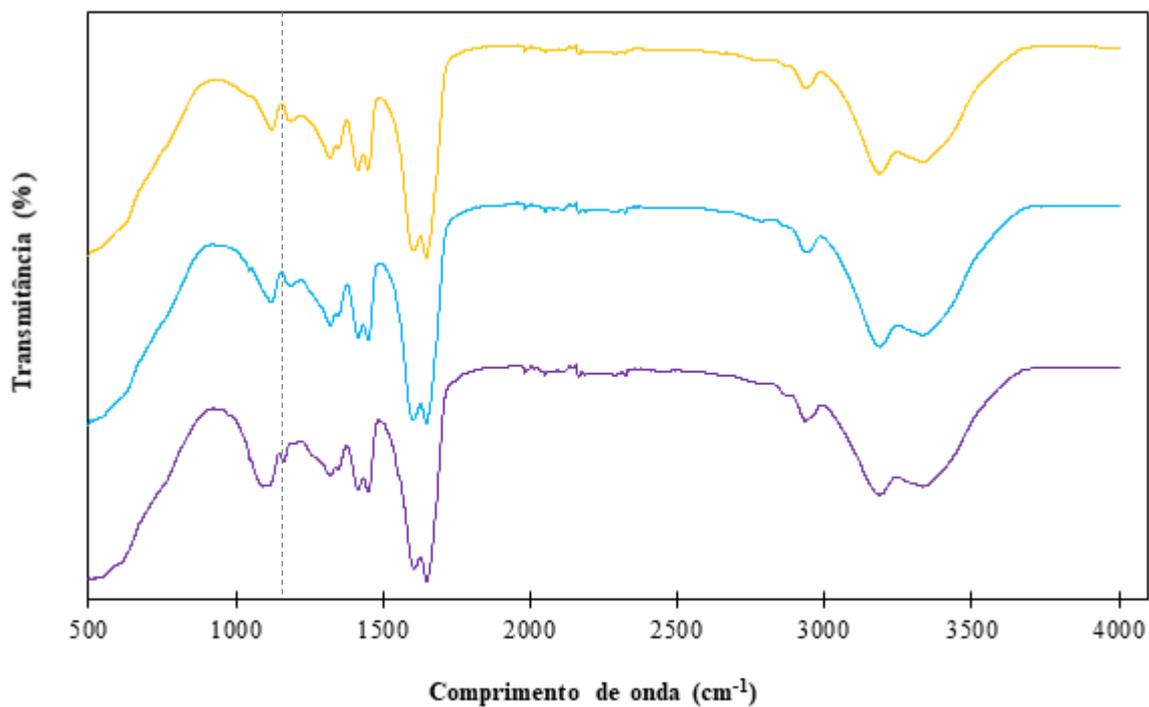


Figura 25 – Espectros de ATR-FTIR das amostras RPI_A_0/100, linha laranja, RPI_A_33/67, linha azul, e RPI_A_50/50, linha roxa (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Análise termogravimétrica (TGA)

A análise das amostras por TGA tem por objetivo investigar a estabilidade térmica das mesmas e estimar a composição química relativa dos RPIs. Na Figura 27 encontra-se os perfis de degradação das amostras RPI_N_0/100, RPI_N_33/67 e RPI_N_50/50, comparadas com o perfil de degradação do poli(líquido iônico) (PLI), COP_100/0_R2. Todas as amostras apresentam uma perda de massa de 10 % até 100°C, que corresponde à perda de água das amostras (Wang et al., 2016). A amostra RPI_N_0/100 apresenta um degrau único de degradação entre 380°C e 420°C, que corresponde ao já reportado na literatura como sendo a gama de degradação do PNIPAM (Schild, 1996). Para as restantes amostras, a temperatura de degradação começa para temperaturas inferiores à medida que a percentagem molar relativa teórica de líquido iônico aumenta. Estes resultados indicam que alguma percentagem de líquido iônico ou PLI ficou retida na primeira rede de NIPAM, apesar de ser uma percentagem baixa.

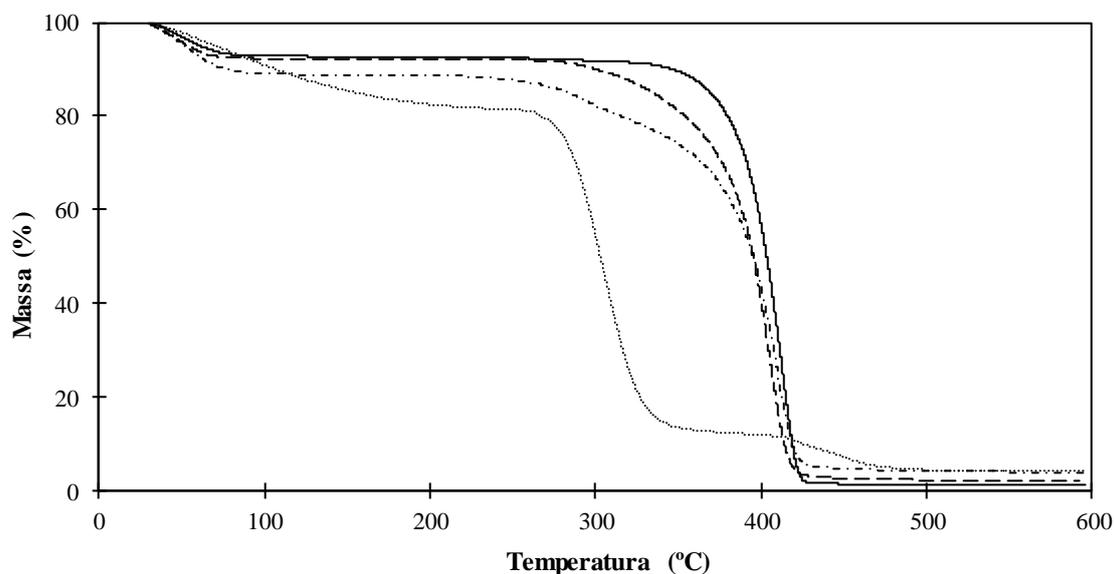


Figura 27 – Perfil de TGA das amostras RPI_N_0/100, linha contínua, RPI_N_33/67, linha tracejada, RPI_N_50/50, linha com traço e ponto, e COP_100/0_R2, linha pontuada (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

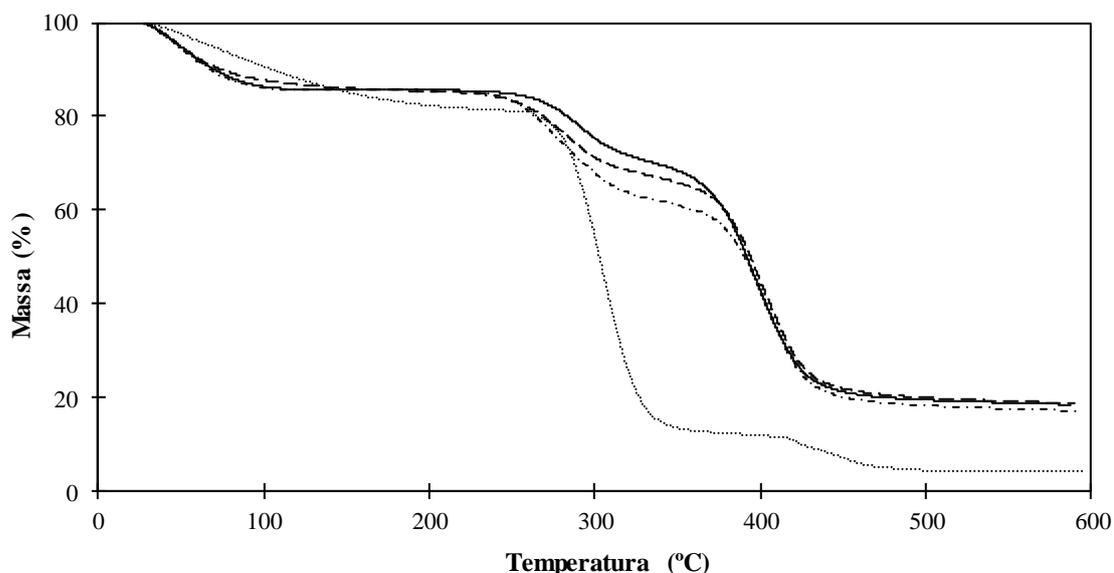


Figura 28 – Perfil de TGA das amostras RPI_A_0/100, linha contínua, RPI_A_33/67, linha tracejada, RPI_A_50/50, linha com traço e ponto, e COP_100/0_R2, linha pontuada (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Os perfis de TGA dos RPIs à base de acrilamida apresentam-se na Figura 28. Após a primeira perda de massa (~15 %) correspondente à perda de água das amostras (Schild, 1996), verifica-se que o PAAm apresenta dois patamares de degradação, ocorrendo o primeiro entre 220 e 350°C e o segundo entre 370 e 425°C. À semelhança do que aconteceu para os RPIs à base de NIPAM, à medida que se aumenta a percentagem molar relativa de BVimCl, as amostras começam a degradar a temperaturas mais baixas (T=250°C). Este resultado indica-nos a presença de algum líquido iónico na estrutura do RPI mas em pequena quantidade não sendo possível quantificá-lo. De qualquer forma os resultados indicam que a incorporação do poli (líquido iónico) na matriz inicial dos RPIs não foi bem-sucedida, porque as diferenças entre os perfis dos RPI_N_33/67 e RPI_N_50/50 com o RPI_N_0/100 e entre os perfis dos RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50 quando comparados com o RPI_A_0/100, são mínimas. Mesmo assim é possível verificar que os RPIs teoricamente equimolares têm maior quantidade de BVimCl na sua composição do que os que foram sintetizados com um rácio BVimCl/NIPAM ou BVimCl/AAM=33/67.

Finalmente, comparando os perfis de TGA dos RPIs à base de NIPAM e de AAM, verifica-se que o PNIPAM é mais estável termicamente do que o PAAm porque começa a degradar-se a temperaturas mais elevadas (~380°C). Conclui-se ainda, que para a aplicação em causa, todos os RPIs têm estabilidade térmica suficiente, dado que a separação do L-triptofano ocorre a 25°C.

Ensaio preliminar para identificação da temperatura de transição de fases (LCST)

De forma a avaliar preliminarmente a temperatura à qual ocorre a transição de fases LCST, realizou-se um ensaio com os vários RPIs sintetizados, pretendendo-se estudar a resposta dos RPIs a variações de temperatura numa gama entre 0 e 50°C. Nas Figuras 29 e 30 apresenta-se de forma resumida o aspeto visual dos RPIs à base de NIPAM e AAm, respetivamente.

Com o aumento da temperatura, acima do LCST ($T_{LCST} \approx 32^\circ\text{C}$), é esperado que os polímeros à base de NIPAM contraíam, devido às interações entre os grupos hidrofóbicos, grupos propilo, tornarem-se mais fortes do que as interações entre os grupos hidrofílicos, grupos amina, e as moléculas de água circundantes. Além da contração do PNIPAM, durante a transição LCST há uma alteração da cor do polímero, passando de translúcido para opaco e ficando mais esbranquiçado. A transição de fase LCST, em todos os RPIs à base de NIPAM ocorreu entre 30°C e 35°C, de acordo com dados já reportados na literatura (Schild, 1992).

Como era de esperar, não se observaram alterações nos RPIs à base de acrilamida para a gama de temperaturas testada, visto que não é conhecida uma resposta deste polímero à temperatura (Owens *et al.*, 2007), pelo menos na gama de temperaturas analisadas.

É de referir que apesar de não se observar segregação de fases durante o ensaio, após a liofilização todos os RPIs à base de NIPAM/BVimCl e AAm/BVimCl apresentaram duas fases diferentes, o que sugere que durante este processo tenha ocorrido segregação de fases devido à presença do líquido iónico. Contudo o RPI_A_33/67 já apresentava duas fases após o processo de lavagem, esta segregação de fases também se pensa que seja devida à presença de líquido iónico.

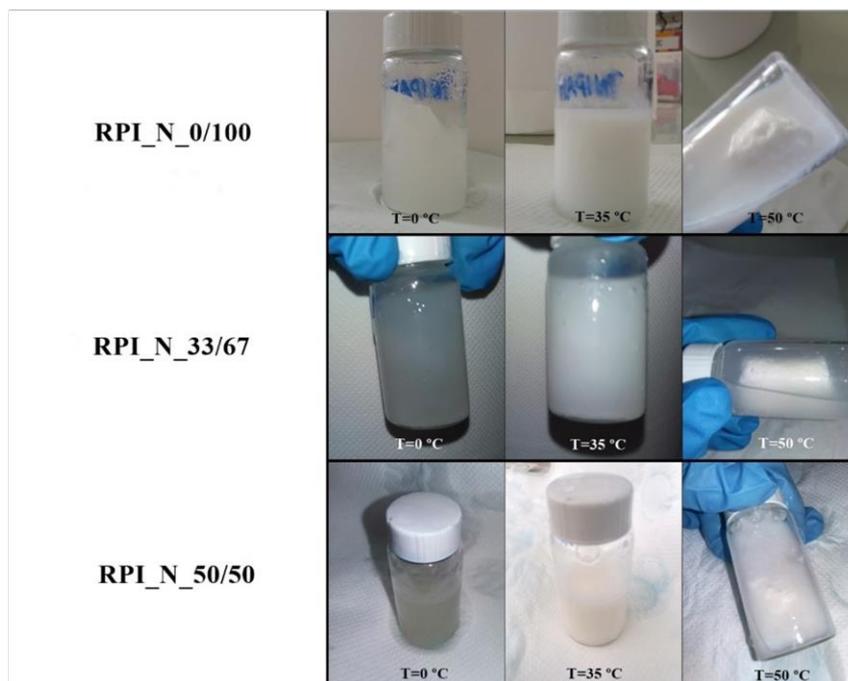


Figura 30 – Aspeto visual dos RPIs à base de NIPAM à temperatura de 0°C, imagem da esquerda, 35°C, imagem do centro, e 50°C, imagem à direita (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

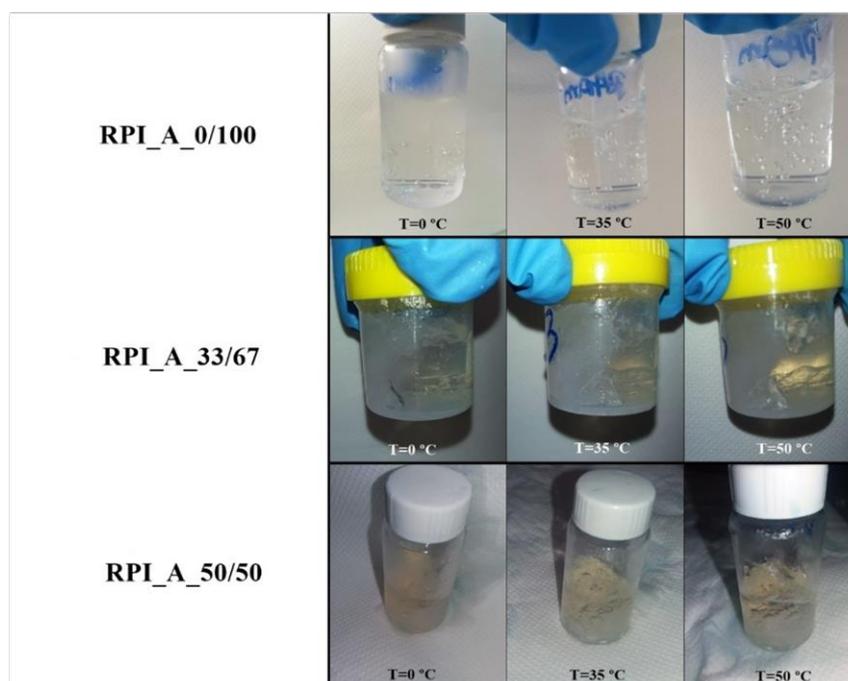


Figura 29 – Aspeto visual dos RPIs à base de AAm à temperatura de 0°C, imagem da esquerda, 35°C, imagem do centro, e 50°C, imagem à direita (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Calorimetria diferencial de varrimento (DSC)

A análise do perfil de DSC tem como objetivo verificar se a presença do PLI na matriz de PNIPAM, mesmo que em pequenas quantidades, afeta a temperatura de transição de fases LCST dos RPIs à base de NIPAM.

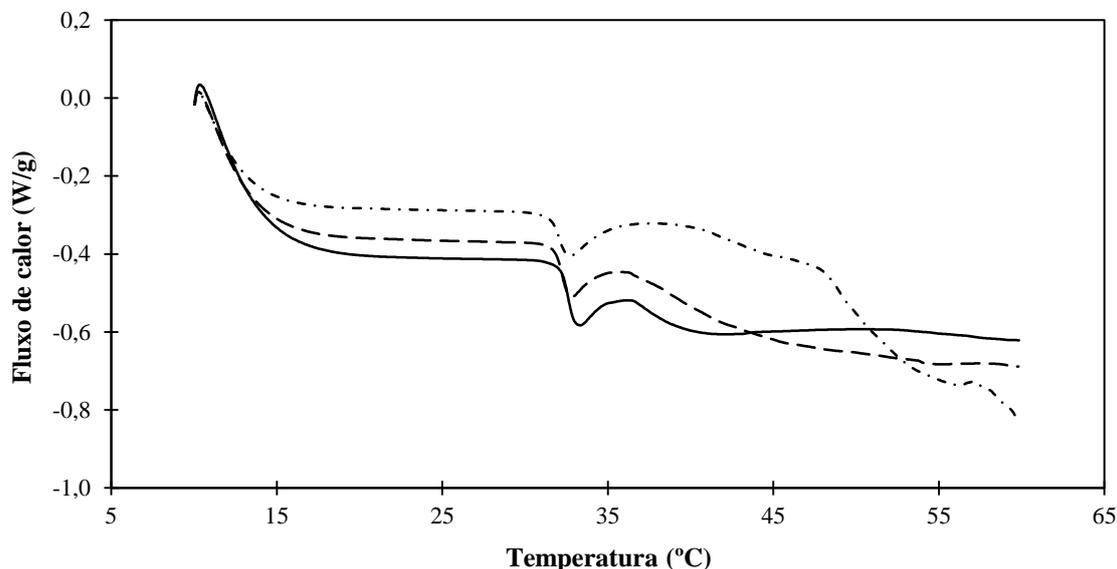


Figura 31 – Perfis de DSC das amostras RPI_N_0/100, linha contínua, RPI_N_33/67, linha tracejada, e RPI_N_50/50, linha com traço e ponto (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

A análise da Figura 31, permite concluir que as temperaturas de transição de fases LCST das amostras RPI_N_0/100, RPI_N_33/67 e RPI_N_50/50 ocorrem a 33,2°C, 32,7°C e 33,3±0,2°C, respetivamente. Estes valores correspondem à temperatura mínima registada durante o fenómeno endotérmico, estando muito próximos do referido na literatura para a temperatura de LCST do PNIPAM, $T_{LCST} \approx 32^\circ\text{C}$ (Schild, 1992).

Capacidade de sorção de água

Devido à reduzida estabilidade mecânica dos RPIs sintetizados não foi possível um estudo da capacidade de sorção de água para uma gama tão alargada de temperatura como a que foi realizada para os copolímeros, pelo que serão apenas analisadas as capacidades de sorção de água a 25°C e a 37°C, Figura 31. Durante a análise da capacidade de sorção de água, C.S., das amostras, convém lembrar que os resultados discutidos anteriormente sugerem que a incorporação da segunda rede polimérica à base do líquido iónico, BVimCl, no seio da primeira rede polimérica foi mal conseguida ou incompleta, pelo que os resultados obtidos não correspondem ao que realmente aconteceria se a incorporação tivesse sido mais eficiente. Esta análise foi efetuada antes da troca de anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

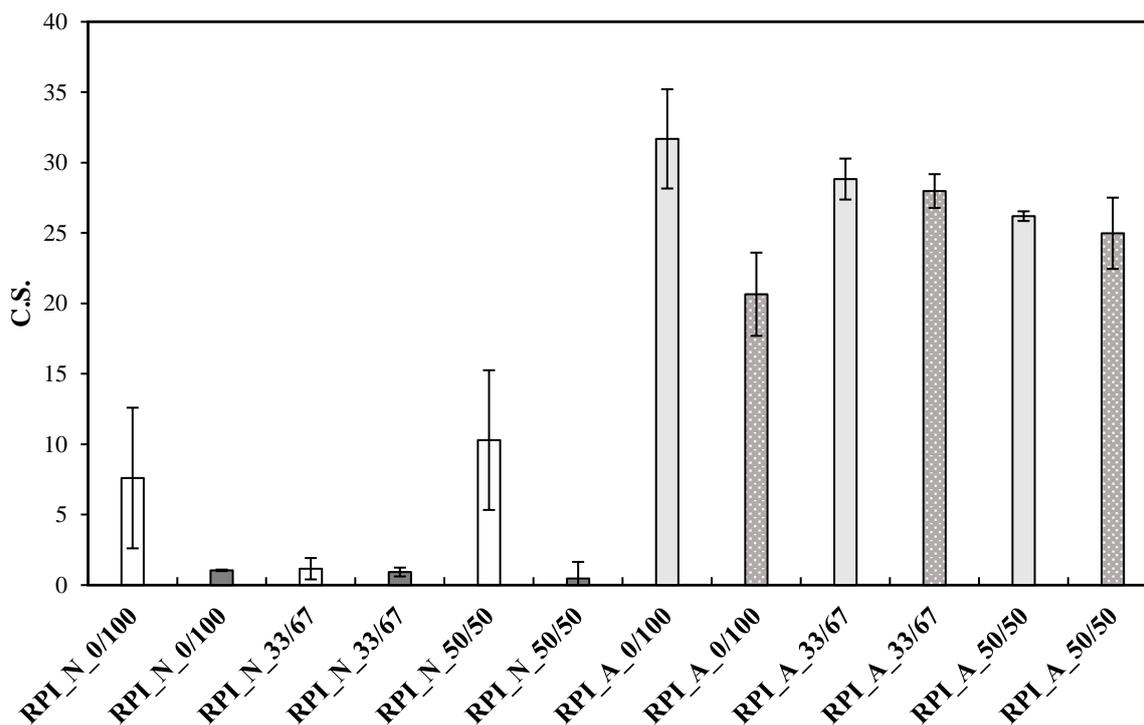


Figura 32 – Capacidade de sorção de água dos RPIs a 25°C, colunas brancas para os RPIs à base de NIPAM e colunas cinzento claro para os RPIs à base de AAm, e a 37°C, colunas cinza-escuras para os RPIs à base de NIPAM e colunas cinza-escuras pontilhadas para os RPIs à base de AAm, (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Desde já pela análise da Figura 32, é visível o aumento da capacidade de sorção de água nos RPIs à base de AAm, C.S.>26 a T=25°C e C.S.>20 a T=37°C, em comparação com a observada para os RPIs à base de NIPAM, C.S.>1 a T=25°C e C.S.>0,5 a T=37°C. De notar que a estabilidade mecânica dos RPIs à base de NIPAM é muito baixa a 25°C, o que justifica os erros observados na Figura 32, para valores maiores de C.S. tal como já reportado na literatura (Haq *et al.*, 2017) a estabilidade mecânica dos RPIs à base de NIPAM melhora significativamente com o aumento da temperatura acima do LCST, quando se dá a contração do polímero, Figura 33, mas que corresponde a valores mais baixos de C.S. Figura 32.

Segundo as definições apresentadas na secção 1.3., nenhum dos RPIs sintetizados pode ser considerado um polímero superabsorvente, mas todos são considerados hidrogéis, tal como concluído para os copolímeros.

Em relação aos RPIs à base de AAm, os resultados do C.S. a 25°C, Figura 32, não são os esperados, visto que, as amostras RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50 deviam ter maior capacidade de sorção de água do que a amostra RPI_A_0/100 devido à presença de cargas na matriz do RPI. Contudo este resultado confirma as conclusões anteriores que indicam que a incorporação do PLI no RPI foi mal conseguida, além disso como foi dito anteriormente a amostra RPI_A_33/67 apresentava duas fases após o processo de lavagem, pelo que possivelmente há

variabilidade da composição química relativa de cada monómero ao longo da amostra, o que pode ter levado à incoerência destes resultados. A diminuição do C.S. dos RPIs à base de AAm com a subida da temperatura, Figura 32, deve-se também provavelmente à possível segregação de fases durante a liofilização.

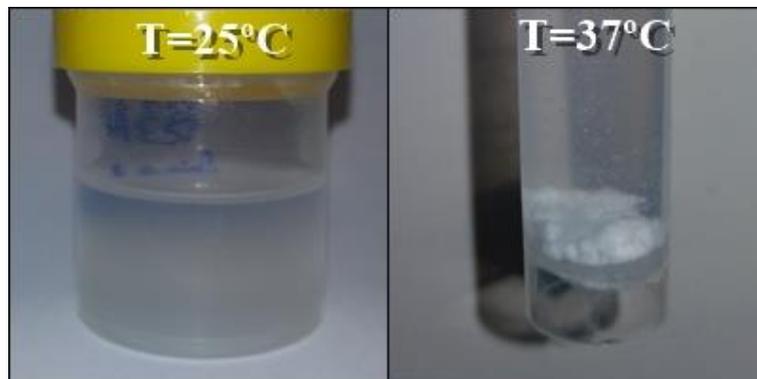


Figura 33 – Aspeto da amostra RPI_N_33/67 durante o ensaio da capacidade de sorção de água com variação de temperatura. Na imagem da esquerda a amostra está a 25°C e na imagem da direita a amostra está a 37°C (antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Nos RPIs à base de NIPAM e, apesar dos desvios experimentais elevados que resultam da baixa estabilidade mecânica das amostras, verifica-se que a amostra RPI_N_50/50 apresenta um C.S. (~10,3) superior ao da amostra RPI_N_0/100 (~7,6) tal como seria de esperar devido à incorporação de cargas na matriz de PNIPAM. Contudo este aumento foi pouco significativo devido à baixa eficiência de incorporação da rede PLI na rede PNIPAM, tal como já foi discutido. Com o aumento da temperatura para 37°C, o C.S. de todas as amostras diminuiu, tal como esperado, uma vez que esta temperatura se encontra acima do LCST do PNIPAM.

Uma vez que um dos objetivos principais desta dissertação era a síntese de RPIs com carga e sensíveis a variações de temperatura pode-se considerar que a amostra RPI_N_50/50 cumpre esses requisitos, apesar da incorporação de PLI ter sido baixa. Comparando a amostra RPI_N_50/50, com o relatado na literatura por Fei *et al.*, que sintetizou um RPI de PNIPAM, com 4 % de reticulação e obteve um C.S.=7,8 a 22°C (Fei *et al.*, 2013), o C.S. do RPI_N_50/50 é maior, o que foi de encontra ao esperado porque esta amostra tem cargas na sua matriz polimérica.

Apesar dos erros, comparando os valores de C.S. dos RPIs à base de NIPAM com os à base de AAm, comprova-se que este monómero é mais hidrofílico, ou seja, o grupo propilo do monómero de NIPAM torna-o mais hidrofóbico. Um novo procedimento para a síntese do RPI_N_50/50 foi ainda desenvolvido, Anexo A, tendo-se verificado um aumento do valor de C.S. do mesmo, contudo a incorporação da solução da segunda rede continuou incompleta, o que pode ser devido à primeira rede, PNIPAM, encontrar-se demasiado reticulada. Esta nova tentativa é discutida no final deste capítulo.

Sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico pelas redes poliméricas interpenetrantes após a troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]

Devido à influência do anião cloreto na degradação do aminoácido L-triptofano, realizou-se apenas a sorção do aminoácido L-triptofano com aplicação de campo elétrico pelos RPIs após trocar o anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻], Figura 34. Este ensaio foi realizado a 25°C, temperatura à qual a capacidade de sorção dos RPIs à base de NIPAM é maior. No Anexo C encontra-se os resultados deste ensaio mas em termos de massa de aminoácido por massa de polímero, Figura C6.

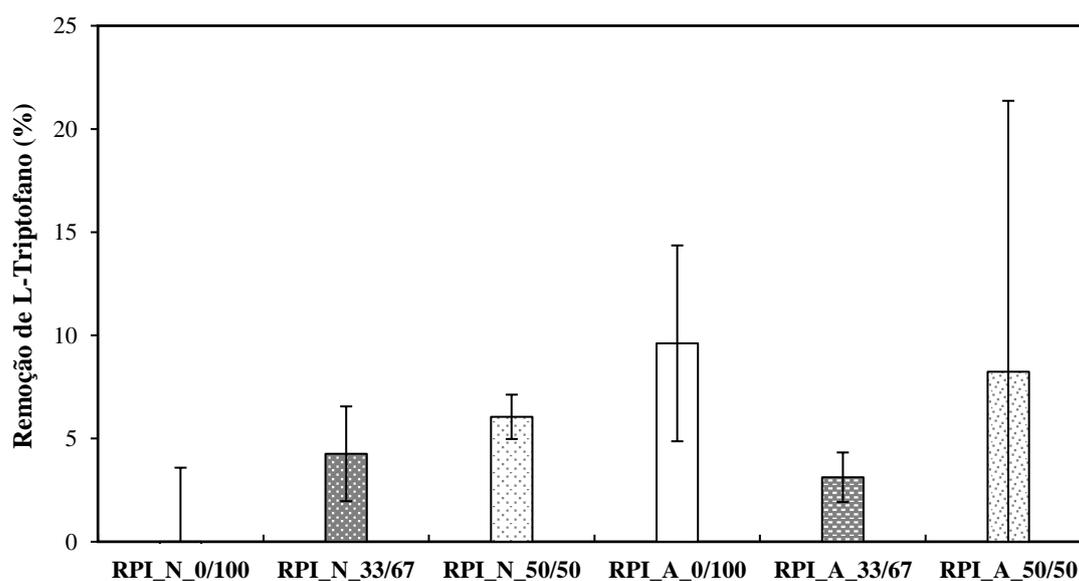


Figura 34 – Resultados da remoção do aminoácido L-triptofano pelas amostras RPI_N_0/100, RPI_N_33-67, RPI_N_50/50, RPI_A_0/100, RPI_A_33/67 e RPI_A_50/50 no final do ensaio de sorção com aplicação de campo elétrico, 100 V durante 3 horas (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

O principal objetivo deste trabalho é a sorção do aminoácido L-triptofano, pode-se ver que esse objetivo não foi atingido, a baixa eficiência de remoção do L-triptofano deve-se à incompleta incorporação de PLI, como já foi mencionado anteriormente. Apesar de tudo e no caso dos RPIs à base de NIPAM parece haver uma tendência crescente na capacidade de remoção do aminoácido com o aumento da quantidade relativa de líquido iônico na amostra. Nos RPIs à base de AAm, essa tendência não se verifica o que pode ser devido à heterogeneidade da amostra, observada após a liofilização da mesma.

Nova otimização da síntese de redes poliméricas interpenetrantes

Na tentativa de melhorar os resultados obtidos para os RPIs otimizou-se o processo de síntese. Este procedimento está descrito em pormenor no Anexo A. Na Figura 35 apresenta-se as várias fases da síntese do novo RPI_N_50/50.

O RPI obtido tem um aspeto mais robusto do que o RPI_N_50/50 previamente discutido e pela imagem c) da Figura 35 a incorporação da solução da segunda rede parecia bem-sucedida, pois o RPI estava alaranjado, cor típica do BVimCl. Contudo na imagem d) o RPI já não tem o tom alaranjado o que sugere que o BVimCl tenha saído durante o processo de lavagem.

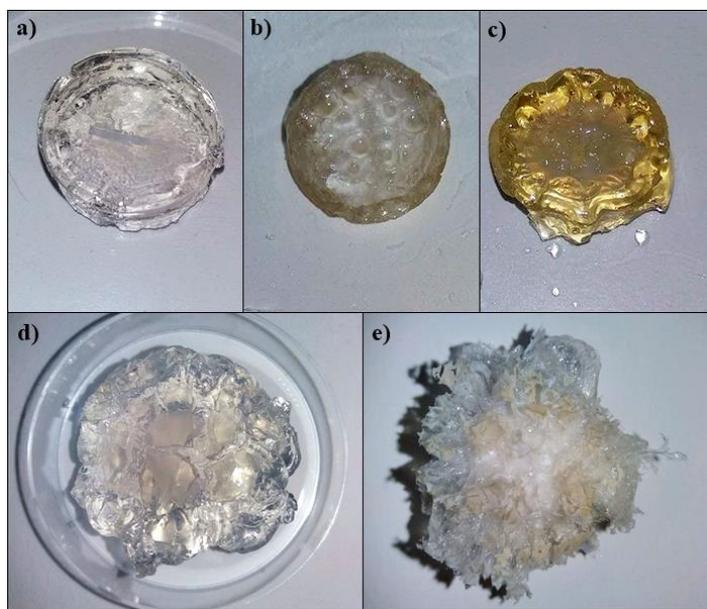


Figura 35 – Aspeto macroscópico do novo RPI_N_50/50, após a primeira lavagem, imagem a), após a secagem, imagem b), após a incorporação da solução da segunda rede, imagem c), após a última lavagem, imagem d) e após a liofilização, imagem e).

Para avaliar se a incorporação do BVimCl tinha sido bem-sucedida efetuou-se uma análise por TGA, em triplicata, representada na Figura 36.

Dos perfis de TGA apresentados na Figura 36, constata-se que a incorporação do líquido iónico não foi bem-sucedida novamente. Ainda se avaliou a capacidade de sorção de água (C.S.) com variação de temperatura para este RPI, em que se obteve uma C.S.= $28,2\pm 13,0$ a 25°C e uma C.S.= $11,3\pm 9,3$ a 37°C . Os valores obtidos são melhores do que os obtidos para o RPI_N_50/50, previamente discutido, o que indica que o novo método de síntese é melhor do que o anteriormente apresentado, contudo o motivo para a continuação da incorporação incompleta é provavelmente porque o PNIPAM está demasiado reticulado para que a solução da segunda rede consiga penetrar a matriz polimérica. É assim necessária uma nova tentativa com menor percentagem relativa de agente reticulante.

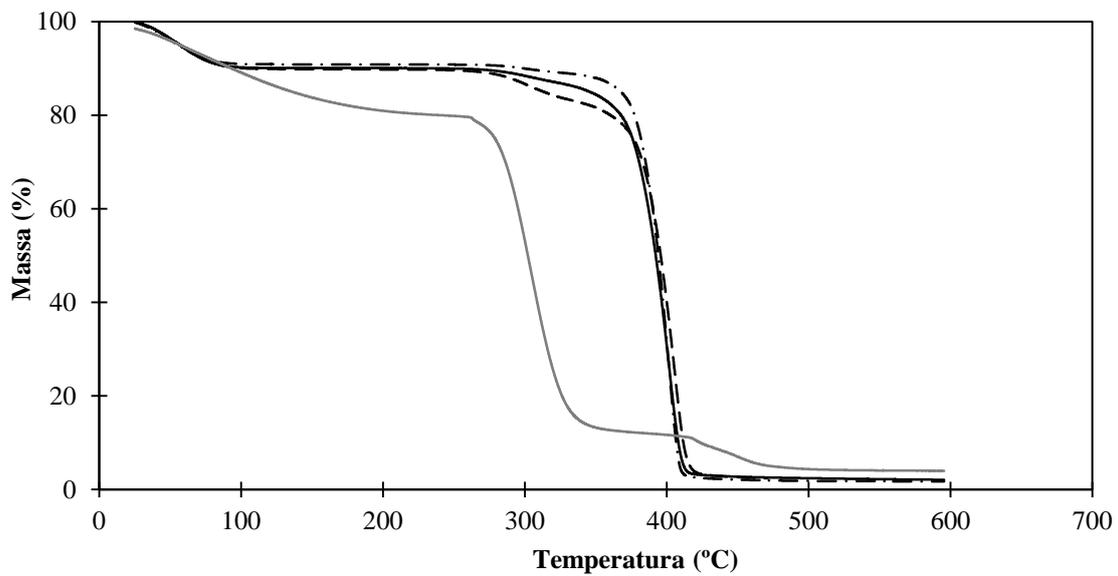


Figura 36 – Perfis de TGA do novo RPI_N_50/50, as linhas pretas, representam as triplicatas da amostra e a linha cinzenta o PLI (COP_50/50_R2).

Conclusão

O objetivo deste trabalho foi sintetizar polieletrólitos reticulados baseados em líquido iônico, mais precisamente hidrogéis de cloreto de 1-vinil-3-butylimidazólio (BVimCl) com N-isopropilacrilamida (NIPAM) para a separação do aminoácido L-triptofano. A combinação destes dois monómeros foi a estratégia seguida para o desenvolvimento de hidrogéis com resposta a estímulos externos simultâneos, nomeadamente a variações de potencial elétrico e de temperatura.

Os copolímeros de BVimCl/NIPAM tiveram uma remoção satisfatória do L-triptofano (~40 %) após um dia sem a aplicação de estímulo externo, independentemente do contra-íon usado. Quando se aplicou uma diferença de potencial de 100 V durante 3 horas os resultados da remoção de L-triptofano pelos copolímeros BVimTf₂N/NIPAM melhoraram de forma significativa (~76 %). Estes resultados poderão ainda ser melhorados por otimização de variáveis envolvidas no processo (potencial, tempo de exposição, razão aminoácido/resina, etc). As razões molares BVimCl/NIPAM utilizadas neste trabalho originaram copolímeros sem resposta a variações de temperatura, contudo outras razões poderão ser testadas por forma a otimizar esta resposta. O processo de dessorção do L-triptofano resultou na libertação de ~22 % da quantidade total de L-triptofano absorvido/adsorvido.

Apesar das muitas tentativas efetuadas para o desenvolvimento de redes poliméricas interpenetrantes à base de NIPAM/BVimCl e AAm/BVimCl, estas não foram bem-sucedidas porque a incorporação da rede de poli(líquido iônico) na matriz polimérica de NIPAM e de AAm foi incompleta, possivelmente porque a primeira rede polimérica estava demasiado reticulada dificultando a incorporação da segunda rede. Contudo, e apesar dos erros experimentais, os RPIs à base de NIPAM e líquido iônico conseguiram atingir o objetivo de remover maior quantidade de L-triptofano do que o RPI_N_0/100, apresentado simultaneamente resposta a variações de temperatura.

Trabalhos futuros

Durante a realização do presente trabalho surgiram oportunidades de investigação que visam a otimização da funcionalidade dos hidrogéis multi-responsivos preparados mas que por falta de tempo não foram exploradas neste trabalho. Resumem-se de seguida algumas das mais importantes:

- Otimização da razão molar BVimCl/NIPAM por forma a obter copolímeros com resposta a variações de temperatura;
- Otimização das condições de sorção do aminoácido L-triptofano, nomeadamente potencial elétrico aplicado, tempo de operação e composição do meio;
- Avaliação da capacidade de remoção de outros aminoácidos e proteínas;
- Avaliação da capacidade de sorção de água dos materiais em meios com outras composições químicas (diferentes pHs, forças iónicas, etc);
- Avaliação e otimização do processo de dessorção do L-triptofano pelos copolímeros;
- Continuação da otimização da síntese de redes poliméricas interpenetrantes, através das seguintes hipóteses: redução de agente reticulante na primeira rede, aumento do tempo de incorporação da solução da segunda rede na primeira, troca do iniciador utilizado por um foto-iniciador;
- Estudo das isotérmicas de equilíbrio de absorção/adsorção para os materiais sintetizados.

Bibliografia

- Alexandratos, S. D. (2009) 'Ion-Exchange Resins: A Retrospective from Industrial and Engineering Chemistry Research', *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48, pp. 388–398.
- Anderson, J. L. and Armstrong, D. W. (2005) 'Immobilized Ionic Liquids as High-Selectivity/High-Temperature/High-Stability Gas Chromatography Stationary Phases', *Analytical Chemistry*, 77, pp. 6453–6462.
- Berg, J., Tymoczko, J. and Stryer, L. (2002) 'The Purification of Proteins Is an Essential First Step in Understanding Their Function', in W. H., F. (ed.) *Biochemistry*. 5th edn. New York.
- Boutris, C., Chatzi, E. G. and Kiparissides, C. (1997) 'Characterization of the LCST behaviour of aqueous poly(N-isopropylacrylamide) solutions by thermal and cloud point techniques', *Polymer*, 38, pp. 2567–2570.
- Burmistrova, A. *et al.* (2011) 'The effect of co-monomer content on the swelling/shrinking and mechanical behaviour of individually adsorbed PNIPAM microgel particles', *Polymers*, 3, pp. 1575–1590.
- Capela, E. V. *et al.* (2017) 'Effective separation of aromatic and aliphatic amino acid mixtures using ionic-liquid-based aqueous biphasic systems', *Green Chemistry*, 19, pp. 1850–1854.
- Céline, A. *et al.* (2014) 'Qualitative and quantitative assessment of water sorption in natural fibres using ATR-FTIR spectroscopy', *Carbohydrate Polymers*, 101, pp. 163–170.
- Cheng, J., Shan, G. and Pan, P. (2015) 'Temperature and pH-dependent swelling and copper (II) adsorption of poly(N-isopropylacrylamide) copolymer hydrogel', *RSC Advances*, 5, pp. 62091–62100.
- Ding, L. *et al.* (2017) 'Mixed-mode reversed phase/positively charged repulsion chromatography for intact protein separation', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 138, pp. 63–69.
- Dragan, E. S. (2014) 'Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review', *Chemical Engineering Journal*, 243, pp. 572–590.
- Eftekhari, A. and Saito, T. (2017) 'Synthesis and properties of polymerized ionic liquids', *European Polymer Journal*, 90, pp. 245–272.
- Elvin, J. G., Couston, R. G. and Van Der Walle, C. F. (2013) 'Therapeutic antibodies: Market considerations, disease targets and bioprocessing', *International Journal of Pharmaceutics*, 440, pp. 83–98.
- Fei, R. *et al.* (2013) 'Ultra-strong thermoresponsive double network hydrogels', *Soft Matter*, 9, pp. 2912–2919.
- Feng, J. *et al.* (2012) 'Ionic liquids-based crosslinked copolymer sorbents for headspace solid-phase microextraction of polar alcohols', *Journal of Chromatography A*, 1245, pp. 32–38.
- Feng, X. *et al.* (2016) 'Highly Swellable, Dual-Responsive Hydrogels Based on PNIPAM and Redox Active Poly(ferrocenylsilane) Poly(ionic liquid)s: Synthesis, Structure, and Properties', *Macromolecular Rapid Communications*, 37, pp. 1939–1944.
- Folkes, L. K., Candeias, L. P. and Wardman, P. (1995) 'Kinetics and mechanisms of hypochlorous acid reactions', *Archives of biochemistry and biophysics*, 323, pp. 120–6.
- Guilherme, M. R. *et al.* (2015) 'Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review', *European Polymer Journal*, 72, pp. 365–385.
- Guo, L. *et al.* (2011) 'Preparation and evaluation of molecularly imprinted ionic liquids polymer as

sorbent for on-line solid-phase extraction of chlorsulfuron in environmental water samples', *Journal of Chromatography A*, 1218, pp. 6271–6277.

Haq, M. A., Su, Y. and Wang, D. (2017) 'Mechanical properties of PNIPAM based hydrogels: A review', *Materials Science and Engineering C*, 70, pp. 842–855.

Hawkins, C. L., Pattison, D. I. and Davies, M. J. (2003) 'Hypochlorite-induced oxidation of amino acids, peptides and proteins', *Amino Acids*, 25, pp. 259–274.

Hess, M. *et al.* (2006) 'Terminology of polymers containing ionizable or ionic groups and of polymers containing ions - (IUPAC recommendations 2006)', *Pure and Applied Chemistry*, pp. 2067–2074.

Hoffman, A. S. (2012) 'Hydrogels for biomedical applications', *Advanced drug delivery reviews*, 64, pp. 18–23.

IUPAC (1997) 'Interpenetrating Polymer Network', in McNaught, A. D. and Wilkinson, A. (eds) *Compendium of Chemical Terminology*. 2nd edn. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Jiang, J. Q. and Ashekuzzaman, S. M. (2012) 'Development of novel inorganic adsorbent for water treatment', *Current Opinion in Chemical Engineering*, 1, pp. 191–199.

João, K. G. *et al.* (2015) 'Poly(ionic liquid)s as phase splitting promoters in aqueous biphasic systems', *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17, pp. 27462–27472.

Joshi, M. D. and Anderson, J. L. (2012) 'Recent advances of ionic liquids in separation science and mass spectrometry', *RSC Advances*, 2(13), p. 5470. doi: 10.1039/c2ra20142a.

Khalid, S. H. *et al.* (2009) 'Effect of degree of cross-linking on swelling and drug release behaviour of poly(methyl methacrylate-co-itaconic acid) [P(MMA/IA)] hydrogels for site specific drug delivery', *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 19, pp. 413–418.

Khan, M. and Lo, I. M. C. (2016) 'A holistic review of hydrogel applications in the adsorptive removal of aqueous pollutants: Recent progress, challenges, and perspectives', *Water Research*, 106, pp. 259–271.

Li, J. *et al.* (2010) 'Polymeric ionic liquid as a dynamic coating additive for separation of basic proteins by capillary electrophoresis', *Analytica Chimica Acta*, 674, pp. 243–248.

Li, K. and Kobayashi, T. (2016) 'Ultrasound response of aqueous poly(ionic liquid) solution', *Ultrasonics Sonochemistry*, 30, pp. 52–60.

Maleki, L., Edlund, U. and Albertsson, A. C. (2017) 'Synthesis of full interpenetrating hemicellulose hydrogel networks', *Carbohydrate Polymers*, 170, pp. 254–263.

McKenna, S. M. and Davies, K. J. (1988) 'The inhibition of bacterial growth by hypochlorous acid. Possible role in the bactericidal activity of phagocytes', *The Biochemical journal*, 254, pp. 685–692.

Mecerreyes, D. (2011) 'Polymeric ionic liquids: Broadening the properties and applications of polyelectrolytes', *Progress in Polymer Science*, 36, pp. 1629–1648.

Minamimoto, H. *et al.* (2015) 'Polymerization of room-temperature ionic liquid monomers by electron beam irradiation with the aim of fabricating three-dimensional micropolymer/nanopolymer structures', *Langmuir*, 31, pp. 4281–4289.

Mitsubishi Chemical Corporation (2017) *DIAION SK1B*. Available at: http://www.diaion.com/en/products/ion_exchange_resins/strongly_acidic_cation/data_sheet_sk/sk1b.html (Accessed: 1 September 2017).

Mu, M., Yin, H. and Feng, Y. (2017) 'CO₂-responsive polyacrylamide microspheres with interpenetrating networks', *Journal of Colloid and Interface Science*, 497, pp. 249–257.

Munir, S., Kang, I. K. and Park, S. Y. (2016) 'Polyelectrolytes functionalized nematic liquid crystal-based biosensors: An overview', *Trends in Analytical Chemistry*. Elsevier B.V., 83, pp. 80–94.

- Neves, C. M. S. S. *et al.* (2009) 'Evaluation of Cation Influence on the Formation and Extraction Capability of Ionic-Liquid-Based Aqueous Biphasic Systems', *Journal of Physical Chemistry B*, 113, pp. 5194–5199.
- Owens, D. E. *et al.* (2007) 'Thermally responsive swelling properties of polyacrylamide/poly(acrylic acid) interpenetrating polymer network nanoparticles', *Macromolecules*, 40, pp. 7306–7310.
- Pang, L. and Liu, J. F. (2012) 'Development of a solid-phase microextraction fiber by chemical binding of polymeric ionic liquid on a silica coated stainless steel wire', *Journal of Chromatography A*, 1230, pp. 8–14.
- Patinha, D. J. S. *et al.* (2013) 'Ionic liquids based aqueous biphasic systems: Effect of the alkyl chains in the cation versus in the anion', *Journal of Chemical Thermodynamics*, 65, pp. 106–112.
- Qian, W., Texter, J. and Yan, F. (2017) 'Frontiers in poly(ionic liquid)s: syntheses and applications', *Chemical Society Reviews*, 46, pp. 1124–1159.
- Saikia, M. D. (2008) 'Revisiting adsorption of biomolecules on polymeric resins', *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315, pp. 196–204.
- Saikia, M. D. and Dutta, N. N. (2008) 'Adsorption affinity of certain biomolecules onto polymeric resins: Effect of solute chemical nature', *Reactive and Functional Polymers*, 68, pp. 33–38.
- Schild, H. . (1996) 'Thermal Decomposition of PNIPAAm: TGA-FTIR Analysis', *Journal of Polymer Science*, 34, pp. 2259–2262.
- Schild, H. G. (1992) 'Poly (N-Isopropylacrylamide): Experiment , Theory and Application', *Progress in Polymer Science*, 17, pp. 163–249.
- Seuring, J. and Agarwal, S. (2013) 'Polymers with upper critical solution temperature in aqueous solution: Unexpected properties from known building blocks', *ACS Macro Letters*, 2, pp. 597–600.
- SIGMA-ALDRICH (2017a) *Amberlite® IRA-410 chloride form*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/216569?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 1 September 2017).
- SIGMA-ALDRICH (2017b) *Amberlite® Weakly Acidic Cation Exchanger, Hydrogen form*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/cg50?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 2 August 2017).
- SIGMA-ALDRICH (2017c) *Dowex® IX2 chloride form*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/217387?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 3 August 2017).
- SIGMA-ALDRICH (2017d) *Dowex® 50WX2 hydrogen form*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/217441?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 2 August 2017).
- SIGMA-ALDRICH (2017e) *Dowex® 66 free base*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/436674?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 1 September 2017).
- SIGMA-ALDRICH (2017f) *Ion exchanger Amberlite® IRA-67*. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/mm/115959?lang=pt®ion=PT> (Accessed: 13 September 2017).
- Silva, J. M., Reis, R. L. and Mano, J. F. (2016) 'Biomimetic Extracellular Environment Based on Natural Origin Polyelectrolyte Multilayers', *Small*, 12, pp. 4308–4342.
- Slagt, M. (2012) 'Ion Exchange Resin', *DOW Water & Process Solutions*.
- Štěpánová, S. and Kašička, V. (2016) 'Recent applications of capillary electromigration methods to

- separation and analysis of proteins', *Analytica Chimica Acta*, 933, pp. 23–42.
- The Dow Chemical Company (2017) 'DOWEX™ MAC-3 Resin Macroporous Weak Acid Cation Exchange Resin', pp. 1–3.
- Tomé, L. I. N. *et al.* (2010) 'Tryptophan extraction using hydrophobic ionic liquids', *Separation and Purification Technology*, 72, pp. 167–173.
- Ullah, F. *et al.* (2015) 'Classification, processing and application of hydrogels: A review', *Materials Science and Engineering C*, 57, pp. 414–433.
- Valente, B. (2016) *Synthesis and Characterization of Ionic Liquid based Polyampholyte Hydrogels*. University of Coimbra.
- Ventura, S. P. M. *et al.* (2009) 'Evaluation of anion influence on the formation and extraction capability of ionic-liquid-based aqueous biphasic systems', *Journal of Physical Chemistry B*, 113, pp. 9304–9310.
- Wang, J. *et al.* (2005) 'Recovery of amino acids by imidazolium based ionic liquids from aqueous media', *Green Chemistry*, 7, pp. 196–202.
- Wang, Z. *et al.* (2017) 'A new and recyclable system based on tropin ionic liquids for resolution of several racemic amino acids', *Analytica Chimica Acta*, 960, pp. 81–89.
- Xie, Y., Jing, K.-J. and Lu, Y. (2011) 'Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies of l-tryptophan adsorption using a cation exchange resin', *Chemical Engineering Journal*, 171, pp. 1227–1233.
- Xiong, Y. B. *et al.* (2012) 'Novel imidazolium-based poly(ionic liquid)s: Preparation, characterization, and absorption of CO₂', *Polymers for Advanced Technologies*, 23, pp. 835–840.
- Yuan, J. and Antonietti, M. (2011) 'Poly(ionic liquid)s: Polymers expanding classical property profiles', *Polymer*, 52(7), pp. 1469–1482.
- Yuan, J., Mecerreyes, D. and Antonietti, M. (2013) 'Poly(ionic liquid)s: An update', *Progress in Polymer Science*, 38, pp. 1009–1036.
- Zhang, X. *et al.* (2001) 'Preparation and Characterization of Fast Response Macroporous Poly (N-isopropylacrylamide) Hydrogels', *Langmuir*, 17, pp. 6094–6099.
- Zhou, X. *et al.* (2016) 'Poly(N-isopropylacrylamide)-based ionic hydrogels: synthesis, swelling properties, interfacial adsorption and release of dyes', *Polymer Journal*, 48, pp. 431–438.
- Zhu, Z., Lu, J. J. and Liu, S. (2012) 'Protein separation by capillary gel electrophoresis: A review', *Analytica Chimica Acta*, 709, pp. 21–31.

Anexos

Anexo A – Otimização da síntese de redes poliméricas interpenetrantes à base de NIPAM/BVimCl e AAm/BVimCl

Quantidade de agente reticulante

Inicialmente na primeira parte da síntese RPIs não se adicionou agente de reticulação, para que a incorporação da solução da segunda parte fosse facilitada, criando-se um semi RPI. Mas quando se colocou o catalisador na segunda parte, os RPIs permaneceram líquidos, o que sugere que não ocorreu polimerização, possivelmente pela oxidação do TEMED. Assim, optou-se por colocar os RPIs na estufa a 70°C, para ativar o iniciador. Como o PNIPAM encolhe com a subida da temperatura, como explicado na secção 1.4., a colocação na estufa levou à aparente expulsão da solução da segunda rede, Figura A1. Quando se colocou os RPIs a lavar em água, estes dissolviam-se, isto pode ter sido devido à ausência de agente de reticulação.



Figura A1 – Aspeto da primeira tentativa de RPIs, após a colocação na estufa a 70°C, a amostra identificada com PAM PIL é o RPI de BVimCl/AAm e a amostra identificada com PNIPAM PIL é o RPI de BVimCl/NIPAM.

Na tentativa de resolver o problema da dissolução do RPI em água, decidiu-se adicionar 0,5 % (molar) de agente de reticulação, em relação ao número de moles de monómero da primeira parte. Isto levou a que, após a polimerização da primeira parte, esta fica-se demasiado sólida, o que impediu a incorporação homogênea da solução da segunda parte. É de referir ainda, a criação de uma camada na superfície da primeira parte do RPI, possivelmente porque algum resto de iniciador e catalisador da primeira parte levou à polimerização parcial da segunda parte, Figura A2.

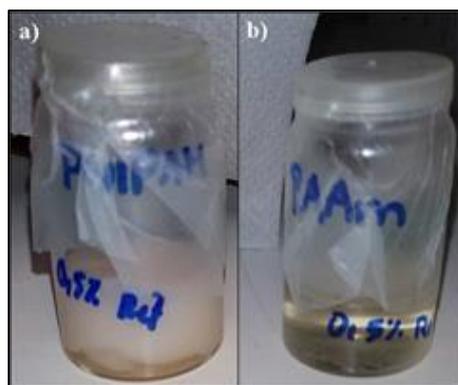


Figura A2 – Aspetto dos RPIs após adicionar a segunda parte e sem colocar o catalisador para ocorrer a segunda polimerização. Imagem a) corresponde ao RPI de BVimCl/NIPAM e a imagem b) ao RPI de BVimCl/AAm.

Por isso, decidiu-se baixar a quantidade de reticulação na primeira parte para 0,1 % (molar). Isto levou a que, após polimerizada esta parte fica-se muito viscosa, mas já possibilitando a mistura da solução da segunda parte, com o recurso a uma espátula, ainda que de forma não totalmente homogênea, Figura A3.

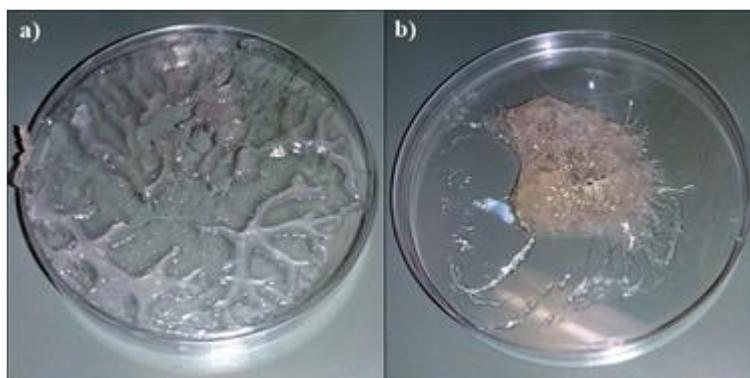


Figura A3 – Aspectos RPIs no final da segunda polimerização, antes da lavagem. Imagem a) é o RPI BVimCl/NIPAM e a imagem b) é o RPI BVimCl/AAm.

Tipo de agitação

Na tentativa de uma incorporação homogênea da solução da segunda parte na primeira parte, recorreu-se à agitação mecânica com o Ultra Turrax®. Contudo, esta não se revelou a melhor alternativa, porque a agitação levou à criação de muitas bolhas de ar, tornando o RPI com a aparência de uma espuma. Quando se colocou os RPIs em caixas de Petri, para se dar a segunda polimerização, esta não ocorreu ou não foi completa, possivelmente por causa da presença de oxigênio no interior do RPI, que levou à oxidação do TEMED. Optou-se por deixar ao ar para evaporar a água presente, Figura A4, no final, ao lavar estes RPIs, eles dissolveram-se na água. Por conseguinte, decidiu-se voltar à agitação manual com o recurso da espátula.



Figura A4 – Aspeto do RPI de B₂ImCl/NIPAM, em que se utilizou agitação mecânica do Ultra Turrax®, após a água evaporar.

Quantidade de iniciador

Fez-se duas tentativas com quantidades de iniciador diferentes, com 0,5 % e 1 % (molar) em relação ao número de moles de monómero da primeira parte. Comparando a rede formada com 0,5 % com a de 1 %, a última era mais flexível e menos viscosa, porque tendo maior quantidade de iniciador a quantidade de cadeiras formadas irá ser maior. Optou-se então por sintetizar os RPIs com 1 % de iniciador de forma a facilitar a entrada da solução da segunda parte.

Novo método para a síntese do RPI

Numa última tentativa para obter um RPI com total incorporação de líquido iónico, sintetizou-se um RPI_N_50/50, mas com um processo diferente. Primeiro dissolveu-se o NIPAM e o MBA em 3 mL de água MiliQ com agitação de 800 rpm a 0°C durante 2 horas. A seguir desgaseificou-se a solução num banho de ultrassons durante 10 minutos, de seguida adicionou o TEMED, agitou-se e colocou-se a solução no frigorífico. Após 30 minutos adicionou-se o APS, dissolvido previamente em 0,5 mL de água miliQ, agitou-se e deixou-se a solução a polimerizar a 20°C durante 24 horas. Depois efetuou-se a lavagem do polímero em água abundante (1 L de água destilada), mudando-se a mesma de 2 em 2 horas durante um dia. No final da lavagem colocou-se o polímero a secar a 50°C durante 36 horas. Deu-se depois início à segunda parte da polimerização, dissolvendo o B₂ImCl e o MBA em 1,5 mL de água miliQ, com agitação de 800 rpm durante uma hora à temperatura ambiente. A seguir desgaseificou-se a solução num banho de ultrassons durante 10 minutos, de seguida adicionou o TEMED, agitou-se e colocou-se a solução no frigorífico. Após 30 minutos adicionou-se a solução de APS fria, dissolvendo previamente a quantidade necessária em 0,5 mL de água

miliQ, agitou-se rapidamente e deixou-se a solução no frigorífico durante 30 minutos. Depois, colocou-se o PNIPAM a inchar dentro da solução anterior durante 24 horas no frigorífico. De seguida retirou-se do frigorífico e deixou-se a polimerizar durante 41 horas a 25°C, mas teve que se adicionar uma solução extra de TEMED (7 µL de TEMED em 250 µL de água miliQ) porque a solução em volta do PNIPAM continuava muito líquida, o que sugeriu que não tinha ainda ocorrido polimerização. A seguir, colocou-se o RPI a lavar em água (1 L de água destilada), mudando a mesma 3 vezes ao dia durante dois dias. Após a lavagem colocou-se o RPI a congelar e liofilizou-se a 0,1 mbar durante 24 horas.

Anexo B – Curva de Calibração

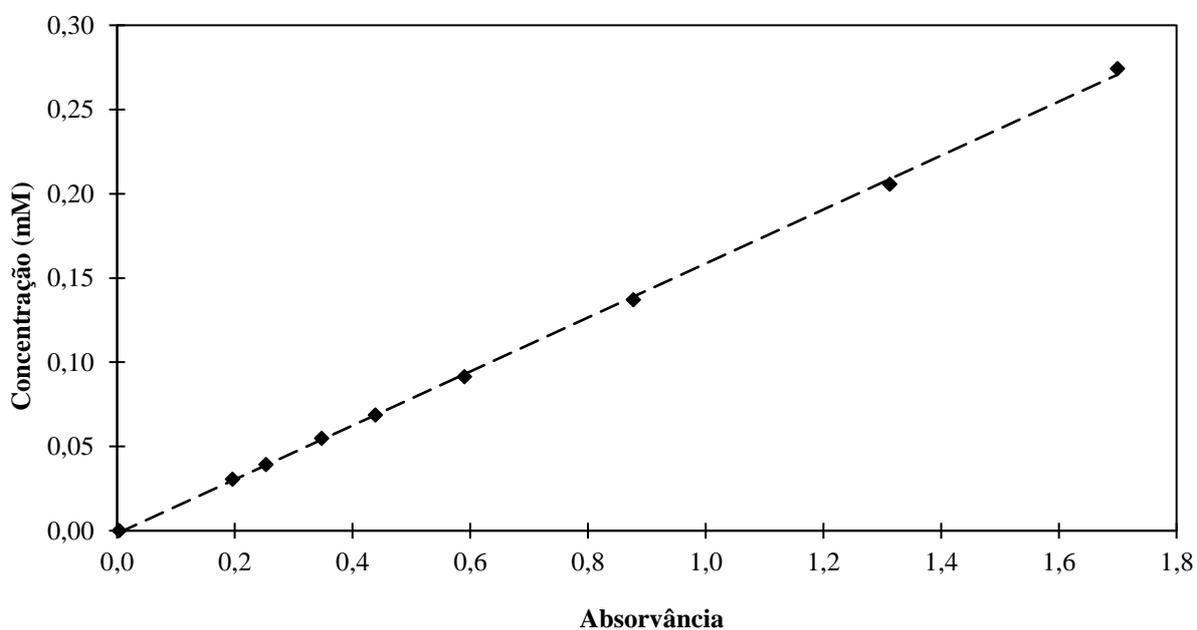


Figura B1 – Gráfico da curva de calibração do L-triptofano na solução tampão de Trizma base; $y=0,1602x$
 $R^2=0,9995$

Anexo C – Resultados da sorção do aminoácido L-triptofano em massa de L-triptofano por massa de polímero

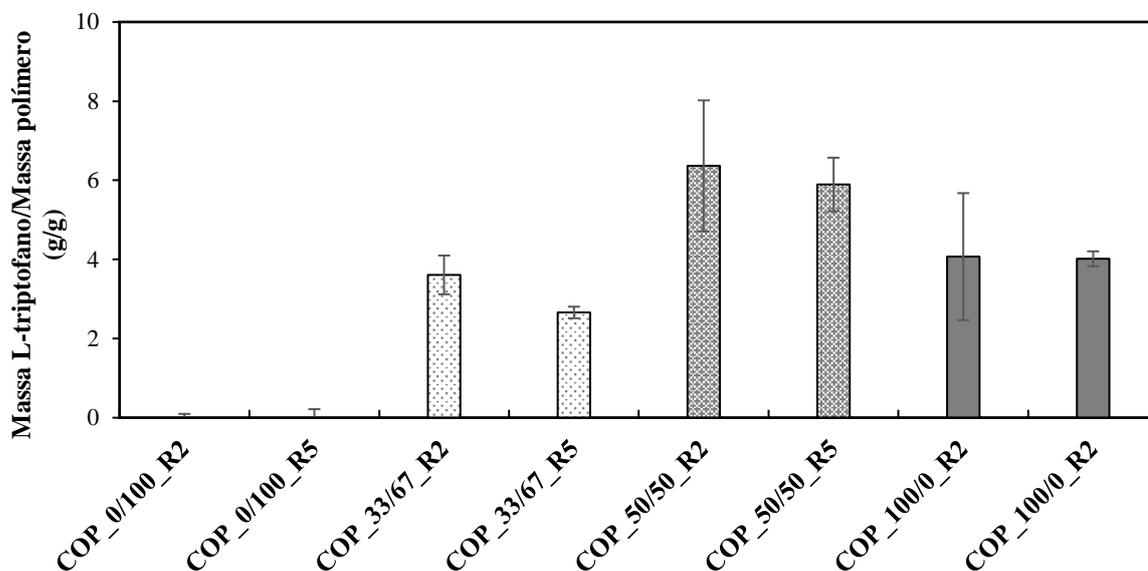


Figura C1 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, após 3 horas de ensaio sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

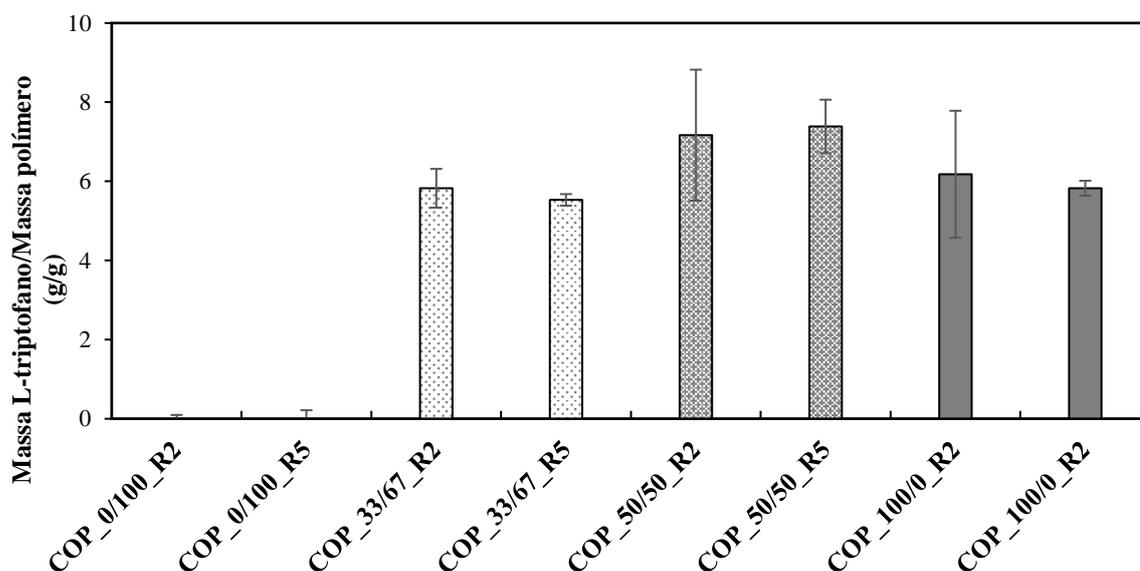


Figura C2 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, após 24 horas de ensaio sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (antes da troca do anião Cl^- pelo $[(\text{Tf}_2\text{N})^-]$).

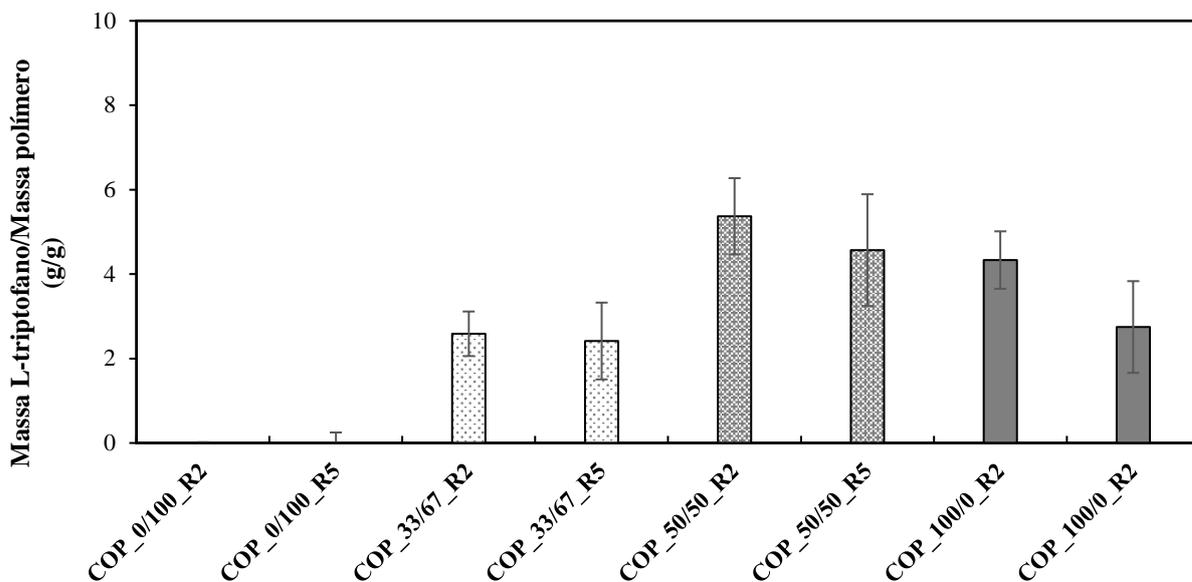


Figura C3 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, após 3 horas de ensaio sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)]⁻).

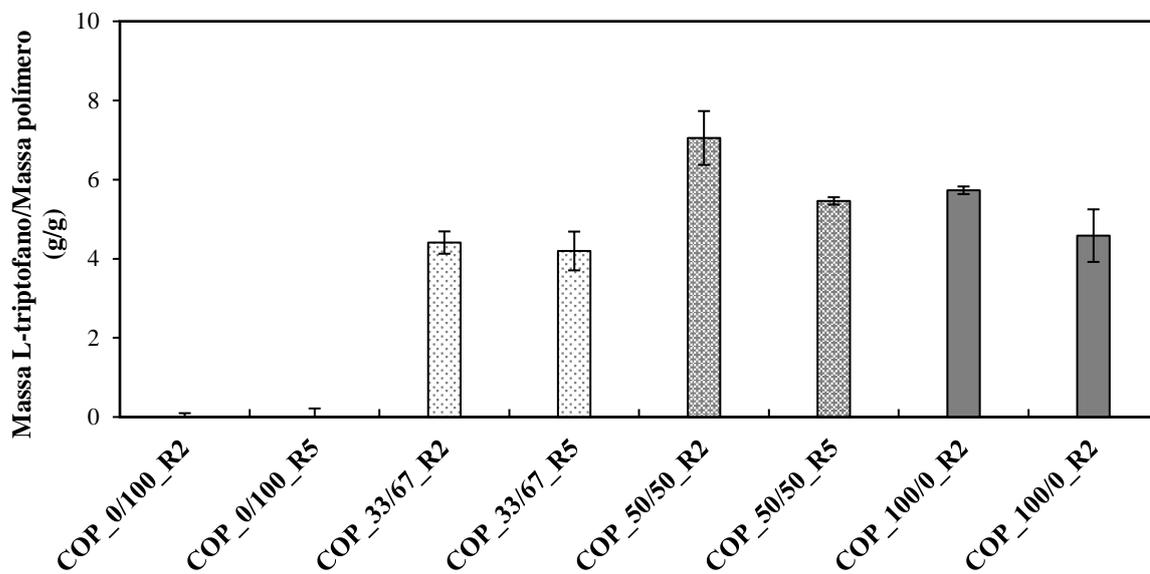


Figura C4 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, após 24 horas de ensaio sem aplicação de campo elétrico pelos copolímeros (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)]⁻).

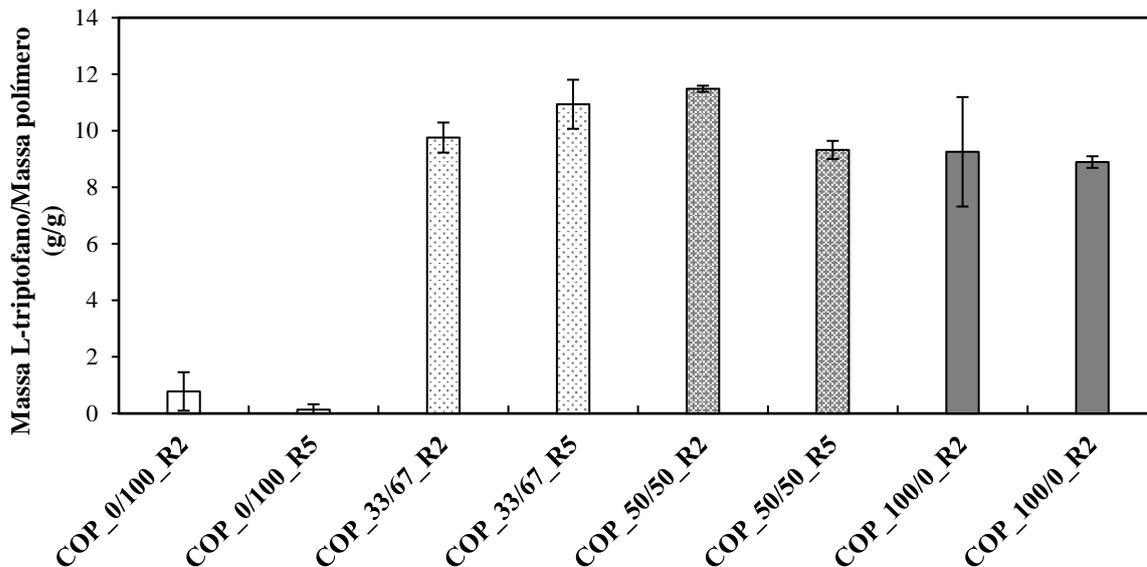


Figura C5 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, com aplicação de campo elétrico pelos copolímeros, após terminar o ensaio (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

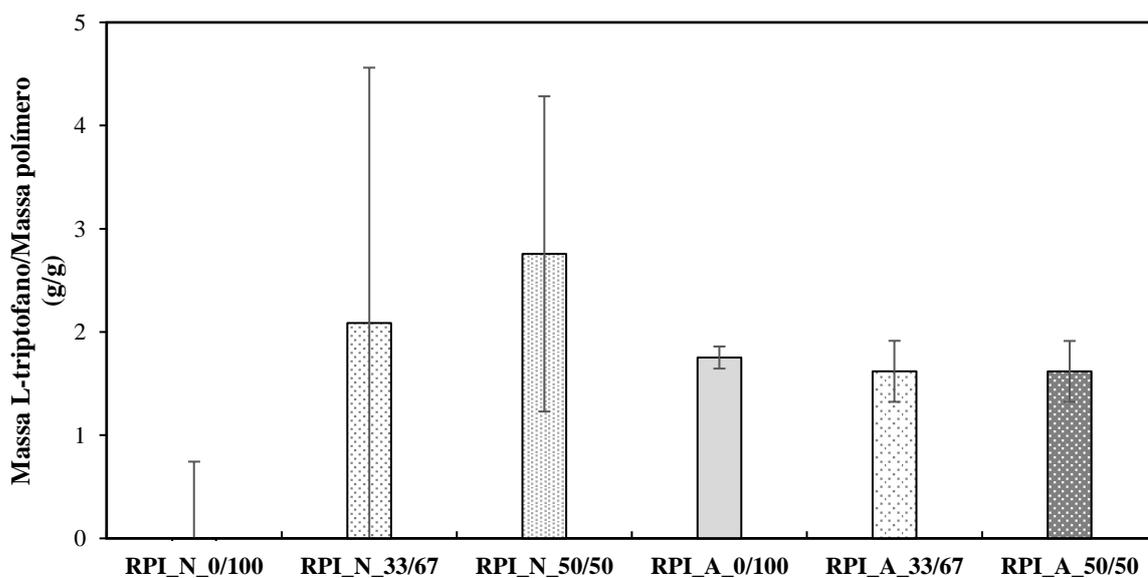


Figura C6 – Resultado da sorção de L-triptofano, em massa de L-triptofano por massa de polímero, com aplicação de campo elétrico pelos RPIs, após terminar o ensaio (depois da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]).

Anexo D – Espectro de UV-Vis da amostra COP_50/50_R2 durante o ensaio de sorção sem aplicação de campo elétrico antes da troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻]

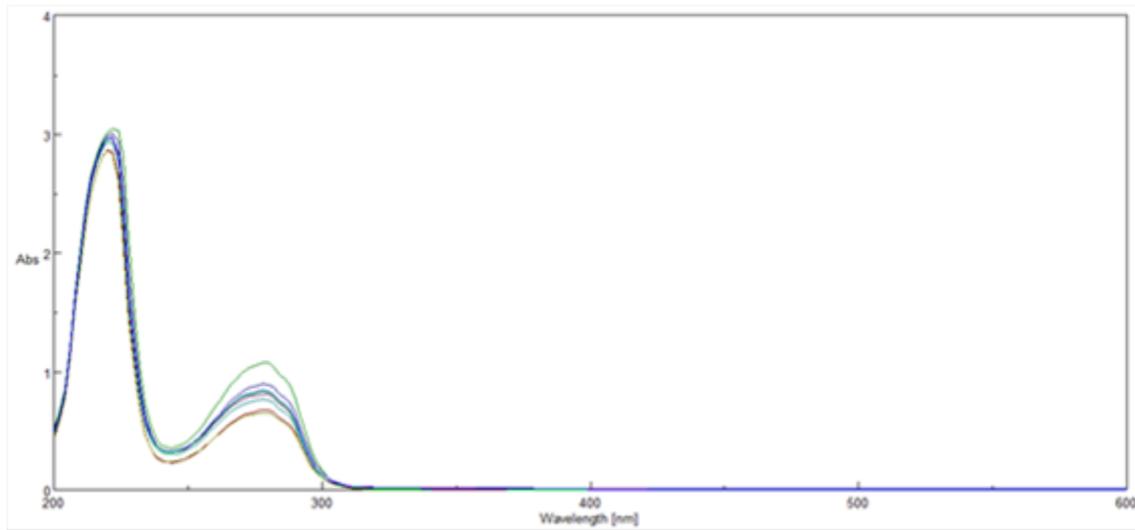


Figura D1 – Evolução do espectro UV-Vis da amostra COP_50/50_R2 durante o ensaio de sorção do aminoácido L-triptofano sem a aplicação de campo elétrico pelos copolímeros sem troca do anião Cl⁻ pelo [(Tf₂N)⁻].