

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ROBERTA NÁTALI DO AMARAL ZUCATTI

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROGEL ELETRO-RESPONSIVO À BASE
DE GELATINA E AMIDO**

Porto Alegre

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

ROBERTA NÁTALI DO AMARAL ZUCATTI

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE MICROGEL ELETRO-RESPONSIVO À BASE
DE GELATINA E AMIDO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado junto à atividade de ensino
“Trabalho de conclusão de curso – QUI” do
curso de Química, como requisito parcial
para a obtenção do grau de Bacharela em
Química.

Profa. Dra. Nádyá Pesce da Silveira
Orientadora

Prof. Dr. Vladimir Lavayen
Co-orientador

Porto Alegre
2021

CIP - Catalogação na Publicação

Zucatti, Roberta Náiali do Amaral
Síntese e caracterização de microgel
eletro-responsivo à base de gelatina e amido / Roberta
Náiali do Amaral Zucatti. -- 2021.
56 f.
Orientadora: Nálya Pesce da Silveira.

Coorientador: Vladimir Lavayen.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Química, Bacharelado em Química, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Microgel. 2. Nanopartículas de amido. 3.
Nanotubos de polipirrol. 4. Gelatina. 5. Aplicação de
campo elétrico. I. Silveira, Nálya Pesce da, orient.
II. Lavayen, Vladimir, coorient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

À minha família, Rosângela, Roberto e Gabriele, pelo suporte incondicional e por sempre acreditarem em mim. Essa conquista é ainda mais especial por ter vocês ao meu lado para celebrar comigo! Amo muito vocês!

À minha orientadora, professora Nádyá Pesce, por sempre me incentivar e confiar em meu trabalho, ao logo deste e de outros projetos. Obrigada por ter me recebido no laboratório no início da minha graduação e, desde lá, ter compartilhado um pouco do seu conhecimento comigo. És inspiradora, te admiro muito!

Ao meu co-orientador, professor Vladimir Lavayen, por gentilmente ter aceitado participar deste projeto e por estar sempre disposto a compartilhar conhecimentos comigo. Obrigada por todo o incentivo e colaboração.

À professora Daiani Leite, pela disposição em dividir comigo o seu conhecimento e também por me tranquilizar em momentos de insegurança. Obrigada pela amizade e pelos ensinamentos, desde o meu primeiro projeto de iniciação científica. És muito especial, aprendo muito contigo!

Aos atuais colegas de laboratório, obrigada pelo companheirismo, pelos cafés e momentos de descontração. Em especial à Andrielle Vailatti, pela amizade e companheirismo de bancada ao longo de toda a iniciação científica.

À Karin Stein e Cristiane Mauss, por todo o suporte que recebi durante o período de estágio para que conseguisse conciliá-lo com a graduação. Obrigada também por todos os ensinamentos, cresci muito como pessoa e como profissional com vocês, eu as admiro muito.

À Joana Zanchetti, pela amizade e apoio durante toda a graduação, por sempre me ouvir com paciência e sempre ler meus trabalhos. Obrigada amiga, por todas as vezes em que literalmente seguraste minha mão quando precisei, por todas as risadas e até pelas saladas que levava para a UFRGS pra me incentivar a comer saudável. Você é demais!

À Gabriela Rios, pelo apoio e amizade desde a escola. Obrigada por vibrar pelas minhas conquistas junto comigo, e por sempre estar ao meu lado! És especial demais amiga, obrigada por tornar tudo mais leve.

Ao amigo e colega Matheus Marafiga, por todo o incentivo e suporte ao longo da graduação, dentro e fora da UFRGS. Obrigada pela parceria em tantos

seminários e aulas práticas, nossa dupla era demais. Sua amizade é muito especial para mim!

À Eduarda Flach, por todo o incentivo. Sua amizade foi um grande presente durante a elaboração deste projeto!

Ao colega Rodrigo Morawski, pelo incentivo e por partilhar seus conhecimentos comigo durante a elaboração deste trabalho.

Aos demais colegas e amigos, da UFRGS e de fora, que tornaram minha caminhada mais leve.

À equipe do LAMAT, em especial Júlio e Guilherme, pelas análises de infravermelho.

À Central Analítica da UFRGS, pelas análises de RMN.

Ao CNPq e à UFRGS, pelo fomento e incentivo à pesquisa.

RESUMO

Este trabalho apresenta estudos relacionados à síntese e caracterização de microgéis inteligentes baseados nos polímeros do amido de milho (amilose e amilopectina) e na gelatina, com a incorporação de nanotubos de polipirrol (NTs-PPI). Os NTs-PPI foram preparados pela técnica de *template* reativo auto-degradável, que se baseia na atuação de um complexo fibrilar como semente reativa no crescimento de nanotubos ocos de polipirrol. Mediante a técnica de nanoprecipitação do amido foram preparadas nanopartículas de amido (NA) e um nanocompósito (NA-NTs-PPI), utilizados como precursores dos microgéis. O método consistiu na dissolução dos grânulos de amido em solução aquosa básica seguida de precipitação em não-solvente (o qual continha ou não NTs-PPI dispersos). As nanopartículas foram quimicamente reticuladas com gelatina, por intermédio do reticulante 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida metiodeto (EDC), originando 2 microgéis (com e sem NTs-PPI). A reação de reticulação foi verificada através dos resultados de RMN ¹H e análise de infravermelho, que demonstraram a formação de ligação éster entre os grupos carboxílicos da gelatina e as hidroxilas dos polímeros do amido, intermediada pelo reticulante EDC. Outros 2 microgéis foram preparados a partir de subsequente tratamento por aplicação de campo elétrico aos microgéis de referência. Foi observada a existência de auto-organização no microgel, induzida pelos NTs-PPI, em forma de bastões micrométricos. A aplicação de campo elétrico provocou alterações na organização superficial das partículas dos microgéis e aumentou a estabilidade coloidal do sistema de maneira irreversível. Constatou-se que os microgéis exibem resposta inteligente a estímulos de pH e temperatura. Os resultados indicam que a arquitetura dos microgéis consiste em uma organização do tipo *core-shell* (caroço-casca), cujo *shell* é formado pela gelatina.

Palavras-chave: microgel; nanotubos de polipirrol; nanopartículas de amido; amilose; amilopectina; gelatina; polímero responsivo; campo elétrico.

ABSTRACT

The present study presents the synthesis and characterization of intelligent microgels based on corn starch polymers (amylose and amylopectin) and gelatin, incorporating polypyrrole nanotubes (NTs-PPI). The NTs-PPI were prepared using the reactive self-degraded template technique, which is based on the performance of a fibrillar complex as reactive seed in growth of hollow polypyrrole nanotubes. Using the starch nanoprecipitation technique, starch nanoparticles (NA) and a nanocomposite (NA-NTs-PPI) were prepared and used as microgels precursors. The method consisted of dissolving starch granules in a basic aqueous solution followed by precipitation in non-solvent (whether or not it contained dispersed NTs-PPI). The nanoparticles were chemically crosslinked with gelatin through the 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylcarbodiimide methiodide (EDC) crosslinker, giving rise to two microgels (with and without NTs-PPI). The crosslinking reaction was verified through the results of ¹H NMR and infrared analysis, which demonstrated the formation of an ester bond between the carboxylic groups of gelatin and the hydroxyl groups of the starch polymers, intermediated by the EDC crosslinker. Another two microgels were prepared from subsequent treatment by applying an electric field to the reference microgels. The existence of self-organization in the microgel, induced by NTs-PPI, was observed in the form of micrometric rods. The application of an electric field caused changes in the surface organization of microgel particles and irreversibly increased the system's colloidal stability. It was found that microgels exhibit an intelligent response to pH and temperature stimuli. The results indicate that the microgel architecture consists of a core-shell type organization, which shell is formed by gelatin.

Keywords: microgel; polypyrrole nanotubes; starch nanoparticles; amylose; amylopectin; gelatin; responsive polymer; electric field.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura do polipirrol.	13
Figura 2. Polipirrol preparado com ânions imobilizados atuando na incorporação de cátions durante o processo de redução, acompanhado de inchamento (“cation driven actuation”, ou atuação dirigida por cátions). Os cátions podem ser liberados no processo de oxidação.	14
Figura 3. Estruturas moleculares da amilose (a) e da amilopectina (b). Em destaque, ligações α -(1,4) predominantes da amilose, e ramificações em α -(1,6) das cadeias de amilopectina.	15
Figura 4. Dispersão de amido de milho regular em água, visto sob luz polarizada em microscópio óptico. Em evidência, grânulos exibindo Cruzes de Malta. Escala: 20 μ m.	16
Figura 5. Representação estrutural da gelatina.....	19
Figura 6. (a) Molécula de AM. Em evidência, a carga negativa do dipolo. (b) <i>Hard template</i> fibrilar formado por AM-Fe ³⁺	22
Figura 7. Possíveis rotas de polimerização do pirrol. À esquerda, Rota 1: polimerização na superfície do <i>template</i> fibrilar. À direita, Rota 2: polimerização no interior do <i>template</i>	23
Figura 8. Aparato experimental utilizado para a aplicação de campo elétrico nas amostras. À esquerda, representação esquemática. À direita, imagem real.....	27
Figura 9. Micrografia eletrônica dos NTs-PPI (A). Área ampliada de “(A)” mostrando a presença de nanoestruturas tubulares com um diâmetro externo próximo a 130 nm (B). Imagem de coloração invertida da amostra sintetizada onde é observada a presença de materiais fibrilares (C).....	32
Figura 10. Gráficos de distribuição de diâmetro de partícula das amostras NA (a) e NA-NTs-PPI (b). No canto superior esquerdo, respectivo diâmetro médio (nm) e potencial zeta (mV) de cada amostra.	33
Figura 11. Gráfico exibindo o potencial zeta das amostras MGAG e MGAG-NTs-PPI em pH 7,0 à 20 °C e à 40 °C, e em pH 4,5 à 20 °C.....	36
Figura 12. Ilustração do microgel MGAG-NTs-PPI. Partícula representada com um corte, exibindo o interior da estrutura.	38
Figura 13. Amostra NA (nanopartículas de amido em etanol). Escala: 10 μ m. Magnificação de 50x.	39

Figura 14. Micrografias das dispersões mãe (anterior à reticulação) das amostras MGAG (A) e MGAG-NTs-PPI (B). Escala de 100 μm . Magnificação de 5x.....	40
Figura 15. Imagens da dispersão mãe do microgel MGAG-NTs-PPI. (A), (B) e (C) Escala: 10 μm , magnificação de 50x. Em (C), setas destacam nanopartículas de amido no bastão e também dispersas ao redor das estruturas.....	41
Figura 16. (A) e (B) microgel MGAG, (C) e (D) amostra MGAG-CE (microgel tratado por aplicação de campo elétrico). Escala igual a 20 μm , magnificação de 20x.....	42
Figura 17. Micrografia do microgel MGAG-NTs-PPI, evidenciando estruturas auto-organizadas na forma de bastões. Nanopartículas de amido compondo a estrutura dos bastões e também dispersas ao seu redor. Escala igual a 20 μm , magnificação de 20x.	43
Figura 18. Micrografias da amostra MGAG-NTs-PPI-CE, evidenciando a perda de estruturação em forma de bastões após a aplicação de campo elétrico. Escala igual a 10 μm , magnificação de 50x.	44
Figura 19. Espectros na região do infravermelho da gelatina em pó comercial, e das nanopartículas de amido sintetizadas (NA e NA-NTs-PPI).	46
Figura 20. Espectros na região do infravermelho dos microgéis MGAG-NTs-PPI e MGAG.	47
Figura 21. Espectros de RMN ^1H das nanopartículas de amido (NA e NA-NTs-PPI) e dos microgéis sintetizados (MGAG e MGAG-NTs-PPI).	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

τ – Tempo de relaxação

AM – Alaranjado de metila

CE – Campo elétrico

D – Coeficiente de difusão

D_2O – Óxido de deutério

DLS – Espalhamento de luz Dinâmico

EDC – 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida

$f(ka)$ – Função de Henry

FTIR-ATR – Espectroscopia na Região do Infravermelho no modo Refletância Total Atenuada

$g_1(t)$ – Função de correlação do campo elétrico

$g_2(t)$ – Função de correlação temporal da intensidade

k_B – Constante de Boltzmann

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MO – Microscopia óptica

NTs-PPI – Nanotubos de polipirrol

PPI – Polipirrol

PZ – Potencial Zeta

q – Vetor de espalhamento

R_h – Raio hidrodinâmico

RMN 1H – Ressonância magnética nuclear de próton

SDS – Dodecil sulfato de sódio

U_E – Mobilidade eletroforética

β – Parâmetro instrumental óptico

δ – Deslocamento químico

ϵ – Constante dielétrica do meio

ζ – Potencial zeta

η – Viscosidade

Γ – Taxa/frequência de relaxação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	ESTADO DA ARTE	15
2.1	O AMIDO	15
2.1.1	Nanopartículas de amido	17
2.2	GELATINA	18
2.3	NANOTUBOS DE POLIPIRROL	20
3	OBJETIVOS	24
3.1	Geral	24
3.2	Específicos	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1	SÍNTESE DOS NANOTUBOS DE POLIPIRROL	25
4.1.1	Materiais	25
4.1.2	Metodologia	25
4.2	PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE AMIDO	25
4.2.1	Materiais	25
4.2.2	Metodologia	25
4.3	SÍNTESE DOS MICROGÉIS	26
4.3.1	Materiais	26
4.3.2	Metodologia	26
4.4	DISPOSITIVO PARA A APLICAÇÃO DE CAMPO ELÉTRICO	27
4.5	CARACTERIZAÇÕES	28
4.5.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	28
4.5.2	Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)	28
4.5.3	Potencial Zeta (PZ)	30
4.5.4	Microscopia Óptica (MO)	30
4.5.5	Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)	30
4.5.6	Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ¹H)	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS NTs-PPI	32
5.2	TAMANHO, ESTABILIDADE COLOIDAL E RESPOSTA INTELIGENTE	33
5.3	MORFOLOGIA	39
5.4	CARACTERIZAÇÃO POR FTIR-ATR	45

5.5	CARACTERIZAÇÃO POR RMN ¹ H.....	48
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

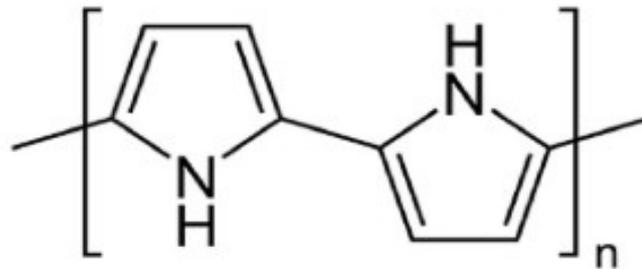
1 INTRODUÇÃO

Microgéis são uma subclasse dos chamados hidrogéis, e consistem em partículas coloidais tridimensionalmente reticuladas com a capacidade de intumescer em presença de água. Quando preparados a partir de polímeros inteligentes (ou polímeros estímulo-responsivos), em condições apropriadas de síntese, podem ser modulados para que apresentem habilidade de resposta a diferentes estímulos externos, tais como temperatura, campo elétrico ou magnético, força iônica, luz, ou pH.^[1,2] A sua arquitetura interna também pode ser configurada e propriedades de diferentes substratos combinadas, como no caso de estruturas do tipo *core-shell*. Esse tipo de material é chamado de microgel inteligente, e a resposta (reversível) aos estímulos pode dar-se por mudanças no volume ou até na cor. Assim, suas principais aplicações incluem as áreas de *drug-delivery*, engenharia de tecidos, sensores, entre outras.^[3] Nesse contexto, estudos envolvendo microgéis eletricamente responsivos têm sido muito promissores, e os chamados polímeros intrinsecamente condutores (PIC's) têm se mostrado cada vez mais relevantes no desenvolvimento de matrizes inteligentes. Esses microgéis combinam as propriedades elétricas dos polímeros condutores à estrutura tridimensionalmente porosa e altamente absorvedora de água dos microgéis.^[4-10]

PIC's são polímeros orgânicos constituídos por ligações duplas conjugadas os quais combinam propriedades de metais e de polímeros, uma vez que possuem a capacidade de sofrer processos de redução ou oxidação e, assim, alternar entre o estado isolante e condutor. Além da alta condutividade em si (alguns autores referem-se como "metais sintéticos"), a propriedade de variabilidade desse comportamento frente a mudanças do potencial elétrico também é bastante interessante, e confere ao material características estímulo-responsivas como alterações no volume e cor. A alternância entre os estados oxidado e reduzido pode, por exemplo, atuar na liberação de substâncias mediante estímulos externos. Algumas aplicações práticas dos PIC's incluem sensores, dispositivos biomédicos, músculos artificiais, eletrodos de baterias, matrizes para imobilização de enzimas, entre outras.^[11, 12] Entre os PIC's, o polipirrol (PPI) (Fig. 1) é um dos mais extensivamente estudados e se destaca devido a sua alta condutividade, boa estabilidade química e térmica e facilidade de síntese, além de ser considerado um

material de toxicidade muito baixa em meio biológico (na avaliação da biocompatibilidade é necessário considerar todos os excipientes, como o dopante).^[11, 13-15]

Figura 1. Estrutura do polipirrol.



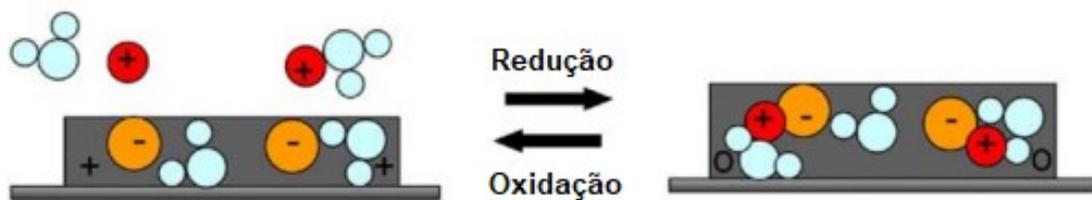
Fonte: retirado de Noreen, 2020.^[18]

Apesar de todas as vantagens, a baixa processabilidade dos polímeros condutores ainda é um desafio. Sua insolubilidade em solventes comuns, por exemplo, limita sua utilização em aplicações biológicas. Assim, a síntese de polímeros na escala nanométrica como nanotubos, nanofibras, ou nanopartículas apresenta-se como uma alternativa para contornar essa dificuldade, uma vez que são mais facilmente dispersáveis em outras matrizes.^[16] Ainda, estruturas nanotubulares apresentam a vantagem de promover áreas de contato adicionais em seu interior.^[12,17] Diversos estudos propõe a utilização de macromoléculas de origem natural como a quitosana, celulose, gelatina ou alginato na composição de matrizes hospedeiras de nanoestruturas de PPI, inclusive explorando a habilidade formadora de filmes desses biopolímeros.^[14,18-25] As estratégias de síntese dos biocompósitos condutores incluem a polimerização *in situ* dos PIC's em uma matriz pré-formada, ou a posterior dispersão das nanoestruturas. As pesquisas na área biomédica já demonstraram a relevância desse tipo de material. Autores sintetizaram um compósito PPI-quitosana direcionado à investigação do efeito de estímulo elétrico sobre o crescimento de células relacionadas ao olfato.^[26] Outros estudos sobre o polipirrol também reportaram que a sinalização elétrica através do polímero pode modular reações celulares, incluindo a investigação da regeneração de células do sistema nervoso pela passagem de corrente elétrica.^[1, 15]

Ainda, a possibilidade de incorporar diferentes drogas às nanoestruturas condutoras permite sua utilização no *design* de sistemas de liberação controlada. A

liberação de substâncias pode se dar através de um estímulo elétrico que provoque a dilatação local do tubo e conseqüente transporte de massa^[12], ou por mecanismo baseado em forças eletrostáticas. Como exemplo, filmes de PPI preparados com ânions imobilizados podem incorporar drogas catiônicas (como a dopamina) quando de sua redução (Fig. 2), pois uma vez que a carga catiônica da estrutura do polímero é removida e a carga negativa dos ânions aprisionados torna-se dominante, as drogas catiônicas são atraídas para o polímero. Quando desejado, a droga pode ser liberada durante o processo de oxidação do polímero.

Figura 2. Polipirrol preparado com ânions imobilizados atuando na incorporação de cátions durante o processo de redução, acompanhado de inchamento (“cation driven actuation”, ou atuação dirigida por cátions). Os cátions podem ser liberados no processo de oxidação.



Fonte: adaptado de Svirskis, 2010.^[15]

Considerando o interesse biomédico e também econômico na utilização de macromoléculas de origem natural na construção de sistemas eletro-responsivos, o presente trabalho propõe a síntese de um microgel inteligente baseado nos polímeros do amido de milho e na gelatina, cuja matriz comporta nanotubos de polipirrol incorporados fisicamente.

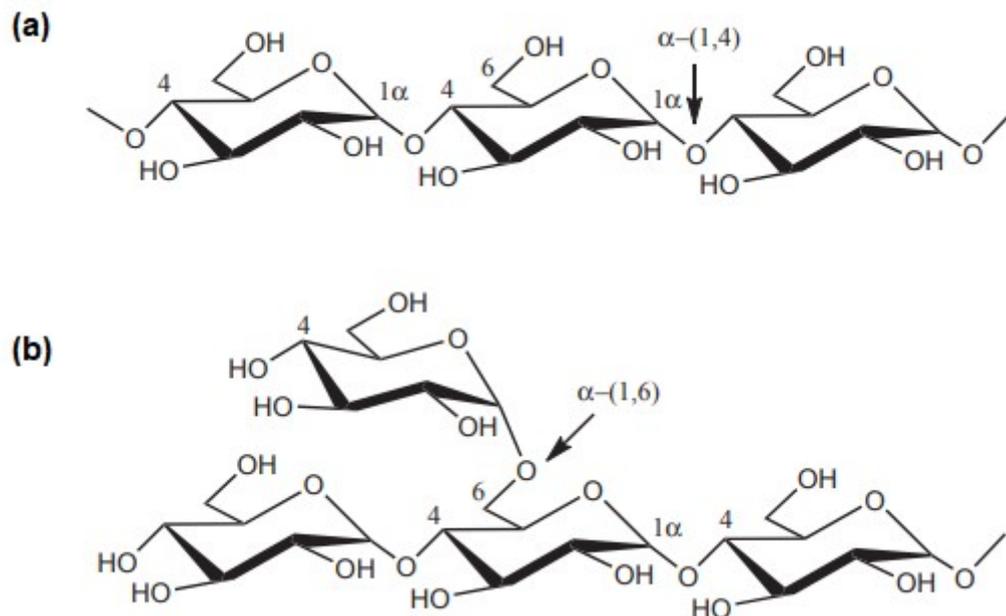
2 ESTADO DA ARTE

2.1 O AMIDO

O amido é um polissacarídeo extremamente abundante na natureza, presente em tubérculos, cereais, leguminosas e em frutas imaturas sob a forma de grânulos. Além de estar agregado a um baixo custo e ser biocompatível, esse carboidrato exibe outras propriedades físico-químicas interessantes (como a capacidade de absorção de água em função da temperatura) que o tornam versátil e permitem sua utilização em diversas áreas de interesse além da indústria alimentícia, como na formulação de adesivos ou na indústria farmacêutica, dentre outras.

Seu grânulo é constituído majoritariamente por duas macromoléculas: a amilose e a amilopectina (Fig. 3); as quais se associam por ligações de hidrogênio e compõe um arranjo estrutural radial de lamelas cristalinas e amorfas alternadas, dando origem a uma superestrutura dita semicristalina.^[27, 28, 30]

Figura 3. Estruturas moleculares da amilose (a) e da amilopectina (b). Em destaque, ligações α -(1,4) predominantes da amilose, e ramificações em α -(1,6) das cadeias de amilopectina.



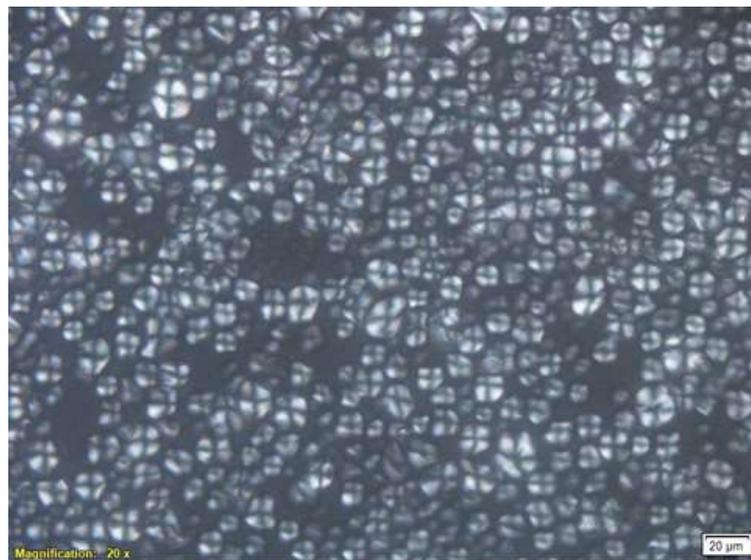
Fonte: adaptado de Hill, 2005.^[42]

As cadeias de amilopectina são formadas por ligações α -D-glicopiranosose do tipo α -(1,4) com ramificações em α -(1,6), e são responsáveis pelas regiões cristalinas do grânulo - especificamente, os *clusters* (estruturas em formato de “cachos”) formados por porções de cadeias paralelas, que se organizam em duplas

hélices. Essa macromolécula é considerada o “esqueleto granular” e pode sozinha compor o grânulo, como observado em alguns tipos de amido mutantes desprovidos de amilose. Essa última caracteriza-se por uma estrutura essencialmente linear unida por ligações α -(1,4) e, juntamente com os pontos de ramificação das cadeias laterais da amilopectina, contribui com a fração amorfa do grânulo.^[27, 29-32]

A organização interna dos grânulos de amido, proveniente do crescimento radial ao redor do *hilum* (hilo, o centro do grânulo), confere ao material a capacidade de birrefringência, que pode ser observada através de microscopia óptica sob luz polarizada na forma de um modelo característico conhecido por “Cruz de Malta” (Fig. 4).^[28, 30]

Figura 4. Dispersão de amido de milho regular em água, visto sob luz polarizada em microscópio óptico. Em evidência, grânulos exibindo Cruzes de Malta. Escala: 20 μ m.



Fonte: a autora.

Dependendo da fonte botânica a densidade de empacotamento das duplas hélices da amilopectina se diferencia, resultando em 3 principais padrões característicos de Difração de Raio-X para o amido.^[27, 33] Assim, a cristalinidade granular pode ser classificada em tipo A, B ou C.^[29, 30] Além da fonte botânica, variações de uma mesma espécie ou até mesmo o grau de maturação da planta dão origem a grânulos com diferentes proporções de amilose:amilopectina e, conseqüentemente, com diferentes propriedades físico-químicas. No presente trabalho foi utilizado amido de milho de alta amilose, característico do tipo B.^[34]

Ainda, há a possibilidade de realizar modificações físicas, químicas, enzimáticas ou genéticas sobre o amido a fim de melhorar características

específicas importantes para a aplicabilidade desejada (como tamanho, forma, porosidade, ou a razão amilose/amilopectina). Um dos métodos químicos mais comuns utilizados para modificar o amido é a hidrólise ácida, incluindo estudos recentes que fazem o uso de dispositivos para a aplicação de campo elétrico a fim de otimizar o processo.^[35-37] A partir do tratamento ácido é possível obter amidos com maior teor de cristalinidade, pois a amilose (mais suscetível ao ataque ácido) é lixiviada do grânulo durante os primeiros estágios da reação. Amidos com baixo teor de amilose apresentam menor tendência ao processo de retrogradação durante o resfriamento das pastas gelatinizadas, visto que a cinética do processo é diferente entre a amilopectina e a amilose, que retrograda mais rapidamente. Esse processo consiste na reassociação das cadeias poliméricas através de ligações de hidrogênio, levando à expulsão de água (sinerese) da rede tridimensional e à separação de fases. Do ponto de vista tecnológico, esse tipo de amido encontra empregabilidade na indústria de sorvetes, por exemplo, e de outros produtos que requerem estabilidade a baixas temperaturas, pois contribuem para a retenção de água nos alimentos aumentando a vida útil de seus sabores e texturas.^[38, 39]

Outra classe de modificação química amplamente estudada consiste em reações de grafitação utilizando copolímeros sintéticos ou também naturais, a fim de melhorar propriedades térmicas, físicas, mecânicas ou químicas do amido.^[40, 41] Isso é possibilitado pelos grupos hidroxila das macromoléculas constituintes do grânulo, que são sítios ativos passíveis de diversas funcionalizações, como a acetilação.

2.1.1 Nanopartículas de amido

A utilização do amido como material de partida para a síntese de nanopartículas provém da capacidade de reorganização dos seus polímeros componentes (amilose e amilopectina) em nanodomínios. As principais vantagens da utilização de nanopartículas de amido frente ao amido nativo, além da maior área superficial (ideal para posteriores funcionalizações), são a melhor dispersibilidade e a maior taxa de penetração biológica, que as tornam ótimas facilitadoras do transporte de compostos bioativos. Assim, os maiores campos de aplicação residem nas indústrias farmacêutica, cosmética, e alimentícia.^[43-45] O termo “nanopartículas de amido” é definido pela literatura como partículas que tenham ao menos uma dimensão menor do que 1000 nm.^[50]

A preparação de nanopartículas pode ser classificada em dois principais processos: *botton-up* e *top-down*. A estratégia *botton-up* consiste na auto-organização molecular de glicose e oligômeros, regulada por meios termodinâmicos, até a formação de núcleos primários que originam as nanopartículas. A estratégia *top-down* baseia-se em métodos para a redução de tamanho do grânulo de amido nativo, ou para a redução de tamanho dos seus polímeros componentes (aplicação dos métodos sobre o amido gelatinizado). Tais métodos podem consistir em ataques químicos (hidrólise ácida, alcalina, ou enzimática) ou físicos (aplicação de ultrassom, extrusão reativa, ou aplicação de radiação gama), além de combinações entre ambos.^[46-49]

Neste trabalho optou-se pela metodologia *top-down* de nanoprecipitação, ou precipitação em não-solvente, que consiste na adição gradual de pequenas quantidades de solução polimérica a uma grande quantidade de solvente, chamado de não-solvente devido a sua imiscibilidade com os polímeros, que precipitarão da solução.^[2, 50] A estrutura e o tamanho das nanopartículas sintetizadas por essa técnica podem ser controlados a partir de diversas condições de síntese, como: do método de solubilização escolhido, da aplicação de ultrassom (a fim de reduzir a massa molar dos polímeros), da concentração da solução polimérica ou até mesmo da proporção solução polimérica:não-solvente (v:v) utilizada.^[43, 51-53] Em estudo sobre a nanoprecipitação de amido de sagu utilizando etanol como não-solvente, autores correlacionaram a proporção entre solução de amido:etanol à morfologia das nanopartículas obtidas: a proporção de 1:10 (v:v) resultou em partículas com a forma de fibras, enquanto a de 1:20 (v:v) originou nanopartículas majoritariamente esféricas, e com 1:15 (v:v) foi obtida uma mistura de partículas esféricas e alongadas/fibrosas.^[54] Além disso, a fonte de amido nativo escolhida também impacta na morfologia final das nanopartículas, visto que diferentes arranjos das duplas hélices de amilopectina induzem à formação de diferentes partículas. A literatura já reportou que grânulos de cristalinidade do tipo B e do tipo C originam nanopartículas maiores do que aquelas sintetizadas a partir de grânulos do tipo A.^[45, 47]

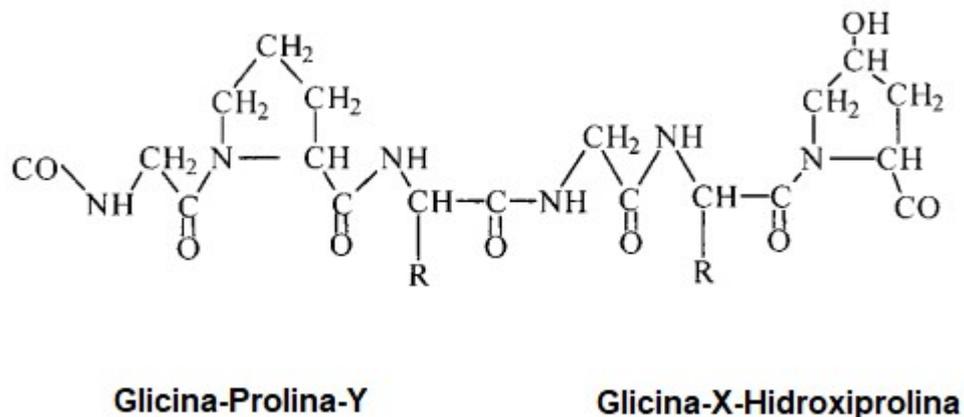
2.2 GELATINA

A gelatina é um polímero de origem natural obtido através da hidrólise controlada das fibras de colágeno, uma proteína abundante que constitui peles,

ossos e tecidos conjuntivos. A conversão do colágeno em gelatina é efetuada por meio da clivagem de ligações covalentes por tratamentos ácidos ou alcalinos, dando origem, respectivamente, a gelatinas do tipo A ou do tipo B, as quais se diferem principalmente em relação ao ponto isoelétrico. Enquanto as cadeias de colágeno apresentam conformação helicoidal em tripla hélice, a gelatina forma géis cuja rede tridimensional é composta por microcristais interconectados com regiões amorfas e segmentos randômicos.^[55,56]

A composição da gelatina consiste em uma mistura de polipeptídeos de alta massa molecular, em que os aminoácidos majoritários são a glicina (aproximadamente um terço), a prolina e a hidroxiprolina. Sua estrutura primária pode ser representada pela sequência (-glicina-X-Y-)_n, onde X representa a prolina e Y a hidroxiprolina (Fig. 5). Arginina, alanina, ácido aspártico e outros aminoácidos também podem fazer parte da composição.^[56, 57]

Figura 5. Representação estrutural da gelatina.



Fonte: traduzido de Choi, 1999.^[57]

Devido aos diversos grupos funcionais que fazem parte de sua estrutura, as suas propriedades físico-químicas podem ser facilmente moduladas. Sua combinação com outros polímeros naturais tem sido extensivamente estudada, incluindo a síntese de hidrogéis de gelatina/quitosana, gelatina/ácido hialurônico, gelatina/alginato, entre outros, e tem possibilitado inovações na área de engenharia de tecidos.^[58]

Diversas metodologias de reticulação da gelatina já foram relatadas na literatura, como a reticulação física por irradiação ultravioleta, ou a reticulação

química a partir de diversos compostos como o glutaraldeído, formaldeído, açúcares, compostos diepóxidos, carbodiimida solúvel em água, entre outros.^[59-62]

A utilização de carbodiimidas como agente de reticulação, como o composto 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) utilizado nesse trabalho, apresenta especial vantagem frente à reticulação de proteínas e polissacarídeos: sua molécula não é incorporada à estrutura reticulada após a reação, pois forma um derivado de uréia solúvel em água que pode ser removido por lavagem. O EDC pode intermediar ligações amida entre grupos amino e grupos carboxílicos nas cadeias de proteína, formando ligações intra e intermoleculares na gelatina.^[63] Além disso, a literatura também já relatou a atuação do EDC na formação de ligações éster entre grupos carboxílicos e grupos hidroxilas.^[57]

2.3 NANOTUBOS DE POLIPIRROL

A síntese de polímeros condutores consiste na polimerização oxidativa do respectivo monômero, que pode ser realizada por via química (utilizado um agente oxidante em solução) ou eletroquímica (através da aplicação de um potencial oxidante por um eletrodo).^[15] Essa última metodologia pode seguir diferentes técnicas (incluindo a potenciostática, galvanostática, ou potenciodinâmica) e resulta na formação de um filme fino do polímero na superfície do eletrodo. Além de demandar equipamentos especiais, a polimerização eletroquímica é desvantajosa no que diz respeito à quantidade de produto sintetizado, visto que depende da área superficial do eletrodo empregado.^[11] Assim, a polimerização química ainda é o método mais popular de síntese de PICs.

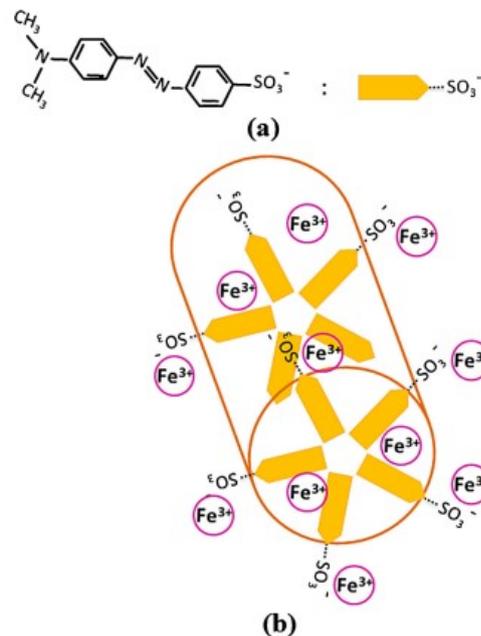
A síntese do polipirrol pela via química ocorre por um mecanismo de pseudo-policondensação, que consiste no acoplamento entre radicais de cátions. Inicialmente, a oxidação dos monômeros resulta em radicais catiônicos ativos, e o acoplamento entre dois radicais seguido de desprotonação produz o bipirrol. Na etapa de propagação o bipirrol oxida novamente e acopla-se a outro segmento oxidado. A re-oxidação seguida de acoplamento e desprotonação resulta na formação de oligômeros solúveis até que o aumento de cadeia origina um polímero insolúvel que adquire a cor preta em contato com o ar, o polipirrol.^[11, 15] Os agentes oxidantes mais utilizados incluem sais de ferro e halogênios.

Sob condições apropriadas de polimerização, é possível controlar o arranjo das macromoléculas e produzir PIC's nano-estruturados. Diferentes abordagens

podem ser utilizadas e, no caso do polipirrol, as mais comuns são as de *soft* e *hard templates*. No método de *soft template* (ou *template-free*) o substrato utilizado para o preparo de nanotubos ou nanofibras pode consistir em fases líquido-cristalinas, microemulsões reversas, ou micelas, as quais são automaticamente eliminadas da estrutura final ou, ainda, podem passar por processo de remoção após a síntese. Em contrapartida, os chamados *hard templates* são materiais sólidos nanoestruturados inseridos na mistura reacional da polimerização ou precipitados, que servem como guias para o crescimento polimérico e cuja remoção do produto é difícil ou até mesmo impossível de ser realizada sem alterar drasticamente as estruturas obtidas.^[17, 64, 65] Nesse contexto, Yang e colaboradores (2005) desenvolveram uma metodologia pioneira chamada de “*reactive self-degraded template*” (*template* reativo auto-degradável), a qual baseia-se na formação de um complexo fibrilar precipitado *in-situ*, formado pelo corante alaranjado de metila (AM) e FeCl_3 , que atua como semente reativa no crescimento de nanotubos ocos de polipirrol, uma vez que tal complexo é automaticamente degradado durante a polimerização subsequente devido à redução dos cátions oxidantes.

O ponto chave desse método reside na mudança de solubilidade do corante conforme o pH do meio reacional: o sal de alaranjado de metila (cor amarela) é solúvel em soluções aquosas neutras ou básicas, porém em condição de pH ácido (abaixo de 3,1) converte-se à sua forma zwitteriônica (cor vermelha), que é insolúvel. Após a adição da solução oxidante de FeCl_3 ao meio reacional e subsequente hidrólise de cátions em solução, a condição ácida para a formação da forma zwitteriônica do corante é atingida.^[65, 66] Visto que a molécula de AM é composta por uma porção planar hidrofóbica com uma extremidade hidrofílica, sua estrutura pode se auto-organizar por empilhamento em soluções aquosas e formar agregados negativamente carregados, os quais são estabilizados pelo oxidante FeCl_3 , formando o complexo fibrilar já mencionado, representado na Figura 6.

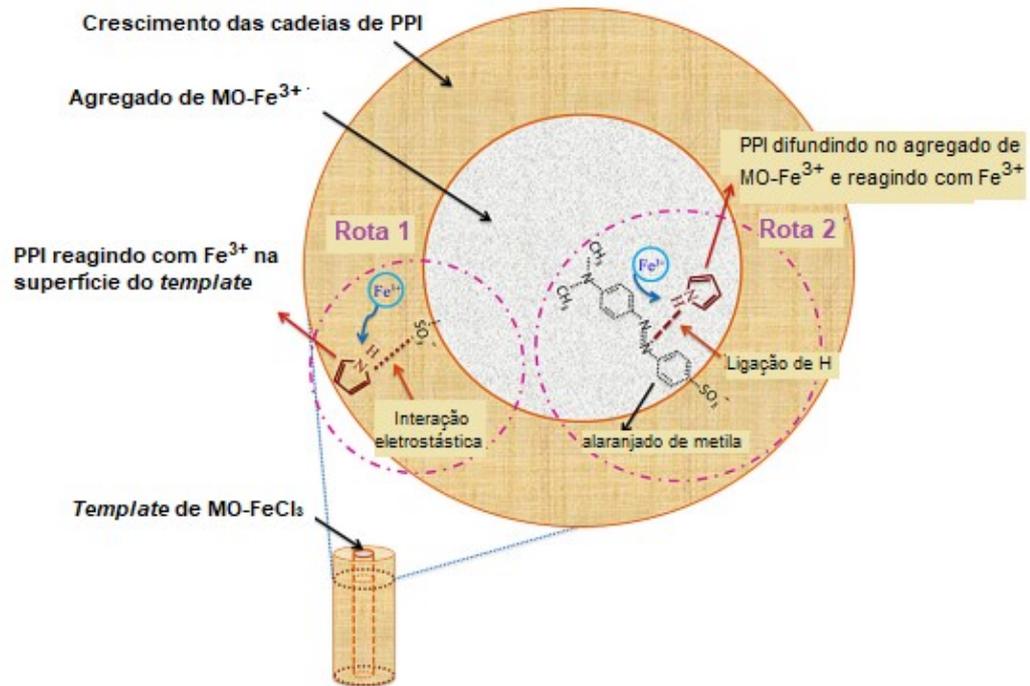
Figura 6. (a) Molécula de AM. Em evidência, a carga negativa do dipolo. (b) *Hard template* fibrilar formado por AM-Fe³⁺.



Fonte: retirado de Joulazadeh, 2015.^[17]

Este complexo performa a função de *hard-template* na polimerização, e pode conduzir o crescimento de polipirrol por duas rotas (Fig. 7): na Rota 1 os monômeros de pirrol interagem eletrostaticamente com os grupos sulfônicos do AM na superfície do *template* e, ao mesmo tempo, reagem com os cátions Fe³⁺, que são reduzidos para Fe²⁺; a Rota 2 propõe que monômeros de pirrol podem difundir pelo agregado e também interagir com moléculas de AM por ligação de H com os grupos azo e, assim, a polimerização pode ocorrer também no interior do *template*, provocando sua decomposição/solubilização após a redução do ferro. Dessa forma, a maior parte do AM utilizado na síntese é removido do produto durante a etapa de lavagem e como resultado obtém-se estruturas tubulares de polipirrol ocas. No entanto, é um consenso geral na literatura que algumas moléculas de AM são parcialmente incorporadas à estrutura dos nanotubos, atuando como um dopante.^[17, 65]

Figura 7. Possíveis rotas de polimerização do pirrol. À esquerda, Rota 1: polimerização na superfície do *template* fibrilar. À direita, Rota 2: polimerização no interior do *template*.



Fonte: adaptado de Joulazadeh, 2015.^[17]

Parâmetros reacionais como a concentração de AM, o oxidante utilizado, a temperatura, a razão monômero:oxidante e até mesmo a ordem de adição dos reagentes (pré-misturar AM com o oxidante, com o pirrol, ou mistura simultânea) podem ser ajustados a fim de controlar a dimensão, morfologia e propriedades dos nanotubos obtidos.^[67, 68] Autores já verificaram, por exemplo, que experimentos utilizando menores concentrações de AM e pré-mistura com o pirrol ou simultânea resultaram em nanotubos mais longos e com menor diâmetro, em relação à condição experimental de maior concentração de AM e pré-mistura com o oxidante. Em relação ao efeito da temperatura reacional já foi reportado que, apesar da polimerização ocorrer mais rapidamente em elevada temperatura, o peso molecular e a organização das cadeias são reduzidos, o que resulta em decréscimo na condutividade.^[66]

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

O objetivo geral desta monografia é a síntese e caracterização de um microgel quimicamente reticulado, constituído pelos polímeros do amido de milho e por gelatina e em cuja matriz seja possível incorporar nanotubos de polipirrol adquirindo, portanto, habilidade eletro-responsiva.

3.2 Específicos

- Sintetizar nanotubos de polipirrol por via química a partir de um método simples e rápido de *template* reativo auto-degradável;
- Preparar partículas esféricas de polímeros do amido pela técnica de nanoprecipitação;
- Sintetizar microgéis quimicamente reticulados a partir das partículas de amido preparadas e de gelatina, com e sem a incorporação dos nanotubos de polipirrol em sua matriz;
- Caracterizar o tamanho de partícula por Espalhamento de Luz Dinâmico, e inferir a possível composição de sua superfície a partir de resultados de Potencial Zeta;
- Avaliar as diferenças morfológicas entre os microgéis sintetizados com e sem nanotubos de polipirrol, assim como aquelas geradas por resposta ao pH e à aplicação de campo elétrico;
- Realizar a caracterização espectroscópica das amostras por Espectroscopia no Infravermelho e por Ressonância Magnética Nuclear de Próton;
- Avaliar sua estabilidade térmica por Análise Termogravimétrica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 SÍNTESE DOS NANOTUBOS DE POLIPIRROL

4.1.1 Materiais

Os reagentes pirrol (98%), cloreto férrico (FeCl_3 , 97%) e sódio 4-[4- (dimetil-amino)-fenildiazo] fenil sulfonato ($(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{N} = \text{NC}_6\text{H}_4\text{SO}_3\text{Na}$; Alaranjado de metila (AM)) foram adquiridos da Sigma-Aldrich. Com exceção do pirrol, o qual foi destilado previamente à síntese, todos os reagentes foram usados como recebidos.

4.1.2 Metodologia

Os nanotubos de polipirrol (NTs-PPI) foram sintetizados em colaboração com o Prof. Dr. Vladimir Lavayen, com base em um método de oxidação do pirrol por FeCl_3 já relatado na literatura, com algumas modificações.^[17, 64]

A razão molar oxidante-monômero foi fixada em 1,0. Inicialmente, 0,243 g (1,5 mmol) de FeCl_3 foi dissolvido em 30 mL de uma solução aquosa de AM 5 mmol L^{-1} , e um precipitado floculado foi instantaneamente gerado. Em seguida, 105 μL (1,5 mmol) de monômero de pirrol foram adicionados. A mistura foi agitada numa velocidade de 395 rpm durante 3 h, em temperatura ambiente. O precipitado escuro de PPI foi lavado com água deionizada e etanol até que o filtrado se apresentasse incolor e com pH próximo do neutro. Finalmente, o produto foi seco à temperatura ambiente por 24 h.

4.2 PREPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE AMIDO

4.2.1 Materiais

Amido de milho de alta amilose (Hylon VII, 52% de amilose) foi doado pela empresa Ingredion (Jundiaí, SP, Brasil), e seco durante 48 h à $40 \text{ }^\circ\text{C}$ previamente aos experimentos. Hidróxido de potássio P.A (KOH) (Dinâmica, SP, Brasil) e álcool etílico absoluto (Synth, SP, Brasil) são de grau analítico e foram utilizados sem purificação prévia.

4.2.2 Metodologia

Uma dispersão de amido 2% (m/v) em solução aquosa de KOH 0,5 M foi preparada e mantida sob agitação magnética durante 1 h, em temperatura ambiente ($20 \pm 3,0 \text{ }^\circ\text{C}$), a fim de dissolver os grânulos. A solução resultante (viscosa e pouco turva) foi gotejada em etanol absoluto na proporção de 1:20 (v:v) (solução de amido:etanol) com o auxílio de uma micropipeta, em uma taxa de $\sim 0,14 \text{ mL/segundo}$

e sob agitação mecânica constante de 1000 rpm. O gotejamento foi realizado com a ponteira da micropipeta submersa no etanol, e manteve-se a agitação mecânica durante 1 h após o término do processo. A dispersão de amido precipitado resultante, em etanol, foi utilizada na síntese dos microgéis em etapa seguinte.

No caso da síntese de microgel contendo os nanotubos de polipirrol, estes foram incorporados ao sistema durante a etapa de precipitação do amido. Para tanto, 2% de NTs-PPI em relação à massa de amido foram adicionados ao volume de etanol apropriado, e a dispersão foi mantida em banho ultrassônico durante 80 min. Em seguida, realizou-se a nanoprecipitação do amido, neste caso sobre a dispersão alcoólica de nanotubos de polipirrol, de acordo com o mesmo protocolo descrito.

Os produtos resultantes foram chamados de “NA” (nanopartículas de amido) e “NA-NTs-PPI” (nanopartículas de amido preparadas em presença de nanotubos de polipirrol).

4.3 SÍNTESE DOS MICROGÉIS

4.3.1 Materiais

Além da dispersão de amido nanoprecipitado apropriada (NA ou NA-NTs-PPI), foi utilizada gelatina em pó (código G1002.02.AE, Synth, São Paulo, Brasil) na composição da matriz dos microgéis. Como reticulante foi utilizado 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida metiodeto (EDC) (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA), e como agente surfactante foi utilizado dodecil sulfato de sódio (SDS) (Acros Organics, Geel, Bélgica).

4.3.2 Metodologia

A proporção gelatina:amido utilizada na síntese dos microgéis foi de (0,1:1) (m:m). Preparou-se 5 mL de uma dispersão de gelatina em água destilada, na concentração de 2,42 mg/mL. Para completa solubilização, utilizou-se banho-maria na temperatura de 40 °C durante 25 min.

Sob agitação mecânica de 1000 rpm, foi adicionado surfactante SDS até a concentração final de 4 mM à dispersão de nanopartículas de amido em etanol. A agitação foi mantida por 30 min. Em seguida, a solução de gelatina preparada (resfriada até temperatura ambiente) foi gotejada no interior da dispersão alcoólica

de NA ou NA-NTs-PPI com o auxílio de uma micropipeta. A agitação foi mantida por mais 15 min.

Para a etapa de reticulação a dispersão polimérica foi acidificada até pH 5 e mantida em banho de gelo, sob agitação mecânica de 1000 rpm. Com o auxílio de uma micropipeta, 10 mL de uma solução aquosa do reticulante EDC na concentração de 12 mM foram gotejados no interior da dispersão polimérica, sob as condições descritas. A concentração final de reticulante no sistema foi de aproximadamente 1 mM. A agitação foi mantida durante 1 h após o final do gotejamento. Após, o meio reacional foi neutralizado.

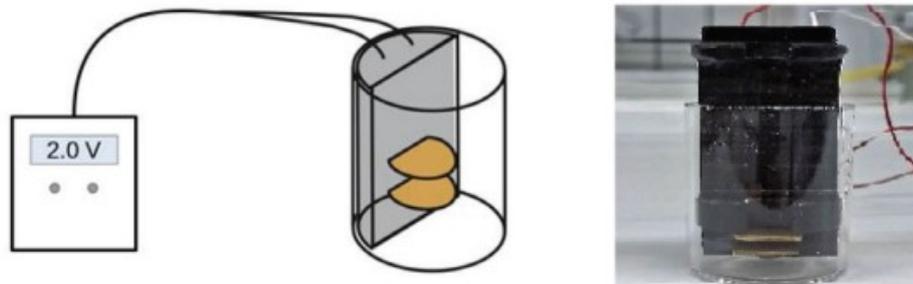
Dois microgéis foram sintetizados por essa metodologia:

- MGAG: microgel de referência, sintetizado a partir da dispersão alcoólica de NA.
- MGAG-NTs-PPI: microgel contendo nanotubos de PPI em sua composição, sintetizado a partir da dispersão alcoólica de NA-NTs-PPI.

4.4 DISPOSITIVO PARA A APLICAÇÃO DE CAMPO ELÉTRICO

A fim de avaliar a resposta dos microgéis sintetizados à ação de campo elétrico, as amostras passaram por tratamento em mini-reator (Fig. 8). O aparato experimental consiste em um capacitor composto por placas semicirculares de ouro separadas por 4 mm, as quais são fixadas em suporte de politetrafluoroetileno (PTFE) em um porta amostras de quartzo. A fonte de alimentação elétrica utilizada (HF-3003s, Hikari, China) teve sua voltagem fixada em 2,0 V para todos os experimentos.

Figura 8. Aparato experimental utilizado para a aplicação de campo elétrico nas amostras. À esquerda, representação esquemática. À direita, imagem real.



Fonte: da Silveira, 2019.^[37]

Os parâmetros utilizados (Tabela 1) foram baseados em publicação prévia do grupo de pesquisa, que estudou o efeito do campo elétrico na hidrólise ácida de amido de milho.^[37] O objetivo foi manter a integridade estrutural das partículas sintetizadas e verificar a diferença responsiva entre os microgéis com e sem nanotubos de PPI.

Tabela 1. Tempo e número de ciclos de aplicação de campo elétrico sobre as amostras de microgel sintetizadas, originando novas amostras modificadas.

Amostra original	Número de ciclos	Tempo de cada ciclo (segundos)	Tempo total (segundos)	Amostra resultante
MGAG	1	10	10	MGAG-CE
MGAG-NTs-PPI	1	10	10	MGAG-NTs-PPI-CE

4.5 CARACTERIZAÇÕES

4.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A fim de verificar a morfologia e estrutura dos nanotubos de PPI, foram feitas análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizando o equipamento JEOL JSM 6060. A amostra em pó foi depositada sobre fita de carbono e metalizada com uma fina camada de Au (30 nm) antes da aquisição das imagens. O software ImageJ (versão 1.47, National Institutes of Health, EUA) foi utilizado para analisar as imagens obtidas.

4.5.2 Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS)

Os valores de diâmetro efetivo das amostras de nanopartículas de amido e de microgéis foram obtidos por análises de Espalhamento de Luz Dinâmico no equipamento Litesizer 500 (Anton Paar). Alíquotas das amostras em etanol foram diluídas em água, e as leituras foram realizadas em pH 7, na temperatura de 20 °C. Cada amostra foi medida 3 vezes.

A técnica de DLS explora o movimento Browniano existente em sistemas de partículas diluídas, o qual consiste na constante mudança de direção da trajetória das partículas devido a colisões com moléculas do líquido em movimento térmico. A magnitude e direção do impulso gerado variam de momento a momento e são diferentes para diferentes partículas. O movimento Browniano de uma partícula está

associado a um coeficiente de difusão (D) o qual, por sua vez, relaciona-se ao raio hidrodinâmico (R_h) de partículas em solução através da equação de Stokes-Einstein (Equação 1)^[2, 76]

$$R_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad (1)$$

onde k_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura absoluta, e η é a viscosidade do meio.

O fundamento da técnica de DLS é a detecção resolvida no tempo de sinais de luz coerente espalhada, cujas flutuações na intensidade são causadas por mudanças do índice de refração da solução devido ao movimento dos centros espalhantes. O sinal detectado é expresso na forma de uma função de correlação temporal (Equação 2), que pode ser relacionada à função de correlação do campo elétrico através da relação de Siegert (Equação 3), em que a variável β refere-se a um parâmetro instrumental óptico.

$$g_2(t) = \lim_{T \rightarrow \infty} \left[\frac{1}{T} \int_0^T I(t') I(t'+t) dt' \right] \quad (2)$$

$$g_2(t) = 1 + \beta |g_1(t)|^2 \quad (3)$$

O decaimento da intensidade da função de correlação é uma função exponencial (Equação 4), para sistemas monodispersos diluídos. A escala de tempo característica desse decaimento depende do coeficiente de difusão do sistema espalhado, de acordo com a Equação 5.

$$g_1(t) = \exp(-\Gamma t) \quad (4)$$

$$\frac{1}{\tau} = \Gamma = Dq^2 \quad (5)$$

Onde Γ é a taxa ou frequência de relaxação, τ é o tempo de relaxação, e D é o coeficiente de difusão. q é o vetor de espalhamento, o qual possui dimensão do recíproco do espaço e depende do índice de refração, do comprimento de onda do laser e do ângulo de espalhamento.

Logo, visto que a taxa de relação (Γ) relaciona-se ao coeficiente de difusão (D), é possível obter o raio hidrodinâmico (R_h) através da Equação 1.

4.5.3 Potencial Zeta (PZ)

As análises de potencial zeta das nanopartículas de amido e dos microgéis foram realizadas no equipamento Litesizer 500 (Anton Paar), laser de $\lambda = 658$ nm. As amostras foram analisadas em água, em pH 7, na temperatura de 20 °C. Duas condições adicionais foram avaliadas sobre as amostras MGAG e MGAG-NTs-PPI: pH 7 na temperatura de 40 °C, e em solução tampão de pH 4,5 à 20 °C. Cada amostra foi medida 3 vezes e cada medida de mobilidade eletroforética foi obtida a partir de, no mínimo, 100 corridas.

O modelo de Henry (Equação 6) foi utilizado para o cálculo do potencial zeta a partir da mobilidade eletroforética:^[2, 70]

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta f(ka)}{3\eta} \quad (6)$$

onde U_E é a mobilidade eletroforética, ε é a constante dielétrica do meio, ζ é o potencial zeta e η é a viscosidade. A função $f(ka)$ é a função de Henry, em que k é o recíproco do comprimento (espessura da dupla camada elétrica) e a é o raio da partícula. Foi utilizada a aproximação de Smoluchowski, na qual a função $f(ka)$ assume o valor de 1,5 para partículas em meio aquoso maiores de 0,2 μm .

4.5.4 Microscopia Óptica (MO)

As análises foram realizadas em microscópio óptico (BX41, Olympus, digital camera DPT3, EUA) em temperatura ambiente e pH 7. As amostras, em seu meio de síntese (etanol), foram gotejadas diretamente sobre a lâmina sem que houvesse a necessidade de pré-concentração.

4.5.5 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

Os espectros de infravermelho foram determinados a partir das amostras secas, na forma de pó. Para tanto, as amostras sintetizadas foram centrifugadas (3500 rpm) durante 30 min. Nessa etapa, especificamente as amostras NP e NP-PPI foram lavadas 1x com etanol absoluto e então novamente centrifugadas. Realizou-se a secagem em estufa na temperatura de 40 °C por 48 h, e em seguida as amostras foram maceradas mecanicamente. Os espectros foram obtidos pelo

aparelho Nicolet 6700 no modo refletância total atenuada (ATR), entre 4000 cm^{-1} a 500 cm^{-1} , com 32 varreduras e resolução de 4 cm^{-1} . Para suavizar o ruído dos espectros das amostras MGAG e MGAG-NTs-PPI, utilizou-se a ferramenta Smooth (Adjacent-Averaging, janela de 10 pontos) do programa Origin.

4.5.6 Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ^1H)

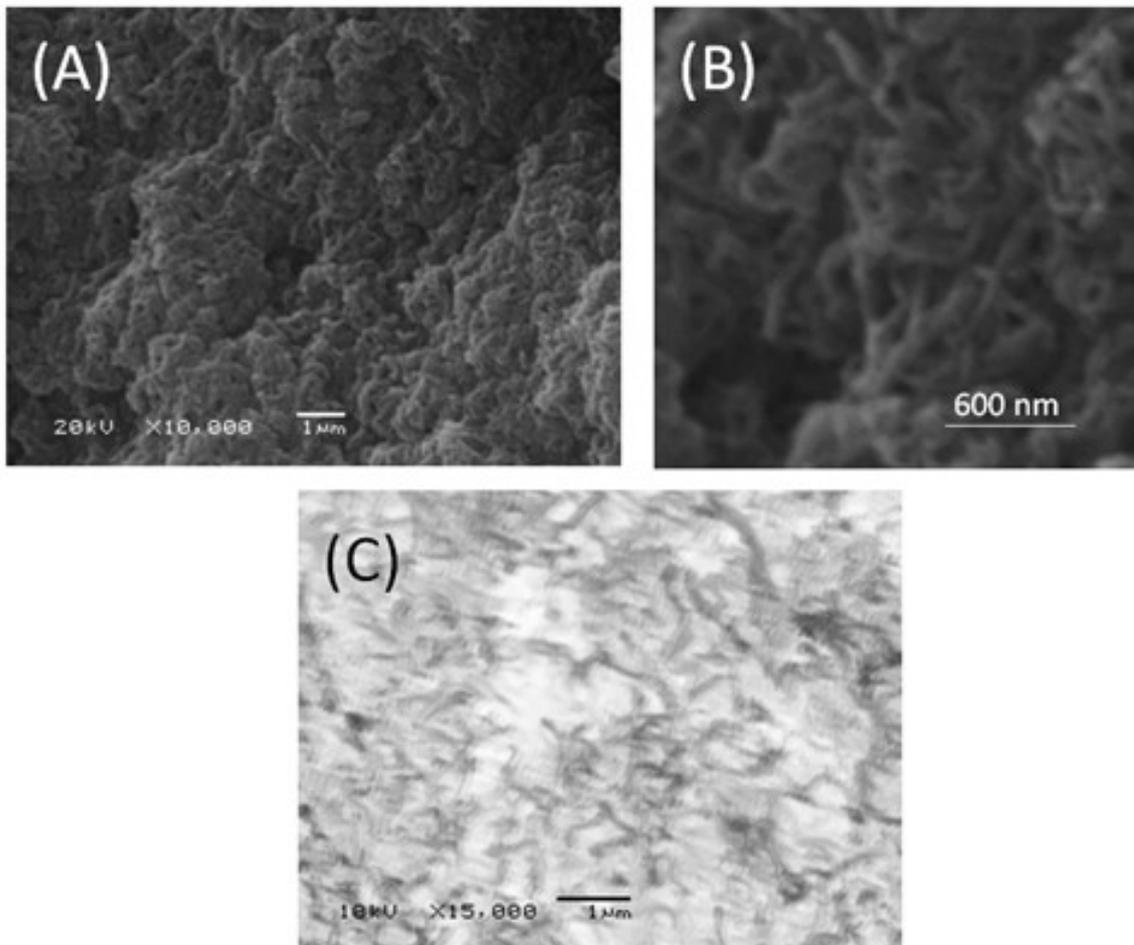
Para a obtenção dos espectros de RMN de ^1H as amostras secas foram dispersas em água deuterada (D_2O). A análise foi realizada em um espectrômetro Bruker Ascend III HD (400 MHz) na temperatura de $40\text{ }^\circ\text{C}$. O deslocamento químico (δ) usado para o TMS (0,00 ppm). Utilizou-se aproximadamente 20 mg de amostra para cada análise, com exceção das amostras “NA-NTs-PPI” e “MGAG” (10 mg).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS NTs-PPI

As micrografias eletrônicas da amostra de nanotubos de polipirrol (Fig. 9) evidenciam a morfologia tubular do produto. O diâmetro externo médio está na faixa de 100-130 nm. O comprimento dos tubos estende-se por vários micrometros e apresenta um perfil circular.

Figura 9. Micrografia eletrônica dos NTs-PPI (A). Área ampliada de “(A)” mostrando a presença de nanoestruturas tubulares com um diâmetro externo próximo a 130 nm (B). Imagem de coloração invertida da amostra sintetizada onde é observada a presença de materiais fibrilares (C).

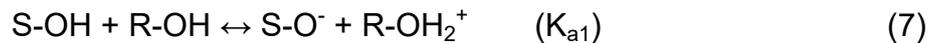


As imagens comprovam o sucesso na obtenção de nano estruturas tubulares de polipirrol através do método de *template* reativo auto-degradável (“*reactive self-degraded template*”).

5.2 TAMANHO, ESTABILIDADE COLOIDAL E RESPOSTA INTELIGENTE

O potencial zeta (PZ) caracteriza o potencial de carga superficial de partículas em suspensões, e está relacionado à dupla camada elétrica existente na interface sólido-líquido. Na química de colóides o PZ é um dos critérios utilizados para descrever a estabilidade de suspensões coloidais, visto que indica o grau de repulsão entre partículas adjacentes (estabilização eletrostática). Caso as forças repulsivas da dupla camada elétrica não sejam suficientes para manter as partículas separadas, estas podem agregar por atrações de van der Waals. Em geral, assume-se que um potencial zeta de cerca de ± 30 mV é suficiente para estabilizar um sistema.^[69-72]

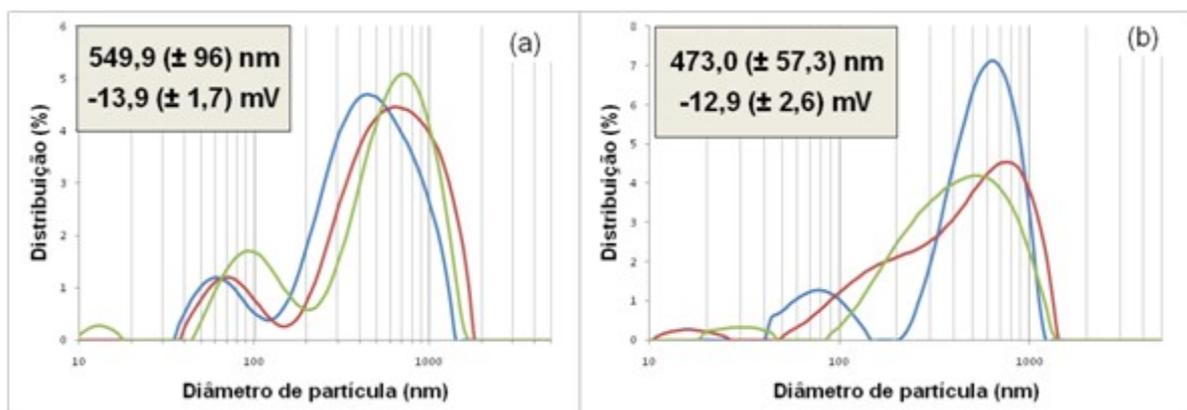
O potencial zeta de partículas de amido em soluções aquosas é reportado na literatura como caracteristicamente negativo, o que é atribuído aos seus grupos –OH superficiais.^[2] Se a superfície da partícula é ácida em relação ao solvente, o potencial zeta no equilíbrio é negativo (Equação 7)^[73]



onde S representa a superfície da partícula e K_{a1} a constante de dissociação ácida do solvente.

O diâmetro hidrodinâmico e o potencial zeta das nanopartículas de amido sintetizadas neste trabalho (NA E NA-NTs-PPI) foram analisados. A Figura 10 exibe os gráficos de distribuição de diâmetros, e os respectivos valores médios de diâmetro e de potencial zeta de cada amostra.

Figura 10. Gráficos de distribuição de diâmetro de partícula das amostras NA (a) e NA-NTs-PPI (b). No canto superior esquerdo, respectivo diâmetro médio (nm) e potencial zeta (mV) de cada amostra.



Os valores de PZ observados são coerentes com o reportado na literatura para partículas de amido, e não houve mudança significativa entre as duas amostras. O gráfico de distribuição de diâmetros da amostra NA mostra a existência de duas populações principais: uma população com máximo de distribuição entre aproximadamente 530-700 nm, e outra com cerca de 70-100 nm. A amostra NA-NTs-PPI também exibiu duas populações principais, semelhantes às da amostra NA: uma cujo máximo de distribuição manteve-se entre 480-600 nm, e outra população de diâmetros menores que pode ser vista na forma de um ombro, mas que aparece de forma definida em cerca de 80 nm para uma das medidas. Esse comportamento é um indício de que partículas menores estão agregando.

O tamanho de partícula e o PZ das amostras de microgel estão exibidos na Tabela 2. Em relação às nanopartículas de amido, o PZ dos microgéis MGAG e MGAG-NTs-PPI aumentou em módulo (na mesma proporção).

Tabela 2. Valores de diâmetro médio de partícula e potencial zeta, e respectivos desvios-padrão, das amostras de microgel sem e com tratamento por aplicação de campo elétrico (pH 7,0, 20 °C).

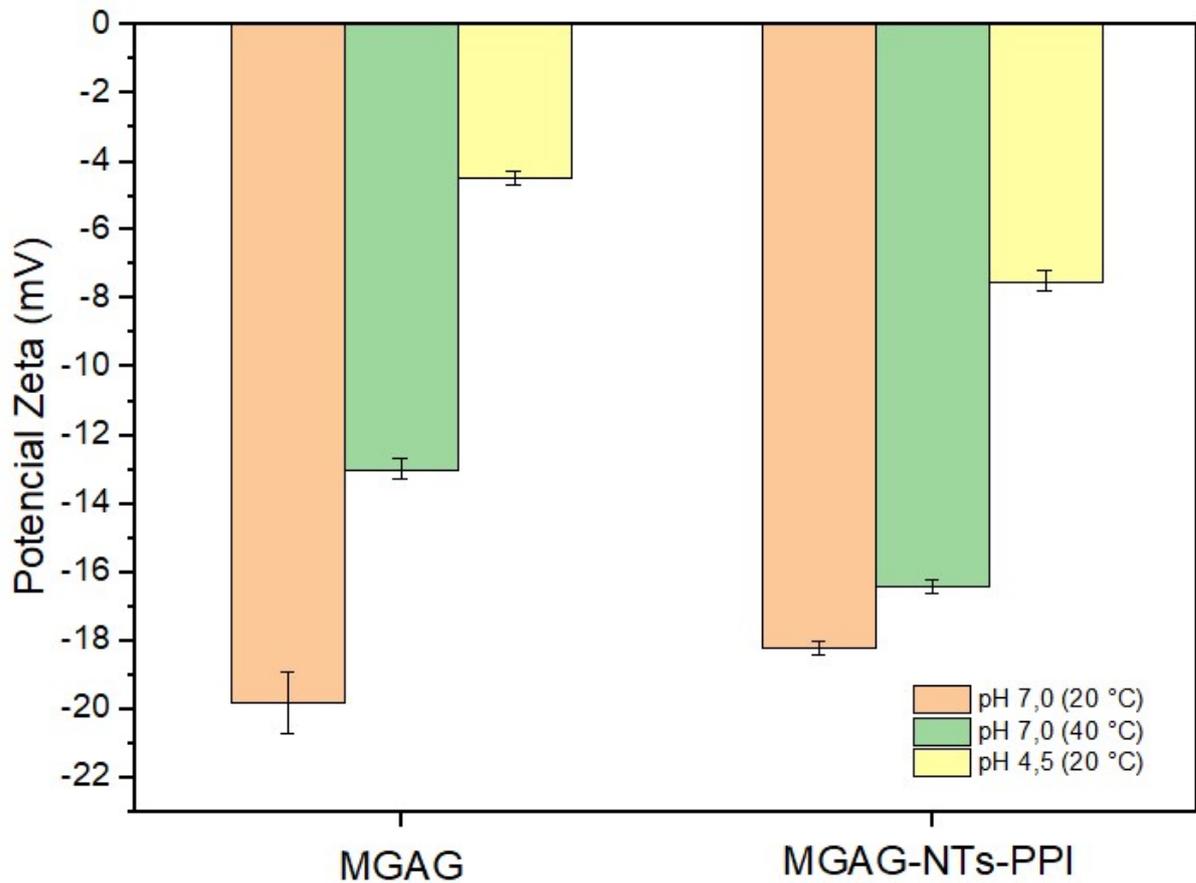
Amostra	Diâmetro médio (nm)	Potencial Zeta (mV)
MGAG	4537 (± 657)	-19,8 ($\pm 0,9$)
MGAG-NTs-PPI	6328 (± 942)	-18,2 ($\pm 0,2$)
MGAG-CE	5614 (± 1741)	-27,5 ($\pm 0,7$)
MGAG-NTs-PPI-CE	5267 (± 516)	-30,3 ($\pm 0,1$)

Isto é um indício de que as moléculas de gelatina foram reticuladas na superfície das nanopartículas de amido, recobrando-as. A gelatina possui caráter anfotérico, ou seja, apresenta carga líquida positiva ou negativa a depender do pH do meio, uma vez que é composta por aminoácidos (contêm grupos carboxílicos e grupos amino). O ponto isoelétrico de gelatinas do tipo B está na faixa de pH entre aproximadamente 4,8 até 5,2. Em pH's acima do seu ponto isoelétrico a gelatina apresenta-se polianiônica e, abaixo, policatiônica.^[74, 75] Logo, em pH 7,0, a presença de gelatina na superfície das nanopartículas resultaria em aumento da densidade de carga superficial, condizente com o observado.

As amostras de microgel tratadas por aplicação de campo elétrico (CE) adquiriram valores de potencial zeta característicos de um sistema estável (próximos de ± 30 mV). No entanto, não foram observadas mudanças significativas no tamanho que pudessem explicar alterações de densidade de carga superficial a partir do colapso das estruturas, por exemplo. Uma possível explicação para o efeito é a hipótese de que as moléculas de gelatina estão reticuladas na superfície do microgel e tendem a se organizar na forma de hélices, ou de forma emaranhada devido à interação eletrostática entre suas porções positivamente carregadas e as hidroxilas residuais da superfície das nanopartículas de amido. A ação do campo elétrico orienta os íons em solução, e os grupos negativos direcionam-se para o pólo positivo, enquanto os positivos são orientados para o polo negativo do eletrodo. Assim, dada a natureza molecular anfóterica da gelatina (grupos amino catiônicos e grupos carboxílicos aniônicos) o campo elétrico pode ter provocado a reestruturação de suas moléculas, desmanchando emaranhados, e expondo mais grupos aniônicos à superfície. Além disso, o surfactante aniônico SDS presente em solução pode ter cooperado com o processo de reestruturação, ocupando os sítios catiônicos agora expostos e adsorvendo à superfície das partículas. Dessa forma, a resposta dos microgéis à aplicação de campo elétrico foi irreversível.

A fim de verificar a capacidade termo e pH-responsiva dos microgéis, o PZ das amostras MGAG e MGAG-NTs-PPI foi medido também em pH 7,0 à 40 °C e em pH 4,5 em 20 °C. A Figura 11 apresenta um comparativo entre os microgéis MGAG e MGAG-NTs-PPI nas diferentes condições estudadas.

Figura 11. Gráfico exibindo o potencial zeta das amostras MGAG e MGAG-NTs-PPI em pH 7,0 à 20 °C e à 40 °C, e em pH 4,5 à 20 °C.



A mudança de comportamento superficial das amostras em pH 4,5, evidenciada pela diminuição em módulo do potencial zeta, é condizente com o indício de que a gelatina constitui a superfície dos microgéis. Em pH 4,5 o sistema está próximo ao ponto isoelétrico da gelatina e, portanto, a densidade de carga superficial líquida das partículas diminui e os valores de PZ aproximam-se do zero; em pH 7,0 o sistema encontra-se longe e acima do ponto isoelétrico da gelatina, resultando em aumento do potencial zeta (negativo) e, portanto, em maior estabilidade coloidal.

Além disso, é possível notar diferença responsiva entre os microgéis preparados na presença e na ausência de nanotubos de PPI: em pH 4,5 o PZ da amostra MGAG reduziu (em módulo) mais do que a amostra MGAG-NTs-PPI, que manteve-se mais negativa. Em pH ácido as cadeias poliméricas do polipirrol adquirem unidades de pirrol protonadas^[76], logo, a diferença comportamental observada entre o PZ das amostras evidencia que os nanotubos de polipirrol não fazem parte de sua composição superficial. Possivelmente os nanotubos de PPI

encontram-se no interior da estrutura do microgel, formando uma espécie de compósito com os polímeros do amido. Além disso, as unidades de pirrol protonadas no interior do microgel podem ocasionar um diferente grau de interação eletrostática e modificar a compactação das partículas (causando o colapso ou inchamento) ou alterar a espessura da camada difusa, fatores que afetam o valor de potencial zeta.

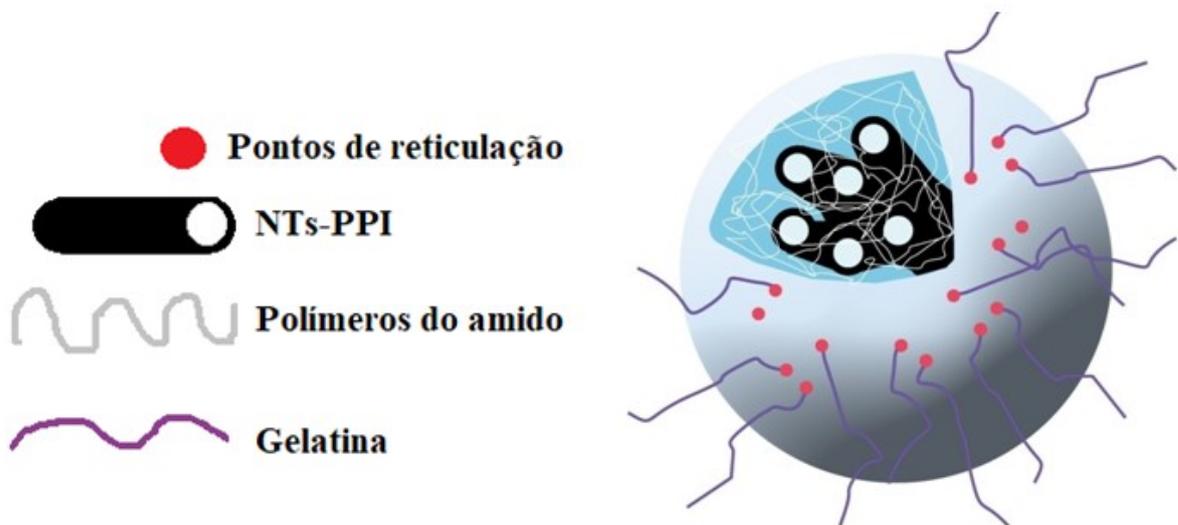
Quanto ao efeito da temperatura, é possível observar que o PZ dos microgéis decresceu com o aumento de temperatura de 20 °C para 40 °C. Os efeitos da temperatura sobre valores de potencial zeta podem ser de 2 naturezas: efeitos eletroforéticos ou efeitos eletrostáticos. Em relação aos parâmetros eletroforéticos que são influenciados por mudanças na temperatura, sabe-se que a mobilidade eletroforética aumenta com a temperatura (devido à maior agitação das partículas e consequente maior velocidade de deslocamento), enquanto a constante dielétrica do meio diminui brandamente e a viscosidade do líquido diminui fortemente com a elevação da temperatura. Relacionando esses parâmetros através da equação de Henry (Equação 6), verifica-se que a razão $\frac{U_E \eta}{\epsilon}$ decai com o aumento da temperatura e, com base nos comportamentos descritos anteriormente, infere-se que a diminuição do potencial zeta com o aumento da temperatura é, no que diz respeito à contribuição eletroforética, majoritariamente causada pela redução da viscosidade do meio.^[77] É possível notar diferença de resposta entre os microgéis, visto que a amostra MGAG-NTs-PPI exibiu maior estabilidade frente ao estímulo de temperatura. Portanto, infere-se que a diferença de resposta entre as amostras é causada por efeitos eletrostáticos e que a tendência de diminuição do potencial zeta com a temperatura também recebe contribuições relacionadas à concentração de sítios superficiais carregados. Diferenças no intumescimento dos microgéis combinadas a alterações no grau de solvatação das cadeias de gelatina superficiais das partículas podem estar relacionadas à contribuição eletrostática, visto que são fatores de impacto à dupla camada elétrica e consequentemente ao potencial zeta medido.

Tanto a resposta dos microgéis à temperatura quanto ao pH mostraram-se reversíveis, caracterizando-os como microgéis inteligentes.

Considerando os resultados expostos, levanta-se a hipótese de que os microgéis estejam estruturados em uma arquitetura do tipo *core-shell* (núcleo-casca), em que o *core* é composto por um compósito amido-nanotubos de PPI

recoberto por um *shell* de gelatina. A Figura 12 mostra uma representação ilustrativa da estrutura proposta para o microgel MGAG-NTs-PPI. Dessa forma, o sistema combina as propriedades eletro-responsivas dos nanotubos às propriedades pH responsivas da gelatina e, ainda, às propriedades termo-responsivas do amido e da gelatina.

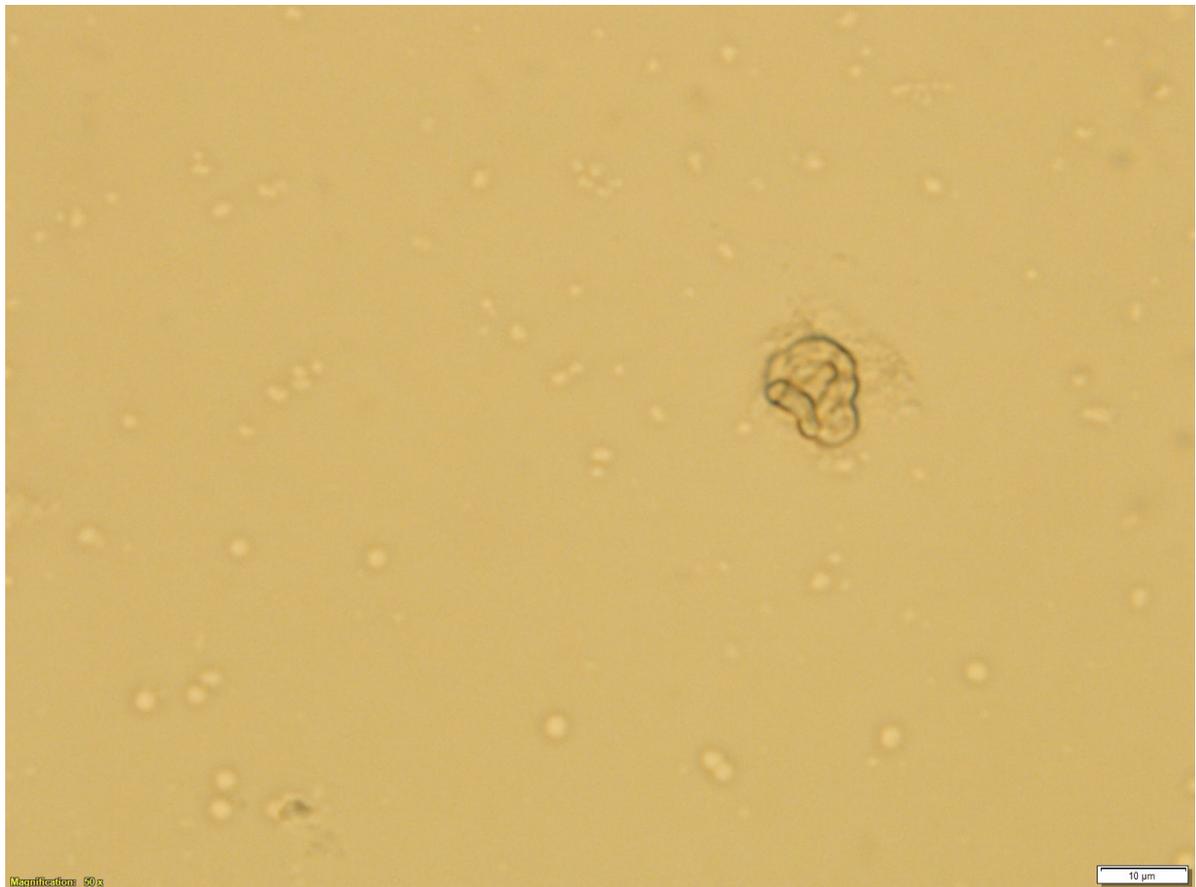
Figura 12. Ilustração do microgel MGAG-NTs-PPI. Partícula representada com um corte, exibindo o interior da estrutura.



5.3 MORFOLOGIA

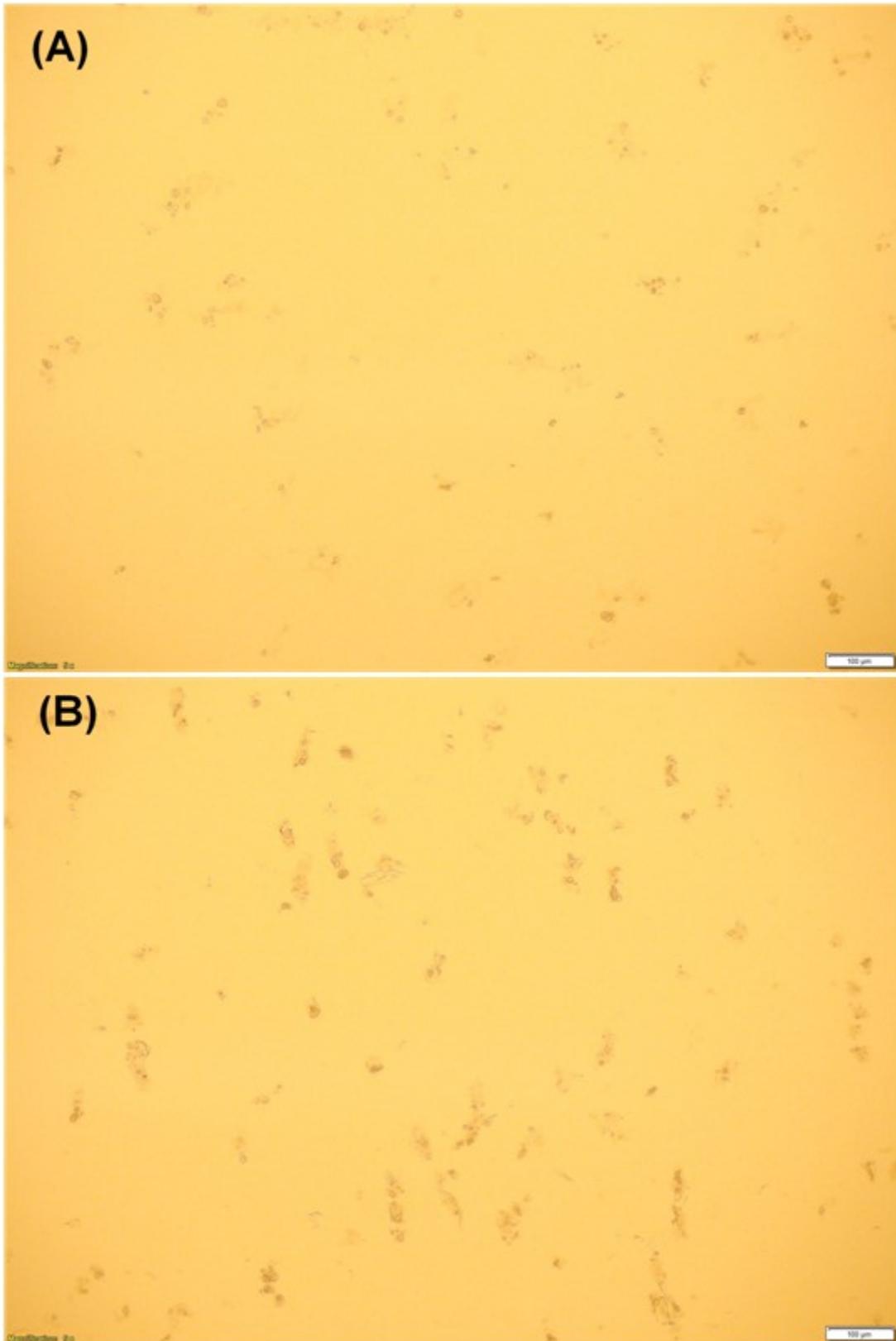
A fim de verificar a morfologia das nanopartículas de amido sintetizadas, a amostra NA foi observada por microscopia óptica (Fig. 13). Conforme o esperado para o parâmetro de síntese utilizado (proporção solução de amido:etanol (1:20) (v:v)), as partículas observadas apresentam formato esférico.^[54] Além disso, foi possível constatar a presença de algumas partículas grandes que consistem em grânulos de amido os quais não foram solubilizados o suficiente para originar nanopartículas durante o processo de nanoprecipitação.

Figura 13. Amostra NA (nanopartículas de amido em etanol). Escala: 10 μm . Magnificação de 50x.



As “dispersões mãe” dos microgéis também foram analisadas, a fim de verificar o arranjo das partículas anteriormente ao processo de reticulação. Enquanto a dispersão mãe da amostra MGAG apresentou agregados de partículas com distribuição e forma aleatórias (Fig. 14a), na dispersão mãe da amostra MGAG-NTs-PPI foi observado um padrão organizacional de agregados em forma de bastões (Fig. 14b).

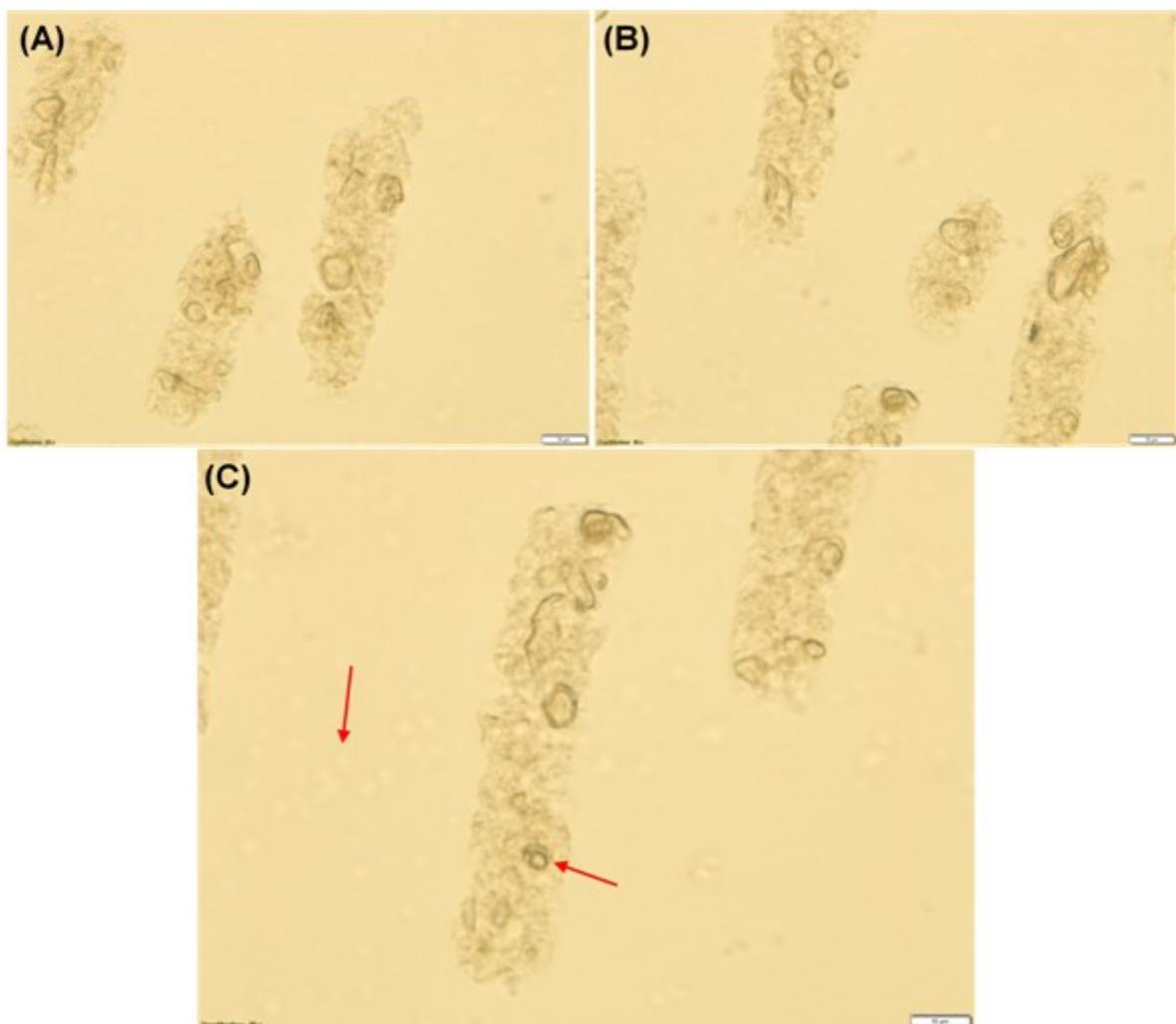
Figura 14. Micrografias das dispersões mãe (anterior à reticulação) das amostras MGAG (A) e MGAG-NTs-PPI (B). Escala de 100 μm . Magnificação de 5x.



Essa auto-organização em forma de bastões foi confirmada e melhor observada ao visualizar a dispersão em maiores magnificações (Fig. 15).

Considerando que essa alíquota não se trata de uma amostra quimicamente reticulada, as imagens apontam para a ocorrência de uma reticulação física entre os polímeros, cuja auto-organização morfológica é induzida pelos nanotubos de polipirrol. Os bastões são compostos por uma espécie de rede polimérica em que é possível visualizar a presença de algumas nanopartículas de amido, além daquelas que estão dispersas ao redor dos bastões.

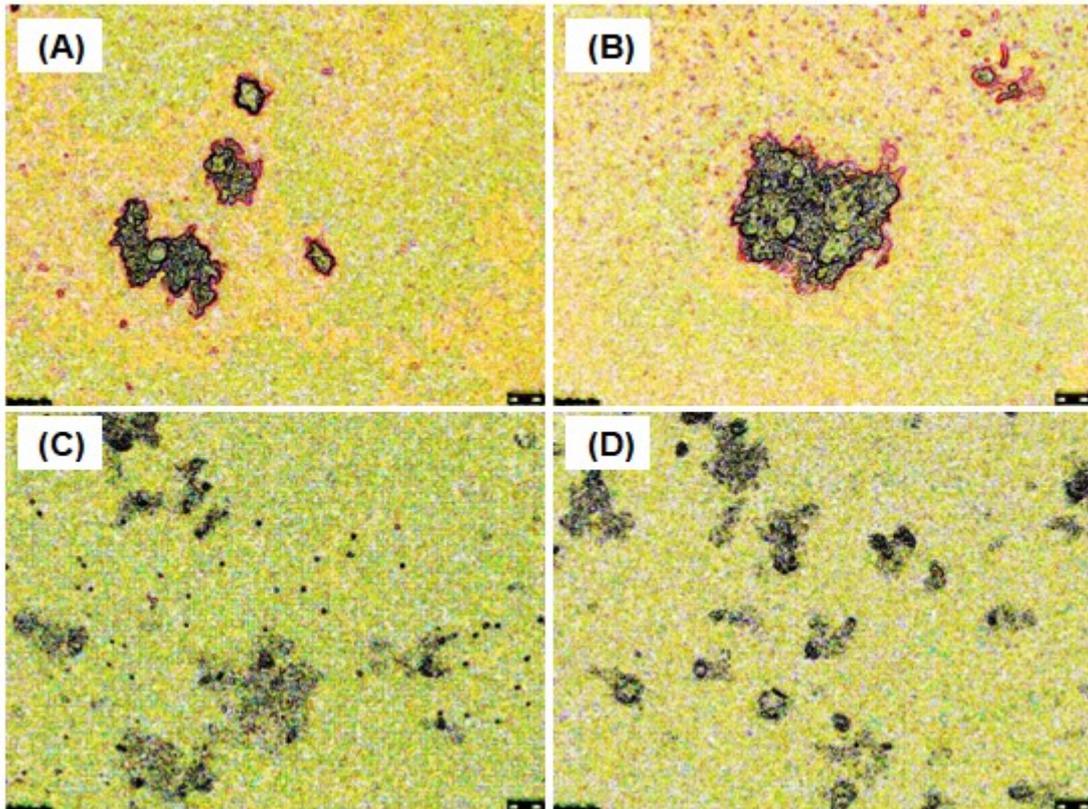
Figura 15. Imagens da dispersão mãe do microgel MGAG-NTs-PPI. (A), (B) e (C) Escala: 10 μm , magnificação de 50x. Em (C), setas destacam nanopartículas de amido no bastão e também dispersas ao redor das estruturas.



Os microgéis quimicamente reticulados MGAG e MGAG-NTs-PPI também foram avaliados, assim como as amostras tratadas por aplicação de campo elétrico (MGAG-CE e MGAG-NTs-PPI-CE). As imagens foram re-coloridas digitalmente a fim de aumentar o contraste de cor das amostras.

A Figura 16 traz um comparativo entre as amostras MGAG e MGAG-CE, onde é possível visualizar estruturas de agregados de partículas esféricas inseridas em uma espécie de rede polimérica. Foi observado que a ação do campo elétrico provocou um efeito dispersivo no microgel.

Figura 16. (A) e (B) microgel MGAG, (C) e (D) amostra MGAG-CE (microgel tratado por aplicação de campo elétrico). Escala igual a 20 μm , magnificação de 20x.



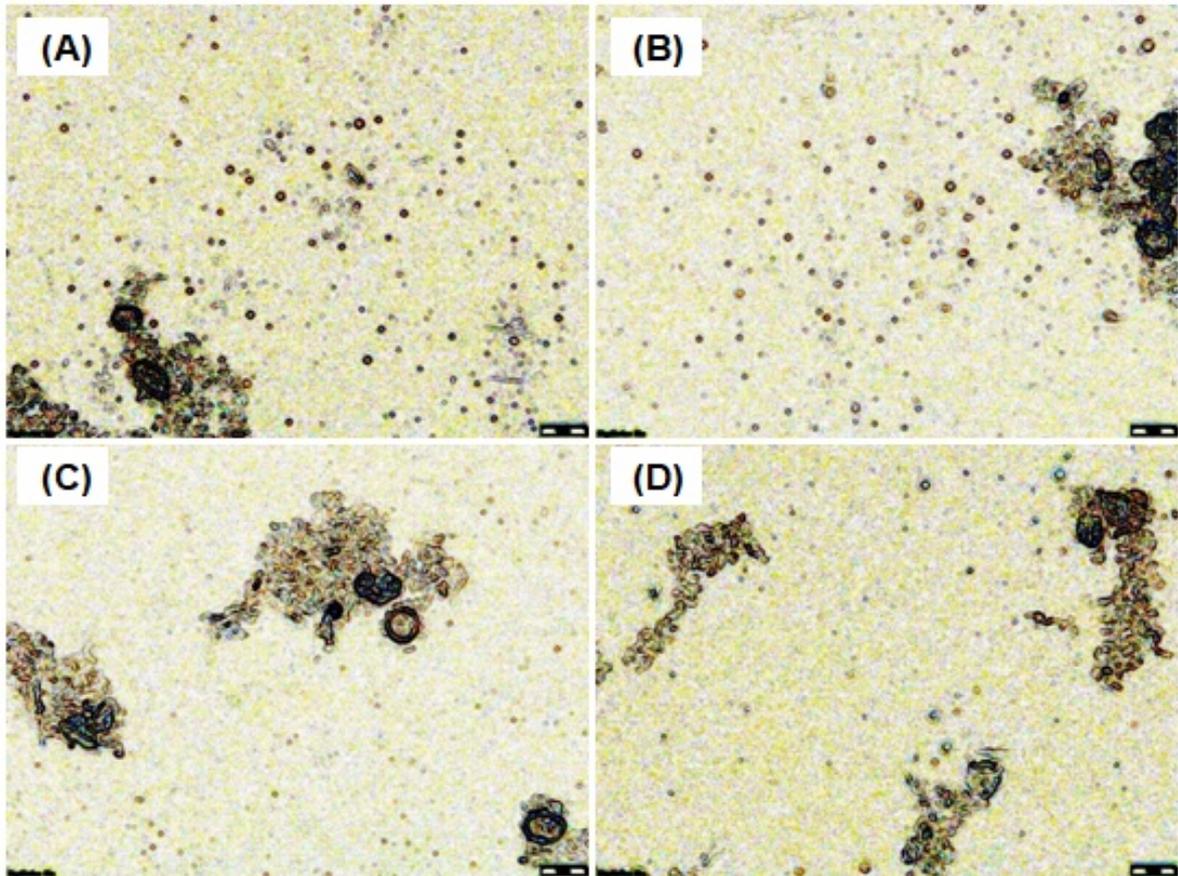
As imagens da amostra MGAG-NTs-PPI mostraram que as estruturas auto-organizadas em forma de bastões foram mantidas após a reticulação química. É possível visualizar na Figura 17 o padrão morfológico em forma de bastões, induzido pelos NTs-PPI, e também são observadas nanopartículas de amido compondo essas estruturas e dispersas ao seu redor.

Figura 17. Micrografia do microgel MGAG-NTs-PPI, evidenciando estruturas auto-organizadas na forma de bastões. Nanopartículas de amido compoendo a estrutura dos bastões e também dispersas ao seu redor. Escala igual a 20 μm , magnificação de 20x.



A resposta morfológica desse microgel à aplicação de campo elétrico pôde ser visualizada nas imagens de MGAG-NTs-PPI-CE (Fig. 18). Após o tratamento com campo elétrico, observou-se um efeito dispersivo sobre as estruturas em forma de bastões, que foram destruídas.

Figura 18. Micrografias da amostra MGAG-NTs-PPI-CE, evidenciando a perda de estruturação em forma de bastões após a aplicação de campo elétrico. Escala igual a 10 μm , magnificação de 50x.



5.4 CARACTERIZAÇÃO POR FTIR-ATR

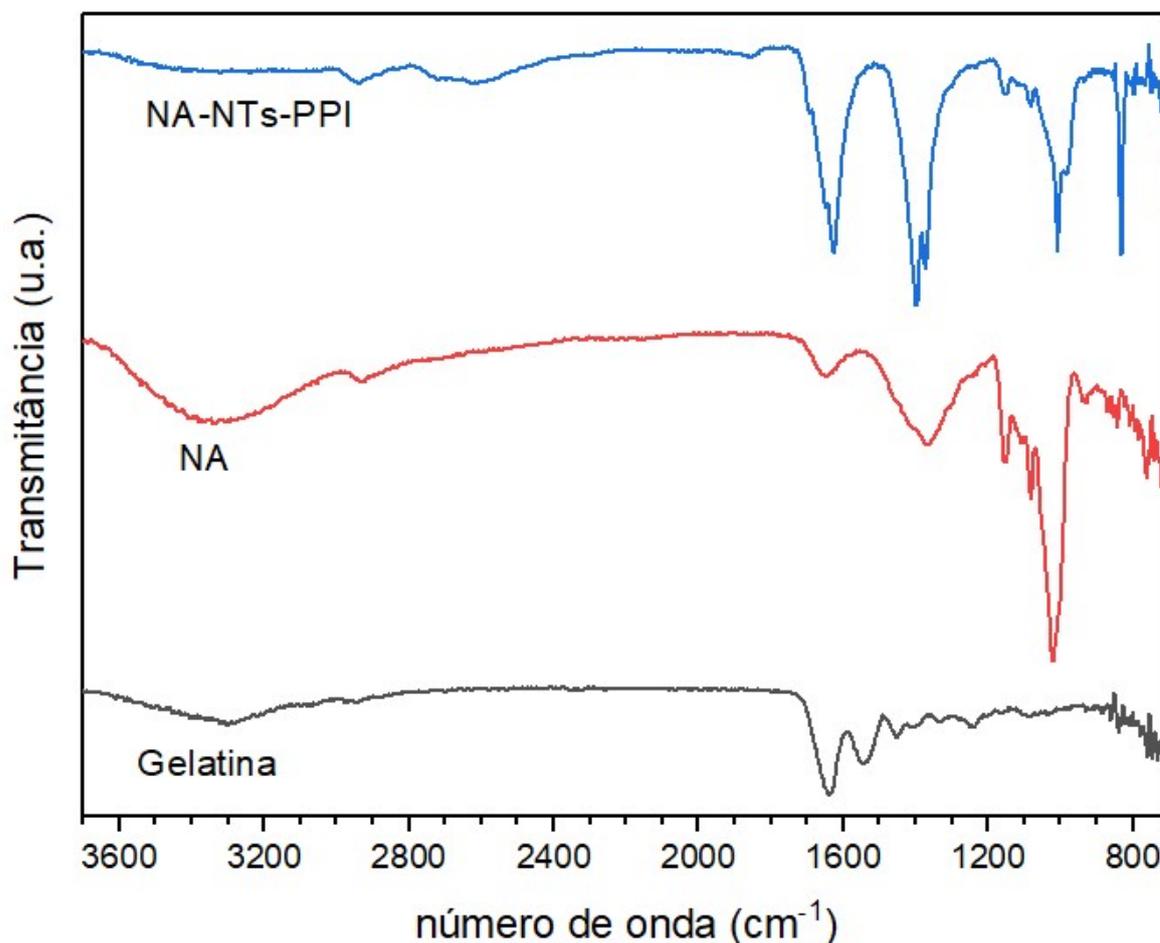
Os espectros dos polímeros precursores dos microgéis (gelatina em pó, e nanopartículas de amido com ou sem nanotubos de polipirrol) podem ser visualizados na Figura 19.

O espectro da gelatina apresentou um padrão típico já descrito na literatura. A banda em 3280 cm^{-1} é atribuída à Amida-A e corresponde à deformação axial do grupo N-H acoplado à ligação de hidrogênio. Em aproximadamente 2950 cm^{-1} visualiza-se o estiramento assimétrico de CH_2 da Amida B. A banda atribuída à Amida I aparece em 1640 cm^{-1} , e está relacionada ao estiramento C=O. A Amida II possui bandas em 1540 cm^{-1} , 1452 cm^{-1} , 1405 cm^{-1} e em 1332 cm^{-1} relacionadas, respectivamente: à deformação angular N-H acoplada ao estiramento C-N, à deformação angular C-H (CH_2), ao estiramento simétrico COO^- , e à vibração de balanço do CH_2 . A Amida III pode ser vista em 1081 cm^{-1} , banda relacionada ao estiramento C-O.^[78, 79]

A amostra NA exibe um típico padrão de amido, em concordância com o descrito na literatura. A banda larga entre $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ está relacionada ao estiramento dos grupos hidroxila dos polímeros do amido. A banda em 2930 cm^{-1} é relativa ao estiramento C-H do anel glicosídico. Em 1644 cm^{-1} há uma banda atribuída à deformação da ligação O-H (relacionada à água ligada), e as bandas na região entre cerca de $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ são consideradas bandas características do amido e relacionam-se a vibrações de deformação axial C-C, e à C-O e C-O-H. O grupo C-O-C do monômero de glicose absorve entre 1150 cm^{-1} e 1085 cm^{-1} e suas bandas podem se deslocar a depender do tipo de deformação axial (simétrica ou assimétrica). As deformações axiais de C-O e C-C podem ser visualizadas na banda em 1150 cm^{-1} e nas bandas fracas em 1108 cm^{-1} e 935 cm^{-1} . Os modos relacionados à deformação angular de CCH podem ser visualizados em 1080 cm^{-1} . As bandas em 1022 cm^{-1} e 937 cm^{-1} são atribuídas às deformações C-OH e CH_2 . O ombro visualizado em 1240 cm^{-1} e sinais fracos na região de 850 cm^{-1} também são atribuídos às vibrações associadas ao grupo CH_2 .

A banda larga localizada entre cerca de $1460\text{-}1290\text{ cm}^{-1}$ (máximo em 1370 cm^{-1}) consiste em uma sobreposição de sinais, cujas contribuições relacionam-se a modos de deformações de grupos C-OH, grupos CH_2 , e deformação angular C-H.^{[80,}

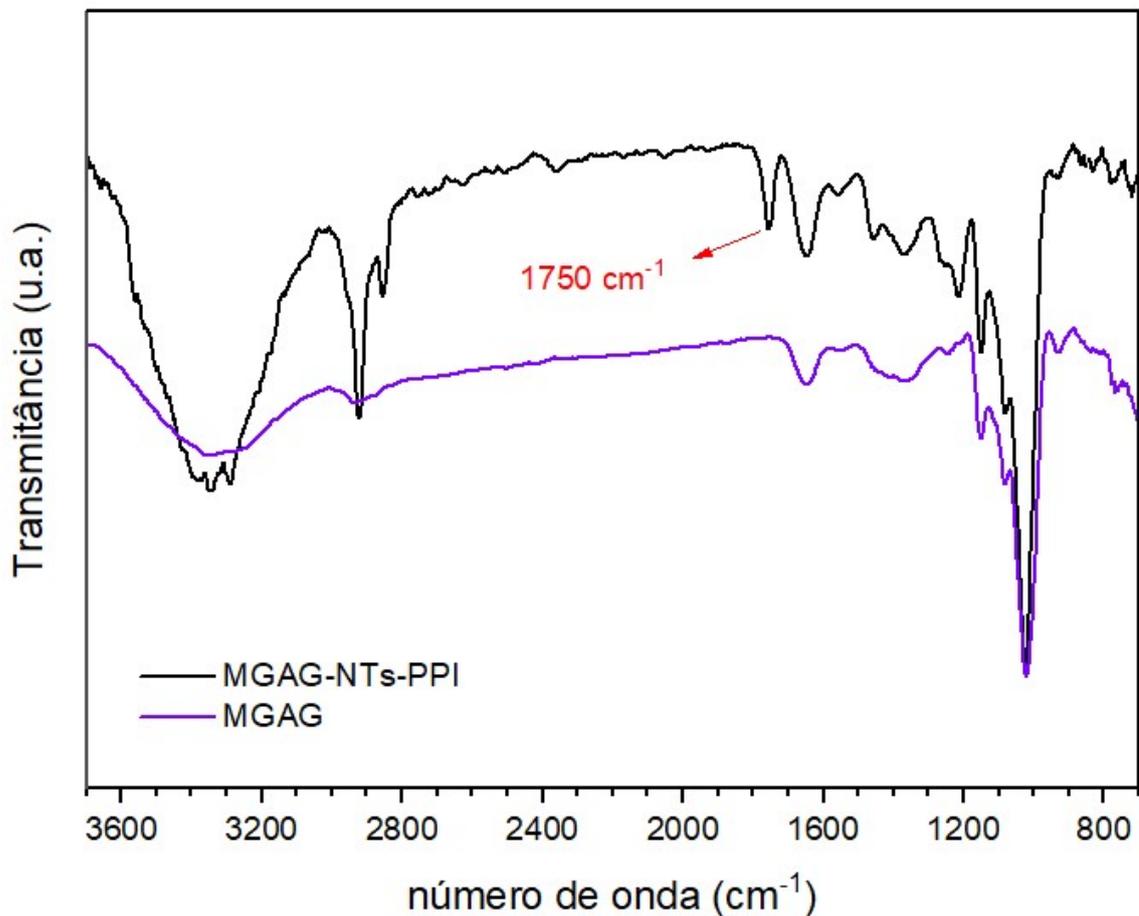
Figura 19. Espectros na região do infravermelho da gelatina em pó comercial, e das nanopartículas de amido sintetizadas (NA e NA-NTs-PPI).



Em relação à amostra NA-NTs-PPI, é possível observar o surgimento de algumas bandas atribuídas aos nanotubos de polipirrol. A banda em 1625 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C=C do anel das moléculas de AM. Após a síntese dos nanotubos de PPI as amostras foram lavadas com etanol, mas mesmo assim há presença de AM no produto. Alguns trabalhos na literatura já comprovaram, em estudos de rendimento reacional, a incorporação de AM nos nanotubos e afirmam que estes devem ser considerados como um composto de PPI e AM.^[66] A banda em aproximadamente 1394 cm^{-1} está relacionada ao estiramento C-N. As bandas intensas que surgem em 831 cm^{-1} e em 700 cm^{-1} são atribuídas à deformação angular de C-H fora do plano do anel do PPI. Também há o surgimento de um ombro em cerca de 1700 cm^{-1} , o qual está associado à vibração C-O de unidades de hidroxipirrol que podem ter sido formadas por ataque nucleofílico da água durante a preparação dos nanotubos. Outro ombro pode ser observado em cerca de 981 cm^{-1} , o qual se relaciona à deformação C-H no plano.^[81, 82]

Os espectros dos microgéis sintetizados (Fig. 20) apresentaram o padrão característico de bandas de seus precursores, com alguns deslocamentos sutis. No espectro da amostra MGAG-NTs-PPI é possível observar o surgimento de uma banda em 1750 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C=O de ésteres, comprovando o sucesso da reação de reticulação entre os grupos carboxila da gelatina e os grupos hidroxilas dos polímeros do amido, intermediada pelo EDC. Na amostra MGAG não foi possível visualizar essa banda, que provavelmente foi encoberta pelo *background* devido a limitações instrumentais ou à presença de umidade na amostra.

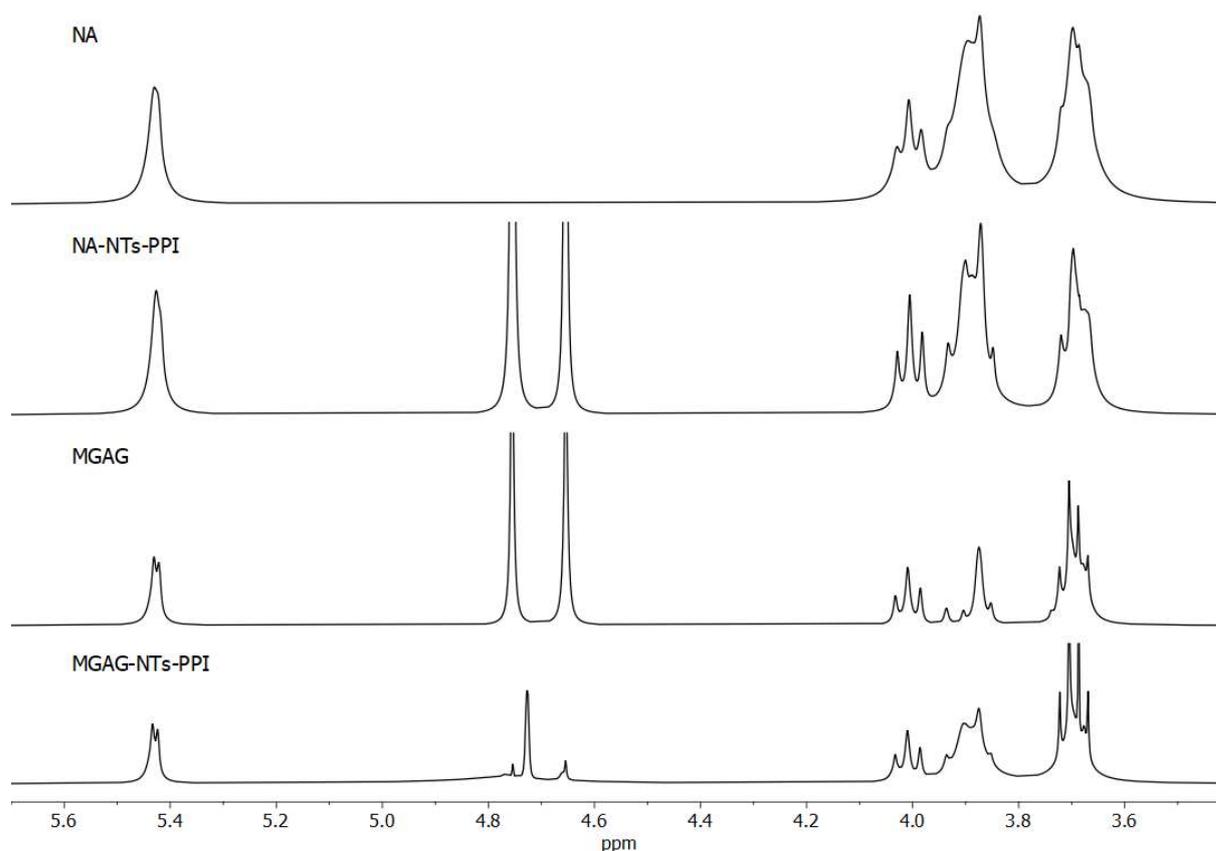
Figura 20. Espectros na região do infravermelho dos microgéis MGAG-NTs-PPI e MGAG.



5.5 CARACTERIZAÇÃO POR RMN ^1H

A verificação de reticulação química nos microgéis foi realizada através de análises por RMN de ^1H . A Figura 21 mostra os espectros de RMN de ^1H das nanopartículas de amido preparadas na ausência e presença de nanotubos de polipirrol (NA e NA-NTs-PPI, respectivamente) e dos microgéis sintetizados (MGAG e MGAG-NTs-PPI).

Figura 21. Espectros de RMN ^1H das nanopartículas de amido (NA e NA-NTs-PPI) e dos microgéis sintetizados (MGAG e MGAG-NTs-PPI).



Nos espectros das nanopartículas NA e NA-NTs-PPI é possível identificar o sinal atribuído ao hidrogênio do carbono anomérico da unidade de glicose dos polímeros do amido em aproximadamente $\delta = 5,43$ ppm. Os sinais de prótons não-anoméricos, ligados aos demais carbonos do anel glicosídico, podem ser visualizados entre $\delta = 3,65$ e $4,05$ ppm. A característica alargada desses sinais indica amorficidade, o que está de acordo com o esperado para estruturas com alto teor de amilose.^[83]

Esses sinais característicos também são observados nos espectros dos microgéis, com algumas modificações. A região de próton anomérico mostra uma divisão no sinal, e a região relativa ao anel glicosídico, em especial entre $\delta = 3,6$ e

3,8 ppm, também mostra a divisão do sinal em picos mais intensos e bem definidos. A divisão de sinal em RMN ^1H ocorre devido a mudanças no ambiente do próton, o que é um indício de reticulação química.^[84]

Considerando que foi observada mudança no ambiente do próton anomérico, os espectros apontam para a ocorrência de reação na hidroxila do carbono C2 da unidade de glicose dos polímeros do amido. A ordem de reatividade das hidroxilas componentes do monômero é (OH-C6 > OH-C2, OH-C3). No entanto, as hidroxilas OH-C6 são parcialmente indisponibilizadas para reações devido às ramificações $\alpha(1\rightarrow6)$ da amilopectina. Sabe-se também que entre as hidroxilas OH-C2 e OH-C3, a hidroxila OH-C2 exibe acidez mais alta devido a sua proximidade ao centro anomérico. Atentando a essas considerações e às evidências observadas no espectro, a reação de reticulação ocorreu provavelmente nas hidroxilas OH-C6 e OH-C2 das unidades monoméricas de glicose. Não foi possível observar sinais relativos aos nanotubos de polipirrol nas amostras que os contém (NA-NTs-PPI e MGAG-NTs-PPI), pois a não-solubilidade do PPI em água impediu sua detecção.^{[2,}
85]

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi possível sintetizar nanotubos de polipirrol através de uma técnica de *template* relativamente simples e rápida (*template* reativo auto-degradável), e inseri-los na matriz polimérica de um microgel à base de polímeros naturais. Análises de microscopia óptica revelaram que os NTs-PPI atuaram como um agente de organização entre os demais polímeros, induzindo a formação de agregados na forma de bastões. Esses sistemas micrométricos auto-organizados mantiveram sua morfologia mesmo após a reação de reticulação, e mostraram resposta irreversível à aplicação de campo elétrico. Análises de tamanho de partícula atestaram o sucesso da técnica de nanoprecipitação empregado na síntese de nanopartículas de amido, e de um nanocompósito amido-NTs de PPI, precursores utilizados na síntese dos microgéis. Através das análises de potencial zeta foi possível constatar que a aplicação de campo elétrico provocou a re-organização superficial das partículas de microgel, resultando em maior estabilidade coloidal. Além disso, evidenciou-se que os microgéis sintetizados exibem resposta inteligente a estímulos de pH e de temperatura. As análises indicam que a arquitetura dos microgéis consiste em uma estrutura do tipo *core-shell* (caroço-casca), em que o *core* é composto por um compósito amido-NTs de PPI e o *shell* por moléculas de gelatina. O sucesso da reação de reticulação entre os polímeros do amido de milho e a gelatina foi comprovado por análises de FTIR e de RMN ¹H.

Como perspectivas futuras, há a possibilidade de incluir etapas de redução de massa molar na metodologia de síntese das nanopartículas de amido, a fim de obter partículas menores. Ainda, o sistema solvente utilizado e a concentração do reticulante na síntese dos microgéis são parâmetros passíveis de otimização. Além disso, análises de SAXS (Espalhamento de raios-X a baixos ângulos) são necessárias para comprovar a arquitetura *core-shell* dos microgéis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jeong, B., & Gutowska, A. (2002). Lessons from nature: Stimuli-responsive polymers and their biomedical applications. *Trends in Biotechnology*, 20(7), 305–311.
2. LEITE, D.C. *Microgéis termo-responsivos preparados a partir dos polímeros do amido*. (2017). 160f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2017.
3. Hwang, Y., Park, J. Y., Kwon, O. S., Joo, S., Lee, C. S., & Bae, J. (2018). Incorporation of hydrogel as a sensing medium for recycle of sensing material in chemical sensors. *Applied Surface Science*, 429, 258–263.
4. Antonio, J. L. S., Lira, L. M., Gonçalves, V. R., & Cordoba De Torresi, S. I. (2013). Fully conducting hydro-sponges with electro-swelling properties tuned by synthetic parameters. *Electrochimica Acta*, 101, 216–224.
5. Xing, J., Dang, W., Li, J., Huang, J., Bai, B., Zheng, D., & Zhang, X. (2021). Synthesis of polypyrrole-modified gelatin/poly (acrylic acid) semi-interpenetrating network hydrogel and its controlled release of agrochemicals based on helix–coil transition of gelatin. *Journal of Polymer Research*, 28(8), 1–10.
6. Yao, T., Jia, W., Tong, X., Feng, Y., Qi, Y., Zhang, X., & Wu, J. (2018). One-step preparation of nanobeads-based polypyrrole hydrogel by a reactive-template method and their applications in adsorption and catalysis. *Journal of Colloid and Interface Science*, 527, 214–221.
7. Milakin, K. A., Capáková, Z., Acharya, U., Vajdák, J., Morávková, Z., Hodan, J., Humpolíček, P., & Bober, P. (2020). Biocompatible and antibacterial gelatin-based polypyrrole cryogels. *Polymer*, 197(February), 2–8.
8. Tie, J., Chai, H., Mao, Z., Zhang, L., Zhong, Y., Sui, X., & Xu, H. (2021). Nanocellulose-mediated transparent high strength conductive hydrogel based on in-situ formed polypyrrole nanofibrils as a multimodal sensor. *Carbohydrate Polymers*, 273(2999), 118600.
9. Bo, J., Luo, X., Huang, H., Li, L., Lai, W., & Yu, X. (2018). Morphology-controlled fabrication of polypyrrole hydrogel for solid-state supercapacitor. *Journal of Power Sources*, 407(September), 105–111.
10. Yang, M., Ren, X., Yang, T., Xu, C., Ye, Y., Sun, Z., Kong, L., Wang, B., & Luo, Z. (2021). Polypyrrole/sulfonated multi-walled carbon nanotubes conductive hydrogel for electrochemical sensing of living cells. *Chemical Engineering Journal*, 418(March), 129483.
11. Kausaite-Minkstimiene, A., Mazeiko, V., Ramanaviciene, A., & Ramanavicius, A. (2015). Evaluation of chemical synthesis of polypyrrole particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 483, 224–231.
12. Abidian, M. R., Kim, D. H., & Martin, D. C. (2006). Conducting-polymer nanotubes for controlled drug release. *Advanced Materials*, 18(4), 405–409.
13. Dai, T., Yang, X., & Lu, Y. (2006). Controlled growth of polypyrrole nanotubule/wire in the presence of a cationic surfactant. *Nanotechnology*, 17(12), 3028–3034.
14. Upadhyay, J., Kumar, A., Gupta, K., & Mandal, M. (2015). Investigation of physical and biological properties of polypyrrole nanotubes-chitosan nanocomposites. *Carbohydrate Polymers*, 132, 481–489.
15. Svirskis, D., Travas-Sejdic, J., Rodgers, A., & Garg, S. (2010). Electrochemically controlled drug delivery based on intrinsically conducting polymers. *Journal of Controlled Release*, 146(1), 6–15.

16. El-Nahrawy, A. M., Abou Hammad, A. B., Khattab, T. A., Haroun, A., & Kamel, S. (2020). Development of electrically conductive nanocomposites from cellulose nanowhiskers, polypyrrole and silver nanoparticles assisted with Nickel(III) oxide nanoparticles. *Reactive and Functional Polymers*, 149(January).
17. Joulazadeh, M., & Navarchian, A. H. (2015). Polypyrrole nanotubes versus nanofibers: A proposed mechanism for predicting the final morphology. *Synthetic Metals*, 199, 37–44.
18. Noreen, S., Bhatti, H. N., Iqbal, M., Hussain, F., & Sarim, F. M. (2020). Chitosan, starch, polyaniline and polypyrrole biocomposite with sugarcane bagasse for the efficient removal of Acid Black dye. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 439–452.
19. Ren, K., Cheng, Y., Huang, C., Chen, R., Wang, Z., & Wei, J. (2019). Self-healing conductive hydrogels based on alginate, gelatin and polypyrrole serve as a repairable circuit and a mechanical sensor. *Journal of Materials Chemistry B*, 7(37), 5704–5712.
20. Xing, J., Yang, B., Shen, Y., Wang, Z., Wang, F., Shi, X., & Zhang, Z. (2019). Selective Removal of Acid Fuchsin from Aqueous Solutions by Rapid Adsorption onto Polypyrrole Crosslinked Cellulose/Gelatin Hydrogels. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 40(11), 1591–1599.
21. Wang, Y., Wen, Q., Chen, Y., & Li, W. (2020). Conductive polypyrrole-carboxymethyl cellulose-titanium nitride/carbon brush hydrogels as bioanodes for enhanced energy output in microbial fuel cells. *Energy*, 204, 117942.
22. Milakin, K. A., Acharya, U., Trchová, M., Zasońska, B. A., & Stejskal, J. (2020). Polypyrrole/gelatin cryogel as a precursor for a macroporous conducting polymer. *Reactive and Functional Polymers*, 157(October).
23. Distler, T., Polley, C., Shi, F., Schneidereit, D., Ashton, M. D., Friedrich, O., Kolb, J. F., Hardy, J. G., Detsch, R., Seitz, H., & Boccaccini, A. R. (2021). Electrically Conductive and 3D-Printable Oxidized Alginate-Gelatin Polypyrrole:PSS Hydrogels for Tissue Engineering. *Advanced Healthcare Materials*, 10(9), 1–16.
24. Yang, X., Cao, L., Wang, J., & Chen, L. (2020). Sandwich-like Polypyrrole/Reduced Graphene Oxide Nanosheets Integrated Gelatin Hydrogel as Mechanically and Thermally Sensitive Skinlike Bioelectronics. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(29), 10726–10739.
25. Mudila, H., Prasher, P., Kumar, A., Zaidi, M. G. H., & Verma, A. (2020). Effect of Temperature on the Polymerization and Optical Conductivity of Thin Flexible Polypyrrole/Starch Composites. *Journal of Physics: Conference Series*, 1531(1).
26. Qi, F., Wang, Y., Ma, T., Zhu, S., Zeng, W., Hu, X., Liu, Z., Huang, J., & Luo, Z. (2013). Electrical regulation of olfactory ensheathing cells using conductive polypyrrole/chitosan polymers. *Biomaterials*, 34(7), 1799–1809.
27. DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. (2009). Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 945-954, mai-jun, 2009.
28. SINGH, N. et al. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chemistry*, v.81, n.219-231, 2003.
29. SPIER, F. *Efeito dos tratamentos alcalino, ácido e oxidativo nas propriedades de amido de milho*. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2010.
30. FEIRA, J. M. C. *Obtenção de polieletrólito polimérico a partir da modificação química de amido de mandioca*. 2010. Dissertação (Mestrado em Engenharia) –

Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2010.

31. SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v.10, nº1, p. 24-30, 2000.

32. GARCIA, E. L. *Composição dos tubérculos, extração e caracterização de amidos de diferentes cultivares de batata*. 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu. 2010.

33. WU, H.C.H.; SARKO, A. The double-helical molecular structure of crystalline A-amylose. *Carbohydrate Research*, v.61, p.27-40, 1978.

34. Cai, L., & Shi, Y. C. (2014). Preparation, structure, and digestibility of crystalline A- and B-type aggregates from debranched waxy starches. *Carbohydrate Polymers*, 105(1), 341–350.

35. Wang, S., & Copeland, L. (2015). Effect of Acid Hydrolysis on Starch Structure and Functionality: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(8), 1081–1097.

36. Chen, P., Xie, F., Zhao, L., Qiao, Q., & Liu, X. (2017). Effect of acid hydrolysis on the multi-scale structure change of starch with different amylose content. *Food Hydrocolloids*, 69, 359–368.

37. da Silveira, N. P., Zucatti, R., Vailatti, A. D., & Leite, D. C. (2019). Acid hydrolysis of regular corn starch under external electric field. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30(12).

38. LUALLEN, T. Utilizing starches in product development. In: ELIASSON, A. (Ed). *Starch in food: Structure, function, and application*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2004. p. 404-435.

39. GOFF, H. D. Modified starches and the stability of frozen foods. In: ELIASSON, A. (Ed). *Starch in food: Structure, function, and application*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2004. p. 436-451.

40. Tabasum, S., Younas, M., Zaeem, M. A., Majeed, I., Majeed, M., Noreen, A., Iqbal, M. N., & Zia, K. M. (2019). A review on blending of corn starch with natural and synthetic polymers, and inorganic nanoparticles with mathematical modeling. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122, 969–996.

41. Ashogbon, A. O., & Akintayo, E. T. (2014). Recent trend in the physical and chemical modification of starches from different botanical sources: A review. *Starch/Stärke*, 66(1–2), 41–57.

42. HILL, C. *Starch in food - Structure, function and applications*. 6. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2005. v. 52.

43. Hedayati, S., Niakousari, M., & Mohsenpour, Z. (2020). Production of tapioca starch nanoparticles by nanoprecipitation-sonication treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 143, 136–142.

44. Kim, H. Y., Park, S. S., & Lim, S. T. (2015). Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 126, 607–620.

45. Troncoso, O. P., & Torres, F. G. (2020). Non-conventional starch nanoparticles for drug delivery applications. *Medical Devices & Sensors*, 3(6), 1–16.

46. Gutiérrez, G., Morán, D., Marefati, A., Purhagen, J., Rayner, M., & Matos, M. (2020). Synthesis of controlled size starch nanoparticles (SNPs). *Carbohydrate Polymers*, 250(July).

47. Corre, D. Le, Bras, J., & Dufresne, A. (2010). Starch Nanoparticles: A Review. *Biomacromolecules*, 11(5), 1139–1153.
48. Qin, Y., Wang, J., Qiu, C., Hu, Y., Xu, X., & Jin, Z. (2019). Effects of Degree of Polymerization on Size, Crystal Structure, and Digestibility of Debranched Starch Nanoparticles and Their Enhanced Antioxidant and Antibacterial Activities of Curcumin. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(9), 8499–8511.
49. Liu, C., Qin, Y., Li, X., Sun, Q., Xiong, L., & Liu, Z. (2016). Preparation and characterization of starch nanoparticles via self-assembly at moderate temperature. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 354–360.
50. Campelo, P. H., Sant'Ana, A. S., & Pedrosa Silva Clerici, M. T. (2020). Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Current Opinion in Food Science*, 33, 136–140.
51. Peres, G. L., Leite, D. C., & Silveira, N. P. Da. (2015). Ultrasound effect on molecular weight reduction of amylopectin. *Starch/Staerke*, 67(5–6), 407–414.
52. Farrag, Y., Ide, W., Montero, B., Rico, M., Rodríguez-Llamazares, S., Barral, L., & Bouza, R. (2018). Preparation of starch nanoparticles loaded with quercetin using nanoprecipitation technique. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114(2017), 426–433.
53. Qin, Y., Liu, C., Jiang, S., Xiong, L., & Sun, Q. (2016). Characterization of starch nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Influence of amylose content and starch type. *Industrial Crops and Products*, 87, 182–190.
54. Chin, S. F., Pang, S. C., & Tay, S. H. (2011). Size controlled synthesis of starch nanoparticles by a simple nanoprecipitation method. *Carbohydrate Polymers*, 86(4), 1817–1819.
55. Arvanitoyannis, I. S., Nakayama, A., & Aiba, S. ichi. (1998). Chitosan and gelatin based edible films: State diagrams, mechanical and permeation properties. *Carbohydrate Polymers*, 37(4), 371–382.
56. SCHRIEBER, R., GAREIS, H., 2007, Gelatin Handbook, Weinheim, Germany, Wiley VCH.
57. Choi, Y. S., Hong, S. R., Lee, Y. M., Song, K. W., Park, M. H., & Nam, Y. S. (1999). Studies on gelatin-containing artificial skin: II. Preparation and characterization of cross-linked gelatin-hyaluronate sponge. *Journal of Biomedical Materials Research*, 48(5), 631–639.
58. Wang, X., Yan, Y., & Zhang, R. (2010). Biomedical Applications of Hydrogels Handbook. *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*.
59. Weadock, K., Olson, R. M., & Silver, F. H. (1983). Evaluation of collagen crosslinking techniques. *Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs*, 11(4), 293–318.
60. Olde Damink, L. H. H., Dijkstra, P. J., Van Luyn, M. J. A., Van Wachem, P. B., Nieuwenhuis, P., & Feijen, J. (1995). Glutaraldehyde as a crosslinking agent for collagen-based biomaterials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 6(8), 460–472.
61. Cortesi, R., Nastruzzi, C., & Davis, S. S. (1998). Sugar cross-linked gelatin for controlled release: Microspheres and disks. *Biomaterials*, 19(18), 1641–1649.
62. Sung, H. W., Hsu, H. L., Shih, C. C., & Lin, D. S. (1996). Cross-linking characteristics of biological tissues fixed with monofunctional or multifunctional epoxy compounds. *Biomaterials*, 17(14), 1405–1410.
63. Liang, H. C., Chang, W. H., Liang, H. F., Lee, M. H., & Sung, H. W. (2004). Crosslinking structures of gelatin hydrogels crosslinked with genipin or a water-soluble carbodiimide. *Journal of Applied Polymer Science*, 91(6), 4017–4026.

64. Yang, X., Zhu, Z., Dai, T., & Lu, Y. (2005). Facile fabrication of functional polypyrrole nanotubes via a reactive self-degraded template. *Macromolecular Rapid Communications*, 26(21), 1736–1740.
65. Stejskal, J. (2018). Strategies towards the control of one-dimensional polypyrrole nanomorphology and conductivity. *Polymer International*, 67(11), 1461–1469.
66. Sapurina, I., Li, Y., Alekseeva, E., Bober, P., Trchová, M., Morávková, Z., & Stejskal, J. (2017). Polypyrrole nanotubes: The tuning of morphology and conductivity. *Polymer*, 113, 247–258.
67. Kopecký, D., Varga, M., Prokeš, J., Vršata, M., Trchová, M., Kopecká, J., & Václavík, M. (2017). Optimization routes for high electrical conductivity of polypyrrole nanotubes prepared in presence of methyl orange. *Synthetic Metals*, 230(March), 89–96.
68. Li, Y., Bober, P., Trchová, M., & Stejskal, J. (2017). Polypyrrole prepared in the presence of methyl orange and ethyl orange: Nanotubes versus globules in conductivity enhancement. *Journal of Materials Chemistry C*, 5(17), 4236–4245.
69. BELLMAN, C.; CASPARI, A.; MOITZI, C.; BABICK, F. *Dynamic and Electrophoretic Light Scattering: guidelines for particle-size analysis and zeta-potential determination*. 3.ed. Austria: Anton Paar GmbH, 2020. 226 p.
70. HUNTER, R. J. The Calculation of Zeta Potential. In *Zeta Potential in Colloid Science*. Academic Press, 1981. Chapter 3, pp 59-124.
71. Santana, J. S., de Carvalho Costa, K., Rodrigues, P. R., Correia, P. R. C., Cruz, R. S., & Druzian, J. I. (2019). Morphological, barrier, and mechanical properties of cassava starch films reinforced with cellulose and starch nanoparticles. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(4), 14–17.
72. Masoudipour, E., Kashanian, S., Azandaryani, A. H., Omidfar, K., & Bazayr, E. (2017). Surfactant effects on the particle size, zeta potential, and stability of starch nanoparticles and their use in a pH-responsive manner. *Cellulose*, 24(10), 4217–4234.
73. Marcos, P. J. B., Castro, R. H. R., Gouvêa, D., Prof, A., Moraes, M., Universitária, C., & Paulo, S. (2001). *Estudo de suspensões de zircônia e magnésia em etanol (Study of zirconia and magnesia suspensions in ethanol)*. 47(304), 187–192.
74. Toyama, Y., Sahara, R., Iino, Y., & Kubota, K. (2011). pH Dependence of Rheological Properties of Gelatin Gel Mixed with Agar or Agarose. *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 36(3), 383–386.
75. REIS, C. dos. *Avaliação da capacidade emulsificante de gelatina acilada*. (2011). 128f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
76. Giacomini, M. T., & Ticianelli, E. A. (1999). Influência da acidez do meio sobre a síntese e o comportamento redox do polipirrol. *Química Nova*, 22(5), 639–644.
77. DE ALMEIDA, M. R. B. *Estudo termodinâmico do processo de carregamento elétrico da interface superfície-dispersão em nanocolóides magnéticos à base de nanopartículas core-shell do tipo $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$* . (2018). 83p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Materiais) – Universidade de Brasília, Planaltina, 2018.
78. Wang, K., Wang, W., Ye, R., Xiao, J., Liu, Y., Ding, J., Zhang, S., & Liu, A. (2017). Mechanical and barrier properties of maize starch-gelatin composite films: effects of amylose content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(11), 3613–3622.

79. Wang, L., An, X., Xin, Z., Zhao, L., & Hu, Q. (2007). Isolation and characterization of collagen from the skin of deep-sea redfish (*Sebastes mentella*). *Journal of Food Science*, *72*(8), 450–455.
80. Lima, B. N. B., Cabral, T. B., Neto, R. P. C., Tavares, M. I. B., & Pierucci, A. P. T. (2012). Characterization of Commercial Edible Starch Flours. *Polimeros*, *22*(5), 486–490.
81. Vasques, C. T., Domenech, S. C., Barreto, P. L. M., & Soldi, V. (2010). Polypyrrole-modified starch films: structural, thermal, morphological and electrical characterization. *E-Polymers*, *026*, 1–17.
82. Wei, M., Dai, T., & Lu, Y. (2010). Controlled fabrication of nanostructured polypyrrole on ion association template: Tubes, rods and networks. *Synthetic Metals*, *160*(9–10), 849–854.
83. Iulianelli, G. C. V., & Tavares, M. I. B. (2011). Characterization of different cassava samples by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Polimeros*, *21*(2), 131–136.
84. Wang, P., Sheng, F., Tang, S. W., ud-Din, Z., Chen, L., Nawaz, A., Hu, C., & Xiong, H. (2019). Synthesis and Characterization of Corn Starch Crosslinked with Oxidized Sucrose. *Starch/Staerke*, *71*(5–6), 1–8.
85. de Oliveira, M. A. L., Madruga, L. Y. C., de Lima, B. L. B., Villetti, M. A., de Souza Filho, M. S. M., Kipper, M. J., Marques, N. N., & Balaban, R. C. (2021). Agro-industrial waste valorization: Transformation of starch from Mango Kernel into biocompatible, thermoresponsive and high swelling nanogels. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *32*(8), 1607–1616.