



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ELIANA FRANÇA

**PRODUÇÃO DE FILMES AUTOMONTADOS CONSTITUÍDOS
POR POLIANILINA ASSOCIADOS AO
EXOPOLISSACARÍDEO FÚNGICO BOTRIOSFERANA**

Londrina
2007

ELIANA FRANÇA

**PRODUÇÃO DE FILMES AUTOMONTADOS CONSTITUÍDOS
POR POLIANILINA ASSOCIADOS AO
EXOPOLISSACARÍDEO FÚNGICO BOTRIOSFERANA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique Dall'Antonia
Co-Orientadora: Dra. Karen Wohnrath

Londrina
2007

**Catálogo na publicação elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da Universidade Estadual de Londrina**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

F814p França, Eliana.
Produção de filmes automontados constituídos por polianilina associados
ao exopolissacarídeo fúngico botriosferana / Eliana França. – Londrina,
2007.
73, [21] f. : il.

Orientador: Luiz Henrique Dall’Antonia.

Co-orientador: Karen Wohnrath.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de
Londrina, Centro de Ciências Exatas, Programa de Pós – Graduação em
Biotecnologia, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Biopolímeros – Aplicações científicas – Teses. 2. Polissacarídeos –
Teses. 3. Filmes automontados – Teses. 4. Botryosphaeria sp – Teses.
I. Dall’Antonia, Luiz Henrique. II. Wohnrath, Karen. III. Universidade
Estadual de Londrina. Centro de Ciências Exatas. Programa de Pós –
Graduação em Biotecnologia. IV. Título.

CDU 577.114

ELIANA FRANÇA

**PRODUÇÃO DE FILMES AUTOMONTADOS CONSTITUÍDOS
POR POLIANILINA ASSOCIADOS AO
EXOPOLISSACARÍDEO FÚNGICO BOTRIOSFERANA**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Henrique Dall'Antonia
Universidade Estadual de Londrina

Profa. Dra. Maria Inês Rezende
Universidade Estadual de Londrina

Prof. Dr. Pablo Alejandro Fiorito
Universidade Federal do ABC

Londrina, 10 de Setembro de 2007.

DEDICATÓRIA

A Deus, pois minha vida é para o Seu louvor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pois sem a presença dEle em minha vida nada seria possível.

Ao meu orientador Dr. Luiz Henrique Dall'Antonia não só pela constante orientação, mas sobretudo pela sua amizade e incentivo durante todas as etapas deste trabalho.

Aos professores Dra. Karen Wohnrath e Dr. Jarem R. Garcia que possibilitaram através de todo apoio, determinação e amizade tornar este trabalho real.

A Prof. ^a Dr^a Aneli de Melo Barbosa e sua equipe pela gentileza e cooperação em ceder o material EPS - Botriosferana utilizado na realização desse projeto.

Aos colegas Tiago Moreira, Dyovani Coelho e Vitor L. Martins por todo o tempo e dedicação dispensados a este trabalho.

À minha família, pela confiança e motivação.

À todos que, com boa intenção, colaboraram para a realização e finalização deste trabalho.

"A alegria do SENHOR é a vossa força."

Neemias 8:10

FRANÇA, Eliana. **Produção de Filmes Automontados Constituídos por Polianilina Associados ao Exopolissacarídeo Fúngico Botriosferana**. 2007. 56f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

RESUMO

O campo de tecidos modificados esbarra nos biomateriais que fisicamente suportam o crescimento de tecidos e estimular funções específicas de células. O objetivo deste estudo é criar um biomaterial que combine propriedades biológicas inerentes que podem especificamente estimular determinadas respostas celulares (p.e., angiogêneses) com propriedades elétricas que tem sido provada que auxilia na recuperação de diversos tecidos incluindo nervos e ossos. Com esse intuito, compósitos do polissacarídeo biologicamente ativo, botriosferana (EPS), secretado pelo ascomiceto fungo *Botryosphaeria Rhodina* e o polímero condutor polianilina (PANI, base esmeraldina) foi sintetizada e caracterizada. Filmes automontados de PANI/EPS foram obtidos usando HCl pH 2,0. Foi utilizado uma solução de base poliesmeraldina de concentração igual a 0,21 mg/mL e uma solução contendo o botriosferana na concentração de 0,45 mg/mL. O pH da solução foi corrigido para 2,0 com HCl concentrado. Os depósitos de 30 bicamadas numa superfície de FTO ("Fluor Doped Tin Oxide") foram acompanhados pela espectroscopia UV-vis, notando-se que a absorvância aumenta gradualmente com a adição das bicamadas, demonstrando a uniformidade na deposição. Bandas características da PANI e do EPS foram observadas nos espectros de FTIR do filme. As bandas em 1715 e 1590 cm^{-1} foram atribuídas a ligação C=N no anel aromático (quinóide) da base esmeraldina. Uma acentuada banda observada em 1325 cm^{-1} pode ser atribuída a combinação de diversas vibrações provenientes das ligações C=N. A banda em 875 cm^{-1} foi assimilada à vibração C-H da base esmeraldina. O Comportamento eletroquímico dos filmes de PANI/EPS, em HCl 0,5 mol L⁻¹, mostrou dois picos redox nos voltamogramas cíclicos, característicos para os filmes de PANI. Entretanto, o filme de PANI/EPS apresentou um aumento na corrente de pico quando comparado com os filmes de PANI sem EPS, e ainda o primeiro pico de oxidação desloca-se para valores menos positivos de potencial. Tais evidências confirmam a interação do polímero condutor com o polissacarídeo.

Palavras-chave: Polyaniline. Sacarídeo. Composito.

FRANÇA, Eliana. **Layer-by-layer films of polyaniline and the fungic polysaccharide Botryosphaeran**. 2007. 56p. Dissertation (Master degree in Biotechnology) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2007.

ABSTRACT

New tissue engineering technologies will rely on biomaterials that physically support tissue growth and stimulate specific cell functions. The goal of this study was to create a biomaterial that combines inherent biological properties which can specifically trigger desired cellular responses (e.g., angiogenesis) with electrical properties which have been shown to improve the regeneration of several tissues including bone and nerve. With this aim, composites of the biologically active polysaccharide botryosphaeran (EPS) secreted by the ascomyceteous fungus *Botryosphaeria rhodina* and the electrically conducting polymer polyaniline (PANI, polyemeraldine base) was synthesized and characterized. Layer-by-layer films of PANI/EPS were obtained using HCl pH 2.0. It was utilized solution of polyemeraldine base in concentration of 0.21 mg/mL and solution of the polysaccharide botryosphaeran in concentration of 0.45 mg/mL. The pH of the solutions was corrected to 2.0 with HCl concentrated. The deposit of 30 bilayers in ITO surface was accompanied by the UV-vis spectroscopy, regarding that the absorbance increased gradually with the addition of the number of layers revealing the uniformity in the deposition. Characteristics bands of the PANI and of the EPS were observed us spectra of FTIR of the film. The 1715 and 1590 cm^{-1} peaks have been attributed to the aromatic C=N bond (quinoid) of the polyemeraldine base. The strong band seen at 1325 cm^{-1} can be assigned to the combination of several stretching and bending vibrations emanating from the C=N bonds. The peak at 875 cm^{-1} can be understood to arise from the C-H stretching of emeraldine base [2]. The electrochemistry behavior for to the PANI/EPS film, in HCl pH 2.0, showed two redox peaks in the cyclic voltammograms, characteristics for the PANI films. The film of PANI/EPS apresents an increase in current peaks when compared with the film PANI without the EPS, in the first peak oxidation, and still verifies a displacement for less positive potentials. Such evidences confirm to the interaction of the conducting polymer with the polysaccharide.

Keywords: Polyaniline. Saccharides. Composite.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura da anilina e polianilina	16
Figura 2 – Esquema da síntese da polianilina, partindo da oxidação do monômero de anilina formando um cátion e seguindo duas rotas específicas: (a) ataque a um outro cátion formando dímero de polianilina; (b) ataque a um polímero de polianilina	19
Figura 3 – Esquema de estrutura da botriosferana	22
Figura 4 – Ilustração esquemática do método de automontagem via adsorção eletrostática	25
Figura 5 – Botriosferana geleificado produzido pelo fungo	32
Figura 6 – Botriosferana liofilizado produzido pelo fungo <i>Botryosphaeria rhodina</i>	33
Figura 7 – Esquema descrevendo os filmes automontados de: (A) PANi/EPS e (B) PANI com com 1 bicamada e 1 camada, respectivamente; para novas bicamadas ou camadas o processo foi repetido pelo número de vezes desejado	34
Figura 8 – Voltamograma cíclico do compósito PANi/EPS e PANi em HCl	38
Figura 9 – Espectros de absorção no UV/visível para o filme de PANi sintetizado eletroquimicamente	40
Figura 10 – Espectros de absorção no UV/visível para o filme de PANi/EPS sintetizado eletroquimicamente	40
Figura 11 – Espectros de absorção no UV/visível para os filmes de PANi e PANi/EPS sintetizados eletroquimicamente	41
Figura 12 – Valores para a absorbância em 880 nm referentes aos espectros “ex- situ” dos eletrodos modificados com PANI e EPS variando-se o tempo de imersão em EPS e na segunda camada de PANI.....	43
Figura 13 – Espectros na região do UV-vis para diferentes filmes crescidos por LBL	44
Figura 14 – Voltamogramas cíclicos para diferentes filmes crescidos por LBL	46
Figura 15 – Espectros de FTIR: PANi em KBr e EPS em KBr.....	47
Figura 16 – Espectros de FTIR: filme PANi/EPS 30 bicamadas, PANi 30camadas e EPS 30 camadas.....	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 REVISÃO DA LITERATURA	14
3.1 POLÍMEROS CONDUTORES.....	14
3.2 POLIANILINA	16
3.3 SÍNTESE DE POLÍMEROS CONDUTORES	17
3.3.1 Síntese Química	17
3.3.2 Síntese Eletroquímica	18
3.4 APLICAÇÕES DOS POLÍMEROS CONDUTORES	19
3.5 EXOPOLISSACARÍDEOS	20
3.5.1 Botriosferana	21
3.5.2 Síntese de Exopolissacarídeos	22
3.5.3 Aplicações de Exopolissacarídeos Fúngicos.....	23
3.6 FILMES AUTOMONTADOS: TÉCNICA LBL	24
3.7 COMPÓSITOS BASEADOS NA ASSOCIAÇÃO DE POLÍMEROS CONDUTOR/ EXOPOLISSACARÍDEO E SUAS APLICAÇÕES.....	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 REAGENTES	29
4.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	29
4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	30
4.3.1 Síntese Eletroquímica do Compósito de Polianilina/EPS	30
4.3.2 Síntese Química da Polianilina.....	31
4.3.3 Solução de Polianilina	31
4.4 EXOPOLISSACARÍDEO BOTRIOSFERANA	31
4.4.1 Solução de Botriosferana	33
4.5 SÍNTESE DOS FILMES AUTOMONTADOS DO COMPÓSITO PANI/ BOTRIOSFERANA.....	33
4.6 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA	34

4.6.1 Voltametria Cíclica	34
4.7 CARACTERIZAÇÃO ELESPECTROSCÓPICA.....	35
4.7.1 Espectroscopia Uv/vis	35
4.7.2 Espectroscopia Infravermelho	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
5.1 FILMES ELETROPOLIMERIZADOS.....	37
5.2 FILMES AUTOMONTADOS	42
CONCLUSÃO	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

O campo de tecidos modificados tem se desenvolvido rapidamente desde a década passada, e muitos esforços em pesquisas paralelas estão atualmente sob caminhos para criar uma vasta variedade de tecidos vivos de substituição para aplicações terapêuticas. O surgimento de novas tecnologias para engenharia de tecidos deverá requerer o desenvolvimento de novos biomateriais direcionados para sustentar crescimento físico de tecidos bem como para provocar respostas específicas desejáveis das espécies celulares. Um caminho para alcançar isto, é incorporar moléculas biológicas em matrizes sintéticas. Especificidade pode ser ganha através da escolha de um material de matriz eletroativo para estimular eletricamente respostas em espécies de células como ossos e nervos.

A síntese de compósitos baseados na associação de polímeros condutores e exopolissacarídeos unem a habilidade de estimulação eletricamente dos polímeros condutores com atividades específicas biológicas de alguns exopolissacarídeos. Um biomaterial que possui propriedades elétricas e biológicas deverá ter muitas características benéficas *in vivo*, incluindo o aumento da angiogênese (desenvolvimento de vasos sanguíneos) nos tecidos como ossos e nervos, qual é conhecido ser beneficiado por estimulação elétrica.

Na presente dissertação foi estudada as propriedades óticas e eletroquímicas de compósitos envolvendo o polímero condutor polianilina e o exopolissacarídeo botriosferana. Numa primeira etapa, foi desenvolvida a síntese via eletroquímica, da polianilina dopada com o botriosferana e suas propriedades óticas e eletroquímicas investigadas, delineado no item 5.1 dessa dissertação. Posteriormente, um outro método para a produção do compósito foi investigado, baseado nas camadas automontadas onde houve a alternância de camadas do exopolissacarídeo e o polímero condutor, pela técnica de “*layer by layer*” (LBL), descrito no item 5.2 dessa dissertação.

Não obstante que a literatura apresente variadas aplicações para polímeros condutores e exopolissacarídeos, não há registro de estudo do compósito constituído por Polianilina/Exopolissacarídeo. Assim espera-se que este trabalho contribua para o estudo da síntese e caracterização de membranas biocompatíveis produzidas a partir de polianilina e botriosferana, por suas características condutoras

e possíveis aplicações terapêuticas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

A dissertação teve como objetivo estudar as propriedades óticas e eletroquímicas de compósitos envolvendo o polímero condutor polianilina e o exopolissacarídeo botriosferana, através de dois métodos diferentes: pela eletrossíntese do polímero na presença do polissacarídeo e também pelo arranjo de camadas de polianilina e botriosferana, fazendo uso da técnica de *“layer by layer”*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Destacam-se como objetivos específicos da primeira etapa da dissertação a:

- Síntese eletroquímica de polianilina/botriosferana em meio acidificado com HCl;
- Caracterização eletroquímica dos filmes formados; e,
- Caracterização espectroscópica (UV-vis, IV).

Numa segunda etapa os objetivos específicos se basearam em:

- Montagem pela técnica de layer by layer de filmes compósitos de polianilina e botriosferana;
- Caracterização eletroquímica dos filmes formados; e,
- Caracterização espectroscópica (UV-vis, IV).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 POLÍMEROS CONDUTORES

Um histórico sobre a tecnologia de polímeros evidenciaria, sem dúvida alguma, que uma das propriedades mais importantes destes materiais sintéticos é a capacidade de comportar-se como excelentes isolantes elétricos, tanto para altas frequências quanto para voltagens. No entanto, nos últimos anos uma nova classe de polímeros orgânicos tem sido desenvolvida, cuja importância está relacionada à possibilidade de conduzir eletricidade (MAIA et al., 2000). Os polímeros condutores são geralmente chamados de “metais sintéticos” por possuírem propriedades elétricas, magnéticas e ópticas de metais e semicondutores (MaCDIARMID; EPSTEIN, 1991). O mais adequado seria chamá-los de “polímeros conjugados” porque são formados por cadeias contendo duplas ligações C=C conjugadas. Esta conjugação permite que seja criado um fluxo de elétrons em condições específicas. Os elétrons π da dupla ligação podem ser facilmente removidos ou adicionados para formar um íon, neste caso polimérico (FAEZ et al., 2000). Portanto é de grande interesse combinar em um mesmo material as propriedades elétricas de um semicondutor ou metal com as vantagens de um polímero (MAIA et al., 2000).

Desde a década de 60, ficou conhecido que moléculas orgânicas que apresentam duplas ligações conjugadas podem exibir propriedades semicondutoras. O desenvolvimento inicial foi inibido pelo fato que as cadeias rígidas, em uma estrutura conjugada, também produzem uma intratabilidade extrema, tal que a maioria dos primeiros exemplos de polímeros condutores eram infusíveis, insolúveis e, portanto, de pouco valor tecnológico. A descoberta dos polímeros condutores teve início no começo dos anos 70 (SHIRAKAWA; IKEDA, 1971, 1974). O primeiro polímero condutor foi obtido em 1977, pela exposição do poliacetileno na forma isolante a agentes dopantes, oxidantes ou redutores, tornando-o condutor elétrico intrínseco. O poliacetileno tratado com ácido ou base de Lewis teve aumento da condutividade em até 13 ordens de grandeza (CHIANG et al., 1977; SHIRAKAWA et al. 1977).

A oxidação/redução da cadeia polimérica é efetuada por agentes de transferência de carga (aceptores/doadores de elétrons), convertendo o polímero de isolante em condutor ou semicondutor. Esses agentes são chamados de “dopantes” em analogia com a dopagem dos semicondutores, porém são adicionados em quantidades muito superiores, pois a massa do dopante pode chegar a até 50% da massa total do composto. Nos semicondutores inorgânicos, a condutividade só é alcançada pela inserção de elementos (dopantes) que possam doar ou receber elétrons a fim de proporcionar um fluxo de elétrons e assim gerar portadores de corrente elétrica (FAEZ et al., 2000).

A reação de dopagem envolve um processo de transporte de carga no qual sítios do monômero (unidade que se repete na estrutura do polímero) no estado oxidado e contra-íons compensadores de carga se difundem através do filme polimérico. A reação de oxidação pode ser efetuada tanto por aplicação de potencial apropriado como também usando um agente químico oxidante, porém, neste caso é o agente oxidante que se difunde pelo polímero (MURRAY, 1992).

Segundo Rover, Oliveira e Kubota (1997) em alguns processos a dopagem é simultaneamente protônica e oxidativa, como no caso de alguns polímeros como a polianilina. Essas reações redox proporcionam aumento da mobilidade dos elétrons e também da condutividade.

Na maioria dos polímeros condutores, como polipirrol e politiofeno, o processo de dopagem ocorre simultaneamente com a oxidação da cadeia. Elétrons são retirados da cadeia durante oxidação e há inserção de contra-íons (dopantes) para balancear a carga. Os mais conhecidos aceptores e doadores de elétrons são: AsF_5 , I, BF_3 , HF, Li, Na e K. O processo de dopagem pode ser realizado por métodos químicos ou apenas pela exposição dos polímeros condutores aos vapores dos agentes de transferência de carga (FAEZ et al., 2000).

Os polímeros intrinsecamente condutores (PIC) têm atraído a atenção de inúmeros grupos de pesquisa, desde a sua descoberta, tanto pela importância científica em se entender este novo fenômeno como pelo seu potencial em aplicações tecnológicas (MATTOSO, 1996).

3.2 POLIANILINA

A polianilina e polímeros derivados da anilina (figura 1) têm recebido grande atenção nos últimos anos pela sua estabilidade química em condições ambientais, processabilidade, facilidade de polimerização e dopagem, baixo custo além de suas propriedades únicas (MATTOSO, 1996).

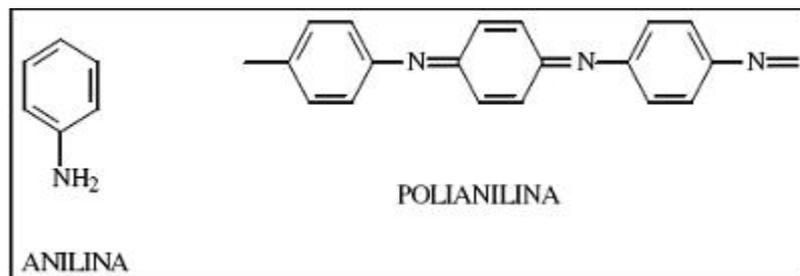


Figura 1 – Estrutura da anilina e polianilina.

A polianilina forma uma nova classe de polímeros condutores porque pode ser dopada por protonação, isto é, sem que ocorra alteração no número de elétrons (oxidação ou redução) associados à cadeia polimérica. O grau de protonação da base depende do grau de oxidação que o polímero foi sintetizado, e do pH da solução dopante (MATTOSO, 1996).

A polianilina pode ocorrer em diferentes estados de oxidação, dos quais a forma esmeraldina, 50% oxidada, é a mais estável, a forma base esmeraldina (isolante) do polímero pode reagir com ácidos (HCl) resultando na forma sal esmeraldina (condutora) (Tabela 1). A reação de protonação ocorre principalmente nos nitrogênios imínicos da polianilina (-N=). Este estado contém duas unidades repetitivas, a amina-fenileno e a iminaquinona. Além da elevada condutividade elétrica, que chega à ordem de 10^2 S cm^{-1} , outra propriedade interessante da polianilina é exibir diferentes colorações em variadas condições de pH ou potencial elétrico (FAEZ et al., 2000).

Tabela 1 – Os três estados de oxidação mais importantes da polianilina: leucoesmeraldina, esmeraldina (isolante e condutora) e permigranilina.

Estado de Oxidação	Estrutura	Cor*	Característica
Leucoesmeraldina		Amarela 310	isolante completamente reduzida
Sal de esmeraldina		Verde 320, 420,800	Condutora completamente oxidada
Base esmeraldina		Azul 320,620	isolante parcialmente oxidada
Permigranilina		Púrpura 320, 530	isolante completamente oxidada

* Os valores numéricos referem-se ao comprimento de onda (em nanômetros) onde a absorção é máxima.
Fonte: FAEZ et al. (2000, p. 14).

3.3 SÍNTESE DE POLÍMEROS CONDUTORES

Os polímeros condutores podem ser sintetizados por três métodos de polimerização: químico, eletroquímico e fotoeletroquímico. Dentre estes métodos, a síntese química é a mais utilizada e industrialmente é a mais vantajosa por possibilitar a produção de grandes quantidades de material. Algumas rotas de síntese são muito simples e podem ser adaptadas para escala piloto ou industrial (poli (p-fenilvinileno), polipirrol e polianilina). Outras requerem ambientes isentos de umidade (polifenilenos e politiofenos). O produto da oxidação da anilina foi primeiramente preparado em 1862, porém suas propriedades foram reconhecidas somente cerca de 100 anos depois despertando um interesse particular devido ao baixo custo de produção, facilidade de síntese e alto rendimento (FAEZ et al., 2000).

3.3.1 Síntese Química

A síntese química da polianilina pode ser realizada utilizando-se uma variedade de agentes oxidantes, neste caso, o agente oxidante é introduzido no meio reacional provocando a formação do cátion radical. A princípio, o requisito

básico para a espécie ser utilizada como oxidante é possuir um potencial de redução suficiente para a oxidação do monômero (MAIA et al., 2000). Alguns agente oxidantes utilizados são: $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$, MnO_2 , Cr_2O_4 , H_2O_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KClO_3 , e meios ácidos (inorgânicos: HCl , H_2SO_4 , H_2PO_4 , HClO_4 , HPF_6 , poliácidos como, polivinil sulfônico (PVS) e poliestireno sulfônico (PSS) e ácidos funcionalizados como, cânforssulfônico CSA e dodecilbenzeno sulfônico DBSA) sendo o sistema mais comum o peroxidissulfato de amônio em soluções aquosas de HCl com pH entre 0 e 2 (MATTOSO, 1996).

3.3.2 Síntese Eletroquímica

Os polímeros condutores também podem ser depositados eletroquimicamente, Figura 2, na forma de filmes sobre eletrodos metálicos ou semicondutores. A célula eletroquímica consiste de um eletrodo de trabalho, o eletrodo onde o filme do polímero vai ser depositado, um contra-eletrodo e um eletrodo de referência. Estes são imersos em uma solução que contenha o monômero e o eletrólito (os ânions dopantes). No caso da anilina é necessário acidificar o meio. O meio reacional pode ser aquoso ou orgânico, dependendo da solubilidade do precursor polimérico e da estabilidade do produto. As dimensões do filme formado são limitadas pela área geométrica do eletrodo e pela densidade de carga utilizada na síntese. Industrialmente esta técnica é utilizada na preparação de filmes poliméricos para a produção de baterias recarregáveis ou para polimerização *in situ*, utilizando-se outros materiais como matrizes (FAEZ et al., 2000).

A síntese eletroquímica possui vantagens sob a síntese química da polianilina de não necessitar de agente oxidante e catalisador; tem facilidade de caracterização "*in situ*" por técnicas espectroscópicas; e o polímero é obtido diretamente na forma de filmes finos (MATTOSO, 1996).

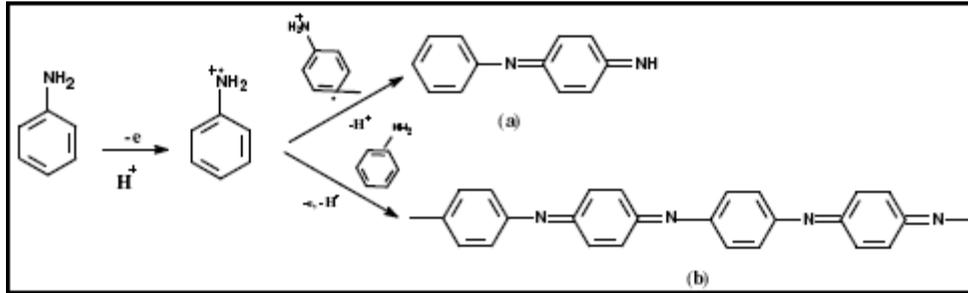


Figura 2 – Esquema da síntese da polianilina, partindo da oxidação do monômero de anilina formando um cátion e seguindo duas rotas específicas: (a) ataque a um outro cátion formando dímero de polianilina; (b) ataque a um polímero de polianilina.

Devido à facilidade e versatilidade dos métodos de síntese da polianilina e seus derivados, esta pode ser preparada para apresentar características específicas dependendo do dopante e/ou das condições utilizadas (MATTOSO, 1996).

3.4 APLICAÇÕES DOS POLÍMEROS CONDUTORES

Uma das grandes vantagens dos polímeros é a sua facilidade de processamento em artefatos de diferentes formas e tamanhos, característica esta essencial para viabilizar aplicações tecnológicas. Isto requer polímeros que sejam solúveis ou fusíveis e termicamente estáveis. Nesse aspecto, a polianilina tem se destacado entre os polímeros condutores, devido à sua solubilidade e à possibilidade de processamento a quente. Com isso ela pode ser processada por uma variedade de técnicas, dentre as quais se destacam: filmes por solução (ANGELOPOULOS et al., 1987, 1988); filme-gel (MATTOSO et al., 1994b); filmes depositados por via eletroquímica (MATTOSO et al., 1994a); fiação por solução (ANDREATTA; HEEGER; SMITH, 1990); polimerização química *in situ* (GREGORY; KIMBRELL; KUHN, 1989); blendas poliméricas com polímeros convencionais (HEEGER, 1993); técnica de *Langmuir-Blodgett* (FARIA et al., 1992); técnica de automontagem (MATTOSO et al., 2001).

Os polímeros intrinsecamente condutores desde que foram

descobertos em 1977 (CHIANG et al., 1977), têm inúmeras aplicações, sobretudo em química analítica, voltadas à construção de novos sensores. Entre alguns exemplos de aplicações destes polímeros condutores, estão na fabricação de baterias recarregáveis, dispositivos eletrocromáticos onde a reação direta de oxidação é responsável pela mudança na coloração das espécies em solução, diodos emissores de luz, proteção contra corrosão, recobrimento de materiais além da construção de sensores químicos e térmicos voltados à monitoração analítica (ROVER; OLIVEIRA; KUBOTA, 1997).

Aplicações biomédicas para polímeros condutores estão atualmente sendo consideradas, incluindo o desenvolvimento de músculos artificiais (KANETO et al., 1995), biossensores (ALOCILJA; TAHIR; GROOMS, 2005) controle para liberação de fármacos (KILMARTIN et al., 2004) e estimulação para regeneração de nervos (COLLIER et al, 2000). Baixa citotoxicidade e boa biocompatibilidade são evidências para o crescimento de células em polímeros condutores e o baixo grau de inflamação visto em testes com animais em períodos de várias semanas. O potencial de interação entre polímeros com meio biológico necessita ser cuidadosamente considerado (KILMARTIN et al., 2004).

3.5 EXOPOLISSACARÍDEOS

Polissacarídeos, também chamados glicanas, são macromoléculas naturais encontradas em todos os organismos vivos, constituindo um grupo de compostos dos mais abundantes e importantes da biosfera, como por exemplo, celulose e amido nas plantas (GLAZER; NIKAIDO, 1995) e glicogênio nos animais. Os exopolissacarídeos (EPS) são definidos como polissacarídeos extracelulares, produzidos por alguns fungos e bactérias, os quais são encontrados ligados à superfície das células ou são excretados para o meio extracelular, na forma de limo (SUTHERLAND, 1998).

Muitas bactérias são exploradas para produção comercial de polissacarídeos, o qual encontra aplicações em produtos alimentícios, cosméticos e farmacêuticos (BARBOSA et. al., 2004).

Nos fungos os EPS constituem uma importante percentagem da

biomassa, participando com mais de 75% dos polissacarídeos constituintes da parede da hifa (GUTIÉRREZ; PIETRO; MARTINEZ, 1996). EPS que são gomas solúveis em água, produzidos por uma ampla variedade de microrganismos, possuem propriedades físicas peculiares, que favorecem o emprego nas indústrias alimentícias, farmacêuticas, petrolíferas, entre outras (GIESE et al., 2003).

A maioria dos EPS fúngicos é β -glucanas. As propriedades físicas e fisiológicas dos polissacarídeos são determinadas pelas diferenças químicas tais como: tipo de ligação glicosídica, grau de ramificação e composição monossacarídica (GUTIÉRREZ; PIETRO; MARTINEZ, 1996).

Um dos mecanismos principais das propriedades dos EPS, tanto para aplicação na área médica como na industrial, está na capacidade de formar redes entrelaçadas hidratadas de cadeias poliméricas, com associações não-covalentes de ligação entre os anéis de polissacarídeos, a fim de se obter uma estrutura tanto na forma sólida quanto na de gel. Estas redes de junção conformacional entre as estruturas estão voltadas para a síntese e incorporação de outras matrizes orgânicas poliméricas em redes de junção com aplicação em desenvolvimento de biomateriais (MORRIS et al., 1986).

3.5.1 Botriosferana

O fungo ascomiceto *Botryosphaeria sp.* tem sido estudado como produtor de lacase desde 1995 (BARBOSA; DEKKER; HARDY, 1996; BARBOSA et al., 1995; DEKKER et al., 2001), e foi somente recentemente classificado como uma espécie: *Botryosphaeria rhodina* (GARCIA et al., 2004) usando técnicas de biologia molecular. No entanto, quando este fungo ligninolítico foi crescido com glucose como única fonte de carbono, um EPS de tipo β -glucana foi secretado no meio de cultura (DEKKER; BARBOSA; 2001). A estrutura desta glucana foi caracterizada (BARBOSA et al., 2003) recentemente como (1 \rightarrow 3;1 \rightarrow 6)- β -D- glucana (figura 3) com aproximadamente 22% de ramificações em C-6. As ramificações são constituídas de resíduos β -(1 \rightarrow 6) ligadas ao glicosil e β -(1 \rightarrow 6) ligadas ao di-glicosil (gentiobiose). Este tipo de β -glucana foi subsequentemente nomeado como botriosferana de

acordo com o fungo que produz este EPS.

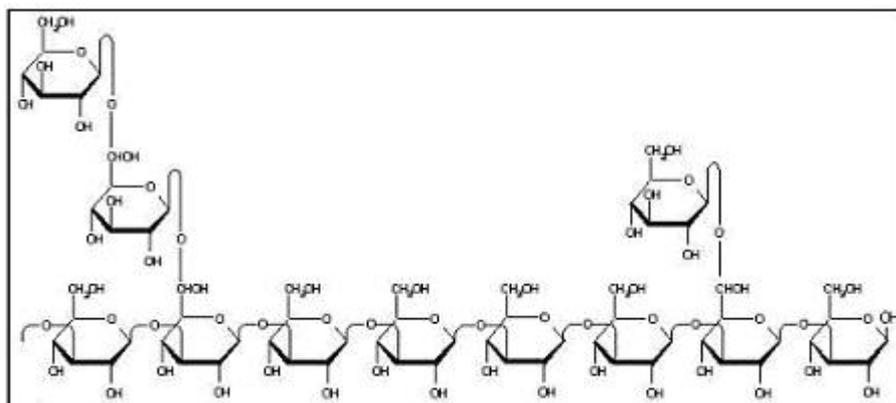


Figura 3 – Esquema de estrutura da botriosferana.

3.5.2 Síntese de Exopolissacarídeos

Para a síntese de exopolissacarídeos são importantes a composição do meio de cultivo do microrganismo as condições de cultivo que interferem diretamente na produção dos EPS microbianos. Os microrganismos devem ser adaptados ao meio ambiente natural onde vivem, pois nele existem fatores limitantes como fontes de carbono e nitrogênio, aeração, agitação, microelementos entre outros, e isso confere a eles um estado de homeostase. Na produção de EPS por fungos, deve ser considerada a cepa fúngica escolhida como também o seu meio ambiente natural para adequar, em laboratório, o meio de cultivo em termos de características nutricionais (BARBOSA et al., 2004).

Uma comparação da produção de botriosferana por *B. rhodina* em meio de cultivo com vários carboidratos como fonte de carbono foi recentemente descrito (STELUTI et al., 2004). Com a exceção de manitol, o fungo produziu EPS em todas as fontes de carbono examinadas, com um alto rendimento ocorrendo com sacarose seguida por glucose e frutose. De acordo com Jiu et al. (2003) e Zhang et al.(1995), diferentes fontes de carbono geram polímeros de bioatividade similar com diferentes graus de ramificação e polimerização distintas, podendo ser mais ou menos solúveis em água, e como conseqüência, podendo possuir maior ou menor atividade biológica. A produção de β -glucana por *B. rhodina* foi considerada como

um processo aeróbio, sendo o oxigênio essencial para sustentar a taxa de crescimento da biomassa (CROGNALE et al., 2007).

3.5.3 Aplicações de Exopolissacarídeo Fúngico

As aplicações biotecnológicas dos exopolissacarídeos são limitadas devido aos problemas relacionados às suas propriedades reológicas como, por exemplo, a viscosidade que dificulta o preparo de soluções concentradas mais homogêneas. A viscosidade destas soluções varia de acordo com alguns fatores físico-químicos como: pH, temperatura, concentração do EPS, massa molecular, solubilidade, além das características morfológicas dos fungos produtores (CUNHA, 2002).

Diferentes processos fermentativos e biotecnologia têm sido desenvolvidos com o objetivo de sintetizar e modificar carboidratos, sendo baseados essencialmente no uso de polissacarídeos. No entanto, há dificuldades em tornar alguns processos economicamente viáveis e também de se obter enzimas específicas para a conversão de determinados substratos (GIESE et al., 2003).

Vários EPS produzidos por microrganismos ainda não foram adequadamente explorados e somente poucos têm sido produzidos em larga escala. Muitos polissacarídeos produzidos por bactérias e fungos possuem propriedades semelhantes à do Agar. Outros possuem propriedades reológicas que são valiosas para o emprego industrial. Entre os polissacarídeos microbianos com usos comerciais podem ser citados a xantana, dextrana, alginato, curdlana e gelana, produzidos por bactérias e a escleroglucana e pululana, produzidos por fungos (GLAZER; NIKAIDO, 1995).

Os EPS microbianos são bastante conhecidos por suas propriedades espessantes, estabilizantes, emulsificantes, geleificantes entre outras (ROBERTS; KIMMEL; ZIEGLER, 1998). Porém outra possibilidade de aplicação destes biopolímeros é na saúde humana. Várias pesquisas sobre polissacarídeos fúngicos têm se concentrado em aplicá-los como agentes anti-tumorais (MAZIERO et al., 1999). Os polissacarídeos que apresentam esta atividade são todos glucanas intimamente relacionados à estrutura do escleroglucana (YANG; LIAU, 1998).

EPS produzidos por fungos, especialmente os basidiomicetos, já eram usados na medicina tradicional chinesa e japonesa para tratar determinadas doenças incluindo câncer. EPS de vários fungos tem demonstrado possuir interessantes atividades biológicas como ação anti-tumoral, anti-inflamatória e de imunomodulação (BARBOSA et al., 2003) ou seja, poder de estimular a produção de anticorpos a fins de controlar inflamações causadas pelas doenças crônicas.

As aplicações terapêuticas dos exopolissacarídeos dependem das diferenças nos parâmetros físico-químicos das β -glucanas como solubilidade, estrutura primária, peso molecular, extensão da ramificação, e a carga do polímero, pois influenciam em sua atividade biológica (VETVICKA, YVIN, 2004).

Embora muitas $\beta(1\rightarrow3)$ glucanas fúngicas estão descritas, somente algumas tem sido rigorosamente caracterizadas. Consequentemente, sua diversidade química e propriedades funcionais potencialmente úteis são ainda mal compreendidas (SCHMID et al., 2001). Desde a ocorrência natural destes EPS como mistura de componentes celulares heterogêneos ou de secreção, é primeiramente necessário isolar, purificar e caracterizar estruturalmente estes polissacarídeos antes de prosseguir com investigações detalhadas de suas propriedades e aplicações (KIM et al., 2003; SUTHERLAND, 1998).

3.6 FILMES AUTOMONTADOS: TÉCNICA LBL

Métodos de fabricação de filmes finos de diferentes materiais, que permitem controle de espessura e de propriedades em nível molecular, têm recebido enorme atenção e importância entre as tecnologias modernas (DECHER, 1997).

Entre as diferentes técnicas desenvolvidas recentemente para fabricação de filmes finos está a técnica de automontagem (do inglês *Self-Assembly*), também conhecida como camada por camada - LBL (do inglês *Layer-by-layer*) esta técnica tem se mostrado extremamente promissora, capaz de produzir filmes ultrafinos organizados em nível nanométrico de diferentes tipos de materiais de interesse, de maneira simples e barata (MATTOSO; MEDEIROS; PATERNO, 2006).

A técnica de automontagem LBL foi proposta pela primeira vez no

início da década de 1980, no trabalho pioneiro de Sagiv (1980) e, anos mais tarde, reformulada por Decher e Hong (1991). Esta técnica recebe este nome, pois consiste da adsorção espontânea, química ou física, de camadas ultrafinas (10 – 100 Å) de materiais sobre a superfície de um suporte sólido, a partir de suas soluções. O tipo de adsorção depende da afinidade entre o suporte e o material, o que está diretamente relacionado com a estrutura química dos materiais empregados (MATTOSO; MEDEIROS; PATERNO, 2006).

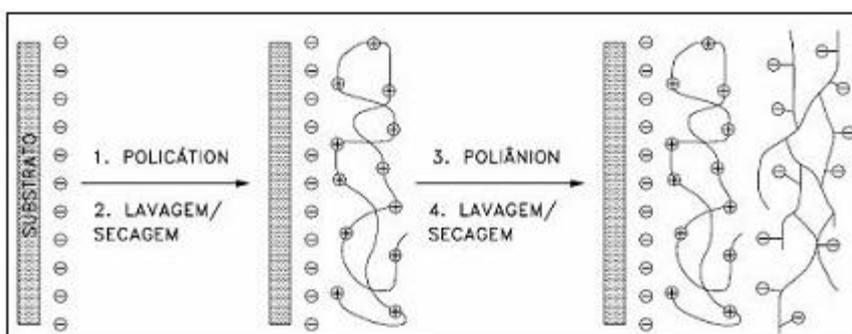


Figura 4 – Ilustração esquemática do método de automontagem via adsorção eletrostática, indicando as etapas de: 1) deposição do polícatión, 2) lavagem e secagem do suporte contendo uma camada de polícatión, 3) deposição do poliânion e 4) contendo camadas alternadas de polícatión e poliânion (MATTOSO; PATERNO; OLIVEIRA JR, 2001).

O método de automontagem proposto por Decher e Hong (1991), baseia-se na interação eletrostática entre moléculas contendo grupos iônicos. Este método ilustrado pela figura 4 consiste basicamente na imersão de um substrato sólido, previamente tratado, por um breve período de tempo numa solução aquosa contendo, por exemplo, um sal da substância a ser depositada. A carga desta substância deve ser contrária à do substrato para que ocorra adsorção por atração eletrostática. Posteriormente, o conjunto é lavado, a fim de eliminar o excesso de material, seco e então imerso numa solução contendo um outro sal, agora de carga contrária à do sal inicialmente depositado, de maneira a resultar numa espécie de “sanduíche” formado por camadas moleculares catiônicas e aniônicas, alternadamente adsorvidas. A repetição deste processo leva à formação de filmes ultrafinos com multicamadas. Uma das vantagens oferecidas por este método refere-se ao solvente, comumente utilizado, água, embora esta característica também limite

a gama de polímeros empregados. (MATTOSO; PATERNO; OLIVEIRA JR, 2001).

Decher e Hong (1991) verificaram que este método permite controle da espessura do filme através de medidas de espectroscopia de UV- visível. Constataram um aumento linear da absorvância do filme formado, à medida que cada camada era depositada, uma vez que, sendo a absorvância proporcional à quantidade de material absorvente, cada camada depositada contribuiu com aproximadamente uma mesma quantidade de material.

Contudo, o processo de automontagem não depende só da presença de cargas nas moléculas adsorventes.. Alguns trabalhos (STOCKON; RUBNER, 1997; LVOV et al., 1996) revelam que outros tipos de interação, diferentes da atração eletrostática, podem predominar no processo de automontagem, a proximidade das moléculas envolvidas contribui com outros tipos de forças de interação, como forças de Van der Waals, ligações de hidrogênio, forças dispersivas ou de London, cujas intensidades tornam as monocamadas compactas e fortemente adsorvidas (ULMAN, 1991). Polímeros condutores como a polianilina e seus derivados encontram-se no estado carregado (dopados) quando em soluções de baixo pH (MaCDIARMID et al., 1987). Verificou-se, entretanto, que estes polímeros podem ser automontados a partir de soluções em pHs elevados, ou seja, como se fossem polímeros neutros (STOCKON; RUBNER, 1997, PONTES et al., 1999). Neste caso, o processo de automontagem é governado por interações não iônicas, como ligações de hidrogênio. Foi verificado que a quantidade de polianilina adsorvida num filme automontado é maior quando camadas desta são alternadas com camadas de polímeros que têm facilidade de fazer ligações de hidrogênio (STOCKON; RUBNER, 1997). Isto se deve ao fato de as cadeias de polianilina não dopada assumirem uma conformação mais enovelada, até mesmo formando agregados na solução (ZHENG et al., 1997), ocupando menos espaço no substrato e facilitando a aproximação e acomodação de mais polímero. Portanto o método de automontagem LBL proposto por Decher, pode ser depositado por uma grande variedade de materiais, baixo custo de produção e um grande potencial tecnológico. (MATTOSO; PATERNO; OLIVEIRA JR, 2001).

3.7 COMPÓSITOS BASEADOS NA ASSOCIAÇÃO DE POLÍMERO CONDUTOR / EXOPOLISSACARÍDEO E SUAS APLICAÇÕES

Compósitos são materiais constituídos por uma mistura de dois ou mais componentes ou fases distintas, usualmente combinadas em escala macroscópica os quais devem estar presentes em proporções razoáveis (JOSÉ; PRADO, 2005). Pouco se tem estudado sobre a utilização de compósitos baseados em polímeros condutores e EPS, porém suas aplicações de formas separadas são bem investigadas e comprovadamente eficientes.

Dentre os polímeros condutores, o polipirrol é o mais empregado em pesquisas de biomateriais. Collier et al. (2000) sintetizaram e caracterizaram o compósito de polipirrol-ácido hialurônico (PP/HA) para aplicações em engenharia de tecidos e constataram que este biomaterial é um candidato promissor para aplicações de tecidos modificados e em cicatrização de ferimentos, pois pode beneficiar a estimulação elétrica e o aumento de vascularização.

Outros biomateriais contendo polímeros condutores e outros compósitos também estão sendo estudados. Filmes de variadas formas da polianilina co-polimerizada com ácido acrílico e imobilizada com colágeno foi implantado em ratos por período de 19 a 50 semanas e avaliada a resposta de tecido *in vivo* para teste de biocompatibilidade, após o período de investigação, o filme de esmeraldina-imobilizada com colágeno, não apresentou características de incompatibilidade dos tecidos próximos ao implante (WANG et. al., 1999). A anilina e a polianilina também foram avaliadas como agentes antioxidantes, e mostraram-se bons agentes redutores e eliminaram radicais livres similarmente aos antioxidantes fenólicos presentes em várias frutas e bebidas (KILMARTIN et al., 2004; GIZDAVIC-NIKOLAIDIS et. al., 2004).

Outros estudos de biomateriais contendo polianilina envolvem a síntese de compostos polianilina polimerizada separadamente com alguns diferentes ácidos como ácido clorídrico, sulfônico e fenilfosfônico incorporada a um biosensor condutométrico, usado na detecção do vírus da diarreia viral bovina (BVDV) onde os resultados promissores na detecção do BVDV demonstraram que o biosensor condutométrico foi permutável para detecção de diferentes moléculas alvo. Sugerindo que modificações podem ser realizadas para implementar a avaliação do

biosensor como um dispositivo rápido de detecção de outras doenças infecciosas na população de animais domésticos. (ALOCILJA; TAHIR; GROOMS, 2005).

4 MATERIAIS MÉTODOS

4.1 REAGENTES

- Ácido Clorídrico procedente da CHEMCO com pureza de 37%, $d = 1,18 \text{ g.mL}^{-1}$ (PM = $36,46 \text{ g.mol}^{-1}$);
- Água deionizada;
- EPS liofilizado produzido no Lab. de Bioquímica pelo grupo de pesquisa da Professora Dra. Aneli de Melo Barbosa.
- Anilina destilada sob pressão reduzida procedente da MERCK®

4.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- Balões volumétricos de volumes variados (50 a 500 mL);
- Erlenmeyers de 125 mL;
- Béqueres de 5 mL e 250 mL de capacidade;
- Pipetas volumétricas de 5 e 10 mL;
- Pipeta graduada de 10 mL;
- Proveta de 20 mL;
- Placas de Petri;
- Funil de vidro;
- Funil de Büchner;
- Papel filtro pregueado;
- *Parafilm® "M" laboratory film* procedente da *American National Can™*;
- Barra de agitação magnética;
- Pistilo;
- Pinça metálica;
- Eletrodos de platina;

- Eletrodos de Ag/AgCl;
- Cubetas de quartzo;
- Estufa retilínea FANEM;
- Balança analítica AND modelo H-200;
- pHmetro Tecnal modelo TEC-2;
- Mesa de agitação magnética com aquecimento FISATOM modelo 752-A;
- Incubadora orbital (Shaker) Tecnal;
- Ultra-som THORNTON modelo T7;
- Potenciostato MICROQUÍMICA MQPG modelo 01;
- Espectrofotômetro FTIR SHIMADZU modelo 8400
- Espectrofotômetro UV-Visível SHIMADZU modelo MultiSpec 150;1
- Micro pipeta de precisão LabMate LM10/10 -100 μ L
- Eletrodo FTO 102-020 (FLUORINE-DOPED TIN OXIDE) $11 \leq R_s \leq 20 \Omega/\square$

4.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.3.1 Síntese Eletroquímica do Compósito de Polianilina/EPS

A polianilina foi sintetizada eletroquimicamente utilizando como eletrodo de trabalho uma placa de FTO (*Flúor doped Tin Oxide*, Flexitec, $11 \leq R_s \leq 20 \Omega/\square$), previamente limpos com uma solução diluída de HNO₃ (1:1)), a partir de uma solução contendo HCl 0,5 mol.L⁻¹ e anilina 0,1 mol.L⁻¹, polarizando o eletrodo a + 0,7 V até atingir uma carga de deposição igual a 250 mC cm⁻². Para os filmes compósitos de PANI/EPS à solução contendo HCl 0,5 mol.L⁻¹ e anilina 0,1 mol.L⁻¹ foi adicionado o EPS numa concentração de 0.5 g L⁻¹ e polarizando o eletrodo a + 0,7 V até atingir uma carga de deposição igual a 250 mC cm⁻². No segundo caso o tempo devido para completar a mesma quantidade de carga foi aproximadamente 5 vezes maior do que o primeiro caso.

4.3.2 Síntese Química de Polianilina

A polianilina na forma base esmeraldina foi obtida de acordo com o método descrito em Rujiravanit et al. (2006). Onde o polímero sintetizado foi imerso em uma solução de NaOH 0,1 0,5 mol.L⁻¹ e mantido sob agitação por 12 horas, quando então o precipitado de cor azul intensa foi separado do sobrenadante por filtração a vácuo e seco em estufa a 40°C, até peso constante.

4.3.3 Solução de Polianilina

Foram diluídas 0,47g de Polianilina (base esmeraldina) em 25 mL de dimetil acetamida, a mistura foi agitada por 12 horas até completa dissolução.

A solução foi filtrada em papel filtro, este foi pesado antes e depois da filtração (seco), para calcular a concentração da polianilina. Do filtrado obtido, foi pipetado 1mL e adicionado em 25 mL de solução de HCl (pH 2-3) sob agitação para não precipitar. Após preparo da solução, foi novamente verificado pH que foi mantido entre 2-3. A concentração final da Polianilina foi verificada através do peso do papel seco, antes e depois sendo de 0,21 mg/mL.

4.4 EXOPOLISSACARÍDEO BOTRIOSFERANA

O Exopolissacarídeo produzido pelo fungo ascomiceto *Botryosphaeria rhodina* foi gentilmente cedido pelo laboratório de pesquisa de Bioquímica de microrganismos do Departamento de Bioquímica e Biotecnologia da Universidade Estadual de Londrina, pela profa. Dra. Aneli de Melo Barbosa.

A síntese do EPS botriosferana foi preparada de acordo com o método descrito por Barbosa et. al. (2003).

O fungo *Botryosphaeria rhodina* foi mantido em meio de cultivo BDA (batata-dextrose-ágar) inclinado, a 4°C e repicado (semeadura do microorganismo

numa placa) para permanência no mesmo meio. Contudo, o preparo do pré-inóculo (cultivo em pequena escala que visa multiplicação das células) envolveu a transferência do microrganismo deste meio para uma placa de Petri contendo meio sólido de Vogel, a placa foi mantida à aproximadamente 28°C até o ponto em que hifas (tubos formados de células multinucleadas (cenócitos), um conjunto de hifas recebe o nome de micélio), do fungo cobriram toda a extensão da placa (cerca de 5 dias).

Em seguida, com o auxílio de uma pinça de platina, foram transfedadas uma pequena quantidade de hifas para 25 mL de um meio mínimo de Vogel contendo 0,5% (p/v) de glucose, contidos em um frasco de Erlenmeyer de 125 mL; deixando-os sob agitação constante, durante 48 horas a uma temperatura de aproximadamente 28°C.

Após estes procedimentos, foram interrompidos os cultivos dializando as amostras contra água destilada durante 48 horas. As amostras foram armazenadas em congelador a 4°C a fim de obter apenas o material não solubilizado cuja denominação se deu por ser o polissacarídeo em sua forma de gel (figura 5). Ao encaminhar este material para o liofilizador, foram obtidos como produto, o exopolissacarídeo em sua forma liofilizada (figura 6).



Figura 5 – Botriosferana geleificado produzido pelo fungo.



Figura 6 – Botriosferana liofilizado produzido pelo fungo *Botryosphaeria rhodina*.

4.4.1 Solução de Botriosferana

Foram diluídos 0,011g de EPS em 25 mL de água destilada, sob aquecimento (100°C) com agitação contínua por 2 horas. Após a solubilização do EPS, em temperatura ambiente o pH foi corrigido para a faixa de 2-3 com HCl. A concentração final do EPS foi de 0,45 mg/mL.

4.5 SÍNTESE DOS FILMES AUTOMONTADOS DO COMPÓSITO PANI/BOTRIOSFERANA

Filmes automontados foram obtidos utilizando PANi/Botriosferana baseado na técnica de automontagem layer-by-layer (LBL). Os filmes foram depositados em lâminas de FTO (Óxido de Titânio dopado com Fluoreto) utilizados como substrato. Os substratos de FTO foram lavados com clorofórmio à quente e secos. Foi utilizada solução de polianilina em concentração de 0,21 mg/mL e solução do exopolissacarídeo botriosferana em concentração de 0,45mg/mL. O pH das soluções foram corrigidos para 2,0 com HCl concentrado. Cada bicamada foi obtida a partir da imersão, por 5 minutos do substrato de FTO em solução de PANi e posterior lavagem em água destilada acidificada (pH 2,0), logo em seguida o substrato foi imerso em solução de EPS por 15 minutos e após lavado com água

destilada em pH 2 foi seco com jatos de ar. Filmes foram obtidos de 1, 5, 7, 10, 15, 20, 30 bicamadas (figura 7).

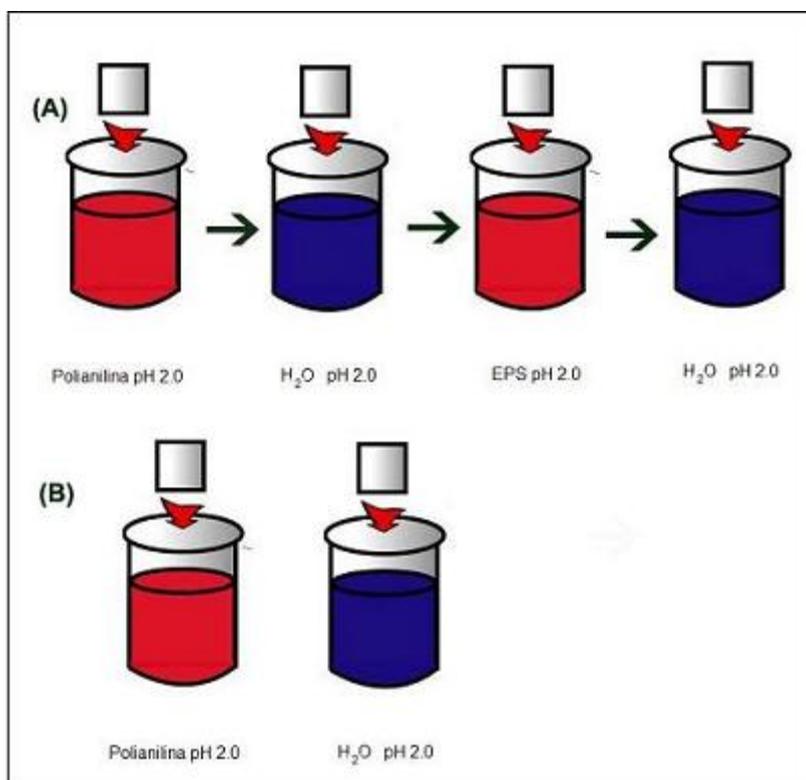


Figura 7 – Esquema descrevendo os Filmes automontados de: (A) PANi/EPS e (B) PANI com com 1 bicamada e 1 camada, respectivamente; para novas bicamadas ou camadas o processo foi repetido pelo número de vezes desejado.

4.6 CARACTERIZAÇÃO ELETROQUÍMICA

4.6.1 Voltametria Cíclica

Esta técnica consiste na aplicação de uma onda triangular de potencial entre dois valores limites pré-estabelecidos, a uma determinada taxa de variação. Como resposta a esta aplicação, obtém-se uma corrente eletrônica gerada nos processos eletroquímicos que ocorrem na cela, ou avaliação de potenciais de oxidação e redução a uma taxa de velocidade de varredura de 50 mV/s e escala de

500 mA em um potenciostato MPQ01 (Microquímica). A partir de certo potencial de repouso E1 (0,0 V), aplicou-se uma velocidade de varredura até o alcance de um valor de potencial negativo E3 (-0,2 V), revertendo a um valor de potencial positivo E2 (+1,0 V), que por sua vez, retorna ao potencial inicial. Os valores de densidade de corrente (j) foram obtidos a partir da divisão dos valores dos sinais de corrente pela respectiva área do eletrodo utilizado para realização da experiência.

Este processo foi verificado após a deposição do filme PAni/EPS sobre a superfície do eletrodo de trabalho, num sistema de três eletrodos, com eletrodo de platina sendo o contra-eletrodo e Ag/AgCl como eletrodo de referência em eletrólito suporte de HCl 0,5 mol.L⁻¹. Foram registrados 2 ciclos para cada amostra analisada e os dados foram salvos em formato ASCII pelo software desenvolvido pela empresa Microquímica, o qual acompanha a potenciostato utilizado.

4.7 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA

4.7.1 Espectroscopia Uv/Vis

O estudo da absorção ótica foi realizado usando espectrofotômetro UV-visível SHIMADZU MultiSpec - 1501 para o acompanhamento do crescimento das bicamadas. Primeiro foi realizado UV-Vis imediatamente após o crescimento de cada bicamada, para realizar a leitura foram utilizados suporte para o filme, o qual certificava a passagem do feixe de luz sempre pela mesma área, foram crescidos filmes com 1, 5, 10, 15, 20, 30 bicamadas, e constituídos gráficos comparativos para a verificação do crescimento das camadas.

4.7.2 Espectroscopia Infravermelho

O Infravermelho consiste no estudo do efeito da vibração de grupamentos funcionais característicos da composição de estruturas moleculares pela absorção de radiação.

Para a realização das leituras no espectro na região do infravermelho, SHIMADZU FTIR – 8400, o filme de PAni/EPS, filme de PAni, e filme de EPS foram crescidos em lâmina de silício, e a fins comparatórios também foi realizado infravermelho da PAni base esmeraldina e infravermelho de EPS liofilizado, estes agregados com maceração para formação de pastilhas de KBr que permaneceram por um período de 24 horas na estufa a uma temperatura de 100°C para evitar a presença da umidade, contribuindo para a diminuição do erro experimental no estudo da análise com concentração de analito 1% para a verificação nas diferentes bandas observáveis do compósito.

O estudo de absorção pelo infravermelho foi realizado utilizando uma varredura na região entre 400 e 4000 cm^{-1} .

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FILMES ELETROPOLIMERIZADOS

O compósito polianilina/botriosferana foi sintetizado eletroquimicamente através da utilização das soluções aquosas preparadas contendo EPS na forma liofilizada, em conjunto com o anilina presente em uma solução de HCl. Foi utilizada uma célula eletroquímica composta de um eletrodo de trabalho (no caso o FTO, uma camada condutora de óxido de estanho dopado com flúor), uma malha de platina como eletrodo auxiliar e um eletrodo de referência do tipo Ag/AgCl. Aplicou-se um potencial de 0,7 V à célula em um período de tempo de aproximadamente 1200 segundos fazendo com que a reação de formação de radical anilina fosse iniciada induzindo a oxidação e ligação dos monômeros entre si, resultando em dímeros que, sucessivamente, sofreram oxidação e repetições das reações de acoplamento descritos na figura 2, conseqüentemente o EPS foi absorvido no filme de polímero compensando as cargas geradas durante o processo de polimerização, resultando na formação de filmes do compósito depositados sobre a superfície do eletrodo de trabalho.

A primeira evidencia da formação da polianilina foi a mudança de coloração da membrana durante a síntese. Partindo de um eletrodo transparente, que gradativamente, adquiriu uma tonalidade esverdeada tornado-se azul escuro no final da síntese. Essa coloração observada durante a síntese é característica da formação da polianilina (sal esmeraldina) em meio ácido (MACDIARMID, A G 1987). Os voltamogramas cíclicos da polianilina na forma de sal esmeraldina em HCl 0,5 mol L⁻¹ está representado na Figura 8.

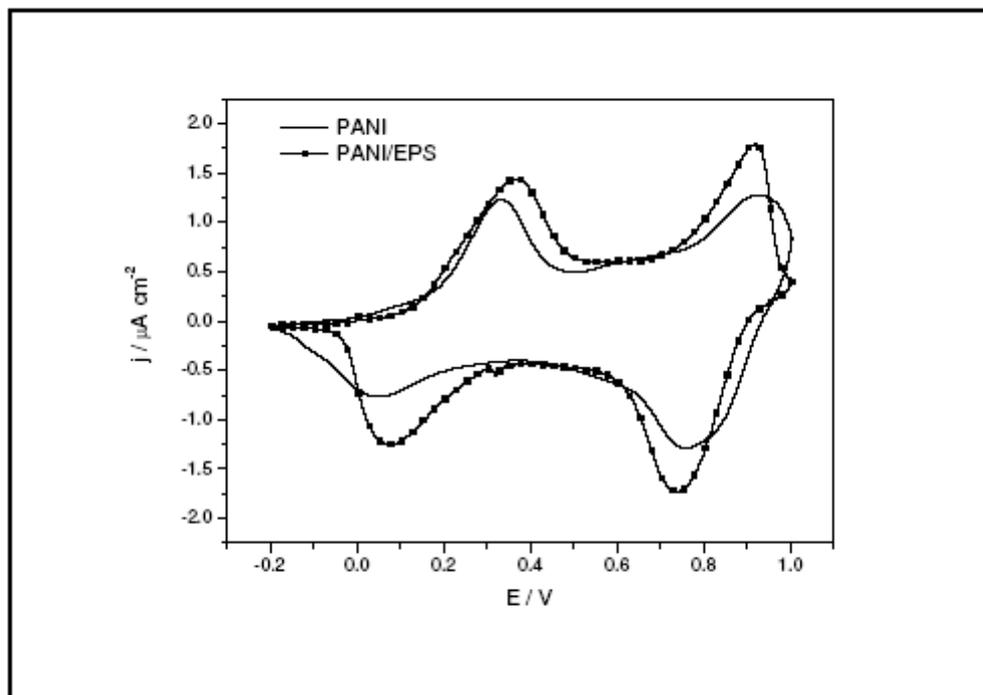


Figura 8 – Voltamograma cíclico do composto PANi/EPS e somente PANi em HCl 0,5 mol L⁻¹, $\nu = 50$ mV s⁻¹.

Com relação aos processos redox MacDiarmid et al. (1987) propuseram um mecanismo que considera também o efeito eletrocromático em função do estado de oxidação e protonação da macromolécula. O primeiro par de picos redox, na Figura 8 se refere à interconversão entre os estados de oxidação leucoesmeraldina (amarelo) e esmeraldina (verde), ver Tabela 1. A primeira etapa de oxidação resulta, portanto, no polímero na forma parcialmente oxidada correspondente ao cátion radical polisemiquinônico, que consiste de estados condutores móveis, os polarons. Nessa situação, há inserção dos ânions presentes na solução no filme para balancear as cargas positivas criadas pela perda de elétrons. O outro par redox no potencial mais positivo está associado à interconversão entre os estados esmeraldina e pernigranilina (azul escuro). A polianilina se torna completamente oxidada, com grupos amina substituídos por grupos imina, ao mesmo tempo em que ânions e prótons são expelidos do filme. Estas reações redox fazem com que exista uma variação contínua do grau de oxidação, entre as formas completamente reduzida e oxidada da polianilina.

Uma vez que a absorção de energia luminosa por compostos orgânicos, na região do visível e ultravioleta, envolve a promoção de elétrons dos

orbitais σ , π e n do estado fundamental a estados de maior energia. Estes estados de maior energia são descritos como orbitais moleculares que estão vazios no estado fundamental ou não excitado, e são normalmente chamados de orbitais não-ligantes. Os orbitais anti-ligantes associados às ligações σ (simples) e π (dupla) são respectivamente, os orbitais σ^* e π^* . Como os elétrons n não formam ligações, não há orbitais anti-ligantes associados a eles. As transições envolvidas nas regiões UV-Vis são do seguinte tipo: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, e $\pi \rightarrow \pi^*$, porém a energia necessária para a transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$ é muito alta.

Compostos que contenham elétrons não ligantes em átomos de O, N, X ou halogênios podem mostrar absorções devido as transições $n \rightarrow \sigma^*$. Essas transições envolvem menor energia do que as transições $\sigma \rightarrow \sigma^*$. As transições para orbitais antiligantes π^* são associadas apenas a centros insaturados na molécula; requerem energias ainda menores e, ocorrem em comprimentos de onda maiores, localizados na região espectral do UV. As transições $\pi \rightarrow \pi^*$ são de energia intermediária geralmente localizada entre as transições $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$.

As várias formas estruturais que a PANi pode assumir (base leucoesmeraldina, esmeraldina e pernigranilina) produzem diferentes configurações dos estados eletrônicos, devido as diferenças de acoplamento elétron-fônon e os ângulos de torção dos anéis aromáticos e quinônicos em relação ao plano dos átomos de nitrogênio.

Os espectros de absorção dos filmes de PANi (Figura 9) e PANi/EPS (Figura 10) foram obtidos *ex-situ* com os filmes polarizados em diferentes potenciais variando do estado reduzido ao estado oxidado.

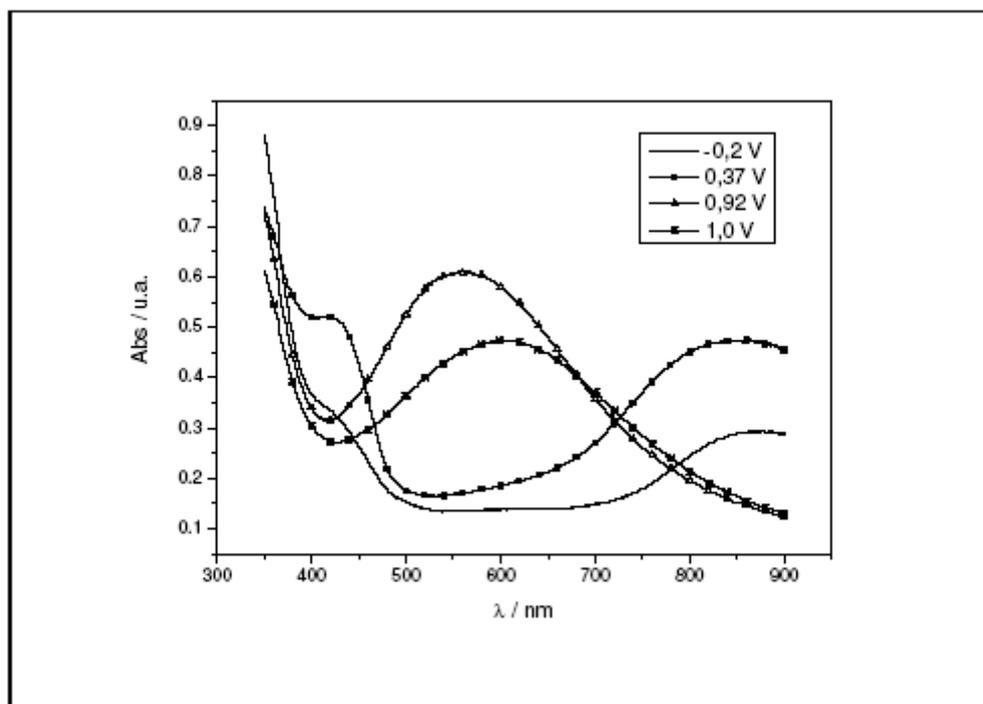


Figura 9 – Espectros de absorção no UV/visível para o filme de PANi sintetizado eletroquimicamente e, polarizado em diferentes potenciais.

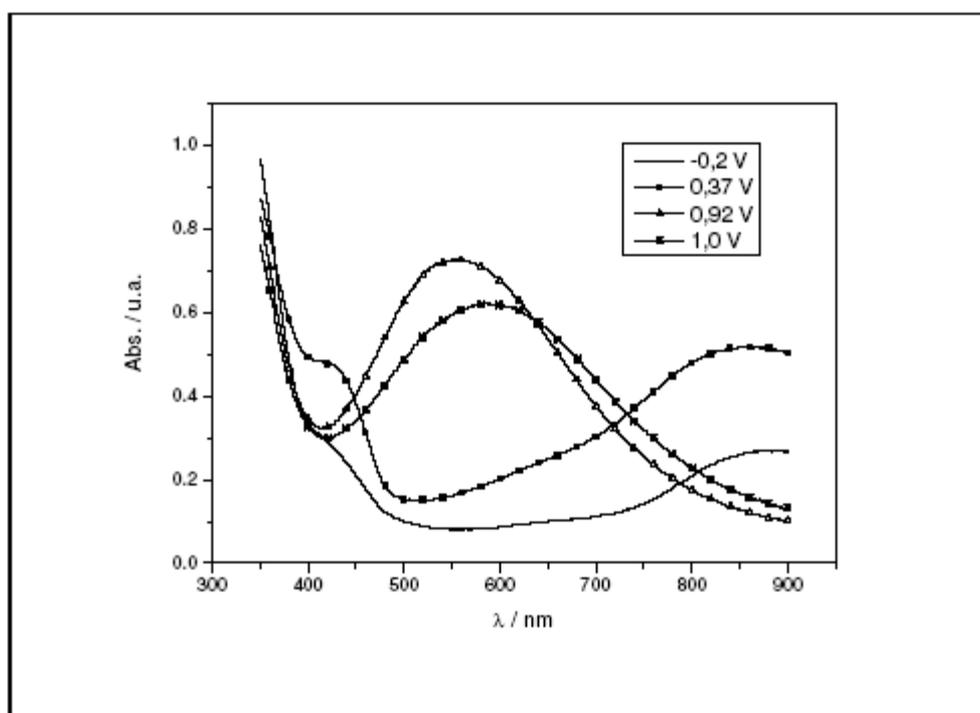


Figura 10 – Espectros de absorção no UV/visível para o filme de PANi/EPS sintetizado eletroquimicamente e, polarizado em diferentes potenciais.

Os dois filmes apresentaram um comportamento semelhante em quase todo o intervalo de comprimento de onda e potencial investigados, diferindo na intensidade de absorção e na região do UV entre 550 e 750 nm quando o eletrodo foi polarizado em 0,37 V, como representado na Figura 11.

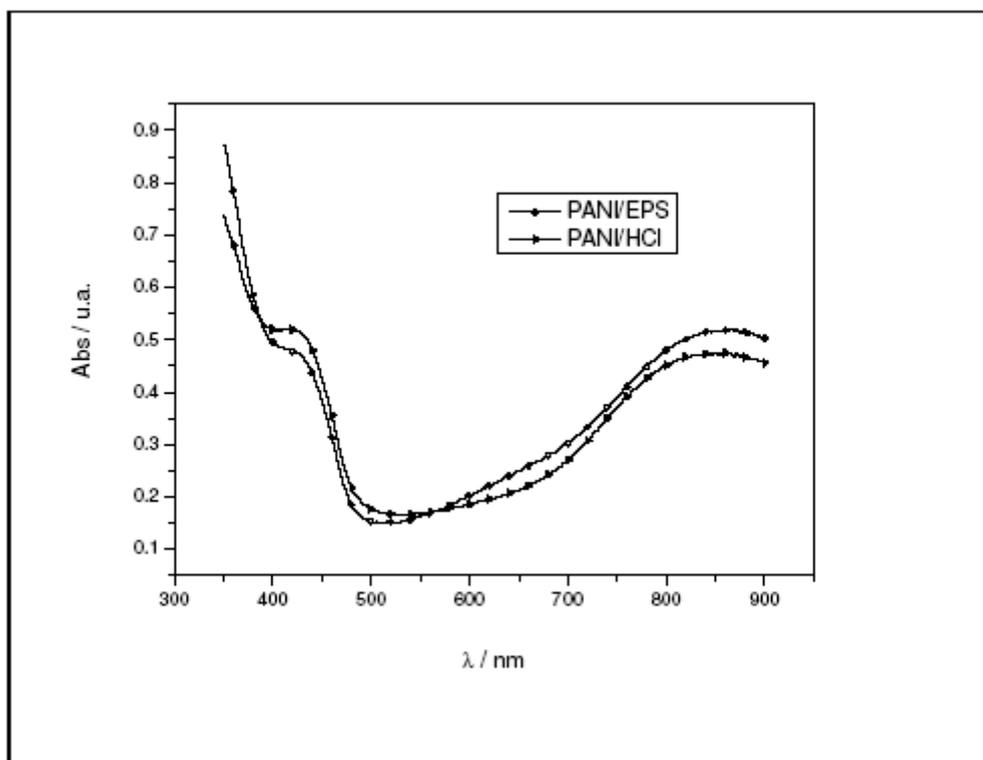


Figura 11 – Espectros de absorção no UV/visível para os filmes de PANi e PANi/EPS sintetizados eletroquimicamente e, polarizados em 0,37 V.

Embora a absorção da PANi seja mais intensa na região entre 620 e 900 nm (Figura 11), comparando os espectros, verifica-se nitidamente que o filme de PANi/EPS apresenta uma absorção mais intensa na região do band-gap da PANi (300 a 330). Segundo a Lei de Beer, definida pela equação 1, a intensidade de absorção depende da quantidade de material presente na amostra, onde A é a absorvância, ε é a absortividade, b é o caminho ótico percorrido pela irradiação no meio absorvente e c é a concentração analítica.

$$A = \varepsilon bc \quad (1)$$

Uma vez que, os filmes de PANi e PANi/EPS foram preparados

exatamente nas mesmas condições, utilizando-se a mesma carga de deposição, os seus espectros deveriam ter a mesma absorvância. No entanto, a absorção do filme de PANi foi inferior ao do composto PANi/EPS, entre 300 e 350 nm, indicando uma perda de irradiação por reflexão. A estrutura do polissacarídeo permite que a luz penetre mais no filme permitindo que esta seja absorvida por uma concentração maior da polianilina, em relação ao filme de PANi sintetizado diretamente sobre o eletrodo de trabalho.

A intensa banda de absorção localizada em ambos os espectros em 350 nm (4,13 eV) está associada a transição $\pi \rightarrow \pi^*$ de orbitais ligantes localizados no topo da banda de valência para orbitais anti-ligantes localizados no topo da banda de condução. Essa energia de transição corresponde, portanto, ao *band-gap* da PANi.

No estado reduzido (-0,2 V) observa-se uma banda em 450 nm (2,82 eV) e uma banda de baixa intensidade na região de 850 nm (1,46 eV). A medida que a amostra é oxidada observa-se um aumento da absorção em 440 nm, diminuindo a partir desse potencial. Essa absorção é atribuída à presença de cátions radicais (polarons), provenientes da oxidação da PANi (GENIÈS, 1987).

Parte desses cátions radicais oxida-se a dicátions (bipolarons). A absorvância nesse comprimento de onda pode ser atribuída, principalmente, à transição do cátion radical (HN-NH⁺), entre o nível ligante do polaron para a banda de condução. A banda larga na região de 800 nm aumenta de intensidade e se desloca para regiões de mais alta energia, com o aumento do potencial. Segundo Geniès *et al.*, (GENIÈS, 1987) nesse comprimento de onda ocorre a promoção de um elétron da banda de valência para o nível ligante polaron- bipolaron.

5.2 FILMES AUTOMONTADOS

Um dos primeiros parâmetros experimentais a serem obtidos é o tempo ideal de imersão do eletrodo nas soluções de montagem, para tanto, vários eletrodos foram modificados com uma bicamada, de acordo com um similar procedimento ao descrito no item 4.5 (Figura 07), onde o tempo de imersão na solução contendo polianilina foi mantido constante e igual a 5 minutos, em seguida

foi utilizado diferentes tempos de imersão na solução contendo o EPS, em 5, 10 e 15 minutos. Na seqüência o filme era lavado e reintroduzido na solução contendo PANI e deixado por diferentes tempos, entre 0,5 e 15 minutos. Para cada filme obtido foi obtido o espectro de absorção no visível, cujos resultados são mostrados na Figura 12.

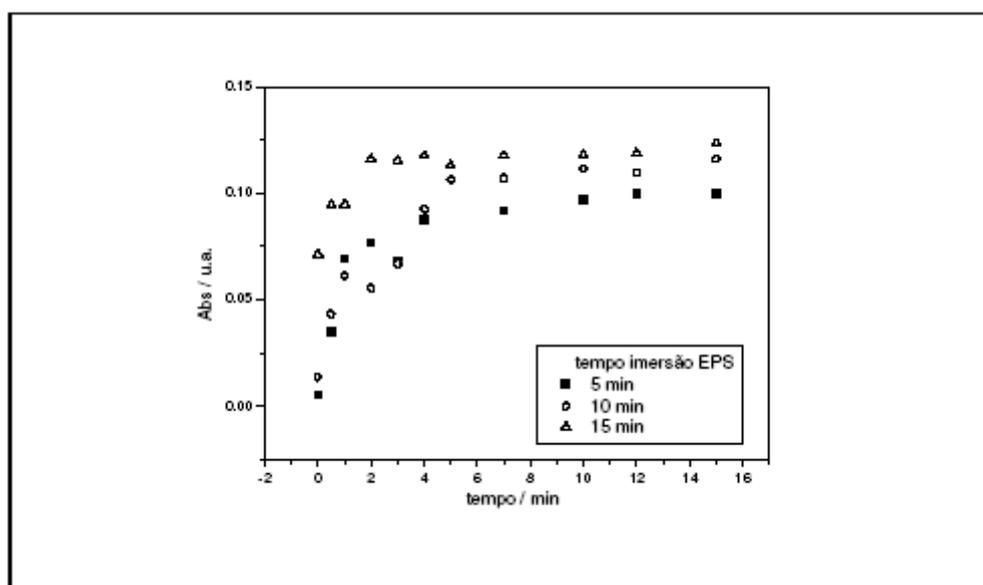


Figura 12 – Valores para a absorbância em 880 nm referentes aos espectros “ex-situ” dos eletrodos modificados com PANI e EPS variando-se o tempo de imersão em EPS e na segunda camada de PANI.

A partir da Figura 12 pode ser observado que para os filmes imersos atingem um valor máximo de absorbância após 4 minutos de imersão em solução contendo PANI, porém os filmes que apresentaram maior valor na absorção foram aqueles imersos por 15 minutos em solução contendo o EPS, assim como foi determinado que os filmes seriam realizados por diversas bicamadas pela imersão em solução contendo PANI por 5 minutos e na solução contendo o EPS por 15 minutos.

Os filmes de polianilina e o polissacarídeo botriosferana foram crescidos pela técnica de automontagem, como especificado anteriormente, e acompanhados por espectroscopia UV vis, para verificar a quantidade depositada. De acordo com os resultados obtidos para os espectros de UV-Vis e conforme mostrado na figura 13 (A) observa-se o crescimento seqüencial de 30 bicamadas de

PAni/EPS depositadas sobre o substrato de FTO. Um aumento da absorvância em comprimentos de onda próximos a 300, 420 e 780 nm é observado conforme o aumento do número de bicamadas depositadas no substrato. A banda próxima a 300 nm pode ser atribuída a uma transição $\pi \rightarrow \pi^*$ centrada no anel benzóico (transição interbanda) e a banda observada próxima a 800 nm é devido a incorporação de dopante, uma vez que no pH 2,0 a PAni encontra-se parcialmente dopada (BIDEZ et. al., 2006). A banda observada em 420 nm pode ser atribuída à formação de pólarons (RAM et. al., 1999). A absorvância aumenta gradualmente com o acréscimo do número de camadas. A Figura 13 B, indica aumento na absorvância em 420 nm linear com o número de bicamadas depositadas, revelando a uniformidade na deposição e indicando que não há um limite para a deposição nas camadas investigadas. Um filme de 15 monocamadas de PAni foi sintetizado para comparação com crescimento do filme PAni/EPS também crescido com 15 bicamadas, Figura 13 (C), pode-se observar que o crescimento das bicamadas do filme PAni/EPS é mais significativo. O aumento da absorvância na região próxima ao comprimento de onda de 720nm se deve à adsorção do EPS ao filme, conforme mostrado na figura 13 (C).

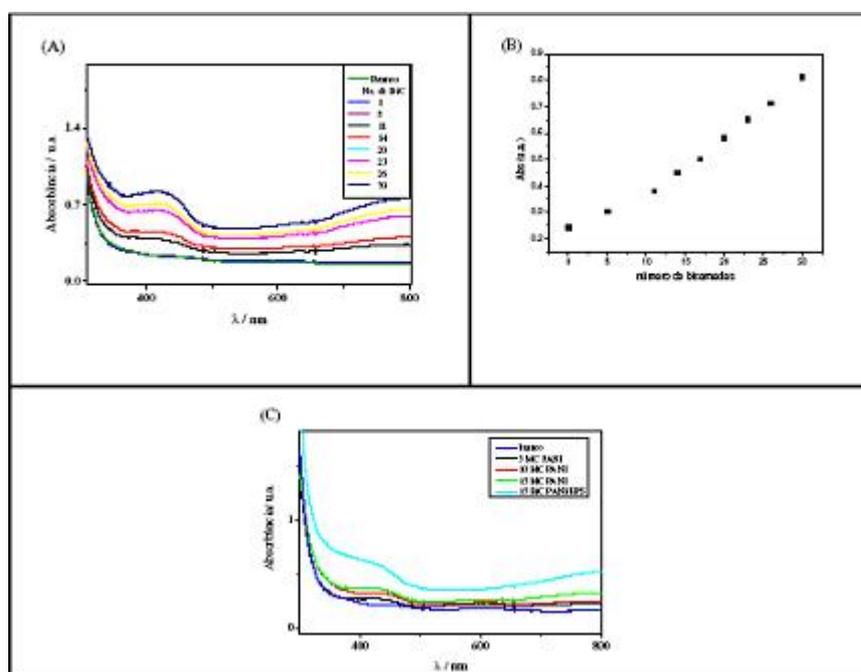


Figura 13 – Espectros na região do UV-vis para diferentes filmes crescidos por LBL: (A) Bicamadas (BiC) de PAni/EPS (B) Absorbância na região de 420 nm indicando a deposição do filme de PAni e, (C) Monocamadas de PAni em comparação a um filme de PAni/EPS crescido com 15 bicamadas.

Os resultados dos voltamogramas cíclicos de resposta dos filmes LBL PANi/EPS, para variação das bicamadas (1, 5, 10, 15, 20, 30) em HCl 0,5 mol L⁻¹ a 50 mV s⁻¹, Figura 14 (A), mostram os dois processos redox característicos da PANi (MATTOSO, 1996). É possível observar que conforme aumento de bicamadas depositadas no filme há um aumento da corrente dos picos de oxidação e redução. Observa-se ainda, um deslocamento no potencial de pico de oxidação quando aumenta-se o número de bicamadas. Este deslocamento pode estar associado ao aumento de estados pólaron/bipólaron, com o acréscimo no número de bicamadas (RAM et. al., 1999). Um voltamograma cíclico comparativo do filme LBL de PANi/EPS e um filme de PANi, ambos crescidos com 15 bicamadas e 15 monocamadas respectivamente, é mostrado na Figura 14 (B), através destes voltamogramas é possível verificar a diferença no potencial redox dos picos. O filme de PANi/EPS apresenta um aumento de corrente maior que o filme PANi sem o EPS, no primeiro pico oxidação, porém o mesmo efeito não é notado no segundo pico de oxidação, apenas um deslocamento para potenciais menos positivos. Tais observações estão associadas à interação do polímero condutor com o polissacarídeo.

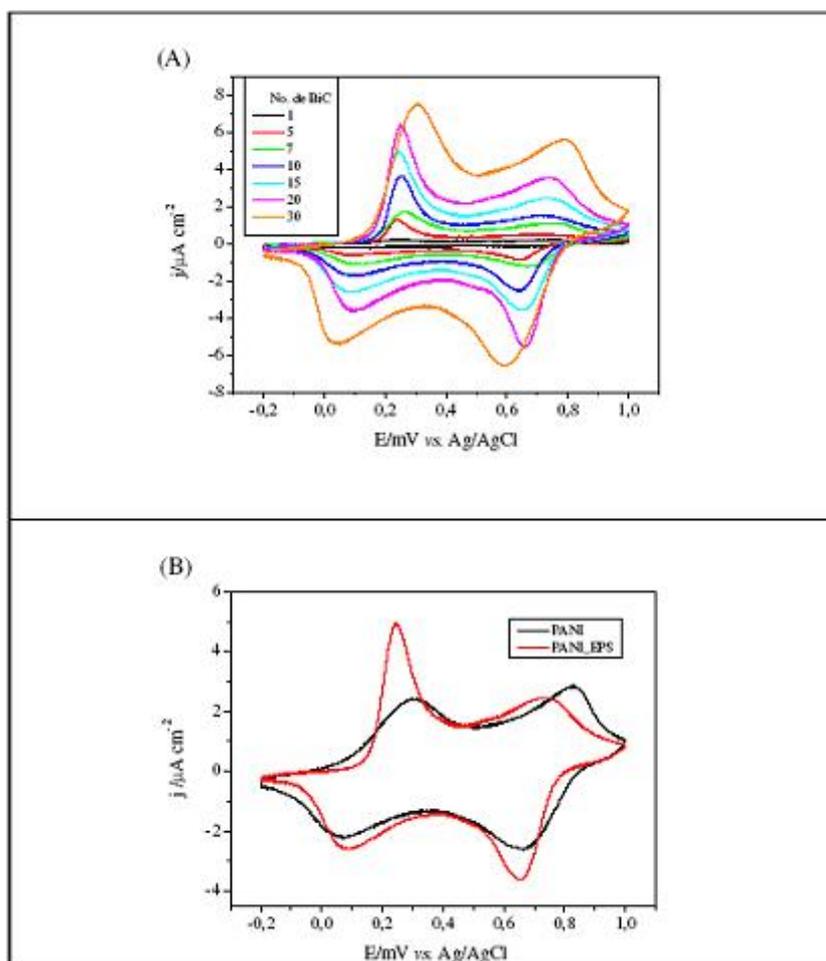


Figura 14 – Voltamogramas cíclicos em eletrólito de HCl 0,5M para diferentes filmes crescidos por LBL: (A) Bicamadas (BiC) de PANi/EPs ; e, (B) 15 Monocamadas de PANi em comparação a um filme de PANi/EPs crescido com 15 bicamadas.

A figura 15 apresenta o espectro de infravermelho de pastilhas de PANi em KBr e EPs em KBr. Para o espectro obtido para a PANi em KBr, os picos em 1715 e 1590 cm^{-1} podem ser atribuídos a ligação C=N aromática (quinoídico) da base esmeraldina da polianilina. A forte banda observada a 1325 cm^{-1} pode ser conferida a combinação de estiramentos e bendings presentes nas ligações C=N. A banda em 874 cm^{-1} pode ser devida ao estiramento C-H da base esmeraldina (RAM; MALHOTRA, 1996). Para o espectro do EPs em pastilha de KBr observa-se as bandas em 912 e 1370 cm^{-1} característica de glucanas com ligações β -glicosídicas e aquelas em 1160 , 1090 e 1040 cm^{-1} devido a presença de (1,3)-di-O-substituído de resíduos de glicose (BARBOSA et. al., 2003).

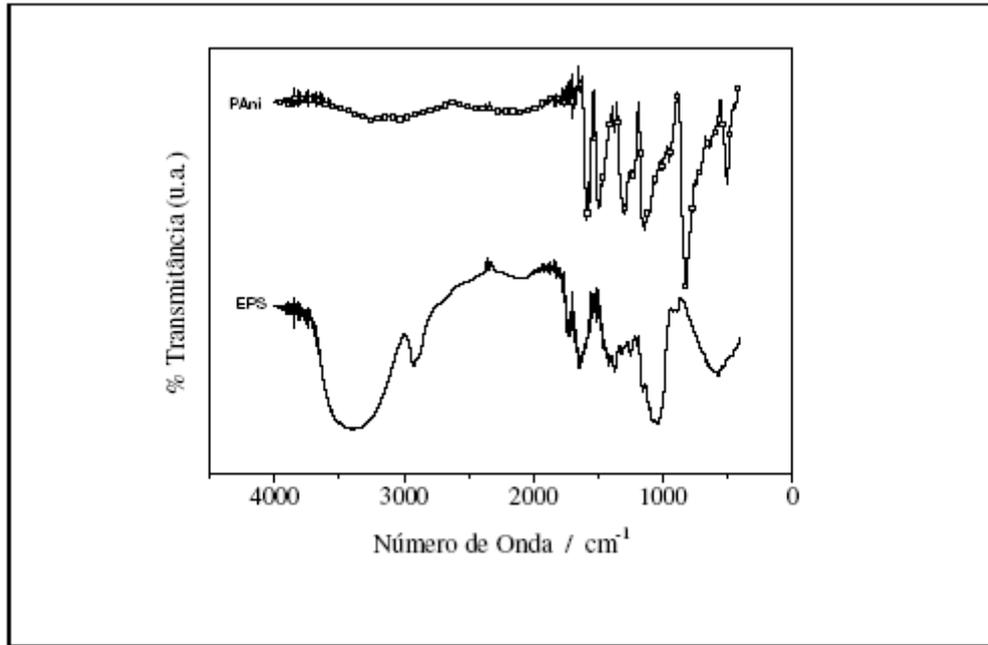


Figura 15 – Espectros de FTIR de PANi em KBr e EPS em KBr.

A Figura 16 apresenta espectroscopia de infravermelho do filme de PANi/EPS com 30 bicamadas, filme de EPS com 30 camadas e filme de PANi com 30 camadas.

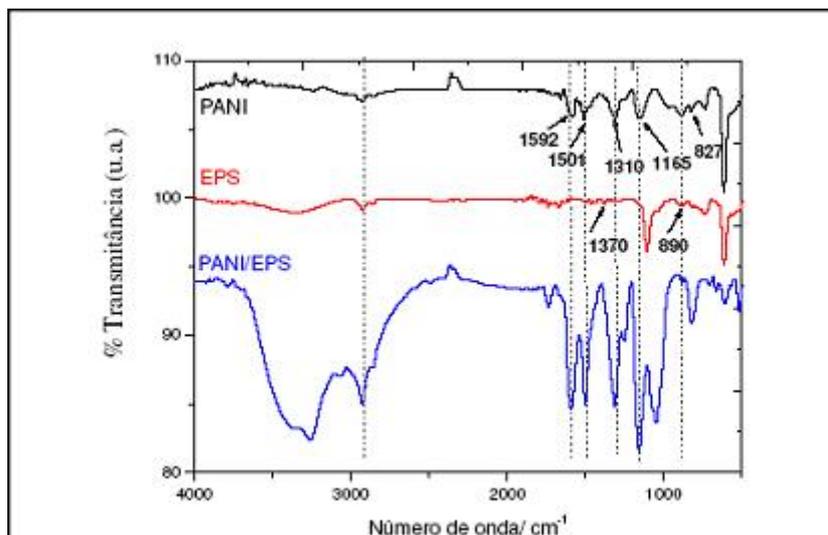


Figura 16 – Espectros de FTIR: filme PANi/EPS 30 bicamadas, PANi 30camadas e EPS 30 camadas.

Através do espectro figura 16, visualizamos as bandas características PANi base esmeraldina com proposto por Louarn e colaboradores (LOUARN et. al., 1996): em 1592 cm^{-1} pode ser conferida ao estiramento C-C do anel benzenico; em 1501 cm^{-1} denota o estiramento C=C do anel quinona; uma deformação do anel pode ser notada em 1320 cm^{-1} ; Em 1165 pode ser percebido bending referente a C-H do anel benzenico e em 827 cm^{-1} é atribuído a deformação da amina.

Através deste espectro também é possível visualizar bandas características do EPS: em 890 cm^{-1} é atribuído a uma banda de absorção típica de estiramento e dobramento de ligação do tipo $(1\rightarrow3) - \beta$ - glucanas, e em 1370 cm^{-1} banda de estiramento e vibração de ligação do tipo β -glucanas em polissacarídeos de cadeias longas contendo carbonos anoméricos (BARBOSA et al., 2003). Através do espectro de infravermelho do filme de PANi/EPS é possível a visualização de bandas características tanto do EPS quanto da PANi, revelando que no filme há a incorporação de EPS na matriz polimérica de PANi.

CONCLUSÃO

A eletrossíntese da polianilina em meio contendo o polissacarídeo botriosferana, promove a incorporação do mesmo na matriz polimérica modificando as propriedades eletrônicas e óticas de tais filmes formados.

O depósito das diferentes bicamadas foi acompanhado pela espectroscopia UV-vis, sendo que a absorvância aumenta gradualmente com o acréscimo do número de camadas revelando a uniformidade na deposição. Os resultados dos voltamogramas cíclicos de resposta dos filmes PANI/EPS mostraram dois processos redox característicos da PANI. Observa-se ainda, um deslocamento no potencial de pico de oxidação quando se aumenta o número de bicamadas. Este deslocamento pode estar associado ao aumento de estados pólaron/bipólaron, com o acréscimo no número de bicamadas. O filme de PANI/EPS apresenta um aumento de corrente maior que o filme PANI sem o EPS, no primeiro pico oxidação, e ainda verifica-se um deslocamento para potenciais menos positivos. Tais evidências confirmam a interação do polímero condutor com o polissacarídeo. Em comparação com os filmes eletrossintetizados, o comportamento voltamétrico é bastante diferente indicando que os filmes de polianilina/EPS automontados diferem daqueles eletrossintetizados.

Com base nos experimentos discutidos no trabalho, podemos perceber que é possível a síntese do filme de compósito de PANi/ EPS através da técnica de *layer-by-layer*. Com o estudo de sua caracterização ficou constatado seu bom crescimento, bem como a associação do polímero ao exopolissacarídeo. Podemos observar através das voltametrias cíclicas uma acentuada eletroatividade caracterizada pela injeção e ejeção de elétrons e íons no interior da matriz polimérica muito característica da PANi cujo no estudo não perdeu sua propriedade quando foi crescida com o EPS.

REFERÊNCIAS

ALOCILJA, E. C., TAHIR, Z. M., GROOMS, D. L. Polyaniline synthesis and its biosensor application. **Biosensors & Bioelectronics**, v. 20, p. 1690-1695, 2005.

ANDREATTA, A., HEEGER, A. J., SMITH, P. Electrically conductive polyblend fibres of polyaniline and poly-(p-phenylene terephthalamide). **Polymer Comm.** v. 31, p. 275-278, 1990.

BARBOSA, A. M., DEKKER, R. F. H., KURTBÖKE, I., HARDY, G. E. In vivo decolourisation of Poly R-478 as a method for screening ligninolytic microorganisms for use in bioremediation. In **Proceedings of the fourth Pacific Rim Biotechnology Conference**, Melbourne, Australia, 6-9 Feb., p. 88-90, 1995.

BARBOSA, A. M., DEKKER, R. F. H., HARDY, G. E. Veratryl alcohol as an inducer of laccase by an ascomycete, *Botryosphaeria* sp., when screened on the polymeric dye Poly R-478. **Letters in Applied Microbiology**, v. 23, p. 93-96, 1996.

BARBOSA, A. M., STELUTI, R. M., DEKKER, R. F.H., CARDOSO, M. S, CORRADI DA SILVA, M.L. Structural characterization of Botryosphaeran: a (1→3;1→6)-β-D-glucan produced by the ascomyceteous fungus, *Botryosphaeria* sp. **Carbohydrate Research**, v 338, p 1691-1698, 2003.

BARBOSA, A. M., CUNHA, P. D. T., PIGATTO, M. M., CORRADI da SILVA, M. L. Produção e Aplicações de Exopolissacarídeos Fúngicos. **Semina**, v.25, n.1, p. 29-42, 2004.

BIDEZ, P. R., LI, S.X., MacDIARMID, A.G., VENANCIO, E.C., WEI, Y., LELKES, P.I. "Polyaniline, an electroactive polymer, supports adhesion and proliferation of cardiac myoblasts". **Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition**, v.17 (1-2), p.199-212, 2006.

CHIANG, C. K., FINCHER, C. R., PARK, Y. W., HEEGER, A. J., SHIRAKAWA, H., LOUIS, E. J., GRAU, S., MacDIARMID, A. G. Electrical conductivity in doped polyacetylene. **Physical Review Letters**, v. 39, p.1098-1101, 1977.

COLLIER, J.H., CAMP, J.P., HUDSON, T.W., SCHMID, C.E. Synthesis and characterization of polypyrrole/hyaluronic acid composite biomaterials for tissue engineering applications. **J. Biomed. Mater**, v.50, p. 574, 2000.

CROGNALE, S., BRUNO, M., FIDALEO, M., PETRUCCIOLI, M. Production of β -glucan and related glucan-hydrolases by *Botryosphaeria rhodina*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, p. 860-871, 2007.

CUNHA, P.D.T. Produção de exopolissacarídeos fúngicos e suas aplicações. 2002. 36p. **Monografia**. Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

DECHER, G., HONG, J. D., Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process, I. Consecutive adsorption of anionic and cationic bipolar amphiphiles. **Makromol. Chem., Macromol. Symp.**, v. 46, p. 321-327, 1991.

DECHER, G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites, **Science**, v. 277, p. 1232-1237, 1997.

DEKKER, R. F. H., BARBOSA, A. M. The effects of aeration on veratryl alcohol on the production of two laccases by the ascomycete *Botryosphaeria sp.* **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, p. 81-88, 2001.

DEKKER, R. F. H., VASCONCELOS, A. – F.D., BARBOSA, A. M., GIESE, E. C., PACCOLA - MEIRELLES, L. A new role for veratryl alcohol: Regulation of synthesis of lignocellulose-degrading enzymes in the ligninolytic ascomyceteous fungus, *Botryosphaeria sp.*; influence of carbon source. **Biotechnology Letters**, v.23, p. 1987-1993, 2001.

FAEZ, R., REIS, C., SCANDIUCCI, P., KOSIMA, O.; RUGGERI, G.; PAOLI, M. Polímeros Condutores. **QUÍMICA NOVA NA ESCOLA**, n.11, p.13-18, 2000.

FARIA, R. M., MATTOSO, L. H. C., FERREIRA, M. , OLIVEIRA JR., O. N., GONÇALVES, D., BULHÕES, L. O. S., Chloroform-soluble poly(*o*-methoxyaniline) for ultra-thin film fabrication. **Thin Solid Films**, v. 221, p. 5-8, 1992.

GARCIA, J.E., VILAS-BOAS, L. A., DEKKER, R. F. H., FUNGARO, M. H. P., BARBOSA, A. M. **GenBank**: 29 Apr., Accession Number: AY612337, 2004.

GENIÈS, E.M., LAPKOWSKI, M., Spectroelectrochemical study of polyaniline versus potential in the equilibrium state, **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 220, p.67-82, 1987.

GIESE, E.C., BARBOSA, A. M., CORRADI DA SILVA, M.L. Glucanases Fúngicas. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, ed. 30, p. 97- 103, 2003.

GIZDAVIC-NIKOLAIDIS, M., TRAVAS-SEJDIC, J, KILMARTIN, P. A., BOWMAKER, G. A., COONEY, R. P. Evaluation of antioxidant activity of aniline and polyaniline. **Current Applied Physics**, v. 4, p. 343-346, 2004.

GLAZER, A. N., NIKAIDO, H., Microbial Polyssacharides and Polyesters. In: _____ **Microbial Biotechnology**: fundamentals of applied microbiology. New York: W. H. Freeman, p. 265-272, 1995.

GREGORY, R. V., KIMBRELL, W. C., KUHN, R. H. Conductive Textiles. **Synthetic Metals**, v. 28, p. C823-C835, 1989.

GUTIÉRREZ, A., PIETRO, A., MARTINEZ, A. T. Structural characterization of extracellular polysacharides produced by fungi from the genus *Pleurotus*. **Carbohydrate Research**, v. 281, p. 143-154, 1996.

HEEGER A.J. Polyaniline with Surfactant Coumenions: Conducting Polymer Materials Which are Processible in the Conducting Form. **Synthetic Metals**, v. 55-57, p. 3471-3482, 1993.

JIU, Y., ZHANG, L., CHEN, L., CHEN, Y., CHEUNG, P. C., CHEN, L. Effect of culture media on the chemical and physical characteristics of polysaccharides isolated from *Poria cocos* mycelia. **Carbohidrate Research**, v. 338, p. 1507-1515, 2003.

JOSÉ, N. M., PRADO, L. A. S. Materiais híbridos orgânico-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p. 281-288, 2005.

KANETO, K., KANEKO, M., MIN, Y., MaCDIARMID, A. G. "Artificial muscle": Electromechanical actuators using polyaniline films. **Synthetic Metals** n. 71, p.2211-2212, 1995.

KILMARTIN, P., GIZDAVIC-NIKOLAIDIS, M., TRAVAS-SEJDIC, J., BOWMAKER, G., COONEY, R., THOMPSON, C. The antioxidant activity of conducting polymers in biomedical applications. **Current Applied Physics**, v 4, p. 347-350, 2004.

KIM, S. W., XU, C. P., HWANG, H. J., CHOI, J. W., KIM, C. W., YUN, J. W. Production and characterization of exopolysaccharides from an entomopathogenic fungus *Cordyceps militaris* NG3. **Biotechnology Progress**, v. 19, p. 428-435, 2003.

LOUARN, G., LAPKOWSKI, M., QUILLARD, S., PRON, A., BUISSON, J. P., LEFRANT, S. Vibrational Properties of Polyaniline – Isotope Effects. **J. Phys. Chem.**, n. 100, p. 6998-7006, 1996.

LVOV, Y., ARIGA, K., ICHINOSE, I., KUNITAKE, T., Molecular film assembly via *layer-by-layer* adsorption of oppositely charged macromolecules (linear polymer, protein and clay) and concanavalin A and glycogen. **Thin Solid Films**, v. 284, p.797, 1996.

MAIA, J. D., DE PAOLI, M., ALVES, O. L., ZARBIN, A. J. G., NEVES, S. Síntese de polímeros condutores em matrizes sólidas hospedeiras. **Química Nova**, v. 23, n. 2, p. 204-215, 2000.

MACDIARMID, A. G., CHIANG, J. C., RICHTER, A. F., EPSTEIN, A. J. Polyaniline: A new concept in conducting polymers. **Synthetic Metals**. V. 18, n. 1-3, p. 285-290. 1987.

MaCDIARMID, A.G., EPSTEIN, A. J., Proceedings of the first Conference on Frontiers of **Polymer Research**, India: 1991.

MATTOSO, L. H., FARIA, R. M., BULHÕES, L. O. S., MaCDIARMID, A. G. Influence of electropolymerization conditions on the molecular weight of polyaniline. **Polymer**, v. 35, p. 5104, 1994a.

MATTOSO, L. H., FARIA, R. M., BULHÕES, L. O. S., MaCDIARMID, A. G. Synthesis, doping, and processing of high molecular weight poly(o-methoxyaniline). **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 32, p. 2147, 1994b.

MATTOSO, L. H. Polianilinas: síntese, estrutura e propriedades. **Química Nova**, v19, n. 4, p. 388-399, 1996.

MATTOSO, L. H., PATERNO, L. G., OLIVERIRA Jr. N. O. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. **Quim. Nova**, v. 24, n. 2, p. 228-235, 2001.

MATTOSO, L. H. C., MEDEIROS, E. S., PATERNO, L. G., Fabricação de Filmes Nanoestruturados com Técnica de Automontagem. In: DURÁN, N., MATTOSO, L. H. C., MORAIS, P. C. **Nanotecnologia: introdução, preparação e caracterização de nanomateriais e exemplos de aplicação**. 1ª ed. São Paulo: Artliber Editora, p. 59-81,2006.

MAZIERO, R., CAVAZZONI, V., BONONI, V. L. R. Screening of *Basidiomycetes* for the production of exopolysaccharide and biomass in submerged culture. **Revista de Microbiologia**, v. 30, p. 77-84, 1999.

MORRIS, E. R. Molecular interactions in polysaccharide gelation. **British Polymer Journal**, v. 18, n.1, 1986.

MURRAY, R. W., "Techniques of Chemistry – Molecular Design of Electrodes Surfaces"; **J. Wiley & Sons Inc.**, N. York, vol. 22, cap. IX, 1992.

PONTES, R. S., RAPOSO, M., CAMILO, C. S., DHANABALAN, A., FERREIRA, M., OLIVEIRA JR., O. N. Non-Equilibrium Adsorbed Polymer Layers via Hydrogen Bonding. **Physica Status Solidi A**, v. 173, p. 41, 1999.

RAM, M. K., SALERNO, M., ADAMI, M., FARACI, P., NICOLINI, C. "Physical properties of polyaniline films: Assembled by the layer-by-layer technique". **Langmuir**, v.15 (4), p.1252-1259, 1999.

RAM, M. K., MALHOTRA, B. D. Preparation and characterization of Langmuir - Blodgett films of polyemeraldine base. **Polymer**, v.37 (21), p.4809-4813, 1996.

ROBERTS, R. F., KIMMEL, S. A., ZIEGLER, G. R. Optimization of Exopolisaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* RR Grown in a Semidefined Medium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 2, p.659-664, 1998.

ROVER, L. J., OLIVEIRA, G., KUBOTA, L. Transdutores potenciométricos a base de polímeros condutores: aplicações analíticas. **Química Nova**, v 20, n. 54, p.519-527, 1997.

RUJIRAVANIT, R., JAMIESON, A. M., SIRIVAT, A., THANPITCHA, T. Preparation and characterization of polyaniline/chitosan blend film. **Carbohydrate Polymers**, v.64, p. 560-568, 2006.

SAGIV, J. Organized Monolayers by Adsorption, I . Formation and Structure of Oleophobic Mixed Monolayers on Solid Surfaces. **Journal of the American Chemical Society** , v. 102, p 92, 1980.

SCHMID, F., STONE, B. A., McDOUGALL, B. M., BACIC, A., MARTIN, K. L., BROWNLEE, R. T. C., et al. Structure of epiglucan, a highly side-chain/branched (1→3; 1→6)-β-D- glucan from the micro fungus *Epicocum nigrum* Ehrenb. ex Schlecht. **Carbohydrate Research**, v. 331, p. 163-171, 2001.

SHIRAKAWA, H., IKEDA, S. Infrared Spectra of Poly(acetylene) **Polymer**, v.2, p.231, 1971.

SHIRAKAWA, H., IKEDA, S. Cyclotrimerization of acetylene by the tris(acetylacetonato)titanium(III)-diethylaluminum chloride system. **Jounal Polymer Science**, v. 12, p. 929, 1974.

SHIRAKAWA, H., LOUIS, E. J., MACDIARMID, A. G., CHIANG, C. K., HEEGER, A. J. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)_x. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, p. 578, 1977.

STELUTI, R. M., GIESE, E. C., PIGGATO, M. M., SUMIYA, A. F.G., COVIZZI, L. G., JOB, A. E., CARDOSO, M. S., CORRADI DA SILVA, M. L., DEKKER, R. F.H., BARBOSA, A. M. Comparison of Botryosphaeran production by the ascomyceteous fungus *Botryosphaeria* sp., grown on different carbohydrate carbon sources, and their partial structural features, **Jounal of Basic Microbiology** v 44, n. 6, p. 480–486, 2004.

STOCKTON, W.B., RUBNER, M. F., Molecular-Level Processing of Conjugated Polymers. 4. Layer-by-Layer Manipulation of Polyaniline via Hydrogen-Bonding Interactions. **Macromolecules**, v. 30, p. 2717, 1997.

SUTHERLAND, J. W. Novel and established applications of microbial polysaccharides. **Trends in Biotechnology**, v 16, p. 41-46, 1998.

ULMAN, A. An introduction to ultrathin films: from Langmuir-Blodgett to self-assembly. 1^a ed. Bonston: **Academic Press**, p. 440, 1991.

VETVICKA, V., YVIN, J.-C. Effects of marine β-1,3 glucan on immune reactions. **International Immunopharmacology**, v. 4, p. 721-730, 2004.

YANG, F-C., LIAU, G-B. The influence of environmental conditions on polysaccharide formation by *Ganoderma lucidum* in submerged cultures. **Process Biochemistry**, v. 33, p. 547-553, 1998.

WANG, C. H., DONG, Y. Q., SENGOTHI, K., TAN, K. L., KANG, E. T. *In vivo* tissue response to polyaniline. **Synthetic Metals**, v. 102, p. 1313-1314, 1999.

ZHANG, L., YANG, L., DING, Q., CHEN, X. Studies on molecular weights of polysaccharides of *Auricularia auricular-judae*. **Carbohydrate Research**, v. 270, p.1-10, 1995.

ZHENG, W., ANGELOPOULOS, M., EPSTEIN, A. J., MACDIARMID, A. G., Experimental Evidence for Hydrogen Bonding in Polyaniline: Mechanism of Aggregate Formation and Dependency on Oxidation State. **Macromolecules**, v.30, p. 2953 -2955, 1997.