



Filipa Pereira Belo

Licenciatura em Ciências da Engenharia Biomédica

Biobaterias de nanofibras celulósicas usando glucose como eletrólito para aplicações médicas

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Ana Baptista, Investigadora de Pós-Doutoramento, FCT-UNL
Co-orientador: Isabel Ferreira, Professora Associada, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Célia Maria Reis Henriques
Arguente: Doutora Joana Filipa Quintino Loureiro
Vogal: Doutora Ana Catarina Bernardino Baptista



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Novembro de 2015

Filipa Pereira Belo

Licenciatura em Ciências da Engenharia Biomédica

*Biobaterias de nanofibras celulósicas usando
glucose como eletrólito para aplicações médicas*

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientadora: Ana Baptista, Investigadora de Pós-Doutoramento, Departamento de Ciência dos Materiais da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Isabel Ferreira, Professora Associada, Departamento de Ciência dos Materiais da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Biobaterias de nanofibras celulósicas usando glucose como eletrólito para aplicações médicas

Copyright © Filipa Pereira Belo, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*“O sacrifício, o trabalho e o empenho de hoje
são a felicidade e a realização de amanhã.”*

Maria da Conceição Nogueira (mãe)

Agradecimentos

O trabalho aqui apresentado é o resultado de todo o apoio e carinho que recebi dos professores que me acompanharam, dos meus amigos e da minha família. Sem vocês esta jornada não teria tido o mesmo gosto.

Primeiramente gostaria de agradecer à Doutora Ana Baptista e à Professora Doutora Isabel Ferreira por toda a ajuda que me proporcionaram, pelo incentivo e por tudo o que me ensinaram. À Doutora Ana Baptista um grande bem-haja também por toda a preocupação, amizade e paciência que sempre teve comigo e pela vontade partilhada de conseguir levar a cabo este projeto. Muito obrigada à Professora Doutora Isabel Ferreira por toda a disponibilidade e simpatia e por me mostrar que a investigação não é apenas feita de bons resultados e sim de perseverança e coragem. Agradeço também ao Professor Doutor João Paulo Borges pelo acompanhamento do meu trabalho, pela ajuda e partilha de ideias.

Muito obrigada ao Paulo Duarte e à Catarina Bianchi por sempre se disponibilizarem para me auxiliar e pelo incentivo.

À Ana Sardinha por estar presente sempre com otimismo e alegria. À Ana Filipa Esteves e à Catarina Castro muito obrigada pela ajuda e pelo apoio. Desejo muita sorte para o fim deste vosso percurso, que tudo vos corra pelo melhor.

Aos meus queridos colegas do laboratório, André Lúcio, Susana Oliveira, Susana Marques e Tomás Correia, que mais do que colegas, são agora meus amigos, um muito obrigada pelas risadas, pelos desabafos e pelo apoio. Sem vocês as vitórias não teriam sido tão bem festejadas e as deceções não teriam sido tão bem ultrapassadas. Melhor do que o que eu procurava foi quem eu encontrei nesta aventura.

Um agradecimento muito especial à Inês Ropio, por toda a ajuda, carinho e apoio moral que me deu e pela paciência que teve comigo.

Aos meus amigos do curso, principalmente à Ana Lúcia Castro, à Diana Machado, ao Filipe Aleixo, ao Flávio Rocha e ao Leonardo Martins por me terem acompanhado nesta fase e por todo o apoio que me deram. Estou a torcer por vocês. À Ana Lúcia obrigada também pelas crises partilhadas e pelo apoio e palavras reconfortantes que me deu e ao Flávio pela motivação e entusiasmo partilhado por esta etapa.

Um bem-haja especial à Ana Patrícia Gonçalves, ao Diogo Braga, à Eduarda Silva e ao João Gomes por mesmo longe, estarem presentes na minha vida e por toda a força que me deram.

Ao Joaquim que sempre acreditou em mim e nunca me deixou baixar os braços perante as adversidades agradeço todo o apoio incondicional.

Agradeço aos meus avós por serem sempre um grande exemplo de humildade, espírito de sacrifício e força de vontade.

Aos meus queridos pais e irmão, um “obrigada” de uma dimensão difícil de expressar por palavras. Obrigada ao meu pai por todos os conselhos, preocupação e por me desafiar a querer sempre mais de mim; obrigada à minha mãe por tantos mimos que me deu e por tantas quedas minhas que amparou e ao meu irmão por todo o entusiasmo e reconhecimento que demonstrou pelo meu trabalho. Espero que estejam orgulhosos!

Resumo

Com o avanço da tecnologia inerente aos equipamentos médicos implantáveis, características como o tamanho, a independência energética e a flexibilidade têm sido melhoradas no sentido de promover uma melhor adaptação do dispositivo ao paciente.

Este trabalho teve como principal objetivo criar uma biobateria capaz de gerar energia através da degradação da glucose presente no sangue, recorrendo principalmente a estruturas poliméricas de baixo custo. Para a construção da biobateria é necessário um separador, dois eletrodos (um ânodo e um cátodo) e o eletrólito.

O separador da biobateria foi produzido através da eletrofiliação de uma solução de acetato de celulose (AC) tendo-se obtido uma membrana porosa e flexível. De seguida, foi desenvolvido e otimizado um processo de revestimento por fase de vapor de poli(3,4-etilenodioxitiofeno) (PEDOT), um polímero condutor, na superfície das fibras de acetato de celulose formando um dos eletrodos do dispositivo. Durante este processo, vários parâmetros como a concentração de agente oxidante e tempo de reação, foram estudados de modo a otimizar o revestimento e melhorar a condutividade elétrica das membranas sem comprometer a sua estrutura. Assim, conclui-se que utilizando uma concentração de 40 g/L e um tempo de reação de 2 horas, obtiveram-se membranas de AC/PEDOT com valores médios de condutividade de 6 S/cm.

Por fim, uma biobateria composta pelo eletrodo de PEDOT, uma membrana de AC (como separador) e um eletrodo comercial de ouro foi testada na presença de uma solução salina com diferentes concentrações de glucose. Este dispositivo, apresentou uma resposta elétrica distinta para cada uma das concentrações de glucose testadas atingindo-se um valor máximo de densidade de corrente de 4 mA/cm² para uma concentração de glucose de 2 g/L. Desta forma, verifica-se que a biobateria estudada apresenta um elevado potencial para a alimentação de dispositivos médicos implantáveis e deteção dos níveis de glucose.

Palavras-chave: biobateria, acetato de celulose, poli (3,4- etilenodioxitiofeno), eletrofiliação, glucose.

Abstract

With the advances of the technologies inherent to the medical implantable devices some characteristics, such as size, energetic independence and flexibility, have been improved in order to promote a better adaptation of the device to the patient.

This work aimed to create a biobattery capable of generating energy through degradation of the glucose present in blood using mainly low cost polymeric structures. For the construction of the biobattery a separator, two electrodes (an anode and a cathode), and an electrolyte are required.

The separator was made by the electrospinning of a solution of cellulose acetate (CA), resulting in a porous and flexible membrane. Then, a process of coating by vapor-phase polymerization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) (PEDOT), a conductive polymer, in the surface of the fibers produced by electrospinning was developed and optimized creating one of the device's electrode. During this process several parameters as the oxidant agent concentration and reaction time were studied in order to optimize the coating and improve the membrane's electric conductivity without compromising its structure. Thus, it was possible to conclude that the CA/PEDOT membranes obtained with an oxidant agent concentration of 40 g/L and a reaction time of 2 h displayed an average electric conductivity value of 6 S/cm.

Finally, a biobattery composed with a PEDOT electrode, a CA membrane (as the separator) and a commercial gold electrode was tested in the presence of a saline solution with different glucose concentrations. This device showed a distinct electric response for each glucose concentration tested reaching a maximum current density value of 4 mA/cm² for a glucose concentration of 2 g/L. Therefore, the biobattery demonstrate a high potencial for medical implantable devices supply and glucose level detection.

Keywords: biobattery, cellulose acetate, poly(3,4- ethylenedioxythiophene), electrospinnig, glucose.

Índice de matérias

Agradecimentos	vii
Resumo	ix
Abstract.....	xi
Índice de matérias.....	xiii
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas.....	xix
Lista de Siglas e Acrónimos	xxi
Lista de Símbolos.....	xxiii
Objetivos	xxv
1. Introdução	1
1.1. Estado da arte	1
1.2. Aplicabilidade e inovação do estudo efetuado.....	6
2. Materiais e Métodos experimentais	9
2.1. Preparação do separador	9
2.1.1. Acetato de celulose.....	9
2.1.2. Eletrofiação.....	10
2.2. Preparação do eléctrodo	13
2.2.1. Poli(3,4 - etilenodioxitiofeno) (PEDOT).....	13
2.2.2 Polimerização em fase de vapor em condições atmosféricas	14
2.3. Preparação do eletrólito	16
2.3.1. SBF	17
2.3.2. Glucose.....	17
2.4. Técnicas de caracterização	18
2.4.1. Microscopia eletrónica de transmissão (TEM)	18
2.4.2. Microscopia eletrónica de varrimento (SEM).....	19
2.4.3. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	19
2.4.4. Cristalografia por Difração de Raios-X (DRX).....	20
2.4.5. Condutividade eléctrica	21

2.4.6. Efeito de Seebeck	22
2.4.7. Voltametria cíclica	24
2.4.8. Tensão de circuito aberto.....	25
3. Apresentação e discussão de resultados	27
3.1. Otimização do processo de revestimento das membranas.....	27
3.1.1. Estudo da influência da concentração de agente oxidante na condutividade elétrica das membranas.....	27
3.1.2. Estudo da influência do tempo de polimerização na condutividade elétrica das membranas.....	33
3.2. Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier (FTIR).....	34
3.3 Cristalografia por Difração de Raios-X	36
3.4. TEM.....	37
3.5. Condutividade elétrica	37
3.6. Tensão de circuito aberto	39
3.7. Efeito de Seebeck	39
3.8. Voltametria cíclica.....	40
3.8.1. Estudo efetuado na presença de SBF	40
3.8.2. Estudo efetuado na presença de SBF combinado com várias concentrações de glucose, na proporção 1:1.....	42
4. Conclusões e perspectivas futuras.....	47
Referências bibliográficas.....	49
Anexos.....	55

Lista de Figuras

Figura 1.1 - Demonstração da flexibilidade do revestimento de polipirrol e nanotubos de carbono: a) Revestimento sobre o substrato de acetato de celulose; b) Revestimento de PPI e NTC retirado da folha de celulose. (adaptado de [2]).....	3
Figura 1.2 - Esquema do trabalho levado a cabo por Park <i>et al.</i> Em A a eletrofiação das fibras de PMMA para a solução oxidante, retiradas depois com uma lâmina (B). Após a colocação na placa de aquecimento onde ocorre a polimerização (C) as fibras são lavadas (D). (adaptado de [20])	6
Figura 2.1 – Estrutura química do acetato de celulose. (adaptado de [29])	10
Figura 2.2 - Esquema de eletrofiação. (adaptado de [30] e [34])	11
Figura 2.3 - Estrutura química do PEDOT. (adaptado de [37])	14
Figura 2.4 - A membrana de acetato de celulose é retirada do coletor e imersa na solução oxidante de FeCl ₃	15
Figura 2.5 - Depois de seca, a membrana de acetato de celulose impregnada com o agente oxidante é pendurada na tampa da câmara de vapores. A câmara contém 0,5 ml de EDOT no seu interior.	16
Figura 2.6 - Conformação cíclica da glucose. (adaptado de [52])	17
Figura 2.7 - As pontas de prova são colocadas em contacto com a cola de prata nas extremidades da amostra de forma a medir a condutividade da mesma.	22
Figura 2.8 - Quando se aplica uma diferença de temperatura nas extremidades de um material do tipo n ocorre a deslocação de cargas móveis (neste caso, negativas) da extremidade quente para a extremidade fria onde se vão acumular (adaptado de [65]).	23
Figura 2.9 - Medição do coeficiente de Seebeck usando duas células de Peltier para aplicar o gradiente de temperatura, duas pontas de prova ligadas ao nanovoltímetro e uma câmara de imagem térmica	24
Figura 2.10 - Montagem para o procedimento prático da voltametria cíclica. Em a) a montagem da biobateria com o eléctrodo de ouro, o separador e o eléctrodo de PEDOT. Em b) a célula aparafusada e os eléctrodos de trabalho e de referência ligados ao potencióstato.	25
Figura 3.1 - Condutividade eléctrica para três tempos de imersão em função da concentração de FeCl ₃ na solução oxidante para 0,5 ml de monómero (EDOT).	29

Figura 3.2 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 30 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 80 g/L.....	30
Figura 3.3 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 30 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 40 g/L.....	31
Figura 3.4 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 15 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 40 g/L.....	32
Figura 3.5 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 15 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 10 g/L.....	32
Figura 3.6 - Condutividades elétricas das membranas em função do tempo de polimerização usando 0,5 ml de EDOT. Para cada tempo de polimerização foi também analisada a influência do tempo de imersão das membranas na solução oxidante (15 e 30 minutos)...	34
Figura 3.7 - Espectro obtido através de FTIR para uma amostra de acetato de celulose.	35
Figura 3.8 - Espectro obtido através de FTIR para a amostra de acetato de celulose revestida com PEDOT.	36
Figura 3.9 - Espectro da difração de raios-X obtido para a amostra de acetato de celulose revestido com PEDOT.	36
Figura 3.10 - Imagens de TEM para a amostra obtida com os parâmetros otimizados.....	37
Figura 3.11 - Gráfico obtido para o estudo da estabilidade elétrica para três tempos.	38
Figura 3.12 - Gráfico da tensão de circuito aberto (V_{oc}) dos dois testes obtidos durante 1 hora para a biobateria em estudo, usando 0,1 ml de SBF. No equilíbrio, figura em cima de cada linha o correspondente valor de V_{oc} produzido.....	39
Figura 3.13 - Voltamogramas referentes ao 5º ciclo usando SBF como eletrólito, obtidos para várias velocidades de varrimento.	41
Figura 3.14 - Voltamogramas de vários ciclos obtidos utilizando SBF como eletrólito e uma velocidade de varrimento de 40 mV/s.	41
Figura 3.15 - Curvas obtidas para várias velocidades de varrimentos para a concentração de glucose de 0,5 g/L.	43
Figura 3.16- Curvas obtidas para a velocidade de 80mV/s para várias concentrações de glucose.	43

Figura 3.17 - Curvas obtidas para a velocidade de 40mV/s para várias concentrações de glucose.

..... 44

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 - Parâmetros usados no processo de eletrofição de fibras de AC. (adaptado de [11])	12
Tabela 2.2 - Parâmetros testados na otimização do processo de produção dos elétrodos de PEDOT.	16
Tabela 2.3 - Concentrações de glucose em solução aquosa testadas na biobateria.	17
Tabela 3.1 - Valores de condutividade elétrica obtidos para diferentes concentrações de FeCl_3 na solução oxidante e para diferentes tempos de imersão das membranas na solução, usando 0,5 ml de monómero (EDOT).	28
Tabela 3.2 - Diâmetro médio das fibras e condutividades das imagens de SEM 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, produzidas com diferentes tempos de imersão e diferentes concentrações de FeCl_3 na solução oxidante, para um tempo de polimerização de 2 horas e 0,5 ml de EDOT.	30
Tabela 3.3 - Valores de condutividade elétrica obtidos para diferentes tempos de polimerização usando 0,5 ml de monómero (EDOT) e diferentes tempos de imersão das membranas na solução oxidante com 40 g/L de concentração de FeCl_3	33
Tabela 3.4 - Evolução da perda de condutividade decorrente da degradação sofrida para duas membranas imersas em PBS durante cada um dos três tempos (7, 42 e 61 dias).	38
Tabela 3.5 - Estudos efetuados na presença de SBF como eletrólito.	40
Tabela 3.6 - Estudos efetuados usando SBF e glucose, na proporção 1:1, como eletrólito.	42
Tabela 3.7 - Densidades de corrente para os segundos picos anódico e catódico para as várias concentrações de glucose testadas.	44

Lista de Siglas e Acrónimos

AC	Acetato de Celulose
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ATR	Reflexão Total Atenuada (do inglês, <i>Attenued Total Reflection</i>)
BSA	Albumina do Soro Bovino (do inglês, <i>Bovine Serum Albumin</i>)
DMAc	Dimetilacetamida
DMC	Departamento de Ciência dos Materiais
DMF	N,N-Dimetilformamida
DRX	Difração de Raios-X
EDOT	3,4-etilenodioxitiofeno (do inglês, <i>3,4- ethylenedioxythiophene</i>)
FCT - UNL	Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa
FTIR	Espetroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GDH	Glucose Desidrogenase (do inglês, <i>Glucose Dehydrogenase</i>)
NADH	Nicotinamida Adenina-Dinucleótido (reduzida) (do inglês, <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide</i>)
NTC	Nanotubos de Carbono
NTCPMc	Nanotubos de Carbono de Parede Múltipla carboxilados
oCVD	Deposição química oxidativa por vapor (do inglês, <i>Oxidative Chemical Vapor Deposition</i>)
PAni	Polianilina
PBS	Tampão Fosfato-Salino (do inglês, <i>Phosphate Buffered Saline</i>)
PEDOT	Poli(3,4-etilenodioxitiofeno) (do inglês, <i>Poly(3,4- ethylenedioxythiophene)</i>)
PMMA	Poli(metil metacrilato)
PPi	Polipirrol

PSS	Poli(Estirenosulfonato) (do inglês, <i>Polystyrene Sulfonate</i>)
PVP	Polivinilpirrolidona
SBF	Fluido Corporal Simulado (do inglês, <i>Simulated Body Fluid</i>)
SEM	Microscopia Eletrônica de Varrimento (do inglês, <i>Scanning Electron Microscopy</i>)
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (do inglês, <i>Transmission Electron Microscopy</i>)
VPP	Polimerização em Fase de Vapor (do inglês, <i>Vapor Phase Polymerization</i>)

Lista de Símbolos

$\%$ (m/m)	Porcentagem em massa
[FeCl ₃]	Concentração de cloreto de ferro (III) (g/L)
A	Área seccional
Ag	Prata
Al	Alumínio
Cu	Cobre
$C_6H_{12}O_6$	Glucose
$C_{11}H_{21}FeO_9S_3$	p-toluenosulfonato férrico
ΔT	Gradiente de temperatura
ΔV	Diferença de potencial
$FeCl_3$	Cloreto de Ferro (III)
I	Corrente elétrica
j_{pa}	Densidade de corrente do pico anódico (mA/cm ²)
j_{pc}	Densidade de corrente do pico catódico (mA/cm ²)
L	Comprimento
R	Resistência elétrica
S	Coefficiente de Seebeck ($\mu V/K$)
t	Tempo (em minutos)
V	Tensão elétrica
V_{oc}	Tensão de circuito aberto
σ	Condutividade elétrica (S/cm)

Objetivos

O trabalho descrito na presente dissertação foi realizado no âmbito do desenvolvimento de biobaterias e teve lugar no Departamento de Ciência dos Materiais da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. Este projeto dá continuidade ao estudo realizado pela Engenheira Inês Ropio no trabalho “Biobaterias alimentadas por glucose para aplicações médicas”, com a orientação da Professora Doutora Isabel Ferreira e da Investigadora de Pós-Doutoramento Ana Baptista. No entanto, a abordagem realizada na presente tese visa sobretudo o estudo de novos materiais que compõem os elétrodos de modo a melhorar a estabilidade elétrica da biobateria.

A investigação realizada ao longo de seis meses teve como principal objetivo a otimização e caracterização de um dispositivo capaz de produzir energia a partir de reações eletroquímicas, usando como fonte energética a glucose presente nos fluídos biológicos. A aplicabilidade deste dispositivo destina-se principalmente à área da biomedicina, nomeadamente aos dispositivos médicos de baixo consumo energético.

O trabalho desenvolvido divide-se nas seguintes etapas:

- a. Produção das membranas de acetato de celulose (AC) pela técnica de eletrofição;
- b. Otimização do processo de produção dos elétrodos por polimerização em fase de vapor;
- c. Caracterização elétrica, eletroquímica, morfológica e estrutural dos elétrodos;
- d. Prova de conceito utilizando a glucose como eletrólito para a biobateria;

O dispositivo otimizado deve apresentar elevada flexibilidade, baixo custo de produção e espessura reduzida. Os valores de condutividade e densidade de corrente do dispositivo devem ser suficientes para que, ao ser implantado no corpo humano a alimentação do dispositivo médico não falhe do ponto de vista energético.

Nos quatro capítulos subsequentes é descrito todo o trabalho realizado: no primeiro capítulo é apresentado o estado da arte bem como a aplicabilidade e inovação da presente dissertação; no capítulo 2 são descritos os materiais, as técnicas experimentais de produção e caracterização

bem como respetivos procedimentos; a apresentação e discussão dos resultados obtidos é exposta no capítulo 3 e as conclusões e perspectivas futuras no capítulo 4.



Introdução

Hoje em dia, cada vez mais, a medicina recorre a dispositivos implantáveis de forma a colmatar problemas que advenham de patologias que possam afetar as necessidades vitais dos seres humanos. [1] No caso das arritmias cardíacas ou dos problemas ao nível da produção de insulina, por exemplo, já existem dispositivos (pacemakers e biossensores de insulina) que asseguram a sobrevivência do indivíduo sem que surjam restrições em termos de mobilidade. [1], [2] Especialmente na área da saúde, as dimensões, a flexibilidade, a eficiência, o tempo de vida e a biocompatibilidade fazem a diferença entre um dispositivo confortável para o paciente e um dispositivo que não permite a adaptação do mesmo à terapia. [2], [3] Com a crescente necessidade da implantação de dispositivos no organismo dos pacientes, a ciência melhorou o seu processo de miniaturização, tornando-os aparelhos de fácil transporte, biocompatíveis e sustentáveis. [1], [3] Neste âmbito, surge então o conceito de biobateria.

1.1. Estado da arte

A biobateria é um dispositivo biocompatível de armazenamento de energia que, através das reações de oxidação/redução das moléculas biológicas obtém energia elétrica que armazena para posterior utilização num dispositivo. [4], [5] Ao serem degradadas, estas biomoléculas provocam a libertação de eletrões que se acumulam no ânodo – processo que gera uma diferença de potencial. A diferença de potencial é a precursora da corrente elétrica na medida em que os eletrões, por se repelirem uns aos outros, vão tentar alcançar o cátodo, o que acontece quando o circuito é fechado fazendo com que os mesmos se desloquem gerando assim corrente elétrica. [4]

Para além do ânodo, onde ocorre a reação de oxidação, e do cátodo, onde ocorre a redução, as biobaterias são ainda constituídas pelo eletrólito que alimenta o sistema e por um separador que se encontra entre o ânodo e o cátodo de forma a evitar curto-circuito. [4], [5]

As fontes energéticas que alimentam as biobaterias podem ser os fluídos corporais, como o sangue ou a urina ou até mesmo micro-organismos como os vírus e as bactérias. [2], [4] Desta forma, é então possível gerar energia para aplicações *in vivo* (ex.: pacemakers, sensores de glucose, estimuladores musculares, neuropróteses) e *ex vivo* (ex.: geradores de emergência e carregamento portátil de dispositivos eletrónicos) a partir de uma fonte energética ‘natural’. [4]

O separador, por sua vez, deve ser feito de um material isolante elétrico para prevenir curto-circuitos. Desta forma, alguns estudos têm dado preferência à celulose por se tratar de um polímero barato e biodegradável. Um exemplo do uso deste polímero é a investigação levada a cabo por Pushparaj *et al.* [6]

No trabalho realizado pela equipa de Pushparaj, estudou-se a possibilidade de criar biobaterias incorporando eléctrodos de nanotubos de carbono, um eletrólito e um separador. Para a construção do cátodo procedeu-se à formação de um filme composto por nanotubos de carbono de parede múltipla carboxilados (NTCPMc) alinhados, produzidos em substratos de silicone, preenchido com celulose. Para o ânodo recorreu-se a uma camada de lítio, e para o coletor de corrente usou-se uma folha de alumínio de cada lado da bateria. Como este trabalho teve como base a utilização de celulose e de nanotubos de carbono (NTC) a estrutura resultante é bastante porosa, flexível e de espessura reduzida. Em conclusão, este estudo admite a possibilidade de usar este dispositivo como implante no corpo humano, na medida em que este consegue usar fluídos corporais enquanto eletrólito tendo registado uma tensão de 2,4 V com uma gota de suor sobre o mesmo. [6]

Já em 2010, Baptista *et al.* também desenvolveram uma membrana de acetato de celulose que integra o separador e os eléctrodos. A membrana porosa e flexível, produzida através de eletrofiliação é revestida com Al num lado e Ag ou Cu no lado oposto, de forma homogénea, através de evaporação térmica resistiva em vácuo. Posteriormente foi testada uma solução que simula a composição dos fluídos corporais, o SBF (do inglês *Simulated Body Fluid*). A experiência executada prova que ocorre uma alteração eletroquímica quando a estrutura monolítica entra em contacto com o eletrólito, gerando uma densidade de potência acima de $3\mu\text{W cm}^{-2}$. Mantendo a flexibilidade e a área superficial, a deposição de metais na membrana permite que os “electrões sejam coletados de forma eficiente”. [3]

Em 2013 Li *et al.* conseguiram criar um cátodo suficientemente poroso, flexível e com elevada área superficial ao imobilizarem nanotubos de carbono também numa membrana de celulose (ver figura 1.1). Os nanotubos de carbono foram previamente revestidos com polipirrol (PPi) através de polimerização química. Nesta bateria, o ânodo é uma folha de zinco biocompatível e o eletrólito testado é o SBF. A biobateria construída é estável e apresenta uma “capacidade de descarga até 24,5 horas a uma densidade de corrente de $60 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ ” para uma concentração de 0,1 M de PPi e 0,4 mg/ml de NTC (nanotubos de carbono). Ao modificar o SBF com uma pequena quantidade de proteína BSA (do inglês, *Bovine Serum Albumin*) e depois de o testar na biobateria concluiu-se que esta última potencia o prolongamento e a estabilidade do patamar de descarga da biobateria. [2]

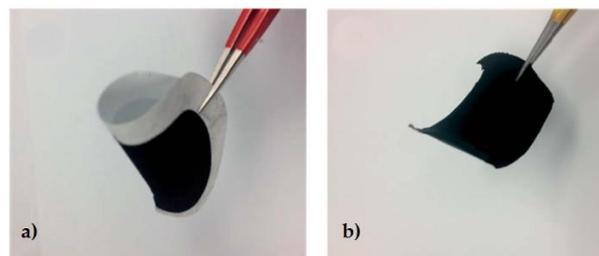


Figura 1.1 - Demonstração da flexibilidade do revestimento de polipirrol e nanotubos de carbono: a) Revestimento sobre o substrato de acetato de celulose; b) Revestimento de PPi e NTC retirado da folha de celulose. (adaptado de [2])

Uma das moléculas mais usadas pelos seres vivos para a produção de energia é a glucose. Esta biomolécula surge aquando da degradação dos hidratos de carbono e pode originar “dezas-seis kW por grama gerando doze eletrões por moléculas durante o processo de oxidação”. [7] Neste contexto, surge então o conceito de biobateria de glucose: um dispositivo composto por eléctrodos que produzem energia eléctrica através da oxidação da glucose.

O estudo levado a cabo em 2012 por Wang *et al.*, por exemplo, tem como base a utilização da glucose para a produção de energia. Neste trabalho, a glucose desidrogenase (GDH) é imobilizada em eléctrodos de carbono com e sem modificação com NTCPMc, formando o bioânodo. Por outro lado, no cátodo utiliza-se um par iodeto/tri-iodeto numa vareta de grafite e a membrana separadora é de Nafion® 117. Este estudo concluiu que, com os NTCPMc o desempenho do dispositivo apresenta melhores resultados, nomeadamente uma densidade de potência máxima de $2,43 \mu\text{W cm}^{-2}$. Esta bateria permite ainda obter corrente “para uma grande amplitude de valores de concentração de NADH”. [8]

As células combustíveis são dispositivos também capazes de transformar a energia química em energia elétrica de forma contínua mas que apresentam uma resposta dinâmica mais lenta. [9], [10] A maioria das células biocombustíveis recorrem a elétrodos enzimáticos, no entanto esta é uma opção pouco viável na medida em que as enzimas são pouco estáveis, requerendo condições muito específicas. [11]

Stolarczyk *et al.* levaram a cabo um trabalho comparativo entre uma biobateria e uma célula biocombustível. Os cátodos de ambas são iguais sendo a diferença no ânodo da biobateria que é de zinco revestido com hopeíte enquanto que o da célula de biocombustível é de carbono com nanotubos de carbono e glucose oxidase e catalase. O estudo permitiu concluir que, em série, as biobaterias apresentavam maior valor de tensão de circuito aberto e densidade de potência. [12]

Muitas células biocombustíveis recorrem à utilização de enzimas. No entanto, como referido anteriormente, apresentam algumas desvantagens no que toca à energia que produzem, à estabilidade e ao tempo de vida. Por isso é importante que sejam estudadas alternativas ou que se desenvolvam cada vez mais as soluções que melhoram estas características. [13] Para colmatar o problema de fraca estabilidade e densidade de enzimas recorre-se largamente, hoje em dia, às nanoestruturas, como os nanotubos de carbono. [14]

Um estudo conduzido por Liang *et al.* em 2012 criou um elétrodo com a estrutura de Nafion/GDH-bactéria/NTCPMc que apresentou características favoráveis para aplicações em deteção de glucose ou em células de biocombustível. A enzima utilizada foi a glucose desidrogenase cujo gene foi inserido na bactéria *Escherichia coli*. [15]

Em 2013 Lang *et al.* criaram um biossensor de glucose recorrendo à imobilização de glucoamilase e glucose oxidase através de *crosslinking* num elétrodo de carbono modificado com NTCPMc. No decorrer do estudo concluiu-se ser possível criar uma célula biocombustível constituída pelo bioânodo anteriormente referido e por um biocátodo com uma estrutura análoga mas usando a enzima lacase (enzima do tipo oxidase que contém cobre). Este biossensor apresentou uma densidade de potência máxima de $8,15 \mu\text{W cm}^{-2}$ [16].

Também no ano de 2014, Eun *et al.* usaram fibras de polianilina (PAni) para imobilizar glucose oxidase e lacase no ânodo e no cátodo, respetivamente. Concluiu-se obter um tempo de meia vida (tempo ao fim do qual a enzima perde 50% da sua atividade) mais extenso e boa densidade de corrente, $37,4 \mu\text{W cm}^{-2}$, devido à imobilização de uma grande quantidade de enzimas

recorrendo ao uso de mediadores através de adsorção-precipitação-*crosslinking* na superfície das fibras da polianilina. [17]

Na produção das biobaterias a utilização de polímeros condutores é uma hipótese que permite contornar as desvantagens que as enzimas proporcionam neste tipo de dispositivos. Como referido ao longo deste capítulo os polímeros mais usados são o polipirrol e a polianilina. Outro grupo de polímeros condutores promissor são os politiofeno onde se inclui o poli(3,4-etileno-dioxitiofeno) (PEDOT). Como será possível constatar no capítulo seguinte, o PEDOT é um polímero que possui propriedades que o tornam mais vantajoso em relação ao PPI e à PAni. [18]

Em 2009, Laforgue e Robitaille produziram fibras de polivinilpirrolidona (PVP) revestidas com PEDOT altamente condutoras (na ordem das dezenas de S/cm). Primeiramente, foi realizada a eletrofiação a uma humidade de $10 \pm 2\%$ de uma solução de PVP com piridina, sendo que esta última atuará como agente oxidante. Sem tirar da câmara de eletrofiação para evitar a humidade do meio, as fibras foram colocadas numa câmara de vapores em vácuo com o EDOT onde permaneceram durante 3 a 4 horas sendo depois lavadas com metanol e secas em vácuo durante 2 horas. Os investigadores concluíram que as fibras revestidas apresentavam potencial para serem usadas em dispositivos de armazenamento de energia ou sensores. [19]

Mais recentemente, Park *et al.* utilizaram também o PEDOT para a produção de membranas condutoras. Numa primeira fase, foi dissolvido poli(metil metacrilato) (PMMA) em N,N - dimetilformamida (DMF) a 50°C. Depois foi adicionado 3,4 - etilenodioxitiofeno (EDOT), sendo a sua razão em relação ao PMMA de 3,3:10 (massa/massa). A solução foi eletrofiada para uma solução oxidante aquosa de cloreto de ferro (III) (FeCl_3) ligada à terra, como indicado na figura 1.2 A. Seguidamente, as fibras ainda molhadas foram transferidas para uma lâmina e esta aquecida a 95°C onde ocorreu a polimerização oxidativa (figura 1.2 B e C). O processo terminou com a lavagem das membranas com água pura (figura 1.2 D). A condutividade máxima medida neste estudo foi de 7,6 S/cm sugerindo a sua aplicabilidade em vários tipos de dispositivos eletrónicos, desde termoeletrónicos aos de armazenamento de energia. [20]

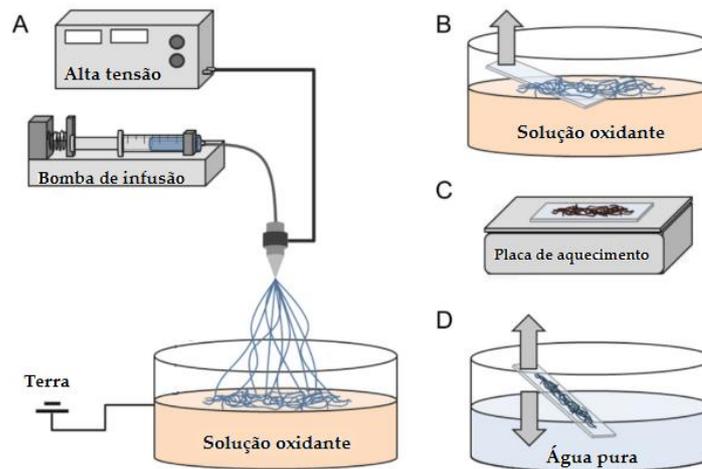


Figura 1.2 - Esquema do trabalho levado a cabo por Park *et al.* Em A a eletrofiação das fibras de PMMA para a solução oxidante, retiradas depois com uma lâmina (B). Após a colocação na placa de aquecimento onde ocorre a polimerização (C) as fibras são lavadas (D). (adaptado de [20])

Outro trabalho que dá ênfase às propriedades do PEDOT desta vez aliadas à produção de *Smart textiles* (“têxteis inteligentes”) é o de Majid Ali. Este investigador preparou fibras de viscose com um tratamento prévio de limpeza superficial com acetona ou etilacetato. Depois de imersas durante 10 minutos na solução oxidante (de tosilato de ferro ou cloreto de ferro), as fibras foram secas a 60°C durante 10 minutos. De seguida, as fibras foram polimerizadas por deposição química oxidativa de vapores (oCVD do inglês, *oxidative chemical vapor deposition*) durante 15 minutos a 50°C. Os resultados permitiram concluir que a utilização de cloreto de ferro como agente oxidante e da acetona como tratamento de limpeza das fibras de viscose apresentou melhores resultados de resistência elétrica. [21]

1.2. Aplicabilidade e inovação do estudo efetuado

Este trabalho tem como principal objetivo a produção de uma biobateria capaz de produzir energia a partir da glucose presente no plasma sanguíneo. Como referido anteriormente, a glucose é uma importante e abundante fonte energética não-tóxica que está na base da produção de grande parte da energia usada pelos seres vivos, o que faz com que esta molécula seja vastamente usada em biobaterias e células biocombustíveis. [4], [5]

Embora vastamente utilizadas em biodispositivos, as enzimas são sensíveis às variações de pH e temperatura o que coloca algumas restrições em termos de aplicabilidade. [5] Devido a

este facto, a produção de elétrodos não-enzimáticos tem como objetivo conseguir um dispositivo mais estável (tendo em conta os parâmetros variáveis dentro do corpo humano) e com um tempo de vida mais longo do que os dispositivos que recorrem à utilização de enzimas. [22] A biobateria desenvolvida deverá ser integrada em dispositivos de requisitos energéticos reduzidos (na ordem dos $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ e mW/cm^2) de diagnóstico (p.e. biossensor de glucose), monitorização (pacemaker) e/ou reabilitação na área da biomedicina.

Para a construção desta biobateria é necessária uma membrana separadora e dois elétrodos, todos eles biocompatíveis. A membrana separadora é de acetato de celulose produzida através de eletrofiação. A eletrofiação é uma técnica usada para fins têxteis, para a produção de filtros, engenharia de tecidos e libertação de fármacos. [23] Usando este processo consegue-se a deposição aleatória de fibras à escala nanométrica num coletor metálico, formando-se uma membrana porosa e com grande área superficial. [24] Um dos elétrodos usados será uma rede metálica de ouro; o segundo elétrodo é uma membrana de acetato de celulose revestida com um polímero condutor – PEDOT.

A inovação do trabalho vigente prende-se essencialmente com a utilização deste polímero condutor que possui propriedades mais favoráveis para a produção de elétrodos e que nunca foi testado no laboratório onde este projeto decorreu. Como descrito na secção 2.2.1, o PEDOT é um polímero que apresenta, entre outras vantagens, elevada estabilidade térmica, boa condutividade elétrica e biocompatibilidade. Também o tipo de polimerização utilizado, polimerização por fase de vapor, é inovador na medida em que em trabalhos anteriores ter-se-á dado maior relevância à polimerização em meio aquoso.



Materiais e Métodos experimentais

Neste capítulo, serão primeiramente descritos os materiais e técnicas usadas para a produção dos constituintes da biobateria, nomeadamente: o separador, os eléctrodos e o eletrólito. No subcapítulo 2.4. serão focados os princípios de funcionamento e os procedimentos experimentais para a caracterização morfológica, química, estrutural, elétrica e eletroquímica dos materiais desenvolvidos.

2.1. Preparação do separador

O separador, como explicado no capítulo anterior, é a estrutura presente na biobateria que evita o contacto elétrico entre o ânodo e o cátodo e, como tal, impede a ocorrência de um curto-circuito. Para a produção do separador recorreu-se ao processo de eletrofiação para criar membranas de nano/microfibras de acetato de celulose de elevada área superficial.

2.1.1. Acetato de celulose

O acetato de celulose (ver figura 2.1) é um polímero eletricamente neutro, de baixo custo, renovável e biodegradável o que o torna um material de interesse para muitas aplicações, na área têxtil, alimentar, farmacêutica e biomédica. [25] [26]

A celulose é um polímero que deriva maioritariamente do algodão e da madeira. [27] Quando este material é sujeito a um processo de acetilação origina o acetato de celulose, a estrutura celulósica éster mais básica. [28] A produção deste polímero implica o uso de ácido acético, o solvente, ácido anidrido acético para a acetilação, e ácido sulfúrico para catalisar a reação. [25]

Algumas das características do AC dependem do nível de acetilação que é definido pelo grau de substituição. [27] Por sua vez, o grau de substituição deriva do número de grupos hidroxil que são substituídos por grupos acetil e afeta, entre outras propriedades, a solubilidade. O grau de substituição varia entre zero e três sendo que, conforme o aumento do grau de substituição, menor é a cristalinidade do polímero e maior é a sua solubilidade (p.e. ao grau zero (celulose) corresponde um elevado nível de cristalinidade e baixa solubilidade). [25]

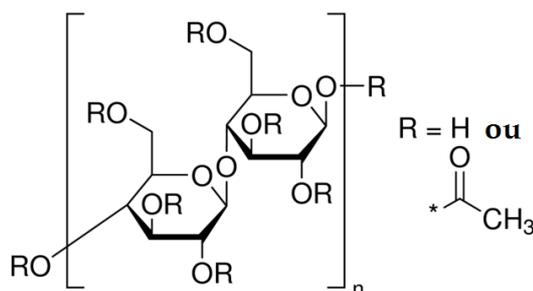


Figura 2.1 – Estrutura química do acetato de celulose. (adaptado de [29])

2.1.2. Eletrofiação

As membranas de acetato de celulose são produzidas através de eletrofiação - técnica que possibilita a criação de membranas constituídas por nanofibras poliméricas depositadas num coletor metálico. A eletrofiação é uma técnica com várias aplicações, nomeadamente, em biossensores, filtros, produção de energia, imobilização de enzimas, cosmética, e engenharia de tecidos (p.e. *scaffolds*, libertação de fármacos). [30]

A eletrofiação implica a utilização dos seguintes materiais e equipamentos: uma seringa e uma agulha, uma bomba de infusão, uma fonte de tensão e um coletor metálico ligado à terra (ver figura 2.2). [30] A ponta da seringa, onde se encontra a solução, está ligada à fonte de tensão criando-se assim um campo elétrico entre a primeira e o coletor. À medida que o valor do campo elétrico vai aumentando, a gota de solução alonga formando-se uma estrutura cónica denominada Cone de Taylor. [31] À medida que a tensão aumenta, as forças elétricas repulsivas superam a tensão superficial da solução fazendo com que haja ejeção da solução. [32] Como este jato de solução se encontra carregado será conduzido, através da força do campo elétrico, até ao coletor onde apenas se deposita a fibra polimérica visto que o solvente evapora durante o processo. [31] As fibras depositadas no coletor possuem um diâmetro que pode variar entre micrómetros e nanómetros. [33]

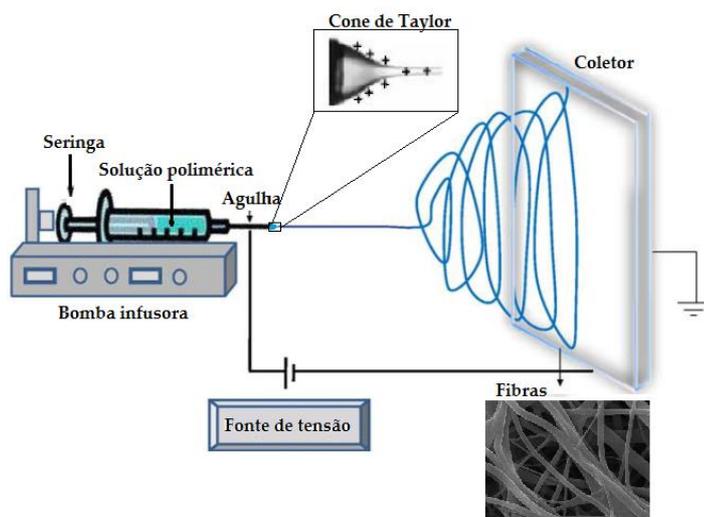


Figura 2.2 - Esquema de eletrofiação. (adaptado de [30] e [34])

As características das fibras produzidas podem ser controladas pelas propriedades da solução, nomeadamente pela condutividade, viscosidade e concentração do polímero; pelas variáveis de controlo do processo: o diâmetro da agulha, a distância da ponta da seringa ao coletor e o caudal; pelo ambiente em que a experiência ocorre, sendo eles a humidade e a temperatura. [31] Tendo em conta todos estes parâmetros podem ser criadas fibras de diversas morfologias como por exemplo fibras porosas, fibras com contas ou fitas. [23]

Os sais, o solvente e o polímero usado determinam a condutividade da solução. Se este parâmetro apresentar um valor alto o diâmetro das fibras diminui, caso contrário o alongamento da gota pode não ser suficiente para haver ejeção de fibras uniformes e pode ocorrer também a formação de contas. [30] Também a viscosidade é um parâmetro decisivo para a eletrofiação e é diretamente proporcional à concentração de polímero. Quando a concentração de polímero na solução é baixa a viscosidade também apresenta um valor reduzido pelo que a força dominante na gota de solução é a tensão superficial. Desta forma, surge a ejeção de fibras com contas e, por vezes, de gotas. [30] [35] No entanto, caso a viscosidade seja demasiado alta as forças de coesão entre as moléculas da solução podem criar instabilidade no fluxo e impedir a ejeção de fibras. [36]

Alguns parâmetros associados à montagem desta técnica também influenciam as fibras resultantes. Por exemplo, quando a distância da seringa ao coletor aumenta, o campo elétrico diminui. Embora existam diferentes relatos, a diminuição do campo elétrico provoca, tendencialmente a diminuição do estiramento das fibras e o aumento do seu diâmetro. No entanto, caso

a distância não seja suficiente, o solvente pode não evaporar antes das fibras serem depositadas no coletor provocando a sua fusão. Por sua vez, quando o valor do caudal aumenta o diâmetro das fibras aumenta também e a formação de contas é favorecida. Como a gota de solução é ejetada através da agulha da seringa, quanto menor for diâmetro desta última menor será o diâmetro das fibras. [23] Uma outra variável que afeta a produção de fibras é a tensão aplicada. Esta é responsável pela produção do campo elétrico e, por isso, pela ejeção das fibras para o coletor pelo que deve superar a tensão superficial da solução polimérica. Caso a tensão não seja suficiente não ocorre ejeção de fibras. Frequentemente, à medida que o valor da tensão aumenta, menor é o diâmetro das fibras (maior é o estiramento) mas caso a tensão seja demasiado elevada ocorre também a formação de contas. [30]

De notar ainda que os parâmetros ambientais, humidade e temperatura, também influenciam a produção de fibras. A humidade controla a morfologia das fibras podendo estar na génese de fibras porosas caso apresente um valor suficientemente elevado o que impede a evaporação do solvente. A temperatura influencia a formação de fibras, sendo que com o seu aumento a viscosidade da solução diminui e por isso dá origem à formação de gotas. [30]

Procedimento experimental

O procedimento levado a cabo teve em conta os parâmetros já otimizados em trabalhos anteriores apresentados na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Parâmetros usados no processo de eletrofiação de fibras de AC. (adaptado de [11])

Parâmetro	Valor
Concentração AC	12 % (m/m)
Agulha	21 G
Tensão	20 kV
Humidade	35% - 40%
Temperatura	21 – 29 ($\pm 0,1$) °C
Distância da agulha ao coletor	15 cm
Caudal	0,2 ml/h

Primeiramente dissolveu-se acetato de celulose (*Sigma Aldrich*) em acetona (*AnalaR Normapur*) e dimetilacetamida (DMAc) (*Honeywell Riedel-de Haën*), estando os solventes na proporção

mássica de 2:1, respetivamente. A solução é depois colocada na placa de agitação magnética durante 24 horas até se atingir uma solução homogénea. Recorrendo a uma seringa (*Injekt* 1 ml da *B|Braun*) extrai-se a solução tendo em atenção a formação de bolhas de ar que devem ser eliminadas. Seguidamente coloca-se a agulha (calibre 21 da *ITEC*) na seringa sendo esta última disposta na bomba infusora (*Kd Scientific*). O coletor de metal é revestido com folha de alumínio e colocado a 15 cm de distância da ponta da agulha. Depois dos contactos elétricos estabelecidos e dos parâmetros ajustados na bomba infusora, é ligada a fonte de tensão (*Glassman High Voltage, inc*). [11]

A eletrofição de 1 ml de solução demora 5 horas a executar e permite obter uma membrana de grandes dimensões e com espessura suficiente (entre, aproximadamente, 50 e 80 μm) para que as amostras sejam facilmente recolhidas do coletor.

2.2. Preparação do eletrodo

A maioria dos polímeros condutores são biodegradáveis, apresentam alguma biocompatibilidade e juntam propriedades de alguns metais e dos polímeros simples, pelo que são condutores, facilmente sintetizáveis e flexíveis. [37] Os eletrodos da biobateria são as estruturas responsáveis pela criação da diferença de potencial e pela corrente elétrica. Neste trabalho estudaram-se as condições de síntese do PEDOT nas membranas de AC eletrofiadas de modo a obter eletrodos flexíveis e de condutividade elétrica elevada.

2.2.1. Poli(3,4 - etilenodioxitiofeno) (PEDOT)

O PEDOT é um polímero condutor e biocompatível do grupo dos politiofenos que se caracteriza pela sua cor azulada, elevada condutividade elétrica e boa estabilidade, superior à da maioria dos polímeros condutores (por exemplo, em relação ao polipirrol). [38] No entanto este polímero é insolúvel em meios aquosos pelo que é frequentemente combinado com o ácido poli(estirenosulfonato) (PSS, do inglês *Polystyrene Sulfonate*), um polieletrólito que se dispersa em água. [39]

O PEDOT (ver figura 2.3) resulta da formação de uma cadeia conjugada de politiofeno e da perda de dois eletrões do monómero bicíclico EDOT. [38], [40] Recorrendo a um agente oxidante, normalmente o cloreto de ferro (III) (FeCl_3) ou o *p*-toluenosulfonato de ferro (III) ($(\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_3)_3\text{Fe}$), realiza-se a polimerização do EDOT que pode ocorrer em meio aquoso ou

por evaporação. [41] O PEDOT é electroquimicamente estável devido à existência de dioxietileno entre as posições 3 e 4. A presença deste grupo impede a ligação α - β' tornando o polímero electroquimicamente mais estável e capaz de manter a condutividade eléctrica durante 1000 horas a 120°C. [38] [42]

Este polímero apresenta também boa compatibilidade e é atualmente aplicado em eléctrodos, células solares, sensores e dispositivos eletroluminescentes. [43] O facto dos filmes de PEDOT serem transparentes faz com que esta seja uma alternativa muito promissora para a aplicação em dispositivos electrónicos que visem essa propriedade como é o caso das células fotossensíveis para a fototerapia [39].

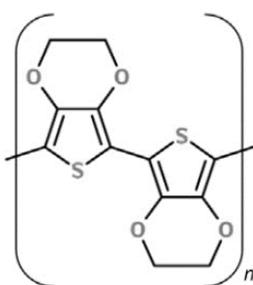


Figura 2.3 - Estrutura química do PEDOT. (adaptado de [37])

2.2.2 Polimerização em fase de vapor em condições atmosféricas

A produção dos eléctrodos teve como base a polimerização em fase de vapor (VPP do inglês *Vapor-Phase Polymerization*) em condições atmosféricas do PEDOT nas membranas de acetato de celulose. Os filmes produzidos por esta técnica podem ser aplicados em diversas áreas como por exemplo: filmes antiestáticos transparentes, metalização de isolantes, dispositivos optoelectrónicos orgânicos entre outros. [44]

A polimerização em fase de vapor de polímeros condutores é referida na literatura como uma técnica capaz de produzir revestimentos homogéneos, estáveis e com valores altos de condutividade. [44], [45] Este processo consiste em expor um substrato previamente revestido com um agente oxidante a vapores do monómero que se pretende polimerizar. [18] Depois de seco, coloca-se o substrato com o agente oxidante incorporado numa câmara fechada onde se encontra também o monómero cujos vapores se elevam até ao substrato. [46] Esta técnica é vantajosa na

medida em que a insolubilidade do monómero não é um obstáculo, o que aconteceria na polimerização química oxidativa em meio aquoso. [43] O último passo, consiste em remover com etanol ou metanol resíduos de agente oxidante e monómero que não reagiram que o substrato ainda possa conter. [47] Como os agentes oxidantes possuem baixa volatilidade, estes são adicionados ao substrato em fase líquida. [48]

Embora a VPP seja uma técnica que produz revestimentos menos defeituosos e mais condutores que outras técnicas de polimerização *in situ*, deve ser executada em câmaras pequenas para que a homogeneidade dos vapores e, conseqüentemente do revestimento não seja comprometida. [49], [50]

O revestimento produzido através deste método depende de fatores como: tempo de reação, temperatura e concentração da solução oxidante. [48]

Procedimento experimental

Depois de terminada a eletrofição, são cortadas e retiradas membranas com cerca de 1,2cm x 2,5 cm da folha de alumínio que reveste o coletor. Estas são então pesadas e as suas espessuras medidas.

A solução oxidante foi preparada usando a água ultrapura (*Millipore*) como solvente e o cloreto de ferro (III) (*Sigma Aldrich*) como agente oxidante. Após 45 minutos em agitação magnética é imersa na solução a membrana retirada do coletor (ver figura 2.4).

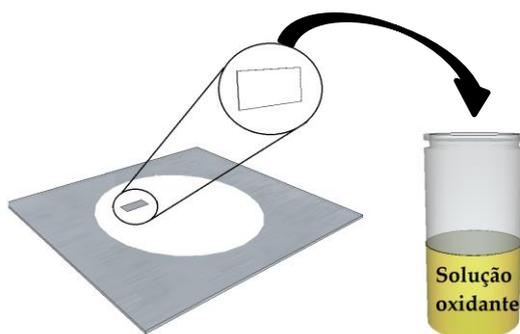


Figura 2.4 - A membrana de acetato de celulose é retirada do coletor e imersa na solução oxidante de FeCl₃.

Depois de retirada da solução, a membrana é colocada numa caixa de Petri de vidro e seca por 24 horas à temperatura ambiente. Quando as membranas estão secas são penduradas na horizontal na tampa da câmara de vapores (ver figura 2.5).

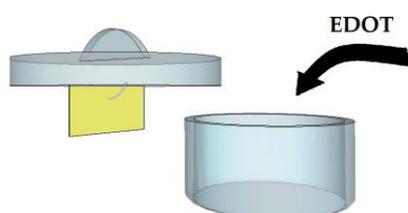


Figura 2.5 - Depois de seca, a membrana de acetato de celulose impregnada com o agente oxidante é pendurada na tampa da câmara de vapores. A câmara contém 0,5 ml de EDOT no seu interior.

A membrana é adicionada à câmara de vapores contendo 0,5 ml de EDOT (*Sigma Aldrich*) que é fechada com a tampa e colocada numa estufa (*Memmert*) a 50°C. Depois de polimerizada a membrana revestida é lavada com água destilada e etanol (*Sharlab*) e deixada a secar ao à temperatura ambiente.

Neste trabalho, foi estudada a otimização de vários parâmetros relativos à polimerização em fase e vapor nomeadamente: concentração da solução oxidante; tempo de imersão na solução oxidante e o tempo de polimerização. Na tabela 2.2 estão os valores testados para cada parâmetro em estudo.

Tabela 2.2 - Parâmetros testados na otimização do processo de produção dos elétrodos de PE-DOT.

Concentração de FeCl ₃ na solução oxidante (g/L)			Tempo de polimerização (min)				Tempo de imersão na solução oxidante (min)		
10	40	80	30	60	120	150	15	30	60

2.3. Preparação do eletrólito

Nos dispositivos estudados o eletrólito é a glucose em SBF em diferentes concentrações. A escolha desta combinação deve-se ao facto de ambos estarem presentes no plasma sanguíneo e assim perspetivar a viabilidade de utilização deste na biobateria.

2.3.1. SBF

O SBF é uma solução isotônica que mantém o pH das soluções, é não-tóxica e simula a parte inorgânica do plasma sanguíneo. [51] O procedimento experimental associado à produção da solução de SBF encontra-se no Anexo A.

2.3.2. Glucose

A molécula de glucose ($C_6H_{12}O_6$), é um monossacarídeo isto é, um hidrato de carbono simples que possui um grupo aldeído e seis átomos de carbono (ver figura 2.6). Esta molécula é a principal fonte de energia para as células, fornecendo ao corpo humano cerca de quatro quilocalorias de energia por grama degradado, produzindo água e dióxido de carbono. [52] Associada ao metabolismo deficiente desta molécula está a *diabetes mellitus*, a doença responsável por 1 em cada 12 mortes a nível mundial. [53] Os indivíduos saudáveis apresentam um valor de glucose mínimo em jejum de 70 mg e máximo de 100 mg de glucose por decilitro de plasma sanguíneo sendo valores abaixo de 70 mg/dl associados a um estado de hipoglicemia. Valores entre de 100 mg/dl e 126 mg/dl são indicadores de um estado pré-diabético e valores superiores indicadores da doença. [54] Por este motivo estudaram-se alguns destes limites e valores excedentes de forma a poder avaliar a resposta do dispositivo a hipotéticas situações de risco.

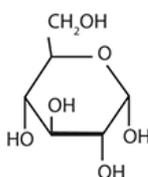


Figura 2.6 - Conformação cíclica da glucose. (adaptado de [52])

Procedimento experimental

As soluções de glucose foram produzidas com quatro concentrações diferentes presentes na tabela 2.3.

Tabela 2.3 - Concentrações de glucose em solução aquosa testadas na biobateria.

Concentrações de glucose em solução aquosa (g/L)			
0,5	0,7	1,2	2,0

Neste procedimento dissolveu-se a glucose em 100 ml de água destilada e colocou-se em agitação magnética durante 30 minutos.

2.4. Técnicas de caracterização

2.4.1. Microscopia eletrónica de transmissão (TEM)

A microscopia de transmissão de eletrões (do inglês *Transmission Electron Microscopy*, TEM) assim como a microscopia eletrónica de varrimento (do inglês *Scanning Electron Microscopy*, SEM), têm ambos como base a interação de eletrões com a amostra. Quanto maior a energia do eletrão, menor o comprimento de onda, pelo que para uma energia na ordem dos kV, os eletrões penetram materiais sólidos em alguns micrómetros. [55]

O TEM é constituído por três sistemas principais: sistema de iluminação, placa da amostra, o sistema de imagem e o detetor que capturam a imagem. [55][56] O sistema de iluminação inclui o canhão de eletrões e lentes que forçam o feixe a adotar um padrão convergente. Desta forma é possível incidir a amostra com um feixe com diâmetro e intensidade característicos. O sistema de imagem possui 3 ou mais lentes que permitem a ampliação da imagem da amostra que pode ser depois visualizada num monitor. Os eletrões são produzidos no cátodo e são depois aceleradas por um campo elétrico na câmara de aceleração até atingirem uma determinada energia cinética que lhes permite penetrar na amostra. A amostra deve ser suficientemente fina para que os eletrões sejam transmitidos e recolhidos para construir a imagem. Os eletrões transmitidos são detetados e o sinal transformado numa forma visível enviada para o ecrã. [55]

As vantagens deste processo, para além da resolução que lhe está associada incluem também o facto de a radiação ionizante produzir outros fenómenos (por exemplo libertação de eletrões de Auger) que permitem inferir sobre as propriedades topológicas, morfológicas, composição e cristalinidade da amostra.[57]

Procedimento experimental

As fibras foram colocadas sobre uma rede de Cu e observadas num equipamento da *Hitachi*, modelo H-8100 II de 200 kV.

2.4.2. Microcopia eletrónica de varrimento (SEM)

O princípio de funcionamento do SEM, assim como do TEM, centra-se no feixe de eletrões que é produzido no topo do microscópio. Depois de passar por lentes o feixe atinge a amostra emitindo eletrões secundários. Estas partículas, depois de detetadas produzem um sinal que é emitido num ecrã, formando a imagem final. O potencial de aceleração é inferior ao usado no TEM e o canhão de eletrões mais pequeno, no entanto, o sistema assim como o princípio de funcionamento do SEM e do TEM são semelhantes. Ao contrário do TEM que produz um feixe de eletrões estacionário, a amostra em SEM é sujeita a um feixe de eletrões móvel que executa um varrimento horizontal em duas direções (x e y) perpendiculares. Na aquisição do sinal do varrimento na direção x , o eletrão move-se em linha reta de um ponto ao outro e depois é defletido. No entanto sofre um desvio diagonal pois o gerador do varrimento na direção y aumenta o valor da corrente. Logo de seguida recomeça o varrimento em linha reta, no ponto para onde o eletrão foi defletido repetindo-se o processo até se obter um *frame*. [55]

Uma das vantagens do SEM em relação ao TEM advém do facto de a amostra não necessitar ser sujeita a tratamento para ser transparente para os eletrões (espessura fina). No entanto as amostras que sejam de natureza isolante apresentam alguns problemas pois não permitem a ligação à Terra para a passagem da corrente pelo que podem ficar carregadas. Caso a amostra fique carregada negativamente, os eletrões incidentes são repelidos pelo que a imagem apresentará algumas distorções. Para resolver este problema as amostras devem ser revestidas com uma camada de metal ou carbono condutor. [55]

Procedimento experimental

As amostras foram colocadas num suporte e revestidas com uma fina camada de ouro por *sputtering*. Um SEM *Hitachi S2400* foi utilizado para observar as amostras. Depois de obtidas, as imagens foram tratadas com o *software ImageJ*® com o qual foram medidos os diâmetros das fibras revestidas com PEDOT para cada uma das imagens.

2.4.3. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia por FTIR (do inglês, *Fourier Transform InfraRed*) é uma técnica que sujeita a amostra à radiação infravermelha. Ao passar pela amostra a radiação é transmitida ou absor-

vida, conforme o material. O sinal recolhido é um espectro que representa a absorção e transmissão molecular da amostra. Este espectro é único e característico consoante a estrutura molecular do composto estudado pois cada material é uma combinação única de átomos. Desta forma, o FTIR oferece a possibilidade de determinar os compostos que fazem parte de uma amostra e identificá-la. [58]

O princípio de funcionamento desta técnica centra-se num interferómetro, um aparelho capaz de criar um sinal onde estão codificadas todas as frequências da radiação infravermelha. Este sinal chama-se interferograma e cada dado seu possui informações sobre toda a gama de frequências do feixe infravermelho proveniente da fonte. Quando este 'feixe codificado' atinge a amostra determinadas frequências são absorvidas pela mesma. Depois o feixe incide nos detetores e o sinal é digitalizado e enviado para o computador. No computador começa o processo de descodificação do sinal empregando a transformada de Fourier o que resulta no espectro de frequências da amostra. [58]

Esta técnica traz grandes vantagens à caracterização estrutural das amostras na medida que é um processo que para além de rápido e internamente calibrado, possui também grande sensibilidade. [58]

Procedimento experimental

O espectro de FTIR foi obtido utilizando o equipamento *Thermo-Nicolet 6700 spectrophotometer* a operar com a resolução de 4 cm^{-1} em ATR (do inglês *Attenuated Total Reflectance*). As medições foram registadas na faixa média de infravermelho ($500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$).

2.4.4. Cristalografia por Difração de Raios-X (DRX)

A cristalografia por difração de raios-X (DRX) permite inferir sobre a estrutura cristalina da amostra. Os materiais podem ser amorfos, caso possuam um arranjo aleatório de átomos, ou cristalinos, se os seus átomos possuírem um arranjo que se repete no espaço tridimensional. Quando os raios-X incidem sobre um plano cristalino, caso o seu comprimento de onda seja da mesma ordem de grandeza que a distância entre os planos cristalinos, então surge o fenómeno da difração. O fenómeno da difração de raios-X ocorre segundo determinados ângulos que dependem da distância entre os arranjos cristalinos da amostra. [59]

Quando não ocorre qualquer fenómeno de difração, ou seja, quando o material é amorfo, os raios-X sofrem espalhamento em todas as direções sem que haja um padrão. Ao passo que

quando se trata de uma estrutura cristalina, a difração ocorre segundo determinadas direções. Por este motivo surgem picos de intensidade em determinados ângulos do gráfico que sugerem a existência de várias espécies de átomos na estrutura da amostra. [60]

A análise cristalográfica por difração de raios-X requer um tubo de raio-X e uma fonte de alta tensão que compõem a unidade primária; o espectrómetro onde a radiação é coletada e depois direcionada para a superfície da amostra através de um colimador; por fim os fótons difratados são codificados em pulsos de tensão pelo detetor de fótons. [61]

Procedimento experimental

O equipamento usado é composto por um difractor de raios-X, o *X'PerPRO* da *PANalytical*, equipado com uma âmpola de cobre (c.d.o. 1.5418 Å) alimentada a 45 kV e 40 mA e um detetor linear *X'Celerator*. As análises foram realizadas na configuração de Bragg-Brentano, com varrimentos 2θ entre 20° e 60° .

2.4.5. Condutividade elétrica

A condutividade elétrica planar das membranas pode ser calculada pela equação 2.1 onde R é a resistência elétrica, L é o comprimento da amostra do eletrodo e A é a sua área seccional. [62]

$$\sigma = \frac{L}{A \times R} \quad \text{Equação 2.1}$$

Procedimento experimental

A condutividade elétrica planar é medida no sentido longitudinal da membrana. Para isso são usadas duas pontas de prova que são colocadas em cada uma das extremidades da amostra previamente revestidas com cola de prata (ver figura 2.7). Os valores de corrente (I) e da tensão associada (V) são recolhidos pelo sistema sendo posteriormente analisados recorrendo à lei de Ohm ($V = RI$). [11]

Para medir a condutividade elétrica planar foram medidas cinco amostras de cada uma de quatro membranas, tendo sido estas produzidas de forma igual.

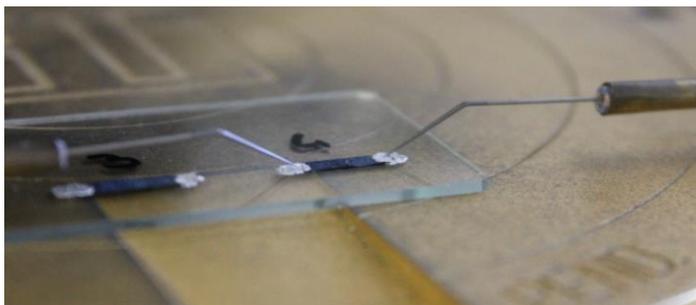


Figura 2.7 - As pontas de prova são colocadas em contacto com a cola de prata nas extremidades da amostra de forma a medir a condutividade da mesma.

Para avaliar a estabilidade da condutividade elétrica das membranas revestidas com PEDOT, esta foi determinada para diferentes tempos de imersão em PBS. Primeiramente, as membranas revestidas com PEDOT foram pesadas e a sua condutividade elétrica medida. Depois foram colocadas em pequenos frascos, todos eles com a mesma quantidade de PBS (do inglês, *Phosphate Buffered Saline*), uma solução salina cuja preparação é descrita no Anexo B, sendo estes transferidos para a estufa (*Memmert*) a 37°C. O estudo foi realizado em 3 tempos (7, 42 e 61 dias) e para cada tempo 2 membranas foram retiradas da estufa e lavadas com água destilada para posterior análise, tendo sido medidas 5 amostras de cada membrana. Após a lavagem e a secagem à temperatura ambiente, a massa e a condutividade elétrica das membranas foram novamente medidas. O cálculo da perda de condutividade é dado pela equação 2.2. [63]

$$\textit{Perda de condutividade} (\%) = \frac{\sigma_{\textit{inicial}} - \sigma_{\textit{final}}}{\sigma_{\textit{inicial}}} \times 100 \quad \textit{Equação 2.2}$$

2.4.6. Efeito de Seebeck

A polimerização por oxidação química é o método mais usado para a obtenção do polímero pretendido. Neste método o agente oxidante funciona também como espécie dopante na medida em que introduz transportadores de carga na estrutura atômica do polímero que são as responsáveis pela condutividade do mesmo. [64] Os transportadores de carga podem ser os eletrões ou os espaços por eles deixados vazios (designados cargas positivas ou *holes*), sendo cada um destes transportadores característicos de tipos diferentes de elétrodos (tipo n ou tipo p, respetivamente). [37][65]

O efeito de Seebeck descreve a criação de um campo elétrico que surge devido à diferença de temperatura aplicada entre dois pontos de um material semiconductor ou condutor. Quando

duas temperaturas diferentes são aplicadas nas extremidades de um material, as cargas móveis presentes na extremidade mais quente tornam-se mais energéticas, aumentam a sua velocidade e difundem-se para a extremidade mais fria onde se vão acumular (ver figura 2.8). É a acumulação destas partículas de um lado e a escassez das mesmas do outro que irá gerar um potencial entre as duas extremidades. [66]

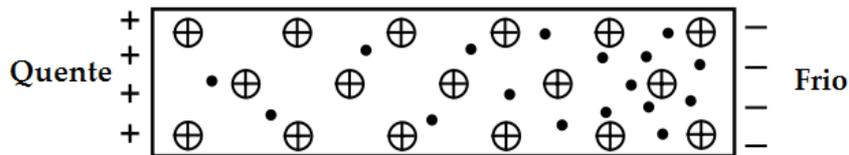


Figura 2.8 - Quando se aplica uma diferença de temperatura nas extremidades de um material do tipo n ocorre a deslocação de cargas móveis (neste caso, negativas) da extremidade quente para a extremidade fria onde se vão acumular (adaptado de [66]).

A diferença de potencial por unidade de diferença de temperatura ao longo do material é dada pelo coeficiente de Seebeck (S) que mede a magnitude do efeito de Seebeck e é dado pela equação 2.3 onde ΔV é a diferença de potencial (dizendo respeito ao lado que está mais frio em relação ao lado que está a uma temperatura mais alta) e ΔT o gradiente de temperatura. [66]

$$S = \frac{\Delta V}{\Delta T} \quad \text{Equação 2.3}$$

O sinal do coeficiente de Seebeck dá informação sobre o tipo de elétrodo que o material produz. Caso as cargas móveis sejam positivas, então o lado que está a uma temperatura mais baixa acumula cargas positivas, pelo que o sinal do coeficiente de Seebeck é positivo e o material é um elétrodo do tipo p. Caso as cargas móveis sejam eletrões o elétrodo é do tipo n. [66]

Procedimento experimental

Numa primeira fase as amostras (5 amostras de uma membrana produzida com os parâmetros já otimizados) foram coladas com cola de prata a uma lâmina de vidro. As extremidades da amostra foram sobrepostas com as células de Peltier como se vê na figura 2.9. Sobre as extremidades foram colocados elétrodos, ligados ao nanovoltímetro onde se mediu o potencial elétrico criado. No *software* *ThermaCAM Researcher Pro 2.10* a câmara de imagem térmica (*FLIR*) foi ligada e foi obtido o gradiente de temperatura ao longo da amostra para várias tensões aplicadas nas células de Peltier.

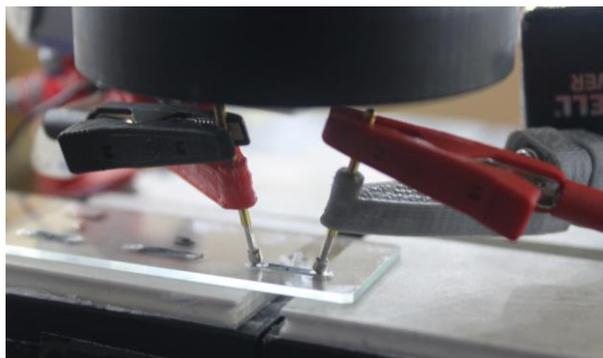


Figura 2.9 - Medição do coeficiente de Seebeck usando duas células de Peltier para aplicar o gradiente de temperatura, duas pontas de prova ligadas ao nanovoltímetro e uma câmara de imagem térmica.

Numa segunda fase, os dados foram transferidos para uma folha de cálculo onde foi feito o gráfico da diferença de potencial em função do gradiente da temperatura. Foi calculado o declive do gráfico tendo-se obtido o valor do coeficiente de Seebeck.

2.4.7. Voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma técnica de caracterização eletroquímica que estuda o processo de transferência de eletrões que ocorre no eléctrodo (reações *redox*) quando este entra em contacto com um eletrólito. [67]

Um sistema de voltametria cíclica é constituído por uma célula de eletrólise que consiste no eléctrodo de trabalho, um eléctrodo de referência, um eléctrodo auxiliar e o eletrólito; o potencióstato que fornece o potencial através de uma fonte de corrente contínua; um conversor corrente-tensão que mede a corrente; um sistema de aquisição de dados. [68]

O varrimento de potencial entre os dois eléctrodos é realizado a uma velocidade constante pré-seleccionada. Quando o valor do potencial atinge o extremo (designado potencial de troca) a leitura adquire um sentido inverso e o potencial retorna ao seu valor inicial onde recomeçará o ciclo. [68] O eléctrodo auxiliar por sua vez tem a função de assegurar a diferença de potencial entre o eléctrodo em estudo e o de referência. Devido à sua elevada resistência o eléctrodo auxiliar inviabiliza a passagem de corrente para o de referência. [69]

A taxa de varrimento e o número de ciclos podem ser definidos pelo utilizador, obtendo-se a corrente em função do potencial aplicado. Por sua vez a corrente depende da transferência de eletrões, ou seja, das reações de oxidação ou redução que ocorreram no eléctrodo. [68][70]

Procedimento experimental

A biobateria é constituída por uma rede de ouro com cerca de $0,5 \text{ cm}^2$ de um lado da membrana separadora. Esta é formada por várias camadas de membranas de acetato de celulose até perfazer a espessura pretendida. O outro elétrodo, uma membrana de AC revestida com PEDOT, é colocado em cima do separador (figura 2.10 a)). O potencióstato foi o aparelho usado para fazer as medições. O elétrodo de trabalho do potencióstato *Gamry Instruments (Reference 3000)* foi ligado ao elétrodo de PEDOT (elétrodo de trabalho) e o elétrodo de referência e auxiliar foram ambos ligados ao elétrodo de ouro (elétrodo de referência) (figura 2.10 b)). No *software* de aquisição de dados foi selecionada a aplicação *Cyclic Voltametry*, um varrimento de tensão entre -1V a $+1\text{V}$ e a corrente máxima de 8 mA . As velocidades de varrimento estudadas foram de 25 mV/s , 40 mV/s , 80 mV/s e 100 mV/s . Depois de introduzidos todos os parâmetros adicionou-se $100 \mu\text{L}$ de eletrólito sobre a biobateria e iniciou-se a aquisição de dados.

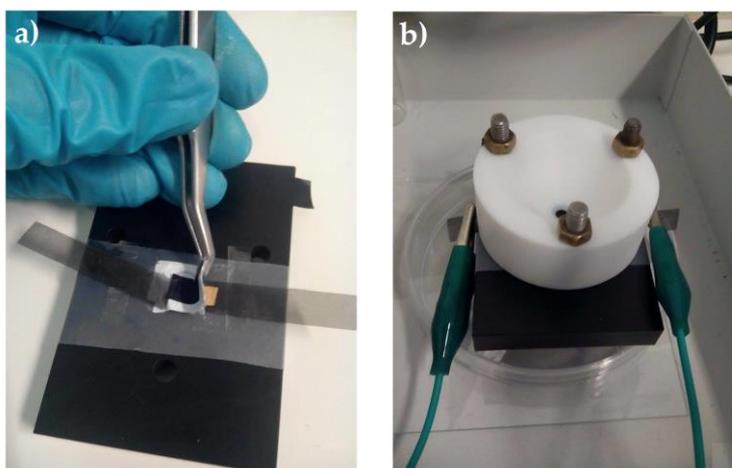


Figura 2.10 - Montagem para o procedimento prático da voltametria cíclica. Em a) a montagem da biobateria com o elétrodo de ouro, o separador e o elétrodo de PEDOT. Em b) a célula aparafusada e os elétrodos de trabalho e de referência ligados ao potencióstato.

2.4.8. Tensão de circuito aberto

A tensão de circuito aberto, V_{OC} , é a tensão máxima que o dispositivo consegue produzir que ocorre quando a corrente é zero.

Procedimento experimental

Para medir a tensão de circuito aberto, recorreu-se à célula usada no procedimento experimental da voltametria cíclica (secção 2.4.7.) para a mesma estrutura de biobateria em estudo. Foi usada a aplicação *Open Circuit* do potencióstato, com o qual se fez a aquisição de dados durante 1 hora para duas membranas produzidas com os parâmetros já otimizados.



Apresentação e discussão de resultados

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos no estudo de otimização do revestimento de PEDOT e posteriormente da caracterização do eletrodo produzido bem como da sua integração na biobateria.

3.1. Otimização do processo de revestimento das membranas

Para a otimização do processo de revestimento das membranas de acetato de celulose com o polímero condutor (PEDOT) recorreu-se a dois estudos: o primeiro que estuda a condutividade elétrica das membranas revestidas em função da concentração de cloreto de ferro (III) (agente oxidante) utilizado na solução oxidante e do tempo de imersão na mesma e o segundo que analisa a condutividade elétrica em função do tempo de polimerização.

Para realizar estes estudos recorreu-se ao cálculo da condutividade elétrica planar e às imagens obtidas por SEM das membranas obtidas com os parâmetros em estudo.

3.1.1. Estudo da influência da concentração de agente oxidante na condutividade elétrica das membranas

Numa primeira fase os parâmetros otimizados foram a concentração de FeCl_3 na solução oxidante e o tempo de imersão das membranas na mesma, mantendo constante o tempo de polimerização. Os resultados obtidos encontram-se na tabela 3.1 e estão representados na figura 3.1. É possível inferir que para a concentração de 10 g/L de FeCl_3 a condutividade elétrica da membrana é semelhante à da membrana de acetato de celulose sem qualquer revestimento e é menor

em relação às outras concentrações testadas. Esta diferença de oito ordens de grandeza pode ter origem no facto da baixa concentração de agente oxidante implicar um processo de polimerização menos acentuado. Também a inexistência de cargas móveis suficientes para incrementar a condutividade do polímero pode estar na origem do valor baixo de condutividade elétrica para uma concentração de agente oxidante de 10 g/L.

Tabela 3.1 - Valores de condutividade elétrica obtidos para diferentes concentrações de FeCl₃ na solução oxidante e para diferentes tempos de imersão das membranas na solução, usando 0,5 ml de monómero (EDOT).

$t_{\text{polimerização}}$ (minutos)	[FeCl ₃] (g/L)	$t_{\text{imersão}}$ (minutos)	$\sigma_{\text{média}}$ (S/cm)
120	80	60	$6,4 \pm 4,9$
		30	$5,0 \pm 3,6$
		15	$2,4 \pm 1,1$
	40	60	$5,7 \pm 2,4$
		30	$1,9 \pm 0,6$
		15	$3,3 \pm 1,5$
	10	60	$4,4 \times 10^{-2} \pm 2,5 \times 10^{-2}$
		30	$3,3 \times 10^{-8} \pm 2,8 \times 10^{-8}$
		15	$4,8 \times 10^{-8} \pm 2,7 \times 10^{-8}$
Membrana de AC sem revestimento			$1,2 \times 10^{-9} \pm 1,0 \times 10^{-10}$

De notar que para uma concentração de 10 g/L, 60 minutos de imersão aumentam a condutividade de forma acentuada, o que não acontece para as outras concentrações (40 g/L e 80 g/L). Também foi possível observar um aumento da condutividade com o aumento da concentração de FeCl₃ (mais evidente na tabela 3.1).

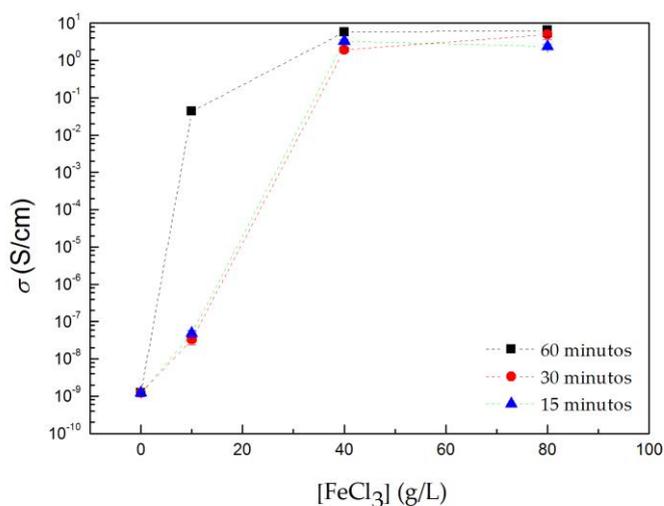


Figura 3.1 - Condutividade elétrica para três tempos de imersão em função da concentração de FeCl₃ na solução oxidante para 0,5 ml de monómero (EDOT).

Embora não haja uma diferença significativa entre a condutividade elétrica das duas concentrações de agente oxidante mais altas, este aumento pode indicar que, devido à maior concentração de FeCl₃ à superfície das fibras, maior é a quantidade de polímero formado, estabelecendo-se assim uma relação proporcional entre a quantidade de agente oxidante na solução onde a membrana é imersa e os valores de condutividade elétrica do seu revestimento. O facto das membranas sujeitas à concentração de cloreto de ferro (III) mais alta apresentarem um aspeto mais frágil e quebradiço é também um indicativo de que a condutividade elétrica pode ser comprometida. Este resultado pode ter origem no facto das fibras de acetato de celulose sofrerem alguma degradação consequente do uso de uma solução de FeCl₃. Este agente oxidante foi já relatado noutros trabalhos como tendo esse efeito em fibras de acetato de celulose. [71]

Como será visível de seguida, relacionando os dados da tabela 3.2 com as ilações retiradas das figuras 3.2, 3.3, 3.4, e 3.5 é possível inferir que a escolha da concentração da solução oxidante e do tempo de imersão das membranas na mesma gera um compromisso entre a morfologia e condutividade das membranas.

Na tabela 3.2 é possível visualizar um aumento do valor da condutividade elétrica média (ainda que pouco significativo para concentrações elevadas, 40g/L e 80g/L, como constatado na tabela anterior) bem como do diâmetro médio das fibras para o aumento da concentração de agente oxidante.

Tabela 3.2 - Diâmetro médio das fibras e condutividades das imagens de SEM 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, produzidas com diferentes tempos de imersão e diferentes concentrações de FeCl₃ na solução oxidante, para um tempo de polimerização de 2 horas e 0,5 ml de EDOT.

Figura	[FeCl ₃] (g/L)	$t_{imersão}$ (min)	$\sigma_{média}$ (S/cm)	Diâmetro médio (nm)
3.2	80	30	$3,7 \pm 0,5$	549 ± 143
3.3	40	30	$2,5 \pm 0,8$	468 ± 97
3.4	40	15	$3,2 \pm 0,2$	402 ± 120
3.5	10	15	$4,8 \times 10^{-8} \pm 2,7 \times 10^{-8}$	341 ± 95

A figura 3.2. diz respeito a uma membrana submetida a 30 minutos de imersão na solução oxidante de concentração 80 g/L. A elevada concentração de agente oxidante utilizada pode comprometer a morfologia das fibras, tal como se pode comprovar na figura 3.2 a), resultando na fusão das mesmas e no aparecimento de agregados. A aglomeração das partículas de PEDOT na superfície das fibras pode explicar o elevado diâmetro das fibras (figura 3.2 b)) e a aparente diminuição de poros da membrana.

Laforge e os seus colaboradores sugerem, em trabalhos recentes, que o aumento da concentração da solução oxidante pode criar aglomerados entre os poros da membrana devido ao aumento da viscosidade da solução limitando desta forma a porosidade da membrana. [72]

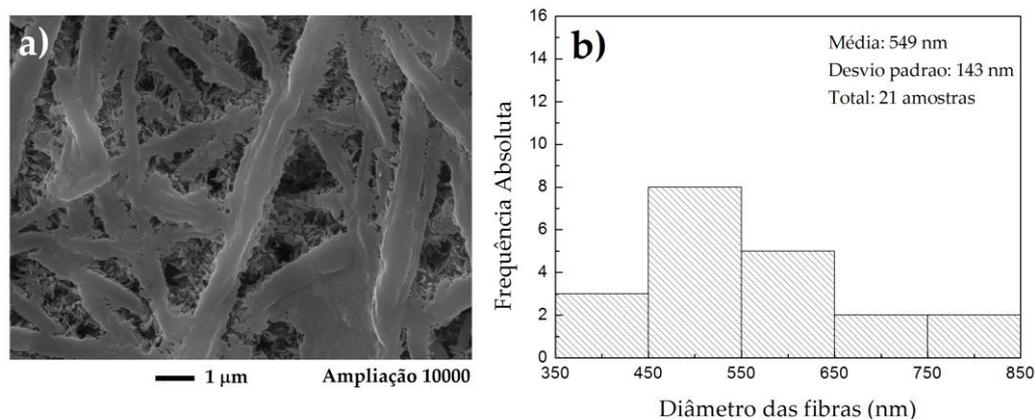


Figura 3.2 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 30 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 80 g/L.

A figura 3.3 a), tal como a anterior, apresenta uma aparente fusão de fibras mas um revestimento mais uniforme, não sendo visível a uma aglomeração de PEDOT tão acentuada à superfície das fibras. As duas membranas representadas nas figuras possuem o mesmo tempo de imersão, no entanto a concentração do agente oxidante é diferente o que permite concluir que quanto mais elevadas as concentrações de FeCl_3 mais acentuada é a produção de PEDOT na superfície das fibras e, como tal, a diminuição da porosidade da membrana é superior. Este resultado pode ser corroborado através dos histogramas (figura 3.2 b) e figura 3.3 b)) que evidenciam um diâmetro médio de fibras superior para a membrana sujeita a uma maior concentração de FeCl_3 ; e pela tabela 3.2 que comprova um valor médio de condutividade elétrica superior para a membrana da figura 3.2.

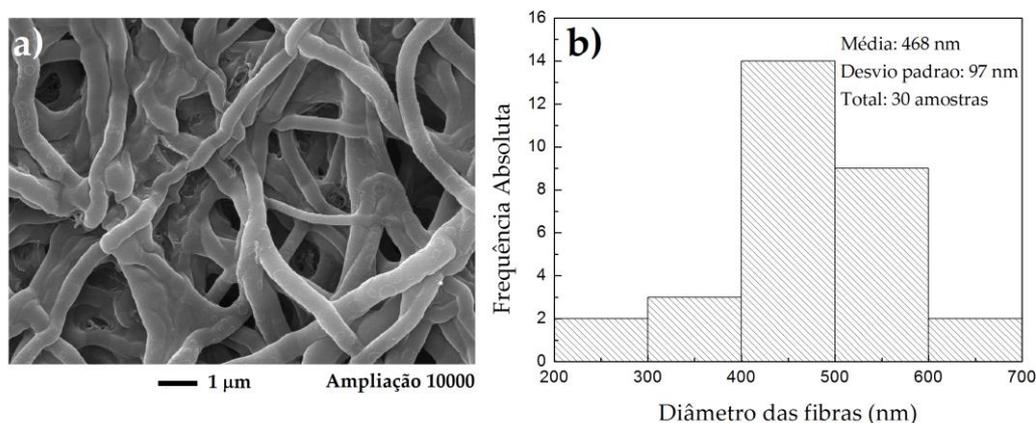


Figura 3.3 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 30 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 40 g/L.

Comparando a figura 3.3 a) com a figura 3.4 a), cuja diferença é o tempo de imersão, é possível concluir que o tempo de imersão na solução oxidante com a concentração de 40g/L de agente oxidante também influencia a morfologia das membranas.

Na figura 3.3 é possível observar uma ligeira fusão de fibras contrariamente à 3.4 para a qual se verifica um revestimento uniforme não comprometendo a morfologia nem a condutividade elétrica da membrana. A distribuição dos diâmetros das membranas acima referidas encontram-se apresentados nas figuras 3.3 b) e 3.4 b) evidenciando a distinção decorrente do uso de tempos de imersão diferentes, para a mesma concentração de agente oxidante.

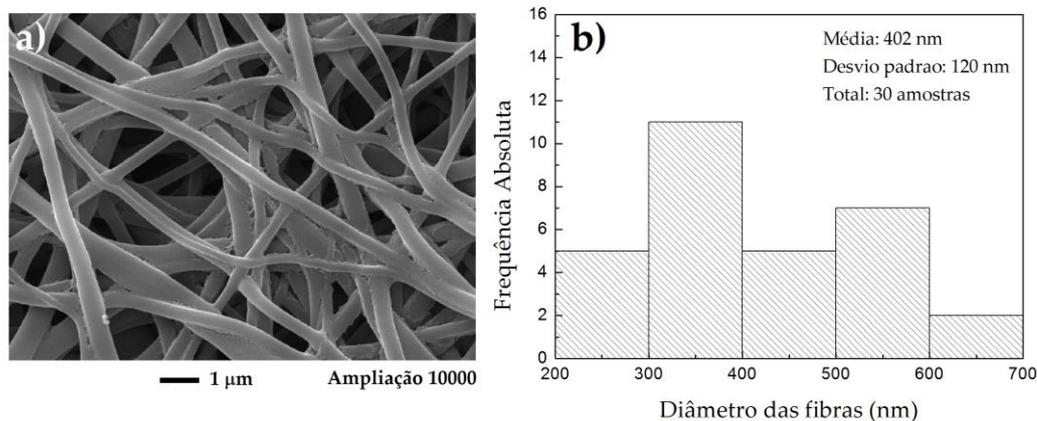


Figura 3.4 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 15 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 40 g/L.

A diferença entre as membranas das figura 3.4 e figura 3.5 é a concentração de agente oxidante usada. Embora as figura 3.4 a) e 3.5 a) sejam semelhantes em termos morfológicos, esta última apresenta uma distribuição de diâmetros mais uniforme. Como a formação de PEDOT não foi tão acentuada para a membrana da figura 3.5 devido à baixa concentração de FeCl_3 , o valor de condutividade elétrica é menor que a membrana da figura 3.4 o que evidencia a menor produção de PEDOT.

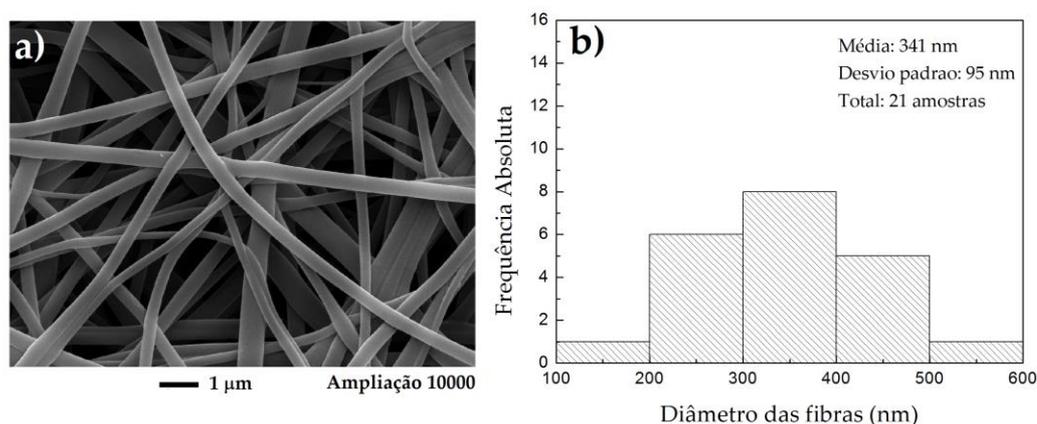


Figura 3.5 - a) Imagem de SEM e b) histograma do diâmetro das fibras. Esta amostra foi obtida com um tempo de polimerização de 2 horas e tempo de imersão de 15 minutos na solução oxidante com concentração de agente oxidante de 10 g/L.

Uma vez que o agente oxidante trata-se de um reagente tóxico e como a concentração da solução oxidante pode interferir na degradação das fibras de AC e, conseqüentemente, na flexibilidade das membranas, foi escolhida, para o estudo do tempo de polimerização, a concentração de 40g/L de FeCl₃ na solução oxidante.

A utilização desta concentração dá origem a membranas com condutividades com a mesma ordem de grandeza para diferentes tempos de imersão na solução oxidante (evidenciados nas tabelas 3.1 e 3.2). Por este motivo optou-se por estudar os dois menores tempos de forma a otimizar também a duração do processo de revestimento.

3.1.2. Estudo da influência do tempo de polimerização na condutividade elétrica das membranas

Os valores obtidos para este estudo encontram-se na tabela 3.3 e representados na figura 3.6, tendo sido registado um aumento significativo de condutividade para 120 minutos de polimerização.

Tabela 3.3 - Valores de condutividade elétrica obtidos para diferentes tempos de polimerização usando 0,5 ml de monómero (EDOT) e diferentes tempos de imersão das membranas na solução oxidante com 40 g/L de concentração de FeCl₃.

[FeCl ₃] (g/L)	<i>t</i> _{polimerização} (minutos)	<i>t</i> _{imersão} (minutos)	σ (S/cm)
40	30	30	1,6 ± 1,5
		15	$6,3 \times 10^{-1} \pm 4,6 \times 10^{-1}$
	60	30	2,4 ± 1,1
		15	2,0 ± 1,3
	120	30	5,1 ± 4,5
		15	6,0 ± 3,1
	150	30	1,8 ± 0,5
		15	1,5 ± 0,7
Membrana de AC sem revestimento			$1,2 \times 10^{-9} \pm 1,0 \times 10^{-10}$

Para uma duração de tempo de polimerização abaixo de 120 minutos verificou-se que a condutividade elétrica é menor o que revela existir um tempo mínimo para que se forme um revestimento uniforme ao longo das fibras e possibilite a passagem de corrente na mesma. A diminuição do valor da condutividade elétrica para um tempo de polimerização de 150 minutos pode ser explicado pelo facto das membranas se tornarem mais frágeis e quebradiças devido ao

elevado tempo de polimerização. A exposição prolongada a vapores de EDOT pode afetar a estrutura da celulose e a morfologia das fibras fazendo com que estas fiquem mais quebradiças, influenciando a condutividade.

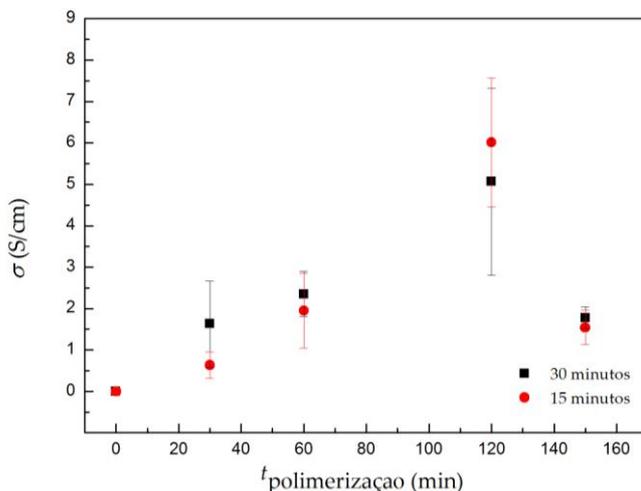


Figura 3.6 - Condutividades elétricas das membranas em função do tempo de polimerização usando 0,5 ml de EDOT. Para cada tempo de polimerização foi também analisada a influência do tempo de imersão das membranas na solução oxidante (15 e 30 minutos).

É possível então concluir que os parâmetros favoráveis para a produção de eletrodos flexíveis e condutores são 40 g/L de FeCl_3 na solução oxidante, um tempo de imersão na mesma de 15 minutos e tempo de polimerização de 120 minutos.

De seguida, efetuou-se a caracterização da composição química, estrutural, morfológica, elétrica e eletroquímica das membranas revestidas com PEDOT utilizando as condições otimizadas na secção anterior.

3.2. Espectroscopia de infravermelhos por Transformada de Fourier (FTIR)

Nas figuras 3.7 e 3.8 encontra-se representado o espectro de frequências para uma membrana de acetato de celulose sem revestimento e para outra revestida com PEDOT, respetivamente.

Na figura 3.7, nos números de onda de 1032 cm^{-1} e 1225 cm^{-1} encontram-se os picos referentes à distensão simétrica C-O do álcool primário e à distensão C-O do grupo acetil, respetivamente. Em 1161 cm^{-1} situa-se o pico associado à distensão das pontes antissimétricas C-O-C e em

1368 cm^{-1} surge o pico associado à deformação C-H. Aos 1435 cm^{-1} encontra-se o pico associado à flexão do grupo CH_2 e da flexão do grupo hidroxilo no plano. [73] O pico associado à flexão do grupo éter tem o número de onda 1641 cm^{-1} e em 1740 cm^{-1} encontra-se o pico referente à distensão do grupo funcional carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) éster. [74] O pico presente em 2952 cm^{-1} é atribuído à distensão da ligação C-H dos grupos CH_2 e CH_3 e o pico registado em 3486 cm^{-1} diz respeito à distensão do grupo hidroxilo. [73]

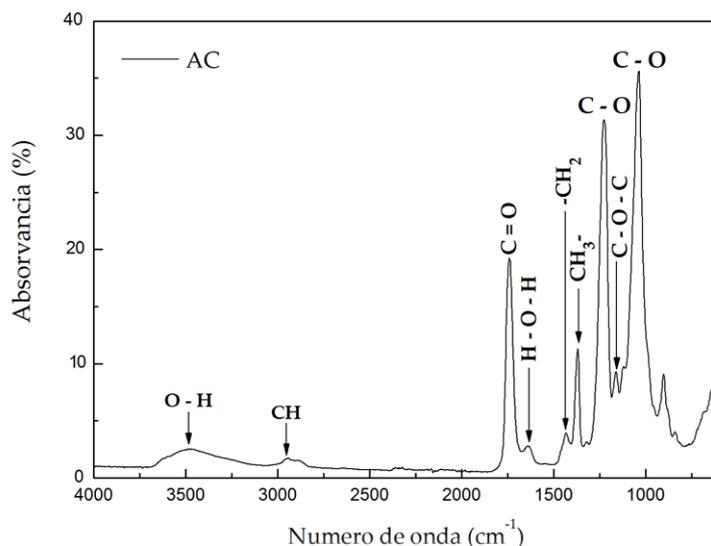


Figura 3.7 - Espectro obtido através de FTIR para uma amostra de acetato de celulose.

As ligações características do PEDOT que o diferenciam do acetato de celulose são as de carbono com enxofre no anel de tiofeno. A distensão destes grupos, representada na figura 3.8, surge nos números de onda 685 cm^{-1} , 821 cm^{-1} e 973 cm^{-1} . [48] Os picos assinalados com os números de onda 1073 cm^{-1} , 1235 cm^{-1} , 1310 cm^{-1} e 1452 cm^{-1} podem pertencer ao acetato de celulose ou ao PEDOT. [73] [75]

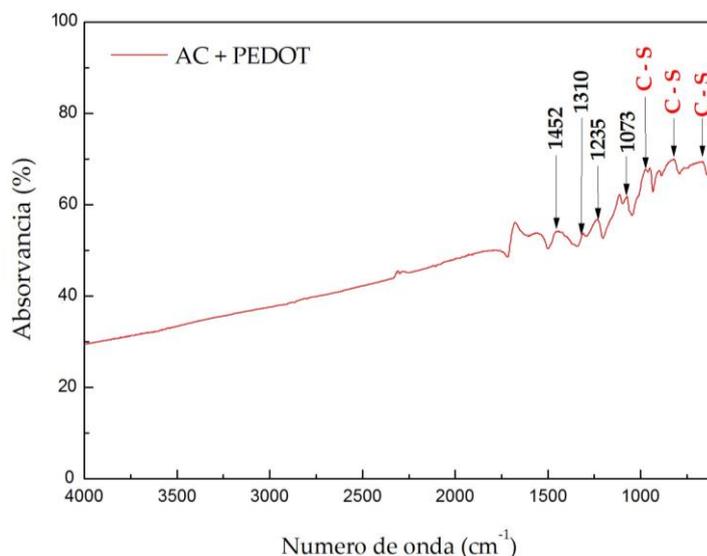


Figura 3.8 - Espectro obtido através de FTIR para a amostra de acetato de celulose revestida com PEDOT.

3.3 Cristalografia por Difração de Raios-X

Na figura 3.9 é apresentado o espectro obtido por cristalografia de DRX que permite inferir que o elétrodo possui uma estrutura amorfa na medida em que não existe nenhum pico de elevada intensidade que evidencie a presença de cristais. [76] Tal como evidenciado em trabalhos anteriores, o PEDOT apresenta uma pequena banda para um ângulo de, aproximadamente, 20°. [77][76]

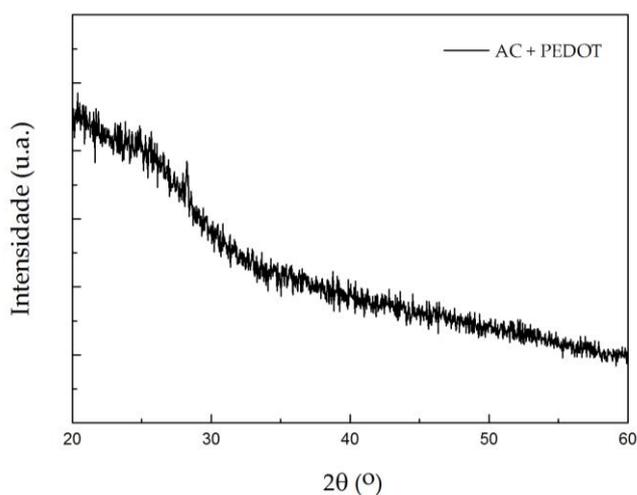


Figura 3.9 - Espectro da difração de raios-X obtido para a amostra de acetato de celulose revestido com PEDOT.

3.4. TEM

As imagens obtidas por TEM (figura 3.10) mostram um revestimento denso e bastante uniforme. Segundo estudos encontrados na literatura, os revestimentos de PEDOT e PPI produzido por VPP são morfologicamente distintos: o revestimento com PEDOT apresenta um aspeto mais denso e suave quase não se diferenciando do substrato usado, e o de polipirrol apresenta pequenos aglomerados de polímero na superfície das fibras. [72] Este facto sugere que a formação de PEDOT cria revestimentos de valores de condutividade elétrica mais elevados realçando assim a sua natureza altamente condutora em relação a outros polímeros condutores.

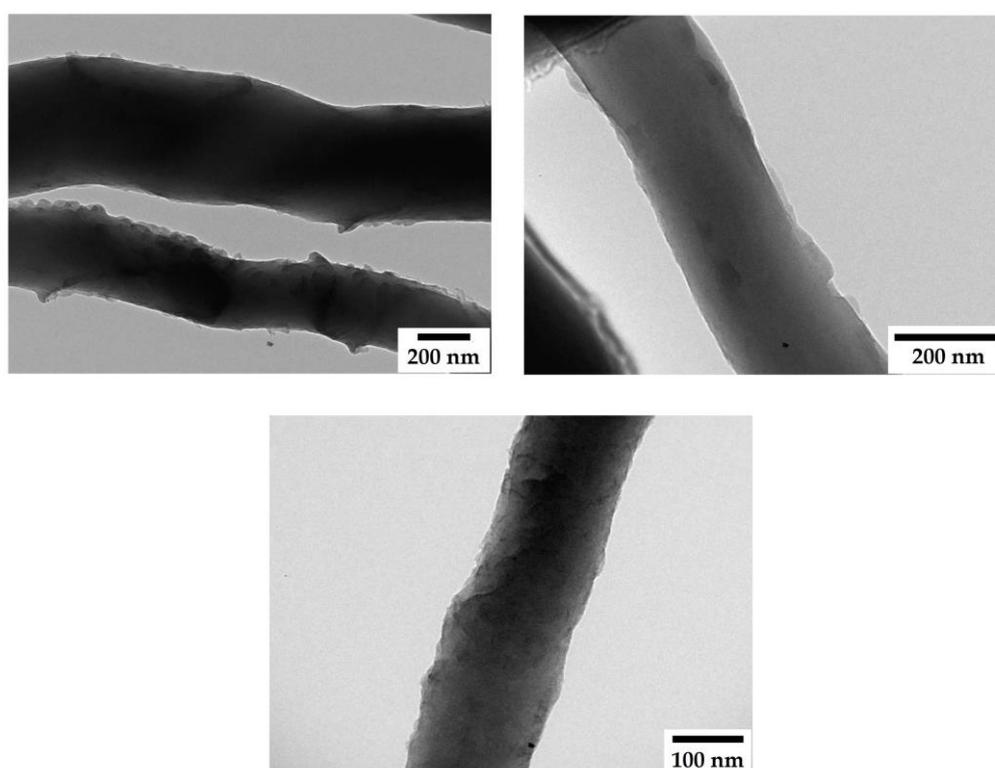


Figura 3.10 - Imagens de TEM para a amostra obtida com os parâmetros otimizados.

3.5. Condutividade elétrica

Para avaliar a estabilidade da condutividade elétrica das membranas revestidas com PEDOT, esta foi determinada para diferentes tempos de imersão em solução salina. Um dos principais objetivos associados à produção de dispositivos médicos recorrendo a polímeros condutores é a otimização e maximização da estabilidade elétrica. [78] Tal como reportado em trabalhos anteriores, a perda de condutividade elétrica das membranas de acetato de celulose revestidas com

PPI e PANi após imersão em PBS é uma grande desvantagem quando se visa a produção de eléctrodos para biobaterias implantáveis. [11] Assim, a condutividade das membranas foi determinada antes e após 7, 42 e 61 dias de imersão.

Através do gráfico representado na figura 3.11 é possível inferir que a condutividade eléctrica diminui ligeiramente ao longo do tempo mas mantendo-se na mesma ordem de grandeza (10^0 S/cm), como é possível constatar através dos valores apresentados na tabela 3.4.

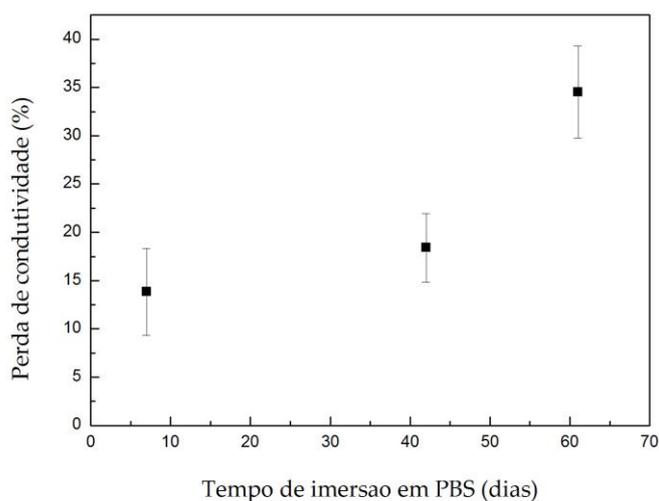


Figura 3.11 - Gráfico obtido para o estudo da estabilidade eléctrica para três tempos.

Desta forma é possível afirmar que o revestimento mantém a sua capacidade condutora demonstrando o seu potencial enquanto eléctrodo para dispositivos implantáveis. No entanto, é de referir que este estudo deveria ter sido realizado tendo em conta períodos de tempo mais elevados.

Tabela 3.4 - Evolução da perda de condutividade decorrente da degradação sofrida para duas membranas imersas em PBS durante cada um dos três tempos (7, 42 e 61 dias).

Tempo (dias)	$\sigma_{\text{média inicial}}$ (S/cm)	$\sigma_{\text{média final}}$ (S/cm)
7	$3,4 \pm 0,3$	$3,1 \pm 0,1$
	$6,4 \pm 1,0$	$5,2 \pm 1,3$
42	$3,7 \pm 0,6$	$2,9 \pm 0,4$
	$2,4 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,5$
61	$5,5 \pm 1,8$	$3,3 \pm 0,9$
	$4,0 \pm 0,7$	$2,8 \pm 0,3$

3.6. Tensão de circuito aberto

Na figura 3.12 encontra-se representado o gráfico obtido para a tensão de circuito aberto para uma biobateria composta por PEDOT/AC/rede ouro. É possível verificar que a tensão estabilizou após 20 minutos para os testes 1 e 2. A espessura do eletrodo usado para o teste 1 e para o teste 2 foi $160,0 \pm 3,2 \mu\text{m}$ e $170,2 \pm 7,3 \mu\text{m}$, respetivamente.

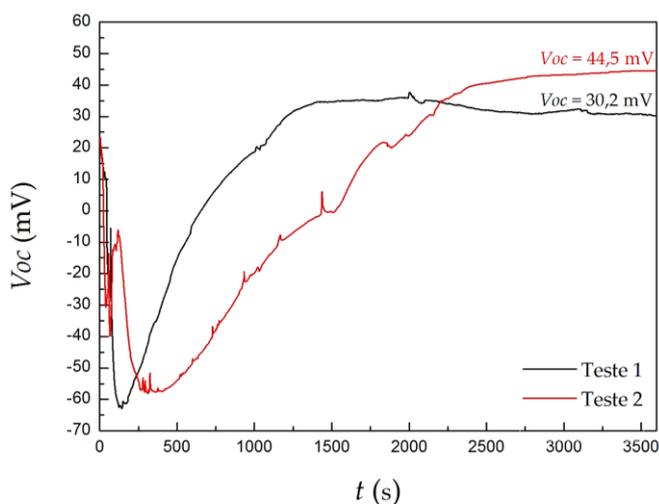


Figura 3.12 - Gráfico da tensão de circuito aberto (V_{oc}) dos dois testes obtidos durante 1 hora para a biobateria em estudo, usando 0,1 ml de SBF. No equilíbrio, figura em cima de cada linha o correspondente valor de V_{oc} produzido.

No gráfico é possível visualizar uma descida do valor de tensão para ambos os testes, no início da aquisição de dados. Esta descida pode ter sido originada pelo tempo que o eletrólito demorou a se difundir através da biobateria. Os valores de equilíbrio atingidos pelos dois testes são superiores em uma ordem de grandeza aos registados em trabalhos anteriores usando eletrodos de PAni e o PPI. [11]

3.7. Efeito de Seebeck

Com as medições efetuadas foi possível obter o seguinte coeficiente de Seebeck:

$$S = 30,3 \pm 6,4 \mu\text{V/K}$$

Como o valor obtido é positivo é possível inferir que o eletrodo de PEDOT otimizado é do tipo *p* e por isso os transportadores de carga são positivos e o eletrodo é anódico.

3.8. Voltametria cíclica

Através da voltametria cíclica é possível inferir quais as reações que ocorrem na biobateria aquando do contacto com o eletrólito. Podem ser tiradas ilações também sobre a estabilidade eletroquímica da biobateria e a viabilidade do eletrólito usado.

3.8.1. Estudo efetuado na presença de SBF

Na tabela 3.5 encontra-se descrito o plano dos dois estudos a efetuar usando o SBF como eletrólito.

Tabela 3.5 - Estudos efetuados na presença de SBF como eletrólito.

SBF	Estudo 1 Velocidade de varrimento				Estudo 2 Estabilidade
Número de ciclos	10				50
Velocidade de varrimento (mV/s)	25	40	80	100	Melhor velocidade obtida no Estudo 1
Espessura da membrana separadora (μm)	159,0 \pm 6,9				163,4 \pm 8,9

No estudo 1 foram testadas várias velocidades de varrimento (figura 3.13) e foram analisadas as curvas referentes ao 5º ciclo. A velocidade de 40 mV/s produziu picos de oxidação-redução mais definidos acompanhado de elevada densidade de corrente (4,49 mA/cm² de densidade de corrente anódica). No gráfico obtido é possível visualizar a existência de dois picos anódicos (0,12 V e 0,37 V) e dois picos catódicos (0,03 V e -0,41 V) que descrevem duas reações de oxidação e duas reações de redução, respetivamente.

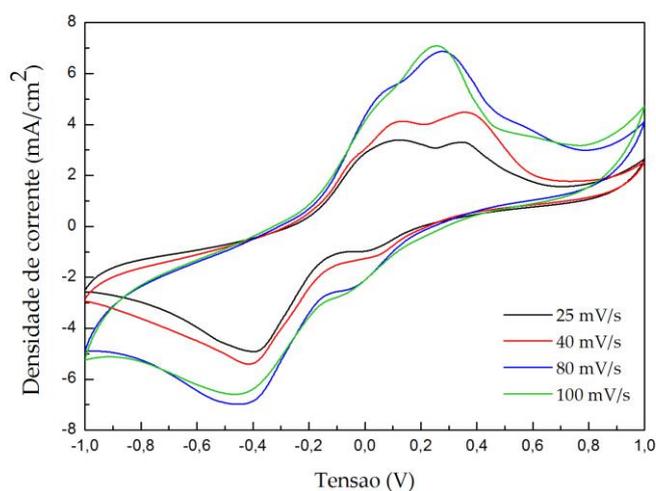


Figura 3.13 - Voltamogramas referentes ao 5º ciclo usando SBF como eletrólito, obtidos para várias velocidades de varrimento.

A estabilidade da biobateria (estudo 2) foi testada usando 40 mV/s de velocidade de varrimento e 50 ciclos. A curvatura das linhas manteve-se semelhante ao longo dos ciclos embora a densidade de corrente tenha oscilado ligeiramente (ver figura 3.14).

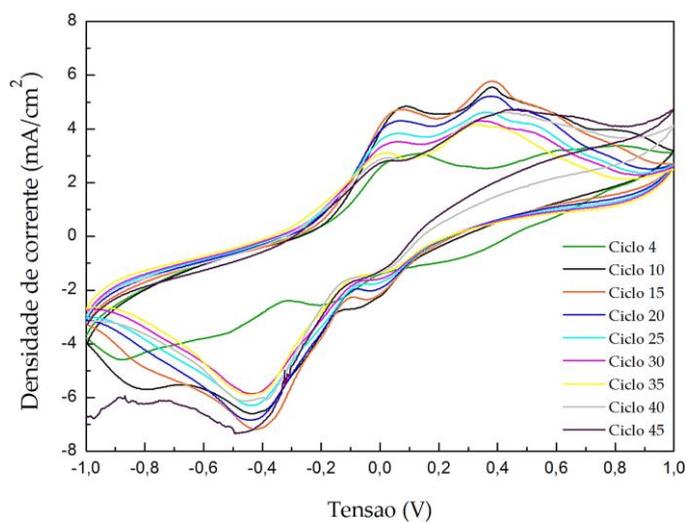


Figura 3.14 - Voltamogramas de vários ciclos obtidos utilizando SBF como eletrólito e uma velocidade de varrimento de 40 mV/s.

É possível então inferir que a biobateria é electroquimicamente estável até ao 45º ciclo, quando o gráfico mostrou sinais de instabilidade e possível curto-circuito. No entanto, é importante referir que este número de ciclos não é suficiente para assegurar a estabilidade de um dispositivo electroquímico.

3.8.2. Estudo efetuado na presença de SBF combinado com várias concentrações de glucose, na proporção 1:1

Na tabela 3.6 encontra-se o plano dos estudos a efetuar usando SBF e glucose na proporção 1:1 como eletrólito.

Tabela 3.6 - Estudos efetuados usando SBF e glucose, na proporção 1:1, como eletrólito.

SBF + Glucose	Estudo 1				Estudo 2			
	Velocidade de varrimento				Concentração de Glucose			
Número de ciclos	10				10			
Velocidade de varrimento (mV/s)	25	40	80	100	Melhor velocidade obtida no Estudo 1			
Concentração de Glucose (g/L)	0,5				0,5	0,7	1,2	2
Espessura do separador (µm)	165,0 ± 4,1				167,2 ± 5,8	159,8 ± 6,8	164,8 ± 3,1	166,2 ± 5,5

Para este estudo, primeiramente foram testadas várias velocidades de varrimento (figura 3.15) para uma concentração de glucose de 0,5 g/L e foram analisadas as curvas referentes ao 5º ciclo. A velocidade de varrimento de 80 mV/s produziu uma curva com maior definição dos picos *redox* bem como valores elevados de densidade de corrente.

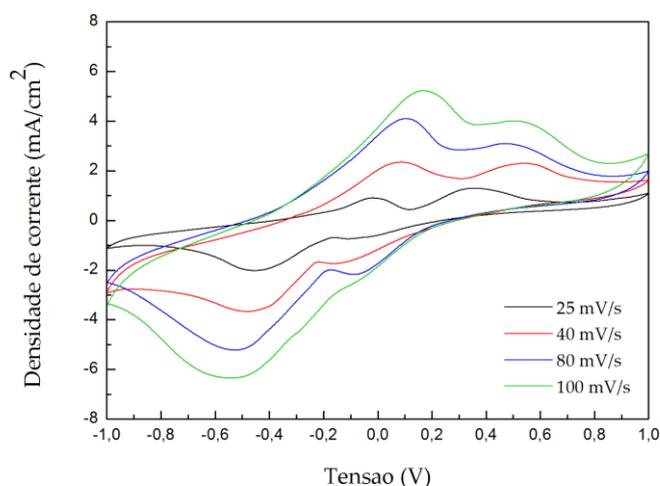


Figura 3.15 - Curvas obtidas para várias velocidades de varrimentos para a concentração de glucose de 0,5 g/L.

Os ensaios realizados a uma velocidade de varrimento de 80 mV/s (ver fig 3.16) permitem concluir que é possível obter elevada densidade de corrente que pode chegar aos 9 mA/cm² para uma concentração de 0,7 g/L. No entanto, usando a velocidade de varrimento em questão, não foi possível distinguir as várias concentrações de glucose em função das curvas de densidade de corrente que cada concentração produz.

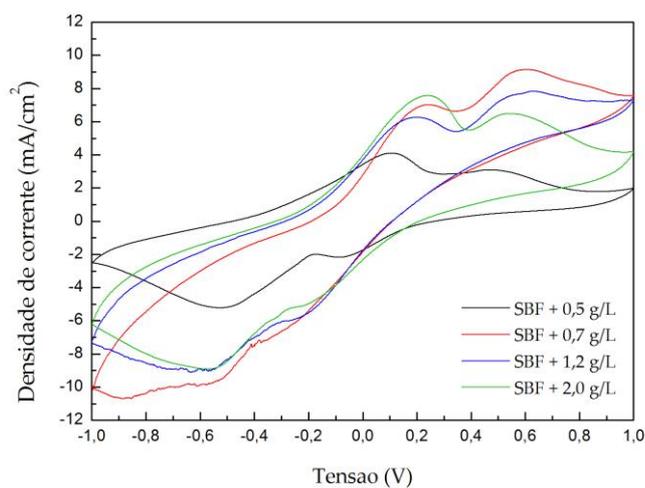


Figura 3.16- Curvas obtidas para a velocidade de 80mV/s para várias concentrações de glucose.

Ao contrário do que acontece com 80 mV/s, usando uma velocidade de 40 mV/s existe diferenciação das curvas conforme a concentração de glucose (figura 3.17). As curvas analisadas são referentes ao 5º ciclo sendo que para todas são detetados dois picos anódicos aproximadamente em 0,08 V e 0,48 V e dois picos catódicos aproximadamente em -0,10 V e -0,46 V.

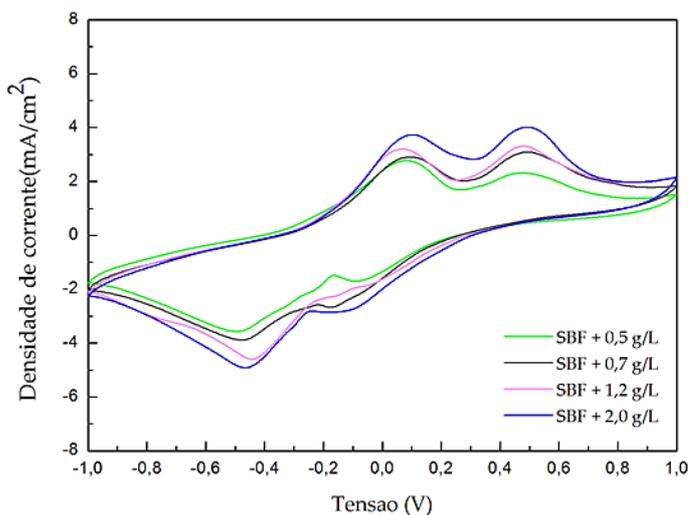


Figura 3.17 - Curvas obtidas para a velocidade de 40mV/s para várias concentrações de glucose.

A distinção existente entre as curvas é proporcional à concentração como é possível verificar não só na figura 3.17 mas também na tabela 3.7, onde se encontram os valores máximos de densidade de corrente dos segundos picos anódico e catódico referentes ao PEDOT.

Tabela 3.7 - Densidades de corrente para os segundos picos anódico e catódico para as várias concentrações de glucose testadas.

Concentrações de glucose (com SBF) (g/L)	J_{pa} (mA/cm ²)	J_{pc} (mA/cm ²)
0,5	2,30	- 3,57
0,7	3,08	- 3,89
1,2	3,30	- 4,60
2,0	4,00	- 4,91

Este resultado é vantajoso na medida em que viabiliza a discriminação de concentrações de glucose na corrente sanguínea podendo depois gerar diferentes respostas no dispositivo em que a biobateria for aplicada.



Conclusões e perspectivas futuras

O trabalho efetuado permitiu produzir um eletrodo polimérico e uma membrana separadora que, quando integrados com um cátodo e uma solução de glucose, formam uma biobateria capaz de produzir energia elétrica através da degradação do eletrólito.

Primeiramente o processo de produção do eletrodo foi otimizado tendo-se verificado que os melhores resultados de condutividade elétrica, flexibilidade e porosidade de membrana são registados para 15 minutos de imersão numa solução aquosa com uma concentração de cloreto de ferro (III) de 40 g/L e tempo de polimerização de 2 horas. Concluiu-se que uma concentração demasiado alta de agente oxidante provoca a sua acumulação na superfície das fibras de AC que, ao serem sujeitos aos vapores dos monómeros polimerizam entre as fibras diminuindo a porosidade da membrana. A concentração elevada de FeCl_3 pode ainda estar na génese da deterioração das fibras de acetato de celulose. Por outro lado as concentrações mais baixas de FeCl_3 produziram revestimentos menos condutores o que pode ser explicado com o facto da fraca concentração de agente oxidante não permitir a formação de maior quantidade de PEDOT. O tempo de imersão por sua vez não exerceu influência relevante sobre a condutividade obtida pelo que foi escolhido o menor tempo por uma questão de otimização de duração do processo. O tempo de polimerização a que a membrana é sujeita é um parâmetro que potencia a formação do revestimento polimérico condutor mas que, ultrapassado o valor ótimo, pode comprometer a flexibilidade das membranas e tornar as fibras mais propensas a potenciais fraturas e por isso à diminuição da sua condutividade elétrica. Esta consequência pode advir da deterioração das fibras de AC e da acumulação de PEDOT na sua superfície.

Numa segunda fase foi realizada a caracterização do elétrodo e do mesmo aplicado na biobateria. A espectroscopia evidencia a presença do revestimento de PEDOT sobre as fibras de acetato de celulose e a cristalografia por DRX permitiu confirmar a estrutura amorfa dos materiais que compõem elétrodo. As imagens obtidas por TEM permitiram verificar a uniformidade do revestimento formado pelo PEDOT. A formação de uma camada uniforme e coesa de PEDOT permite explicar os valores elevados de condutividade elétrica obtidos.

O elétrodo apresentou um coeficiente de Seebeck positivo o que permite inferir que este possui um carácter anódico. A estabilidade e a densidade de corrente produzida foram analisadas recorrendo à voltametria cíclica tendo-se verificado a estabilidade durante 45 ciclos e um valor máximo de densidade de corrente anódico de $4,00 \text{ mA/cm}^2$. De notar que os testes realizados provam a discriminação da densidade de corrente das curvas obtidas para as várias concentrações de glucose. Este ensaio é um indicativo de que a biobateria poderá atuar conforme a quantidade de glucose presente no fluido corporal em contacto com o dispositivo.

Futuramente a temperatura de polimerização e o agente oxidante usado devem ser parâmetros a testar a fim de otimizar os valores de condutividade do elétrodo produzido. Para poder ser integrado num dispositivo implantável e atuar num organismo vivo sem produzir efeitos nefastos, o elétrodo criado deve ser sujeito a vários testes de biocompatibilidade, como por exemplo ensaios de citotoxicidade. Deve ser também levado a cabo um estudo para avaliar a degradação das membranas revestidas com PEDOT. A estabilidade da biobateria é também um importante ponto a melhorar e, embora a densidade de corrente elétrica produzida seja suficiente para alimentar certos dispositivos implantáveis, é necessário testar outras concentrações de glucose e velocidades de varrimento para verificar se ocorre uma distinção mais evidente das curvas associadas a cada concentração.

A produção de filmes condutores usando PEDOT é uma opção interessante e alternativa às membranas de nanofibras que pode ser estudada no sentido de se obter uma comparação dos resultados obtidos aquando a sua aplicação na biobateria.

Referências bibliográficas

- [1] X. Wei and J. Liu, "Power sources and electrical recharging strategies for implantable medical devices," *Front. Energy Power Eng. China*, vol. 2, no. 1, pp. 1–13, 2008.
- [2] S. Li, Z. P. Guo, C. Y. Wang, G. G. Wallace, and H. K. Liu, "Flexible cellulose based polypyrrole–multiwalled carbon nanotube films for bio-compatible zinc batteries activated by simulated body fluids," *J. Mater. Chem. A*, vol. 1, pp. 14300 – 14305, 2013.
- [3] A. C. Baptista, J. I. Martins, E. Fortunato, R. Martins, J. P. Borges, and I. Ferreira, "Thin and flexible bio-batteries made of electrospun cellulose-based membranes," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 26, no. 5, pp. 2742–2745, 2011.
- [4] U. Z. Siddiqui and A. K. Pathrikar, "The future of energy bio battery," *Int. J. Res. Eng. Technol.*, vol. 2, no. 11, pp. 99–111, 2013.
- [5] A. C. Baptista, J. P. Borges, and I. Ferreira, "Produção de Biobaterias a partir de Membranas obtidas pela Técnica de Electrofiação," *Ciência Tecnol. dos Mater.*, vol. 22, pp. 2–13, 2009.
- [6] V. L. Pushparaj, M. M. Shaijumon, A. Kumar, S. Murugesan, L. Ci, R. Vajtai, R. J. Linhardt, O. Nalamasu, and P. M. Ajayan, "Flexible energy storage devices based on nanocomposite paper," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 104, pp. 13574–13577, 2007.
- [7] S. Cosnier, A. Le Goff, and M. Holzinger, "Towards glucose biofuel cells implanted in human body for powering artificial organs: Review," *Electrochem. commun.*, vol. 38, pp. 19–23, 2014.
- [8] J. Y. Wang, P. C. Nien, C. H. Chen, L. C. Chen, and K. C. Ho, "A glucose bio-battery prototype based on a GDH/poly(methylene blue) bioanode and a graphite cathode with an iodide/tri-iodide redox couple," *Bioresour. Technol.*, vol. 116, pp. 502–506, 2012.
- [9] P. K. Addo, R. L. Arechederra, and S. D. Minteer, "Towards a rechargeable alcohol biobattery," *J. Power Sources*, vol. 196, no. 7, pp. 3448–3451, 2011.
- [10] K. Zelechowska, K. Stolarczyk, D. Łyp, J. Rogalski, K. P. Roberts, R. Bilewicz, and J. F. Biernat, "Aryl and N-arylamide carbon nanotubes for electrical coupling of laccase to electrodes in biofuel cells and biobatteries," *Biocybern. Biomed. Eng.*, vol. 33, no. 4, pp. 235–245, 2013.
- [11] I. Ropio, "Biobaterias alimentadas por glucose para aplicações," Tese de mestrado. Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, 2015.
- [12] K. Stolarczyk, M. Kizling, D. Majdecka, K. Zelechowska, J. F. Biernat, J. Rogalski, and R. Bilewicz, "Biobatteries and biofuel cells with biphenylated carbon nanotubes," *J. Power Sources*, vol. 249, pp. 263–269, Mar. 2014.

- [13] S. D. Minteer, B. Y. Liaw, and M. J. Cooney, "Enzyme-based biofuel cells," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 18, pp. 228–234, 2007.
- [14] J. Kim, H. Jia, and P. Wang, "Challenges in biocatalysis for enzyme-based biofuel cells," *Biotechnol. Adv.*, vol. 24, pp. 296–308, 2006.
- [15] B. Liang, L. Li, X. Tang, Q. Lang, H. Wang, F. Li, J. Shi, W. Shen, I. Palchetti, M. Mascini, and A. Liu, "Microbial surface display of glucose dehydrogenase for amperometric glucose biosensor," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 45, pp. 19–24, 2013.
- [16] Q. Lang, L. Yin, J. Shi, L. Li, L. Xia, and A. Liu, "Co-immobilization of glucoamylase and glucose oxidase for electrochemical sequential enzyme electrode for starch biosensor and biofuel cell," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 51, pp. 158–163, 2014.
- [17] R. Eun, S. Hong, S. Ha, and J. Kim, "Enzyme adsorption, precipitation and crosslinking of glucose oxidase and laccase on polyaniline nanofibers for highly stable enzymatic biofuel cells," *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 66, pp. 35–41, 2014.
- [18] C. M. Madl, P. N. Kariuki, J. Gendron, L. F. J. Piper, and W. E. Jones, "Vapor phase polymerization of poly (3,4-ethylenedioxythiophene) on flexible substrates for enhanced transparent electrodes," *Synth. Met.*, vol. 161, no. 13, pp. 1159–1165, Jul. 2011.
- [19] A. Laforgue and L. Robitaille, "Production of Conductive PEDOT Nanofibers by the Combination of Electrospinning and Vapor-Phase Polymerization," *Macromolecules*, vol. 43, no. 9, pp. 4194–4200, 2010.
- [20] H. Park, S. J. Lee, S. Kim, H. W. Ryu, S. H. Lee, H. H. Choi, I. W. Cheong, and J. H. Kim, "Conducting polymer nanofiber mats via combination of electrospinning and oxidative polymerization," *Polym. (United Kingdom)*, vol. 54, no. 16, pp. 4155–4160, 2013.
- [21] M. Ali, "PEDOT Coated Viscose Fibers by Optimized OCVD Process: Washing and Stretch Sensing Properties," Master Thesis. University of Borås, 2011.
- [22] F. Davis and S. P. J. Higson, "Biofuel cells-Recent advances and applications," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 22, pp. 1224–1235, 2007.
- [23] S. Agarwal, A. Greiner, and J. H. Wendorff, "Functional materials by electrospinning of polymers," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 38, no. 6, pp. 963–991, 2013.
- [24] A. Frenot and I. S. Chronakis, "Polymer nanofibers assembled by electrospinning," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, vol. 8, pp. 64–75, 2003.
- [25] D. A. Cerqueira and R. D. A. Carvalho, "Caracterização de Acetato de Celulose Obtido a partir do Bagaço de Cana-de-Açúcar por ¹H-RMN," *Polímeros*, vol. 20, pp. 85–91, 2010.
- [26] C. Yu, D. R. Long, and C. Vergelati, "Miscibility and dynamical properties of cellulose acetate / plasticizer systems," *Carbohydr. Polym.*, vol. 116, pp. 95–102, 2015.

- [27] K. Balsler, L. Hoppe, T. Eicher, M. Wandel, H.-J. Astheimer, H. Steinmeier, and J. M. Allen, "Cellulose Esters," in *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*, 5th ed., W. Gerhartz, Y. S. Yamamoto, F. T. Champbell, R. Pferrerkorn, and J. F. Rounsaville, Eds. Kingsport, Tennessee: Weinheim, New York, 1986, pp. 365–367.
- [28] H. Kono, H. Hashimoto, and Y. Shimizu, "NMR characterization of cellulose acetate: Chemical shift assignments, substituent effects, and chemical shift additivity," *Carbohydr. Polym.*, vol. 118, pp. 91–100, 2015.
- [29] S. Aldrich, "Cellulose acetate average Mn ~30,000 by GPC | Sigma-Aldrich." [Online]. Available: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/180955?lang=pt®ion=PT>. [Accessed: 28-Sep-2015].
- [30] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnol. Adv.*, vol. 28, no. 3, pp. 325–347, 2010.
- [31] J. Doshi and D. H. Reneker, "Electrospinning process and applications of electrospun fibers," *Conf. Rec. 1993 IEEE Ind. Appl. Conf. Twenty-Eighth IAS Annu. Meet.*, vol. 35, pp. 151–160, 1993.
- [32] D. Liang, B. S. Hsiao, and B. Chu, "Functional electrospun nanofibrous scaffolds for biomedical applications," *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 59, no. 14, pp. 1392–412, Dec. 2007.
- [33] A. Moayeri and A. Aji, "Fabrication of polyaniline/poly (ethylene oxide)/non-covalently functionalized graphene nanofibers via electrospinning," *Synth. Met.*, vol. 200, pp. 7–15, 2015.
- [34] D. Li and Y. Xia, "Electrospinning of Nanofibers: Reinventing the Wheel?," *Adv. Mater.*, vol. 16, no. 14, pp. 1151–1170, Jul. 2004.
- [35] Y. Lim, H. Gwon, J. P. Jeun, and Y. Nho, "Preparation of Cellulose-based Nanofibers Using Electrospinning," in *Nanofibers*, no. February, A. Kumar, Ed. INTECH, 2010, pp. 179–186.
- [36] Z.-M. Huang, Y.-Z. Zhang, M. Kotaki, and S. Ramakrishna, "A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 63, no. 15, pp. 2223–2253, 2003.
- [37] R. Balint, N. J. Cassidy, and S. H. Cartmell, "Acta Biomaterialia Conductive polymers: Towards a smart biomaterial for tissue engineering," *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 6, pp. 2341–2353, 2014.
- [38] D. D. Zhou, X. T. Cui, A. Hines, and R. J. Greenberg, *Implantable Neural Prosthesis 2*. Springer New York, 2010.

- [39] F. Louwet, L. Groenendaal, J. Dhaen, J. Manca, J. Van Luppen, E. Verdonck, and L. Leenders, "PEDOT/PSS: Synthesis, characterization, properties and applications," *Synth. Met.*, vol. 135, pp. 115–117, 2003.
- [40] W. Lövenich, "PEDOT- Properties and applications," *Polym. Sci. Ser. C*, vol. 56, no. 1, pp. 135–143, 2014.
- [41] B. Winther-Jensen and K. West, "Vapor-phase polymerization of 3,4-ethylenedioxythiophene: A route to highly conducting polymer surface layers," *Macromolecules*, vol. 37, no. 12, pp. 4538–4543, 2004.
- [42] H. Yamato, M. Ohwa, and W. Wernet, "Stability of polypyrrole and poly(3,4-ethylenedioxythiophene) for biosensor application," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 397, no. 1, pp. 163–170, 1995.
- [43] W. Feng, Y. Li, J. Wu, H. Noda, and A. Fujii, "Improved electrical and optical properties of Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) via ordered microstructure," *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 19, no. 18, pp. 1–8, 2007.
- [44] A. T. Lawal and G. G. Wallace, "Vapour phase polymerisation of conducting and non-conducting polymers: a review.," *Talanta*, vol. 119, no. 133, pp. 133–143, 2014.
- [45] R. Brooke, M. Fabretto, P. Hojati-Talemi, P. Murphy, and D. Evans, "Evidence for 'bottom up' growth during vapor phase polymerization of conducting polymers," *Polymer (Guildf.)*, vol. 55, no. 16, pp. 3458–3460, 2014.
- [46] R. Brooke, D. Evans, P. Hojati-Talemi, P. Murphy, and M. Fabretto, "Enhancing the morphology and electrochromic stability of polypyrrole via PEG–PPG–PEG templating in vapour phase polymerisation," *Eur. Polym. J.*, vol. 51, pp. 28–36, 2014.
- [47] E. Spain, T. E. Keyes, and R. J. Forster, "DNA sensor based on vapour polymerised pedot films functionalised with gold nanoparticles," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 41, no. 1, pp. 65–70, 2013.
- [48] X. Yang, S. Shang, L. Li, X. M. Tao, and F. Yan, "Vapor phase polymerization of 3,4-ethylenedioxythiophene on flexible substrate and its application on heat generation," *Polym. Adv. Technol.*, vol. 22, no. 6, pp. 1049–1055, 2011.
- [49] M. Mueller, M. Fabretto, D. Evans, P. Hojati-Talemi, C. Gruber, and P. Murphy, "Vacuum vapour phase polymerization of high conductivity PEDOT: Role of PEG-PPG-PEG, the origin of water, and choice of oxidant," *Polymer (Guildf.)*, vol. 53, no. 11, pp. 2146–2151, 2012.
- [50] J. Li, M. Zhang, J. Liu, and Y. Ma, "Effect of attached peroxyacid on liquid phase depositional polymerization of EDOT over PI film with adsorbed ferric chloride," *Synth. Met.*, vol. 198, pp. 161–166, 2014.

- [51] L. Müller and F. a. Müller, "Preparation of SBF with different HCO₃ - content and its influence on the composition of biomimetic apatites," *Acta Biomater.*, vol. 2, pp. 181–189, 2006.
- [52] D. Ball, J. Hill, and R. Scott, "Introduction to Chemistry," *Nature*, vol. 87, no. 2180, pp. 179–179, 1911.
- [53] I. D. Federation and C. De Hulp, "Update of mortality attributable to diabetes for the IDF Diabetes Atlas: Estimates for the year 2011," *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 100, no. 2, pp. 277–279, 2013.
- [54] A. P. dos D. de Portugal, "Valores de Referência de glicemia." [Online]. Available: <http://www.apdp.pt/a-diabetes/a-pessoa-com-diabetes/valores-de-referencia>. [Accessed: 11-Dec-2015].
- [55] R. F. Egerton, *Physical principles of electron microscopy - An introduction to TEM, SEM and AEM*, 2nd ed. Springer New York, 2011.
- [56] C. Colliex, "Comptes Rendus Physique Seeing and measuring with electrons : Transmission electron microscopy today and tomorrow – An introduction," *Comptes Rendus Phys.*, vol. 15, no. 2, pp. 101–109, 2014.
- [57] D. B. Williams and C. B. Carter, "The Transmission Electron Microscopy," in *Transmission Electron Microscopy*, 1st ed., Springer New York, 1996, pp. 3–17.
- [58] ThermoNicolet, "Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry," *A Thermo Electron Bussines*, pp. 1–8, 2001.
- [59] A. P. F. Albers, F. G. Melchades, R. Machado, J. B. Baldo, and A. O. Boschi, "Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X," *Cerâmica*, vol. 48, no. 305, pp. 34–37, 2002.
- [60] H. Stanjek and W. Häusler, "Basics of X-ray diffraction," *Hyperfine Interact.*, vol. 154, no. 1, pp. 107–119, 2004.
- [61] R. Jenkins, "X-ray Techniques : Overview," in *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R. A. Meyers, Ed. Jon Wiley & Sons Ltd, 2000, pp. 13269–13288.
- [62] H. Kamal, F. M. Abd-Elrahim, and S. Lotfy, "Characterization and some properties of cellulose acetate-co-polyethylene oxide blends prepared by the use of gamma irradiation," *J. Radiat. Res. Appl. Sci.*, vol. 7, no. 2, pp. 146–153, 2014.
- [63] A. C. of Physicians, "Effective Clinical Practice," *Primer on Absolute vs. Relative Differences*. [Online]. Available: <http://ecp.acponline.org/janfeb00/primer.htm>. [Accessed: 07-Oct-2015].
- [64] M. Culebras, C. Gómez, and A. Cantarero, "Review on Polymers for Thermoelectric Applications," *Materials (Basel)*, vol. 7, no. 9, pp. 6701–6732, 2014.

- [65] D. Khodagholy, "Conducting Polymer Devices for Bioelectronics," Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, 2012.
- [66] S. O. Kasap, "Thermoelectric Effects in Metals: Thermocouples," *Web-Materials*, pp. 1–11, 2001.
- [67] J. Heinze, "Cyclic Voltammetry—'Electrochemical Spectroscopy,'" *Angew. Chemie Int. Ed. English*, vol. 23, no. 11, pp. 831–847, 1984.
- [68] G. A. Mabbott, "An introduction to cyclic voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 60, no. 9, p. 697, 1983.
- [69] W. F. Pacheco, F. S. Semaan, V. G. K. De Almeida, A. G. S. L. Ritta, and Q. Aucélio, "Voltametrias: Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos," *Rev. Virtual Química*, vol. 5, no. 4, pp. 516–537, 2013.
- [70] J. F. Rusling and S. L. Suib, "Characterizing Materials with Cyclic Voltammetry," *Adv. Mater.*, vol. 6, no. 12, pp. 922–930, 1994.
- [71] D. Beneventi, S. Alila, S. Boufi, D. Chaussy, and P. Nortier, "Polymerization of pyrrole on cellulose fibres using a FeCl₃ impregnation- pyrrole polymerization sequence," *Cellulose*, vol. 13, no. 6, pp. 725–734, 2006.
- [72] A. Laforgue and L. Robitaille, "Deposition of Ultrathin Coatings of Polypyrrole and Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) onto Electrospun Nanofibers Using a Vapor-Phase Polymerization Method," *Chem. Mater.*, vol. 22, pp. 2474–2480, 2010.
- [73] H. S. Barud, A. M. de Araújo Júnior, D. B. Santos, R. M. N. de Assunção, C. S. Meireles, D. a. Cerqueira, G. Rodrigues Filho, C. a. Ribeiro, Y. Messaddeq, and S. J. L. Ribeiro, "Thermal behavior of cellulose acetate produced from homogeneous acetylation of bacterial cellulose," *Thermochim. Acta*, vol. 471, no. 1, pp. 61–69, 2008.
- [74] H. Liu and Y. Lo Hsieh, "Ultrafine fibrous cellulose membranes from electrospinning of cellulose acetate," *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 40, no. 18, pp. 2119–2129, 2002.
- [75] J. Wu, "Morphology of Poly (3, 4-ethylene dioxythiophene)(PEDOT) - Thin Films, Crystals, Cubic Phases, Fibers and Tubes," Doctoral Thesis. University of Michigan, 2011.
- [76] L. Zhan, Z. Song, J. Zhang, J. Tang, H. Zhan, Y. Zhou, and C. Zhan, "PEDOT: Cathode active material with high specific capacity in novel electrolyte system," *Electrochim. Acta*, vol. 53, no. 28, pp. 8319–8323, 2008.
- [77] S. V. Selvaganesh, J. Mathiyarasu, K. L. N. Phani, and V. Yegnaraman, "Chemical synthesis of PEDOT-Au nanocomposite," *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 2, no. 11, pp. 546–549, 2007.
- [78] N. K. Guimard, N. Gomez, and C. E. Schmidt, "Conducting polymers in biomedical engineering," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 32, no. 8, pp. 876–921, 2007.

Anexos

Anexo A – Produção de SBF

De forma a simular o plasma sanguíneo foi preparada uma solução salina – SBF. O protocolo para a preparação do SBF tem como referência trabalhos realizados anteriormente no Departamento de Ciência dos Materiais (DCM, FCT - UNL).

Os reagentes presentes na tabela A.1, foram adicionados um a um a 700 ml de água destilada, respeitando a ordem em que estão dispostos na tabela A.1. Depois de aditar o último reagente a solução é aquecida até atingir 37°C e é titulada uma solução de ácido clorídrico (HCl) até se atingir um valor de pH de 7,4. Depois é adicionada água destilada à solução de forma a perfazer 1 L de solução.

Tabela A. 1 - Reagentes usados na produção da solução de SBF.

Reagente	Iões	Quantidade (g/L)	Marca
NaCl	Cl ⁻ ; Na ⁺	6,547	<i>J.T. Bucker</i>
NaHCO ₃	Na ⁺ ; HCO ₃ ⁻	2,268	<i>Merck</i>
KCl	K ⁺ ; Cl ⁻	0,373	<i>Panreac</i>
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	Na ⁺ ; HPO ₄ ²⁻	0,178	<i>Fluka</i>
MgCl ₂ .6H ₂ O	Mg ²⁺ ; Cl ⁻	0,305	<i>Sigma-Aldrich</i>
1M HCl	H ⁺ ; Cl ⁻	15 ml	-
CaCl ₂ .2H ₂ O	Ca ²⁺ ; Cl ⁻	0,368	<i>Sigma-Aldrich</i>
Na ₂ SO ₄	Na ⁺ ; SO ₄ ²⁻	0,071	<i>Panreac</i>
(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	-	6,057	<i>Sigma-Aldrich</i>

Anexo B – Produção de PBS

A solução de PBS foi produzida de forma a obter um volume final de 500 ml correspondente a uma concentração de 10 vezes. Adicionados um a um, os reagentes (apresentados na tabela B.1) são dissolvidos por agitação magnética num volume de 400 ml de água destilada.

Tabela B. 1 - Reagentes usados na produção de PBS.

Reagentes	Concentração (g/L)	Ião	Marca
NaCl	80	Na ⁺ ; Cl ⁻	<i>J. T. Baker</i>
KCl	2	K ⁺ ; Cl ⁻	<i>Sigma-Aldrich</i>
Na ₂ HPO ₄	14,4	Na ⁺ ; HPO ₄ ²⁻	<i>Sigma-Aldrich</i>
KH ₂ PO ₄	2,4	K ⁺ ; H ₂ PO ₄ ⁻	<i>Sigma-Aldrich</i>

O pH é depois medido e caso seja necessário é adicionado ácido clorídrico (HCL) até ser atingido o valor 7,4. Depois deita-se novamente água destilada até perfazer 500 ml.

Para proceder à diluição da solução retiram-se 100 ml da solução preparada para um recipiente e adicionam-se 900 ml de água destilada, obtendo-se 1 litro de solução diluída.