

Universidade do Minho
Escola de Ciências

Nanofibras funcionalizadas com dipéptidos lineares para aplicações em biossensores

Adelino Carlos Handa

Nanofibras funcionalizadas com dipéptidos lineares para aplicações em biossensores

Adelino Carlos Handa

UMinho | 2023

Junho 2023



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Adelino Carlos Handa

**Nanofibras funcionalizadas com dipéptidos lineares
para aplicações em biossensores**

Dissertação de Mestrado
Biofísica e Bionanossistemas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professor Doutor Bernardo Gonçalves Almeida
Doutora Rosa Maria Ferreira Baptista

Junho 2023

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição
CC BY

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Declaração de Integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração. Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Agradecimentos

Este trabalho tem subjacente a colaboração e apoio de muitas pessoas que de forma direta ou indireta, contribuíram para a sua construção. Consequentemente, não posso neste momento, deixar de endereçar a todos, o meu agradecimento pela ajuda prestada. Contudo, não poderei também deixar neste momento, de registar um agradecimento muito especial:

Ao Professor Doutor Bernardo Almeida e à Doutora Rosa Baptista por todo apoio, dedicação e disponibilidade dispensados ao longo da construção desta dissertação e por terem aceitado desde a primeira hora a abraçarem o desafio de trabalhar sob vossa orientação. Agradeço a vossa paciência, profissionalismo e prestatividade, que servirão de exemplo para a minha vida académica e profissional.

À Professora Doutora Etelvina de Matos Gomes, pela disponibilidade em auxiliar nos dados da caracterização piezoelétrica.

Ao pessoal do SEMAT pela análise das imagens micrográficas.

À Doutora Ana Rita Oliveira Rodrigues, pela ajuda na análise fotofísica das amostras.

À Bruna e ao João pela prestimosa ajuda com a caracterização dielétrica e piroelétrica, pela disponibilidade e prontidão durante as várias etapas deste projeto.

À Daniela pela sua sempre prontidão, disposição, companheirismo e por todos momentos de partilha quer em sala de aula quer no laboratório ou fora deles. Este trabalho também tem o selo do seu punho. Sou eternamente grato. Falarei de si, quando a mim perguntarem sobre Portugal.

À Cecília, ao Tiago e ao Osvaldo pela vossa sempre aprazível companhia.

A todos os meus colegas de curso, pelo acolhimento e colaboração. Ao Ricardo, Samantha e ao Hugo, agradeço o vosso apoio.

Ao senhor Antunes da portaria da Residência Universitária de Santa Tecla, pela calorosa recetividade e pura demonstração de humanidade à quando da minha chegada a Portugal e a grande família que ganhei durante a minha estadia na Residência: Ronísio, João, Patrícia e Ruth.

À Brígida por todo apoio e por sempre acreditar que essa formação um dia seria possível.

Ao Adilson, Zeferino, Gil, Angelina e aos Sakukuma, pelo suporte nos momentos mais cinzentos da minha vida durante a vigência deste Mestrado, obrigado por vossas muitas orações.

Aos meus pais e irmãos, por terem acreditado e depositado toda vossa confiança em mim, mesmo quando desistir parecia ser a única solução possível. É sobre vós e por vós, sempre.

Por fim, e não menos importante, ao Instituto Nacional de Gestão de Bolsas de Estudos de Angola (INAGBE), por ter financiado essa formação e tornar tudo isso possível.

Resumo

Os materiais à base de péptidos são uma classe importante de biomateriais e têm sido alvo de interesse crescente recentemente. Os péptidos consistem em sequências de aminoácidos com capacidade de se auto-organizarem em diversas nanoestruturas, e, em geral, apresentam boa biocompatibilidade e atividade biológica. Estes materiais possuem várias vantagens, como boa estabilidade térmica e mecânica, alta piezoelectricidade e propriedades óticas, o que os torna úteis em diversos campos da nanotecnologia e nanomedicina. Nesse contexto, os dipéptidos lineares formados a partir de aminoácidos quirais são bionanossistemas atraentes para explorar as suas propriedades piezoelétricas em aplicações, nomeadamente na produção de energia para alimentar bio(nano)dispositivos, convertendo movimentos mecânicos em eletricidade.

Esta dissertação, tem como objetivo, fabricar sistemas híbridos compostos por dipéptidos quirais lineares, micro/nanoestruturados, incorporando-os em fibras de biopolímeros funcionais por meio da técnica de *Electrospinning*, além de explorar as suas diversas propriedades para aplicações em biossensores.

Portanto, neste trabalho, foram produzidos bionanomateriais híbridos compostos pelos dipéptidos quirais lineares Boc-L-fenilalanil-L-Leucina (Boc-L-Phe-L-Leu) e Boc-L-fenilalanil-L-isoleucina (Boc-L-Phe-L-Ile), que formam estruturas à nanoescala como nanoesferas (NS) e nanotubos (NT). Seguidamente, os dipéptidos foram incorporados em fibras de biopolímeros previamente selecionados (PLLA, PCL e PMMA), recorrendo à técnica de *electrospinning*.

As imagens de microscopia eletrónica de varrimento revelaram nanofibras com diâmetros médios uniformes. As propriedades dielétricas das nanofibras foram caracterizadas por espectroscopia de impedância, em função da temperatura e frequência. Por forma a aprofundar a caracterização elétrica das amostras, foram realizadas medições das respostas piroelétrica e piezoelétrica das diferentes fibras com dipéptidos.

A influência dos parâmetros de síntese nas propriedades dielétricas, piroelétricas e piezoelétricas das micro/nanofibras dipéptido-polímero foi demonstrada, revelando um elevado potencial para aplicações na área da biomedicina e na produção de energia à nanoescala.

Palavras-chave: biossensores, dipéptidos lineares, *electrospinning*, nanofibras, piroelectricidade, piezoelectricidade.

Abstract

Peptide-based materials are a valuable class of biomaterials. Peptides consist of sequences of amino acids that can self-assemble into different nanostructures, and they have been found to demonstrate very effective biocompatibility and biological activity. These materials have many advantages, such as excellent thermal and mechanical stability, high piezoelectricity, and optical properties, so they have been used in various fields of nanotechnology and nanomedicine. In this context, linear dipeptides formed from chiral amino acids are attractive bionanosystems for energy harvesting. Their piezoelectric properties can be explored for applications in energy production, to power small devices, by converting applied mechanical force into electricity.

This dissertation aims to manufacture hybrid systems composed of linear, micro/nanostructured chiral dipeptides, incorporate them into functional biopolymer fibers (PLLA, PCL and PMMA), using the *Electrospinning* technique and explore their multivariate properties for biosensor applications.

Thus, in this project, hybrid bionanomaterials composed by linear chiral dipeptides Boc-L-phenylalanyl-L-Leucine and Boc-L-phenylalanyl-L-isoleucine, that form nanoscale structures such as nanospheres (NS) and nanotubes (NT), were synthesised, and incorporated into nanofibers of previously selected biocompatible polymers, using the electrospinning technique.

Scanning electron microscopy images revealed fibers with average uniform diameters. The dielectric properties of the nanofibers were characterized by impedance spectroscopy, as a function of temperature and frequency. Measurements of the pyroelectric and piezoelectric response for the different nanofibers with dipeptides were also performed.

The influence of synthesis parameters on the dielectric, pyroelectric, and piezoelectric properties of dipeptide-polymer micro/nanofibers has been demonstrated, revealing a high potential for applications in biomedicine and nanoscale energy harvesting.

Keywords : biosensors, linear dipeptides, electrospinning, nanofibers, pyroelectricity, piezoelectricity.

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Índice.....	vi
Lista de figuras.....	viii
Lista de tabelas	xvii
Lista de abreviaturas	xviii
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Contextualização	1
1.2. Motivação e objetivos.....	2
1.3. Estrutura da tese	3
2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO	5
2.1. Nanomateriais à base de péptidos	5
2.2. Mecanismo de auto-organização de péptidos	6
2.3. Interações não-covalentes na auto-organização de péptidos.....	7
2.4. Materiais eletroativos.....	10
2.4.1. Piroeletricidade.....	10
2.4.2. Piezoeletricidade	12
2.5. Materiais dielétricos.....	13
2.5.1. Polarização em dielétricos	14
2.5.2. Permittividade elétrica complexa	15
2.5.3. Distribuição dos tempos de relaxação	17
2.5.4. Efeito da temperatura nos processos de relaxação e condutividade	19
3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS DE PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO.....	20
3.1. Electrospinning.....	20
3.2. Caracterização ótica	22
3.2.1. Espectroscopia de absorção UV-Visível.....	22

3.2.2.	Espetroscopia de fluorescência	23
3.2.3.	Espetroscopia de refletância difusa UV-Vis.....	24
3.2.4.	Microscopia confocal	26
3.3.	Caracterização morfológica	26
3.3.1.	Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)	26
3.3.2.	Microscopia eletrônica de varrimento	28
3.4.	Espetroscopia de Impedâncias	29
3.5.	Caracterização piroelétrica.....	31
3.6.	Caracterização piezoelétrica.....	31
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	33
4.1.	Materiais utilizados	33
4.2.	Funcionalização das nanoestruturas peptídicas com o grupo Boc	37
4.2.1.	Procedimento de síntese do Boc-Phe-Leu-OH	37
4.2.2.	Procedimento de síntese do Boc-Phe-Ile-OH	38
4.3.	Preparação das soluções poliméricas com dipéptidos	39
4.4.	Solução das nanoestruturas peptídicas para caracterização ótica e morfológica....	42
4.5.	Produção das micro/nanofibras por <i>electrospinning</i>	42
5.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	46
5.1.	Caracterização ótica	46
5.2.	Estudo da morfologia das amostras	56
5.3.	Estudo das propriedades dielétricas	61
5.4.	Caracterização piroelétrica.....	98
5.5.	Caracterização piezoelétrica.....	102
5.6.	Aplicação do nanogerador piezoelétrico.....	116
6.	CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	119
6.1.	Conclusões.....	119
6.2.	Perspetivas futuras	121
7.	REFERÊNCIAS	122

Lista de figuras

Figura 1. Aplicações de dipéptidos em vários campos da ciência e tecnologia.	2
Figura 2. Mecanismo de auto-organização de microesferas de TPPS@Phe-Phe	7
Figura 3. Representação da auto-organização peptídica sob controlo termodinâmico e cinético. (a) Sob controlo termodinâmico, as estruturas finais, como cristais, nanotubos (NT) e nanofios (NF), estão no estado de energia livre mínima, (b) quando os parâmetros cinéticos (como pH e Temperatura) controlam, a estrutura pode ficar presa num estado dinamicamente estável e (c) crescer ainda mais no estado termodinamicamente favorecido. A energia relativa de cada estrutura não apresenta um valor absolutamente preciso, por exemplo, a energia das nanoesferas (NE) pode ser menor do que a dos cristais em alguns sistemas. Todas as estruturas provavelmente interconvertem-se sob certos controlos cinéticos.	8
Figura 4. Representação esquemática do efeito piezoelétrico	12
Figura 5. Orientação de dipolos elétricos permanentes devido a um campo elétrico externo. (A) Na ausência de campo elétrico, (B) sob influência do campo elétrico, sem interações moleculares, e (C) sob influência do campo elétrico, com interações moleculares.....	14
Figura 6. Esquema que descreve a configuração da técnica de electrospinning e o fenómeno de electrospinning.	21
Figura 7. Esquema da formação do cone de Taylor: (A) Cargas superficiais são induzidas na solução de polímero devido ao campo elétrico. (B) Alongamento da gota pendente. (C) Deformação da gota pendente para a forma do cone de Taylor devido a repulsão carga-carga.	21
Figura 8. Diagrama de Jablonski simplificado. S – estados singleto, T – tripleto; a conversão interna e o cruzamento intersistemas são processos não radiativos. Figura adaptada de [38]. .	24
Figura 9. Representação esquemática de um espectrofotómetro de refletância difusa com uma esfera integradora [41].	25
Figura 10. Imagem simplificada de um microscópio confocal [42].....	26
Figura 11. Aparelho de medição DLS em A) e esquema de funcionamento da DLS onde a luz dispersa é desviada para um detetor e as intensidades médias são convertidas em tamanhos, em B) [44].	27

Figura 12. A. Microscópio eletrônico de varrimento do SEMAT [46]. B. Esquema representativo de um microscópio eletrônico de varrimento. Figura adaptada de [47].	28
Figura 13. Volume de interação, mostrando a profundidade da penetração do feixe de elétrons. Figura adaptada de [49].	29
Figura 14. Representação esquemática da montagem experimental utilizada para medidas dielétricas [51].	31
Figura 15. Estrutura molecular do dipéptido. A. Phe-Leu e B. Phe-Ile.	34
Figura 16. Estrutura molecular dos dipéptidos com o grupo Boc. A. Phe – Leu e B. Phe – Ile.	35
Figura 17. Estrutura molecular do PLLA.	35
Figura 18. Estrutura molecular do PCL.	36
Figura 19. Estrutura molecular do PMMA.	36
Figura 20. Funcionalização/proteção do dipéptido Phe-Leu. A. Esquema de síntese do dipéptido Boc-Phe-Leu-OH e B. dipéptido sob a forma de um sólido branco.	38
Figura 21. Funcionalização/proteção do dipéptido Phe-Ile. (A) Esquema de síntese do dipéptido Boc-Phe-Ile-OH.	39
Figura 22. Placa térmica de agitação magnética utilizada na preparação das soluções poliméricas com dipéptidos.	39
Figura 23. Montagem experimental do electrospinning, usado para a produção de nanofibras.	43
Figura 24. tapete de micro/nanofibras poliméricas com dipéptido incorporado produzido por electrospinning.	44
Figura 25. Esquema do processo de produção das nanofibras poliméricas com dipéptidos incorporados.	45
Figura 26. Espectros de absorção UV-Vis normalizados do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol, para diferentes concentrações de solução.	46
Figura 27. Espectro de absorção UV-Vis normalizado do dipéptido Boc-Phe-Leu (10 mg/mL), com o gráfico de Tauc representado.	47
Figura 28. Espectros de absorção UV-Vis normalizados do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol, para diferentes concentrações de solução.	47

Figura 29. Espectro de absorção UV-Vis normalizado do dipéptido Boc-Phe-Ile (10 mg/mL), com o gráfico de Tauc representado.	48
Figura 30. Espectros de emissão de luminescência normalizados da auto-organização do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol, para diferentes concentrações.	49
Figura 31. Espectros de excitação e emissão do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol.	49
Figura 32. Espectros de emissão de luminescência normalizados da auto-organização do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol, para diferentes concentrações.	50
Figura 33. Espectros de excitação e emissão do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol.	51
Figura 34. Espectro de emissão das nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA dissolvidas em DCM. ..	52
Figura 35. Espectros de emissão das nanoesferas Boc-Phe-Ile em metanol e nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA em solução dissolvidas em DCM.	52
Figura 36. Espectros de refletância do (a) dipéptido Boc-Phe-Leu, e (b) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, (c) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL e (d) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA. O gráfico inserido mostra a energia do hiato de banda determinada a partir da função Kubelka-Munk com o ajuste linear a vermelho.	54
Figura 37. Espectros de refletância das micro/nanofibras (a) Boc-Phe-Ile@PLLA, (b) Boc-Phe-Ile@PCL e (c) Boc-Phe-Ile@PMMA. O gráfico inserido mostra a energia do hiato de banda determinada a partir da função Kubelka-Munk com o ajuste linear a vermelho.	55
Figura 38. Imagens de microscopia confocal (a) Boc-Phe-Leu e (b) Boc-Phe-Ile.	55
Figura 39. Distribuição de tamanho dos dipéptidos, (a) Boc-Phe-Leu e (b) Boc-Phe-Ile, em metanol-água.	56
Figura 40. Imagens de MEV das nanoesferas dipeptídicas para soluções do Boc-Phe-Leu (a,b) e Boc-Phe-Ile (d,e), com ampliações de 15 000x e 50 000x. A curva azul indica a distribuição log-normal.	58
Figura 41. Imagens MEV com ampliações de 1 000x, 5 000x, 10 000x e 50 000x, e as suas respetivas distribuições para histogramas PLLA (a,b,c) PCL (d,e,f) e PMMA (g,h,i) com o Dipéptido Boc-Phe-Leu incorporado. A curva log-normal, em azul, indica a distribuição do tamanho médio, mínimo, máximo e desvio padrão das micro/nanofibras.	59
Figura 42. Imagens MEV com ampliações de 5 000x, 10 000x e 50 000x, e as suas respetivas distribuições de para histogramas PLLA (a,b,c) PCL (d,e,f) e PMMA (g,h,i) com o	

Dipéptido Boc-Phe-Ile incorporado. A curva log-normal, em azul, indica a distribuição do tamanho médio, mínimo, máximo e desvio padrão das micro/nanofibras.	60
Figura 43. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da temperatura.	61
Figura 44. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da temperatura.	62
Figura 45. $\tan(\delta)$ em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.....	62
Figura 46. Representação gráfica da dependência da $\tan(\delta)$ em função da frequência para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.	63
Figura 47. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência.	64
Figura 48. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência até aos 45 °C, e respetivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	64
Figura 49. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência acima dos 50 °C, e respetivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	65
Figura 50. Representação do gráfico de Nyquist para a parte imaginária em função da parte real, da permitividade complexa entre 55 °C e 95 °C, com o ajuste da equação de Havriliak-Negami para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.....	67
Figura 51. Representação gráfica do $\ln(\sigma.T)$ em função do inverso da temperatura com ajuste linear em duas regiões diferentes, para temperaturas abaixo de 318 K (ajuste azul) e para temperaturas acima de 323 K (ajuste vermelho).	68
Figura 52. Logaritmo dos tempos de relaxação em função do inverso da temperatura com ajuste linear em duas regiões diferentes, para temperaturas abaixo de 318 K (ajuste azul) e para temperaturas acima de 323 K (ajuste vermelho).	69
Figura 53. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.	70
Figura 54. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww}	71
Figura 55. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.	72

Figura 56. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da temperatura.	72
Figura 57. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da temperatura.	73
Figura 58. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da frequência.	73
Figura 59. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da frequência, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	74
Figura 60. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PCL.	75
Figura 61. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.	76
Figura 62. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura e respectivo ajuste linear.	77
Figura 63. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de parâmetro exponencial esticado descrito pela função de Kohlrausch – Williams – Watts (KWW).	77
Figura 64. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww}	78
Figura 65. Parte real da permitividade elétrica para a amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da temperatura.	79
Figura 66. Parte imaginária da permitividade elétrica para a amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da temperatura.	79
Figura 67. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da frequência.	80
Figura 68. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da frequência, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	81
Figura 69. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA.	82
Figura 70. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura e respectivo ajuste linear.	82

Figura 71. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.....	83
Figura 72. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.	83
Figura 73. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww}	84
Figura 74. Parte real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da temperatura.	85
Figura 75. Parte imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da temperatura.	85
Figura 76. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da frequência.	86
Figura 77. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da frequência, e respetivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	86
Figura 78. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.	88
Figura 79. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.....	88
Figura 80. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura para amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.	89
Figura 81. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.	90
Figura 82. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww}	90
Figura 83. Parte real da permissividade elétrica em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Ile@PCL.....	91
Figura 84. Parte imaginária da permissividade elétrica em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Ile@PCL.....	92
Figura 85. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PCL em função da frequência a temperaturas diferentes.	92

Figura 86. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PCL em função da frequência a temperaturas diferentes, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	93
Figura 87. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da temperatura.	94
Figura 88. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da temperatura.	94
Figura 89. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da frequência para diferentes temperaturas.	95
Figura 90. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da frequência para diferentes temperaturas, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.	95
Figura 91. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.	96
Figura 92. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA.	97
Figura 93. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.	97
Figura 94. Dependência da temperatura com o parâmetro exponencial, β_{kww}	98
Figura 95. Representação gráfica da dependência da temperatura em função do tempo para nanofibras de Boc-Phe-Leu@PMMA.	99
Figura 96. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.	100
Figura 97. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.	100
Figura 98. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.	101
Figura 99. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.	101

Figura 100. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA.	103
Figura 101. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA.	103
Figura 102. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.	104
Figura 103. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.	105
Figura 104. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.	106
Figura 105. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.	106
Figura 106. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.	107
Figura 107. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.	108
Figura 108. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PCL.	108
Figura 109. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PCL.	109
Figura 110. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.	110
Figura 111. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.	110
Figura 112. Representação gráfica da corrente piezoelétrica em função da força para o PLLA e para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA e Boc-Phe-Ile@PLLA, com seus respetivos ajustes lineares.	111
Figura 113. Corrente piezoelétrica em função do tempo das nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, Boc-Phe-Leu@PCL e Boc-Phe-Leu@PMMA para uma força aplicada de 100 mN.	112

Figura 114. Dependência da corrente piezoelétrica com a força e respectivos ajustes lineares para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, Boc-Phe-Leu@PCL e Boc-Phe-Leu@PMMA.....	113
Figura 115. Dependência da corrente piezoelétrica com a força e respectivos ajustes lineares para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA, Boc-Phe-Ile@PCL e Boc-Phe-Ile@PMMA.....	113
Figura 116. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA num intervalo de tempo de 10 min, sob ação de uma força.	114
Figura 117. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA para diferentes frequências.....	115
Figura 118. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA num intervalo de tempo de 10 min, sob ação de uma força.	115
Figura 119. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA para diferentes frequências.....	116
Figura 120. Esquema de montagem do nanogerador piezoelétrico com nanofibras.	117
Figura 121. Montagem experimental do nanogerador piezoelétrico através de nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA.	118

Lista de tabelas

Tabela 1. Parâmetros que afetam o processo de electrospinning.....	22
Tabela 2. Condições de preparação das soluções poliméricas com dipéptidos.....	41
Tabela 3. Parâmetros aplicados durante o processo de electrospinning.....	44
Tabela 4. Caracterização morfológica do tamanho dos dipéptidos por DLS.....	57
Tabela 5. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.....	66
Tabela 6. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PCL.....	74
Tabela 7. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA.....	81
Tabela 8. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.....	87
Tabela 9. Variação do coeficiente piroelétrico para diferentes temperaturas.....	102
Tabela 10. Variação na resposta piezoelétrica para os diferentes polímeros sujeitos a uma mesma força de 100 mN.....	111
Tabela 11. Parâmetros do nanogerador piezoelétrico para os dipéptidos estudados.....	117

Lista de abreviaturas

c.d.o.	Comprimento de onda
DCM	Diclorometano
DLS	Espalhamento de Luz Dinâmico (<i>Dynamic Light Scattering</i>)
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
HFIP	Hexafluoro-Isopropanol
HN	Havriliak-Negami
MEV	Microscopia eletrônica de varrimento
NE	Nanoesferas
NF	Nanofibrilas
NFt	Nanofitas
NT	Nanotubos
PCL	Policaprolactona
PLLA	Ácido Poli-L-Lático
PMMA	Polimetilmetacrilato
SD	Desvio padrão (<i>Standard deviation</i>)
SEM	<i>Scan Electronic Microscopy</i>
TPPS	<i>Tetraphenylporphinesulfonate</i>
UV-Vis	Ultravioleta-visível

1. INTRODUÇÃO

Neste primeiro capítulo introdutório faz-se uma contextualização do tema estudado e são referidas as principais motivações que levaram ao estudo do mesmo, bem como, são elencados os objetivos que nortearam a sua realização.

1.1. Contextualização

O mundo está e continuará a testemunhar um amplo crescimento de novos materiais para multivariadas aplicações, tanto na indústria como na alta-tecnologia. Com o avanço da civilização humana e o rápido desenvolvimento da ciência e da tecnologia, os dispositivos microeletrônicos portáteis estão a tornar-se a tendência dominante. As fontes de energia desses dispositivos tornaram-se objeto de intensa pesquisa.

Tendo em conta que, a produção de sensores tem conhecido um aumento crescente nas últimas décadas, o fornecimento de fontes de energia sustentáveis tornou-se uma questão crucial que deve ser abordada à medida que o uso da tecnologia autoalimentada aumenta. A nanotecnologia, fornece abordagens inovadoras e perspectivas promissoras para a manutenção de recursos renováveis e ecossistemas futuros.

As baterias recarregáveis, das quais dependem os sistemas de deteção de corrente, podem não ser a melhor fonte de energia para dispositivos em miniatura [1,2], que são amplamente usados em diferentes sectores tais como, monitoramento de saúde, segurança, transporte e vigilância.

A nova era dos nanomateriais funcionais trouxe mudanças significativas no estudo de materiais e facilitou o *design* de materiais personalizados para atender às diversas necessidades da humanidade, permitindo a manipulação da matéria em nível nanoscópico [3].

As nanoestruturas apresentam propriedades físico-químicas muito diferentes daquelas que regem o mundo macroscópico, pois, à medida que o tamanho dos sistemas diminui, os fenómenos físicos que regem as matérias alteram-se, uma vez que, na escala nanométrica são os efeitos quânticos que predominam.

Neste contexto, os materiais eletroativos, em particular os polímeros eletroativos estão a transformar-se numa das classes de materiais com maior potencial no desenvolvimento de novas e desafiadoras aplicações, sendo desta forma, uma das *enabling technologies* (tecnologias habilitadoras) dos próximos anos [4]. O recurso a polímeros e aminoácidos biocompatíveis,

(PhePhe), para serem incorporadas em micro/nanofibras de polímeros. Esses dipéptidos quirais lineares são capazes de se auto-organizar em várias nanoestruturas, como nanoesferas (NE) [10], nanotubos (NT) [7,10,11], nanofitas (NFt) [12] e nanofibrilas (NF) [13,14] com fotoluminescência azul [7].

Todas as amostras funcionalizadas e produzidas foram caracterizadas em termos óticos e morfológicos, além de terem sido estudadas as suas propriedades dielétricas, piroelétricas e piezoelétricas, com vista à sua utilização como sistemas híbridos para geração de energia.

O objetivo deste estudo é fabricar sistemas híbridos compostos por dipéptidos quirais lineares, micro e nanoestruturados, incorporando-os em fibras de biopolímeros funcionais (PLLA, PCL e PMMA), recorrendo à técnica de *Electrospinning* e explorar as suas multivariadas propriedades.

Os tapetes de fibras funcionalizados, formados por dipéptidos lineares incorporados em biopolímeros, que apresentaram a maior resposta de tensão de saída piezoelétrica, foram utilizados num protótipo desenvolvido para nanogeração piezoelétrica de energia.

1.3. Estrutura da tese

A presente dissertação de mestrado encontra-se dividida em 5 capítulos, cuja estrutura descreve-se a seguir.

Capítulo 1. Introdução

Esta parte da dissertação apresenta uma breve introdução sobre a relevância do objeto de estudo, as motivações do autor e os objetivos orientadores da investigação. Faz-se ainda uma explicação sucinta da estrutura que compõe o presente trabalho de investigação.

Capítulo 2. Enquadramento teórico

Neste capítulo, apresenta-se a revisão de literatura dos princípios gerais acerca do estado da arte da temática em estudo. Assim, são abordados os diferentes tipos de materiais com realce em nanomateriais peptídicos, seus mecanismos de auto-organização e suas interações intermoleculares. Também, é nossa preocupação, ainda neste capítulo, abordar materiais eletroativos e propriedades dos materiais dielétricos.

Capítulo 3. Técnicas experimentais de produção e caracterização

Este capítulo incide sobre o estudo das diferentes técnicas utilizadas para produção e caracterização das nanofibras e dos dipéptidos, nomeadamente: a técnica de *electrospinning*,

microscopia eletrônica de varrimento (SEM), espalhamento de Luz dinâmico (DLS), microscopia confocal, espectroscopia de absorção UV-Vis, de fluorescência, de refletância difusa e a técnica de caracterização por espectroscopia de impedâncias.

Capítulo 4. Materiais e métodos

A ênfase para este capítulo, recai para a descrição dos materiais utilizados (dipéptidos, polímeros, solventes e instrumentos) no âmbito deste trabalho bem como, na metodologia adotada para o desenvolvimento do mesmo, durante o processo de preparação e ensaios laboratoriais. São descritos os procedimentos experimentais e meios necessários para a realização dos ensaios. O fim deste capítulo é reservado à descrição sobre como as micro/nanofibras foram produzidas.

Capítulo 5. Análise, interpretação e discussão dos resultados

Neste capítulo, são apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o processo da investigação. São estudadas as características óticas e morfológicas, bem como as propriedades dielétricas, piroelétricas e piezoelétricas.

Capítulo 6. Conclusões e perspectivas futuras

Finalmente, são apresentadas as conclusões obtidas ao longo deste trabalho, tendo em conta os objetivos definidos. Também, são identificados e sugeridos trabalhos de investigação futuros relacionados com a temática da presente dissertação.

2. ENQUADRAMENTO TEÓRICO

Neste capítulo, apresenta-se a revisão de literatura dos princípios gerais acerca do estado da arte da temática em estudo.

2.1. Nanomateriais à base de péptidos

Os nanomateriais, ou materiais organizados à nanoescala, são materiais que, independentemente da sua composição química e estrutura fina detalhada, apresentam distâncias características compreendidas tipicamente entre 1–100 nm [15].

Os dipéptidos existem em estruturas lineares e cíclicas. No conjunto dos dipéptidos lineares, o péptido mais simples é formado por dois aminoácidos unidos por uma ligação peptídica CO – NH entre os seus respetivos grupos terminais –COOH e –NH₂, com a eliminação de uma molécula de água [16].

Nanomateriais peptídicos, com propriedades físico-químicas diversificadas podem ser projetados através de diferentes sequências de aminoácidos que se auto-organizam em formas distintas, como nanotubos, nanoesferas, nanofilamentos, nanofitas ou outras estruturas ordenadas à nanoescala, e, em geral, apresentam boa biocompatibilidade e atividade biológica [7,17,18].

Os materiais à base de péptidos são uma classe importante de biomateriais e têm sido alvo de interesse, em tempos recentes, por várias razões, entre as quais se podem citar:

- A funcionalização adicional de nanomateriais à base de péptidos pode ser facilmente realizada pela introdução de compostos externos, como anticorpos, enzimas, partículas magnéticas ou compostos fluorescentes na estrutura peptídica;
- Usando métodos de fase sólida, os péptidos são facilmente sintetizados o que faz com que ao nível molecular estes podem ser especificamente modificados [12], produzindo nanomateriais com propriedades desejadas, tais como óticas e piezoelétricas;
- O processo de auto-organização pode ser bem projetado, adaptando as estruturas de blocos de construção de péptidos [8].

Os péptidos são particularmente importantes como blocos de construção molecular devido à sua flexibilidade e variabilidade no *design* molecular [9].

É necessário compreender as propriedades dos nanomateriais para investigar as suas aplicações. Algumas das propriedades desejadas dos nanomateriais peptídicos para aplicações em (nano)dispositivos incluem a estabilidade térmica e mecânica, condutividade elétrica, piezoelectricidade e propriedades óticas. Os nanomateriais dipeptídicos ao serem incorporados em nanofibras poliméricas, produzem novos materiais compósitos com melhor estabilidade térmica e mecânica [8,19]. As propriedades semicondutoras dos dipéptidos podem ser facilmente ajustadas, por dopagem e funcionalização, tornando-os materiais semicondutores emergentes bioinspirados e duráveis.

As propriedades óticas, piezoelétricas e dielétricas dos dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, foram estudadas e os resultados são apresentados no capítulo 5, a partir da página 46.

2.2. Mecanismo de auto-organização de péptidos

Nanomateriais peptídicos auto-organizados com propriedades físico-químicas diversificadas podem ser projetados a partir de diferentes sequências de aminoácidos. O mecanismo de auto-organização em dipéptidos, dada a sua complexidade, envolve dois aspectos a serem considerados: em primeiro lugar, destacam-se as interações não covalentes (Figura 2), discutidas mais adiante, e por outro lado, além da estrutura química, o processo de auto-organização depende também das condições termodinâmicas e cinéticas (Figura 3), como o pH, temperatura ambiente, força iônica e velocidade de reação [5,20]. Esses fatores impulsionam a formação de nanoestruturas com propriedades distintas. A auto-organização em dipéptidos pode aumentar a quiralidade supramolecular, melhorar a estabilidade térmica e a resistência mecânica [21].

Um estudo realizado por Baptista *et al.* [7], sobre a auto-organização do dipéptido Boc-difenilalanina (Boc-Phe-Phe), mostrou que este dipéptido auto-organiza-se em nanoestruturas tubulares ou esféricas, sob diferentes condições de dissolução. Utilizando hexafluoro-isopropanol (HFIP)/metanol e HFIP/água, como misturas de solventes, além de apresentar picos característicos de um confinamento quântico devido à formação de excitações, os resultados experimentais demonstraram que, após o dipéptido Boc-Phe-Phe ser incorporado em nanofibras poliméricas, estas apresentaram fortes propriedades piezoelétricas quando uma força mecânica periódica foi aplicada.

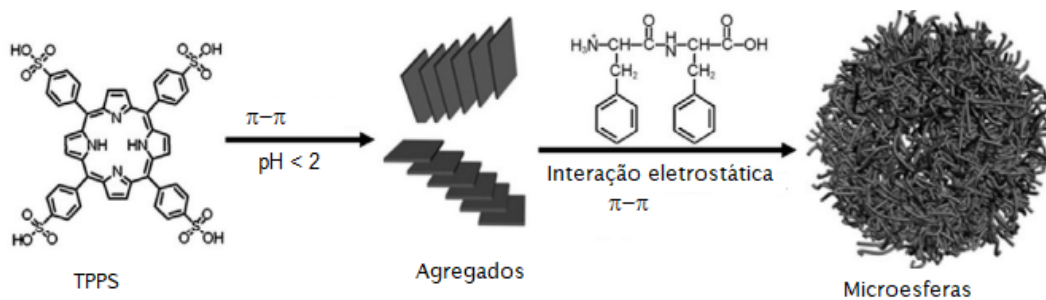


Figura 2. Mecanismo de auto-organização de microesferas de ¹TPPS@Phe-Phe [5].

Os péptidos possuem diversas vantagens, como facilidade de modificação e alta estabilidade, além da capacidade de se auto-organizarem e formarem estruturas secundárias, como α -hélices e β -*sheet* através do desdobramento da cadeia peptídica. Isso possibilita a formação de nanogéis, nanocristais, nanopartículas e outras estruturas [21]. No entanto, devido à sua inerente instabilidade termodinâmica, os péptidos lineares com estruturas α -hélices, ao serem separados do seu meio original, perdem a sua conformação helicoidal [5,8]. A estabilização dessa estrutura é importante para a formação de nanoestruturas auto-organizadas. Para superar essa instabilidade em dipéptidos lineares, estudos recentes através da combinação de várias técnicas como, espectroscopia de massa, espectroscopia infravermelho e Raman [16] revelam a possibilidade de transformar estruturas lineares comparativamente frágeis numa estrutura cíclica mais estável.

2.3. Interações não-covalentes na auto-organização de péptidos

As interações não-covalentes desempenham um papel determinante na auto-organização molecular. Embora essas interações sejam relativamente insignificantes quando analisadas de forma isolada [22], porém, quando analisadas como um todo, elas controlam as estruturas das macromoléculas e afetam as interações com outras moléculas.

A auto-organização de péptidos é um processo termodinâmico e cinético espontâneo, baseado no efeito sinérgico de várias interações intermoleculares não-covalentes, incluindo as ligações de van der Waals, interações eletrostáticas, ligações de hidrogénio, ligações hidrofóbicas e as interações de empilhamento π - π .

Essas interações, conforme mostrado na Figura 3, determinam a estabilidade termodinâmica e o estado de energia mínima das nanoestruturas formadas [20].

¹ TPPS - *Tetraphenylporphyrinesulfonate*

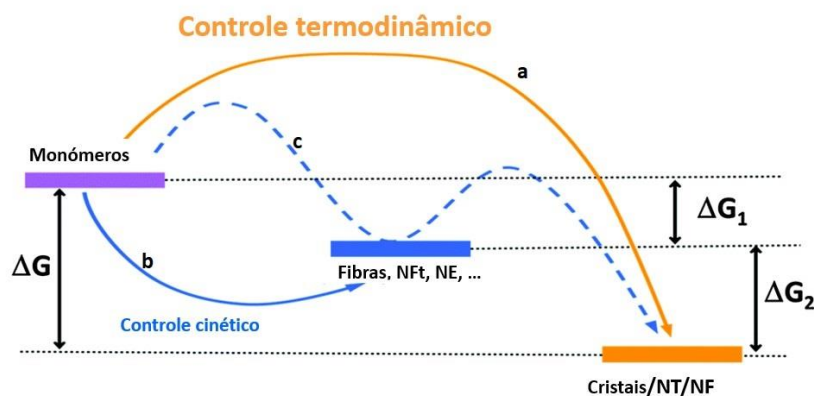


Figura 3. Representação da auto-organização peptídica sob controle termodinâmico e cinético. **(a)** Sob controle termodinâmico, as estruturas finais, como cristais, nanotubos (NT) e nanofios (NF), estão no estado de energia livre mínima, **(b)** quando os parâmetros cinéticos (como pH e Temperatura) controlam, a estrutura pode ficar presa num estado dinamicamente estável e **(c)** crescer ainda mais no estado termodinamicamente favorecido. A energia relativa de cada estrutura não apresenta um valor absolutamente preciso, por exemplo, a energia das nanoesferas (NE) pode ser menor do que a dos cristais em alguns sistemas. Todas as estruturas provavelmente interconvertem-se sob certos controles cinéticos. Adaptado de [20,22].

Ligações de hidrogénio

As interações de ligações de hidrogénio, desempenham um papel crucial na auto-organização estrutural dos conjuntos peptídicos. Sendo os péptidos biomoléculas importantes, fornecem muitos espaços para a formação de ligações de hidrogénio, incluindo grupos amida na cadeia principal do péptido e grupos amina e carboxílicos nas cadeias laterais [20]. São essenciais para a formação e estabilização da estrutura secundária dos péptidos e possuem seletividade e alta direccionalidade, o que pode induzir a organização dos péptidos em nanoestruturas distintas.

As ligações de hidrogénio podem ocorrer entre átomos, moléculas ou iões e em fases gasosas, líquidas e sólidas ou supercríticas [8]. A seletividade e a alta direccionalidade das ligações de hidrogénio podem induzir a conversão de péptidos em diversas nanoestruturas unidimensionais (1D), bidimensionais (2D) e tridimensionais (3D).

As energias de ligação de hidrogénio, são de 10 – 40 kJ/mol por ligação a 298 K, o que as torna muito mais fortes que as ligações típicas de van der Waals (1 – 5 kJ/mol) mas, muito mais fracas que as ligações iónicas (500 kJ/mol) [23].

Ligações hidrofóbicas

As interações hidrofóbicas surgem devido ao ambiente hidrofóbico proporcionado pelos aminoácidos hidrofóbicos, como a fenilalanina, leucina, metionina, isoleucina, valina, tirosina e triptofano, e desempenham um papel importante na estabilidade de péptidos. São interações

fracas, de aproximadamente 4,18 kJ/mol, e ocorrem devido à interação entre cadeias ou subunidades apolares.

Moléculas anfipáticas tendem a agregar as suas caudas hidrofóbicas no interior dos agregados por meio de interações hidrofóbicas, enquanto as cabeças hidrofílicas ficam expostas na periferia dos agregados e em contato com a água. Sob interações hidrofóbicas puras, os péptidos tendem a favorecer a formação de micelas em vez de nanofibras unidimensionais [20,22].

As interações hidrofóbicas são influenciadas por diversos fatores, como:

- Temperatura: as forças de interação hidrofóbicas aumentam com o aumento da temperatura. No entanto, temperaturas extremas podem levar à desnaturação dessas interações.
- Número de átomos de carbono nos grupos hidrofóbicos: em moléculas com um maior número de átomos de carbono, as interações hidrofóbicas também são mais fortes.
- Forma dos grupos hidrofóbicos: as interações em moléculas alifáticas são mais fortes do que em compostos aromáticos. Ramificações em uma cadeia de carbono reduzem o efeito hidrofóbico, enquanto uma cadeia de carbono linear pode promover uma interação hidrofóbica mais forte. Tal fato ocorre porque as ramificações de carbono produzem impedimento estérico, dificultando a interação entre dois grupos hidrofóbicos para minimizar o contato com a água.

É importante ressaltar que as interações hidrofóbicas tendem a ser mais fortes em comparação com outras forças intermoleculares fracas, como as interações de van der Waals.

Empilhamento π - π

As interações π - π , definem e estão na base dos processos de auto-organização que levam à formação das nanoestruturas moleculares e supramoleculares desejadas e orientam os processos dinâmicos que ocorrem dentro das estruturas e superestruturas auto-organizadas.

Em péptidos, as interações π - π são produzidas principalmente por aminoácidos aromáticos como a fenilalanina, triptofano e tirosina [22]. Estas interações podem induzir o crescimento direcional e também são muito estáveis em água devido à solubilidade limitada das moléculas contendo grupos aromáticos.

Ligações eletrostáticas

Além das ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e π - π , a interação eletrostática é outro tipo bem conhecido de interação não-covalente que desempenha um papel importante na condução do processo de auto-organização.

As interações eletrostáticas são geralmente empregadas para induzir especificidade estrutural em péptidos carregados [24]. Não sendo direcionais, as interações eletrostáticas possuem energia de ligação fraca [25], envolvendo interações eletrostáticas de atração e repulsão, tanto intermoleculares quanto intramoleculares. Essas ligações, baseadas em atrações coulombianas entre cargas elétricas opostas levam à formação de pares de iões [20,23].

O pH e a força iônica, são dois fatores importantes que afetam as interações eletrostáticas. Ao alterar esses dois parâmetros (pH e força iônica), é possível controlar a interação eletrostática e influenciar o comportamento da auto-organização de péptidos em aminoácidos ácidos e básicos [24].

Interações de van der Waals

A interação de van der Waals é uma interação relativamente fraca, variando de 1 a 5 kJ/mol e é de natureza não iônica. No entanto, em circunstâncias ótimas, as interações de van der Waals podem atingir energias de ligação tão altas quanto 40 kJ/mol [26].

As forças de van der Waals são impulsionadas por interações elétricas induzidas entre dois ou mais átomos ou moléculas que estão muito próximas umas das outras. Esta ação induz flutuações de cargas que resultam em uma atração não específica e não direcional.

As forças de van der Waals são geralmente descritas como uma combinação das forças de London entre “dipolos induzidos instantaneamente”, forças de Debye entre “dipolos permanente e dipolos induzidos” e a força de Keesom entre “dipolos moleculares permanentes”, cujas orientações são calculadas dinamicamente ao longo do tempo. A energia potencial em todas essas três variantes da força de van der Waals mantém uma relação inversa com a distância de separação elevada à sexta potência [27].

2.4. Materiais eletroativos

2.4.1. Piroeletricidade

A piroeletricidade é o fenômeno no qual ocorre uma mudança na polarização de um material em resposta a uma variação na temperatura. Essa mudança está relacionada a uma alteração

na intensidade do momento dipolar associado à progressiva variação da estrutura do material. A variação na temperatura afeta a disposição dos átomos ou moléculas no material, resultando numa mudança dos dipolos e, conseqüentemente, na polarização do material.

As correntes piroelétricas observadas nos materiais podem ter várias origens. Elas incluem [28]:

- Materiais polares, nos quais o momento de dipolo permanente varia com a temperatura (piroeletricidade primária);
- Meios dielétricos quando submetidos a um campo elétrico externo. A constante dielétrica depende da temperatura, uma mudança na temperatura resulta numa mudança na densidade de carga superficial;
- Materiais piezoelétricos, nos quais o aquecimento produz mudanças na deformação mecânica do material, o que, por sua vez, gera mudanças na densidade de cargas superficiais (piroeletricidade secundária);
- Materiais não piezoelétricos, nos quais a deformação não uniforme, induzida termicamente, também pode levar a mudanças na densidade de cargas superficiais.

O efeito piroelétrico intrínseco corresponde ao primeiro da lista. O coeficiente piroelétrico, p , pode ser descrito como sendo a taxa de variação da polarização, P , com a temperatura, T , ou seja:

$$p = \frac{dP}{dT} \quad (1)$$

Dado que $P = q/A$ (carga por unidade de área), a corrente piroelétrica é obtida a partir da equação:

$$I = Ap \frac{dT}{dt} \quad (2)$$

onde A é a área de contato e dT/dt é a taxa de variação da temperatura em relação ao tempo em (K/s).

Usando a equação (2), obtém-se o coeficiente piroelétrico, pela equação:

$$p = \frac{I}{A} \frac{dt}{dT} \quad (3)$$

2.4.2. Piezoelectricidade

O fenômeno físico mais utilizado, até à data, em aplicações de polímeros eletroativos é a piezoelectricidade, que ocorre num número limitado de polímeros [4]. O efeito piezoelectrico foi descoberto por Pierre e Jacques Curie em 1880 e está relacionado com a variação das dimensões físicas de certos materiais quando sujeitos a campos elétricos [29].

A piezoelectricidade envolve a geração de um sinal elétrico quando o material é submetido a uma tensão mecânica ao longo de um determinado eixo, bem como o efeito inverso, no qual o material sofre deformação em resposta a um sinal elétrico aplicado [4].

Este fenômeno pode ser descrito pelo coeficiente piezoelectrico, por:

$$d = \left(\frac{\partial D}{\partial T} \right)_E = \left(\frac{\partial S}{\partial E} \right)_T \quad (4)$$

onde D é o deslocamento elétrico, E o campo elétrico, T a tensão mecânica e S é a deformação mecânica.

A piezoelectricidade, é observada em materiais não-centrossimétricos, ou seja, materiais cuja célula unitária não apresenta centro de simetria. Como se exemplifica esquematicamente na Figura 4, quando nenhuma tensão é exercida, o centro de massa das cargas negativas e positivas coincidem. No entanto, quando uma tensão é aplicada à célula unitária, esta sofre uma deformação que desloca os centros de massa das cargas positivas e negativas, originando a polarização da rede. A direção da deformação define a direção da polarização induzida. Geralmente, para além da direção de deformação, a aplicação de uma tensão numa determinada direção origina também uma polarização induzida nas outras direções.

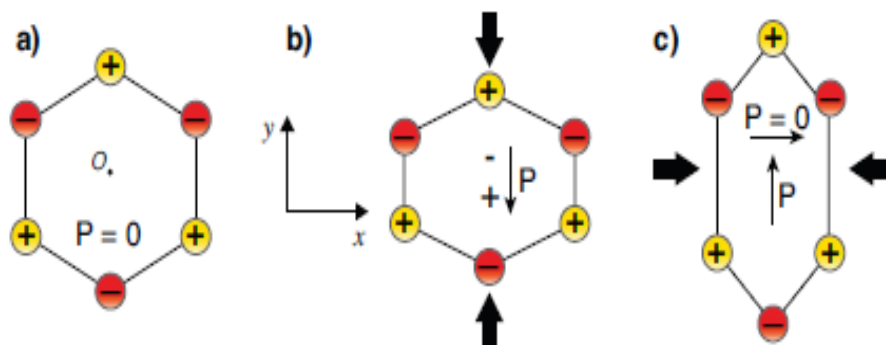


Figura 4. Representação esquemática do efeito piezoelectrico [4].

No exemplo da Figura 4, se a célula não está comprimida nem distendida (Figura 4a), o centro das cargas positivas coincide com o centro das cargas negativas. No entanto, se o cristal for comprimido ao longo do eixo y (Figura 4b), essa disposição é modificada. A compressão

resulta numa separação de cargas com o mesmo valor e sinais opostos, denominado de dipolo elétrico. Portanto, o cristal comprimido continua neutro, mas passa a apresentar uma polarização elétrica, com um dipolo em cada célula. Por outro lado, se o cristal for distendido ao longo do eixo y (Figura 4c), os dipolos formados em cada célula terão orientações opostas [4,30].

Em princípio, os geradores piezoelétricos podem ser utilizados em situações em que ocorra naturalmente uma variação periódica de energia cinética, como acontece com o vento ou as ondas oceânicas ou, numa escala muito menor, com os movimentos musculares provocados pelas batidas cardíacas ou pela respiração. No entanto, na prática, as aplicações em nano ou microdispositivos completamente autoalimentados são ainda muito limitadas devido ao baixo rendimento do processo de conversão e à corrente elétrica produzida ser muito pequena, o que exige sistemas de amplificação sofisticados. Neste trabalho pretende-se, também, avançar no desenvolvimento de nanogeradores com resposta elevada que abram a possibilidade de ultrapassar essas limitações.

2.5. Materiais dielétricos

De acordo com a capacidade de permitir a mobilidade de cargas elétricas, os materiais podem ser classificados em três categorias: condutores, semicondutores e isoladores. A quantidade física que expressa essa propriedade dos materiais é a condutividade.

Muitas vezes, os termos materiais dielétricos e materiais isolantes (ou isoladores) são usados como equivalentes absolutos, embora os materiais dielétricos representem uma classe mais ampla de materiais [31].

Dielétricos são materiais que podem ser polarizados sob a influência de um campo elétrico externo neles aplicado. Isoladores são materiais dielétricos usados para impedir correntes de fuga ou fluxo de carga em dispositivos elétricos. Os dielétricos são materiais de baixa condutividade, com uma energia de hiato de banda geralmente superior a 3 eV [31].

A condutividade elétrica de um dielétrico perfeito é zero. Assim ele armazena e dissipa energia elétrica de forma semelhante a um condensador ideal.

De acordo com o tipo de molécula presente no material, os dielétricos são categorizados com base em dois tipos: dielétricos polares e dielétricos apolares.

- Dielétricos polares: o centro de cargas positivas não coincide com o centro de cargas negativas, resultando no aparecimento de um momento dipolar. As moléculas nesses dielétricos possuem forma assimétrica.
- Dielétricos apolares: o centro de massa das cargas positivas e negativas coincidem. Não há momento de dipolo nessas moléculas e têm, portanto, forma simétrica.

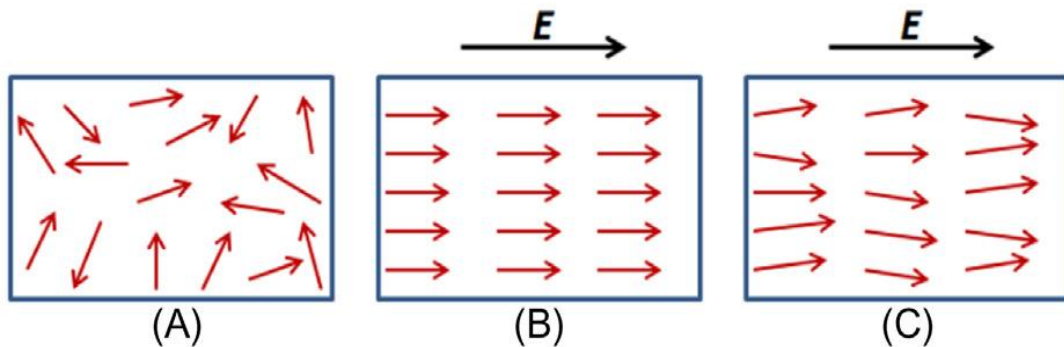


Figura 5. Orientação de dipolos elétricos permanentes devido a um campo elétrico externo. (A) Na ausência de campo elétrico, (B) sob influência do campo elétrico, sem interações moleculares, e (C) sob influência do campo elétrico, com interações moleculares [31].

Quando uma molécula polar é submetida a um campo elétrico, ela tende a se orientar na direção do campo devido ao momento aplicado sobre ela. No entanto, o movimento térmico contínuo das moléculas (flutuações) impede um alinhamento perfeito das mesmas. Esse alinhamento aumenta com a intensidade do campo elétrico e diminui com o aumento da temperatura, tal como ilustrado na Figura 5.

A capacidade de alinhamento dos dipolos permanentes de forma paralela ao campo elétrico depende do ambiente local em que estão inseridos. Por exemplo, um dipolo conectado a uma rede mais flexível pode ser orientado mais facilmente do que aqueles conectados a uma rede mais rígida [31].

2.5.1. Polarização em dielétricos

A polarização elétrica é o somatório dos momentos dipolares por unidade de volume. A polarização de um material dielétrico ocorre devido à atuação de interações atômicas e moleculares. Isto pode suceder de forma intrínseca, pela separação das cargas como referido na secção anterior, ou quando as cargas são deslocadas devido a influência externa, tal como um campo elétrico. O surgimento da polarização num dielétrico pode ocorrer em função de quatro

fontes de deslocamentos de cargas: (a) deslocamento elétrico, (b) deslocamento iônico, (c) orientação de dipolos permanentes e (d) deslocamento de cargas espaciais.

Quando um material dielétrico é submetido a um campo elétrico externo, as cargas positivas presentes no material são deslocadas na direção do campo, enquanto as cargas negativas são deslocadas na direção oposta, resultando na polarização elétrica. Deste modo, ocorre uma separação de cargas positivas e negativas em todos os volumes elementares do material. Durante este processo, as cargas são deslocadas das suas posições de equilíbrio, porém não há migração de carga macroscópica, como ocorreria no caso de um condutor.

A polarização P de um material dielétrico expressa o momento dipolar total por unidade de volume, conforme mostrado pela equação (5):

$$P = \frac{M}{V} \quad (5)$$

O deslocamento elétrico em função do campo elétrico, E , e da polarização, é dado por:

$$D = \epsilon_0 E + P \quad (6)$$

Onde ϵ_0 é a permissividade elétrica do vácuo. A constante dielétrica relativa ou permissividade dielétrica é uma propriedade característica do material relacionada com o campo elétrico, com o deslocamento elétrico e com a polarização, através da equação (7):

$$\epsilon_r = \frac{D}{\epsilon_0 E} = 1 + \frac{1}{\epsilon_0} \frac{P}{E} = 1 + \chi \quad (7)$$

onde χ é a suscetibilidade elétrica, que é uma medida da polarização produzida por um campo elétrico específico.

Na equação (7), foi usada a relação (8) entre a polarização e o campo elétrico:

$$P = \epsilon_0 \chi E \quad (8)$$

2.5.2. Permissividade elétrica complexa

A resposta dielétrica de um material submetido a um campo elétrico externo AC depende da amplitude e da frequência do campo, da temperatura do material e da estrutura molecular [31,32]. O campo elétrico alternado pode ser definido através da notação complexa dada pela equação (9).

$$E = E_0 \exp(i\omega t) \quad (9)$$

Onde ω é a frequência angular² do campo, E_0 é amplitude do campo elétrico e $i = \sqrt{-1}$.

Sob um campo elétrico alternado, a polarização produzida alterna a sua direção e sentido. A altas frequências, a orientação dos dipolos permanentes fica desfasada em relação à direção do campo, resultando em uma diferença de fase (δ) entre o campo e o deslocamento elétrico, expressa da seguinte forma:

$$D = D_0 \exp[i(\omega t - \delta)] \quad (10)$$

onde δ é a diferença de fase entre o campo externo aplicado e o deslocamento elétrico, que depende da frequência aplicada.

De acordo a equação (7), a relação entre E e D é dada por:

$$D_0 \exp[i(\omega t - \delta)] = \varepsilon^* \varepsilon_0 E_0 \exp(i\omega t) \quad (11)$$

Onde E_0 e D_0 são as amplitudes das respectivas quantidades, e ε^* é a permitividade elétrica complexa definida como:

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon'(\omega) - i\varepsilon''(\omega) \quad (12)$$

onde ε' é a parte real e ε'' é a parte imaginária da permitividade. A parte real é normalmente chamada de constante dielétrica. A componente imaginária também é referida como fator de perda, índice de perda ou simplesmente perda dielétrica do material. Relacionando as equações (11) e (12), as componentes reais e imaginária da permitividade dielétrica podem ser expressas como:

$$\varepsilon' = \frac{D_0}{\varepsilon_0 E_0} \cos\delta \quad (13)$$

e

$$\varepsilon'' = \frac{D_0}{\varepsilon_0 E_0} \sin\delta \quad (14)$$

A partir destas duas equações, o fator de dissipação ou a tangente de perdas, $\tan(\delta)$, de um dielétrico pode ser definida como:

$$\tan\delta = \frac{\varepsilon''}{\varepsilon'} \quad (15)$$

² $\omega = 2\pi f$

2.5.3. Distribuição dos tempos de relaxação

Os processos de relaxação em materiais dielétricos são comumente analisados a partir de funções de modelos [32]. O modelo de Debye descreve a permitividade elétrica complexa em função da frequência, representado pela expressão:

$$\varepsilon_D^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\Delta\varepsilon}{1 + i\omega\tau_D} \quad (16)$$

onde é τ_D o tempo de relaxação de Debye e,

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon_s - \varepsilon_\infty \quad (17)$$

ε_s , é a constante dielétrica estática (a frequência nula) e ε_∞ , é a constante dielétrica associada à componente atômica e eletrônica da polarização que ocorrem a frequências altas (quando a frequência tende para infinito).

O modelo de Debye supõe que os processos de relaxação são caracterizados por um único tempo de relaxação, não tendo em conta os aspetos de um dielétrico real, onde muitos sistemas apresentam relaxações caracterizadas por uma distribuição de tempos de relaxação. Isso pode ocorrer, por exemplo, devido a variações locais de estequiometria, à presença de tensões mecânicas locais ou outros. Para corrigir essa limitação, Cole e Cole propuseram a introdução de um termo corretivo na equação (16), assumindo a forma:

$$\varepsilon_{CC}^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + (i\omega\tau_{CC})^\beta} \quad (18)$$

onde o expoente β , com valores compreendidos entre $0 < \beta \leq 1$, é uma medida da distribuição simétrica dos tempos de relaxação. Quando $\beta = 1$, a equação (18) reduz-se à equação de Debye.

Para uma melhor concordância entre os modelos dielétricos e os dados experimentais, Cole e Davidson, modificaram a equação de Debye introduzindo um expoente no denominador, propondo a seguinte função:

$$\varepsilon_{CD}^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{(1 + i\omega\tau_{CD})^\gamma} \quad (19)$$

sendo τ_{CD} o tempo de relaxação de Cole-Davidson e o parâmetro γ ($0 < \gamma \leq 1$), uma medida de distribuição assimétrica dos tempos de relaxação. Para $\gamma = 1$, é obtida a função de Debye.

De notar que, com o modelo de Cole e Davidson, a condição $\omega_{max}\tau=1$ não é válida no máximo de perdas (no máximo de ε''), como nos modelos de Debye e Cole-Cole, e deve ser substituída por:

$$\omega_{max}\tau_{CD} = \tan \left[\frac{1}{(\gamma+1)} \cdot \frac{\pi}{2} \right] \quad (20)$$

O modelo desenvolvido por Havriliak e Negami (HN), generaliza os dois modelos anteriores, introduzindo dois expoentes no denominador da equação de Debye, ao sugerir uma superposição de distribuição simétrica e assimétrica dos tempos de relaxação:

$$\varepsilon_{HN}^*(\omega) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon}{[1 + (i\omega\tau_{HN})^{\beta}]^{\gamma}} \quad (21)$$

Os parâmetros β e γ ($0 < \beta \leq 1$ e $0 < \beta\gamma \leq 1$) são, respetivamente, as amplitudes simétrica e assimétrica da função dielétrica complexa e descrevem a distribuição de tempos de relaxação no material. Para $\beta = \gamma = 1$, chega-se a equação de Debye.

As partes real e imaginária da função são, respetivamente:

$$\varepsilon' = r(\omega)\cos[\gamma\psi(\omega)]\Delta\varepsilon + \varepsilon_{\infty} \quad (22)$$

$$\varepsilon'' = r(\omega)\sin[\gamma\psi(\omega)]\Delta\varepsilon \quad (23)$$

sendo $r(\omega)$ e $\psi(\omega)$ funções auxiliares definidas como:

$$r(\omega) = [1 + 2(\omega\tau_{HN})^{\beta}\cos(\beta\pi/2) + (\omega\tau_{HN})^{2\beta}]^{\gamma/2} \quad (24)$$

$$\psi(\omega) = \arctan \left[\frac{\sin(\beta\pi/2)}{(\omega\tau_{HN})^{-\beta} + \cos(\beta\pi/2)} \right] \quad (25)$$

De forma a melhorar o modelo utilizado neste trabalho para descrever o comportamento da permitividade elétrica das fibras, houve a necessidade de fazer incluir um termo devido à condutividade das amostras, de modo a conseguir um ajuste mais adequado em baixas frequências. Assim, a componente imaginária da permitividade dielétrica, é expressa da seguinte forma:

$$\varepsilon'' = r(\omega)\sin[\gamma\psi(\omega)]\Delta\varepsilon + \frac{\sigma}{\varepsilon_0\omega^s} \quad (26)$$

onde σ é a condutividade elétrica DC e s é um expoente ($0 < s \leq 1$). Para condução eletrónica $s = 1$. No caso de condução iónica, $s \leq 1$.

Implementou-se uma outra alteração no tratamento dos ajustes nos dados experimentais, considerando duas relaxações para a parte imaginária da permitividade dielétrica, pelo que, a equação (23) fica,

$$\varepsilon'' = r_1(\omega)\sin[\gamma_1\psi_1(\omega)]\Delta\varepsilon_1 + r_2(\omega)\sin[\gamma_2\psi_2(\omega)]\Delta\varepsilon_2 + \frac{\sigma}{\varepsilon_0\omega^s} \quad (27)$$

2.5.4. Efeito da temperatura nos processos de relaxação e condutividade

Os comportamentos dos dipolos e dos portadores de carga sofrem variações com a temperatura. Ao estudar a variação dos parâmetros τ_{HN} e σ_{DC} com a temperatura, é possível determinar as energias de ativação da condutividade DC e das relaxações. Assim, para essas variações, é esperado um comportamento de tipo de Arrhenius, pelo que tem-se [33]:

$$\tau_{HN} = \tau_0 \exp\left(\frac{E_a}{k_B T}\right) \quad (28)$$

$$\sigma_{DC} \cdot T = \sigma_0 \exp\left(-\frac{E_a}{k_B T}\right) \quad (29)$$

sendo E_a a energia de ativação, k_B a constante de Boltzman³ e T a temperatura.

A dependência de $\ln(\tau)$ e $\ln(\sigma)$ com a temperatura é proporcional ao termo $1/T$, assim, espera-se que os gráficos $\ln(\tau)$ vs $1/T$ e $\ln(\sigma \cdot T)$ vs $1/T$, resultem em uma relação linear ou uma boa aproximação dela. Neste contexto, a condutividade DC e o tempo de relaxação, são expressos pela relação:

$$\ln(\tau_{HN}) = \ln(\tau_0) + \exp\frac{E_a}{k_B T} \quad (30)$$

$$\ln(\sigma_{DC} \cdot T) = \ln(\sigma_0) - \exp\frac{E_a}{k_B T} \quad (31)$$

Os declives das retas nos gráficos de $\ln(\tau)$ vs $1/T$ e de $\ln(\sigma \cdot T)$ vs $1/T$ são usados para determinar a energia de ativação, E_a , sendo:

$$E_a = m_{AC} k_B \quad (32)$$

$$E_a = m_{DC} k_B \quad (33)$$

onde m_{AC} e m_{DC} , são, respetivamente, os declives das retas de cada ajuste linear para os tempos de relaxação e condutividade DC.

³ $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ Kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{K}^{-1}$

3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS DE PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO

Foi utilizada a técnica de *electrospinning* para a produção das nanofibras poliméricas. Posteriormente, fez-se a caracterização morfológica das nanofibras por microscopia eletrônica de varrimento (SEM), mediu-se as propriedades dielétricas por espectroscopia de impedâncias e efetuaram-se as suas caracterizações piroelétricas e piezoelétrica, cujos resultados são mostrados e discutidos no capítulo 5.

3.1. *Electrospinning*

Na literatura, são descritas várias técnicas para a fabricação de nanomateriais, incluindo síntese assistida por modelo (*template-assisted synthesis*), automontagem, produção de filmes através de evaporação do solvente (*solvent casting*), separação de fases e técnicas de *electrospinning* [34].

A produção de nanofibras poliméricas por *electrospinning* é uma tecnologia que supera a limitação das fibras convencionais e dos tapetes não tecidos. Na técnica de *electrospinning*, a solução de polímero é ejetada de uma seringa através de uma agulha metálica sob a influência de uma elevada força eletrostática. A solução é depositada como um tapete fibroso não tecido num alvo eletricamente ligado à terra. À medida que o jato de solução viaja pelo ar, o solvente evapora, resultando na formação de fibras de polímero ultrafinas [35].

A configuração básica da técnica de *electrospinning* (Figura 6) consiste em quatro partes principais: uma seringa contendo uma solução de polímero, agulha metálica, fonte de alimentação e um coletor metálico com morfologia variável [34–36].

O processo de *electrospinning* inicia quando as cargas elétricas são induzidas na solução de polímero através da agulha metálica. Isso causa instabilidade na solução, resultando na formação de uma gota carregada. A repulsão das cargas causa uma força contrária à tensão superficial, levando a solução de polímero a fluir na direção do campo elétrico (Figura 6). Um aumento adicional no campo elétrico faz com que a gota esférica se deforme e assumira uma forma cônica. Nesta fase, nanofibras ultrafinas emergem da ponta cônica da gota de polímero, conhecida como cone de Taylor (Figura 7). Essas fibras são coletadas no coletor metálico mantido a uma distância otimizada. Um jato de carga estável pode ser formado apenas quando a solução de polímero tem força coesiva suficiente. Durante o processo, as forças de carga interna e externa causam o “chicote” do jato de líquido na direção do coletor. Este movimento

de “chicoteamento” permite que as cadeias de polímero dentro da solução se estiquem e deslizem umas sobre as outras, resultando na formação de fibras com diâmetros pequenos o suficiente para serem chamadas de nanofibras.

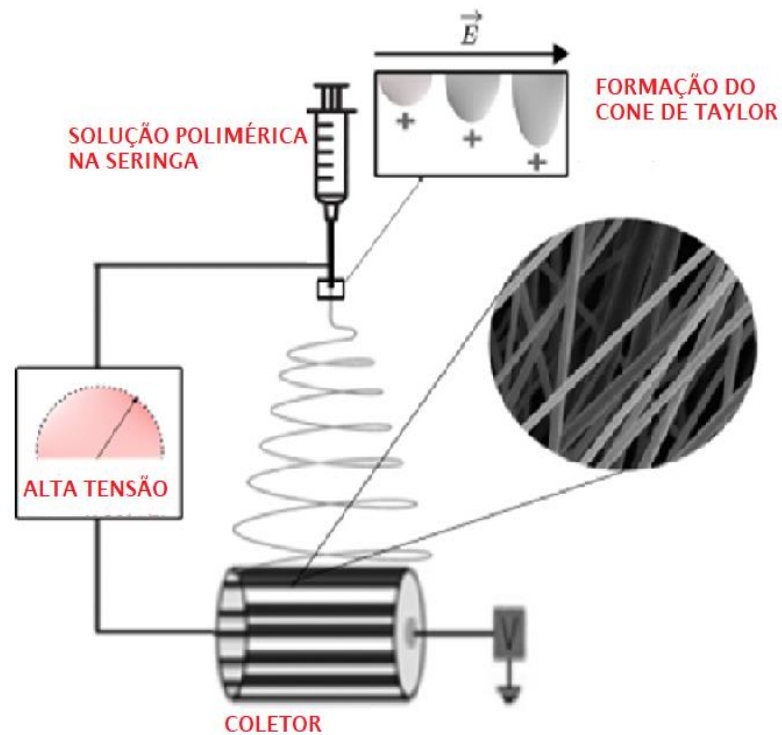


Figura 6. Esquema que descreve a configuração da técnica de electrospinning e o fenómeno de electrospinning [34].

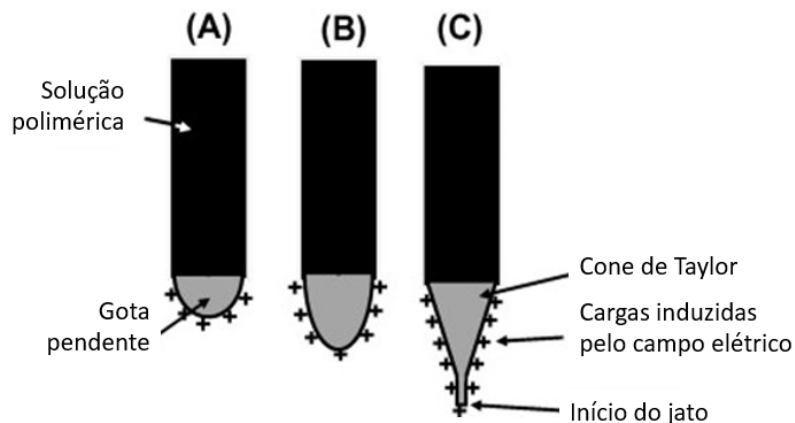


Figura 7. Esquema da formação do cone de Taylor: (A) Cargas superficiais são induzidas na solução de polímero devido ao campo elétrico. (B) Alongamento da gota pendente. (C) Deformação da gota pendente para a forma do cone de Taylor devido a repulsão carga-carga. Adaptado de [36].

O tipo de fibras obtidas por *electrospinning* depende de vários parâmetros do processo que podem ser modificados de modo a ajustar as propriedades das fibras aos mais variados fins a

que se destinam. Isso permite a obtenção de fibras grandes ou pequenas, mais espessas ou muito finas, com orientação específica ou aleatória, com a presença ou ausência de nanocristais no seu interior [36], como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros que afetam o processo de electrospinning [36,37].

Parâmetros da solução	Parâmetros do processo	Parâmetros ambientais
Viscosidade	Potencial eletrostático	Temperatura
Concentração	Força e forma do campo elétrico	Humidade
Condutividade	Distância entre agulha e coletor	Pressão
Tensão superficial	Diâmetro da agulha	Composição da atmosfera
Constante dielétrica	Taxa de alimentação	
Volatilidade do solvente	Tipo/forma do coletor	

Estes diversos parâmetros não são independentes entre si. A alteração de um parâmetro da solução pode requerer a alteração de vários outros parâmetros do processo.

3.2. Caracterização ótica

3.2.1. Espectroscopia de absorção UV-Visível

A espectroscopia de absorção utiliza como fonte de luz a radiação eletromagnética UV-visível na faixa de comprimentos de onda entre 190 e 800 nm. Essa técnica é usada para medir a intensidade de luz absorvida em função do comprimento de onda.

A absorção é geralmente definida como o processo no qual a intensidade da luz medida diminui devido à transição molecular do estado fundamental para um estado excitado. Este processo ocorre quando a diferença entre as energias dos estados excitado e fundamental é igual à energia dos fótons.

$$E_{est.excitado} - E_{est.fundamental} = h\nu \quad (34)$$

onde h , é a constante de Planck ($h = 6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s) e ν representa a frequência em Hz.

A absorção depende das características do material, da radiação incidente e das estruturas químicas dos compostos envolvidos.

Na espectroscopia de absorção, a intensidade de feixe de luz, diminui ao atravessar a amostra de acordo a equação,

$$I(\lambda) = I_0 \cdot \exp(-\alpha b) \quad (35)$$

onde I e I_0 são, respetivamente, as intensidades do feixe transmitido e do feixe incidente, α é o coeficiente de absorção (cm^{-1}) e b é comprimento do meio absorvente (cm).

A lei de Lambert-Beer é fundamental para todos os tipos de absorção de radiação eletromagnética e relaciona a absorção da luz com as propriedades do material através do qual a luz passa. A absorbância, A , de um feixe de radiação monocromático em um meio isotrópico homogêneo é proporcional ao comprimento do meio absorvente, b , e à concentração de espécies absorventes, C , do meio, e é dada pela seguinte expressão,

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = \epsilon abc \quad (36)$$

em que ϵ é o coeficiente de absorção molar ou absortividade molar ($\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$), que constitui uma medida da intensidade da banda de absorção.

Para a absorção ótica, os espectros foram medidos usando um espectrofotómetro Shimadzu UV/250IPC. A partir destes dados, a energia do hiato de banda foi determinada usando a relação de Tauc, dada pela expressão,

$$(\alpha h\nu)^n = k(h\nu - E_g) \quad (37)$$

em que k representa uma constante de proporcionalidade independente da energia, E_g é a energia do hiato de banda. De referir que n representa a natureza da transição eletrónica. Em transições dipolares permitidas, $n = 2$ (hiato de banda direto) e $n = 1/2$ (hiato de banda indireto), sendo que para transições dipolares proibidas, $n = 2/3$ (hiato de banda direto) e $n = 1/3$ (hiato de banda indireto).

3.2.2. Espectroscopia de fluorescência

A espectroscopia de fluorescência é uma técnica de espectroscopia que analisa a emissão de fluorescência de uma determinada amostra.

A fluorescência e a fosforescência, são processos de emissão de fótons que ocorrem durante a relaxação molecular a partir de um estado eletrónico excitado [38]. Estes estados envolvem transições entre estados eletrónicos e vibracionais de moléculas fluorescentes, também conhecidas como fluoróforos [39]. Na fluorescência, o tempo de vida do estado excitado é muito curto, da ordem dos nanossegundos após a excitação, enquanto na fosforescência, a radiação emitida persiste por um tempo maior.

Os espectros de excitação e emissão de fluorescência, representados pelo diagrama de Jablonski na Figura 8, refletem as estruturas dos níveis vibracionais no estado fundamental e no estado excitado. A emissão de fluorescência ocorre à medida que os elétrons excitados no fluoróforo retornam aos níveis de energia mais baixos no estado eletrônico fundamental.

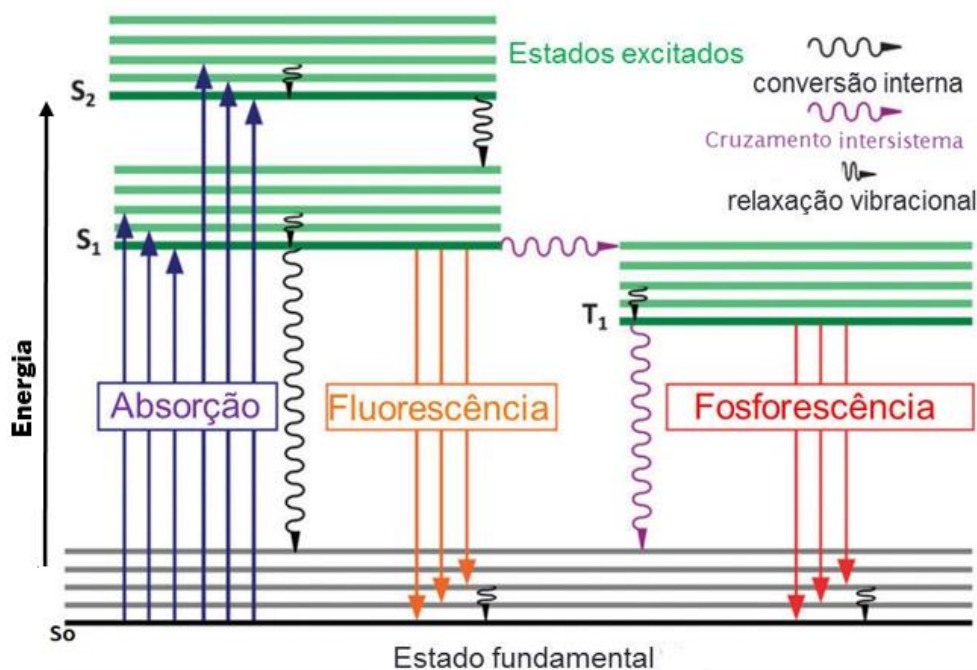


Figura 8. Diagrama de Jablonski simplificado. S – estados singleto, T – tripleto; a conversão interna e o cruzamento intersistemas são processos não radiativos. Figura adaptada de [38].

Foi utilizado o espectrofluorímetro FluoroMax-4 para a medição dos espectros de emissão e excitação, à temperatura ambiente. Para a excitação, usou-se o comprimento de onda (c.d.o.) de 275 nm para os dois dipéptidos estudados, enquanto para a emissão foram de $\lambda = 350$ nm (Phe-Leu) e $\lambda = 330$ nm (Phe-Ile).

3.2.3. Espectroscopia de refletância difusa UV-Vis

Uma propriedade fundamental e importante dos materiais é o seu hiato de bandas de energia, também conhecido como *band gap*, que desempenha um papel relevante no estudo das propriedades elétricas e óticas dos materiais [40]. Para a sua determinação, pode recorrer-se à técnica de espectroscopia de refletância difusa, a qual permite estudar as bandas eletrônicas ou níveis de energia molecular.

Esta técnica envolve a interação eletromagnética entre a amostra e a luz incidente na faixa de comprimento de onda (c.d.o.) característica do ultravioleta, visível e infravermelho próximo.

Quando a luz incide na amostra, ocorre dispersão em diferentes direções, resultando em reflexão difusa [41]. Um sistema de esferas integradoras é acoplado ao espectrofotômetro, onde é realizada a medição, colocando a amostra posicionada em frente à janela por onde passa o feixe de luz incidente, concentrado a partir da amostra em direção ao detector. A esfera é revestida interiormente com sulfato de bário. A Figura 9 mostra o esquema de um espectrofotômetro de refletância difusa com uma esfera integradora.

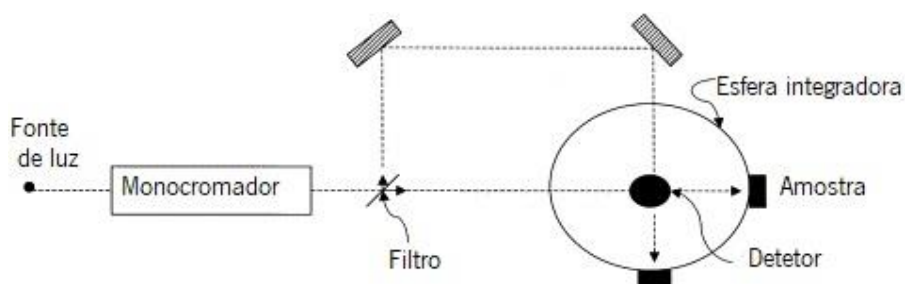


Figura 9. Representação esquemática de um espectrofotômetro de refletância difusa com uma esfera integradora [41].

A energia do hiato de banda foi determinada pela função de Kubelka–Munk, $F(R_\infty)$, apresentada na equação (38), sendo este o modelo mais utilizado no estudo de dados obtidos a partir do espectro de refletância.

$$F(R_\infty) = \frac{(1 - R_\infty)^2}{2R_\infty} = \frac{K}{S} \quad (38)$$

onde, R_∞ é a reflexão difusa da amostra, K é a constante de absorção em m^{-1} e S o coeficiente de espalhamento em m^{-1} .

Para materiais com transições dipolares permitidas indiretas, a energia do hiato de banda (E_g) é determinada pela raiz quadrada do produto da função de Kubelka-Munk, $F(R)$, pela energia de excitação do fóton emitido ($h\nu$), dado pela equação:

$$[h\nu \times F(R)]^{1/2} = \alpha(h\nu - E_g) \quad (39)$$

Para a medição do espectro de refletância das micro/nanofibras, foi utilizado o espectrofotômetro UV-2501 PC com a esfera integradora Shimadzu ISR-205 40A, que permite obter espectros de refletância (em %) em função do c.d.o. na região espectral entre 200 e 800 nm, disponível no Centro de Física da Universidade do Minho. Para o cálculo e análise dos dados, utilizou-se o programa Origin 2017.

3.2.4. Microscopia confocal

A microscopia confocal é uma técnica de imagem ótica que usa iluminação por meio de um orifício espacial (*pinhole*) para eliminar sinais fora de foco. A luz de excitação da microscopia confocal é geralmente fornecida por um laser, o que resulta em altas intensidades de fluorescência ou refletância no ponto focal [42].

Na Figura 10, está representado um esquema simplificado de um microscópio confocal, onde o feixe de luz passa pelo espelho dicromático e pela objetiva, incidindo na amostra. A luz refletida pela amostra retorna passando novamente pela mesma objetiva e espelho dicromático até o *pinhole*, onde é detetada e os sinais gerados são processados.

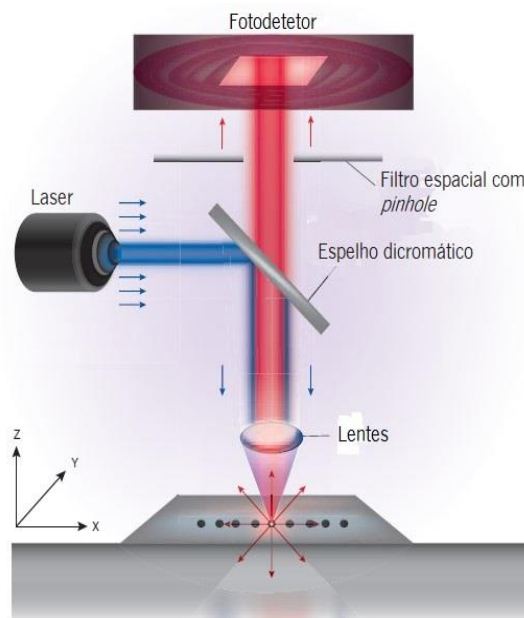


Figura 10. Imagem simplificada de um microscópio confocal [42].

Para este trabalho de investigação, a fluorescência das fibras e das soluções foi visualizada utilizando um Olympus FluoView FV1000 do Centro de Engenharia Biológica da Universidade do Minho.

3.3. Caracterização morfológica

3.3.1. Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

O espalhamento de luz dinâmico (em inglês DLS – *dynamic light scattering*) também conhecido como espectroscopia de correlação de fótons (em inglês PCS – *photon correlation spectroscopy*), é uma técnica emergente utilizada no estudo do comportamento de difusão de

partículas em solução. O DLS, geralmente usa luz *laser* não invasiva que é focada numa solução contendo partículas utilizando uma cuvete.

No esquema representado na Figura 11, um feixe de luz monocromática atravessa a solução contendo as partículas. A luz espalha-se em todas as direções em função do tamanho e forma das partículas (difusão de Rayleigh), resultante do movimento aleatório das partículas em solução causado pelo movimento browniano, ou seja, os choques das moléculas do fluido com as partículas em suspensão [43]. A intensidade da dispersão é registada por um detetor.

O raio hidrodinâmico (R_h), que pode ser definido como o raio de uma esfera hipotética que se difunde na mesma taxa que a partícula sob investigação, pode ser obtido usando a equação de Stokes-Einstein:

$$D_\tau = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_h} \quad (40)$$

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

Para a medição das amostras em estudo, foi usado um aparelho Litesizer 500 da Anton Paar (Figura 11A) do Departamento de Física da Universidade do Minho. As medições foram realizadas numa cuvete de quartzo com ângulo de medição de 175° (*backscatter*). O material em estudo foi definido como proteína, e o solvente utilizado foi o metanol. O processamento dos dados experimentais foi feito através do *software* Kalliope.

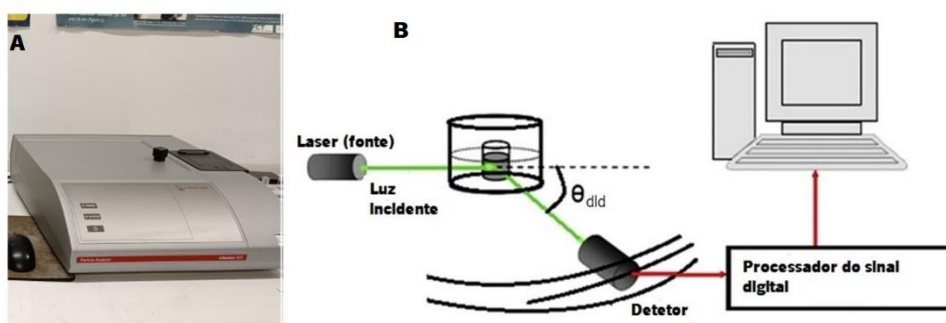


Figura 11. Aparelho de medição DLS em **A)** e esquema de funcionamento da DLS onde a luz dispersa é desviada para um detetor e as intensidades médias são convertidas em tamanhos, em **B)** [44].

3.3.2. Microscopia eletrônica de varrimento

A microscopia eletrônica de varrimento (MEV ou SEM, do inglês, *scanning electron microscopy*), é uma técnica de imagem que utiliza um feixe de elétrons para interagir com a amostra. Essa técnica, desenvolvida para o estudo e caracterização de materiais em escala nano e micrométrica, possui alta resolução espacial, geralmente na faixa de 2 a 5 nm, e possui uma profundidade de campo consideravelmente ampla [45]. Essas características tornam o MEV um instrumento versátil para o estudo e análise de superfícies topográficas, estruturas cristalinas e composições químicas, dependendo do tipo de microscópio e do sinal utilizado para formar a imagem.

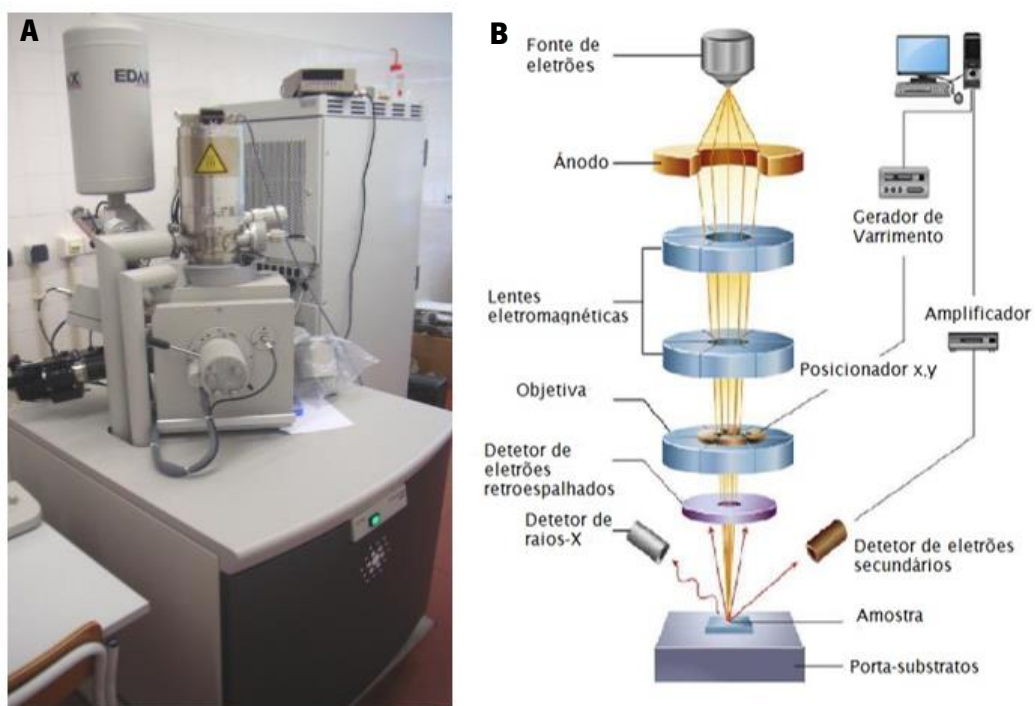


Figura 12. **A.** Microscópio eletrônico de varrimento do SEMAT [46]. **B.** Esquema representativo de um microscópio eletrônico de varrimento. Figura adaptada de [47].

O estudo dos dipéptidos em solução bem como dos dipéptidos incorporados em nanofibras poliméricas, foi realizado utilizando o sistema de MEV (Nano SEM-FEI 200), mostrado na Figura 12A, do SEMAT – Serviços de Caracterização de Materiais da Universidade do Minho.

A técnica de MEV (cujo esquema representado na Figura 12B), envolve o use de um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, ponto a ponto, por meio de linhas sucessivas. O sinal do detetor é transmitido para uma tela catódica cujo varrimento

encontra-se sincronizado com o do feixe incidente. O feixe é guiado por um sistema de bobinas de deflexão, varrendo dessa forma a superfície da amostra [45,48].

As imagens no MEV, podem ser obtidas através dos elétrons secundários (elétrons de baixa energia) e dos elétrons retroespalhados (elétrons de alta energia). As imagens geradas pelos elétrons secundários, advêm da excitação dos elétrons da camada mais externa dos átomos dos materiais, enquanto, para os elétrons retroespalhados, é possível obter contrastes em função do número atômico dos elementos químicos presentes na amostra em estudo.

Os elétrons são produzidos a partir de um filamento de tungstênio (W) aquecido, sendo acelerados por meio de campos elétricos com valores compreendidos entre 1 e 50 kV. O feixe gerado passa por uma série de lentes eletromagnéticas que reduzem seu diâmetro e, em seguida, é focado na amostra que é varrida por ele. Quando o feixe primário interage com a região de incidência da amostra, ocorre a difusão de parte dos elétrons, formando um volume de interação cuja forma depende principalmente da tensão de aceleração e do número atômico da amostra [48], conforme representado na Figura 13.

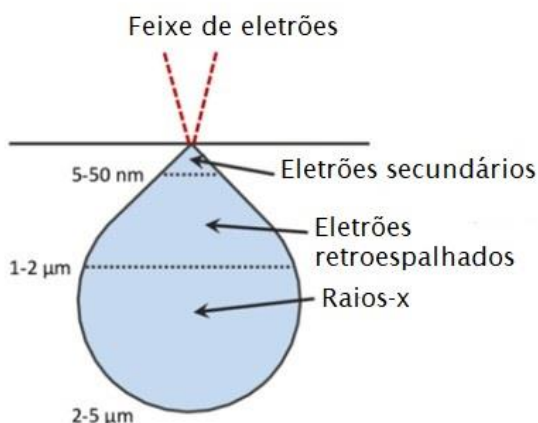


Figura 13. Volume de interação, mostrando a profundidade da penetração do feixe de elétrons. Figura adaptada de [49].

3.4. Espectroscopia de Impedâncias

A espectroscopia de impedâncias também conhecida como espectroscopia dielétrica, é frequentemente usada para estudar a resposta de uma amostra quando submetida a um campo elétrico de corrente alternada. Esta técnica permite a análise das propriedades dielétricas de um material em função da frequência e/ou temperatura.

Os estudos dielétricos são realizados principalmente por duas razões [50]:

- Os dados adquiridos, fornecem informações detalhadas sobre as propriedades elétricas da amostra, permitindo obter informações teóricas e aplicá-las na indústria eletrônica, especificamente no desenvolvimento de dispositivos semicondutores e na caracterização de isolantes.
- Esta técnica, também serve como uma ferramenta analítica pela qual os dados dielétricos obtidos podem ser associados a outras propriedades, como alterações na morfologia de um gel ou de um cristal.

Na espectroscopia de impedâncias, a amostra é colocada entre dois eletrodos, formando um condensador de placas planas paralelas. Neste estudo, utilizaram-se como eletrodos, a folha de alumínio na parte inferior das fibras e um cilindro de latão de 1 cm de diâmetro, na parte superior.

A parte real da permissividade ou constante dielétrica (ϵ') e a parte imaginária da permissividade (ϵ'') e o fator de perda ($\tan\delta$), podem ser determinados a partir das seguintes equações:

$$\epsilon'' = \frac{Cd}{A\epsilon_0} \quad (41)$$

$$\tan\delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (42)$$

onde ϵ_0 , é a permissividade do vácuo, d representa a espessura do material da amostra e A é a área do eletrodo ($A = 7,85 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$).

As medições para a caracterização dielétrica, tiveram lugar no Laboratório de Física de Estado Sólido do Centro de Física da Universidade do Minho. A montagem experimental consistiu em um forno resistivo, ligado a uma fonte de tensão para a monitorização da temperatura, um pino de medição e uma resistência PT100 calibrada. A tensão nos extremos foi obtida usando o voltímetro Keithley 182 Sensitive Digital Voltmeter. Na Figura 14, está representado o esquema da montagem experimental para a caracterização dielétrica.

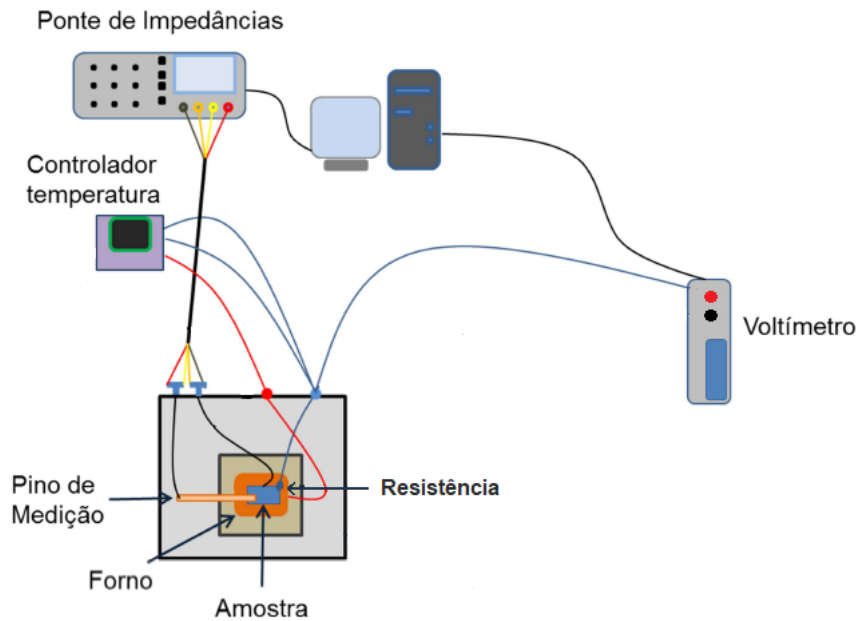


Figura 14. Representação esquemática da montagem experimental utilizada para medidas dielétricas [51].

A análise dos resultados é realizada por meio de ajustes, utilizando a equação (27) que descreve a parte imaginária da permitividade em função da frequência, para cada temperatura.

3.5. Caracterização piroelétrica

Para a medição piroelétrica, são considerados três tipos de equipamentos: um medidor de corrente elétrica com resolução suficiente para detectar sinais elétricos pequenos, um medidor de temperatura com resolução suficiente para permitir a determinação da taxa de variação da temperatura no tempo e um cronómetro que ajude na determinação da referida taxa.

Para este projeto, com o objetivo de obter o coeficiente piroelétrico das micro/nanofibras, são aplicados ciclos térmicos utilizando um eletrómetro Keithley 617. A montagem experimental é semelhante à das medições dielétricas descrita na secção anterior, registrando a corrente elétrica (I) e temperatura (T) em determinados intervalos de tempo específicos durante o ciclo térmico, tanto na fase de aquecimento como na fase de arrefecimento.

O coeficiente piroelétrico é obtido de acordo com a equação (3) da página 11.

3.6. Caracterização piezoelétrica

Os tapetes de nanofibras foram depositados diretamente em folhas de alumínio de alta pureza, que funcionaram como elétrodos para a medição piezoelétrica.

A tensão de saída piezoelétrica foi medida por meio de uma resistência de 100 M Ω conectada a um filtro passa-baixo (*low-pass*) de 6 dB, seguido por um pré amplificador de

baixo ruído (*research system* SR560). Em seguida, os valores de tensão foram registados por um osciloscópio de armazenamento digital (Angilent Technologies DS0-X-3^a12A).

O tapete de micro/nanofibras foi submetido a uma força mecânica periódica gerada por um gerador de vibrações (Frederiksen SF2185) com uma amplitude 500 mVPP aplicada a membrana e uma frequência de 3 Hz fornecida por um gerador de sinais (Hewlett Packard 33^a20A).

Com base nos valores de tensão de saída V obtidos pelo osciloscópio e sabendo a resistência, R , do aparelho, calcula-se pela lei de Ohm, a corrente piezoelétrica máxima, I_{max} ,

$$I = \frac{V}{R} \quad (43)$$

A partir do intervalo de tempo, Δt , e conhecida a corrente piezoelétrica máxima através da equação 43, chega-se ao valor da carga, Q , através da equação 44,

$$Q = I_{max}\Delta t \quad (44)$$

Desta forma, é possível determinar o coeficiente piezoelétrico efetivo, d_{eff} , tendo em conta o valor da carga Q e da força aplicada F_{ap} ,

$$d_{eff} = \frac{Q}{F_{ap}} \quad (45)$$

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo, será dada ênfase à descrição dos materiais utilizados, incluindo dipéptidos, polímeros e solventes, no contexto deste trabalho. Além disso, será apresentada a metodologia adotada para o desenvolvimento do trabalho, abrangendo os processos de preparação e os ensaios laboratoriais. Serão detalhados os procedimentos experimentais e equipamentos necessários para a realização dos ensaios. Por fim, será descrita a técnica de *electrospinning* utilizada para obter as micro/nanofibras.

4.1. Materiais utilizados

Tal como foi referido no capítulo 1, neste trabalho foram produzidos bionanomateriais híbridos compostos por dipéptidos quirais lineares L-fenilalanil-L-leucina (H-Phe-Leu-OH, L-Phe-L-Leu ou Phe-Leu) e L-fenilalanil-L-isoleucina (H-Phe-Ileu-OH, L-Phe-L-Ileu ou Phe-Ile), que foram incorporados em polímeros selecionados previamente. Os polímeros escolhidos incluem PLLA (ácido poli-L-lático), PCL (policaprolactona) e PMMA (polimetilmetacrilato), tendo em consideração as suas características como biodegradabilidade, biomimeticidade e biocompatibilidade. Além disso, a baixa toxicidade dos polímeros foi um critério importante na sua seleção, uma vez que o objetivo para este trabalho visa aplicá-los em biossensores.

Dipéptidos (Phe-Leu e Phe-Ile)

A L-fenilalanil-L-leucina e a L-fenilalanil-L-isoleucina são dois isómeros dipeptídicos formados respetivamente, a partir de resíduos de L-fenilalanina e L-leucina e de resíduos de L-fenilalanina e L-isoleucina, respetivamente.

Estes dipéptidos foram fornecidos pela *Bachem* e possuem massa molecular média de 278,35 g/mol. A sua fórmula molecular é $C_{15}H_{22}N_2O_3$, e apresentam 3 grupos doadores por ligação de hidrogénio e 2 grupos aceitadores – os grupos C=O e o N-H da ligação peptídica, bem como os grupos terminais, o grupo amina (NH_2) e o grupo ácido carboxílico (COOH). A Figura 15 mostra a fórmula estrutural em 2D dos dipéptidos L-fenilalanil-L-Leucina (Figura 15A) e L-fenilalanil-L-Isoleucina (Figura 15B).

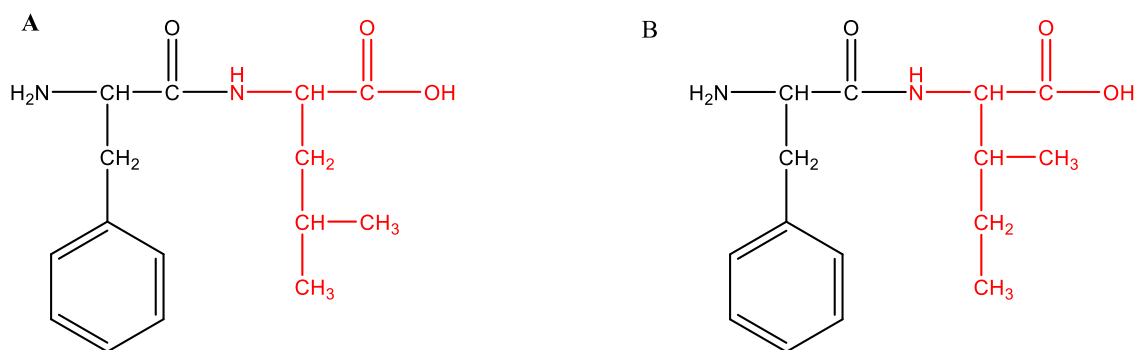


Figura 15. Estrutura molecular do dipéptido. A. Phe-Leu e B. Phe-Ile.

A proteção do grupo amina dos dipéptidos com o grupo protetor Boc (*terc-butoxicarbonilo*) foi realizada com o objetivo de aumentar a solubilidade dos dipéptidos em solventes orgânicos convencionais e permitir sua posterior incorporação em soluções de biopolímeros. O grupo protetor Boc é quimicamente conhecido como di-terc-butil pirocarbonato, Boc_2O , e possui uma massa molecular de 218,25 g/mol.

O grupo Boc, representado na Figura 16 a verde, protege a amina devido à sua inércia à hidrogenólise catalítica e resistência à hidrólise na maioria das condições básicas e reagentes nucleofílicos, desta forma, qualquer grupo nucleofílico que se aproxime do grupo amina é impedido pela elevada densidade eletrônica do grupo Boc evitando assim a desprotonação da amina.

As condições de reação para a proteção da amina são bastante flexíveis e o processo alcança geralmente rendimentos altos.

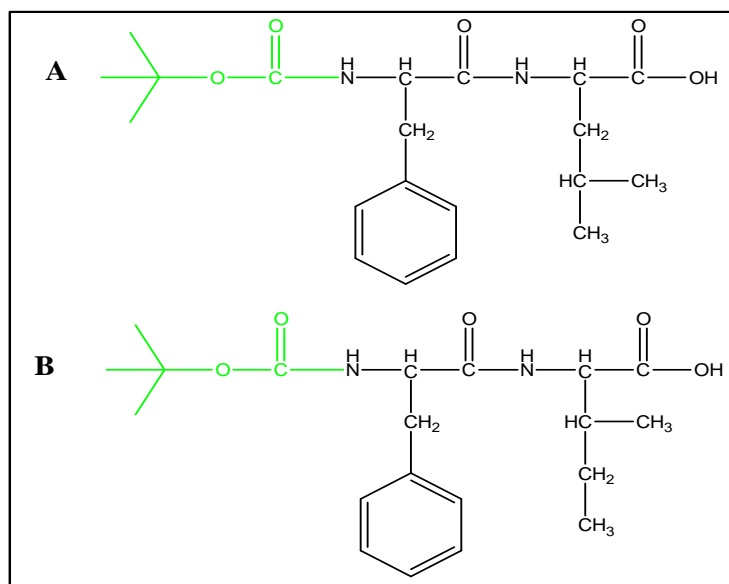


Figura 16. Estrutura molecular dos dipéptidos com o grupo Boc. A. Phe – Leu e B. Phe – Ile.

Ácido poli-L-lático (PLLA)

O PLLA, cuja estrutura molecular (2D) é representada na Figura 17, é produzido a partir da dimerização do ácido poli-L-lático. É um polímero semicristalino com ponto de fusão em torno de 170 °C e cristalinidade em torno de 70%, situando-se entre os poliláticos que apresentam a menor taxa de degradação. É considerado o material biodegradável mais promissor, não só por apresentar excelente biodegradabilidade e alta resistência, mas também por ser totalmente obtido a partir de recursos renováveis [52].

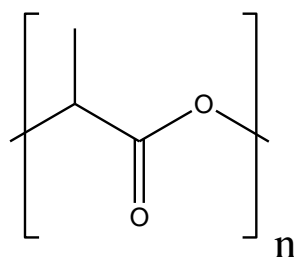


Figura 17. Estrutura molecular do PLLA.

Policaprolactona (PCL)

O PCL é um poliéster alifático composto por uma sequência de unidades de metileno, entre os quais se formam grupos éster [53]. É um polímero semicristalino com grau de cristalinidade que pode chegar a 69% e um ponto de fusão de 58 – 60 °C.

As propriedades físicas, térmicas e mecânicas do PCL dependem do seu peso molecular e do seu grau de cristalinidade [54]. Possui propriedades interessantes, como a degradabilidade

controlada, miscibilidade com outros polímeros e biocompatibilidade. A Figura 18, representa a fórmula estrutural da policaprolactona [55].

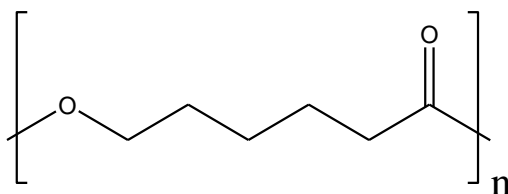


Figura 18. Estrutura molecular do PCL.

Polimetilmetacrilato (PMMA)

O PMMA, é um polímero sintético do monómero de metacrilato de metila, conforme estrutura molecular ilustrada na Figura 19. Funde a 130 °C e é considerado um polímero termoplástico amorfo, devido à presença do grupo metil adjacente na estrutura do polímero, o qual inibe o seu acondicionamento cristalino, permitindo que as cadeias girem livremente em torno das ligações CC.

Tendo em conta a sua biocompatibilidade e facilidade de processamento como um polímero, o PMMA possui várias aplicações em biomedicina, ótica, eletrólitos de baterias, sensores e nanotecnologia, o que justifica a sua escolha para este trabalho [56].

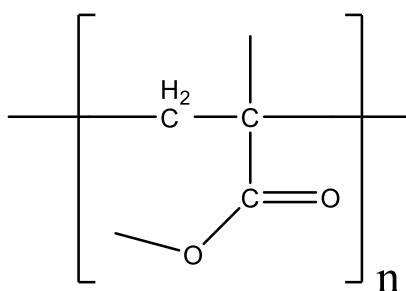


Figura 19. Estrutura molecular do PMMA.

Solventes

A solubilidade é a capacidade de um soluto (sólido, líquido ou gás) de se dissolver em um solvente (líquido ou gás) e formar uma solução homogênea. A solubilidade de uma substância depende das propriedades físicas e químicas do soluto e do solvente, bem como da temperatura.

No contexto deste trabalho, foram selecionados solventes específicos com base no princípio "semelhante-dissolve-semelhante" para compostos orgânicos. Inicialmente, o 1,4-dioxano foi

utilizado na preparação dos dipéptidos, enquanto o hexafluoro-isopropanol (HFIP) e o metanol foram utilizados na caracterização ótica e morfológica dos dipéptidos. Em todas as restantes fases do processo de preparação das nanofibras poliméricas, foram usados o clorofórmio, o diclorometano (DCM) e a dimetilformamida (DMF), selecionados de acordo com a solubilidade tanto dos dipéptidos quanto dos polímeros.

4.2. Funcionalização das nanoestruturas peptídicas com o grupo Boc

Os dipéptidos H-Phe-Leu-OH e H-Phe-Ile-OH, foram funcionalizados pelo método convencional em solução, conforme descrito por Jana *et al* [57]. O grupo Boc foi usado para a proteção do terminal-N, convertendo o grupo amina em carbamida.

4.2.1. Procedimento de síntese do Boc-Phe-Leu-OH

2 g de H-Phe-Leu-OH, foram dissolvidos em uma mistura de 1,4 dioxano (20 mL), água (12 mL) e hidróxido de sódio 1M NaOH (12 mL). A solução foi agitada (500 rpm) e arrefecida (até 0 °C) num banho de gelo-água durante 20 minutos. Após a homogeneização da solução, adicionou-se di-*terc*-butilpirocarbonato (1,72 g, 1.1 eq.) e a agitação foi mantida à temperatura ambiente durante 40 h. Em seguida, a mistura reacional foi coberta com uma camada de acetato de etilo (50 mL) e acidificada com uma solução diluída de hidrogenossulfato de potássio, KHSO₄, (6,31 g, 50 mL) a pH 2 – 3 (verificado com vermelho do Congo). A Figura 20A, representa o esquema deste processo.

A solução foi mantida sob agitação, e a fase aquosa foi rejeitada através de repetidas lavagens com acetato de etilo. Por fim, o solvente foi evaporado, tendo-se obtido o Boc-Phe-Leu-OH, sob a forma de um sólido branco (conforme Figura 20B) que foi colocado a secar em estufa, a 50 °C por mais 24 h.

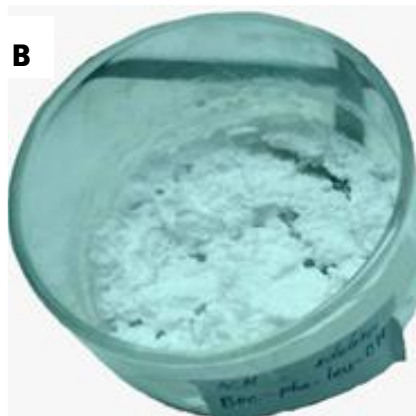
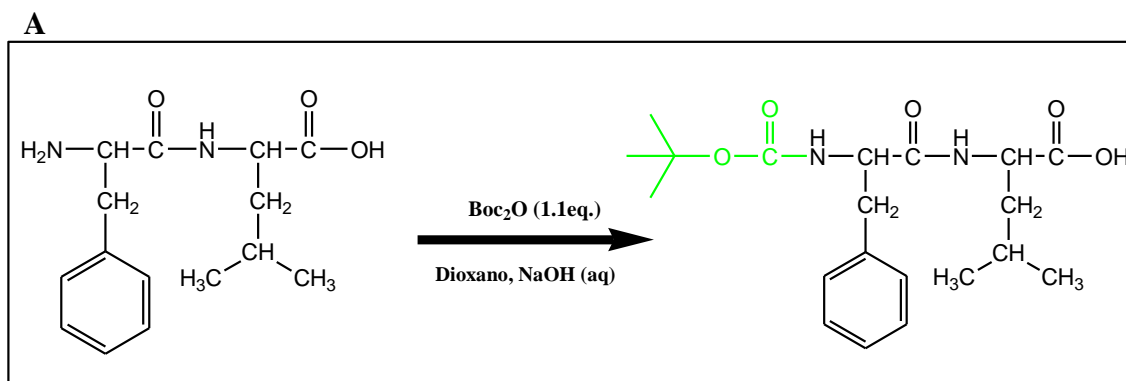


Figura 20. Funcionalização/proteção do dipéptido Phe-Leu. **A.** Esquema de síntese do dipéptido Boc-Phe-Leu-OH e **B.** dipéptido sob a forma de um sólido branco.

4.2.2. Procedimento de síntese do Boc-Phe-Ile-OH

Uma solução de H-Phe-Ileu-OH (0,50 g) em uma mistura de 1,4 dioxano (5 mL), água (3 mL) e hidróxido de sódio 1 M NaOH (3 mL) foi agitada (500 rpm) e arrefecida (até 0 °C) em um banho de gelo-água durante 20 minutos. Após a homogeneização da solução, adicionou-se o Boc₂O, di-*tert*-butilpirocarbonato (0,43 g, 1.1 eq.) e a agitação continuou à temperatura ambiente durante 40 h. Em seguida, a reação foi coberta com uma camada de acetato de etilo (50 mL) e acidificada com uma solução diluída de hidrogenossulfato de potássio, KHSO₄, (6,31 g, 50 mL) a pH 2 – 3 (vermelho do Congo). O esquema deste processo está representado na Figura 21.

A solução continuou sob agitação, e de seguida por extração descartou-se a fase aquosa após repetidas lavagens com acetato de etilo. Evaporou-se o solvente, acetato de etilo, em vácuo, tendo-se obtido finalmente o Boc-Phe-Ile-OH sob a forma de um sólido branco.

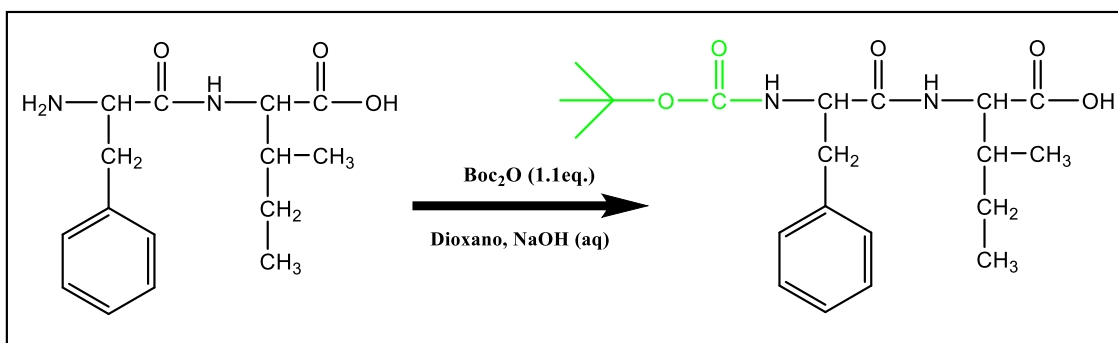


Figura 21. Funcionalização/proteção do dipéptido Phe-Ile. (A) Esquema de síntese do dipéptido Boc-Phe-Ile-OH.

4.3. Preparação das soluções poliméricas com dipéptidos

Para a obtenção de fibras com as características desejadas, é necessário realizar uma preparação cuidadosa e precisa das soluções. Estas soluções devem ser homogêneas e ter a viscosidade apropriada para garantir a estabilidade do *electrospinning*. Durante o processo, se a viscosidade for muito alta, a solução pode solidificar na extremidade da agulha da seringa e não ser ejetada. Por outro lado, se a viscosidade for muito baixa, pode resultar num fluxo muito rápido da solução através da agulha, o que dificulta a formação de um jato contínuo durante o processo. Isso pode levar à formação de gotículas em vez de fibras contínuas.

Para o efeito, é necessário preparar os polímeros e testar os solventes adequados para cada polímero nas proporções adequadas. A dissolução é feita sob agitação magnética e controlo da temperatura. A Figura 22, mostra a placa de agitação magnética utilizada na preparação das soluções em frascos de vidro que deverão manter-se devidamente selados, de forma a evitar a evaporação do solvente e conseqüente alteração da concentração da solução polimérica.



Figura 22. Placa térmica de agitação magnética utilizada na preparação das soluções poliméricas com dipéptidos.

Em primeiro lugar, começou-se por testar a dissolução do PLLA em clorofórmio e DMF. Numa mistura de 5 mL de clorofórmio/DMF (4:1 v/v), sob forte agitação e temperatura controlada (610 rpm, 35 °C) adicionou-se em pequenas porções 0,50 g de PLLA, de forma a obter uma solução de concentração 10% (w/v). Importa referir que o PLLA não dissolve em DMF, por esse motivo, procedeu-se à dissolução total do polímero em clorofórmio a 35 °C, e posterior adição do DMF. Os mesmos solventes e na mesma proporção (4:1 v/v), foram usados na preparação da solução polimérica de PCL 10% (0,50 g), tendo-se verificado a dissolução total à temperatura ambiente e sob agitação de 300 rpm. O PCL foi ainda testado em tetrahidrofurano (THF) e DMF numa proporção de (4:1 v/v) à temperatura ambiente sob agitação de 400 rpm.

No caso do PMMA, foram realizados testes em que 0,6 g (12%) e 0,75 g (15%) do polímero foram dissolvidos em frascos separados contendo 5 mL de uma mistura de DCM/DMF (4:1 v/v) a temperatura ambiente, com agitação de 300 rpm. Em ambas as condições, o PMMA dissolveu-se completamente. No entanto, mesmo após a dissolução do polímero, as soluções obtidas não foram adequadas para a produção de fibras. Em alguns casos, as soluções ficavam aglomeradas na extremidade da agulha e não chegavam ao coletor, impedindo a formação do cone de Taylor. Em outros casos, as fibras produzidas apresentavam *beads* (gotículas), provavelmente devido à viscosidade inadequada das soluções. Além disso, em alguns casos, o tapete de fibras secava e se transformava em plástico após 24 horas, como ocorreu com o PCL.

Assim, houve necessidade de mudar os solventes, variar as proporções ou apenas variar alguns parâmetros durante o processo do *electrospinning*. Após vários testes incluindo a adição dos dipéptidos, obtiveram-se fibras adequadas, com diâmetros em média uniformes, bem orientadas, consistentes e resistentes, cujas condições de preparação são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições de preparação das soluções poliméricas com dipéptidos.

Amostra	Composição	Relação peso/volume
1	PLLA + Boc-Phe-Leu	PLLA (0,5 g) + DCM (4 mL) + Boc-Phe-Leu (0,5 g) + DMF (1mL)
2	PCL + Boc-Phe-Leu	PCL (0,5 g) + DCM/DMF (5 mL, 4:1) + Boc-Phe-Leu (0,5 g)
3	PMMA + Boc-Phe-Leu	PMMA (0,5 g) + DCM (4 mL) + Boc-Phe-Leu (0,5 g) + DMF (1 mL)
4	PLLA + Boc-Phe-Ile	PLLA (0,5 g) + DCM/DMF (5 mL, 8:1) + Boc-Phe-Ileu (0,5 g)
5	PCL + Boc-Phe-Ile	PCL (0,5 g) + DCM/DMF (5 mL, 8:1) + Boc-Phe-Ileu (0,5 g)
6	PMMA + Boc-Phe-Ile	PMMA (0,5 g) + DCM/DMF (5 mL, 8:1) + Boc-Phe-Ileu (0,5 g)

Na amostra 1, o PLLA foi dissolvido em DCM e submetido a uma forte agitação de 600 rpm e a uma temperatura de 35 °C. O dipéptido dissolvido em DMF, tal como referido na Tabela 2, foi adicionado à solução polimérica, à temperatura ambiente sob uma agitação ligeira com 300 rpm. Após a adição, a solução continuou sob agitação por mais 24 h.

Foram aplicadas as mesmas condições da amostra 1 para a amostra 3, com a diferença de que nesta, o polímero, PMMA, dissolveu completamente à temperatura ambiente. Para a amostra 2, a solução polimérica em DCM, foi submetida a uma agitação de 600 rpm, à temperatura ambiente durante todo o processo de dissolução, tendo sido adicionado o DMF posteriormente, na proporção (4:1 v/v). O dipéptido foi adicionado à solução gradualmente e esta foi mantida sob agitação até se observar a dissolução completa.

Na preparação das amostras 4, 5 e 6, foi utilizado um frasco contendo 5 mL de uma mistura de DCM/DMF na proporção de 8:1 (v/v). A solução foi agitada a 400 rpm durante o processo de dissolução do polímero. Foi aplicada temperatura à solução de PLLA, de 35 °C, e as soluções de PCL e PMMA foram mantidas à temperatura ambiente. Procedeu-se a adição do polímero em pequenas quantidades para permitir uma dissolução gradual e homogeneização da solução. Após a dissolução completa do polímero, o dipéptido foi adicionado em pequenas porções, e a agitação continuou por mais 24 h.

É importante referir que todas as amostras resultaram em soluções homogêneas e transparentes, com exceção das amostras 3 e 6, que apresentaram soluções esbranquiçadas.

4.4. Solução das nanoestruturas peptídicas para caracterização ótica e morfológica

Na caracterização ótica e morfológica das nanoestruturas peptídicas, os dipéptidos foram dissolvidos em HFIP, numa concentração de 100 mg/mL para o Boc-Phe-Leu e 12,75 mg/mL para o Boc-Phe-Ile. A fim de realizar análises mais detalhadas, foram efetuadas diluições em metanol para concentrações de 1, 3, 6 e 10 mg/mL, respetivamente para cada dipéptido.

A caracterização ótica das soluções diluídas, absorção e emissão, encontra-se apresentada no capítulo 5.

Para os estudos óticos de emissão e excitação, as soluções dos dipéptidos foram diluídas em metanol para concentrações menores. As concentrações finais utilizadas foram de 0,0001 mg/mL, 0,0003 mg/mL e 0,0006 mg/mL para cada dipéptido. Essa diluição foi necessária devido à elevada fluorescência dos dipéptidos e à sensibilidade do fluorímetro utilizado nas medições.

Para a determinação do tamanho hidrodinâmico, índice de polidispersividade e potencial zeta das nanoestruturas peptídicas, recorreu-se à técnica de espalhamento de luz dinâmico. Inicialmente, uma solução do dipéptido dissolvido em metanol com concentração de 0,0006 mg/mL foi preparada. Em seguida, 100 μ L dessa solução foi adicionado a 2900 μ L de água ultrapura. Antes das medições, a solução foi sonificada a 36 °C por 10 minutos, agitada em vortex por 2 minutos e filtrada utilizando um filtro de poro com diâmetro de 45 μ m. As medições foram realizadas em uma célula de quartzo para o tamanho hidrodinâmico e índice de polidispersividade, e numa univete (célula de vidro) para o potencial zeta e faz-se a medição em ângulo de retrodifusão (*backscatter*).

Para a caracterização morfológica, foi utilizada a técnica de microscopia eletrónica de varrimento (MEV). Para isso, 20 μ L de uma solução de dipéptido dissolvido em metanol, numa concentração de 3 mg/mL, foi depositada numa lamela de vidro. Após a evaporação completa do solvente à temperatura ambiente, as amostras foram enviadas ao SEMAT para análise.

4.5. Produção das micro/nanofibras por *electrospinning*

No presente estudo, a produção das micro/nanofibras com dipéptidos incorporados em soluções poliméricas, foi realizada utilizando um aparelho convencional de *electrospinning*. A

Figura 24 ilustra o equipamento utilizado, que foi montado no Laboratório de Preparação II do Centro de Física da Universidade do Minho.



Figura 23. Montagem experimental do electrospinning, usado para a produção de nanofibras.

O princípio de funcionamento do *electrospinning* deve sempre ter em conta os vários parâmetros listados na Tabela 1 do capítulo 3. Esses parâmetros desempenham um papel crucial na qualidade das fibras produzidas. Alguns dos principais parâmetros incluem a viscosidade das soluções, a tensão aplicada à agulha da seringa, a distância entre a agulha e o coletor, bem como as condições ambientais. A tensão aplicada à agulha da seringa afeta a força eletrostática que atua sobre a solução, influenciando a formação das fibras. A distância entre a agulha e o coletor determina a extensão de estiramento e orientação das fibras durante o processo de ejeção.

Além disso, as condições ambientais, como a temperatura e a humidade, também podem afetar o processo de *electrospinning*. O coletor utilizado no processo descrito é um cilindro rotativo, composto por arames metálicos revestidos com folha de alumínio. Essa configuração do coletor é escolhida para promover a coleta uniforme das fibras e facilitar a posterior manipulação e utilização das fibras produzidas.

As condições usadas para a obtenção das fibras referidas neste trabalho estão apresentadas na Tabela 3. É de referir que os valores apresentados são resultado de vários testes e

combinações de parâmetros. A rotação do coletor é gerada por um motor acoplado ao aparelho de *electrospinning* e ligado a uma fonte de tensão DC entre 6,50 a 7,50 V.

Tabela 3. Parâmetros aplicados durante o processo de electrospinning.

Amostra	Diâmetro da agulha (mm)	Tensão Aplicada (kV)	Taxa de alimentação (mL/h)	Distância entre agulha e coletor (cm)
1	0,5	20	0,30	11
2	0,5	20	0,30	11
3	0,5	20	0,30	11
4	0,5	18	0,30	11
5	0,5	20	0,10	11
6	0,5	18	0,20	12
7	0,5	20	0,20	11

A utilização destes parâmetros experimentais permitiu obter fibras com camadas entre 125 – 233 μm de espessura, cujos tapetes encontram-se representados na Figura 24.

Um esquema ilustrando o processo de produção de nanofibras poliméricas com dipéptidos incorporados, é apresentado na Figura 25.



Figura 24. tapete de micro/nanofibras poliméricas com dipéptido incorporado produzido por electrospinning.

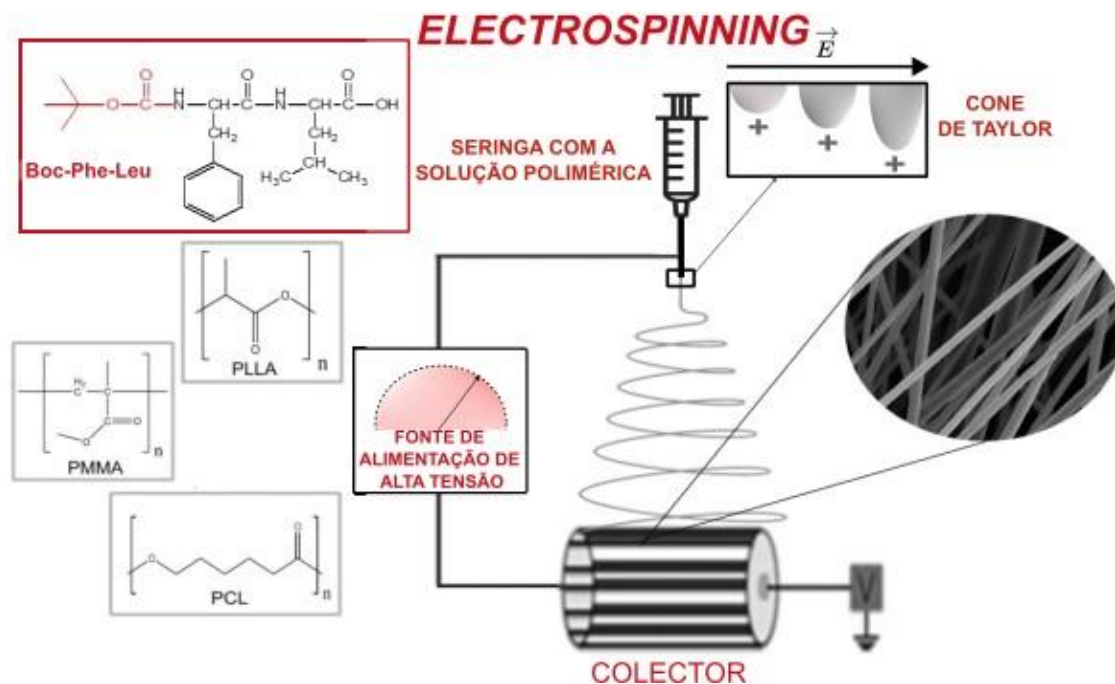


Figura 25. Esquema do processo de produção das nanofibras poliméricas com dipéptidos incorporados.

Durante a produção das fibras há necessidade de interromper o processo sempre que se verifique alguma anomalia, como aglomeração da solução na extremidade da agulha ou gotejamento excessivo da solução. Nesses casos, é necessário proceder a uma limpeza e, se possível, ajustar um ou mais parâmetros do processo. No início de cada produção, uma lamela de plástico é colocada sobre a superfície de alumínio do coletor, permitindo a recolha e monitorização da qualidade das fibras por observação num microscópio ótico simples. Quando as fibras apresentam boa orientação, uniformidade de diâmetros e ausência de *beads*, uma lamela de silício é colocada sobre a superfície de alumínio do coletor. Essa lamela permite recolher uma amostra de fibras que posteriormente é enviada ao SEMAT para a caracterização morfológica (MEV). O tapete de fibras depositado sobre a superfície de alumínio foi utilizado para realizar medições dielétricas, piroelétricas, piezoelétricas e para caracterização ótica das fibras por refletância difusa.

5. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo são apresentados os resultados dos dados experimentais obtidos através das várias técnicas de caracterização descritas no capítulo 3, a partir da página 20. Durante a apresentação dos resultados, também é realizada a discussão desses dados, com o objetivo de interpretar e compreender os resultados obtidos.

5.1. Caracterização ótica

➤ Espectros de absorção e fotoluminescência

Tal como referido no capítulo anterior, os dipéptidos foram dissolvidos em metanol para caracterização ótica. As medições de absorção para a amostra Boc-Phe-Leu, representadas na Figura 26, mostram bandas na região espectral 240 – 280 nm. Os espectros correspondentes apresentam picos, em ordem crescente de comprimentos de onda, localizados em 247,5 nm (5,01 eV), 252,5 nm (4,91 eV), 258 nm (4,80 eV), 263 nm (4,71 eV) e 267 nm (4,64 eV).

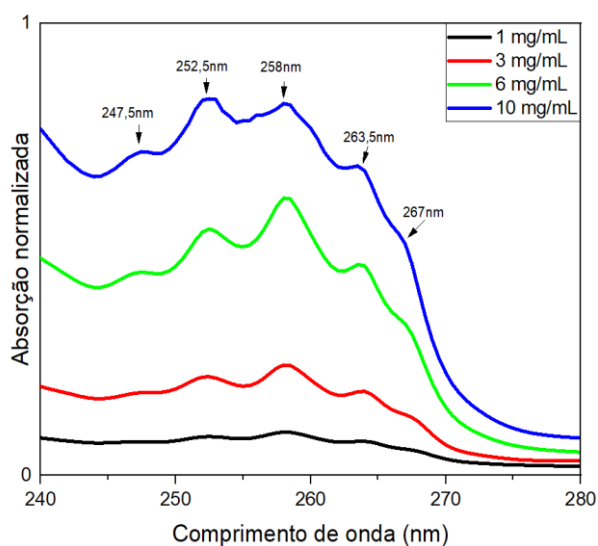


Figura 26. Espectros de absorção UV-Vis normalizados do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol, para diferentes concentrações de solução.

A presença dos picos nos espectros de absorção (normalizados segundo o espectro de maior concentração), como mencionado anteriormente, sugere a formação de nanoesferas auto-organizadas com um efeito de confinamento quântico [7]. Como é esperado, com o aumento da concentração regista-se um aumento na intensidade de absorção.

O método de Tauc, representado na Figura 27, foi aplicado ao espectro de maior concentração (10 mg/mL). Os resultados mostraram um hiato de banda de $E_g = 4,498 \pm 0,004$ eV para a amostra Boc-Phe-Leu.

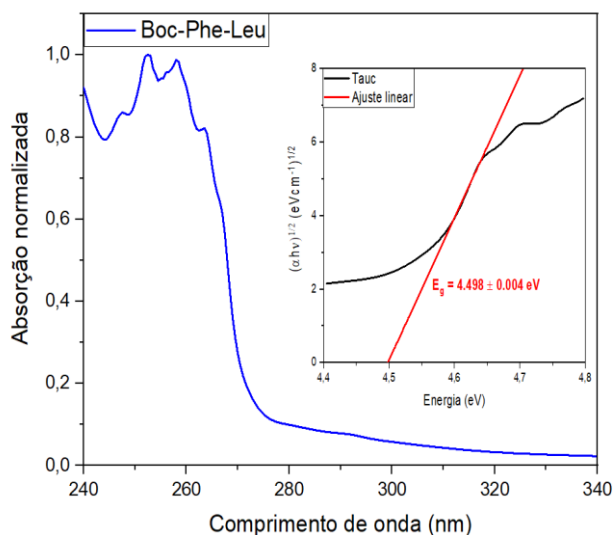


Figura 27. Espectro de absorção UV-Vis normalizado do dipéptido Boc-Phe-Leu (10 mg/mL), com o gráfico de Tauc representado.

Aplicou-se o mesmo procedimento para a amostra Boc-Phe-Ile, com o espectro de absorção representado na Figura 28, cujos resultados são similares aos obtidos para o Boc-Phe-Leu, pelo fato de as duas moléculas serem isoméricas.

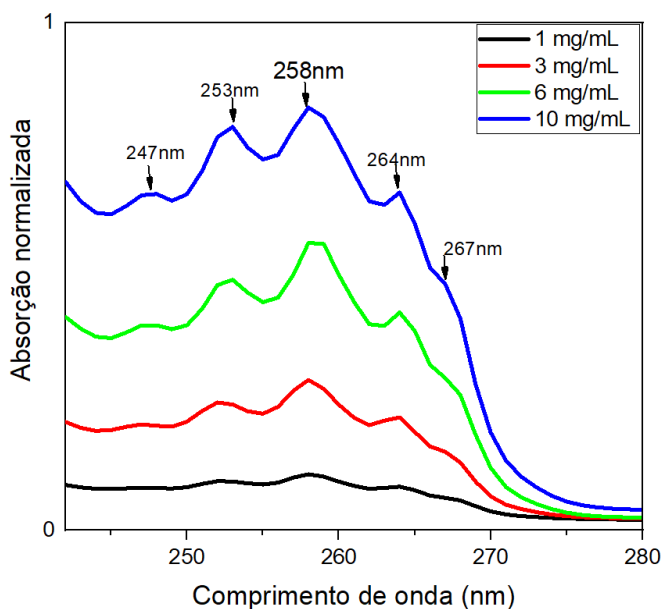


Figura 28. Espectros de absorção UV-Vis normalizados do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol, para diferentes concentrações de solução.

Para diferentes concentrações com o dipéptido dissolvido em metanol, a intensidade dos picos de absorção aumenta com o aumento da concentração, sendo os picos mais proeminentes observados em concentrações mais altas. O espectro de absorção apresenta cinco picos, característicos de um confinamento quântico. Os comprimentos de onda são 247 nm (5,02 eV), 253 nm (4,91 eV), 258 nm (4,80 eV), 264 nm (4,70 eV) e 267 nm (4,64 eV), com uma distância média entre os picos de 4 nm.

Ao aplicar o método de Tauc (Figura 29) ao mesmo espectro de absorção para uma concentração máxima de 10 mg/mL, obteve-se um hiato de banda igual a $4,510 \pm 0,007$ eV.

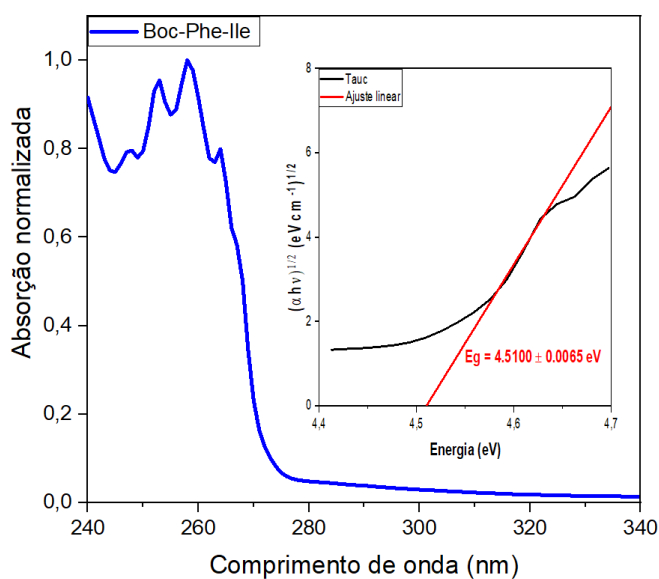


Figura 29. Espectro de absorção UV-Vis normalizado do dipéptido Boc-Phe-Ile (10 mg/mL), com o gráfico de Tauc representado.

A Figura 30 representa o espectro de emissão à temperatura ambiente, com excitação a 275 nm para as nanoesferas do Boc-Phe-Leu em metanol. Devido à alta fotoluminescência da amostra e à sensibilidade do instrumento de medição (fluorímetro), as fendas foram fixadas em 3,5 nm e a concentração foi reduzida em comparação com os espectros de absorção. Para a maior concentração utilizada, foram observados três picos no espectro de emissão, localizados em 313 nm, 326 nm e 342 nm. Esses picos podem estar associados a uma maior agregação e tamanho das nanoesferas, aumentando o efeito de confinamento quântico e, conseqüentemente, a intensidade da fotoluminescência.

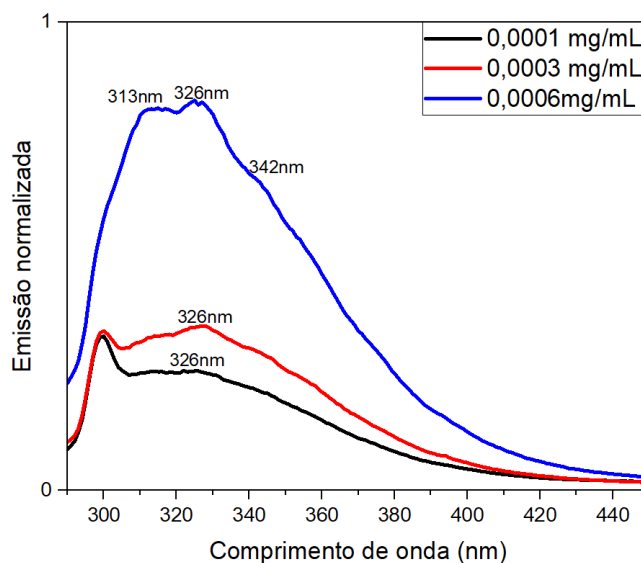


Figura 30. Espectros de emissão de luminescência normalizados da auto-organização do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol, para diferentes concentrações.

Para a compreensão do espectro de emissão das nanoesferas do Boc-Phe-Leu, foi medido o espectro de excitação da fotoluminescência, fixando o c.d.o. de emissão em 326 nm, como ilustrado na Figura 31.

Na Figura 31, é possível observar que o espectro de excitação apresenta uma banda na mesma faixa espectral do espectro de absorção, com intensidade máxima entre os 250 nm e os 290 nm, aproximadamente. Isso indica que a luz emitida no espectro de emissão, com intensidade máxima entre 313 nm e 326 nm, tem origem em transições eletrônicas correspondentes às bandas de absorção. Essas transições ocorrem nas gamas de comprimento de onda onde ocorre o confinamento quântico das nanoesferas.

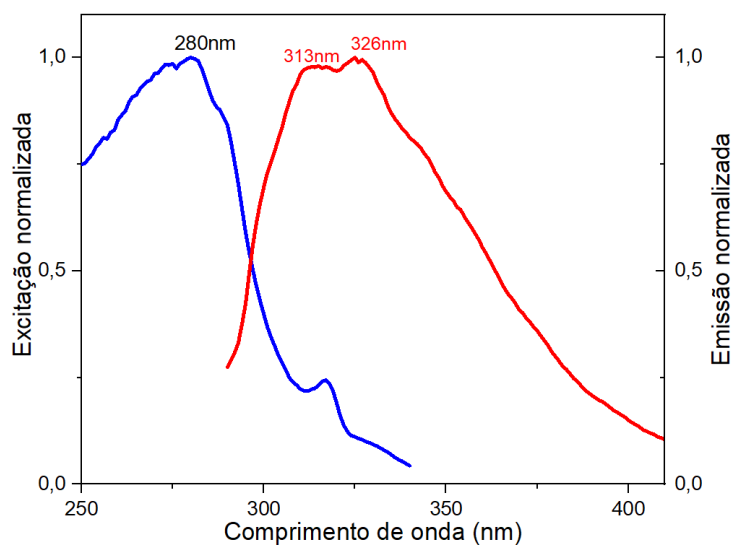


Figura 31. Espectros de excitação e emissão do dipéptido Boc-Phe-Leu em metanol.

Na Figura 32, encontra-se representado o espectro de emissão do Boc-Phe-Ile, com os picos máximos localizados aproximadamente em 310 e 324 nm. Do espectro, é possível observar, tal como para o espectro de emissão do Boc-Phe-Leu, que a intensidade das bandas de emissão aumenta com a concentração. Isso indica que, com o aumento da concentração, haja uma maior interação entre as nanoesferas, aumentando o efeito de confinamento quântico e, conseqüentemente, a intensidade da fotoluminescência, visto que para a maior concentração, a intensidade não aumenta de maneira proporcional.

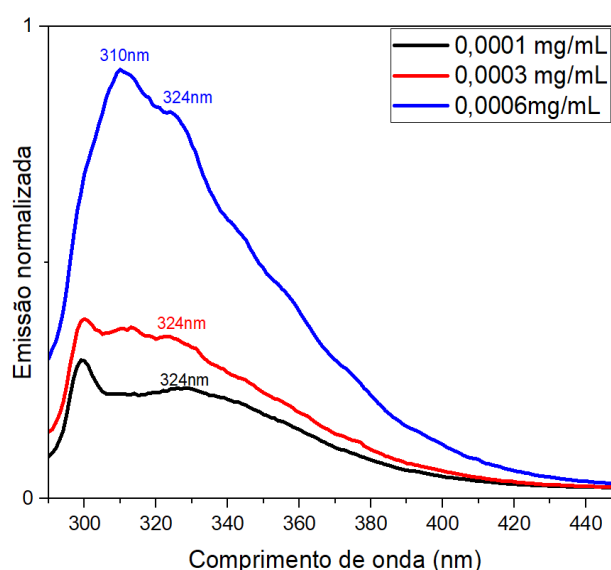


Figura 32. Espectros de emissão de luminescência normalizados da auto-organização do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol, para diferentes concentrações.

Os espectros de excitação e emissão encontram-se representados na Figura 33 para o dipéptido Boc-Phe-Ile. O espectro de excitação apresenta uma banda numa faixa de comprimentos de onda semelhante ao espectro de absorção, atingindo a intensidade máxima entre os 270 nm e 290 nm, aproximadamente. Demonstrando que a luz emitida no espectro de emissão, apresentando intensidade máxima entre 310 nm e 360 nm, tem origem nas transições eletrônicas correspondentes às bandas de absorção.

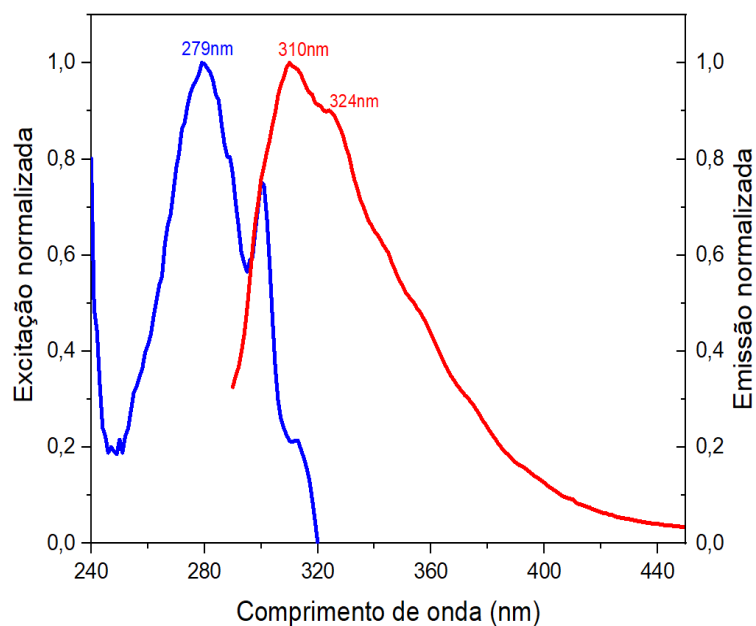


Figura 33. Espectros de excitação e emissão do dipéptido Boc-Phe-Ile em metanol.

Para as matrizes de micro/nanofibras, foi medido o espectro de emissão das nanofibras de PMMA dopadas com o dipéptido Boc-Phe-Ile. Foram feitas pelo menos cinco medições para observar o comportamento do espectro à medida que as fibras dissolviam em diclorometano (DCM).

Foram feitas medidas em intervalos de 5 min, entre uma medição e outra, tendo-se obtido os espectros da Figura 34. Do gráfico, podemos deduzir que as primeiras duas medições foram obtidas quando as fibras ainda estavam no princípio de dissolução, o que explica a diferença na intensidade dos picos. A partir da 3^a e 4^a medições, já é possível observar um aumento na intensidade de emissão, indicando uma maior disponibilidade e exposição das nanoesferas à radiação. Na 5^a medição, correspondente ao máximo de emissão a 331 nm, as fibras estavam completamente dissolvidas.

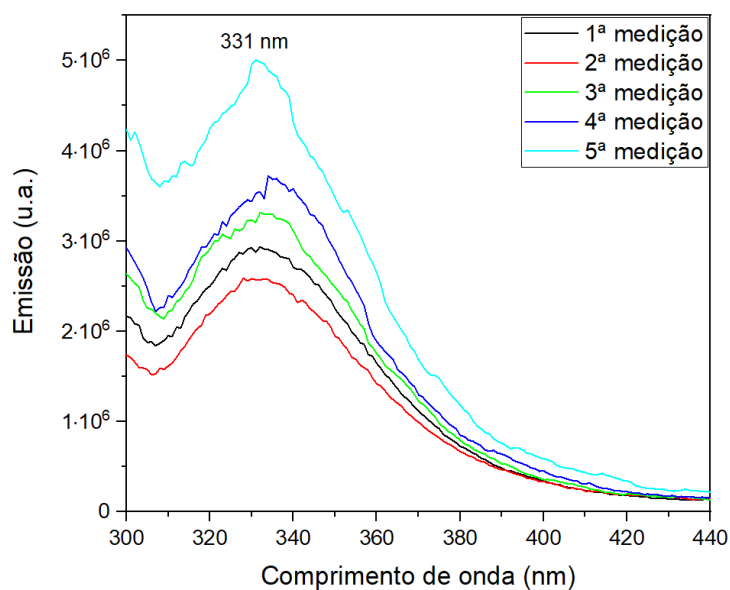


Figura 34. Espectro de emissão das nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA dissolvidas em DCM.

A comparação dos espectros de emissão entre as nanoesferas dipeptídicas Boc-Phe-Ile em metanol e as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA em DCM, apresentada na Figura 35, confirma a presença das nanoesferas no interior das fibras, uma vez que apresentam emissão na mesma faixa de comprimento de onda. Quando as fibras são excitadas, observa-se uma fotoluminescência azul e um desvio de 21 nm para o vermelho do espectro (deslocamento batocrômico).

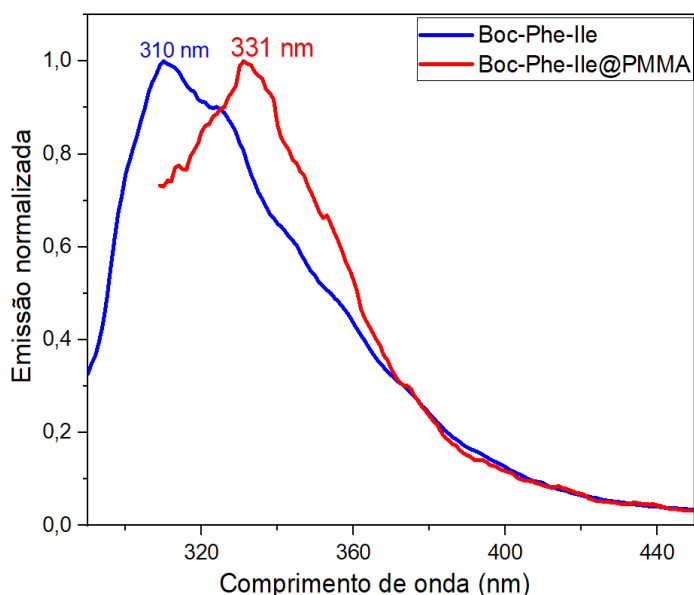


Figura 35. Espectros de emissão das nanoesferas Boc-Phe-Ile em metanol e nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA em solução dissolvidas em DCM.

Do gráfico, pode-se concluir que o deslocamento batocrômico no espectro das fibras, é devido ao aumento de tamanho das nanoesferas incorporadas em fibras. O aumento de tamanho das nanoesferas pode levar a uma mudança nas propriedades eletrônicas, resultando em um desvio para o vermelho no espectro de emissão. O efeito solvente também pode contribuir para o desvio para o vermelho. O metanol é mais eletronegativo do que o DCM, o que significa que o ambiente molecular ao redor das nanoesferas pode ter uma polaridade diferente. Essa diferença de polaridade pode afetar as energias dos estados eletrônicos e, conseqüentemente, causar um deslocamento no espectro de emissão. O efeito de Stokes também pode influenciar o desvio para o vermelho no espectro. O efeito de Stokes está relacionado à dissipação de energia térmica durante o processo de emissão de luz, resultando num alargamento das bandas espectrais. O arranjo das fibras e a interação entre as nanoesferas e a matriz polimérica podem contribuir para esse alargamento das bandas espectrais [7].

➤ **Espetros de refletância difusa UV-Vis**

Na Figura 36, são apresentados os espectros de refletância do dipéptido Boc-Phe-Leu (Fig. 36a) e do dipéptido Boc-Phe-Leu incorporado em fibras poliméricas (Fig. 36b, 36c, 36d). A energia do hiato de banda (E_g) foi determinada através da função de Kubelka-Munk, descrita na equação (39).

O resultado deste estudo indica uma energia de $E_g = (4,40 \pm 0,01)$ eV para Boc-Phe-Leu, valor relativamente menor em comparação com o obtido no espectro de absorção utilizando o método de Tauc. Essa diferença pode estar relacionada com a forma de preparação da amostra, uma vez que, para a medição da refletância, a amostra foi preparada na forma de pó seco. Essa forma de preparação pode resultar em diferenças na organização molecular em comparação com a amostra utilizada para o espectro de absorção, que foi dissolvida em um solvente. Essas técnicas podem ter sensibilidades diferentes para a detecção de absorção e refletância, o que pode resultar em pequenas variações nos valores de energia do hiato de banda.

Quando o dipéptido é incorporado em fibras poliméricas, observa-se um aumento na energia do hiato de banda, com valores de $(4,518 \pm 0,002)$ eV e $(4,526 \pm 0,002)$ eV para fibras PLLA e PCL, respetivamente. Relativamente ao Boc-Phe-Leu@PMMA (Figura 36d), a energia do hiato de banda foi de $(4,40 \pm 0,01)$ eV, o mesmo valor obtido para o dipéptido isolado.

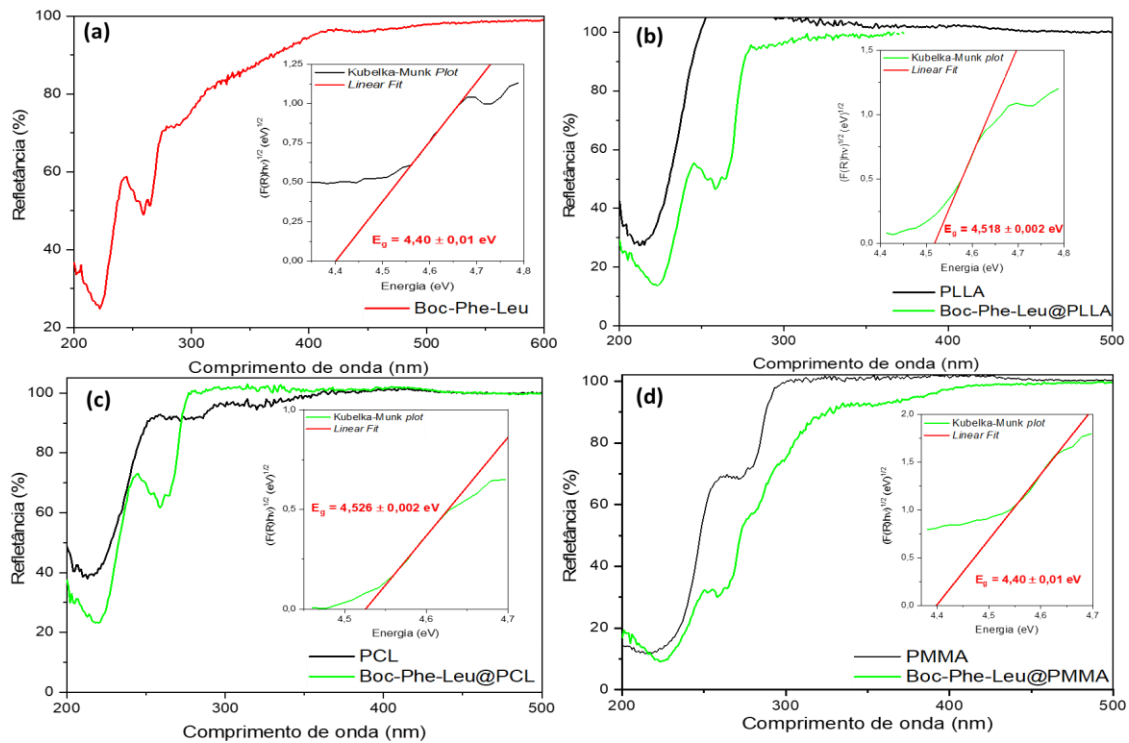


Figura 36. Espectros de refletância do (a) dipéptido Boc-Phe-Leu, e (b) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, (c) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL e (d) micro/nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA. O gráfico inserido mostra a energia do hiato de banda determinada a partir da função Kubelka-Munk com o ajuste linear a vermelho.

O estudo de refletância com o dipéptido Boc-Phe-Ile incorporado em nanofibras poliméricas, encontra-se representado na Figura 37. O gráfico da função de Kubelka-Munk é apresentado e determinada a energia do hiato de banda para o Boc-Phe-Ile@PLLA com $E_g = (4,51 \pm 0,01) \text{ eV}$, o Boc-Phe-Ile@PCL com $E_g = 4,509 \pm 0,004 \text{ eV}$ e o Boc-Phe-Ile@PMMA com $E_g = 4,430 \pm 0,006 \text{ eV}$.

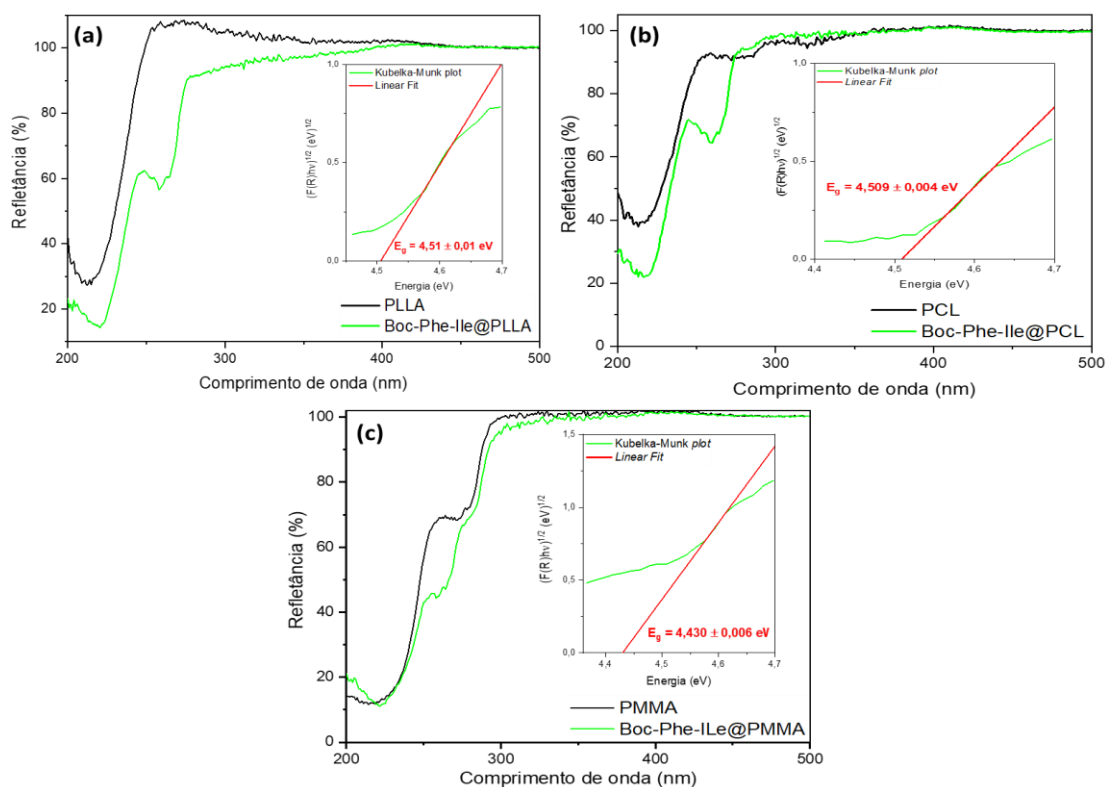


Figura 37. Espectros de refletância das micro/nanofibras **(a)** Boc-Phe-Ile@PLL, **(b)** Boc-Phe-Ile@PCL e **(c)** Boc-Phe-Ile@PMMA. O gráfico inserido mostra a energia do hiato de banda determinada a partir da função Kubelka-Munk com o ajuste linear a vermelho.

➤ Microscopia Confocal

Com o objetivo de visualizar a fluorescência dos dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, recorreu-se a esta técnica. As imagens apresentadas, mostram a fluorescência das nanoesferas na Figura 38(a), evidenciando a alta fluorescência do Boc-Phe-Leu. Para o Boc-Phe-Ile, na imagem da Figura 38(b), as nanoesferas em solução formaram aglomerados após a secagem, o que impediu sua distribuição adequada no local onde a solução foi aplicada.

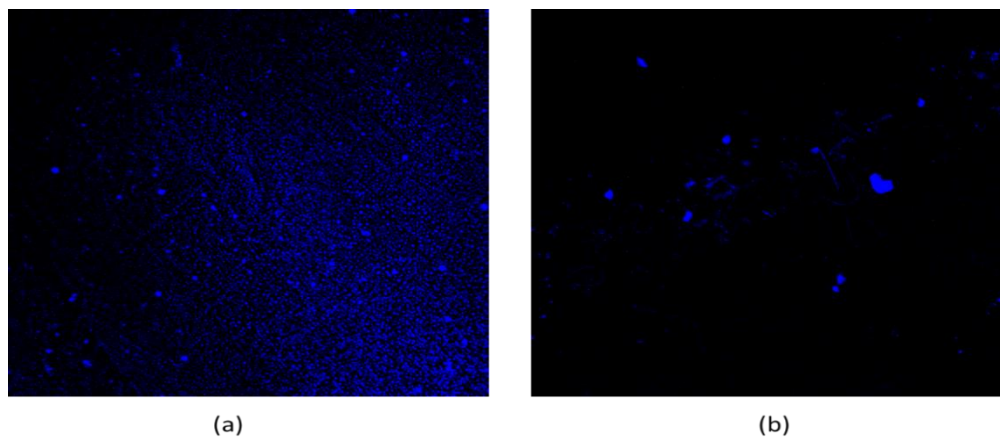


Figura 38. Imagens de microscopia confocal **(a)** Boc-Phe-Leu e **(b)** Boc-Phe-Ile.

5.2. Estudo da morfologia das amostras

Nesta secção são apresentados e discutidos os resultados obtidos pelas técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS) e microscopia eletrónica de varrimento, tanto em solução quanto em fibras. A MEV permitiu obter informações sobre a distribuição dos diâmetros médios e a forma das nanoestruturas. Através da técnica de DLS, foi possível observar a distribuição dos tamanhos hidrodinâmicos das nanoestruturas do Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, além de obter dados como a transmitância, índice de polidispersividade e o potencial zeta.

➤ Espalhamento de luz dinâmico (DLS)

Esta técnica foi utilizada para uma melhor compreensão do processo de auto-organização dos dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile e para comparar com os resultados obtidos a partir da microscopia eletrónica de varrimento (MEV).

A DLS fornece apenas o tamanho hidrodinâmico, ou seja, o tamanho das partículas em movimento. As medidas de distribuição por tamanhos indicaram que os dipéptidos se auto-organizam em estruturas supramoleculares com tamanhos hidrodinâmicos de 306 e 1260 nm, respetivamente, para o Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, tal como mostrado na Figura 39 (a, b).

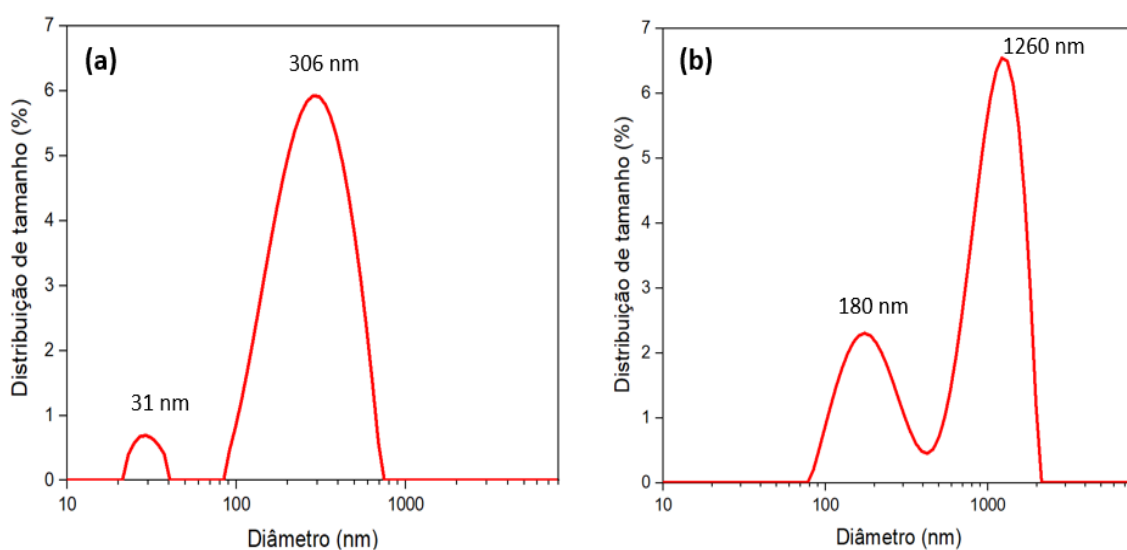


Figura 39. Distribuição de tamanho dos dipéptidos, **(a)** Boc-Phe-Leu e **(b)** Boc-Phe-Ile, em metanol-água.

Os resultados obtidos para as nanoestruturas do Boc-Phe-Ile, são consistentes com os observados na microscopia eletrónica de varrimento (MEV) na Figura 39 (d, e), onde são visualizadas as nanoesferas formadas pelos dipéptidos. Os diâmetros obtidos por MEV para o Boc-Phe-Ile são de 1713 nm, o que está em concordância com os tamanhos hidrodinâmicos de 1260 nm obtidos pela técnica de DLS.

No entanto, para o Boc-Phe-Leu, os valores de diâmetro obtidos por MEV (1404 nm) não são semelhantes aos tamanhos hidrodinâmicos de 306 nm obtidos por DLS. Essa discrepância pode ser explicada por duas razões. Primeiro, a solução utilizada para a análise de MEV foi muito mais concentrada em comparação com a solução utilizada para as medidas de DLS, o que pode levar a um maior crescimento das nanoestruturas e, conseqüentemente, a diâmetros maiores. Além disso, o longo tempo decorrido entre a preparação da amostra e a medição no MEV pode ter levado a um crescimento (aglomeração) adicional das nanoestruturas, resultando em dimensões maiores observadas na MEV em comparação com os tamanhos hidrodinâmicos obtidos por DLS.

Na Tabela 4, estão resumidos os dados obtidos por DLS, para os dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile.

Tabela 4. Caracterização morfológica do tamanho dos dipéptidos por DLS.

Dipéptido	Tamanho Hidrodinâmico (nm)	Transmitância (%)	Índice de polidispersividade (%)	Potencia l Zeta ζ (mV)
Boc-Phe-Leu	401	86,48	21,87	-16,20 \pm 0,91
Boc-Phe-Ile	1412	86,01	0,29	-24,62 \pm 0,52

Os dados apresentados na Tabela 4, comprovam a polaridade das moléculas, mas revelam uma certa instabilidade para o Boc-Phe-Leu, cujo potencial zeta é de (- 16,20 \pm 0,91) mV. Por outro lado, o valor de (- 24,62 \pm 0,52) mV, para o potencial zeta do Boc-Phe-Ile indica que as moléculas são estáveis em meio aquoso. Além disso, os valores de transmitância (86,01 %) e índice de polidispersividade (0,29 %), sugerem que as nanoesferas podem ter aplicações em biomedicina, concretamente para o transporte controlado de fármacos, ou *drug delivery*, bem como para a produção de biomarcadores. No entanto, é importante ressaltar que os resultados ainda requerem de alguns ajustes nos parâmetros.

➤ **Microscopia eletrônica de varrimento**

A Figura 40 mostra as imagens de microscopia eletrônica de varrimento (MEV) das nanoesferas dos dipéptidos Boc-Phe-Leu (a, b) e Boc-Phe-Ile (d, e), juntamente com os histogramas (c, f) correspondentes dos tamanhos dos diâmetros. Observa-se que as distribuições dos diâmetros seguem uma distribuição log-normal, com valores médios de (1,40 \pm 0,17) μ m e (1,71 \pm 0,39) μ m, respectivamente, para o Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile.

De notar que as nanoesferas observadas por MEV são ocas, com superfícies distribuídas por camadas lisas e tendem a agregar-se em supraestruturas moleculares. Além disso, uma característica notável dessas nanoesferas é a sua saturação, Figuras 40(a) e 40(b), explicada pela elevada concentração da solução. É importante mencionar que o uso de metanol induz um rápido crescimento das nanoesferas.

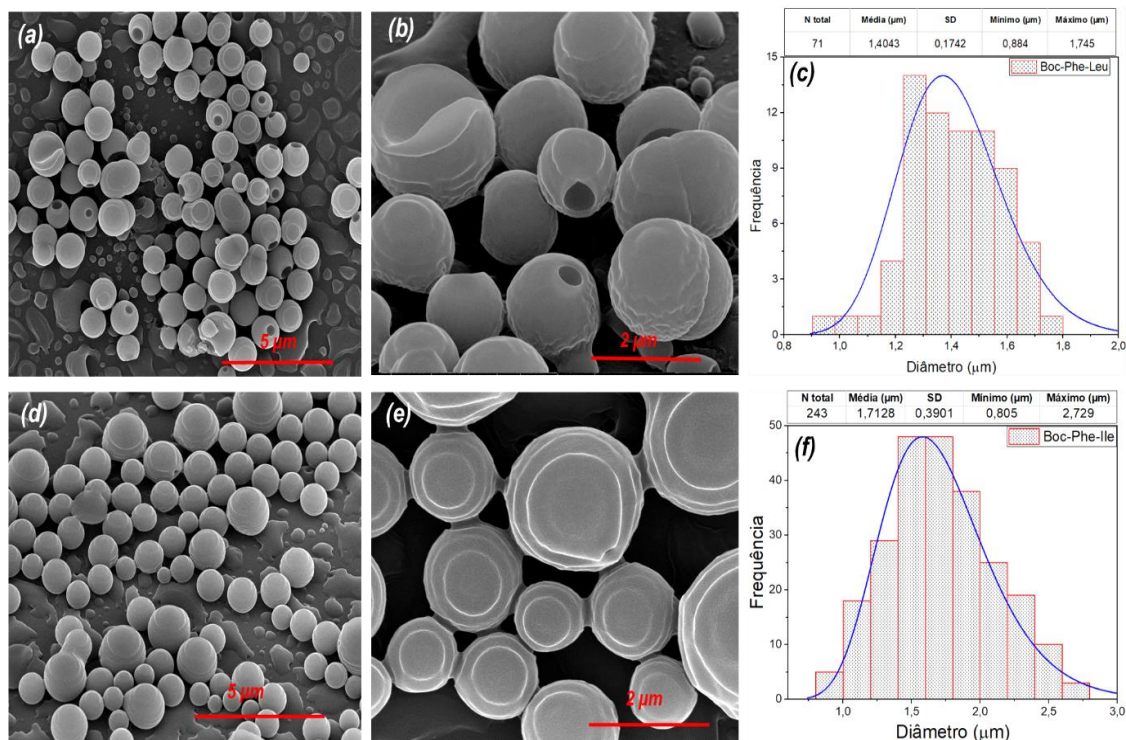


Figura 40. Imagens de MEV das nanoesferas dipeptídicas para soluções do Boc-Phe-Leu (a,b) e Boc-Phe-Ile (d,e), com ampliações de 15 000x e 50 000x. A curva azul indica a distribuição log-normal.

Na Figura 41, são apresentadas as micrografias obtidas por MEV das fibras com o dipéptido Boc-Phe-Leu incorporado, juntamente com os histogramas que representam os diâmetros médios e máximos medidos, bem como o desvio padrão (SD) das microestruturas.

Observa-se que o Boc-Phe-Leu@PLLA (nas Figuras 41a – c) apresenta uma distribuição uniforme das imagens, com um diâmetro médio de $(0,98 \pm 0,25) \mu\text{m}$. Por outro lado, o Boc-Phe-Leu@PMMA (Figuras g – i) exibe diâmetros muito maiores, da ordem de $(1,61 \pm 0,45) \mu\text{m}$, e uma superfície porosa.

No entanto, devido à excelente processabilidade e flexibilidade das cadeias do PCL [58], observa-se que as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PCL apresentam um diâmetro menor, com um

confinamento eficaz do dipéptido. O diâmetro médio das nanofibras é de $(0,56 \pm 0,24) \mu\text{m}$ (d – f).

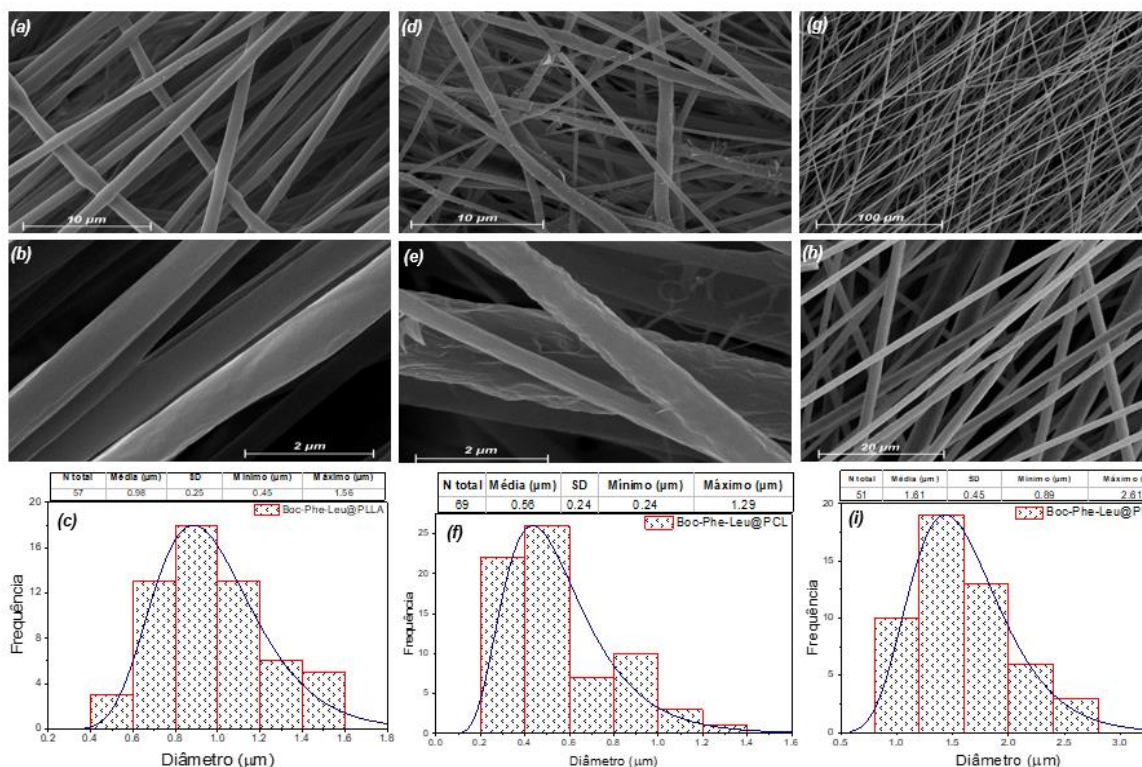


Figura 41. Imagens MEV com ampliações de 1 000x, 5 000x, 10 000x e 50 000x, e as suas respetivas distribuições para histogramas PLLA (a,b,c) PCL (d,e,f) e PMMA (g,h,i) com o Dipéptido Boc-Phe-Leu incorporado. A curva log-normal, em azul, indica a distribuição do tamanho médio, mínimo, máximo e desvio padrão das micro/nanofibras.

Relativamente às fibras produzidas com Boc-Phe-Ile, as imagens MEV e seus histogramas são apresentados na Figura 42.

Para o Boc-Phe-Ile@PLLA, foram realizadas 62 medições, obtendo-se um diâmetro médio de $(0,87 \pm 0,24 \mu\text{m})$, com um valor máximo de $1,51 \mu\text{m}$, como mostrado na Figura 42(c). As fibras estão bem orientadas e definidas, apresentando alguma porosidade na sua superfície (Figuras 42b, 42c).

Na recolha de 76 medições das nanofibras de Boc-Phe-Ile@PCL, obteve-se um diâmetro médio de $(0,44 \pm 0,14) \mu\text{m}$, com um valor máximo de $0,83 \mu\text{m}$. Estas fibras não estão tão orientadas e alinhadas quanto as de Boc-Phe-Ile@PLLA e apresentam alguma conglomeração ou agregados ao longo das suas superfícies, provavelmente relacionada à tensão de superfície na formação do cone de Taylor durante o processo de *electrospinning*.

Para a amostra Boc-Phe-Ile@PMMA, foram realizadas 42 medições. O histograma, da Figura 42(i), das imagens obtidas por MEV, mostradas nas Figuras 42(g) e 42(h), apresentam um diâmetro médio de $(1,85 \pm 0,60) \mu\text{m}$, com um valor máximo de $3,07 \mu\text{m}$. Ao longo de toda a extensão destas fibras, é possível verificar a presença de porosidade. A formação de poros nas fibras depende de vários fatores, como o processo de fabricação, as propriedades do polímero, as condições de processamento, entre outros.

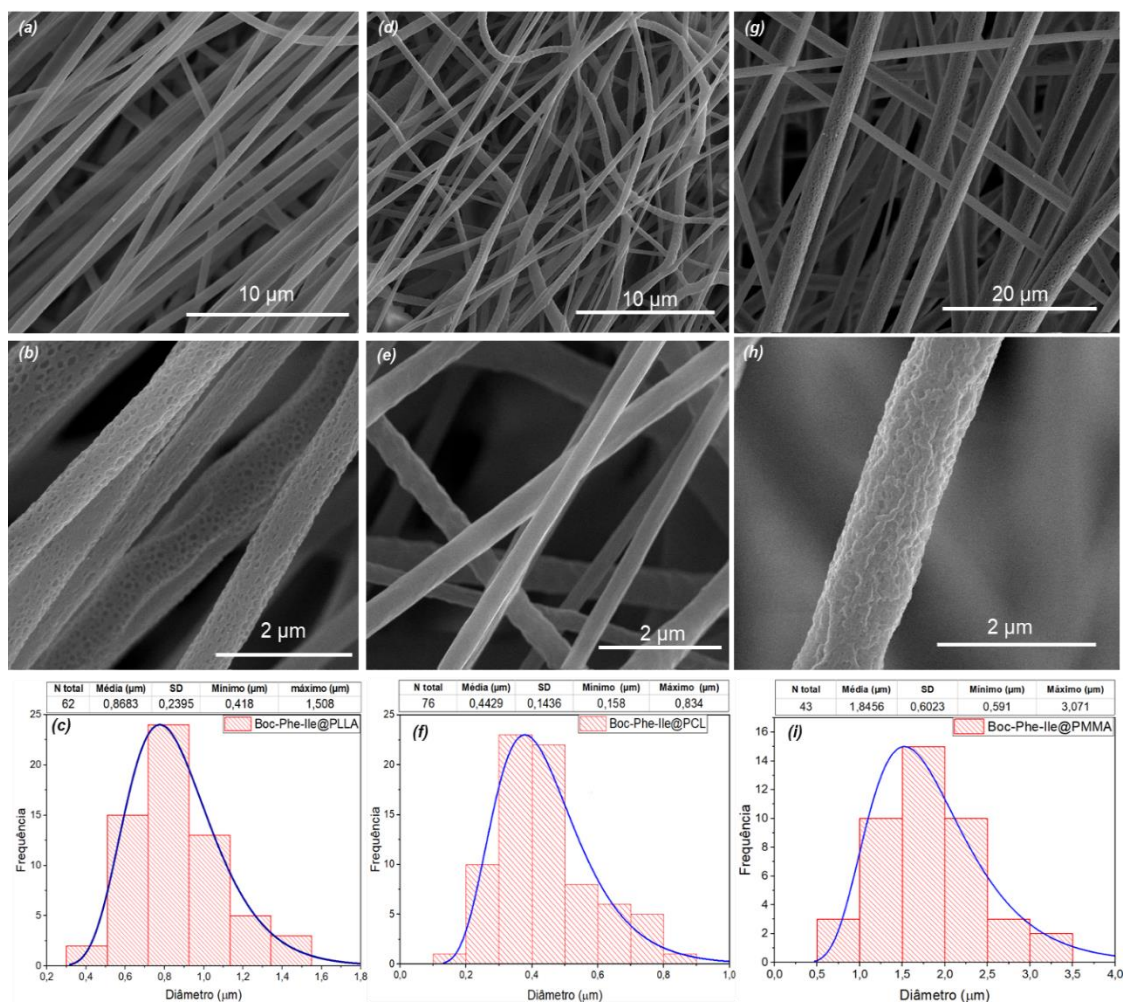


Figura 42. Imagens MEV com ampliações de 5 000x, 10 000x e 50 000x, e as suas respetivas distribuições de para histogramas PLLA (a,b,c) PCL (d,e,f) e PMMA (g,h,i) com o Dipéptido Boc-Phe-Ile incorporado. A curva log-normal, em azul, indica a distribuição do tamanho médio, mínimo, máximo e desvio padrão das micro/nanofibras.

Os resultados obtidos nas análises das micro/nanofibras obtidas por MEV indicam que as amostras não apresentaram a formação de *beads*, o que é um indicativo de uma boa uniformidade e estabilidade das fibras. Além disso, as fibras estão bem orientadas e alinhadas na maioria das amostras, com exceção das produzidas com PCL. Esses resultados, combinados com os dados obtidos por refletância difusa UV-Vis, sugerem que os dipéptidos foram

incorporados com sucesso nas soluções poliméricas e que a técnica de *electrospinning* foi eficaz na produção das fibras incorporando os dipéptidos.

5.3. Estudo das propriedades dielétricas

Foram estudadas as propriedades dielétricas de seis amostras: Boc-Phe-Leu@PLLA, Boc-Phe-Leu@PCL, Boc-Phe-Leu@PMMA, Boc-Phe-Ile@PLLA, Boc-Phe-Ile@PCL e Boc-Phe-Ile@PMMA, em função da temperatura e da frequência.

Foi medida a capacidade e a $\tan(\delta)$ de cada amostra desde a temperatura ambiente até 60, 80 ou 100 °C, respetivamente para PCL, PMMA e PLLA, de acordo ao ponto de fusão de cada polímero, e posteriormente destas temperaturas até à temperatura ambiente. Foram registadas as frequências de 100 Hz a 1 MHz.

A partir das medidas da capacidade e $\tan(\delta)$ foi possível determinar as constantes dielétricas, real e imaginária, em função da temperatura e frequência, para cada amostra, de acordo às equações (41) e (42) do capítulo 3 (página 32).

➤ Nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA

A Figura 43 mostra a permitividade real, em função da temperatura, para frequências desde 158 Hz até 1 MHz.

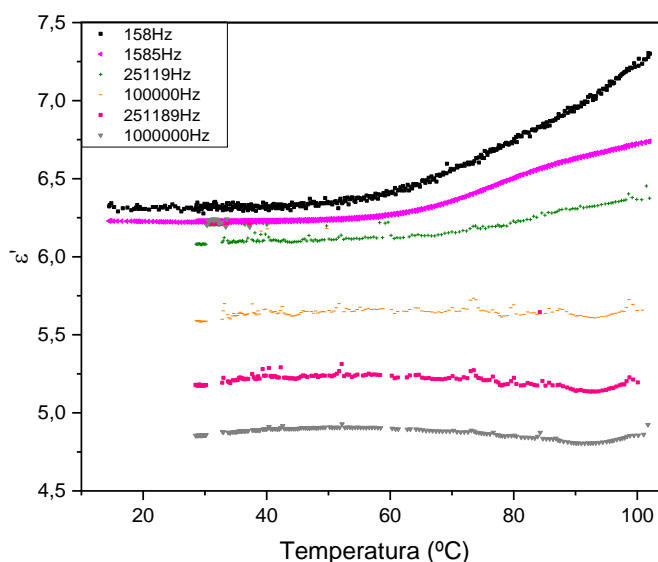


Figura 43. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da temperatura.

Como se pode observar, a permitividade diminui com o aumento da frequência. A frequências mais altas a permitividade real varia pouco com a temperatura. Entretanto, há um aumento da permitividade a partir dos 60 °C para frequências até aproximadamente 25 kHz, o

que é justificável, pois à medida que a temperatura aumenta a disponibilidade local de energia térmica é maior e consequentemente, é mais fácil o deslocamento das cargas na direção do campo elétrico externo aplicado. O efeito é maior a baixas frequências, pois é nessa região que a contribuição da polarização de Maxwell – Wagner, que depende da condutividade e é particularmente sensível à temperatura, é maior [33,59].

A dependência da parte imaginária da permitividade com a temperatura representada na Figura 44, mostra um aumento da permitividade a partir dos 60 °C, particularmente a baixas frequências, pelas mesmas razões anteriores.

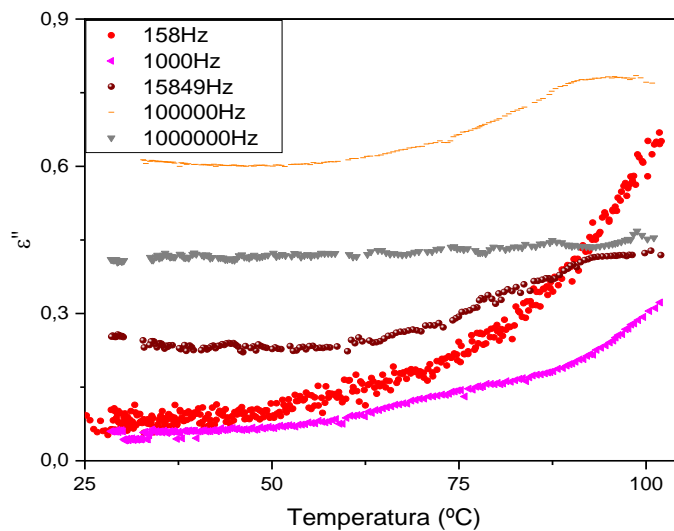


Figura 44. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da temperatura.

A Figura 45, mostra a $\tan(\delta)$ em função da temperatura para diferentes frequências. Verifica-se que quando a temperatura aumenta, a $\tan(\delta)$ também aumenta devido ao aumento da condutividade com a temperatura.

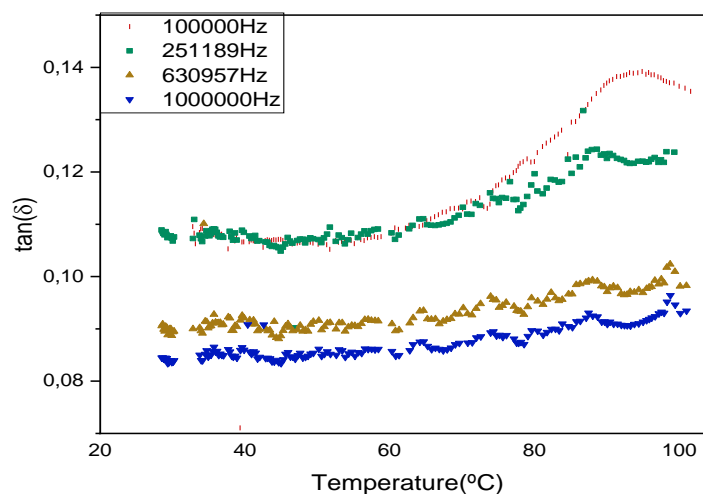


Figura 45. $\tan(\delta)$ em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

A Figura 46 mostra a $\tan(\delta)$ em função da frequência para diferentes temperaturas. Do gráfico é possível observar a presença de uma relaxação cuja posição do máximo varia com a temperatura. Para baixas temperaturas o máximo encontra-se fora da região de medida. À medida que a temperatura aumenta a relaxação desloca-se para frequências mais baixas, com a diminuição da posição do máximo até cerca de 100 kHz, para $T = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Com o aumento da temperatura, existe mais energia térmica para promover o deslocamento alternado das cargas induzido pelo campo elétrico aplicado AC, de tal modo que a relaxação dos dipolos no material ocorre a frequências mais baixas.

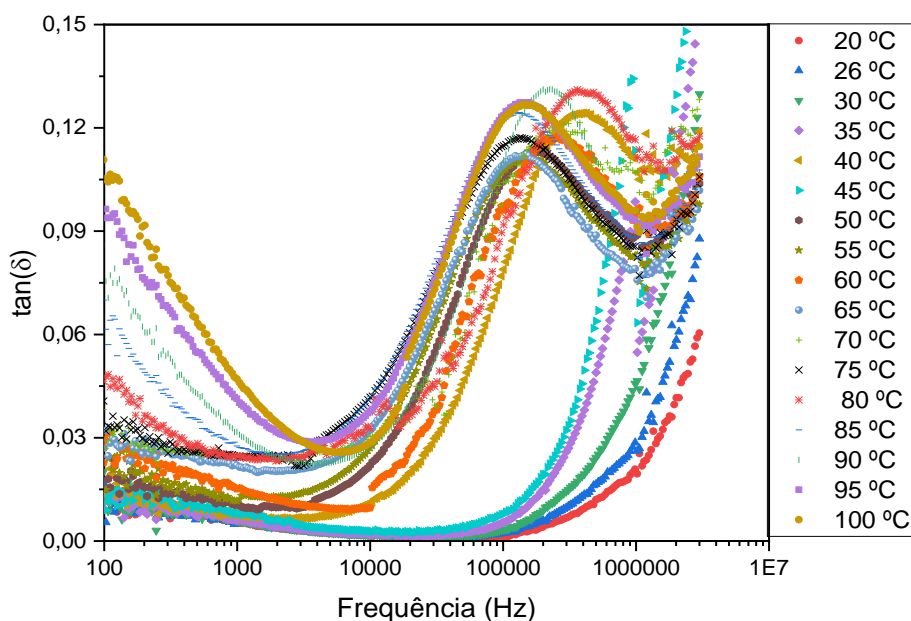


Figura 46. Representação gráfica da dependência da $\tan(\delta)$ em função da frequência para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

Na Figura 47, encontra-se apresentado a componente real da permissividade em função da frequência, para temperaturas entre 50 e os 100 °C. De novo, observa-se uma relaxação no comportamento da oscilação dos dipolos. A baixas frequências a permissividade real aumenta bastante. Este comportamento tem origem na polarização interfacial de Maxwell-Wagner [33,59]. Quando existem interfaces no material, a aplicação do campo elétrico tende a separar as cargas de um e do outro lado delas, originando polarizações que podem ser significativas. Ou seja, a aplicação de um campo elétrico induz uma polarização significativa, o que corresponde a uma permissividade alta. Aqui, o aparecimento da polarização de Maxwell-Wagner está associado à existência de interfaces no material devido às inclusões dos dipéptidos dentro das fibras, confirmando a sua incorporação dentro delas. À medida que a frequência do campo aplicado aumenta, no entanto, as cargas têm mais dificuldade de se deslocar em resposta a ele,

originando uma diminuição da permissividade com o aumento da frequência, como observado nas fibras.

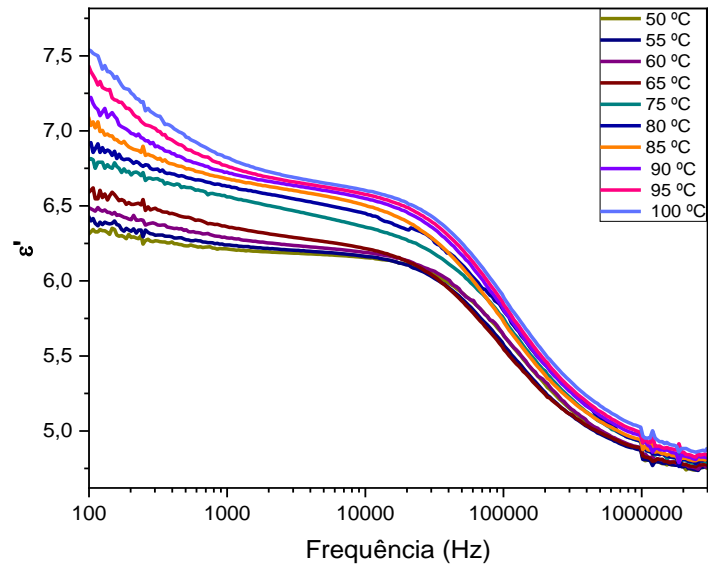


Figura 47. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência.

Foi feita também a medida da permissividade dielétrica imaginária em função da frequência para diferentes temperaturas, tendo sido separada em duas figuras, tal como mostram as Figuras 48 e 49.

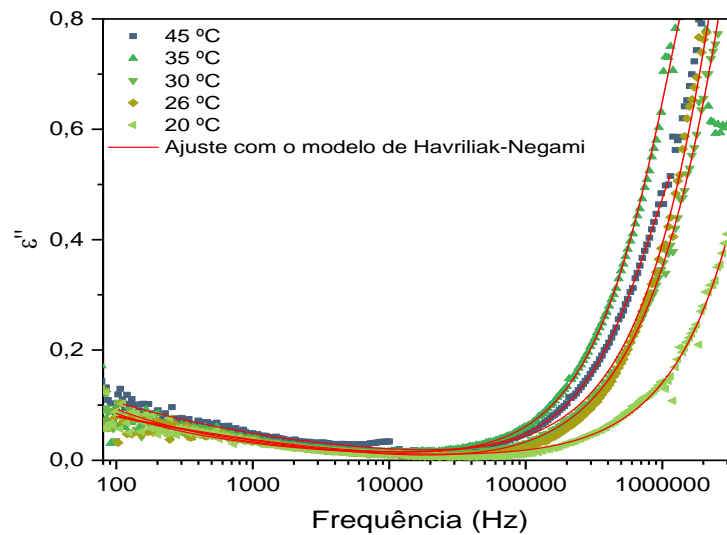


Figura 48. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência até aos 45 °C, e respetivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

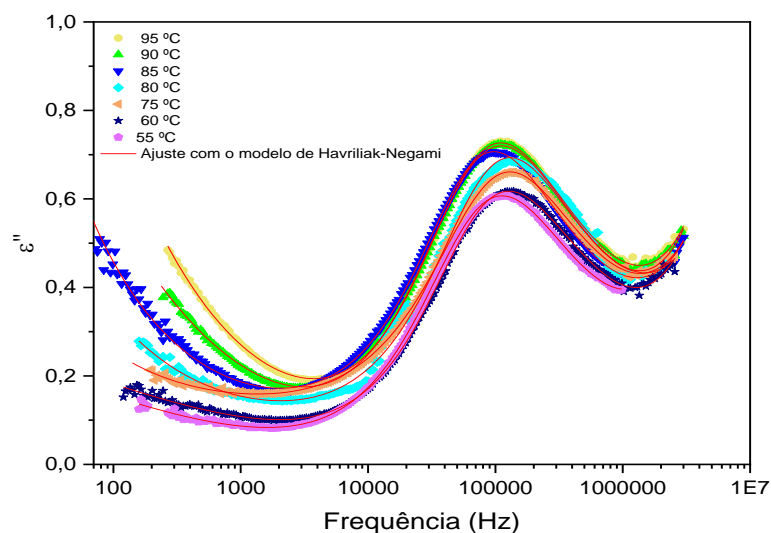


Figura 49. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em função da frequência acima dos 50 °C, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

Como se pode observar nos dois gráficos há um deslocamento dos picos em função da temperatura, o mesmo observado na Figura 46. A partir dos 55 °C é possível notar a presença de máximos provenientes de uma relaxação dielétrica e ainda uma possível segunda relaxação a altas frequências, na Figura 49.

Observa-se ainda na Figura 49 uma componente condutiva da permissividade elétrica imaginária, com aumento significativo da permissividade imaginária a baixas frequências, que justifica o acréscimo do termo condutivo na equação (26).

O comportamento dos gráficos das Figuras 48 e 49 levou a que fossem feitos ajustes com a função de Havriliak-Negami para a componente imaginária da permissividade elétrica, tendo também em conta o termo condutivo.

Os resultados dos ajustes (parâmetros) obtidos na função de Havriliak-Negami para componente imaginária da permissividade, encontram-se listados na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

Temperatura (°C)	Parâmetros			
	β	γ	τ	$\Delta\epsilon$
30	0,90616	0,8118	1,10E-08	5,73988
35	1	0,52957	8,24E-08	2,80062
40	0,94652	0,5619	8,10E-07	2,00382
45	1	0,34029	1,30E-07	2,15139
50	0,93776	0,44134	2,25E-06	2,23934
55	0,96271	0,46967	2,62E-06	1,90829
60	0,94902	0,44353	2,35E-06	2,16344
65	0,96926	0,47992	2,51E-06	1,86085
70	1	0,08191	6,30E-07	7,40319
75	0,93975	0,5809	1,88E-06	1,62937
80	0,96036	0,56141	1,95E-06	1,79612
85	0,95661	0,52826	2,71E-06	1,89437
90	0,91156	0,42174	2,77E-06	2,91081
95	0,94522	0,39916	2,89E-06	2,80189

Da tabela 5, é possível observar os valores de β muito próximos de 1 ou iguais a 1 sendo os valores de γ muito mais reduzidos, à exceção do valor a 30 °C, o que mostra uma assimetria na distribuição dos tempos de relaxação dielétrica e uma largura reduzida.

Procedeu-se a um ajuste na equação de Havriliak-Negami para cada temperatura na componente imaginária da permitividade (Figura 49), sendo que conjugado com o gráfico da componente real da permitividade (Figura 47), obtiveram-se semicírculos característicos de uma relaxação dielétrica, cujas curvas estão apresentadas na Figura 50.

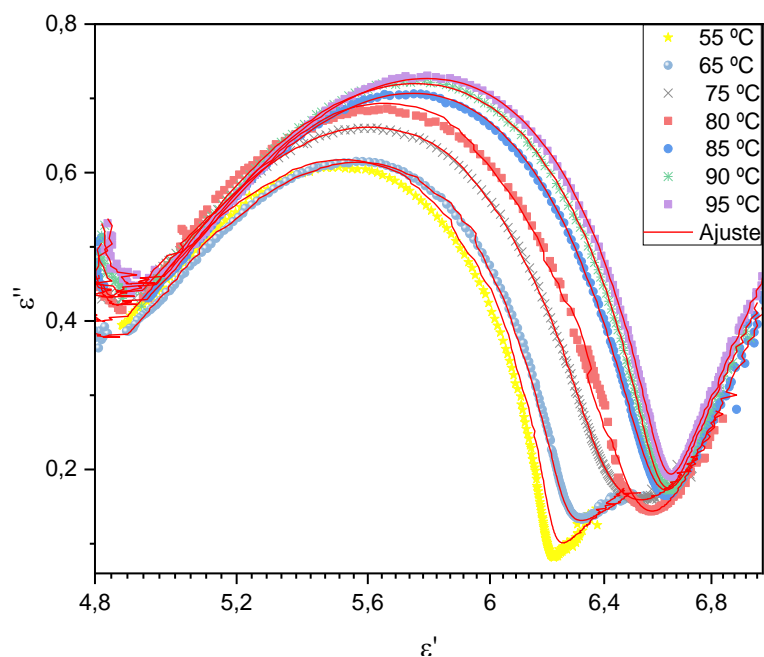


Figura 50. Representação do gráfico de Nyquist para a parte imaginária em função da parte real, da permitividade complexa entre 55 °C e 95 °C, com o ajuste da equação de Havriliak-Negami para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

De forma a estudar a energia de ativação do Boc-Phe-Leu@PLLA, importa analisar as contribuições da condutividade e da variação dos tempos de relaxação com a temperatura. Assim, através dos ajustes da função de HN apresentados na Figura 49, foi possível obter dados sobre a contribuição da condutividade do material e dos tempos de relaxação e recorrendo a equação (30) e (31) da página19, calculou-se a energia de ativação de condução em DC e das relaxações.

A Figura 51, apresenta o $\ln(\sigma.T)$ em função do inverso da temperatura ($1/T$) e o respetivo ajuste linear para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

O gráfico mostra dois regimes diferentes, um para temperaturas abaixo 328 K, e outro para temperaturas acima de 323 K.

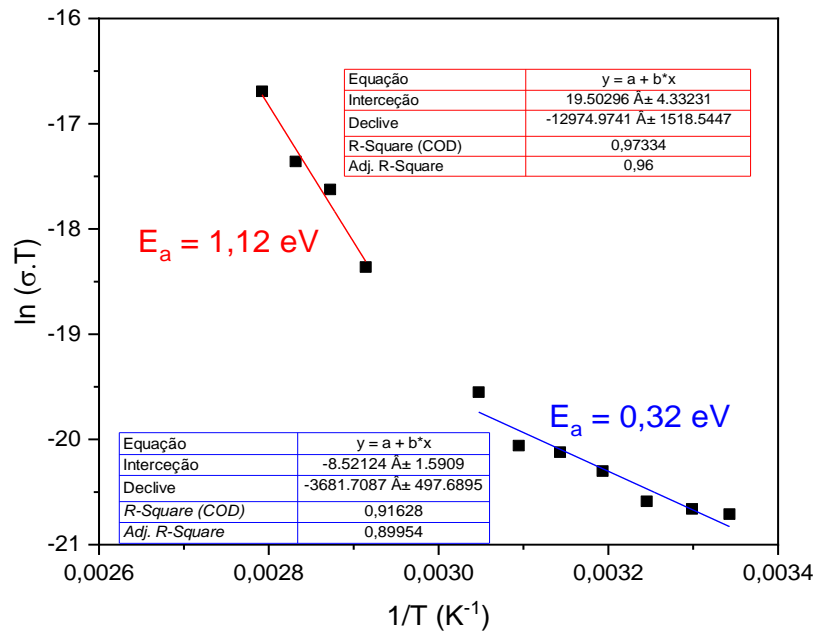


Figura 51. Representação gráfica do $\ln(\sigma.T)$ em função do inverso da temperatura com ajuste linear em duas regiões diferentes, para temperaturas abaixo de 318 K (ajuste azul) e para temperaturas acima de 323 K (ajuste vermelho).

Para cada regime, dependente da temperatura, a energia de ativação foi calculada, tendo se obtido $E_a = 1,12 \text{ eV}$ para a região de altas temperaturas (acima de 323 K) e $E_a = 0,32 \text{ eV}$, para a região de baixas temperaturas (abaixo de 318 K). Este resultado mostra que a temperaturas altas a condução é sobretudo iónica, devido à mobilidade do ião hidrogénio ao longo da molécula, enquanto que a baixas temperaturas a condução é sobretudo eletrónica, mediada através de polarões livres ou ligados [60].

Com os dados da Tabela 5 determinou-se a energia de ativação pelos ajustes lineares de $\ln(\tau)$ em função do inverso da temperatura ($1/T$) de acordo a equação 30. Os respetivos ajustes apresentam-se na Figura 52.

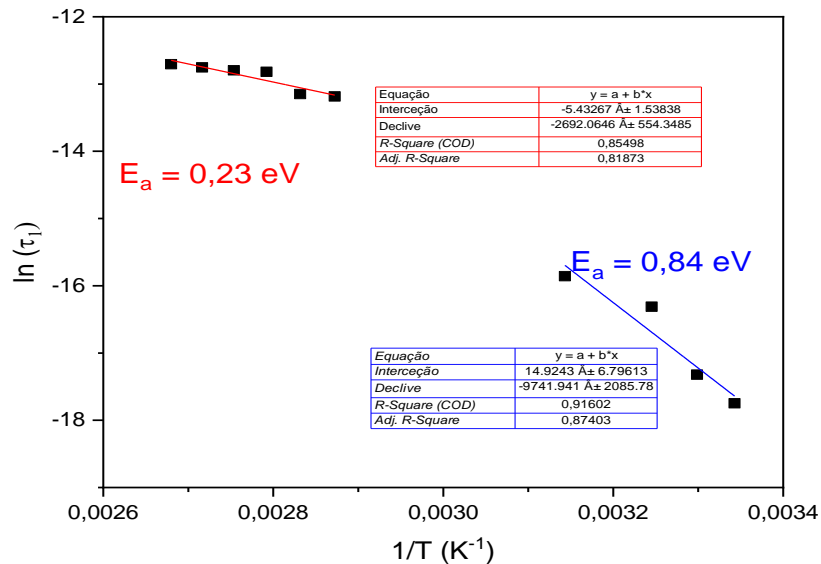


Figura 52. Logaritmo dos tempos de relaxação em função do inverso da temperatura com ajuste linear em duas regiões diferentes, para temperaturas abaixo de 318 K (ajuste azul) e para temperaturas acima de 323 K (ajuste vermelho).

Quanto ao comportamento dos tempos de relaxação, mostrado na Figura 52, o gráfico mostra, de novo, dois regimes diferentes, um para baixas temperaturas e outro para altas temperaturas.

Para cada regime, dependente da temperatura, a energia de ativação da relaxação foi calculada, tendo se obtido $E_a = 0,23 \text{ eV}$ para a região de altas temperaturas e $E_a = 0,84 \text{ eV}$, para a região de baixas temperaturas. Este resultado mostra que a relaxação se deve a *hopping* de polarões ou de deficiências de oxigénio nestas regiões de temperaturas [60].

A Figura 53, mostra a dependência dos parâmetros β e γ com a temperatura, obtidos a partir dos ajustes da função de HN.

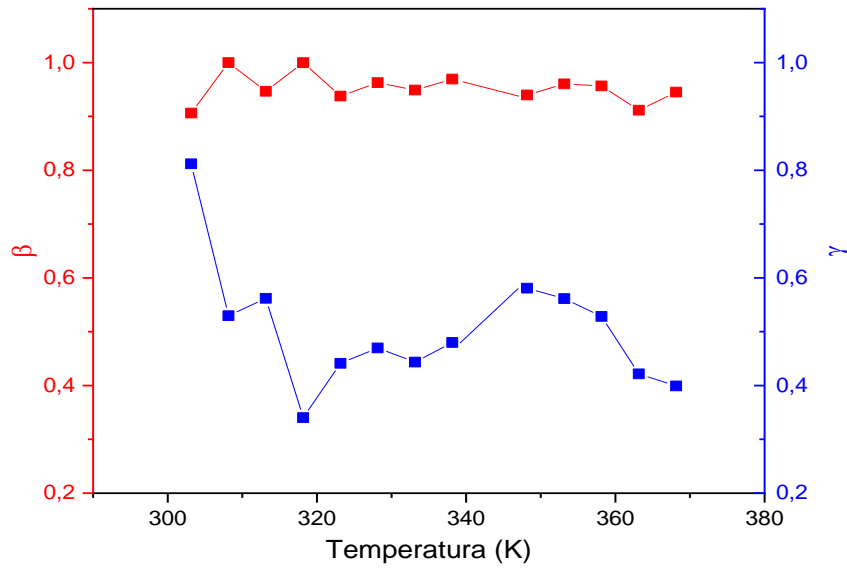


Figura 53. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.

Tal como foi descrito na secção 2.5.3. da página 17, os parâmetros β e γ indicam, respetivamente, o alargamento simétrico e assimétrico da função dielétrica complexa de HN.

Como se pode observar o parâmetro β mantém-se praticamente constante, variando os seus valores entre 0,9 e 1, enquanto γ diminui até a temperatura de 318 K e depois estabiliza, o que é consistente com o gráfico dos tempos de relaxação da Figura 52.

A equação de Debye representa a permitividade em função da frequência e corresponde ao comportamento de um conjunto de dipolos a oscilar de forma independente em consequência da aplicação do campo elétrico. Fazendo uma transformada de Fourier dessa expressão, passa-se do domínio das frequências para o domínio dos tempos. O comportamento desses dipolos independentes em função do tempo corresponde, assim, a uma permitividade cuja resposta é dada por:

$$\varepsilon - \varepsilon_{\infty} = \Delta\varepsilon[1 - \exp(-t/\tau_D)] \quad (46)$$

Ou seja, ela corresponde a um comportamento (decaimento) exponencial no tempo com um tempo característico τ_D . Entretanto, em sistemas onde os dipolos não são independentes e onde as correlações dipolares se tornam significativas aparece uma distribuição de tempo de relaxação e a permitividade não obedece à função de Debye. Em vez dela, a relaxação é representada por meio de uma exponencial esticada descrita pela função de Kohlrausch – Williams – Watts (KWW):

$$\varepsilon - \varepsilon_{\infty} = \Delta\varepsilon[1 - \exp((-t/\tau_D)^{\beta_{KWW}})] \quad (47)$$

O parâmetro de esticamento pode ser associado aos parâmetros β e γ da função de HN através da relação, $\beta_{kww} = \beta \cdot \gamma$ [33].

Assim, a Figura 54 representa a dependência do parâmetro exponencial esticado com a temperatura. É possível observar que o parâmetro $\beta_{kww} = \beta \cdot \gamma$, inicialmente decresce com a temperatura, ficando posteriormente a variar pouco, oscilando entre 0,4 e 0,5.

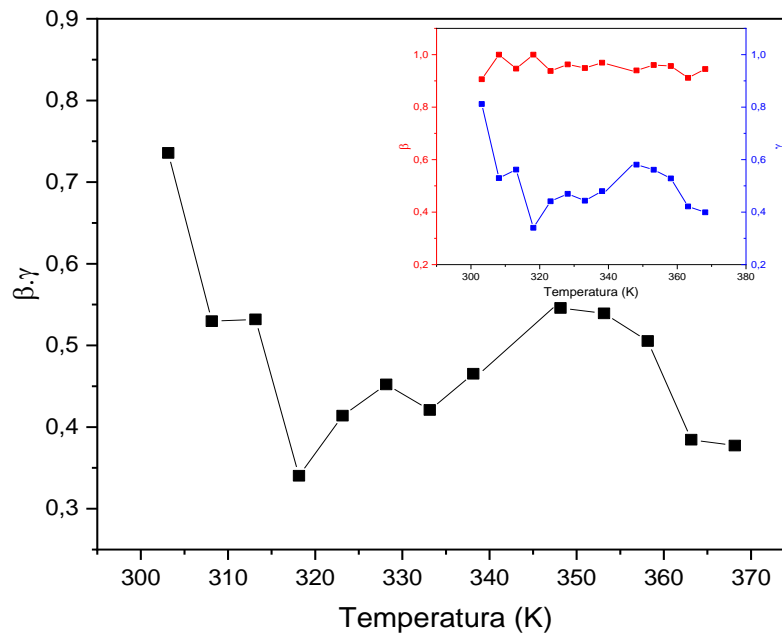


Figura 54. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww} .

Estudou-se ainda a dependência da condutividade AC com a frequência angular da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA, desde a temperatura ambiente até 100 °C.

A condutividade AC é obtida a partir da componente imaginária da permitividade elétrica, ϵ'' , através da relação $\sigma_{AC} = \omega \epsilon_0 \epsilon''$, onde ω é a frequência angular e ϵ_0 é a permitividade do vácuo.

A Figura 55, mostra a dependência da condutividade AC com a frequência angular para diferentes temperaturas, onde se observa um aumento geral da condutividade com o aumento da temperatura. Para cada temperatura, na região de baixas frequências, a condutividade AC é quase independente da frequência, refletindo o comportamento da condutividade DC. Por outro lado, acima de um valor de frequência limiar, ω_p , há um forte aumento na condutividade AC para todas as temperaturas. Esse comportamento segue a resposta universal de Jonscher com um comportamento em lei de potência, obtendo-se:

$$\sigma = \sigma_{DC} + A\omega^n \quad (48)$$

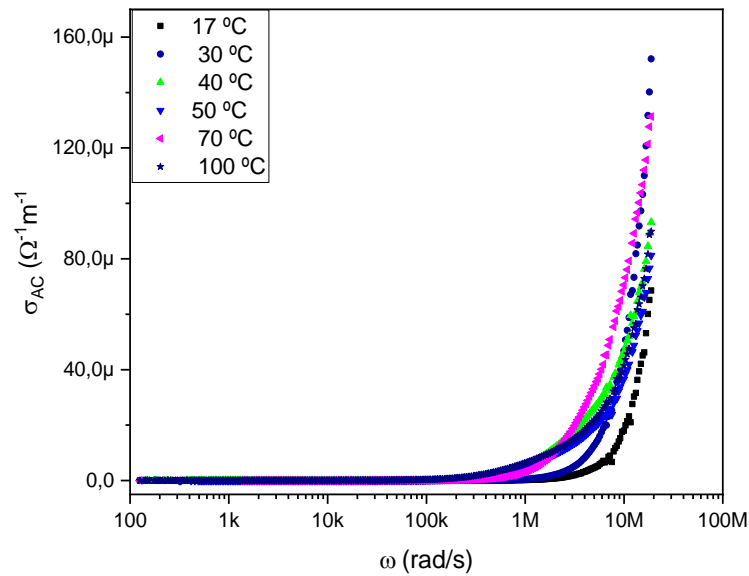


Figura 55. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA.

➤ Nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL

Com o objetivo de estudar as propriedades dielétricas da amostra Boc-Phe-Leu@PCL, foi medida a sua capacidade desde a temperatura ambiente até aos 60 °C e posteriormente desta até à temperatura ambiente. Fez-se o registo das frequências entre 100 Hz e 1 MHz.

A Figura 56 representa a componente real da permissividade elétrica em função da temperatura para as frequências 100, 158, 252, 1000, 1590, 10000 e 15800 Hz.

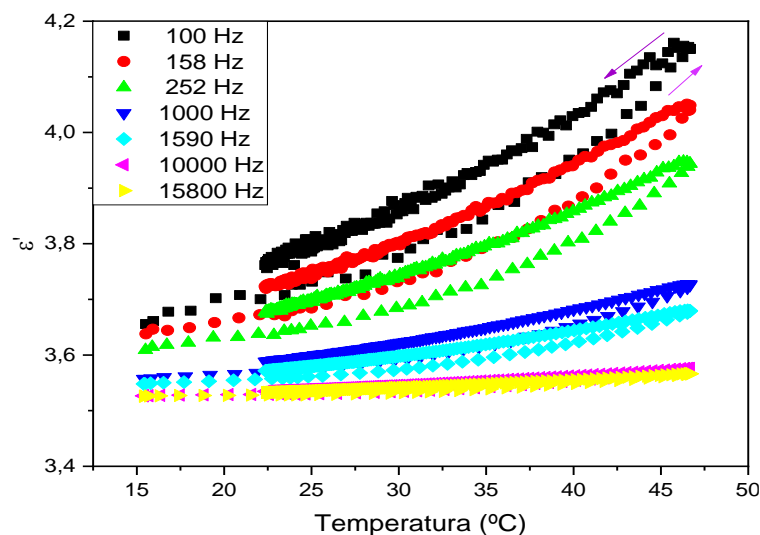


Figura 56. Parte real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da temperatura.

A Figura 57 representa a componente imaginária da permissividade elétrica em função da temperatura para as frequências 100, 158, 252, 1000, 1590, 10000 e 15800 Hz.

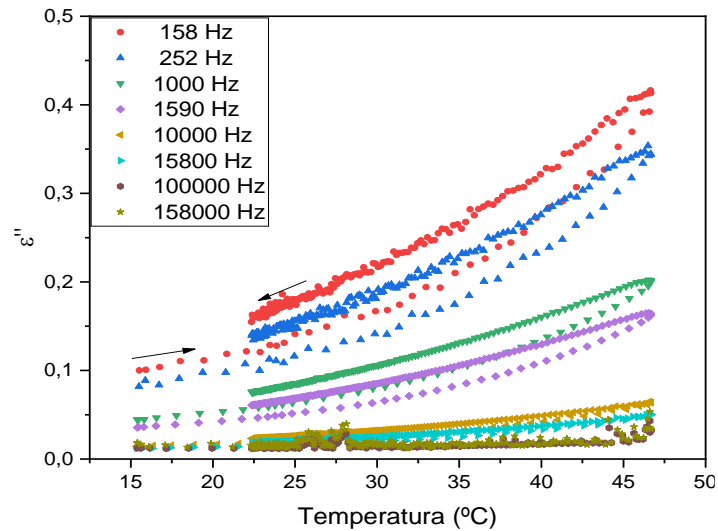


Figura 57. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da temperatura.

Em ambas as Figuras 56 e 57, as permitividades real e imaginária aumentam com o aumento da temperatura, devido a maior disponibilidade de energia que permite o deslocamento das cargas locais na direção do campo elétrico alternado aplicado.

De igual modo, mediu-se ainda as constantes dielétricas real e imaginária em função da frequência para temperaturas entre 21 e 45 °C.

A Figura 58 mostra a dependência da parte real da permitividade elétrica com a frequência para as diferentes temperaturas.

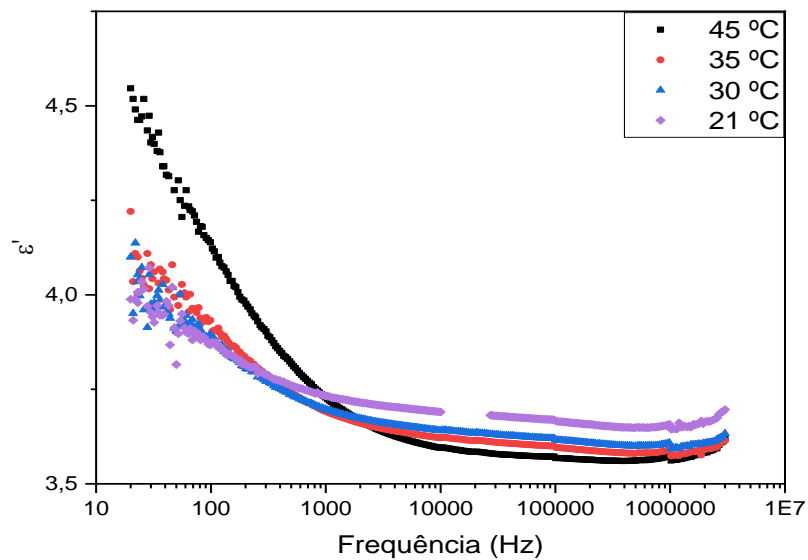


Figura 58. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da frequência.

A Figura 59, representa a componente imaginária da permissividade em função da frequência para temperaturas de 21 a 45 °C.

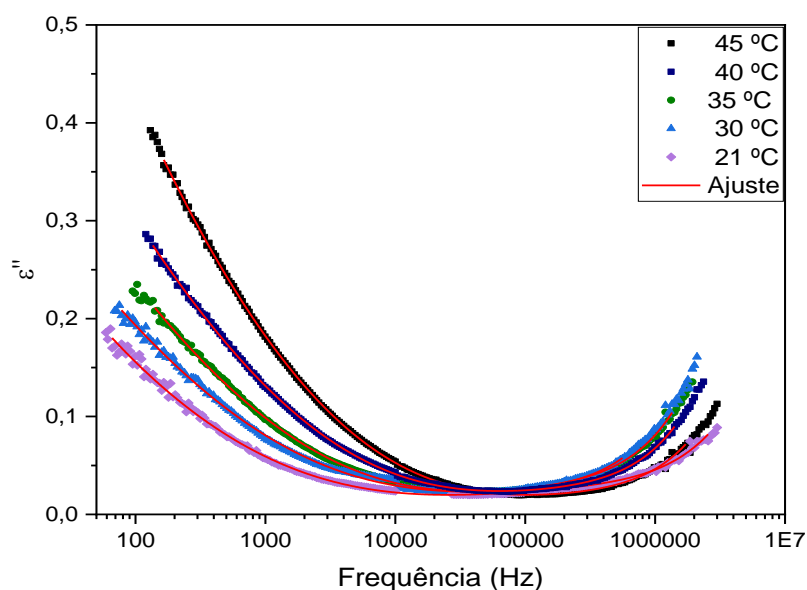


Figura 59. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PCL em função da frequência, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

Do gráfico 59 é possível observar a alta contribuição da parte condutiva a baixas frequências e início de uma relaxação para regiões de altas frequências. Com base no gráfico da Figura 59 da componente imaginária, realizaram-se os ajustes do modelo de HN, cujos resultados dos parâmetros encontram-se apresentados na Tabela 6.

De referir que para o Boc-Phe-Leu@PLLA a segunda relaxação não foi tida para análise pois não foi observada nas curvas experimentais.

Tabela 6. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PCL.

Temperatura (°C)	Parâmetros			
	β	γ	τ	$\Delta\epsilon$
21	0,36186	0,0466	5,15E-05	9,35067
30	0,34554	0,02468	5,29E-05	32,64275
35	0,44604	0,06494	1,11E-05	7,03863
40	0,3946	0,02422	1,70E-05	31,61343
45	0,34423	0,04205	2,28E-05	32,90964

Diferente da amostra anterior, os dados apresentados na Tabela 6, têm um parâmetro β com valores entre 0,3 e 0,5 e um γ muito mais próximo de 0, mostrando curvas de relaxação mais alargados.

A Figura 60, mostra a dependência da condutividade AC com a frequência angular para temperaturas entre 21 e 45 °C, onde se observa um aumento da condutividade com o aumento da temperatura. Para cada temperatura, na região de baixas frequências, a condutividade AC é quase independente da frequência, refletindo o comportamento da condutividade DC e para frequências mais altas obtém-se uma lei de potência. Um comportamento diferente no aumento da condutividade AC é verificado à temperatura de 25 °C, onde ela ocorre a uma frequência ligeiramente inferior à das restantes.

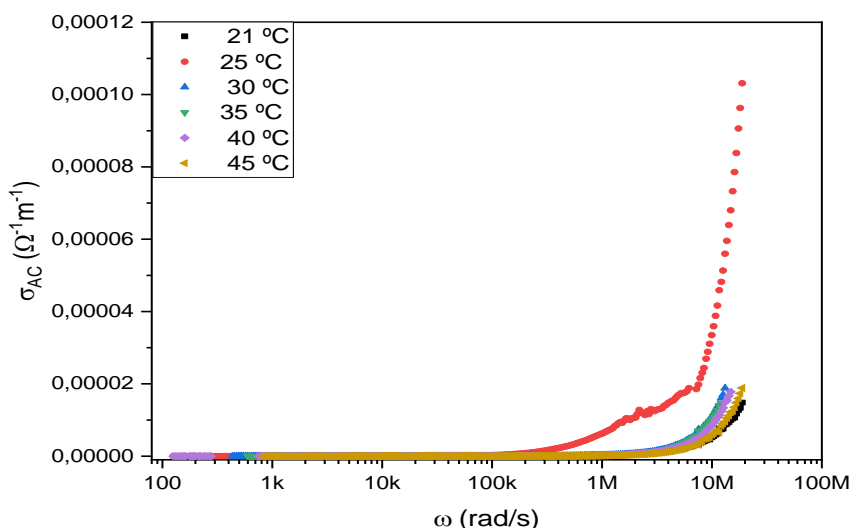


Figura 60. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PCL.

Para estudar a energia de ativação dos tempos de relaxação com a temperatura, recorreu-se as equações (30) e (31) da página 19 através do declive da relação linear entre o logaritmo de τ e o inverso da temperatura.

A Figura 61 mostra o logaritmo do tempo de relaxação em relação ao inverso da temperatura e respetiva regressão linear para a amostra Boc-Phe-Leu@PCL.

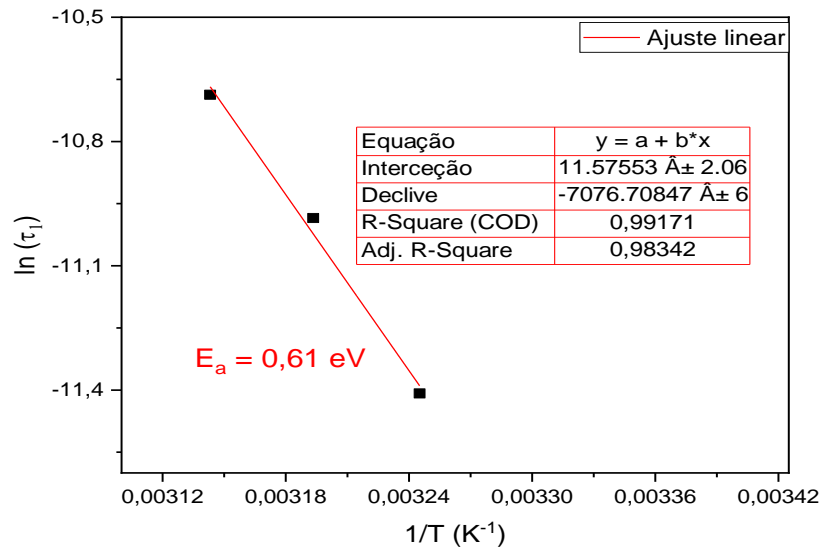


Figura 61. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.

A partir do declive determinado no ajuste linear, obteve-se a energia de ativação para o tempo de relaxação, $E_a = 0,61 \text{ eV}$.

Visto que ocorre a frequências baixas, ela é relativa a difusão eletrônica mediada por polarões no material.

A energia de ativação da condutividade DC, foi determinada pelo declive linear do logaritmo de $(\sigma \cdot T)$ em relação ao inverso da temperatura.

Do ajuste linear, apresentado na Figura 62, e valendo-se da equação (31) e (33) da página 19, obteve-se a energia de ativação de condução DC de $0,32 \text{ eV}$.

A energia de ativação de condutividade indica uma condução de elétrons através do *hopping* de polarões no material [60].

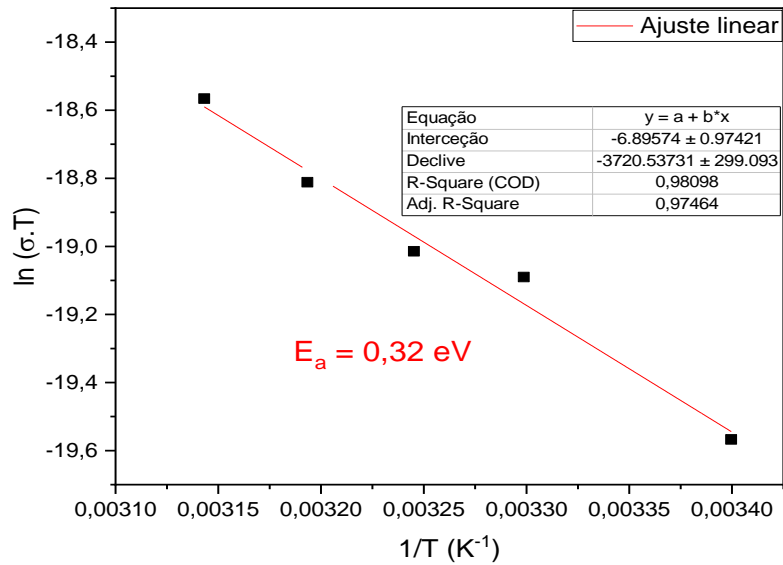


Figura 62. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura e respetivo ajuste linear.

A Figura 63, apresenta os parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir da Tabela 6. Os parâmetros apresentam gráficos aproximadamente constantes com alguma variação na região da temperatura entre 302 e 310 K.

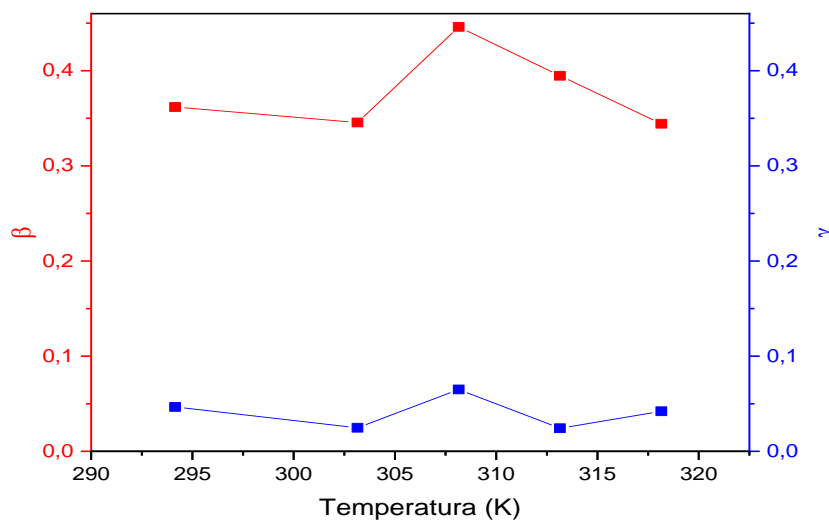


Figura 63. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de parâmetro exponencial esticado descrito pela função de Kohlrausch – Williams – Watts (KWW).

O parâmetro $\beta_{kww} = \beta \cdot \gamma$, encontra-se apresentado na Figura 64, em função da temperatura. Pode observar-se uma diminuição de $\beta \cdot \gamma$ com o aumento da temperatura até valores próximos de 313 K e depois aumenta ligeiramente até ao valor limite da temperatura.

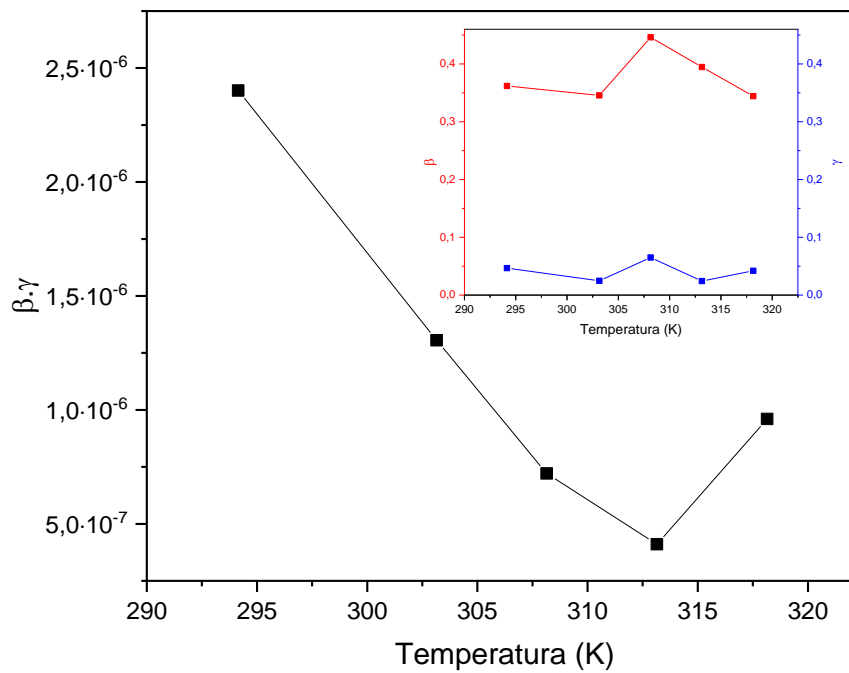


Figura 64. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, $\beta_{k_{\omega}}$.

➤ Nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA

Procedeu-se ao estudo das propriedades dielétricas das nanofibras de Boc-Phe-Leu@PMMA, cuja análise e discussão dos resultados encontram-se apresentados a partir das Figuras 65 a 73.

A Figura 65, apresenta a relação entre a componente real da permissividade elétrica e a temperatura.

Do gráfico é possível observar que a parte real da permissividade aumenta com o aumento da temperatura, diminuindo consideravelmente a altas frequências.

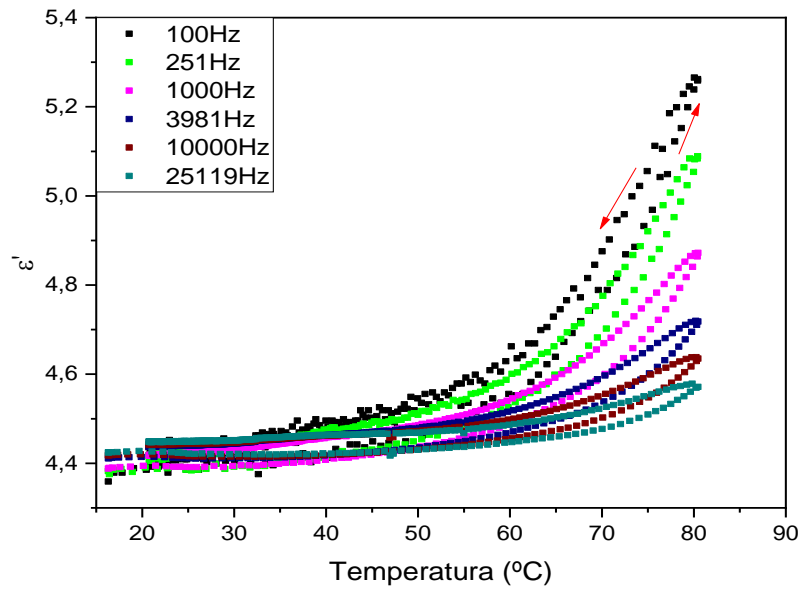


Figura 65. Parte real da permissividade elétrica para a amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da temperatura.

A relação entre a parte imaginária da permissividade com a temperatura encontra-se apresentada na Figura 66, com medições de frequências de 398, 1000, 2512, 6310 e 15849 Hz.

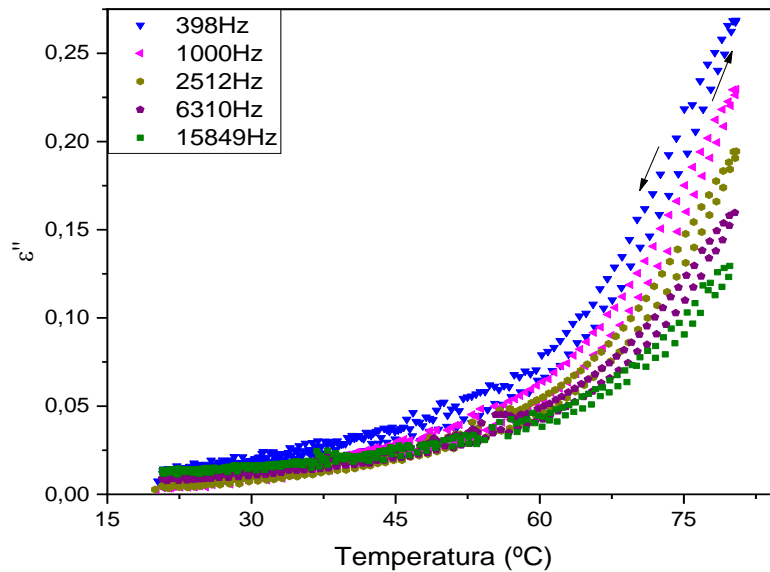


Figura 66. Parte imaginária da permissividade elétrica para a amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da temperatura.

De notar que com o aumento da temperatura, regista-se um aumento das componentes real e imaginária da permissividade complexa o que está relacionado com a componente condutiva bem como, com o fato de que com o aumento da temperatura há maior disponibilidade de

energia em mover localmente as cargas no sentido e direção do campo elétrico alternado aplicado.

Do mesmo modo, fizeram-se ainda medições das constantes dielétricas real e imaginária em função da frequência para temperaturas entre 30 e 70 °C.

A Figura 67, apresenta a constante dielétrica real em função da frequência para diferentes temperaturas.

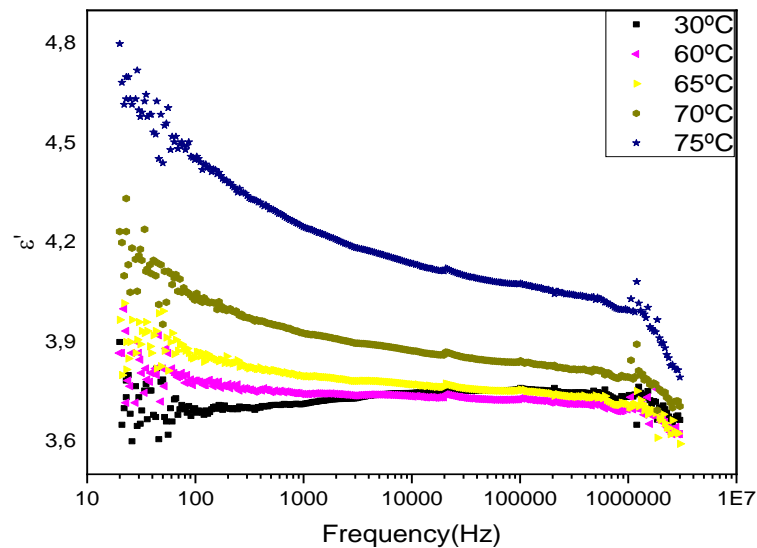


Figura 67. Componente real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da frequência.

A Figura 68, mostra a componente imaginária da permitividade elétrica em função da frequência para as mesmas temperaturas. Em ambas observa-se a presença de uma relaxação cujo máximo se encontra fora do intervalo de medida.

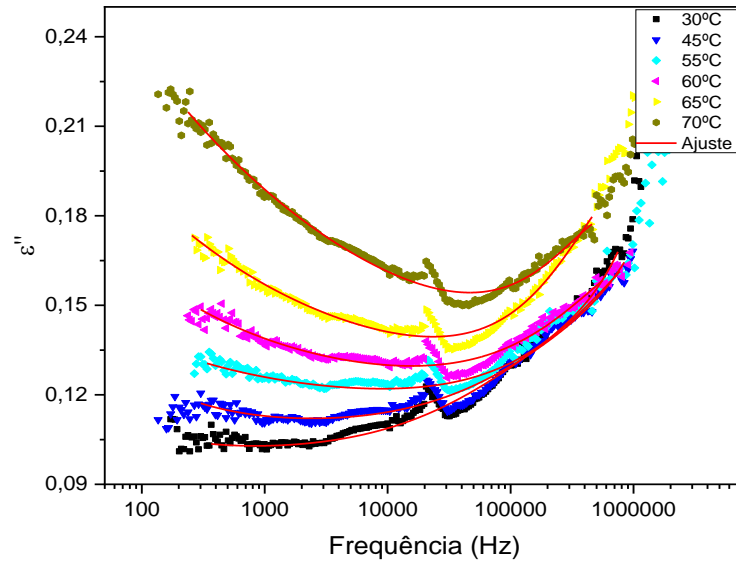


Figura 68. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA em função da frequência, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

Aplicou-se o ajuste para cada temperatura da Figura 68 segundo a função do modelo de Havriliak-Negami incluindo o termo condutivo, tendo se obtido os parâmetros apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA.

Temperatura (°C)	Parâmetros			
	β	γ	τ	$\Delta\epsilon$
30	0,64063	0,4791	8,85E-07	0,64063
45	0,65238	0,44089	5,57E-07	0,65238
55	0,74935	0,5727	1,51E-07	0,74935
60	0,74798	0,34828	1,62E-07	0,74798
65	0,89672	0,24293	2,74E-07	0,89672
70	0,88417	0,80628	1,79E-07	0,88417

A Figura 69, mostra a dependência da condutividade AC com a frequência angular para temperaturas 30, 40, 60, 70 e 80 °C, onde se observa um aumento da condutividade com o aumento da temperatura. Para cada temperatura, na região de baixas frequências, a

condutividade AC reflete o comportamento da condutividade DC. A variação em função da frequência segue o comportamento de Jonscher.

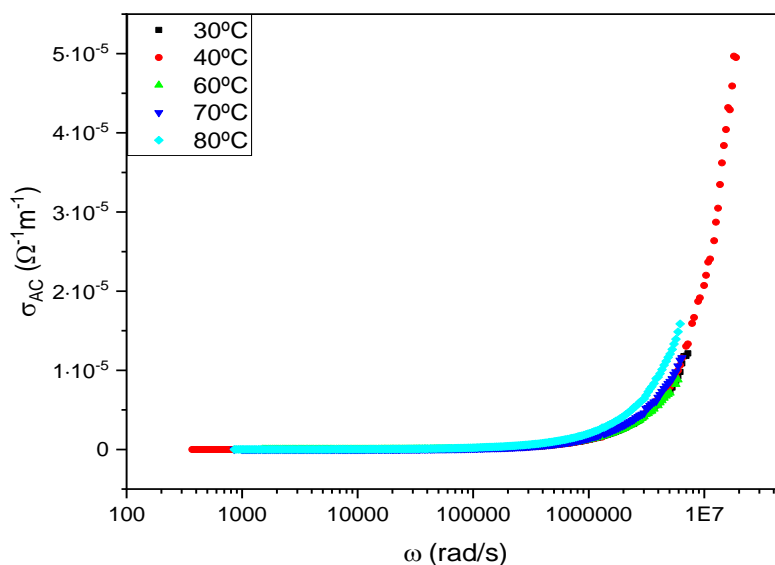


Figura 69. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA.

Foi determinado a energia de ativação da condutividade DC, descrita na equação do modelo de HN com o termo condutivo incluído, equação (27), através do ajuste linear representado na Figura 70, tendo se obtido uma energia de ativação $E_a = 0,56$ eV. Esta energia corresponde a condução através de conversão entre polarões livres e ligados [60].

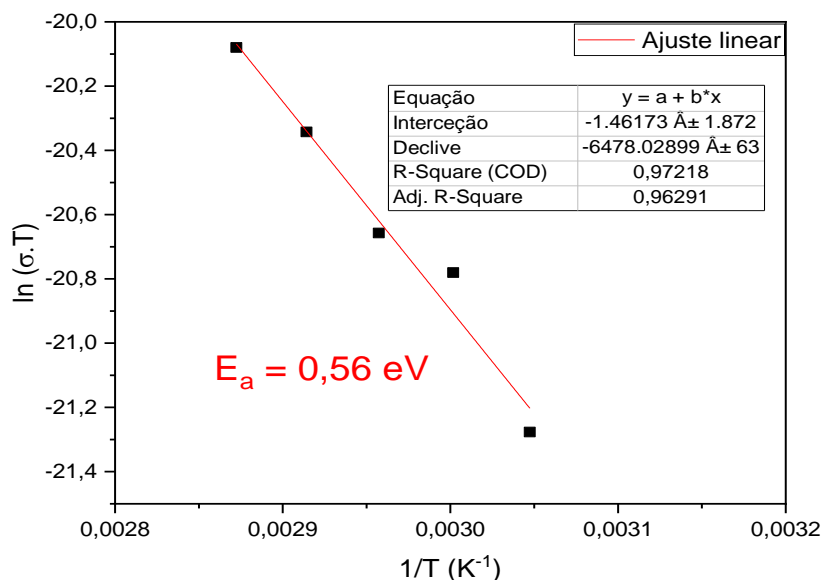


Figura 70. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura e respectivo ajuste linear.

O declive da relação linear entre o logaritmo de τ e o inverso da temperatura permitiu obter a energia de ativação dos tempos de relaxação da amostra Boc-Phe-Leu@PMMA na Figura 71.

A energia de ativação para o tempo de relaxação foi de 0,35 eV, relativa a difusão de eletrônica mediada por polarões livres [60].

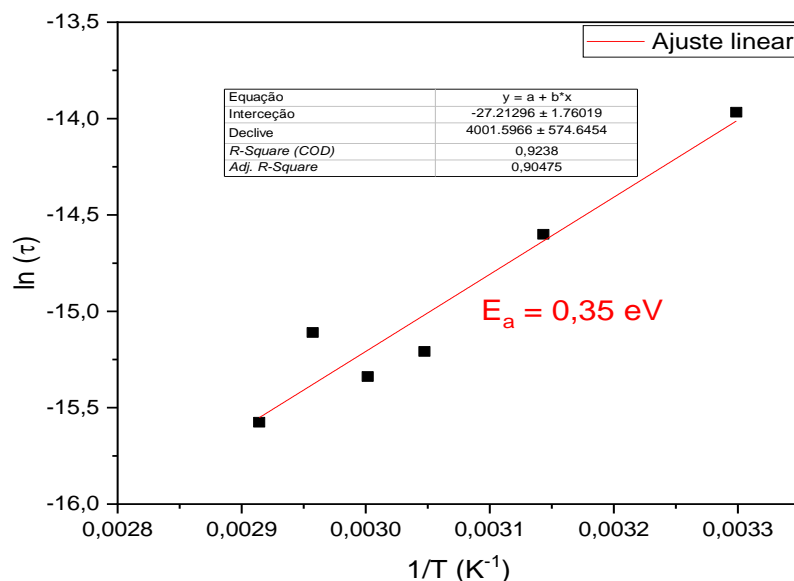


Figura 71. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.

Quanto ao estudo dos parâmetros β e γ em relação a temperatura, apresentado na Figura 72, mostrou um aumento progressivo dos parâmetros β e γ com o aumento da temperatura.

Um comportamento diferente para o parâmetro γ foi registado entre 325 e 337 K, tendo diminuído para valores aproximadamente de 0,3.

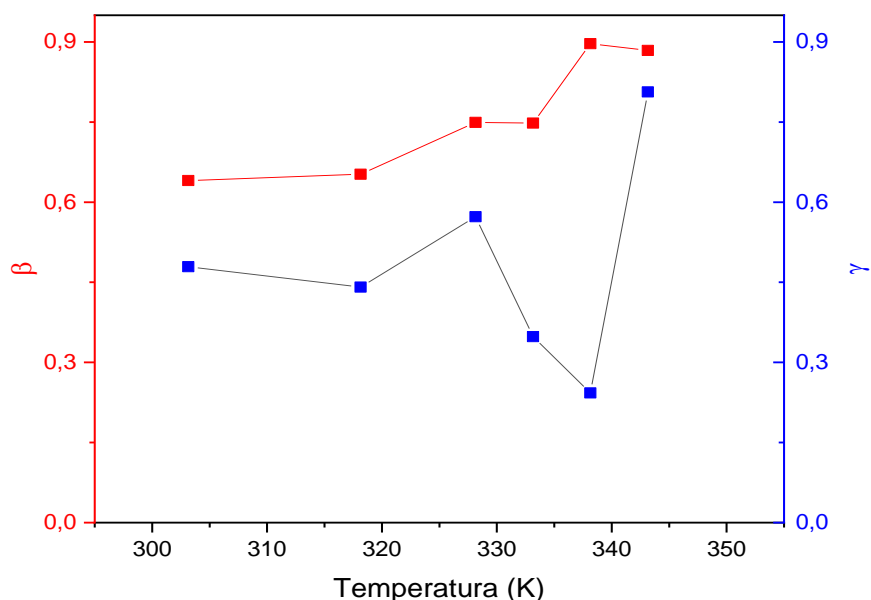


Figura 72. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.

O parâmetro exponencial, β_{kww} , apresentado na Figura 73 teve um comportamento constante a baixas temperaturas, tendo-se verificado uma subida abrupta depois de 335 K, o que pode

estar relacionado o aumento da assimetria da distribuição de tempos de relaxação com o aumento da temperatura.

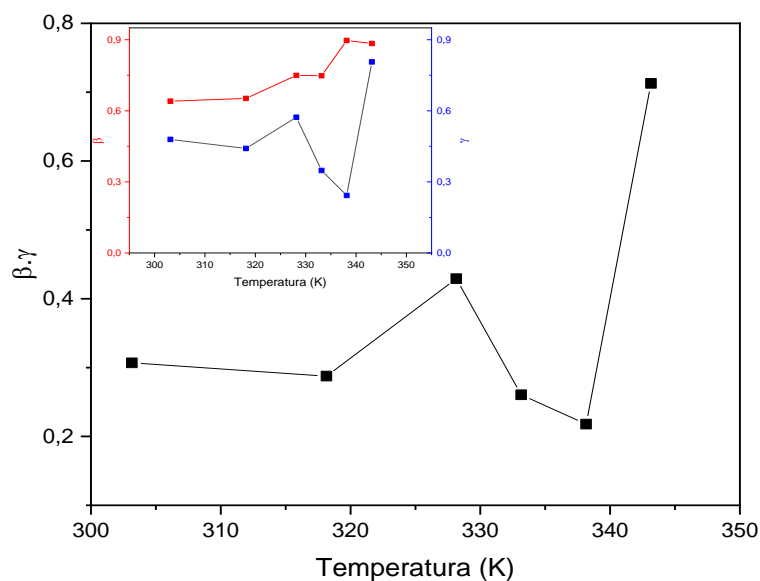


Figura 73. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww} .

➤ Nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA

Fez-se o estudo das propriedades dielétricas para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA. Dos dados experimentais obteve-se a capacidade desde a temperatura ambiente até aos 100 °C e posteriormente desta até à temperatura ambiente. Fez-se o registo das frequências entre 100 Hz e 1 MHz.

A Figura 73 representa a componente real da permissividade elétrica em função da temperatura para as frequências de 158, 631, 2512 e 10000 Hz.

Como se pode observar na Figura 74, a constante dielétrica real aumenta com o aumento da temperatura. De notar que para diferentes frequências a componente real da permissividade elétrica tem um aumento com aumento da frequência, o que difere das amostras anteriores para o dipéptido Boc-Phe-leu, em que foi verificada uma diminuição a altas frequências. Isto indica a presença de uma relaxação a frequências intermédias.

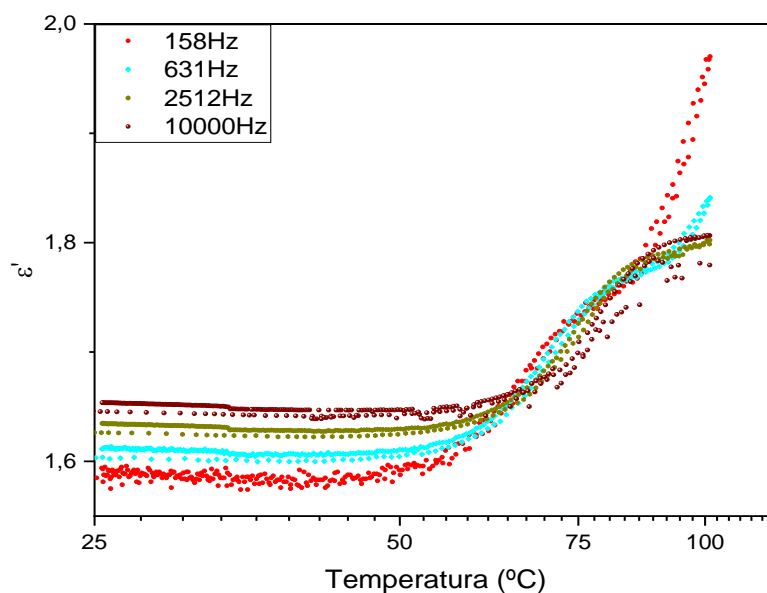


Figura 74. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da temperatura.

A Figura 75 mostra a relação da componente imaginária da permitividade elétrica em função da temperatura.

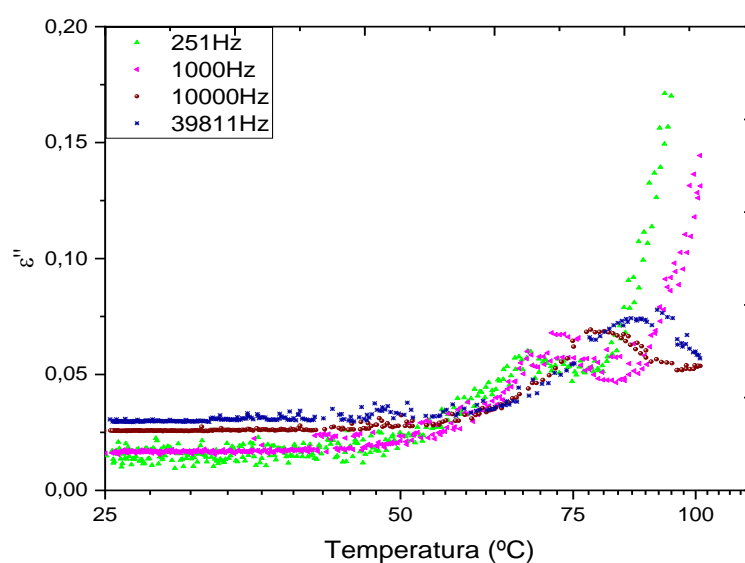


Figura 75. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da temperatura.

Do gráfico pode depreender-se que a constante dielétrica imaginária aumenta com o aumento da temperatura, em consequência do aumento da condutividade, como nas restantes amostras.

Procedeu-se ao estudo das constantes dielétricas real e imaginária em função da frequência para as temperaturas de 80, 90, 95 e 100 °C. A Figura 76 apresenta o gráfico da componente real da permitividade elétrica em função da frequência às mesmas temperaturas.

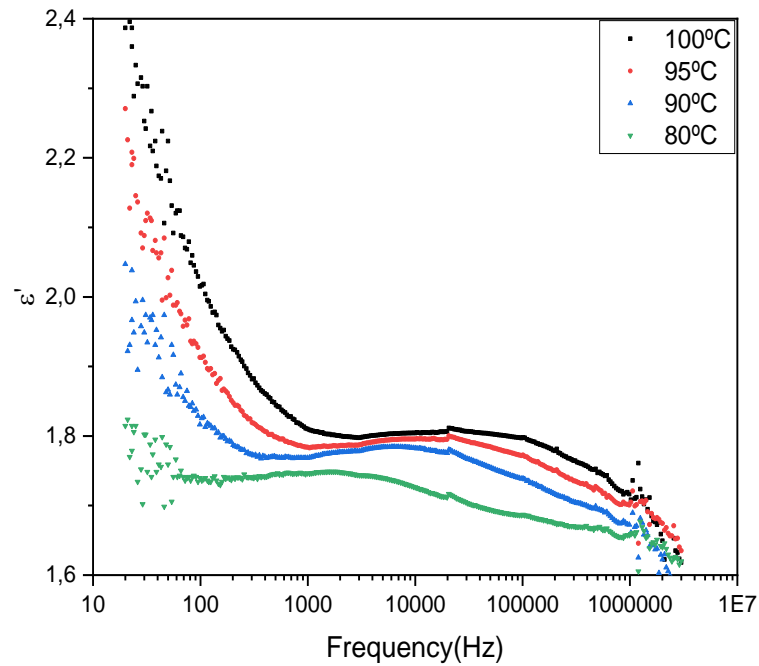


Figura 76. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da frequência.

A Figura 77, representa a componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da frequência para as temperaturas de 80, 90, 95 e 100 °C.

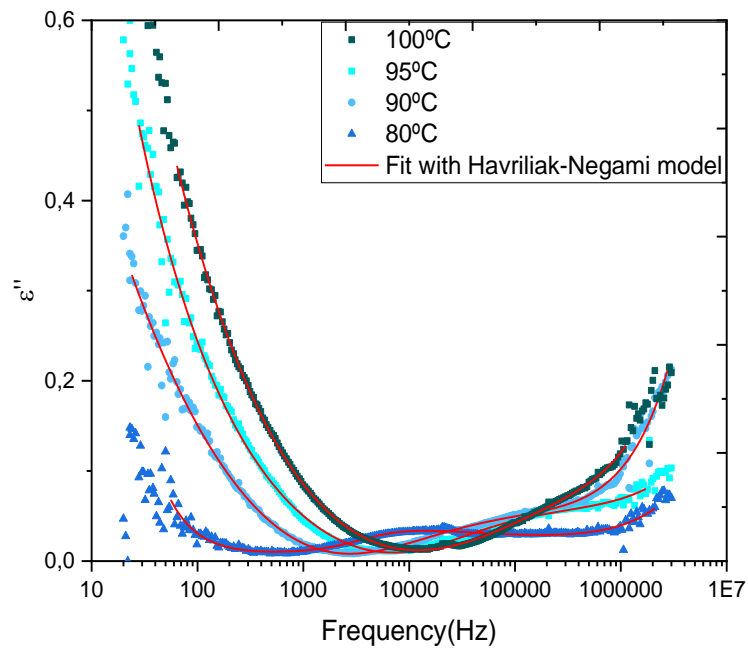


Figura 77. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA em função da frequência, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

É possível observar a presença de máximos provenientes de uma relaxação dielétrica e ainda uma possível segunda relaxação a altas frequências.

Observa-se ainda, uma componente condutiva da permissividade elétrica imaginária muito acentuada que domina a resposta da amostra para todas as frequências medidas, que justifica o acréscimo do termo condutivo na equação (26). A parte real mostra a presença da polarização interfacial de Maxwell-Wagner, correspondente à subida acentuada da permissividade real a baixas frequências, devido às interfaces originadas pela presença das inclusões dos dipéptidos dentro das fibras.

O comportamento do gráfico da Figura 77 levou a que fossem feitos ajustes na função de Havriliak-Negami para a componente imaginária da permissividade elétrica.

Os resultados dos parâmetros obtidos na função de Havriliak-Negami para componente imaginária da permissividade, encontram-se listados na Tabela 8.

Tabela 8. Parâmetros do modelo de Havriliak-Negami para a primeira relaxação da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.

Temperatura (°C)	Parâmetros			
	β	γ	τ	$\Delta\epsilon$
80	1	0,20079	3,93E-05	0,11179
90	0,57343	0,01569	4,87E-05	20,62628
95	0,80363	0,00899	7,47E-06	10,78999
100	0,3624	0,33929	1,12E-06	14,56123

Da tabela 8, é possível verificar que os parâmetros β e γ apresentam valores muito variados, tal como se pode observar nos gráficos das Figuras 81 e 82.

A partir dos dados da Figura 77, procedeu-se ao estudo da condutividade AC, representada na Figura 78, através da relação entre a condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas.

A baixas frequências, o comportamento da condutividade AC é constante e igual à condutividade DC. A altas frequências a condutividade aumenta com o aumento da frequência segundo uma lei de potência (Jonscher), sendo que o maior sinal recai às temperaturas 90 e 100 °C, o que é consistente os dados da Figura 77.

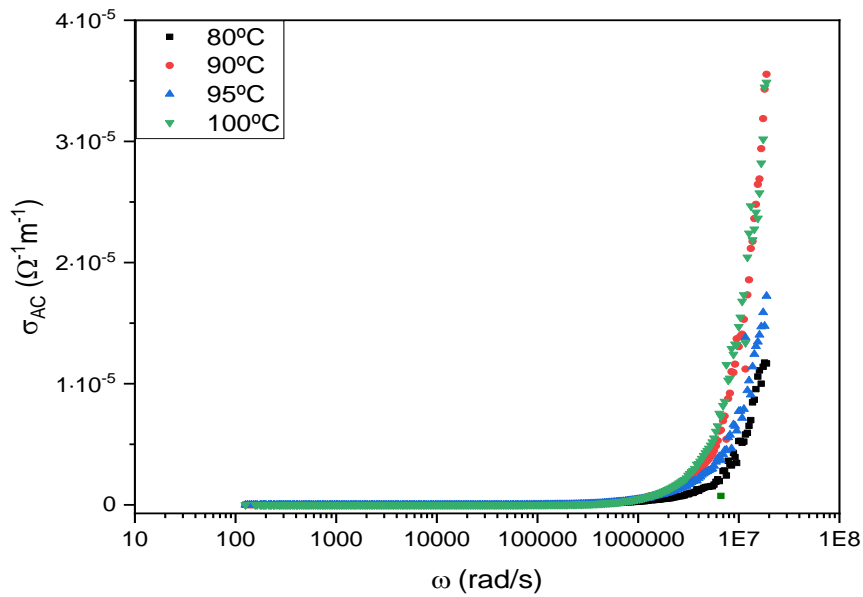


Figura 78. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.

A Figura 79 mostra a relação linear do logaritmo de τ em função do inverso da temperatura ($1/T$), e o seu respetivo ajuste.

O declive da reta permite determinar a energia de ativação dos tempos de relaxação da amostra Boc-Phe-Ile@PLLA, tendo sido obtido uma energia de ativação de $E_a = 4,41$ eV. Esta energia elevada de ativação, indica um carácter iónico do *hopping* local das cargas originado pela aplicação do campo elétrico alternado externo.

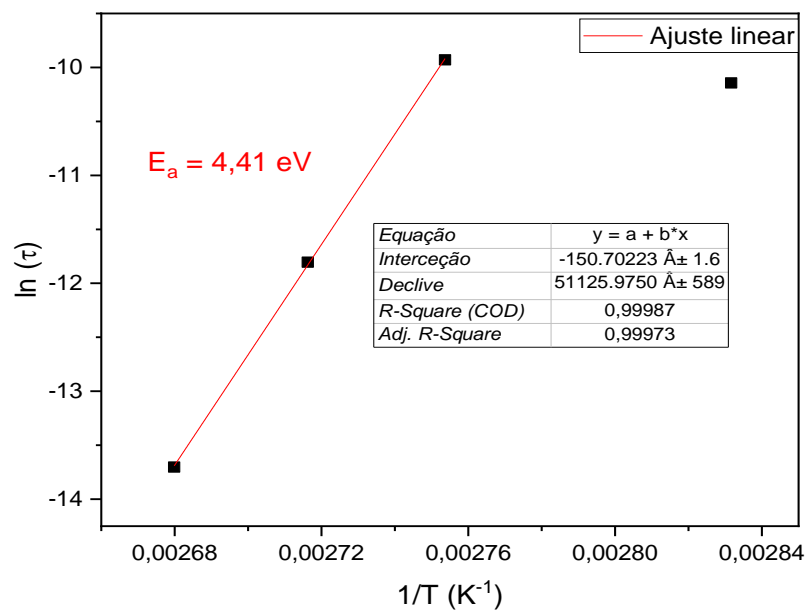


Figura 79. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.

A Figura 80, representa a relação linear do logaritmo de $\sigma \cdot T$ em função do inverso da temperatura ($1/T$) e o seu respetivo ajuste.

A energia de ativação obtida a partir do declive regressivo da reta é de $E_a = 0,52$ eV. Este valor indica que a condução é eletrónica, por meio de conversão de polarões, como nas amostras anteriores.

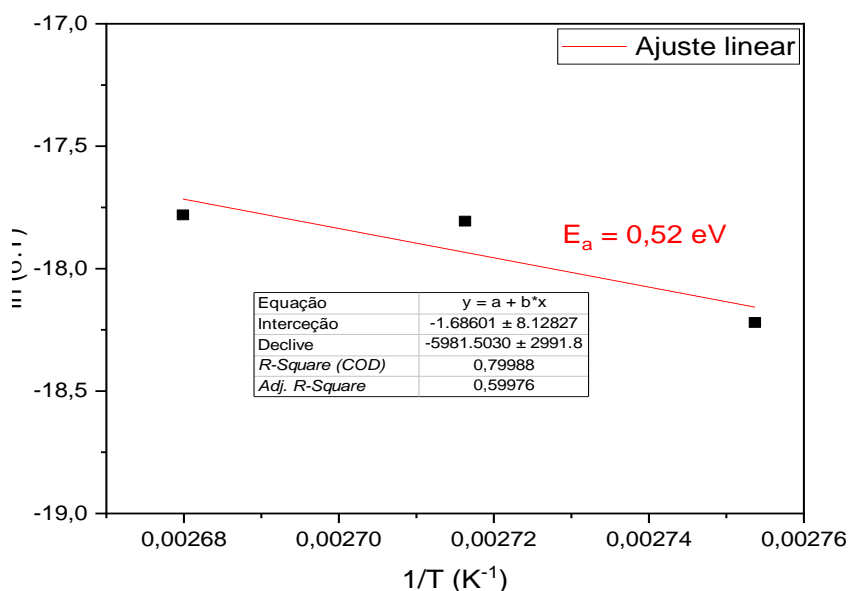


Figura 80. Representação gráfica do $\ln(\sigma \cdot T)$ em função do inverso da temperatura para amostra Boc-Phe-Ile@PLLA.

Fez-se o estudo do comportamento dos parâmetros β e γ obtidos dos ajustes da equação do modelo de HN, em relação a temperatura. No conjunto, representado na Figura 81, enquanto o parâmetro β diminui em média em função da temperatura, o parâmetro γ tem um mínimo na região 363 – 368 K.

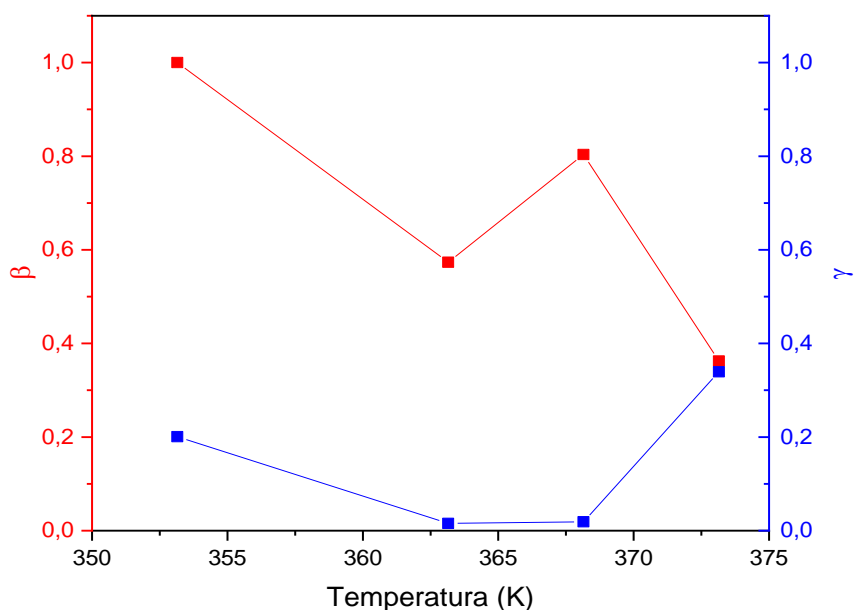


Figura 81. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.

A Figura 82, representa o parâmetro exponencial, $\beta_{kww} = \beta \cdot \gamma$, em função da temperatura. É possível observar no gráfico, um comportamento totalmente dominado pelo parâmetro assimétrico da distribuição dos tempos de relaxação, ocorrendo o mínimo na região de temperaturas referida anteriormente.

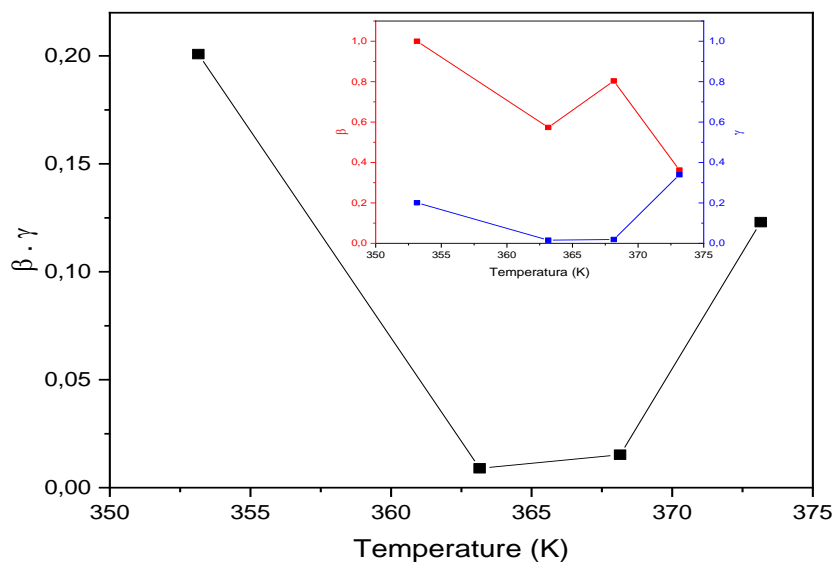


Figura 82. Dependência da temperatura ao parâmetro exponencial, β_{kww} .

➤ Nanofibras de Boc-Phe-Ile@PCL

Para o estudo das propriedades dielétricas relativamente as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PCL, obteve-se a capacidade desde a temperatura ambiente até aos 60 °C e posteriormente desta até à temperatura ambiente. As frequências foram entre 100 Hz e 1 MHz.

Posteriormente determinou-se a constante dielétrica real e imaginária através das equações (41) e (42), ao que se construíram os gráficos das Figuras 83 – 86.

Na Figura 83, está apresentada a parte real da permissividade em função da temperatura, para as frequências de 252, 1000, 2520 e 6300 Hz. Observa-se que com o aumento da temperatura a componente real da permissividade também aumenta.

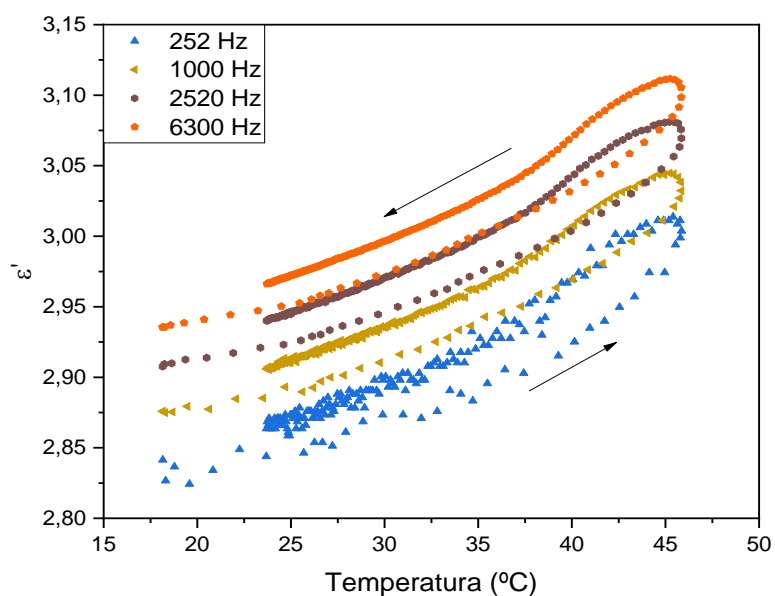


Figura 83. Parte real da permissividade elétrica em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Ile@PCI.

Para as mesmas frequências, mediu-se a constante imaginária da permissividade elétrica em função da temperatura, que encontra apresentado na Figura 84.

O gráfico mostra que com o aumento da temperatura a constante dielétrica imaginária varia pouco, o que não é diferente das outras amostras.

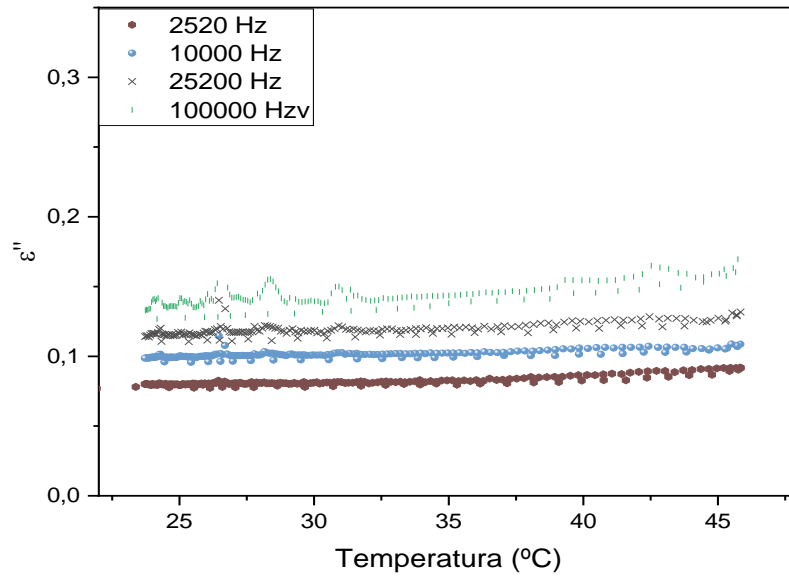


Figura 84. Parte imaginária da permissividade elétrica em função da temperatura para a amostra Boc-Phe-Ile@PCL.

Procedeu-se à medição das constantes dielétrica real e imaginária em função da frequência para as temperaturas de 21, 25, 30, 35 e 40 °C.

As Figuras 85 e 86, apresentam, respetivamente, a relação entre as componentes real e imaginária da permissividade elétrica em função da frequência para as mesmas temperaturas.

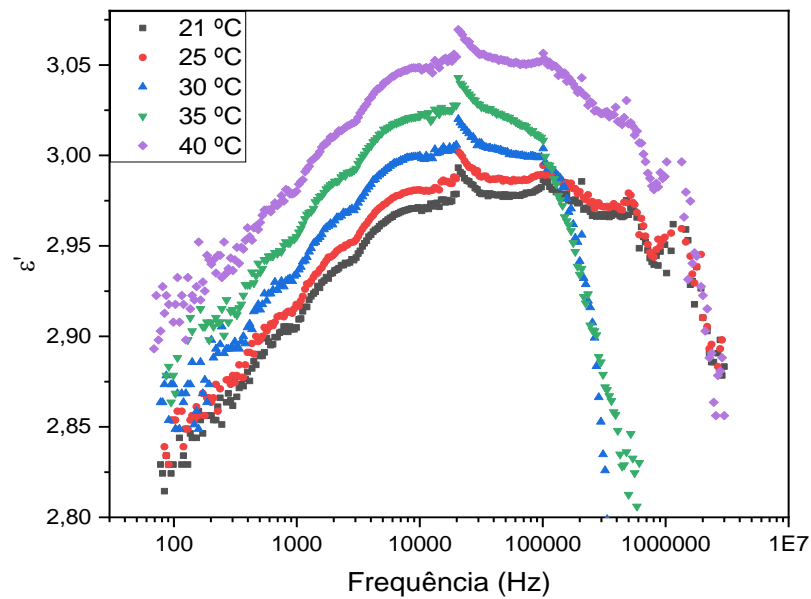


Figura 85. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PCL em função da frequência a temperaturas diferentes.

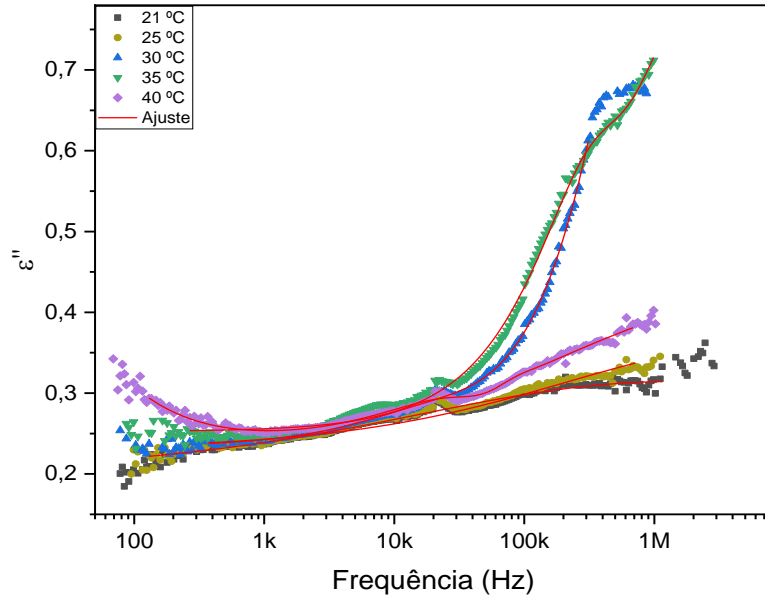


Figura 86. Componente imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PCL em função da frequência a temperaturas diferentes, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

Observa-se um comportamento do gráfico diferente para as temperaturas 30 e 35 °C na Figura 86, que é devido a uma relaxação a essas temperaturas.

➤ **Nanofibras de Boc-Phe-Ile@PMMA**

Para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PMMA, fez-se o estudo das propriedades dielétricas e dos dados experimentais obteve-se a capacidade desde a temperatura ambiente até aos 80 °C e posteriormente desta até à temperatura ambiente com as frequências foram entre 100 Hz e 1 MHz.

As Figuras 87 e 88, mostram, respetivamente, as constantes dielétricas real e imaginária em função da temperatura para frequências de 252, 1590, 10000 e 398000 Hz.

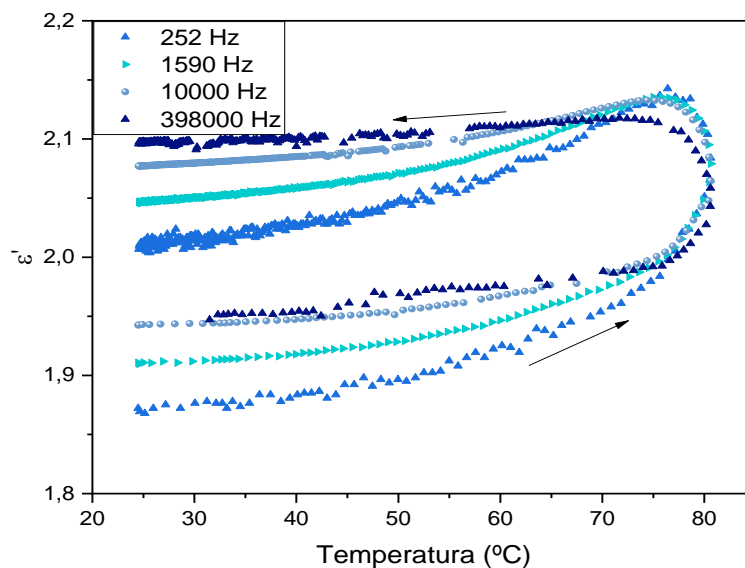


Figura 87. Parte real da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da temperatura.

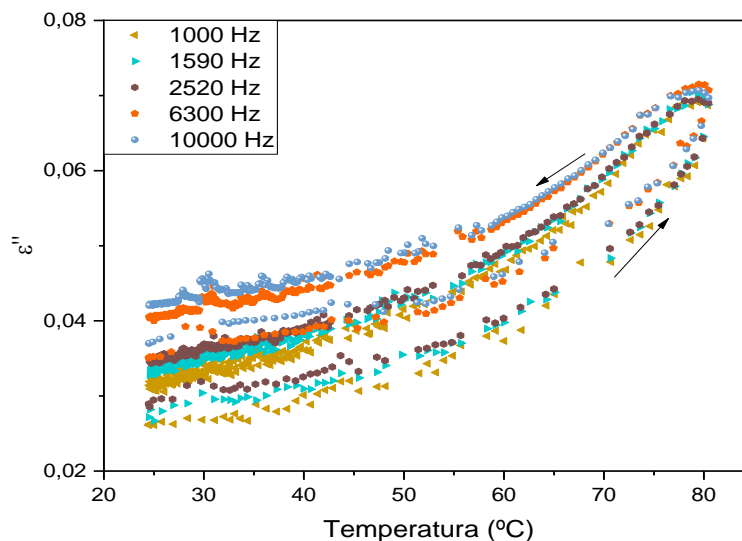


Figura 88. Parte imaginária da permitividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da temperatura.

Dos gráficos é possível observar que as componentes real e imaginária da permitividade elétrica aumentam com o aumento da temperatura. Observa-se também uma diferença acentuada entre a subida e a descida, o que indica irreversibilidade no comportamento da permitividade com a temperatura, possivelmente provocadas por alterações no polímero originadas pelo seu “amolecimento” à medida que a temperatura aumenta.

Na Figura 89, encontra-se representada componente real da permitividade elétrica em função da frequência para diferentes temperaturas.

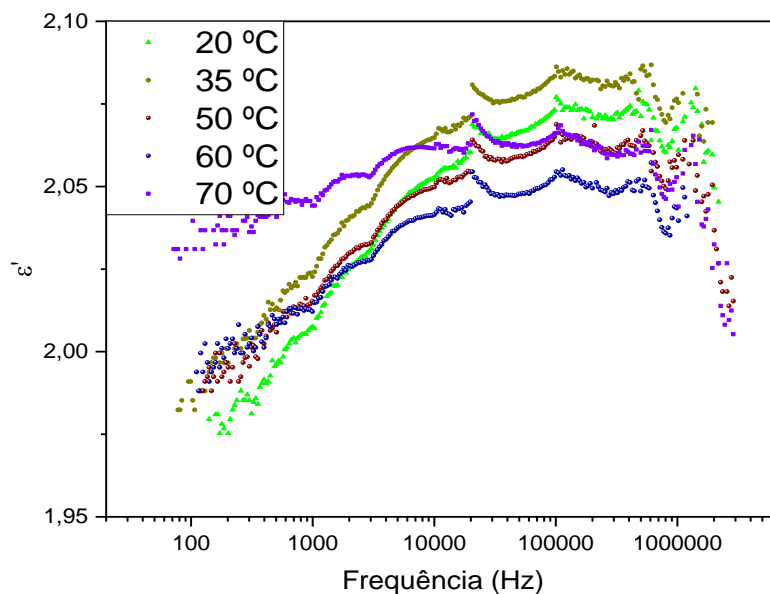


Figura 89. Componente real da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da frequência para diferentes temperaturas.

A Figura 90 representa a permissividade elétrica imaginária em função da frequência, para diferentes temperaturas e respectivos ajustes pela função de HN.

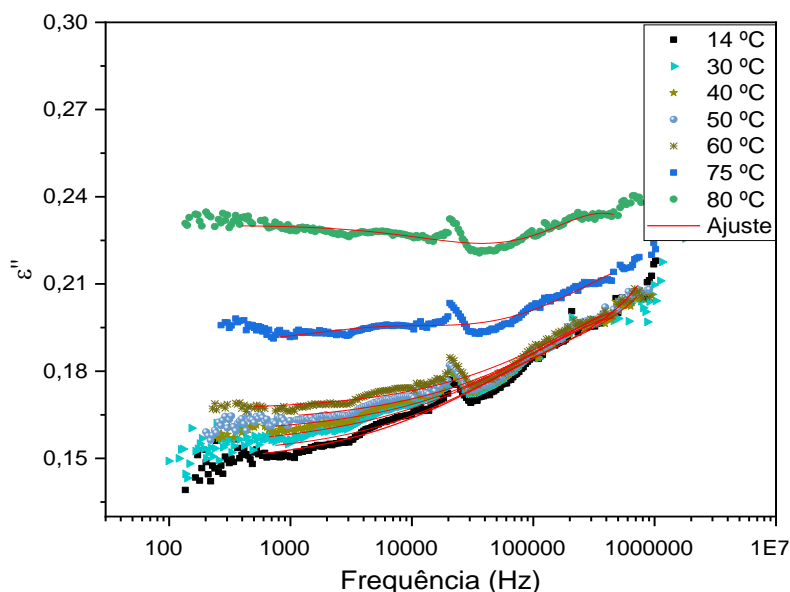


Figura 90. Componente imaginária da permissividade elétrica da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA em função da frequência para diferentes temperaturas, e respectivos ajustes efetuados com o modelo de HN.

Dos ajustes efetuados, foram obtidos os parâmetros com base no modelo da equação de Havriliak-Negami. De notar que a amostra não apresenta o comportamento devido à condutividade DC, no intervalo de frequências medido.

Relativamente a distribuição dos tempos de relaxação do material, é também possível obtê-los, através do ajuste da parte imaginária da permitividade em relação a frequência pelo modelo de HN. O ajuste linear do logaritmo τ em função do inverso da temperatura ($1/T$), permite obter a energia de ativação.

A partir do declive linear da reta apresentada na Figura 91, obteve-se a energia de ativação dos tempos de relaxação para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA de $E_a = 0,53$ eV, sendo relativa a oscilação dos dipolos envolvendo conversão de polarões.

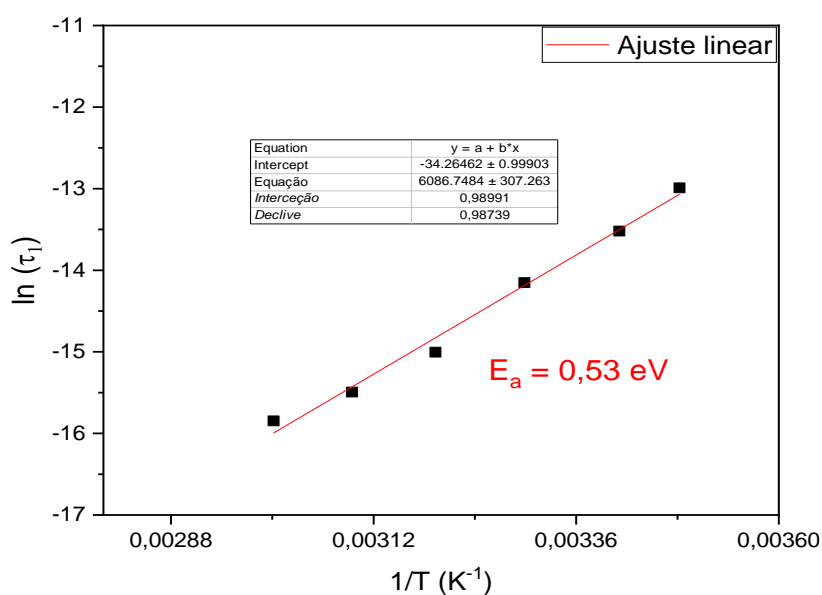


Figura 91. Logaritmo do tempo de relaxação em função do inverso da temperatura com o ajuste linear à vermelho.

A condutividade elétrica AC em função da frequência angular, encontra-se representada na Figura 92. A baixas frequências a condutividade AC é constante, refletindo a condutividade DC. À altas frequências, a condutividade AC aumenta com o aumento da frequência com lei de potência.

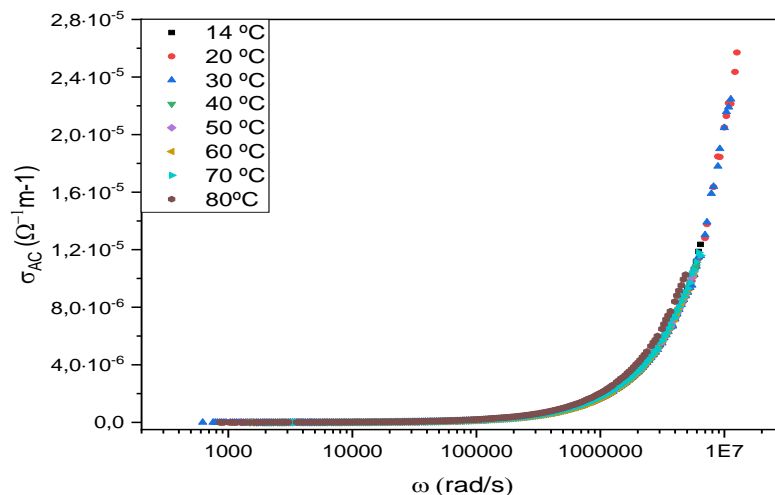


Figura 92. Condutividade AC em função da frequência angular para diferentes temperaturas da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA.

A Figura 93, mostra a dependência da temperatura com os parâmetros β e γ , obtidos com os ajustes da função de HN para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PMMA.

Observa-se que o parâmetro β tem um comportamento praticamente constante, aumentando ligeiramente depois de 350 K, enquanto a parâmetro assimétrico γ aumenta progressivamente com o aumento da temperatura até os 353 K.

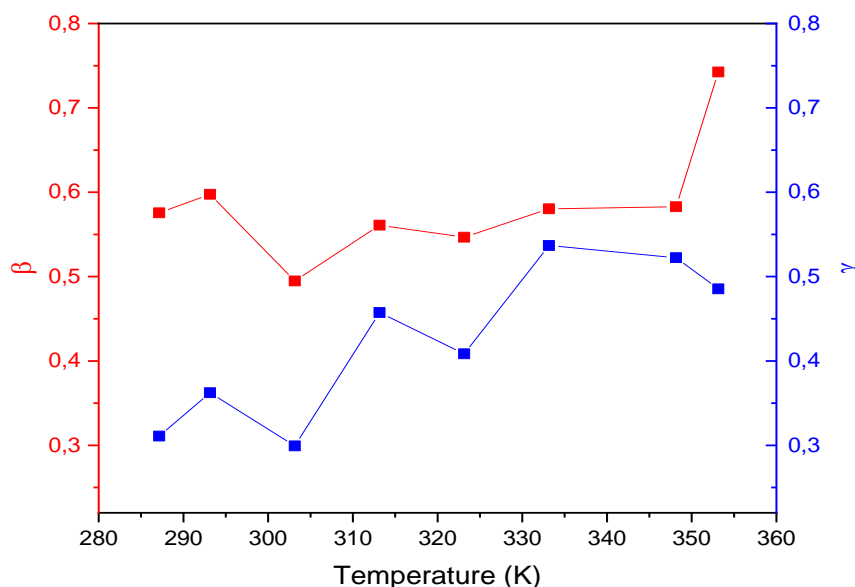


Figura 93. Parâmetros β e γ em função da temperatura, obtidos a partir do ajuste da função de HN.

O parâmetro exponencial β_{kww} (Figura 94), aumenta com o aumento da temperatura, tendo um comportamento predominantemente assimétrico devido ao parâmetro assimétrico dos tempos de relaxação.

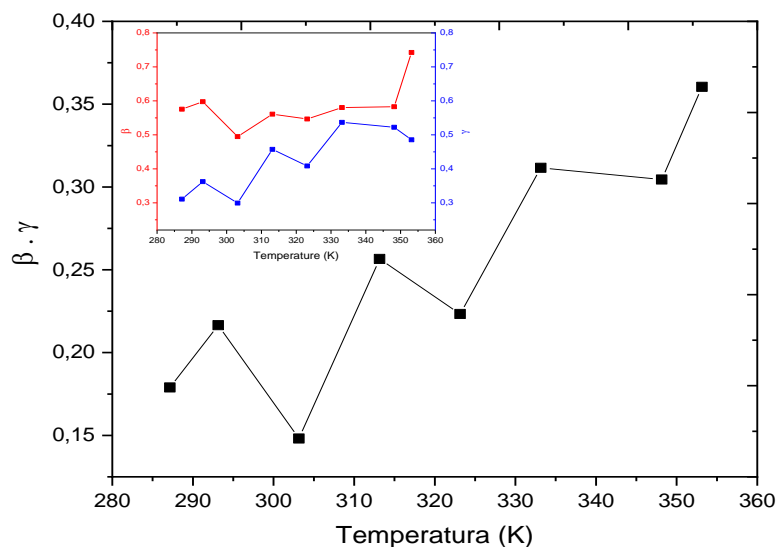


Figura 94. Dependência da temperatura com o parâmetro exponencial, $\beta_{k_{wv}}$.

5.4. Caracterização piroelétrica

Para a caracterização piroelétrica, foi medido o coeficiente piroelétrico dos dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile incorporados em nanofibras dos polímeros PLLA, PCL e PMMA. Os resultados dessas medições foram apresentados nas Figuras 95 a 99, demonstrando a variação do coeficiente em função da temperatura.

A partir dos dados experimentais, foi construído um gráfico que mostra a relação entre a variação da temperatura (K) em função do tempo (s). Durante o aquecimento, observou-se um comportamento linear, sugerindo uma relação direta entre a carga elétrica gerada e a temperatura, enquanto durante o arrefecimento o comportamento foi polinomial, o que indica uma relação mais complexa. Na Figura 95 está representada essa característica para a subida e descida das amostras estudadas.

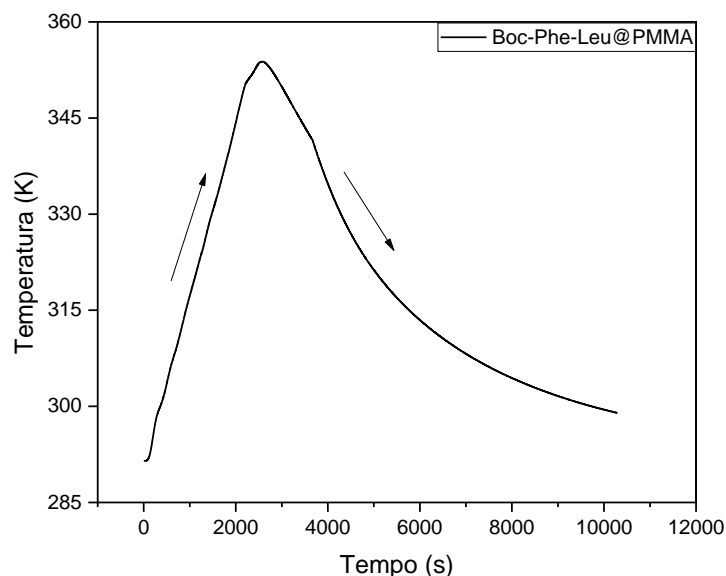


Figura 95. Representação gráfica da dependência da temperatura em função do tempo para nanofibras de Boc-Phe-Leu@PMMA

A partir do gráfico da Figura 95, é feito um ajuste linear para a subida e um ajuste polinomial para a descida de forma a obter o coeficiente piroelétrico pela equação (3) da página 11.

O comportamento do gráfico da Figura 95 foi igual para todas as amostras, pelo que o ajuste linear para a subida e o ajuste polinomial para a descida foi realizado de modo igual em todas as amostras. Assim, foram selecionadas as amostras que obtiveram melhores resultados no coeficiente piezoelétrico, cujos resultados encontram-se apresentados entre as Figuras 96 e 99.

Na Figura 96, apresentam-se os valores do coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PCL. Nesta figura, é possível observar que o coeficiente piroelétrico atinge um valor máximo de $2 \times 10^{-6} \text{ C}/(\text{m}^2\text{K})$ à temperatura de 317 K.

Do gráfico, pode-se inferir que o coeficiente piroelétrico apresenta um comportamento constante até aproximadamente 317 K, a partir do qual começa a aumentar rapidamente, atingindo o valor máximo a 318 K.

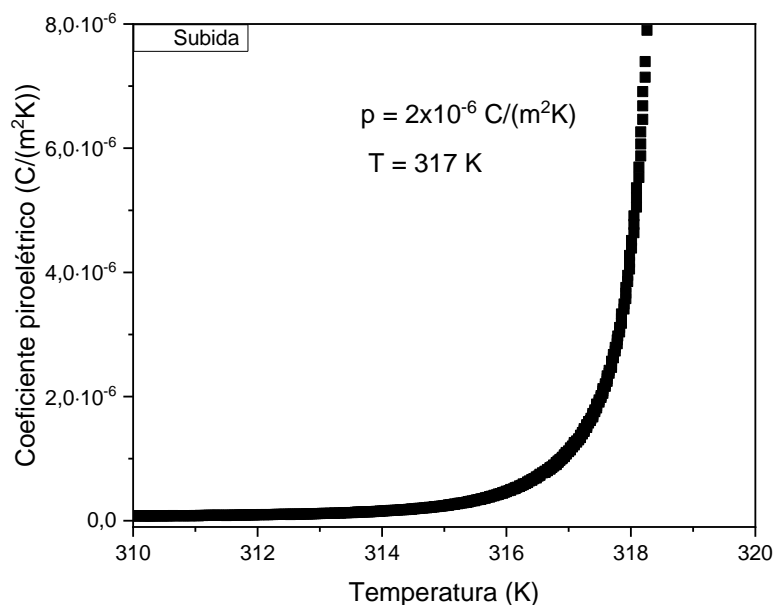


Figura 96. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.

Para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PMMA, conforme representado na Figura 97, o coeficiente piroelétrico máximo obtido é de $0,4 \times 10^{-6} \text{ C}/(\text{m}^2\text{K})$ à temperatura de 345 K, sendo uma ordem de grandeza menor em relação ao obtido quando o dipéptido é incorporado em PCL.

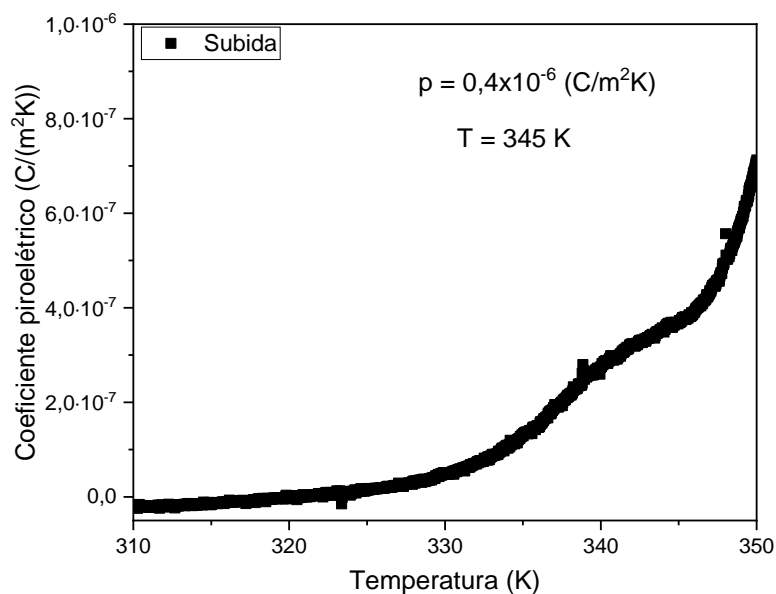


Figura 97. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.

Na Figura 98, está representada a resposta piroelétrica das nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA, que apresenta um valor máximo do coeficiente piroelétrico de $0,3 \times 10^{-6} \text{ C}/(\text{m}^2\text{K})$ a uma temperatura de 321 K.

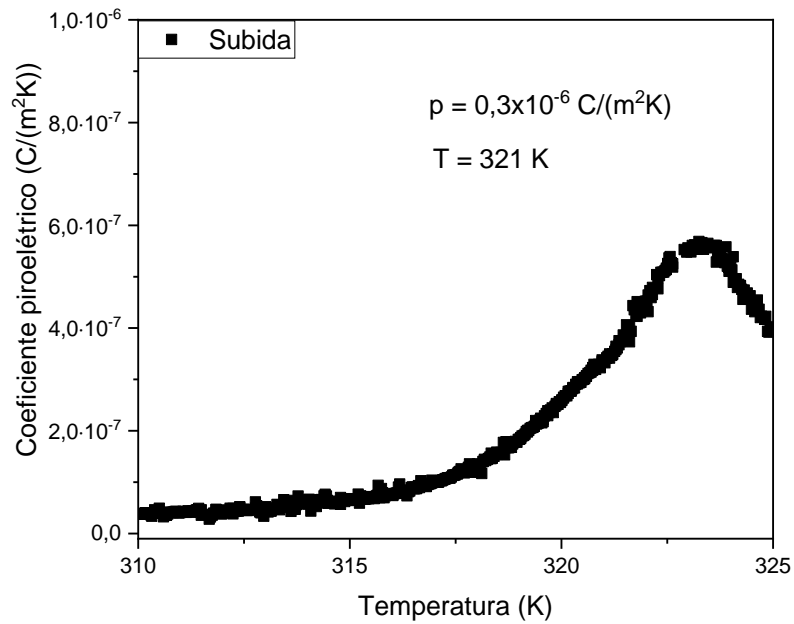


Figura 98. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.

Na Figura 99, representa-se o coeficiente piroelétrico da amostra Boc-Phe-Ile@PMMA, como máximo de 1×10^{-6} C/(m²K) a 350 K. Um comportamento constante pode ser verificado até aproximadamente 327 K quando começa a subida até atingir o valor máximo.

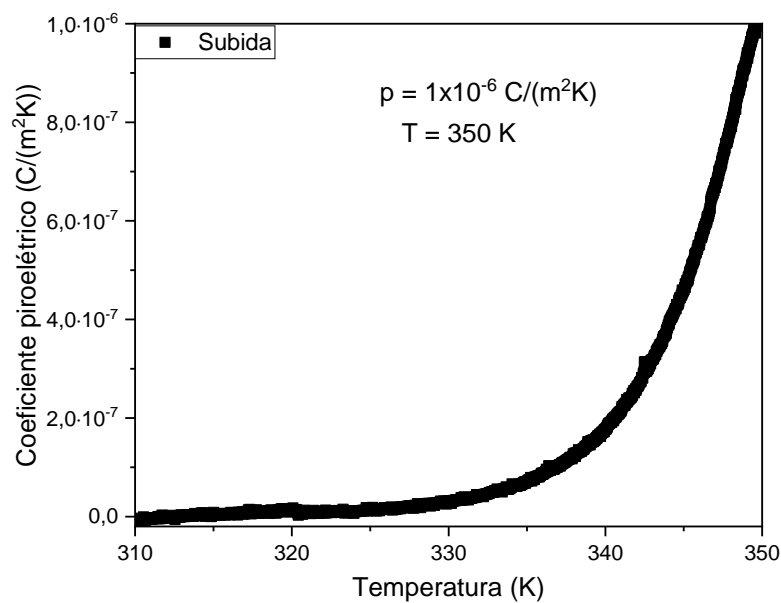


Figura 99. Coeficiente piroelétrico em função da temperatura para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.

Dos dados experimentais para a determinação do coeficiente piroelétrico, pode-se concluir que a polarização do material é verificada e mantém-se constante a baixas temperaturas. Em seguida, ocorre uma diminuição rápida da polarização numa faixa limitada de temperaturas. De

referir que o coeficiente piroelétrico foi determinado tendo em conta a temperatura de transição vítrea de cada polímero.

Os resultados dos coeficientes piroelétricos para as amostras estudadas estão apresentados na Tabela 9, para melhor compreensão e comparação.

Tabela 9. Variação do coeficiente piroelétrico para diferentes temperaturas.

Amostra	Temperatura (K)	Coeficiente piroelétrico C/(m²K)
Boc-Phe-Leu@PCL	317	2.10 ⁶
Boc-Phe-Leu@ PMMA	345	0,4.10 ⁶
Boc-Phe-Ile@PLLA	321	0,3.10 ⁶
Boc-Phe-Ile@PMMA	350	1.10 ⁶

5.5. Caracterização piezoeétrica

Para a análise dos dados experimentais piezoeétricos, foram recolhidas as tensões de saída a partir de um osciloscópio. Em seguida, foi calculada a corrente piezoeétrica utilizando a lei de Ohm e a equação (43) apresentada na página 33. Conhecendo a carga e a força aplicada, foi possível determinar o coeficiente piezoeétrico utilizando a equação (45).

A Figura 100, representa a relação entre a corrente piezoeétrica e a tensão de saída do circuito aberto ao longo do tempo, para a amostra Boc-Phe-Leu@PLLA, utilizando uma resistência de 100 MΩ. Observa-se que um aumento na força aplicada resulta num aumento proporcional na corrente e na tensão de saída, mantendo um sinal constante dentro do intervalo de medição.

O coeficiente piezoeétrico efetivo das nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA foi determinado para cada força aplicada, resultando num valor médio de medição de 85 pC/N.

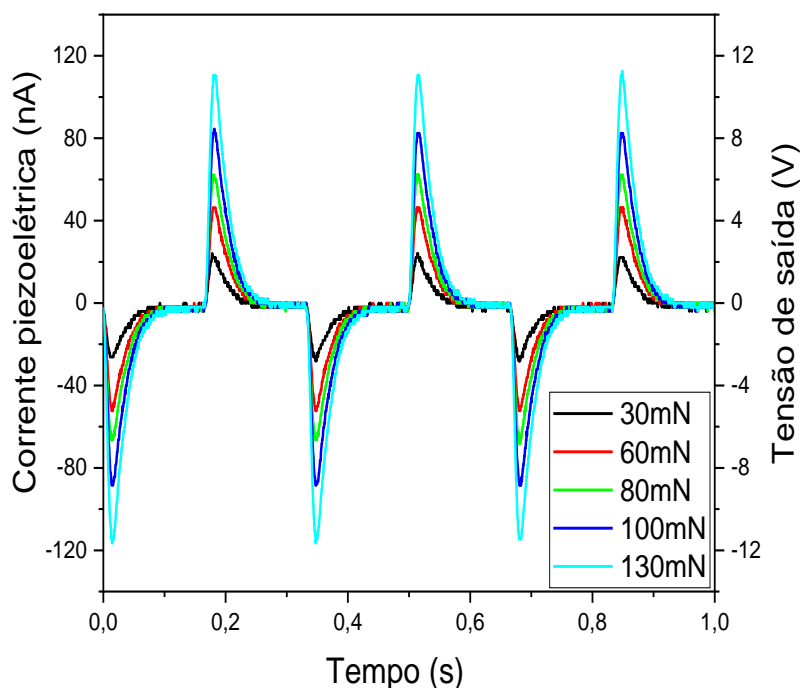


Figura 100. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA.

Um ajuste linear foi realizado para confirmar a relação entre o aumento da corrente e o aumento da força aplicada, representado na Figura 101. O ajuste linear mostra uma tendência positiva e linear, reforçando a relação direta entre a força aplicada e a corrente piezoelétrica. Isso confirma que o aumento da força resulta num aumento proporcional na corrente piezoelétrica.

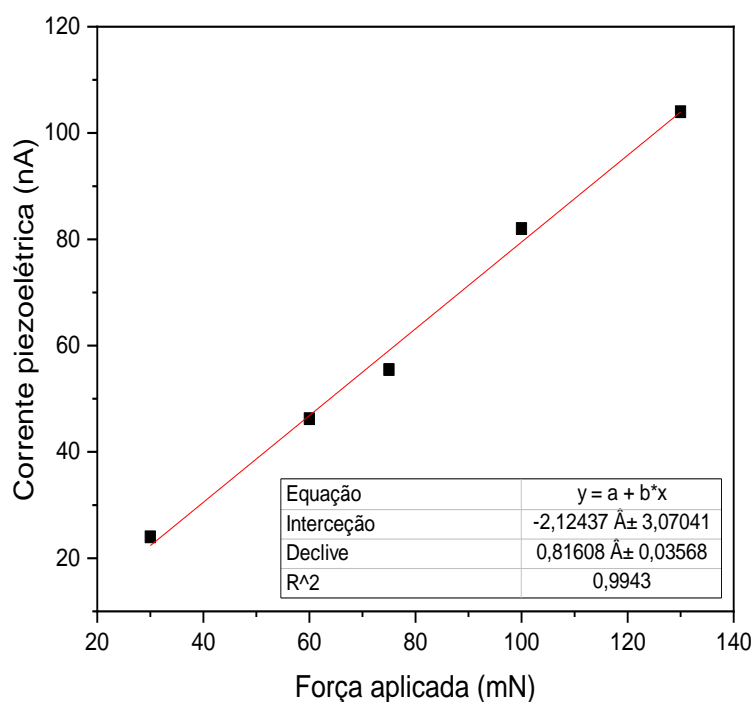


Figura 101. Dependência da corrente piezoelétrica e respectivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA.

Para o Boc-Phe-Leu@PCL, o coeficiente piezoelétrico efetivo médio medido foi de 15 pC/N. O gráfico da Figura 102 representa a corrente piezoelétrica e a tensão de saída em função do tempo para diferentes forças aplicadas.

A intensidade do sinal de saída para cada força aplicada não apresenta grandes desvios, mantendo-se constante ao longo do tempo. De notar ainda a proporcionalidade direta entre o aumento da corrente piezoelétrica, a tensão de saída e a força aplicada. É importante realçar que é a molécula dipeptídica Boc-Phe-Leu que contribui para a geração da corrente piezoelétrica e da tensão de saída. O polímero PCL não possui propriedades piezoelétricas intrínsecas, sendo a incorporação do dipéptido responsável pela resposta piezoelétrica observada.

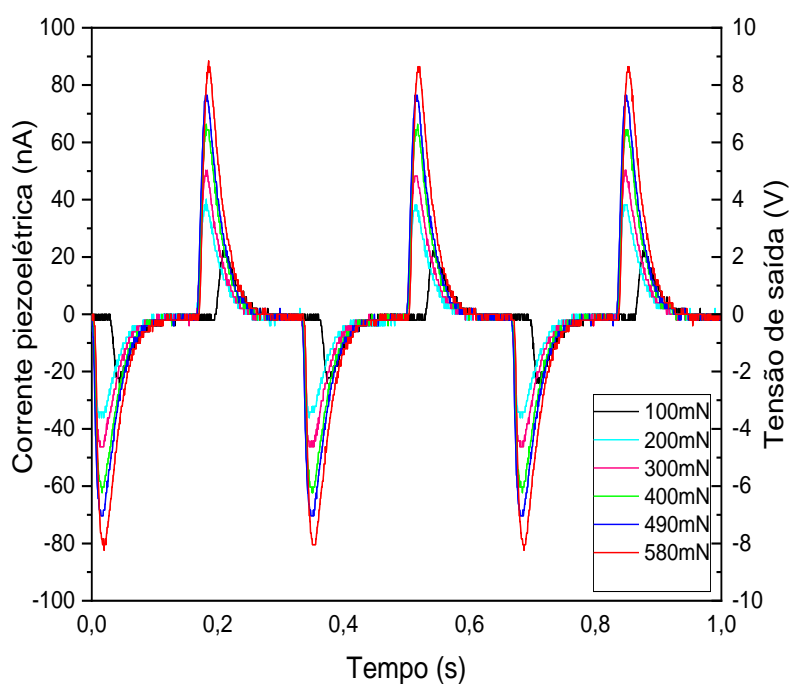


Figura 102. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.

Na amostra Boc-Phe-Leu@PCL, também é observada uma relação linear entre a corrente elétrica de saída gerada e a força externa aplicada, o que é esperado para um material piezoelétrico. A Figura 103 ilustra essa relação linear, mostrando a corrente elétrica de saída em função da força aplicada.

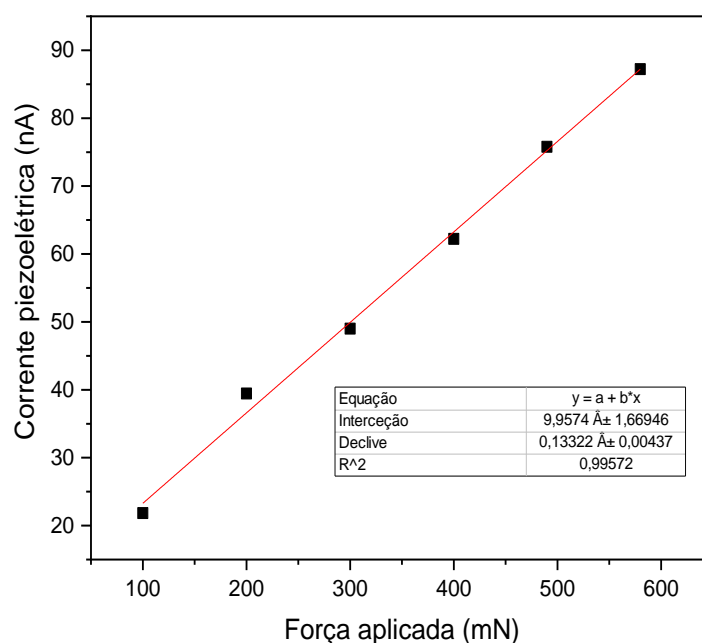


Figura 103. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL.

Na Figura 104 encontra-se representada a dependência da corrente e tensão de saída com o tempo para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PMMA.

Os dados experimentais demonstraram que o coeficiente piezoelétrico efetivo médio é de 45 pC/N. Observa-se que, à medida que a força aplicada aumenta, tanto a corrente piezoelétrica gerada quanto a tensão de saída aumentam proporcionalmente. É possível ainda verificar que, o sinal gerado permanece invariável ao longo do tempo.

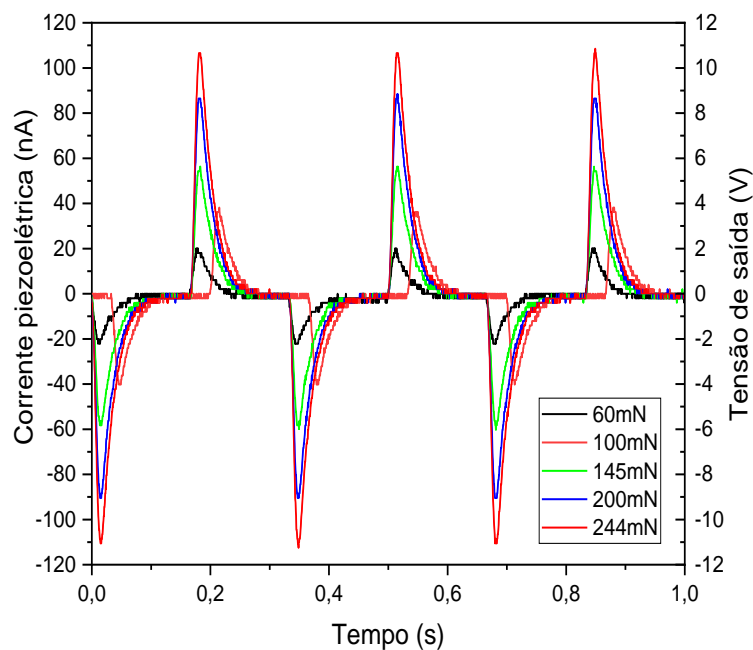


Figura 104. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.

O ajuste linear da dependência da corrente piezoelétrica com a força aplicada apresenta-se na Figura 105, comprovando um aumento proporcional da corrente com a força aplicada.

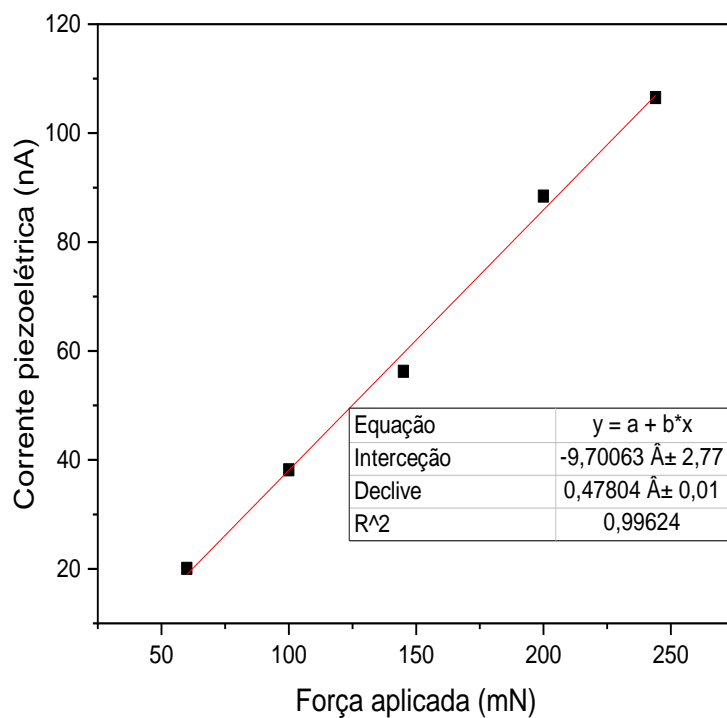


Figura 105. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PMMA.

Fez-se a caracterização piezoelétrica das nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA. A dependência da corrente e da tensão de saída com o tempo, encontra-se representada na Figura 106. É possível

verificar, mais uma vez, que a cada aumento da força aplicada, a corrente piezoelétrica e a tensão de saída aumentam também.

O sinal de saída não apresenta desvios com o tempo à medida que a força aumenta, mantendo-se quase constante.

O valor médio obtido para o coeficiente piezoelétrico efetivo foi de 56 pC/N.

Na Figura 107, é possível verificar a relação linear entre a corrente e a força aplicada ao material.

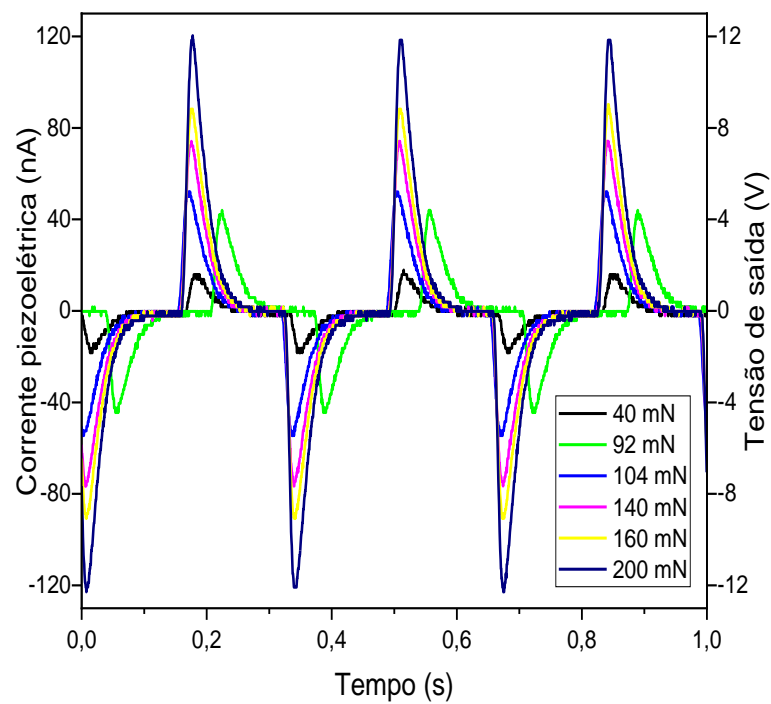


Figura 106. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.

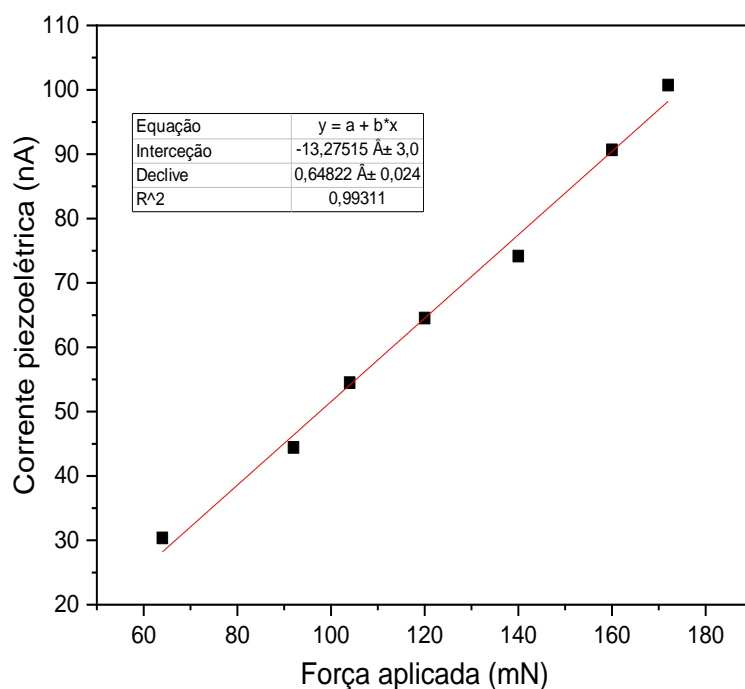


Figura 107. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA.

O mesmo dipéptido, Boc-Phe-Ile, quando incorporado em nanofibras poliméricas de PCL, representado na Figura 108, apresenta variação da corrente e da tensão ao longo do tempo. Ao observar os picos máximos da corrente e tensão é possível notar que o sinal se mantém constante com o tempo para a mesma força aplicada.

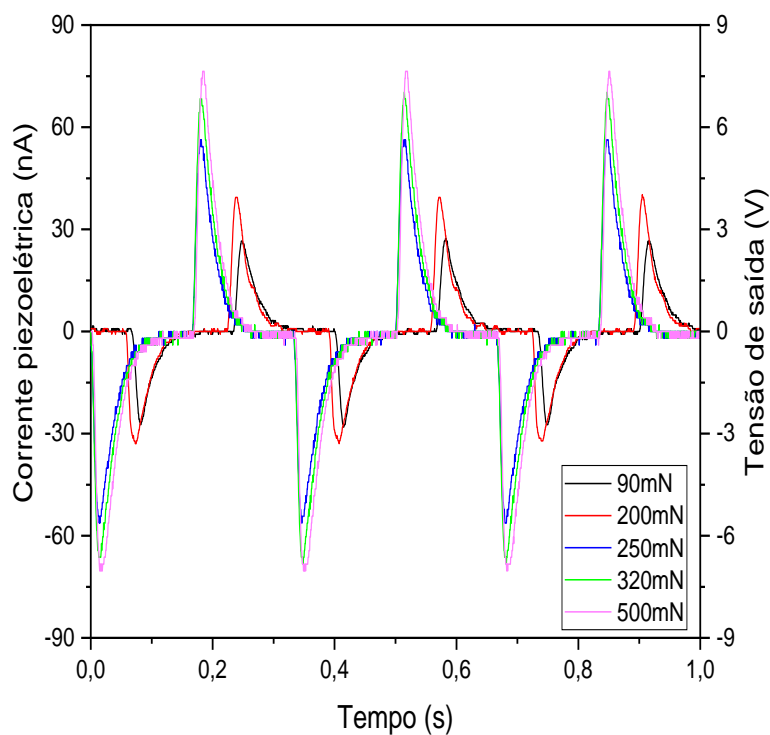


Figura 108. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PCL.

A Figura 109, representa a relação linear da corrente com a força aplicada.

O coeficiente piezoelétrico efetivo médio obtido é de 15 pC/N.

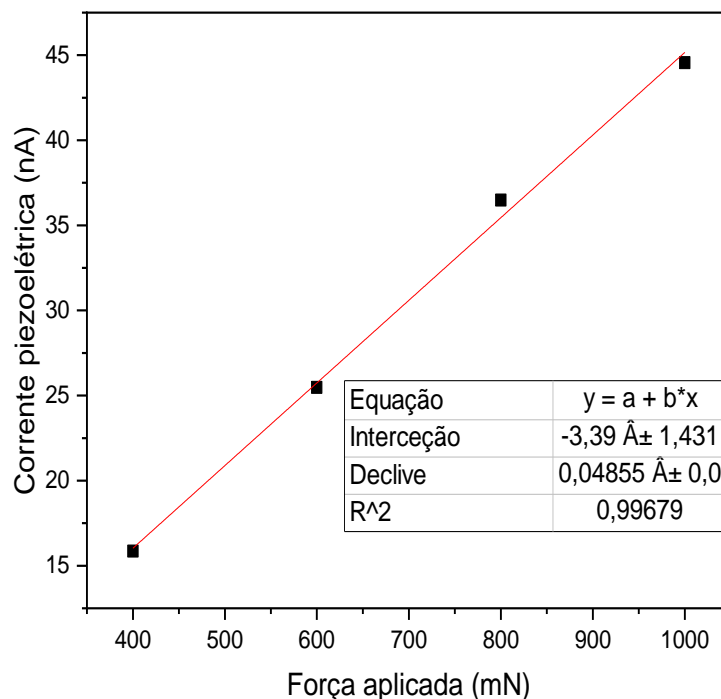


Figura 109. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PCL.

Para a dependência da corrente e tensão com o tempo das nanofibras de Boc-Phe-Ile@PMMA, representadas na Figura 110, o coeficiente piezoelétrico efetivo médio foi de 20 pC/N.

A corrente gerada e a tensão de saída, são proporcionais à força aplicada, ou seja, com o aumento da força aplicada, as correntes e as tensões de saída também aumentam.

Os sinais das correntes e tensões máximas geradas não variam ao longo do tempo, isso indica que esses sinais alcançam um estado estacionário após a aplicação da força e permanecem constantes.

A relação linear da corrente piezoelétrica com a força aplicada, encontra-se representada na Figura 111.

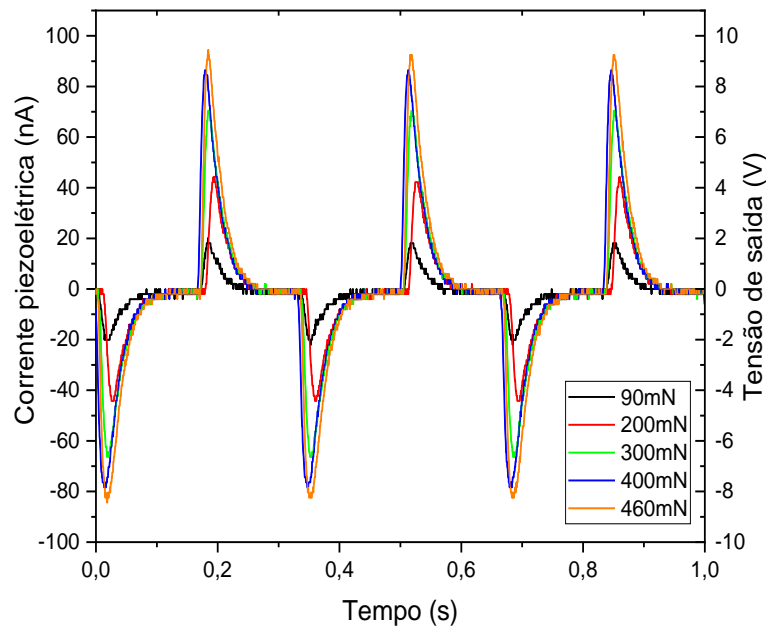


Figura 110. Corrente piezoelétrica e tensão de saída em função do tempo para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.

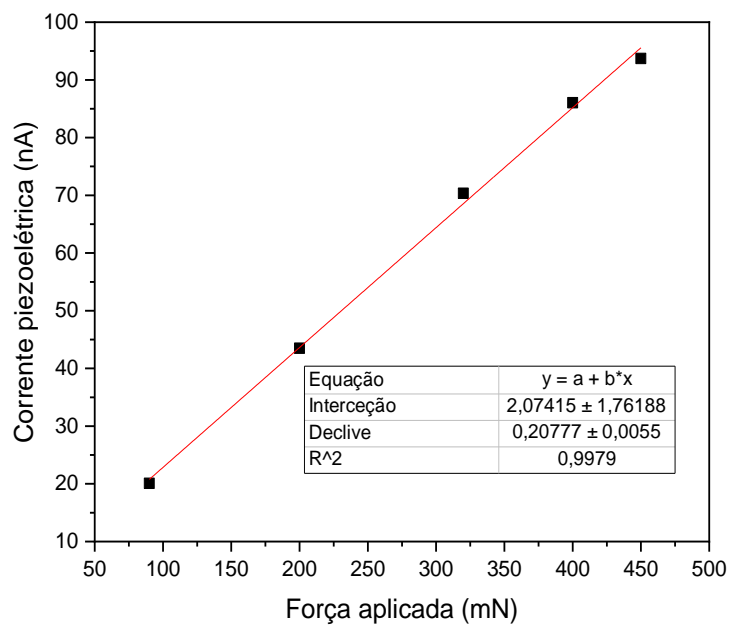


Figura 111. Dependência da corrente piezoelétrica e respetivo ajuste linear para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA.

Dado que o PLLA é um material piezoelétrico, houve a necessidade de avaliar as contribuições dos dipéptidos ao serem incorporados nas nanofibras poliméricas.

Na Figura 112, encontra-se representado o gráfico linear das correntes das nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA e Boc-Phe-Ile@PLLA e do PLLA puro. Verifica-se um aumento muito significativo na intensidade da corrente para as nanofibras contendo os dipéptidos em comparação com as nanofibras de PLLA puro. Isso indica que os dipéptidos contribuem de forma muito expressiva para o efeito piezoelétrico observado.

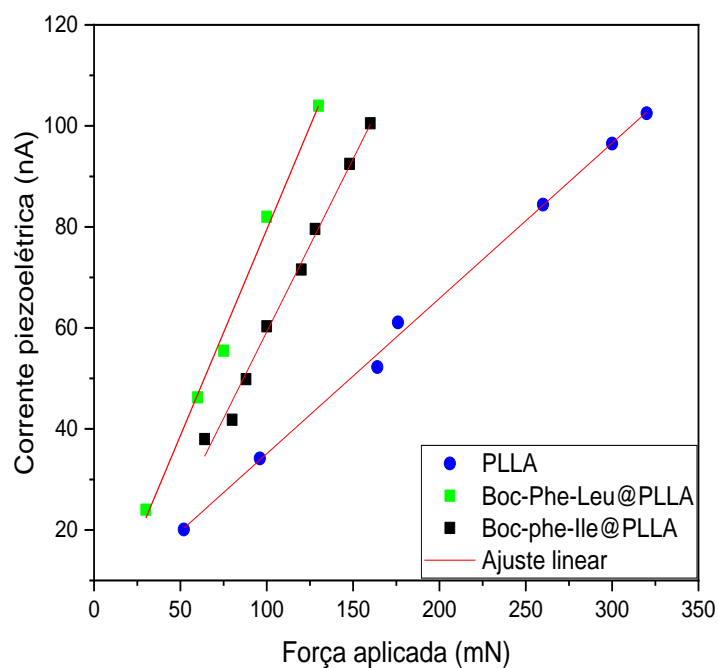


Figura 112. Representação gráfica da corrente piezoelétrica em função da força para o PLLA e para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA e Boc-Phe-Ile@PLLA, com seus respectivos ajustes lineares.

Na Tabela 10, procurou-se demonstrar que para os polímeros PLLA, PCL e PMMA, todos dopados com um mesmo tipo de dipéptido, o Boc-Phe-Leu no caso, apresentam respostas piezoelétricas diferentes quando submetidos ao mesmo stress mecânico de 100 mN.

Tabela 10. Variação na resposta piezoelétrica para os diferentes polímeros sujeitos a uma mesma força de 100 mN.

Amostra	Força aplicada (mN)	d(eff) pC/N
Boc-Phe-Leu@PLLA	100	84
Boc-Phe-Leu@PMMA	100	36
Boc-Phe-Leu@PCL	100	19

A representação gráfica encontra-se apresentada na Figura 113.

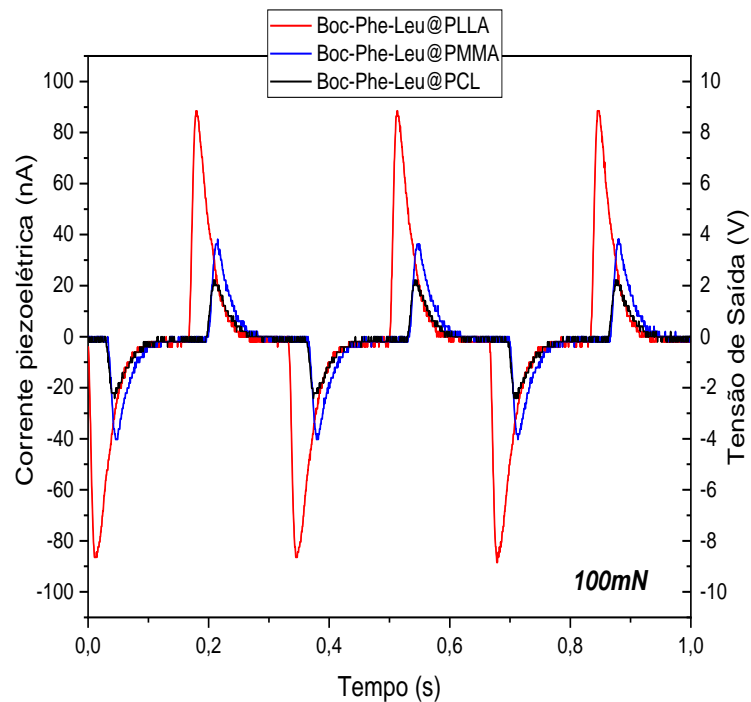


Figura 113. Corrente piezoelétrica em função do tempo das nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, Boc-Phe-Leu@PCL e Boc-Phe-Leu@PMMA para uma força aplicada de 100 mN.

As Figuras 114 e 115, comparam a resposta piezoelétrica de diferentes polímeros para as fibras produzidas com o Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, respectivamente. Também são apresentados os ajustes lineares correspondentes. A partir desses gráficos, é possível observar que as fibras produzidas com o polímero PLLA apresentam uma resposta piezoelétrica mais significativa, sendo o único polímero com propriedades piezoelétricas inerentes. Para o PMMA e PCL, a contribuição piezoelétrica é totalmente atribuída às moléculas dipeptídicas incorporadas, uma vez que esses polímeros não apresentam propriedades piezoelétricas próprias.

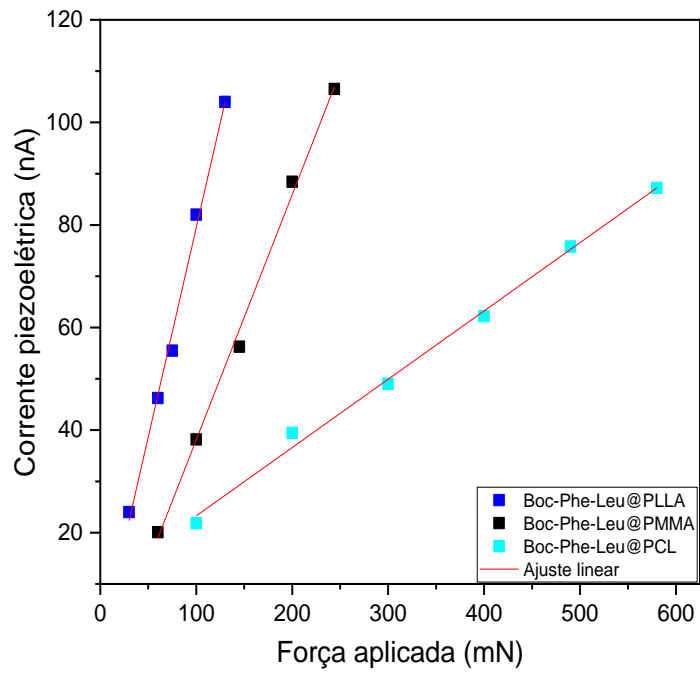


Figura 114. Dependência da corrente piezoelétrica com a força e respectivos ajustes lineares para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA, Boc-Phe-Leu@PCL e Boc-Phe-Leu@PMMA.

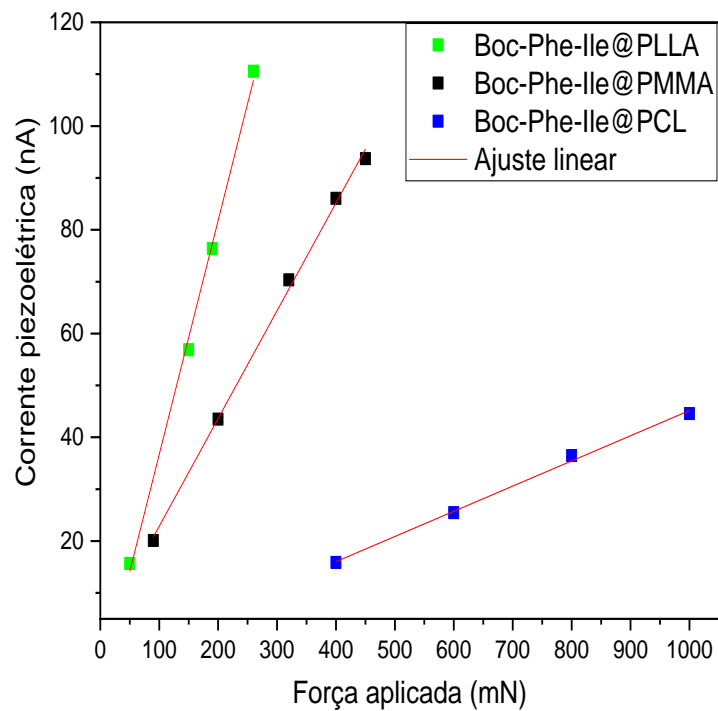


Figura 115. Dependência da corrente piezoelétrica com a força e respectivos ajustes lineares para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA, Boc-Phe-Ile@PCL e Boc-Phe-Ile@PMMA.

Procedeu-se ao estudo da influência da frequência e da força aplicada num determinado intervalo de tempo.

O comportamento da amostra Boc-Phe-Leu@PLLA em relação à resposta da tensão de saída foi estudado sob uma força constante, conforme representado na Figura 116.

Ao analisar a figura, podemos observar que, durante um intervalo de tempo de 10 minutos, a intensidade da tensão de saída apresenta uma variação insignificante. Isso indica uma alta estabilidade das fibras ao longo do tempo, pois a resposta da tensão de saída permanece praticamente constante durante esse período. Essa observação sugere que as fibras possuem uma capacidade de manter uma resposta consistente e previsível, mesmo quando submetidas a forças constantes e à mesma frequência ao longo do tempo.

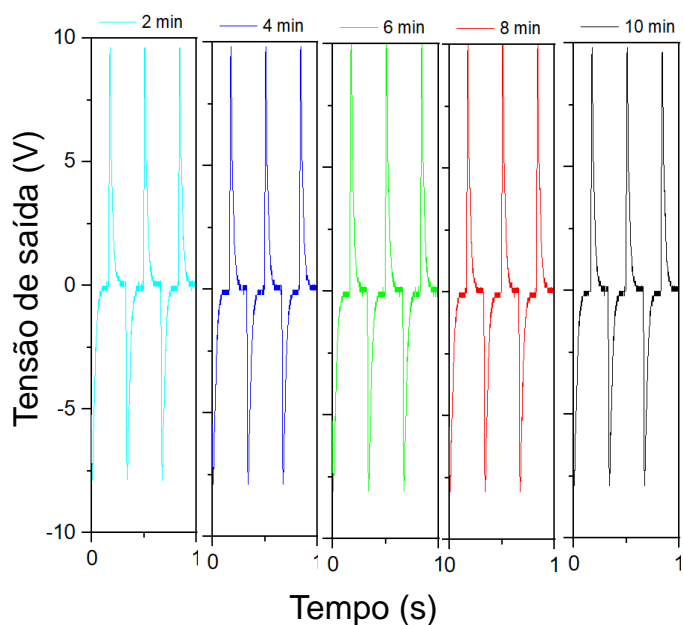


Figura 116. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA num intervalo de tempo de 10 min, sob ação de uma força.

Para a mesma amostra, Boc-Phe-Leu@PLLA, avaliou-se o comportamento da tensão de saída ao variar a frequência em 1, 3, 6 e 8 Hz, mantendo constante a força e num mesmo intervalo de tempo, como mostrado na Figura 117.

Como se pode observar, a tensão de saída manteve-se constante em todas as frequências aplicadas as fibras.

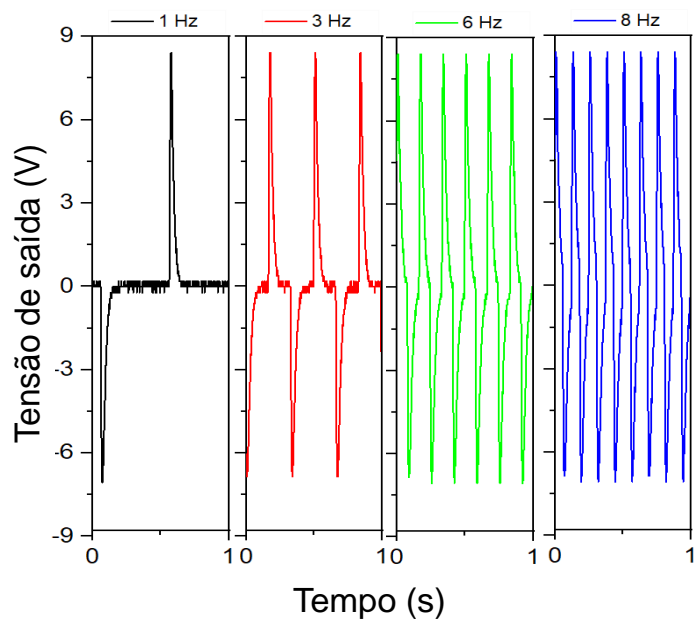


Figura 117. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA para diferentes frequências.

Para a variação do tempo, a amostra Boc-Phe-Ile@PLLA foi submetida a uma força e frequência constantes durante 10 min.

Como se pode confirmar na Figura 118, a tensão de saída não variou ao longo do tempo.

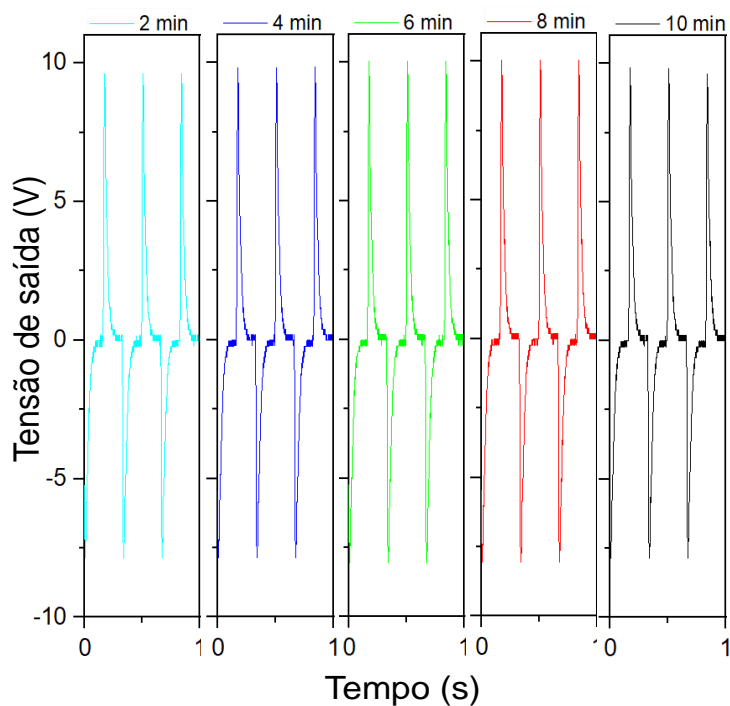


Figura 118. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA num intervalo de tempo de 10 min, sob ação de uma força.

As nanofibras Boc-Phe-Ile@PLLA (Figura 119), ainda foram sujeitas a uma força constante durante um intervalo de tempo definido. Ao variar os valores da frequência em 1, 3, 6,8 e 10 Hz, a tensão de saída permaneceu constante até à frequência de 6 Hz. A partir de 8 e 10 Hz, nota-se um ligeiro decréscimo no sinal da tensão, indicando uma diminuição na amplitude da resposta. Isso sugere que, para frequências mais altas, a capacidade das nanofibras em gerar tensão piezoelétrica pode ser afetada, resultando numa resposta ligeiramente reduzida.

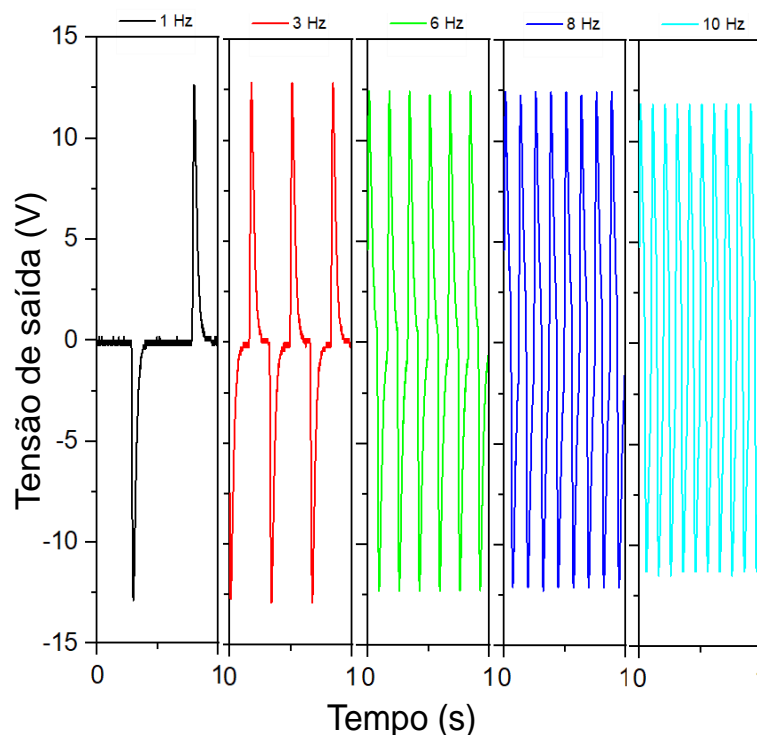


Figura 119. Variação da tensão de saída para as nanofibras de Boc-Phe-Ile@PLLA para diferentes frequências.

5.6. Aplicação do nanogerador piezoelétrico

Ao longo dos capítulos 1, 2 e 4 da presente dissertação, foi realizado um estudo abrangente que envolveu a síntese, caracterização e produção de nanofibras poliméricas funcionalizadas com dipéptidos lineares, nomeadamente o Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile, bem como explorar suas aplicações.

Tratando-se de materiais orgânicos e de forma a evitar os seus danos ao longo do tempo, os resultados obtidos foram medidos usando forças compressivas por unidade de área. Um outro parâmetro importante usado, é o coeficiente de tensão piezoelétrica, $g_{\text{eff}} = d_{\text{eff}}/(\epsilon' \epsilon_0)$ VmN^{-1} , de forma a quantificar a adequação do material como um sensor piezoelétrico.

Uma outra grandeza que importa destacar é a densidade de potência liberada pelo tapete de nanofibras, dada por $W = RI^2/A$ ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$), onde $R = 100 \text{ M}\Omega$ é a resistência e A , a área do elétrodo.

Os resultados dos cálculos obtidos encontram-se apresentados na Tabela 11.

Tabela 11. Parâmetros do nanogerador piezoelétrico para os dipéptidos estudados.

Nanogerador	d(eff) (pC/N)	Força/Área (N/m²)	g(eff) (Vm/N)	Densidade de potência ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)
Boc-Phe-Leu@PLLA	85	$2 \cdot 10^3$	0,96	0,18
Boc-Phe-Leu@PCL	15	$8 \cdot 10^3$	0,17	0,11
Boc-Phe-Leu@PMMA	45	$4 \cdot 10^3$	0,51	0,18
Boc-Phe-Ile@PLLA	56	$2 \cdot 10^3$	0,63	0,11
Boc-Phe-Ile@PCL	15	$7 \cdot 10^3$	0,17	0,08
Boc-Phe-Ile@PMMA	20	$7 \cdot 10^3$	0,23	0,12

Para testar a resposta piezoelétrica das nanofibras produzidas, foi montado um circuito utilizando um LCD (display de cristal líquido). Nesse circuito, as fibras foram conectadas ao LCD para demonstrar o funcionamento de um nanogerador piezoelétrico.

O esquema de montagem apresenta-se na Figura 120.

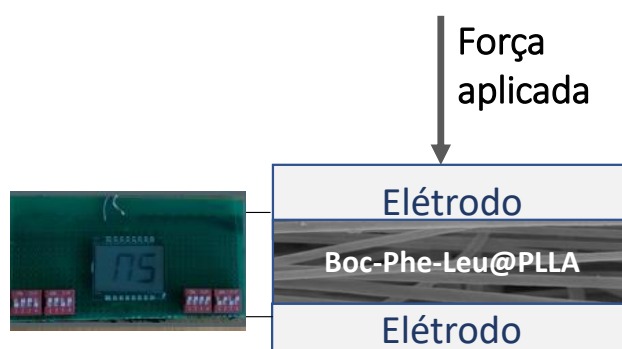


Figura 120. Esquema de montagem do nanogerador piezoelétrico com nanofibras.

Na montagem experimental, as nanofibras funcionam como um condensador de placas planas paralelas. No circuito, os condutores do ecrã LCD foram conectados ao tapete de fibras. Ao exercer uma força mecânica sobre as fibras, os dipolos moleculares do material se

reorientam e ocorre uma separação de cargas elétricas. A separação de cargas gerou uma diferença de potencial, ou seja, uma tensão de saída. Essa tensão de saída foi utilizada para alimentar o ecrã LCD e permitir a sua ativação. A corrente elétrica resultante da tensão de saída foi responsável por fornecer a energia necessária para o funcionamento do ecrã LCD, como mostrado na Figura 121.

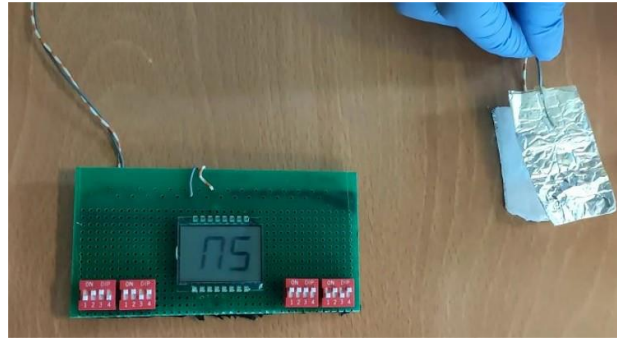


Figura 121. Montagem experimental do nanogerador piezoelétrico através de nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA.

Importa referir, que uma montagem semelhante foi realizada utilizando nanofibras de PLLA sem a inclusão do dipéptido. Os resultados obtidos, revelaram uma melhoria significativa no sinal do ecrã LCD quando as nanofibras com o dipéptido incorporado foram utilizadas, indicando que a presença do dipéptido na solução polimérica resultou numa maior eficiência na geração da resposta piezoelétrica.

6. CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

6.1. Conclusões

No âmbito desta dissertação, foram produzidas micro/nanofibras utilizando o método de *electrospinning*, incorporando os dipéptidos quirais lineares Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile em soluções poliméricas. Esses dipéptidos demonstraram a capacidade de se auto-organizarem em nanoesferas, exibindo propriedades de confinamento quântico e uma intensa fotoluminescência azul.

Os resultados obtidos através das imagens MEV, de modo geral mostraram que as micro/nanofibras eram homogêneas, bem orientadas e alinhadas, com diâmetros a variar entre $0,56 \pm 0,24 \mu\text{m}$ e $1,60 \pm 0,45 \mu\text{m}$.

Foi possível comprovar a polaridade das moléculas pela técnica de espalhamento de luz dinâmico. Os resultados revelam uma certa instabilidade para o Boc-Phe-Leu, cujo potencial zeta é de $(- 16,20 \pm 0,91) \text{ mV}$, sendo que, o valor de $(- 24,62 \pm 0,52) \text{ mV}$, para o potencial zeta do Boc-Phe-Ile indica que as moléculas são estáveis em meio aquoso.

A energia do hiato de banda das nanoesferas e nanofibras, determinada por métodos como Tauc e Kubelka-Munk, foi consistente e variou entre 4 e 5 eV, indicando que os materiais se comportam como dielétricos (bio)orgânicos.

As propriedades dielétricas das amostras foram estudadas em relação à temperatura e frequência. Foi observado um aumento da constante dielétrica com a temperatura, devido à maior disponibilidade de energia para deslocar as cargas na direção do campo elétrico alternado aplicado.

Foi possível a partir da análise dos dados da permitividade elétrica real das nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA e Boc-Phe-Ile@PLLA, observar que a aplicação de um campo elétrico induz uma polarização significativa, o que corresponde a uma permitividade alta, dando lugar ao aparecimento da polarização de Maxwell-Wagner que está associado à existência de interfaces no material devido às inclusões dos dipéptidos dentro das fibras, confirmando a sua incorporação dentro delas. No entanto, à medida que a frequência do campo aplicado aumenta, as cargas têm mais dificuldades em se deslocarem, originando uma diminuição da permitividade com o aumento da frequência,

O modelo de Havriliak-Negami foi aplicado para ajustar a componente imaginária da permitividade elétrica em função da frequência, obtendo-se parâmetros relacionados com a contribuição da condução DC e dos tempos de relaxação. Os valores de β mostraram uma simetria na distribuição dos tempos de relaxação dielétrica e um alargamento de relaxações enquanto os valores de γ mostraram uma largura reduzida.

Na amostra Boc-Phe-Leu@PLLA, foi observada uma contribuição eletrônica na condução DC, com uma energia de ativação de $E_a = 1,12$ eV para a região de altas temperaturas (acima de 323 K) e $E_a = 0,32$ eV, para a região de baixas temperaturas (abaixo de 318 K). Que se pode concluir que a temperaturas altas a condução é sobretudo iônica, devido à mobilidade do ião hidrogênio ao longo da molécula, enquanto a baixas temperaturas a condução é sobretudo eletrônica, mediada através de polarões livres ou ligados

As nanofibras Boc-Phe-Leu@PLLA apresentam uma energia de ativação de relaxação de 0,23 eV, para a região de altas temperaturas 0,84 eV, para a região de baixas temperaturas, mostrando que a relaxação se deve a *hopping* de polarões ou de deficiências de oxigênio nestas regiões de temperaturas.

As nanofibras de Boc-Phe-Leu@PCL, têm um parâmetro β com valores entre 0,3 e 0,5 e um γ muito mais próximo de 0, mostrando curvas de relaxação mais alargadas, diferente das outras amostras com o mesmo dipéptido.

O ajuste linear do logaritmo τ em função do inverso da temperatura ($1/T$), permitiu obter a energia de ativação dos tempos de relaxação para as nanofibras Boc-Phe-Ile@PMMA de 0,53 eV, sendo relativa a oscilação de polarões. Foi ainda verificado que o parâmetro exponencial β_{kww} aumenta com o aumento da temperatura, tendo um comportamento predominantemente assimétrico da distribuição dos tempos de relaxação devido ao parâmetro assimétrico dessa distribuição.

Os resultados para o estudo da piroeletricidade, mostraram valores do coeficiente piroelétrico de $2 \cdot 10^{-6}$ C/(m²K) à temperatura de 317 K e $1 \cdot 10^{-6}$ C/(m²K) à temperatura de 350 K, respetivamente, para as nanofibras Boc-Phe-Leu@PCL e Boc-Phe-Ile@PCL.

No decorrer do estudo, foi possível comprovar que as micro/nanofibras poliméricas têm a capacidade de atuar como geradoras de energia piezoelétrica, convertendo energia mecânica proveniente de uma força aplicada periodicamente por unidade de área. Observou-se que as

nanofibras de Boc-Phe-Leu@PLLA e Boc-Phe-Ile@PLLA apresentaram os maiores valores médios do coeficiente piezoelétrico efetivo, alcançando 85 pC/N e 56 pC/N, respectivamente.

Quando as fibras são comprimidas, ocorre uma reorientação dos dipolos moleculares no material dipeptídico, resultando na separação de cargas elétricas. Essa separação gera uma tensão de saída e, conseqüentemente, uma corrente elétrica externa é gerada por meio de um circuito externo conectado às fibras.

Estes resultados comprovam a capacidade das micro/nanofibras poliméricas de funcionarem como nanogeradoras de energia piezoelétrica, possibilitando a sua aplicação em dispositivos portáteis e *wearables*, como relógios inteligentes, sensores de movimento, sistemas de monitoramento de saúde, entre outros.

6.2. Perspetivas futuras

Em trabalhos futuros, seria importante estudar a estabilidade dos dipéptidos Boc-Phe-Leu e Boc-Phe-Ile em solução, especialmente no que diz respeito às suas propriedades químicas e estruturais ao longo do tempo. Compreender a estabilidade dos dipéptidos é crucial para garantir a reprodutibilidade dos resultados e a viabilidade de suas aplicações.

Neste trabalho, ficou claramente demonstrado a capacidade de desenvolver estas nanoestruturas e os princípios de otimização de síntese também ficaram conhecidos, será agora importante proceder à otimização das propriedades óticas e eletrônicas abrindo novas perspectivas de aplicações.

Tendo-se obtido boas propriedades dielétricas nos materiais estudados, seria interessante combiná-los com partículas magnéticas, criando fibras multiferroicas. Nesse âmbito, seria importante estudar os efeitos relacionados ao possível acoplamento mecânico entre as fases e proceder à caracterização magnética e magnetoeletrônica após incorporação de partículas magnéticas. Além disso, utilizando outros polímeros com pontos de fusão mais elevados, é possível obter uma compreensão mais abrangente sobre o comportamento destes materiais. Como a estrutura cristalina dos dipéptidos estudados ainda não é conhecida na literatura, seria útil realizar estudos para determinar a estrutura cristalina destes materiais. Compreender a estrutura cristalina dos dipéptidos contribuirá para uma melhor compreensão das suas propriedades e possíveis aplicações.

7. REFERÊNCIAS

- [1] Z.L. Wang, Triboelectric Nanogenerators as New Energy Technology for Self-Powered Systems and as Active Mechanical and Chemical Sensors, *ACS Nano*. 7 (2013) 9533–9557. <https://doi.org/10.1021/nn404614z>.
- [2] H. Askari, N. Xu, B.H. Groenner Barbosa, Y. Huang, L. Chen, A. Khajepour, H. Chen, Z.L. Wang, Intelligent systems using triboelectric, piezoelectric, and pyroelectric nanogenerators, *Mater. Today*. 52 (2022) 188–206. <https://doi.org/10.1016/j.mattod.2021.11.027>.
- [3] H.M. Pathan, R.S. Mane, Y.A. Ismail, A. Subramania, W. Ramadan, S.D. Bhagat, Editorial Functional Nanomaterials, *J. Nanotechnol.* 2012 (2012). <https://doi.org/10.1155/2012/732368>.
- [4] A.C. Lopes, P. Martins, S. Lanceros-Mendez, Polímeros piezoelétricos: Caraterísticas, aplicações, perspetivas, *Gaz. Física*. 37 (2014) 6. <https://www.spf.pt/magazines/GFIS/115/article/937/pdf>.
- [5] L. Zhao, X. Yan, Supramolecular self-assembly: A facile way to fabricate protein and peptide nanomaterials, em: *Artif. Protein Pept. Nanofibers Des. Fabr. Charact. Appl.*, Woodhead Publishing, 2020: pp. 3–21. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102850-6.00001-2>.
- [6] R.M.F. Baptista, P.E. Lopes, A.R.O. Rodrigues, N. Cerca, M.S. Belsley, E. de Matos Gomes, Self-assembly of Boc- p -nitro- l -phenylalanyl- p -nitro- l -phenylalanine and Boc- l -phenylalanyl- l -tyrosine in solution and into piezoelectric electrospun fibers , *Mater. Adv.* 3 (2022) 2934–2944. <https://doi.org/10.1039/d1ma01022k>.
- [7] R.M.F. Baptista, E. De Matos Gomes, M.M.M. Raposo, S.P.G. Costa, P.E. Lopes, B. Almeida, M.S. Belsley, Self-assembly of dipeptide Boc-diphenylalanine nanotubes inside electrospun polymeric fibers with strong piezoelectric response, *Nanoscale Adv.* 1 (2019) 4339–4346. <https://doi.org/10.1039/c9na00464e>.
- [8] T. Li, X.M. Lu, M.R. Zhang, K. Hu, Z. Li, Peptide-based nanomaterials: Self-assembly, properties and applications, *Bioact. Mater.* 11 (2022) 268–282. <https://doi.org/10.1016/J.BIOACTMAT.2021.09.029>.
- [9] S. Vasilev, P. Zelenovskiy, D. Vasileva, A. Nuraeva, V.Y. Shur, A.L. Kholkin, Piezoelectric properties of diphenylalanine microtubes prepared from the solution, *J. Phys. Chem. Solids*. 93 (2016) 68–72. <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2016.02.002>.
- [10] G. Rosenman, P. Beker, I. Koren, M. Yevnin, B. Bank-Srour, E. Mishina, S. Semin, Bioinspired peptide nanotubes: Deposition technology, basic physics and nanotechnology applications, *J. Pept. Sci.* 17 (2011) 75–87. <https://doi.org/10.1002/psc.1326>.
- [11] P. Sharma, B. Rathi, J. Rodrigues, N. Gorobets, Self-Assembled Peptide Nanoarchitectures: Applications and Future Aspects, *Curr. Top. Med. Chem.* 15 (2015) 1268–1289. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150408105711>.
- [12] N. Habibi, N. Kamaly, A. Memic, H. Shafiee, Self-assembled peptide-based nanostructures: Smart nanomaterials toward targeted drug delivery, *Nano Today*. 11 (2016) 41–60. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2016.02.004>.

- [13] T. Fan, X. Yu, B. Shen, L. Sun, Peptide Self-Assembled Nanostructures for Drug Delivery Applications, *J. Nanomater.* 2017 (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/4562474>.
- [14] B. Jangbae Kim, T. Hee Han, Y.-I. Kim, J. Sun Park, J. Choi, D.G. Churchill, S. Ouk Kim, H. Ihee, H. Ihee, J. Kim, J. Choi, S.O. Kim, T.H. Han, J.S. Park, Y. Kim, D.G. Churchill, Role of Water in Directing Diphenylalanine Assembly into Nanotubes and Nanowires, *Adv. Mater.* 22 (2010) 583–587. <https://doi.org/10.1002/adma.200901973>.
- [15] E.F. Marques, Da nanociência à nanotecnologia, *Rev. Ciência Elem.* 2 (2014). <https://doi.org/10.24927/RCE2014.058>.
- [16] L. Carlini, J. Chiarinelli, G. Mattioli, M.C. Castrovilli, V. Valentini, A. De Stefanis, E.M. Bauer, P. Bolognesi, L. Avaldi, Insights into the Thermally Activated Cyclization Mechanism in a Linear Phenylalanine-Alanine Dipeptide, *J. Phys. Chem. B.* 126 (2022) 2968–2978. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c10736>.
- [17] E. Gazit, Self-assembled peptide nanostructures: The design of molecular building blocks and their technological utilization, *Chem. Soc. Rev.* 36 (2007) 1263–1269. <https://doi.org/10.1039/B605536M>.
- [18] G. Doria, J. Conde, B. Veigas, L. Giestas, C. Almeida, M. Assunção, J. Rosa, P. V. Baptista, Noble metal nanoparticles for biosensing applications, *Sensors.* 12 (2012) 1657–1687. <https://doi.org/10.3390/s120201657>.
- [19] D. Santos, R.M.F. Baptista, A. Handa, B. Almeida, P. V. Rodrigues, A.R. Torres, A. Machado, M. Belsley, E. de Matos Gomes, Bioinspired Cyclic Dipeptide Functionalized Nanofibers for Thermal Sensing and Energy Harvesting, *Materials (Basel).* 16 (2023) 2477. <https://doi.org/10.3390/ma16062477>.
- [20] J. Wang, K. Liu, R. Xing, X. Yan, Peptide self-assembly: Thermodynamics and kinetics, *Chem. Soc. Rev.* 45 (2016) 5589–5604. <https://doi.org/10.1039/c6cs00176a>.
- [21] Y. Huo, J. Hu, Y. Yin, P. Liu, K. Cai, W. Ji, Self-Assembling Peptide-Based Functional Biomaterials, *ChemBioChem.* 24 (2023). <https://doi.org/10.1002/cbic.202200582>.
- [22] J. Yang, H.-W. An, H. Wang, Self-Assembled Peptide Drug Delivery Systems, (2020). <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c00707>.
- [23] J.N. Israelachvili, *Intermolecular and surface forces*, 3rd ed., Elsevier Inc., California, USA, 2011.
- [24] T.H. Rehm, C. Schmuck, Ion-pair induced self-assembly in aqueous solvents, *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010) 3597–3611. <https://doi.org/10.1039/b926223g>.
- [25] F. Richardson, JJ; Björnmalm, M.; Caruso, Multilayer assembly. Technology-driven layer-by-layer assembly of nanofilms, *Science (80-)*. 348 (2015) aaa2491-9. <https://doi.org/10.1126/science.aaa2491>. PMID: 25908826.
- [26] *Biophysical Principles*, em: *Cell Biol.*, Elsevier, 2017: pp. 53–62. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-34126-4.00004-9>.
- [27] K. Roy, S. Kar, R.N. Das, Background of QSAR and Historical Developments, *Underst. Basics QSAR Appl. Pharm. Sci. Risk Assess.* (2015) 1–46. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801505-6.00001-6>.
- [28] I. Lubomirsky, O. Stafsudd, Invited review article: Practical guide for pyroelectric

- measurements, *Rev. Sci. Instrum.* 83 (2012) 0–18. <https://doi.org/10.1063/1.4709621>.
- [29] M. Mendonça, P. De Oliveira, *Materias piezoelétricos para equipamentos de ultrassonografia*, (2013).
- [30] A. Kholkin, N. Amdursky, I. Bdikin, E. Gazit, G. Rosenman, Strong piezoelectricity in bioinspired peptide nanotubes, *ACS Nano.* 4 (2010) 610–614. <https://doi.org/10.1021/nn901327v>.
- [31] G.C. Psarras, *Fundamentals of dielectric theories*, Elsevier Inc., 2018. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813215-9.00002-6>.
- [32] Y. Poplavko, *Broadband dielectric spectroscopy*, 2021. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-823518-8.00001-3>.
- [33] B.M. Silva, J. Oliveira, T. Rebelo, V.B. Isfahani, P. Rocha-Rodrigues, N. Lekshmi, J.H. Belo, F.L. Deepak, A.M.L. Lopes, J.P. Araújo, B.G. Almeida, Synthesis, structural and dielectric properties of Ca₃Mn₂O₇ thin films prepared by pulsed laser deposition, *Mater. Res. Bull.* 158 (2023) 112066. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2022.112066>.
- [34] A. Haider, S. Haider, I.K. Kang, A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology, *Arab. J. Chem.* 11 (2018) 1165–1188. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.11.015>.
- [35] W.K. Son, J.H. Youk, T.S. Lee, W.H. Park, The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers, *Polymer (Guildf)*. 45 (2004) 2959–2966. <https://doi.org/10.1016/J.POLYMER.2004.03.006>.
- [36] A. Baji, Y.W. Mai, S.C. Wong, M. Abtahi, P. Chen, Electrospinning of polymer nanofibers: Effects on oriented morphology, structures and tensile properties, *Compos. Sci. Technol.* 70 (2010) 703–718. <https://doi.org/10.1016/J.COMPSCITECH.2010.01.010>.
- [37] C. Lyu, P. Zhao, J. Xie, S. Dong, J. Liu, C. Rao, J. Fu, Electrospinning of Nanofibrous Membrane and Its Applications in Air Filtration: A Review, *Nanomaterials.* 11 (2021) 1501. <https://doi.org/10.3390/nano11061501>.
- [38] J. Heine, K. Müller-Buschbaum, Engineering metal-based luminescence in coordination polymers and metal-organic frameworks, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 9232–9242. <https://doi.org/10.1039/c3cs60232j>.
- [39] C.J. Chirayil, J. Abraham, R.K. Mishra, S.C. George, S. Thomas, *Instrumental Techniques for the Characterization of Nanoparticles*, Elsevier Inc., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00001-3>.
- [40] M. Singh, M. Goyal, K. Devlal, Size and shape effects on the band gap of semiconductor compound nanomaterials, 12 (2018) 470–475. <https://doi.org/10.1080/16583655.2018.1473946>.
- [41] B.M. Weckhuysen, R.A. Schoonheydt, Recent progress in diffuse reflectance spectroscopy of supported metal oxide catalysts, *Catal. Today.* 49 (1999) 441–451. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(98\)00458-1](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(98)00458-1).
- [42] A. Nwaneshiudu, C. Kuschal, F.H. Sakamoto, R. Rox Anderson, K. Schwarzenberger, R.C. Young, Introduction to confocal microscopy, *J. Invest. Dermatol.* 132 (2012) 1–5.

<https://doi.org/10.1038/jid.2012.429>.

- [43] J. Stetefeld, S.A. Mckenna, T.R. Patel, Dynamic light scattering : a practical guide and applications in biomedical sciences, *Biophys. Rev.* (2016) 409–427. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>.
- [44] E.H.M. Sakho, E. Allahyari, O.S. Oluwafemi, S. Thomas, N. Kalarikkal, *Dynamic Light Scattering (DLS)*, Elsevier Inc., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00002-5>.
- [45] H.H. Ferreira, *Importância do estudo em microscopia eletrônica de varrimento de amostras incluídas em parafina para fins de diagnóstico*, Técnico de Lisboa, 2016.
- [46] SEMAT, NanoSEM - FEI Nva 200 (FEG/SEM), EDAX - Pegasus X4M. (sem data). http://www.semat.lab.uminho.pt/Equipamento_1.htm.
- [47] B.J. Inkson, *Scanning Electron Microscopy (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) for Materials Characterization*, Elsevier Ltd, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100040-3.00002-X>.
- [48] B. A. Dedavid; C. I. Gomes; G. Machado, *Microscopia eletrônica de varredura: Aplicações e preparação de amostras: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*, Porto Alegre, 2007. <https://ebooks.pucrs.br/edipucrs/acessolivre/livros/microscopia.pdf>.
- [49] J.A. R, *Electron Transport in Solution Processed Antimony Sulphide Thin Films made from a Xanthate Precursor*, 33845 (2014).
- [50] K. Deshmukh, S. Sankaran, B. Ahamed, K.K. Sadasivuni, K.S.K. Pasha, D. Ponnamma, P.S. Rama Sreekanth, K. Chidambaram, *Dielectric Spectroscopy*, Elsevier Inc., 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46140-5.00010-8>.
- [51] B.M. da Silva, *Nanoestruturas compósitas magnéticas por ablação laser*, Universidade do Minho, 2019.
- [52] M.A. Dechet, A. Demina, L. Römling, J.S. Gómez Bonilla, F.J. Lanyi, D.W. Schubert, A. Bück, W. Peukert, J. Schmidt, *Development of poly(L-lactide) (PLLA) microspheres precipitated from triacetin for application in powder bed fusion of polymers*, *Addit. Manuf.* 32 (2020) 100966. <https://doi.org/10.1016/j.addma.2019.100966>.
- [53] M.S. Liberato, S. Kogikoski, E.R. da Silva, D.R. de Araujo, S. Guha, W.A. Alves, *Polycaprolactone fibers with self-assembled peptide micro/nanotubes: a practical route towards enhanced mechanical strength and drug delivery applications*, *J. Mater. Chem. B.* 4 (2016) 1405–1413. <https://doi.org/10.1039/C5TB02240A>.
- [54] Marianne Labet, Wim Thielemans, *Synthesis of polycaprolactone: a review*, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 3484–3504. <https://doi.org/10.1039/B820162P>.
- [55] D.R. Chen, J.Z. Bei, S.G. Wang, *Polycaprolactone microparticles and their biodegradation*, *Polym. Degrad. Stab.* 67 (2000) 455–459. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(99\)00145-7](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(99)00145-7).
- [56] U. Ali, K.J.B.A. Karim, N.A. Buang, *A Review of the Properties and Applications of Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA)*, *Polym. Rev.* 55 (2015) 678–705. <https://doi.org/10.1080/15583724.2015.1031377>.
- [57] P. Jana, S. Maity, S.K. Maity, P.K. Ghorai, D. Haldar, *Photo-induced charge-transfer*

complex formation and organogelation by a tripeptide, *Soft Matter*. 8 (2012) 5621–5628. <https://doi.org/10.1039/c2sm25062d>.

- [58] T.M. Díez-Rodríguez, E. Blázquez-Blázquez, N.L.C. Antunes, M.D.R.G. Ribeiro, E. Pérez, M.L. Cerrada, Nanocomposites of pcl and sba-15 particles prepared by extrusion: Structural characteristics, confinement of pcl chains within sba-15 nanometric channels and mechanical behavior, *Polymers (Basel)*. 14 (2022). <https://doi.org/10.3390/polym14010129>.
- [59] F. (Friedrich) Kremer, A. (Andreas) Schönhal, *Broadband dielectric spectroscopy*, Springer, 2003.
- [60] C. Franchini, M. Reticcioli, M. Setvin, U. Diebold, Polarons in materials, *Nat. Rev. Mater.* 6 (2021) 560–586. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00289-w>.