

Síntesis biomimética de polianilina utilizando hematina en un sistema libre de plantillas

Iván Eleazar Moreno Cortez⁺, Jorge Romero-García*, Eduardo Arias-Marín e Ivana Moggio
*Centro de Investigación en Química Aplicada
Blvd. Enrique Reyna # 140, Saltillo, Coah. 25100*

Rodolfo Cruz-Silva
CIICAP, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, Morelos

Virgilio González González,
⁺ *FIME, Universidad Autónoma de Nuevo León, Campus Monterrey, N.L.*

El propósito de este trabajo fue la polimerización de la anilina utilizando la hematina como catalizador biomimético en un medio de reacción ácido utilizando como disolvente el ácido acético, lo cual nos permitió realizar la síntesis de polianilina sin la necesidad de usar “plantillas” las cuales afectan las propiedades electroquímicas del producto final. El polímero sintetizado utilizando esta técnica mostró buenas características estructurales tal y como lo demostraron los espectros de FTIR y UV-Vis. El polímero sintetizado bajo este método biomimético también mostró contar con buen comportamiento térmico en la prueba de TGA. El proceso de optimización de la reacción nos llevó a rendimientos de hasta 70%.

Palabras clave: Polianilina; Hematina; Catalizador; Plantillas; Biomimético; Acido acético

The purpose of this work was to polymerize aniline using hematin as biomimetic catalyzer in acid medium using acetic acid as solvent, this allowed us to make the polyaniline synthesis without templates, which make difficult to obtain good electrochemical properties in the final product. The FTIR and UV-Vis spectrums and TGA analysis showed that the synthesized polymer using this technique, shows good structural characteristics, high yield (70%) and good thermal behavior.

Keywords: Polyaniline; Hematina; Catalizar; Templates; Biomimetic; Acetic acid

1. Introducción

Dentro del estudio de la polianilina como polímero conductor, el método utilizado en su síntesis ha jugado uno de los aspectos básicos, con miras a lograr su procesabilidad[1,2] o bien para mejorar algunas de sus propiedades tales como su comportamiento óptico[3], su conductividad eléctrica[4], su solubilidad[1,2]. Para alcanzar estos objetivos se han implementado diversas técnicas tales como polimerización en emulsión[1], en dispersiones coloidales[2], modificando el monómero con diversos sustituyentes[5] o simplemente variando la naturaleza y estructura del dopante utilizado[6].

Sin embargo la mayoría de estas innovaciones se han suscrito dentro del contexto de la síntesis química. Este método ha sido adoptado como el método tradicional para la síntesis de este polímero conductor[7]. La oxidación química de la anilina se realiza por lo general a pHs bajos, estas condiciones de síntesis favorecen el acoplamiento cabeza-cola de la anilina y la obtención de un polímero sin ramificaciones o defectos estructurales, que como es bien conocido repercuten en la buena conductividad eléctrica de este material. Paradójicamente estas condiciones de síntesis tan drásticas han limitado su uso a gran escala en la industria química, además de que durante la síntesis se produce una buena cantidad del anión sulfonium y sal de

sulfato de amonio como subproductos. El anión formado compete en el proceso de dopado de la polianilina y en consecuencia la polianilina sintetizada contiene trazas de sulfato como contaminante. Esta situación ha estimulado a varios grupos de investigación alrededor del mundo a buscar alternativas no contaminantes y viables desde el punto de vista comercial para la síntesis de polianilina conductora.[8]

Una de las alternativas más prometedoras que se han presentado en los últimos años es la síntesis enzimática, mediante este método, la síntesis de PANi se puede realizar en condiciones ambientalmente benignas[9], se utiliza un catalizador de origen natural, no hay formación de subproductos y además en el proceso de reacción no se presenta período de inducción, ni tampoco es autocatalítico. Las enzimas son macromoléculas de origen biológico, cuya estabilidad depende directamente de su estructura, la cual se mantiene gracias a interacciones electroestáticas entre los residuos de aminoácidos constituyentes y también de las condiciones de reacción. Debido a lo anterior el pH₀ es uno de los principales factores que influye ampliamente en la estabilidad de estas macromoléculas[9]. Comúnmente se han utilizado enzimas peroxidasa en la síntesis de la PANi y dentro de estas la más utilizada es la de rábano picante (Horseradish peroxidase, HRP por sus siglas en inglés), la cual ha

* Autor de correspondencia: jromero@ciqua.mx, Tel : 844-438-9845, Fax: 844-438-9839

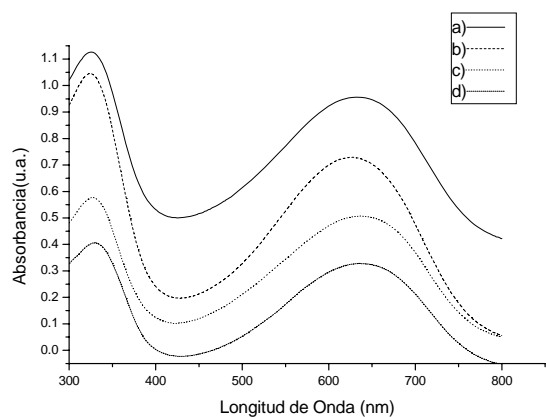


Figura 1. Espectros de UV-Vis de la PANi sintetizada biomiméticamente bajo diferentes medios de reacción: pHo de 1 en medio de AcOH 50% v/v (a), pHo de 0.15 en medio de AcOH 75% v/v (b), vía enzimática (c), vía química (d).

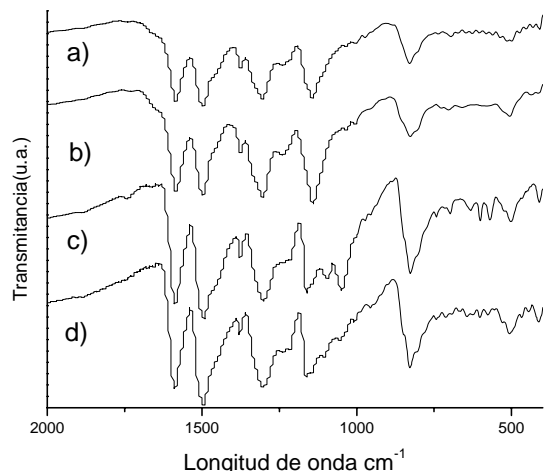


Figura 2. Espectros de FTIR de PANi sintetizada biomiméticamente bajo diferentes medios de reacción: pHo de 1 en medio de AcOH 50% (v/v) (a), pHo de 0.15 en medio de AcOH 75% (v/v) (b), vía enzimática (c), vía química (d).

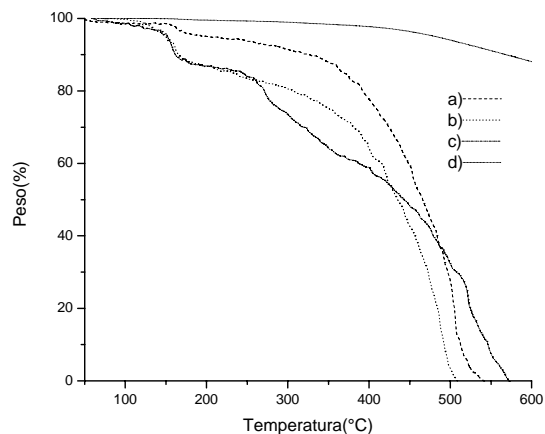


Figura 3. Termogramas de PANi sintetizada vía química (a), y sintetizada vía biomimética bajo diferentes medios de reacción: pHo de 1 en medio de AcOH 50% (v/v) (b), pHo de 0.15 en medio de AcOH 75% (v/v) (c), vía enzimática (d).

demonstrado ser un catalizador apropiado para la síntesis de PANi[10].

Este tipo de síntesis por lo general se han realizado a pH altos pero obteniéndose materiales entrecruzados. Debido a esto último, la PANi producida por vía enzimática no presenta características de conductividad eléctrica, electroquímicas y de procesabilidad comparables con la PANi sintetizada por el método químico[11]. No obstante se han realizado esfuerzos importantes para la obtención de polianilina vía enzimática eliminando estos inconvenientes a través de la utilización de polielectrolitos[12], mezclas de solventes[13], matrices tanto poliméricas como inorgánicas[14], micellas[15], polimerización en la interfase aire-agua[16] y modificando del monómero de la anilina en soluciones acuosas[17]. Aunque todas estas técnicas mejoran la solubilidad del monómero produciendo polímeros de mayor peso molecular; únicamente las micellas así como los polielectrolitos producen polímeros con un alto nivel de linealidad. Estos actúan como plantillas que proporcionan un ambiente ácido a una escala local, el cual favorece el acoplamiento cabeza-cola requerido para la linealidad de la molécula; aun y cuando el pH en la mezcla se mantenga a valores más altos. Otra manera de favorecer la polimerización utilizando estas técnicas es que a la vez que se promueve un ambiente ácido local también se están proporcionando los contraiones necesarios para compensar la carga del polímero al ser dopado. No obstante estas técnicas presentan el inconveniente de un alto grado de acomplejamiento entre la PANi y el electrolito haciendo difícil su producción a gran escala e influyendo en las propiedades tanto ópticas como de conductividad eléctrica del producto final[12,15].

Una alternativa interesante a la síntesis enzimática es la síntesis biomimética[18] la cual en principio utiliza especies químicas más simples que imitan la función de las peroxidasas, sin el inconveniente de la complicada y delicada estructura tridimensional de éstas, la cual como ya se mencionó anteriormente, se ve grandemente afectada con los cambios en pH dificultando la obtención de la sal de emeraldina (la única forma conductora de la PANi) que se sintetiza únicamente a PHs abajo de 3.

En este trabajo se plantea la utilización de la hematina como catalizador biomimético a pH₀ ácido cercano a un valor de 1. En la literatura únicamente se han reportado trabajos de síntesis enzimática de Pani (sin utilizar plantillas) a pHs neutros ligeramente alcalinos[18]. Esto último impide la obtención de una polianilina sin defectos estructurales y con el grado de oxidación (50%) óptimo, ambas condiciones indispensables para la ocurrencia del fenómeno de conducción en la PANi. En este trabajo se utilizó la hematina como catalizador de la polimerización de la anilina en un sistema en solución utilizando ácido acético como disolvente.

La hematina en este trabajo se presenta como una alternativa económicamente viable, funcional y accesible para la síntesis de polianilina con buenas características estructurales y fisicoquímicas. La hematina por otro lado es

Tabla 1. Producciones de la polianilina sintetizada bajo diferentes condiciones de síntesis.

Corrida	AcOH (%v/v)	pH ₀	mg de Hematina	Producción (%)
1 ^a	75	0.15	5	15.5
2 ^a	50	1.02	5	45
3 ^a	50	1.02	7.5	38.8
4 ^a	50	1.02	10	46
5 ^a	50	1.02	15	70
6 ^b	50	1.02	5	25

a)Tiempo de reacción 2 hrs y 24 h de incubamiento

b)Tiempo de reaccion 12 hrs y 0 h de incubamiento

recuperable una vez concluida la polimerización de la PANi lo que era imposible en los anteriores trabajos publicados[18]. Lo anterior presenta un gran avance con respecto a la síntesis enzimática, en la cual las enzimas eran irrecuperables una vez que concluía la polimerización[9,10].

En trabajos previos de síntesis biomimética de PANi, la hematina fue modificada con polietilenglicol y además se utilizó poliestirensulfónico como plantilla de modo que se permitiera un acoplamiento cabeza-cola de la anilina para dar lugar a una estructura lineal de la forma conductora de la polianilina[19].

Este método tiene como inconvenientes tales como la dificultad para la modificación de la hematina, el alto grado de acomplejamiento de la PANi con la plantilla y la imposibilidad para recuperar la hematina del medio de reacción.

2. Desarrollo experimental

2.1 Síntesis de polianilina

Vía biomimética: La polimerización de la polianilina se llevo a cabo utilizando la hematina como catalizador biomimético en un sistema en solución, aprovechando la solubilidad de ésta en ácido acético. En cada polimerización se utilizó ácido p-toluensulfónico (TSA) como dopante en una relación molar de 1:1, así como también se utilizó peróxido de hidrógeno como oxidante en una relación molar de 1:1. Las polimerizaciones se llevaron a cabo en una matraz de tres bocas de 250ml, en el matraz primero se agregaron 50ml de las diferentes soluciones diluidas de ácido acético a diferentes concentraciones(50%,75%), agregándose después el TSA como dopante, después se procedió a la medición inicial del pH del medio de reacción (pH₀). Posteriormente se adicióno la anilina (0.5g) disuelta en los 50ml de solución e inmediatamente después se adiciónó la hematina en

diferentes cantidades(5,7.5,10,15 mg). En las primeras 6 corridas se dio énfasis al efecto del medio de reacción, cantidad de catalizador añadido y el tiempo de reacción en la producción obtenida en cada corrida. Todas las reacciones se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno y a una temperatura de reacción controlada de 1°C mediante un baño enfriado con metanol diluido.

Vía enzimática: La PANi se sintetizó enzimáticamente siguiendo el siguiente procedimiento:

La polimerización de anilina fue efectuada en medio acuoso. Un procedimiento típico es el siguiente: La anilina (0.02 M) se añade al medio de reacción (60 mL de agua desionizada). El pH₀ fue ajustado a un valor de 3 mediante la adición de una solución de TSA al 25 % en peso. La solución se pone en un reactor de 250 mL con chaqueta de enfriamiento y es desgasificado mediante vacío. Posteriormente el reactor es conectado a un baño de temperatura constante (Polystat 12101-50) de agua-metanol para mantenerlo a 1 °C y a un flujo de nitrógeno para mantenerlo en atmósfera inerte. La enzima peroxidasa de soya (30 mg de SBP), se añadió a la solución y se disolvió bajo agitación magnética. Inmediatamente después se añadió una solución de peróxido de hidrógeno al 30 % en peso utilizando una bomba peristáltica al 9% de su capacidad y por espacio de 62 minutos hasta alcanzar una relación molar de 1:1 con la anilina. Después de 3 h de iniciada la reacción el medio de reacción la mezcla de reacción se filtro y el precipitado se lavó con metanol y finalmente con una solución de NH₄OH acuoso(0.2N) con el fin de desdoparla. El polímero se filtro y se secó por liofilización. Este polímero fue usado como material de referencia.

Vía química: La PANi sintetizada químicamente se obtuvo mediante acoplamiento químico oxidativo utilizando persulfato de amonio como agente oxidante acorde al procedimiento reportado por Wei y col.[7] y usada como material de referencia[21]. La C-PANi fue convertida a su forma base mediante un tratamiento con un exceso de NH₄OH acuoso(0.2N) para después ser liofilizada.

2.2 Caracterización

La estructura de los polímeros obtenidos fueron comprobadas mediante sus correspondientes espectros UV-Vis e infrarrojo. Los espectros de infrarrojo con transformada de fourier (FTIR) fueron medidos en la modalidad de transmitancia utilizando pastillas de KBr en un equipo Nicolet Magna 550 FTIR. Los espectros de UV-Vis de las soluciones de polímero fueron obtenidos en un equipo Shimadzu 2401 utilizando N-metilpirrididona (NMP) como disolvente.

El análisis termogravimétrico de las diferentes polianilinas sintetizadas se llevó a cabo en un equipo Shimadzu TGA-50.

Tabla 2. Relación de absorbancias entre las dos bandas principales de las polianilinas sintetizadas bajo diferentes condiciones de síntesis.

	C-PANi	PANi-SBP	PANi-Hem (75%AcCOOH)	PANi-Hem (50%AcCOOH)		C-PANi	PANi-SBP	PANi-Hem (75%AcCOOH)	PANi-Hem (50%AcCOOH)
	Longitud de Onda nm					Relación entre Banda I y II			
Banda I	330.5	326.5	323	324.5		1.20	1.15	1.40	1.3
Banda II	637.5	637	617	633					

3. Resultados y discusión

En la literatura se ha recalado la importancia del medio de reacción tanto en la producción como en las características fisicoquímicas del producto final, en este trabajo se decidió estudiar primero el comportamiento de la hematina en diferentes medios de reacción. Se utilizaron diferentes porcentajes de ácido acético en el medio de reacción durante el proceso de síntesis (Tabla 1) para determinar el efecto que este ácido tiene sobre el rendimiento de la reacción, simultáneamente se evaluó el contenido de hematina sobre este mismo parámetro.

En las corridas 1 y 2 se puede notar la influencia negativa que tiene el mayor porcentaje de ácido acético en el rendimiento de la reacción. Estos resultados están acorde a lo reportado por Adams, en donde se hace mención a la importancia de una alta constante dieléctrica en el medio de reacción, como medio para evitar defectos estructurales y ramificaciones en el producto final[20]. Es por eso que el uso de disolventes orgánicos(en nuestro caso el ácido acético) afecta de forma importante el rendimiento de la reacción y la estructura del producto final, al disminuir la constante dieléctrica de la reacción. Sin embargo de los resultados obtenidos en la corrida 6 podemos apreciar que el tiempo de reacción no afecta de forma notoria el rendimiento de la reacción. Por otra parte si analizamos la cantidad de catalizador añadido(corridas 3, 4 y 5) podemos observar un incremento en el rendimiento de la reacción conforme se incrementa la cantidad de catalizador utilizado en la reacción.

En la figura 1 se muestran los espectros de uv-visible de los materiales sintetizados en medios de reacción con diferentes porcentajes de ácido acético, en la misma gráfica se presentan los espectros de la polianilina sintetizada por medio de oxidación química de la anilina (C-PANi) y oxidación enzimática utilizando peroxidasa de soya(SBP). Como se mencionó anteriormente la C-PANi presenta las bandas de absorción características de la emeraldina base que es la única forma conductora de la polianilina, en este estudio se tomo como referencia para comparar los espectros de la polianilina obtenida bajo diferentes condiciones de reacción.

En todos los espectros se puede apreciar la aparición de las dos bandas de absorción típicas de la emeraldina base. La banda en la región de 320-330 corresponde a la transición $\pi-\pi^*$ de los anillos bencenoides y la banda en el intervalo de 610-638 que corresponden a la transición

excitónica de los anillos bencenoides[24]. La relación entre la absorbancia de estos dos picos se ha utilizado en diferentes trabajos sobre polianilina para deducir el grado de oxidación del polímero, siendo de 1.1-1.4 el característico de la EB[21]. En la tabla 2 se presentan los valores de absorción máxima de las bandas características para la emeraldina base (obtenidos de la gráfica 1) así como la relación de absorbancia entre estos.

Como se puede observar todas caen dentro del intervalo esperado, incluso no se observa gran diferencia entre la polianilina sintetizada con el menor porcentaje de ácido acético y la C-PANi lo cual es indicador de un grado de oxidación aceptable para la primera.

La figura 2 muestra los espectros de infrarrojo correspondientes a las muestras de la tabla 1. Las cuatro muestras presentan espectros muy similares y que en general corresponden a los esperados para una estructura del tipo emeraldina base, por ejemplo, para la polianilina catalizada con hematina en un medio de reacción de 50%AcOH se aprecian señales a 1588cm^{-1} y 1501cm^{-1} correspondientes al estiramiento del anillo en las diaminas quinoides y las diaminas bencenoides respectivamente[24]. Así como los picos a 1372cm^{-1} y 1301cm^{-1} que corresponden al estiramiento de los enlaces C-N entre las unidades quinoides y bencenoides. También se observan picos en 1142cm^{-1} y 830cm^{-1} correspondientes a las flexiones dentro y fuera del plano respectivamente de los enlaces C-H que a su vez corresponden a los anillos aromáticos sustituidos en la forma 1-4[22]. Esto último resulta importante resaltar debido a que indican la estructura de un polímero lineal y sin defectos estructurales, por lo tanto susceptible de contar con buena conductividad eléctrica. En esta muestra también se detectaron picos en las regiones de 1010, 1030 y 696 que en otros estudios se han asociado al estiramiento del enlace S=O originado por los residuos de TSA(Acido P-toluensulfónico) en las muestras de PANi las cuales no fue posible eliminar de estos materiales durante el proceso de desdopaje[23].

El análisis termogravimétrico de las muestras sintetizadas biomiméticamente(figura 3) indican que la polianilina sintetizada por este método mostró una buena estabilidad térmica y en el caso de la muestra donde la reacción se realizó con 50% de ácido acético su estabilidad térmica fue la más parecida a la de aquella obtenida por síntesis química (C-PANi).

Posteriormente en el proceso de optimización de la reacción se observó que el mayor rendimiento se obtuvo con la relación 1:1 dopante/anilina, así como una relación 1:1 peróxido/anilina pero aumentando la cantidad de catalizador (15 mg de hematina), obteniéndose un rendimiento del 70% bajo estas condiciones de síntesis.

Conclusiones

En este trabajo se logró polimerizar la anilina siguiendo un método biomimético utilizando un catalizador de bajo costo como lo es la hematina en condiciones ácidas con pHs de 1 en la mayoría de las reacciones, condiciones que no se habían reportado antes en la utilización de hematina en la síntesis de polianilina. Debido a lo anterior se obtuvo la síntesis de un polímero lineal como lo demuestran los espectros de UV-Vis y FTIR y con un grado de oxidación aceptable. Las características anteriores nos llevan a esperar que este polímero cuente con un buen desempeño fisicoquímico así como de conductividad eléctrica. Además de lo anterior la polianilina sintetizada bajo el método biomimético mostró un buen comportamiento térmico en las pruebas de TGA. Además variando las condiciones de síntesis en el proceso de optimización de la reacción se obtuvieron rendimientos tan altos como 70%. Como resultado de lo anterior se comprueba la utilidad de la hematina en la síntesis de polianilina con buenas características estructurales, lo que la presenta como una alternativa económicamente viable en la polimerización de anilina tanto en la industria química como en la investigación científica.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero por parte del CONACyT (proyecto 46046) Ivan Eleazar Moreno Cortez agradece la beca otorgada por el CONACYT (185172).

Referencias

- [1] Cao, Y., Smith, P. and Heeger, A.J. U.S. Patent 5,232,631, 1993, Osterholm, J.-E., Cao, Y., Klavetter, F. and Smith P. P. *Polymer*, **35**, 2902 (1994).
- [2] Vincent, B. and Waterson, J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 683 (1990), Armes, S.P. and Aldissi, M. *Polymer*, **32**, 2043 (1991), Kang, E.T., Neoh, K.G., Tan, K.L. and Wong, H.K. *Synth. Met.*, **48**, 231 (1992).
- [3] Majidi, M.R., Kane-Maguire, L.A.P. and Wallace, G.G. *Polymer*, **36**, 3597 (1995); Majidi, M.R., Kane-Maguire, L.A.P. and Wallace, G.G. *Polymer*, **37**, 359 (1996).
- [4] Schacklette, L.W. and Baughman, R.H. *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **189**, 193 (1990), Lu, Y., Li, J. and Wu, W. *Synth. Met.*, **30**, 87 (1989)
- [5] McCarthy, P.A., Huang, J., Yang, S.-C. And Wang, H.-L. *Langmuir*, **18**, 259 (2002).
- [6] Cao, Y., Smitgh, P. And Heeger, A.J. *Synth. Met.*, **48**, 91 (1992).
- [7] Cao, Y.; Andreatta, A.; Heeger, A.J.; Smith, P.; *Polymer*, **30**, 2305 (1989), Kinlen, P. J.; Liu, J.; Ding, Y.; Graham, C.R.; Remsen, E.E. *Macromolecules*, **31**, 1735 (1998), Marie, E.; Rothe, R.; Antonietti, M.; Landfester, K. *Macromolecules*, **36**, 3967 (2003).
- [8] Armes, S.P.; Aldissi, M.; Agnew, S.; Gottesfeld, S. *Langmuir*, **6**, 1745 (1990), Chattopadhyay, D.; Mandal, B.M. *Langmuir*, **12**, 1585 (1996), Stejskal, J.; Kratochvil, P.; Armes, S.P.; Lascelles, S.F.; Riede, A.; Helmstedt, M.; Prokes, J.; Krivka, I. *Macromolecules*, **29**, 6814 (1996). Castillo-Ortega, M. M.; Del Castillo-Castro, T.; Encinas, J. C.; Perez-Tello, M.; De Paoli, M.A.; Olayo, R. *J. Appl. Polym. Sci.*, **89**, 179 (2003).
- [9] Chattopadhyay, K.; Mazumdar, S. *Biochemistry*, **39**, 263 (2000), Amisha-Kamal, .K.; Behere D.V. *Biochem.*, **41**, 9034 (2002), Gross, R.A.; Kumar, A.; Kalra, B.; *Chem. Rev.*, **101**, 2097 (2001), Kobayashi, S.; Uyama, H.; Kimura, S. *Chem. Rev.*, **101**, 3793 (2001).
- [10] Dordick, J. S. *Enzyme Microb. Technol.*, **11**, 194 (1989), Akkara, J. A.; Kaplan, D. L.; John, V. J.; Tripathy, S. K. In *Polymeric Materials Encyclopedia*; Salamone, J. C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL., **3**, 2116 (1996), Dunford, H. B. In *Peroxidases in Chemistry and Biology*; Everse, J., Everse, K. E., Grisham, M. B., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL., **2**, 1 (1991).
- [11] Wei Liu, Jayant Kumar, Sukant Tripathy, Kris J. Senecal, and Lynne Samuelson, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 71 (1999).
- [12] Samuelson, L.A.; Anagnostopoulos, A.; Alva, K.S.; Kumar, J.; Tripathy, S.K. *Macromolecules*, **31**, 4376 (1998), Liu, W.; Anagnostopoulos, A.; Bruno, F.F.; Senecal, K.; Kumar, J.; Tripathy, S.K.; Samuelson, L.A. *Synth. Met.*, **101**, 738 (1999).
- [13] Dordick, J. S.; Marletta, M. A.; Klibanov, A. M. *Biotechnol. Bioeng.*, **30**, 31 (1987), Akkara, J. A.; Senecal, K. J.; Kaplan, D. L. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **29**, 1561 (1991), Akkara, J. A.; Salapu, P.; Kaplan, D. L. *Ind. J. Chem.*, **31**, 855 (1992), Wang, P.; Dordick, J.S. *Macromolecules*, **31**, 941 (1998), Ikeda, R.; Uyama, H.; Kobayashi, S. *Macromolecules*, **29**, 3053 (1996).
- [14] Trong-On, D.; Desplandier-Giscard, D.; Danumah, C.; Kaliaguine S. *Appl. Catal. A: General*, **253**, 545 (2003), Takahashi H.; Bo, L.; Sasaki, T.; Miyasaki, C.; Kajino, T.; Inayaki, S.; Micropor. and mesopor. materials, **755**, 44 (2001), 37 Horak, D.; Karpýsek, M.; Turkova, J.; Benes, M. *Biotechnol. Prog.*, **15**, 208 (1999).
- [15] Liu, W.; Wang, J. D.; Ma, L.; Liu, X. H.; Sun, X. D.; Cheng, Y.H.; Li, T. J. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **750**, 138 (1995).
- [16] Bruno, F.; Akkara, J. A.; Samuelson, L. A.; Kaplan, D. L.; Marx, K. A.; Kumar, J.; Tripathy, S. K. *Langmuir*, **11**, 889 (1995).
- [17] Alva, K. S.; Kumar, J.; Marx, K. A.; Tripathy, S. K. *Macromolecules*, **30**, 4024 (1997), Alva, K. S.; Marx, K. A.; Kumar, J.; Tripathy, S. K. *Macromol. Rapid Commun.*, **17**, 859 (1996).
- [18] a) Roy, S.; Fortier, M.J.; Nagarajan, R.; Tripathy, S.; Kumar, J.; Samuelson, A.S.; Bruno, F.B. *Biomacromolecules*, **3**, 937 (2002), 53 Genfa, Z.; Dasgupta, K. P. *Anal. Chem.*, **64**, 517 (1992), Joseph A. Akkara, Jianzhao Wang, De-Ping Yang, and Kenneth E. Gonsalves *Macromolecules*, **33**, 2377 (2000).
- [19] Roy, S.; Fortier, M.J.; Nagarajan, R.; Tripathy, S.; Kumar, J.; Samuelson, A.S.; Bruno, F.B. *Biomacromolecules*, **3**, 937 (2002).
- [20] Adams PN, Laughlin PJ, Monkman AP, Kenwright AM. Low temperature synthesis of high molecular weight polyaniline. *Polymer*, **37**, 3411 (1996).

- [21] R. Cruz-Silva, J. Romero-García, J.L. Angulo-Sancheza, E. Flores-Loyola, M.H. Farías, F.F. Castillon, J.A. Díaz *Polymer* **45** 4711 (2004).
- [22] Ping Z, Nauer GE, Neugebauer H, Theiner J, Neckel A., *J Chem Soc Faraday Trans* **93**, 121 (1997).
- [23] Lu X, Ng HY, Xu J, He C.; **128**, 167 (2002).
- [24] Wei Y, Hsueh KF, Jang G. W. , *Macromolecules*; **27**, 518 (1994).