UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS-IQSC

Departamento de Físico-Química

Grupo de Físico-Química Orgânica

***N,N,N*-trimetilquitosana e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana: Preparação, caracterização e estudo de suas interações com decanossulfonato de sódio**

Tonimar Domiciano Arrighi Senra

**São Carlos
2015**

TONIMAR DOMICIANO ARRIGHI SENRA

***N,N,N*-trimetilquitosana e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana: Preparação, caracterização e estudo de suas interações com decanossulfonato de sódio**

Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração Físico-Química.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Paulo Campana Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Jacques Desbrières (EPCP –IPREM/UPPA ; França).

Exemplar revisado

O exemplar original encontra-se em acervo reservado na Biblioteca do IQSC-USP

**São Carlos
2015**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE
TRABALHO. POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO,
PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Dedico este trabalho aos meus principais incentivadores e exemplos de pessoas íntegras, respeitosas e humanas. Por isso, essa conquista é dedicada aos meus pais Everaldo e Isabel, minha avó Eda e meus irmãos Toniel e Helen.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida, direção, força e proteção.

Ao Prof. Dr. Sergio Paulo Campana-Filho pela orientação, ensinamentos, incentivos, dedicação, confiança e sobre tudo pela amizade.

Ao Prof. Dr. Jacques Desbrières pela co-orientação, discussões acadêmicas e também pela amizade e acolhimento junto ao seu grupo de pesquisa no IPREM/UPPA – França, durante todo o período de estágio sanduíche.

Aos técnicos do IQSC e do IPREM, Abdel, Aldimar, André, Luis e Sylvana, pela colaboração e presteza na realização das medidas.

A minha avó Eda por ser este exemplo de força, perseverança e pessoa. Aos meus pais Everaldo e Isabel pela educação, incentivo e amor incondicional. Aos meus irmão Toniel e Helen pelo carinho e apoio sempre. Aos meus sobrinhos Henzo e Pietro, por trazerem mais alegria e as boas lembranças e ingenuidade da infância com os seus sorrisos e risadas. A todos os meus familiares pelo apoio.

A minha namorada Mohana pelo companheirismo, apoio e incentivo.

Aos amigos do grupo de Físico-Química Orgânica: Andrea, Danilo, Erikinha, Fernando, Joice, Rachel, William e a professora Elisabete Frollini, muito obrigado pelo acolhimento, discussões científicas, bons momentos e bolos com café.

Aos meus amigos Bruno, Cristhiano, Dani, Dri, Fernanda, Fran, Helisson (Kbça), Herbert (Scooby), Jorge, Tiago (Bolinha), Vanessa e Virgínia, companheiros de momentos bons e ruins aonde quer que eu estivesse, é sempre bom saber que vocês estão presentes na minha vida.

À mes potes Alberto, Bruna, Hasina, Malu, Morgane, Sasho, Vincent e ao “Bonde de Pau”, obrigado por alegrarem a minha estadia na França.

À USP e ao IPREM/UPPA pela excelente infraestrutura

Ao CNPq e CsF pelo apoio financeiro.

Enfim deixo aqui os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, assim como para o meu crescimento profissional e pessoal.

“A persistência é o menor caminho do êxito”

(Charlie Chaplin)

RESUMO

O presente trabalho estudou duas *vias* reacionais para a preparação de derivados cationizados de quitosana (QCat), sendo que a *N*-metilação extensiva *via* reação de quitosana com iodometano (CH_3I) resultou em *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) enquanto que a reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio (CGTMA) produziu *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ). Planejamento fatorial completo 2^3 foi aplicado para analisar os efeitos das condições reacionais sobre o rendimento das reações (R) e as características de TMQ e HPTAQ. As características estruturais da quitosana de partida e seus derivados foram analisadas por espectroscopias na região de infravermelho (FTIR) e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H), sendo que esta última também foi utilizada para determinar os graus médios de acetilação ($\overline{GA}$), de quaternização ($\overline{GQ}$) e de substituição ($\overline{GS}$) de quitosana, TMQ e HPTAQ, respectivamente. Viscosimetria capilar foi utilizada para determinar a viscosidade intrínseca ($[\eta]$) de quitosana, TMQ e HPTAQ, permitindo estimar a ocorrência de despolimerização e sua relação com as condições reacionais. Todas as amostras de TMQ foram solúveis em água e o valor de $\overline{GQ}$ variou no intervalo 21,0 – 67,0%; a $[\eta]$ variou entre 13,7 mL/g – 213,0 mL/g e o rendimento da reação atingiu até 82,0%, sendo que entre as variáveis analisadas a concentração de hidróxido de sódio e excesso de CH_3I são as mais relevantes. Quanto às amostras de HPTAQ, apenas aquelas com $\overline{GS} > 12,0\%$ foram solúveis em água, $\overline{GS}$ ficou no intervalo 1,0 % - 45,5%; $[\eta]$ variou entre 283,0 mL/g – 446,0 mL/g e o rendimento não foi superior a 33,0%, e entre as variáveis analisadas, temperatura e excesso de CGTMA foram as mais importantes na produção de HPTAQ. As amostras TMQ2 ($\overline{GQ} = 46,0\%$; $[\eta] = 290,0$ mL/g) e HPTAQ6 ($\overline{GS} = 33,0\%$; $[\eta] = 293,0$ mL/g) foram empregadas em estudo visando a formação de complexos surfactante/polieletrólito (CSP) com decanossulfonato de sódio (DS). As propriedades condutimétricas e tensiométricas dos TMQ2, HPTAQ6 e CSP's foram estudadas e mostraram que todos apresentam atividade interfacial ($\gamma \leq 52,0$ mN.m $^{-1}$), além de elevado valor de módulo de elasticidade ($E \geq 31,0$ mN.m $^{-1}$), indicando que as espécies analisadas geram filmes interfaciais com boas propriedades mecânicas e por isso podem ser aplicados como agentes estabilizantes de emulsões. As emulsões do tipo óleo/água preparadas pela incorporação de QCat (TMQ ou HPTAQ) ou de CSP (TMQ/DS ou HPTAQ/DS) foram

estáveis por mais de 4 meses, conforme avaliado por medidas de fluorescência e de turbidez.

ABSTRACT

In this work were studied two different methods for preparing cationized derivatives of chitosan (ChCat), a consisted extensive *N*-methylation by chitosan reaction with iodomethane (CH_3I) resulted in *N,N,N*-trimethylchitosan (TMCh), and other a reaction of chitosan with chloride glycidyltrimethylammonium (GTMAC) resulted in *N*-(2-hydroxy)-propyl-3-trimethylammonium chitosan (HPTACh). A complete factorial design (2^3) was used to analyze the influence of reaction conditions on the yield of the reaction (R) as well as the characteristics of TMCh and HPTACh produced. The structure of chitosan pattern and its derivatives were characterized by infrared spectroscopy (IR) and nuclear magnetic resonance (^1H -NMR), considering that the latter was also used to determine the average degree of acetylation ($\overline{DA}$), quaternization ($\overline{DQ}$) and substitution ($\overline{DS}$) of chitosan, TMCh and HPTACh, respectively. Capillary viscometry was used to determine the intrinsic viscosity ($[\eta]$) of chitosan, TMCh and HPTACh, allowing to estimate the occurrence of depolymerization and its relationship with the reaction conditions. All samples of TMCh were soluble in water and it was found that $\overline{DA}$ ranged as 21.0% - 67.0%; the $[\eta]$ ranged as 13.7 mL/g – 213.0 mL/g and the yield reaction was up to 82.0%, among the variables studied, the concentration of sodium hydroxide and excess CH_3I were the most relevant. The HPTACh samples were soluble in water with $\overline{DS} > 12.0\%$, $\overline{DS}$ ranged as 1.0% - 45.5%; the $[\eta]$ ranged as 283.0 mL/g – 446.0 mL/g and the yield was lower than 33.0%, among the variables studied temperature and excess CGTMA were the most important in the production of HPTACh. Among the reaction conditions studied for the synthesis of TMCh the best condition was 2, while for HPTACh the best condition was 6. The samples TMCh2 ($\overline{DQ} = 46.0\%$, $[\eta] = 290.0$ mL/g) and HPTACh6 ($\overline{DS} = 33.0\%$, $[\eta] = 293.0$ mL/g) were used in a study aiming at the formation of surfactant/polyelectrolyte complex (SPEC) with sodium 1-decanesulfonate (SD). The conductivity and surface tension properties of TMCh2, HPTACh6 and SPEC's have been studied and show that all have interfacial activity ($\gamma \leq 52.0$ mN.m $^{-1}$), and high value of elasticity modulus ($E \geq 31.0$ mN.m $^{-1}$), indicating that all species generate interfacial film with good mechanical property and thus can be applied as a stabilizing agent in emulsions oil/water that were prepared by incorporating ChCat synthesized and SPEC's

in their formulations, they were stable for more than 4 months, as evaluated by fluorescence and turbidity measurements.

Lista de Figuras

Figura 1: Representação esquemática da estrutura primaria de quitina idealizada, onde n = grau de polimerização	17
Figura 2: Representação esquemática da estrutura primaria de quitosana idealizada, onde n = grau de polimerização.....	18
Figura 3: Esquema da reação de N-metilação da quitosana para produzir a N,N,N-trimetilquitosana.	20
Figura 4: Esquema da reação da quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio para obtenção de cloreto de N-(2-hidroxí)-propil-3-trimetilamônio (HPTAQ).	23
Figura 5: Esquema do efeito sinérgico da ação de surfactante e polieletrólito opostamente carregados na estabilização de uma emulsão. (a) emulsão instável devido à baixa capacidade de adsorção do polieletrólito catiônico. (b) emulsão instável devido à baixa concentração do surfactante aniônico.(c) emulsão torna-se estável devido à presença da mistura do surfactante e polieletrólito com as mesmas concentrações utilizadas nas situações (a) e (b).	29
Figura 6: Cinética da estabilidade de emulsões de decano/água estabilizadas por surfactante, polieletrólito e complexos surfactante-polieletrólito.	31
Figura 7: Esquema da agregação entre micelas de CTAB e carboximetilquitosana. Os contra-íons das moléculas de CTAB não são mostrados: (a) baixa concentração de CTAB e (b) alta concentração de CTAB.	32
Figura 8: Notação utilizada para descrever a forma de uma gota pendente.....	34
Figura 9: Esquema de um dispositivo experimental para medida da tensão interfacial.	35
Figura 10: Imagem obtida pela webcam microscópica de uma gota de água no ar.	36
Figura 11: Esquematização do monitor do software DROPFIT. (A) gota pendente de água no ar; (B) gota ascendente dodecano em água.	37
Figura 12: Variação sinusoidal da área $A(t)$ e tensão superficial $\gamma(t)$ para “liquid-like” (a) e “solid-like” (b) comportamento viscoelástico das camadas de adsorção da quitosana (a) e quitosana alquilada (b).	39
Figura 13: Efeito da frequência ω nos módulos relativos bidimensionais de armazenamento (E'_{rel}) e de perda (E''_{rel}) para um modelo de frequência reológica de Maxwell.	40
Figura 14: Espectro de RMN- 1H característico de quitosana em D_2O/HCl onde $R=COCH_3$ ou H	49
Figura 15: Espectro de RMN- 1H característico de HPTAQ em D_2O/HCl	50

Figura 16: Espectros de FTIR de quitosana (-) e <i>N,N,N</i> -trimetilquitosana 2 (-) na região de 4000 - 400 cm ⁻¹	58
Figura 17: Espectro de FTIR de quitosana (-) e <i>N,N,N</i> -trimetilquitosana2 (-) na região de 1800-1200 cm ⁻¹	58
Figura 18: Espectro de FTIR de quitosana, e <i>N</i> -(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ8) na região de 4000-400 cm ⁻¹	60
Figura 19: Espectro de FTIR de quitosana, e <i>N</i> -(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ8) na região de 1800-1000 cm ⁻¹	60
Figura 20: Espectro de RMN- ¹ H característico de quitosana em D ₂ O/HCl onde R = COCH ₃ ou H.....	62
Figura 21: Espectro de RMN- ¹ H da amostra de TMQ2 em D ₂ O.....	64
Figura 22: Espectro de RMN- ¹ H da TMQ 2 em D ₂ O com sucessivas adições de NaOD 0,16M (A) e com sucessivas adições de DCl 0,16M (B).	65
Figura 23: Deslocamento químico dos grupos aminos trimetilados e dimetilados em função do pH (A) e deslocamento químico relativo do grupo dimetilado ($\Delta\delta = \delta N(CH_3)_2 - \delta N^+(CH_3)_3$) em função do pH (B).....	67
Figura 24: Espectro RMN- ¹ H do derivado HPTAQ8 em D ₂ O/HCl 1%.	70
Figura 25: Efeito do pH sobre o espectro de RMN- ¹ H do derivado HPTAQ8.....	71
Figura 26: Curvas de viscosidade reduzida versus concentração de quitosana*, TMQ2** e HPTAQ9*. *Tampão ácido acético 0,3M/acetato de sódio 0,2M; ** NaCl 0,1 mol/L; temperatura = 25 °C.....	72
Figura 27: Gráfico de Pareto mostrando a significância dos diferentes termos dos modelos para (A) <i>GQ</i> ; (B) viscosidade intrínseca ([η]) e (C) rendimento da reação de <i>N</i> -metilação de quitosana.....	81
Figura 28: Superfícies de resposta relativas aos efeitos do tempo de reação, concentração de NaOH e razão molar quitosana/iodometano sobre grau médio de quaternização (A,B,C), viscosidade intrínseca (D,E,F) e rendimento da reação (G,H,I) de <i>N</i> -metilação de quitosana.....	84
Figura 29: Mecanismo para a hidrólise alcalina da cadeia de quitosana por ataque direto ao centro anomérico (Curti (1999) e Gabriel (2009)).	85
Figura 30: Perfis dos valores preditos e função de desejabilidade. Linha azul indica o valor atual após a otimização.....	88
Figura 31: Gráfico de Pareto mostrando a significância dos diferentes termos dos modelos para (A) grau de quaternização; (B) viscosidade intrínseca e (C) rendimento da reação de quitosana e cloreto de glicidiltrimetilamônio.....	93
Figura 32: Superfícies de resposta relativas aos efeitos do tempo de reação, temperatura e concentração de cloreto de glicidiltrimetilamônio sobre o grau de substituição (A,B,C), rendimento da reação (D, E, F) e viscosidade intrínseca (G).	96

Figura 33: Mecanismo para a hidrólise ácida da cadeia de quitosana por ataque direto ao centro anomérico. Gabriel (2009).	98
Figura 34: Perfis dos valores preditos e função de desejabilidade. Linha azul indicam valores atuais após a otimização.	100
Figura 35: Curva de condutância versus concentração de decanossulfonato de sódio em água deionizada à 30 °C.	104
Figura 36: Curva de condutância dos polieletrólitos TMQ2 e HPTAQ6 em água deionizada, à 30 °C.	106
Figura 37: Curva de condutância de TMQ 2 + DS em água (A) e HPTAQ 6+DS em água (B), a 30 °C.	108
Figura 38: Cinéticas de adsorção à interface ar/água para as soluções de diferentes concentrações de decanossulfonato de sódio, à 30 °C.	111
Figura 39: Esquema dos diferentes estágios de adsorção de compostos superficialmente ativos.	112
Figura 40 : Cinéticas de adsorção à interface ar/água dos polieletrólitos (A)TMQ2 e (B) HPTAQ 6.	114
Figura 41: Cinéticas SPEC's TMQ2-decanossulfonato de sódio (A) $Z = 0,1$; (B) $Z = 0,03$ e (C) $Z = 1,0$.	115
Figura 42: Cinéticas dos complexos HPTAQ6 –decanossulfonato de sódio (A) $Z=0,1$; (B) $Z = 0,03$ e (C) $Z=1,0$.	118
Figura 43: Efeito do tipo do polieletrólito sobre a atividade interfacial do CSP's formado com decanossulfonato de sódio (A) $Z=0,1$; (B) $Z=0,03$ e (C) $Z=1,0$.	120
Figura 44: Imagens das emulsões óleo/água puros (A) ou na presença do surfactante decanossulfonato de sódio (B), TMQ2 (C), HPTAQ6 (D), TMQ2/DS (E) e HPTAQ6/DS (F).	125
Figura 45: Influência das espécies constituintes das emulsões sobre a sua capacidade de dispersar luz na região do visível.	127
Figura 46: Espectro da sonda de fluorescência (pireno), em solução hidroalcóolica à 6×10^{-6} mol/L, à temperatura ambiente.	128
Figura 47: Influência da adição do decanossulfonato de sódio, da TMQ2 e HPTAQ6 e dos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS no caráter hidrofóbico de emulsões óleo/água.	129

Lista de tabelas

Tabela 1: Níveis não codificados e codificados das variáveis independentes da <i>N</i> -metilação da quitosana.....	46
Tabela 2: Níveis das variáveis independentes estudadas no processo de síntese de HPTAQ.....	47
Tabela 3: Bandas características de quitosana na região do infravermelho (De Britto; De Assis (2007) e Campana-Filho; Britto (2009) e Mourya; Inamdar (2009) e De Vasconcelos et al. (2011)).....	57
Tabela 4: Valores de grau médio de quaternização, viscosidade intrínseca e constante de Huggins das amostras de TMQ.....	73
Tabela 5: Valores de viscosidade intrínseca e constante de Huggins da quitosana de partida e das amostras de HPTAQ.....	75
Tabela 6: Variáveis independentes (tempo, [NaOH] e CH ₃ I/Q) do planejamento fatorial completo 2 ³ e resultados experimentais relativos ao rendimento da reação (R) de <i>N</i> -metilação de quitosana e às características das amostras de TMQ.....	78
Tabela 7: Resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficientes de regressão estimados para o grau de quaternização (GQ), viscosidade intrínseca ([η]) e rendimento de reação de <i>N</i> -metilação de quitosana.....	80
Tabela 8: Variáveis independentes (tempo, temperatura e CGTMA/Q) do planejamento fatorial completo 2 ³ com ponto central e resultados experimentais relativos ao rendimento da reação (R) e às características das amostras de HPTAQ.	90
Tabela 9: Resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficientes de regressão estimados para o grau de substituição (GS), viscosidade intrínseca [η] e rendimento de reação (R) de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio.	92
Tabela 10: Parâmetros obtidos da titulação condutimétrica do sistema TMQ2/DS e HPTAQ6/DS.....	109
Tabela 11: Valores de tensão de superfície, módulo de elasticidade (<i>E</i>) e “ <i>lag time</i> ” (τ) do surfactante decanossulfonato de sódio, TMQ2 e HPTAQ 6 em diferentes concentrações, e complexos TMQ2- decanossulfonato de sódio e HPTAQ 6 - decanossulfonato de sódio.	123

SUMARIO

1.Introdução.....	17
1.1.Aspectos Gerais.....	17
1.1.1..N,N,N-trimetilquitosana (TMQ)	19
1.1.2.Cloreto de N-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ)	22
1.2. Emulsões	25
1.2.1. Aplicação de biopolímeros para estabilização de emulsões.....	27
1.2.2. Complexos Surfactante-Polieletrólito	31
1.3 – Tensiometria de gota pendente.....	33
1.3.1. Determinação da viscoelasticidade da camada adsorvida à interface	38
2.Motivação	41
3. Objetivos	43
4. Parte experimental.....	44
4.1 Materiais e reagentes.....	44
4.2. Síntese da N,N,N-trimetilquitosana	44
4.2.1. Planejamento Fatorial Completo 2 ³	45
4.2.2. Análise estatística.....	46
4.3. Síntese e N-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana	46
4.3.1. Planejamento Fatorial Completo 2 ³ com ponto central	47
4.4. Caracterização.....	48
4.4.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)	48
4.4.2. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ¹ H)	48
4.4.3. Viscosimetria	51
4.4.4. Rendimento mássico	52
4.5. Preparo dos complexos surfactante-polieletrólito (CSP's)	52
4.5.1. Estudo condutimétrico.....	53
4.5.2. Estudo tensiométrico	53
4.6. Preparo das emulsões óleo/água.....	54
4.6.1. Estudo turbidimétrico e estudo de fluorescência	54
Parte 5 - Resultados e discussões	56
5.1. Análises Estruturais de N,N,N-trimetilquitosana e N-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana.....	57
5.1.1. Espectroscopia no infravermelho	57
5.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ¹ H).....	61

5.1.3. Viscosimetria	72
5.1.4. Conclusões parciais	77
5.2. Planejamento fatorial e Análise Estatística da síntese dos derivado quaternário de quitosana.....	78
5.2.1. Síntese de <i>N,N,N</i> -trimetilquitosana via extensiva <i>N</i> -metilação	78
5.2.2. Síntese de derivado quaternário de quitosana via reação com cloreto de glicidiltrimetilamônio	89
5.2.3. Conclusões parciais	101
Parte 5.3 – Produção de complexos do tipo surfactante-polieletrólito baseados em derivados quaternizados de quitosana para estabilização de emulsões do tipo óleo-água	102
5.3.1. Estudo condutimétrico	103
5.3.2. Estudo de tensiometria	110
5.3.3. Estabilização de emulsões do tipo óleo/água	124
5.3.3.1. Análise de turbidez.....	126
5.3.3.2. Fluorescência.....	128
5.3.4. Conclusões parciais	130
6. Considerações finais.....	131
7. Perspectivas futuras	132
8. Referências bibliográficas	133

1.Introdução

1.1.Aspectos Gerais

A quitina é um polissacarídeo encontrado em grande quantidade no meio ambiente. A quantidade de quitina proveniente de crustáceos no ambiente marinho é estimada em aproximadamente $1,3 \times 10^9$ t/ano. Numerosos países buscam produzir a quitina afim de valorizar os refugos da indústria pesqueira, sendo na América do Sul (Brasil, Chile, Costa Rica e Peru), na Ásia (China, Índia, Japão) e na Europa (Noruega, Polônia, Portugal). Estes dejetos, não são utilizados e acabam sendo descartados no mar e podem causar grandes problemas ambientais, pois as carapaças dos crustáceos são muito resistentes à biodegradação. Para o Brasil, a indústria pesqueira representa quase 5% de PIB. A cada ano o Brasil é levado à tratar 30000 toneladas de resíduos da pesca. Se, eles forem valorizados, isto representaria uma produção de aproximadamente 7500 toneladas de quitina e 6000 toneladas de quitosana para um mercado que poderia gerar cerca de 2 bilhões de euros. Além disso, a lei 11978 de 29 de junho de 2009 do Ministério da Pesca e Agricultura define muito claramente a valorização dos resíduos da pesca como um objetivo para os próximos anos.

Quitina está presente em animais, principalmente em crustáceos, moluscos e insetos, onde é um importante componente estrutural do exoesqueleto, e em certos fungos, onde é o principal polímero da parede celular (Rinaudo (2006)). Suas cadeias lineares são constituídas por unidades 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose (GlcNAc) unidas por ligações $\beta(1 \rightarrow 4)$ (Figura 1).

Figura 1: Representação esquemática da estrutura primária de quitina idealizada, onde n = grau de polimerização.

O principal derivado de quitina é a quitosana, produzido a partir da reação de desacetilação parcial ou total de quitina, geralmente através de tratamento alcalino. Quitosana, que ocorre naturalmente em alguns fungos, mas é de ocorrência natural muito menos pronunciada que quitina, pode ser definido como um copolímero de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose (GlcN) e 2-acetamido-2-deoxi-D-glicopirranose (GlcNAc), de composição variável em função do grau residual de acetilação (Figura 2).

Figura 2: Representação esquemática da estrutura primária de quitosana idealizada, onde n = grau de polimerização.

Embora seja insolúvel em meios neutros e alcalinos e na maioria dos solventes orgânicos, quitosana é facilmente dissolvida em soluções diluídas de ácidos orgânicos, tais como ácido acético e ácido fórmico e de ácidos inorgânicos, tais como HNO_3 , HI , HClO_4 , HCl e HBr . A quitosana comporta-se como um polieletrólito catiônico moderadamente básico ($\text{pK}_a = 6,3$) quando dissolvida em meios aquosos ácidos, pois nesses meios os grupos amino das unidades GlcN são protonados (Rinaudo (2006)). Embora apresente grande potencial para muitas aplicações devido as suas propriedades tais como, não toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade, a maioria das aplicações de quitosana é limitada a meios ácidos ($\text{pH} \leq 6,0$) pois o polímero é solúvel somente nessas condições. Em vista disso, nos últimos anos vários derivados de quitosana foram sintetizados, apresentando solubilidade em água em toda a escala de pH e entre estes estão *N*-carboximetilquitosana (Dung et. al. (1994)), *N,N,N*-trimetilquitosana (*N,N,N*-TMQ) (Curti et. al. (2003)) e *N*-(2-hidroxipropil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ) (Seong et. al. (2009)).

Derivados de quitosana com diferentes propriedades físico-químicas, especialmente solubilidade em meios neutro ou básico, são de interesse, pois oferecem novas possibilidades de aplicações. Derivados de quitosana que possuem grupos aminos

quaternários (por exemplo, *N,N,N*-trimetilquitosana e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio), apresentam solubilidade em água muito superior quando comparada com quitosana e sais de quitosana, especialmente em meios neutro ou básico, pois são polieletrólitos catiônicos em toda escala de pH e, devido as suas propriedades tais como solubilidade em ampla faixa de pH, elevada mucoadesividade e permeação epitelial, e atividade antimicrobiana, têm despertado grande interesse, principalmente na área biomédica (Mourya; Inamdar (2009)).

Como foi mencionado, os derivados cationizados de quitosana tais como a *N,N,N*-trimetilquitosana ou a *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana apresentam características peculiares que têm despertado muito interesse no meio acadêmico, principalmente por serem biopolímeros que possuem uma potencial aplicabilidade em diversos setores industriais, tais como setor agro-alimentar, farmacêutico, de cosméticos, odontológico, entre outros.

1.1.1..*N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ)

O derivado *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) é um polieletrólito catiônico em toda escala de pH, e tem atraído interesse de diversas setores industriais devido as suas propriedades peculiares, tais como elevada mucoadesividade e permeação epitelial, ter atividades microbianas, e principalmente solubilidade em ampla faixa de pH (De Britto; Assis (2007) e Curti; Campana-Filho (2006); Hirai et. al. (1991) e Rúnarsson et. al. (2008)). Esse derivado pode ser obtido *via N*-alquilação extensiva de quitosana, conforme mostrado abaixo (Figura 3).

Figura 3: Esquema da reação de *N*-metilação da quitosana para produzir a *N,N,N*-trimetilquitosana.

A reação de *N*-alquilação de quitosana na presença de bases orgânicas foi primeiramente estudada por Nud'ga; Plisko e Danilov (1973), e iodetos de metila e de etila foram utilizados como agentes alquilantes na presença de várias aminas terciárias. Nesse estudo foi constatado que a base usada deveria ter pKa superior ao de quitosana, para que fosse combinada preferencialmente com o ácido produzido durante a reação (HI) e alquilada em uma velocidade menor que quitosana, e a reação realizada na presença de trietilamina (pKa = 10,9) resultou em TMQ com grau médio de quaternização de 78%.

Riccardo A.A. Muzzarelli e Tanfani (1985) utilizaram formaldeído e NaBH₄ para a formação de *N,N*-dimetilquitosana e para a preparação de TMQ. Quitosana *N*-permetilada, com grau médio de acetilação de 40% foi submetida à reação com iodeto de metila para gerar TMQ com grau médio de quaternização de 60%, mas que não foi solúvel em água.

Subseqüentemente, Domard, Rinaudo, e Terrassin (1986) estudaram a reação usando *N*-metil-2-pirrolidona (NMP) como meio reacional. Entretanto, diferentemente de .Nud'ga, Plisko, e Danilov (1973), seus experimentos falharam na obtenção de uma extensa quaternização na presença de trietilamina, mesmo empregando um tempo de reação de 72 horas a 36 °C. Nesses casos, a mistura tornou-se amarelo-alaranjado imediatamente após adição de trietilamina e o precipitado amarelo, analisado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear, foi identificado como iodeto de trietilmetil-amônio, evidenciando que trietilamina foi rapidamente quaternizada. Na verdade, a extensão de quaternização de quitosana foi maior na ausência de trietilamina. Domard, Rinaudo, e Terrassin (1986) também, usaram uma base inorgânica (1,4 mol L⁻¹ NaOH) para neutralizar o ácido produzido durante a *N*-alquilação de quitosana e assim evitar a protonação dos grupos aminos não reagidos, com melhores resultados. De fato, experimentos realizados na ausência de base, resultaram em produtos com baixos graus

médios de quaternização, mesmo quando um excesso de agente alquilante foi empregado. Também, NaI foi adicionado ao meio reacional para blindar as cargas introduzidas no polímero pois conforme avança a reação e a densidade de carga aumenta, a velocidade de quaternização é afetada pelo impedimento eletrostático aos sítios reativos. Quando a reação foi realizada em NMP, na presença de NaOH e NaI, foi obtida uma amostra com grau médio de quaternização de 64% após três etapas sucessivas de três horas de reação, intercaladas pelo isolamento do polímero por precipitação. Nesse caso foi observado que a viscosidade intrínseca do derivado trimetilado ($[\eta] = 64 \text{ mL/g}$) era muito menor que a apresentada pela quitosana de partida ($[\eta] = 800 \text{ mL/g}$), o que foi atribuído a ocorrência de um acentuado processo degradativo na presença de NaOH, e também foi observado que o prolongamento da reação por mais de 10 horas não resultou em aumento na extensão da alquilação.

Modificações das condições experimentais foram introduzidas por Dung et. al. (1994) a fim de reduzir a degradação polimérica e para reconhecer e controlar os diferentes parâmetros que afetam a quaternização. Desse estudo resultou uma condição mais adequada para a execução da *N*-alquilação extensiva de quitosana correspondente a: I) razão molar quitosana/ CH_3I /NaOH de 1/15/3,45; II) teor de 12% de água com relação ao volume de NMP; III) tempo de reação de 1 hora e IV) temperatura de 60 °C. Dessa maneira, em uma única etapa foi obtida uma amostra de TMQ com grau médio de quaternização elevado (53%) e pouco despolimerizada ($[\eta] = 140 \text{ mL.g}^{-1}$).

Novas modificações das condições experimentais foram recentemente introduzidas a fim de reduzir a degradação polimérica e para reconhecer e controlar os diferentes parâmetros que afetam a quaternização (De Britto et. al. (2011) e Curti et. al. (2003)). Eles mostraram que a condição mais adequada para a reação de *N*-alquilação extensiva da quitosana, envolve o emprego de excesso de NaOH e CH_3I , os quais devem ser adicionados ao meio reacional em intervalos regulares. Dessa maneira, em uma única etapa foi obtida uma amostra de TMQ com grau médio de quaternização elevado (49,6%) e pouco despolimerizada ($[\eta] = 800 \text{ mL/g}$).

Conforme a literatura (Dung et. al. (1994)), a reação de *N*-alquilação de quitosana se inicia heterogeneamente, pois o polímero não é solúvel no meio reacional a não ser que seja previamente tratado para a finalidade de ser mais facilmente disperso o que, finalmente, também pode resultar na sua solubilização. Como ocorre em outros processos heterogêneos, também nesse caso é desejável que a reação se processe de maneira a permitir o exercício de certo controle sobre o grau de substituição e sobre as propriedades

finais do produto obtido, propiciando também a obtenção de *N,N,N*-trimetilquitosana que tenha um padrão de substituição tão uniforme quanto possível. Por outro lado, também deve ser considerado que na obtenção de *N,N,N*-trimetilquitosana, como ocorre em outras derivatizações de macromoléculas, é importante que processos indesejáveis, principalmente os que levem à ocorrência de despolimerização, sejam minimizados. Assim, é necessário que sejam desenvolvidos estudos que permitam avaliar como as condições reacionais afetam a reação de *N*-alquilação, visando a obtenção de rendimentos elevados, produtos hidrossolúveis e pouco despolimerizados.

Poucos trabalhos têm se dedicado a estudar de modo sistemático a influência das condições reacionais nas suas características intrínsecas (grau de quaternização, viscosidade intrínseca, padrão de substituição, entre outros), por isso torna-se importante a realização de estudos voltados para se entender como as variáveis reacionais afetam as características intrínsecas ($\overline{GQ}$, $[\eta]$, regiosseletividade, solubilidade) da *N,N,N*-trimetilquitosana.

1.1.2. Cloreto de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ)

Novas estratégias que visam a modificação química da quitosana são empregadas de modo a melhorar a capacidade de processamento do polímero, sua solubilidade, atividade antimicrobiana e a capacidade para interagir com outras substâncias (Anitha et. al. (2011) e Zhang; Cao (2014) e Zhao et. al. (2010)). Cloreto de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana, um derivado catiônico de quitosana, *i. e.* que possui cargas positivas permanentes (grupos amônio) ao longo de suas cadeias poliméricas, é preparado pela reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio (CGTMA) (Figura 4), e apresenta solubilidade em água, atividade antibacteriana, mucoadesividade e permeabilidade epitelial (Ruihua et. al. (2012) e Sharma (2011) e Wu et. al. (2007)).

Figura 4: Esquema da reação da quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio para obtenção de cloreto de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio (HPTAQ).

A síntese do HPTAQ era realizada *via* reações heterogêneas entre quitosana e CGTMA em água, meio alcoólico ou meio hidroalcoólico alcalinizado. Por exemplo, Wu, Su, e Ma (2006) relataram a síntese do HPTAQ a partir da reação entre quitosana e CGTMA em H₂O. O derivado obtido foi utilizado para produzir um novo sistema de hidrogel formado a partir da interação do HPTAQ com o glicerolfosfato. Tal sistema se mostrou sensível à temperatura e ao pH, o que o coloca como um potencial agente carreador de fármaco. Shi; Ji; Zhang; Shu; e Wu (2011) interagiram HPTAQ com α,β -glicerolfostato, produzindo um hidrogel sensível à temperatura e ao pH. O hidrogel produzido foi utilizado no encapsulamento de insulina e apresentou um comportamento de liberação do fármaco lento e contínuo.

Cho, Grant, Piquette-Miller, e Allen (2006) sintetizaram a HPTAQ em meio aquoso, tendo variado a proporção entre CGTMA e Q no intervalo de 3:1 até 6:1, os valores do grau de substituição encontrados variaram de 56% a 74%. A HPTAQ produzida foi utilizada para produzir um complexo com a lecitina e o estudo reológico realizado com os complexos mostrou que a derivatização da quitosana proporcionou uma melhora nas propriedades reológicas, o que foi atribuído a uma interação HPTAQ-lecitina mais eficiente. O complexo HPTAQ-lecitina produzido também foi aplicado para o encapsulamento e liberação controlada de fármacos.

Trabalhos de Sun e Wan (2007) e Wan, Sun, e Li (2009) produziram um derivado hidrossolúvel de quitosana *O*-substituído, os quais foram inter cruzados com tripolifosfato de sódio (TPP) para formar nanopartículas. Nestes trabalhos os pesquisadores carregaram as nanopartículas com albumina de soro bovino (BSA). Os trabalhos mostraram que a eficiência do preenchimento das nanopartículas melhorou com o aumento da concentração de BSA. Foi verificado também que o perfil de liberação de BSA pelas

nanopartículas era lento e contínuo, o que as credencia como um bom agente carreador de fármacos.

Bu, Wang, Fu, e Tian (2012) novamente utilizaram meio aquoso para produzir a HPTAQ. O produto obtido foi utilizado como modificador da superfície de tecidos à base de algodão. Foi observado que o tecido modificado com HPTAQ apresentou uma significativa melhora na nitidez de contorno e definição dos padrões impressos, o que foi atribuído a atração eletrostática entre o substrato de algodão modificado e as tintas à base de pigmentos aniônicos. Além disso, o material modificado exibiu satisfatória atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *E. coli*, inibindo em mais de 95 % o crescimento de tais bactérias quando a concentração do HPTAQ usado na solução de pré-tratamento foi de 0,8 %.

Wan, Xu, Sun, e Li (2013) avaliaram a atividade antioxidante de filmes baseados em derivados hidrossolúveis de quitosana de elevada massa molecular. O derivado hidrossolúvel com diferentes massas moleculares foi produzido e a atividade antioxidante dos filmes contendo tais derivados contra os radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil, hidróxido e superóxido. Os resultados obtidos mostraram que os filmes produzidos possuem bom potencial antioxidante e sugerem que quanto maior a massa molecular do derivado hidrossolúvel maior será a atividade antioxidante do filme produzido, e assim as embalagens produzidas tem potencial aplicação nas áreas de alimentos e medicamentos.

A preparação de cloreto de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana, tanto em meio neutro como alcalino, pode resultar em reações colaterais tais como aquela que resulta na degradação da quitosana e aquela que leva à formação de cloreto de 2,3-dihidroxipropil trimetilamônio. Nessas condições, o rendimento da derivatização é afetado bem como a regiosseletividade da reação, pois a *O*-substituição também ocorre em extensão apreciável (Prado; Matulewicz (2014) e Ruihua et. al. (2012)). Assim, procedimentos em meio ácido tem sido propostos, pois resultam em derivados HPTAQ com elevado grau de substituição e regiosseletividade (*N*-substituição é predominante), além de reduzirem a formação de produtos indesejados em comparação aos procedimentos executados em meios neutro e alcalino (Cho et. al. (2006) e Prado; Matulewicz (2014) e Ruihua, et. al. (2012)).

Ruihua, Bingchao, Zheng e Wang (2012) foram os primeiros a realizar a síntese do derivado *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana em meio ácido. Nesta metodologia a reação entre cloreto de glicidiltrimetilamônio (CGTMA) e a quitosana

ocorreu em solução aquosa de ácido perclórico, e de modo homogêneo. A utilização do meio ácido nesta síntese possibilitou contornar os problemas de regioseletividade da reação e de reações laterais sofridas pelo CGTMA.

Os processos comumente empregados para a produção do cloreto de *N*-(2-hidroxi) propil-3-trimetil amônio quitosana (HPTAQ) requerem temperatura relativamente elevada (60 - 85° C) e longos tempos (4 - 10 h) (Loubaki et. al. (1991); Ruihua, et. al. (2012); Sharma (2011); Spinelli et. al. (2004); Wu et. al. (2007); Xiao et. al. (2012) e Zhao et. al. (2010)). Em tais condições, a exemplo do que ocorre quando o meio reacional é neutro ou alcalino, a ocorrência de reações colaterais, tais como despolimerização da quitosana e hidrólise do cloreto de glicidiltrimetilamônio, afetam negativamente tanto o rendimento do processo quanto as características do derivado obtido (Ruihua, et. al. (2012)).

Assim, a pesquisa por processos de derivatização de quitosana que minimizem a ocorrência de reações colaterais, e que contribuam para reduzir a duração da reação e o consumo de reagentes e energia, é muito importante. Justificando a realização de um estudo sistemático para ajudar a compreender quais os principais parâmetros devem ser alterados para se buscar uma reação mais eficiente e menos dispendiosa.

1.2. Emulsões

Emulsões são sistemas comumente encontrados no nosso cotidiano (por exemplo: rochas, fumaças, lama, espumas, manteigas, cremes) e por isso os investigadores se viram na obrigação de lidar com esses tipos de sistemas.

Quando dois líquidos imiscíveis são colocados em contato, existe a tendência para um dos líquidos tornar-se disperso no outro, na forma de gotículas, desde que haja uma força mecânica atuando. Quando retirada, no entanto, os dois líquidos puros irão se separar. Chama-se emulsão aos sistemas que assim persistem por um período de tempo razoável (poucos segundos a vários anos) (Lissant (1974)).

A fase dispersa é chamada de fase interna e a fase contínua é chamada de fase externa. São usualmente referidas como sistemas óleo/água (o/a) quando a fase interna não é a água, sendo esta a fase contínua. O inverso é o sistema água/óleo (a/o), deixando

claro que nesta linguagem considera-se “óleo” praticamente todos os líquidos hidrofóbicos não polares e “água “ os líquidos hidrofílicos altamente polares (Lissant (1974)).

O tamanho da partícula interna pode variar e o sistema é termodinamicamente instável à medida que a fase interna tenta constantemente se aglomerar e se separar como uma segunda fase. Agentes emulsificantes são usados para retardar essa separação inevitável (Lissant (1974)). A viscosidade da emulsão e sua aparência são controladas em parte pelo tamanho das partículas da fase dispersa e a proporção entre as fases internas e externas. Quando o tamanho das partículas da fase diminui, a emulsão muda de um branco leitoso para transparente (microemulsão). Se as partículas são maiores que 1µm a emulsão é branco leitoso e esta impressão visual é devida ao espalhamento de luz consequência dos diferentes índices de refração do meio dispersado e o dispersante (fase contínua) (Lissant (1974)).

Quando a tensão interfacial obtida é muito pequena, as partículas dispersas também se tornam muito pequenas e temos as microemulsões. Sua formação e estabilidade são compreendidas considerando a formação de interfaces com tensão muito baixa, a ponto de se conseguir a estabilidade termodinâmica do sistema bifásico.

Agentes emulsificantes são grandes moléculas anfifílicas e promovem a estabilidade da emulsão reduzindo a tensão interfacial, em função de sua adsorção na interface. Na formação de uma emulsão, a área interfacial entre as fases dispersa e contínua aumenta para uma grande extensão e as propriedades da interface são importantes na determinação da facilidade da formação da emulsão e de sua estabilidade. Um agente emulsificante pode ser adsorvido na superfície do óleo ou da água, dependendo do agente utilizado e através da reação da tensão interfacial, o emulsificante promove a estabilização das gotas finamente divididas e controla o tipo de emulsão (se o/a ou a/o).

A maioria das emulsões cosméticas é o/a porque esse tipo permite uma melhor espalhabilidade sobre a pele e também para evitar resultados finais como oleosidade excessiva. Já as emulsões a/o são desejadas quando se objetiva composições com características oleosas como cremes noturnos, cremes de massagens, etc.

1.2.1. Aplicação de biopolímeros para estabilização de emulsões

Emulsões são dispersões termodinamicamente instáveis constituídas por duas fases inicialmente imiscíveis, sendo que uma das fases se encontra dispersa, em geral na forma de pequenas gotículas (0,1 – 100 μm), na segunda fase devido à ação de um ou mais agentes emulsificadores. Estes sistemas são algumas vezes encontrados na natureza, em alimentos, como por exemplo o leite e clara do ovo, e também em um grande número de produtos industriais, abrangendo de alimentos processados à cosméticos, produtos farmacêuticos e agroquímicos, tintas e lubrificantes (Forster; Rubinski (1998)).

A combinação de dois líquidos imiscíveis para formar uma emulsão permite tirar vantagens das diferentes propriedades de cada componente e preparar misturas com melhores funcionalidades para atender a uma aplicação particular ou melhor aceitabilidade pelos consumidores. Assim, por exemplo, um molho de salada formado pela emulsão de suco de limão e óleo vegetal pode resultar em um produto com qualidades superiores. Por outro lado, determinada emulsão pode levar à preparação de produtos com características reológicas/sensoriais completamente diferentes, como é o caso de muitos produtos alimentícios e cremes cosméticos. De fato, a adequada exploração dos parâmetros principais da emulsão, tais como fração volumétrica da fase dispersa, tamanho das gotas, e tipo de emulsificante/estabilizador, pode gerar emulsões com diferentes propriedades, por exemplo fluídos que exibam comportamento reológico viscoso, Newtoniano ou não-Newtoniano, ou características de géis (McClements (2005)).

A alta energia-livre de emulsões, é a causa da instabilidade inerente de tais sistemas, ela é originada pela grande área interfacial óleo/água, criada durante a homogeneização ou quebra das grandes gotas em gotas bem menores. Entretanto, a presença de agentes emulsificantes na superfície das gotas confere estabilidade cinética desde que as gotículas ficam impedidas de coalescer gerando grandes gotas, o que levaria à separação de fases. Como resultado da ação de agentes emulsificantes, a emulsão pode permanecer estável durante longos períodos. De fato, a estabilidade das emulsões pode se estender por algumas semanas, meses ou mesmo anos e, assim, embora o agente emulsificante não impeça completamente a ocorrência de coalescência, a sua ação retarda o fenômeno e as evidências macroscópicas demoram mais tempo para serem observadas.

A coalescência das gotas não é a única causa da desestabilização de emulsões durante estocagem prologanda. Menos crítico, mas de igual importância para muitos produtos, é a tendência das gotas sedimentarem ou formarem nata (“creaming”) devido a existência de uma diferença de densidade entre as fases dispersa e contínua, levando eventualmente à formação de uma densa camada rica em gotas no fundo ou no topo da emulsão. Outro tipo de desestabilização de emulsões está ligado à formação de agregados de gotas, o que leva a uma formação mais rápida de nata e separação do soro.

A natureza dos emulsificantes aplicados na preparação de uma emulsão determina o tipo de emulsão (óleo/água (o/a) ou água /óleo (a/o)) e a sua estabilidade, a qual está relacionada à intensidade das interações físicas entre as membranas de superfícies de gotas vizinhas com moléculas emulsificantes adsorvidas. Quando o potencial de interação tem um valor negativo, as gotas irão interagir e se agregar, uma situação que pode levar ao estreitamento do filme líquido formado entre gotas próximas, e consequente coalescência. Por outro lado, quando as forças repulsivas que atuam na superfície das gotas superam as forças atrativas, as emulsões permanecem estáveis, mantendo as suas características por um tempo muito maior.

Um grande número de emulsificantes é disponível para a preparação de produtos industriais sob a forma de emulsões. Com a notável exceção dos fosfolípidos, emulsificantes de baixa massa molecular, os emulsificantes são frequentemente chamados surfactantes, e são compostos sintéticos produzidos para atingir as necessidades específicas de cada produto final. Apesar de ser muito efetivo na redução da tensão de superfície entre óleo e água, ajudando a quebrar as gotas e preparar emulsões de menores dimensões que são estáveis contra coalescência, surfactantes não são muito efetivos para prevenir a formação de natas (“creaming”) nas emulsões.

Devido às suas composições peculiares em comparação aos surfactantes monoméricos, as macromoléculas, especialmente proteínas e polissacarídeos, possuem características físico-químicas que afetam fortemente suas propriedades funcionais nos sistemas do tipo emulsão. Os polissacarídeos exibem grande variabilidade estrutural e em função da relativa rigidez de suas cadeias, da presença de numerosos resíduos hidrofílicos e também de sua elevada massa molecular, interagem extensamente com moléculas de água via ligações de hidrogênio, o que resulta em extenso intumescimento e elevado volume molar (Dickinson (2009)). Devido ao seu predominante caráter hidrofílico,

alguns polissacarídeos são úteis apenas para o preparo e estabilização de emulsões do tipo óleo/água. Por outro lado, a diversidade de estruturas de unidades monossacarídicas presentes nos polissacarídeos tem profunda influência sobre suas propriedades, inclusive atividade de superfície. Em geral, os polissacarídeos não exibem atividade de superfície exceto quando covalentemente ligados a proteínas ou grupos hidrofóbicos. Alternativamente, os polissacarídeos podem adsorver na interface óleo/água, agindo como emulsificantes, quando são modificados quimicamente através da introdução de grupos hidrofóbicos em suas cadeias (Kato (2000); Pascal et. al. (2002) e Routureau et. al. (2004)). Adicionalmente, o polissacarídeo pode se adsorver sobre proteínas presentes na interface, formando uma camada de adsorção secundária sobre a primeira camada de proteína. Geralmente isso decorre de interações eletrostáticas entre proteínas e polissacarídeos, quando estas macromoléculas, em determinado pH, apresentam cargas opostas. Este fenômeno é explorado na estabilização efetiva de emulsões, sendo o controle de pH essencial para resultar na formação de complexo proteína/polissacarídeo, antes da adição de óleo ou após a homogeneização da mistura solução de proteína-óleo (McClements (2006)). Outro meio de proporcionar atividade de interface aos polissacarídeos é através da formação de complexos do tipo surfactante-polieletrólito (CSP), os quais são caracterizados pela elevada ação sinérgica na estabilidade de emulsões e espumas, pois aumentam consideravelmente o tempo de vida desses tipos de dispersões (Babak (1998)). A explicação da considerável melhora da capacidade de estabilização de uma emulsão por um polieletrólito devido a adição de pequena quantidade de um surfactante opostamente carregado é ilustrado na figura abaixo.

Figura 5: Esquema do efeito sinérgico da ação de surfactante e polieletrólito opostamente carregados na estabilização de uma emulsão. (a) emulsão instável devido à baixa capacidade de adsorção do polieletrólito catiônico. (b) emulsão instável devido à baixa concentração do surfactante aniônico. (c) emulsão torna-se estável devido à presença da mistura do surfactante e polieletrólito com as mesmas concentrações utilizadas nas situações (a) e (b).

*Fonte: Babak, V.G., 1998.

As Figuras 5A e 5B mostram o processo de coalescência das gotas de fase oleosa na presença do polieletrólito e do surfactante, respectivamente. Nessas situações tem-se uma emulsão dita instável, isso ocorre pois ambas espécies quando em baixa concentração apresentam baixa atividade interfacial e por isso as gotas de óleo dispersas em água tendem a se agregarem para reduzir a área de contato óleo/água. Já a figura 5C mostra que ao se misturar polieletrólito e surfactante nas mesmas concentrações que nas situações anteriores tem-se a formação de uma emulsão estável. Ou seja, existe um efeito sinérgico de redução da tensão interfacial quando estas duas espécies (surfactante + polieletrólito) são misturadas. Este efeito sinérgico dos componentes opostamente carregados é explicado pela sua adsorção cooperativa à interface óleo/água, o que faz com que estes complexos apresentem uma elevada atividade interfacial (Babak et al. (1999)).

Polissacarídeos hidrossolúveis aniônicos ou catiônicos (por exemplo: alginatos, derivados de quitina e quitosana), na ausência de carga ou de elevado grau de ionização, são conhecidos por apresentar fraca atividade de adsorção e capacidade de estabilização de emulsões, enquanto os surfactantes catiônicos (brometo de tetradeciltrimetilamônio, TDAB) e aniônicos (dodecilsulfato de sódio, SDS) não apresentam qualquer atividade de superfície quando na concentração de aproximadamente $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. Entretanto, quando ambos são misturados estequiometricamente, a tensão de superfície é reduzida por um fator maior que 20 mN m^{-1} , confirmando a formação de um complexo que tem elevada atividade de superfície.

O comportamento de adsorção do surfactante e polieletrólito determina suas capacidades de emulsificação e estabilização de emulsões (Figura 6). Observa-se que na ausência de qualquer espécie com atividade interfacial a fase óleo numa emulsão do tipo óleo/água é grande ($R \approx 1000 \text{ nm}$) e o tempo de estabilidade da emulsão é muito pequeno ($t < 5000 \text{ s}$). Já quando espécies com atividade interfacial é adicionado à emulsão tem-se uma redução do raio da fase óleo e um sucessivo aumento da estabilidade da emulsão, sendo que o menor raio da fase óleo ($R \approx 300 \text{ nm}$) e maior estabilidade ($t > 20000 \text{ s}$) é atingido quando o complexo SDS-quitosana é adicionado à emulsão. Assim, é observado que os efeitos emulsificante e estabilizador do complexo SDS-quitosana são muito mais importantes que aqueles observados quando SDS ou quitosana, isoladamente.

Figura 6: Cinética da estabilidade de emulsões de decano/água estabilizadas por surfactante, polieletrólito e complexos surfactante-polieletrólito.

*Fonte: Babak, V.G. et al., 1996, p. 710.

Estudos de Babak et al. (1999) mostram que a vida útil dos filmes microscópicos da emulsão formada entre duas gotas de óleo (decano), de 1mm de raio, em soluções aquosas de surfactante e polieletrólito são mais estáveis quando complexos de carboximetilquitossana ou de quitossana são aplicados. A explicação dessa elevada capacidade de estabilização de emulsões dos CSP's é a repulsão estérica entre as camadas adsorvidas dos macroíons ancorados na superfície das gotas pelos surfactantes opostamente carregados adsorvidos.

Trabalhos de Desbrières e Babak (Babak et al. (1999) e Desbrières; Babak (2008)) têm demonstrado que os complexos surfactante-polieletrólito possuem atividade de adsorção extremamente alta e por isso são capazes de estabilizar emulsões e espumas.

Interações entre polieletrólitos e surfactantes carregados opostamente em solução aquosa têm atraído uma crescente atenção por causa de seu complexo comportamento e potenciais aplicações em áreas tais como: estabilização de emulsões, encapsulamento e liberação de fármacos, tratamento de águas residuais e recuperação de hidrocarbonetos (Desbrieres; Babak (2008) e Naves; Petri (2005)).

1.2.2. Complexos Surfactante-Polieletrólito

Polímeros e surfactantes, em solução aquosa, associam-se para formar complexos termodinamicamente estáveis, com propriedades físico-químicas diferentes daquelas observadas em soluções micelares (Zanette; Frescura (1999)).

A indústria tem uma ampla aplicação de produtos comerciais onde polímeros e surfactantes estão misturados para conferir propriedades adequadas de inúmeras formulações. A área de emulsões é sem dúvida quem mais se beneficia das propriedades desses complexos, mas outros setores como alimentos, tintas, cosméticos, têxteis e em microemulsões como veículo para dissolver componentes com diferentes solubilidades e até para recuperação terciária de petróleo utilizam os complexos surfactante-polieletrólito.

Alguns pesquisadores propõem que complexos polieletrólito-surfactante são formados devido a uma combinação de interações eletrostáticas, íon-dipolo e interações hidrofóbicas, e podem ser formados inclusive em baixas concentrações de surfactante (McClements (2006) e Routureau et. al. (2004)) (Figura 7).

Figura 7: Esquema da agregação entre micelas de CTAB e carboximetilquitosana. Os contra-íons das moléculas de CTAB não são mostrados: (a) baixa concentração de CTAB e (b) alta concentração de CTAB.

*Fonte: Li et al., 2007, p.2697.

O processo de agregação é bastante complexo, pois está relacionado com a ocorrência de inúmeras rupturas/formações de interações dos tipos eletrostáticas e hidrofóbicas, modificações conformacionais e equilíbrios iônicos. Por isso a determinação de algumas propriedades termodinâmicas como entalpia (ΔH_{agr}), entropia (ΔS_{agr}) e energia livre de Gibbs (ΔG_{agr}), e alguns parâmetros relacionados ao processo de agregação, como concentração de agregação crítica (c.a.c) e concentração micelar

crítica (c.m.c), podem auxiliar na busca por uma melhor compreensão de como esse processo de agregação ocorre. Assim, através de estudos termodinâmicos pode-se elucidar como as interações hidrofóbicas influenciam esse fenômeno termodinâmico de agregação (Babak (1998)).

É sabido que complexos do tipo surfactante-polieletrólito, quando em meio aquoso, resultam em destacado aumento de sua adsorção na interface. Este comportamento provoca alterações de certas propriedades do sistema, como por exemplo alteração do valor da tensão interfacial da solução. Por isso o estudo da cinética da tensão interfacial em função da presença, ou ausência, destes tipos de complexos é tão importante, sendo a tensiometria de gota pendente uma das técnicas mais utilizadas para tal fim.

1.3 – Tensiometria de gota pendente

A medida de tensão interfacial pelo método da gota pendente é atualmente bem conhecida (Gassin (2014)). Esta técnica possui como vantagens: (I) pode ser aplicada tanto para interfaces ar/líquido quanto para interfaces líquido/líquido; (II) realiza medidas *in situ* e não evasivas. O princípio deste tipo de medida baseia-se na análise da forma da gota de um líquido pendente, ou ascendente, que depende de um equilíbrio entre as forças gravitacional e capilar. A equação (1) chamada de equação de Young-Laplace descreve a forma assimétrica da gota.

$$\gamma \cdot \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) = -\Delta\rho g y + \gamma \cdot \frac{2}{R_0} \quad \text{Equação 1}$$

Conforme o sistema de coordenadas (Figura 8), y representa a ordenada do ponto M, com a origem sendo tomada no vértice O da gota, R_0 é o raio de curvatura no vértice O da gota, R_1 e R_2 são os raios de curvatura principais no ponto M de coordenadas (x,y). $\Delta\rho$ representa o valor absoluto da diferença de massa volumétrica do fluído na gota em relação ao fluído exterior da gota, g é a aceleração da gravidade e γ é a tensão interfacial (expressa em mN.m^{-1}).

Figura 8: Notação utilizada para descrever a forma de uma gota pendente.

*Fonte: Gassin, P.M., 2014, p. 2.

Para obter uma equação paramétrica do perfil da gota, é definida a abscissa curvilínea s a partir do vértice O da gota e o ângulo θ (Figura 8). Utilizando as coordenadas adimensionais X , Y e S resulta que $X = \frac{x}{R_0}$, $Y = \frac{y}{R_0}$, $S = \frac{s}{R_0}$ e utilizando que $R_1 = \frac{ds}{d\theta}$ e $R_2 = \frac{x}{\sin\theta}$, a equação de Young-Laplace sobre a forma paramétrica pode ser reescrita da maneira seguinte:

$$\frac{d\theta}{dS} = 2 \pm \beta Y - \frac{\sin \theta}{X}$$

$$\frac{dX}{dS} = \cos \theta$$

Equação 2

$$\frac{dY}{dS} = \sin \theta$$

Onde:

$$\beta = \frac{\Delta \rho g R_0^2}{\gamma}$$

Equação 3

Observação: O sinal positivo (negativo) antes de β na equação (2) corresponde à uma gota ascendente (pendente) formada em função da densidade dos dois fluídos, já para uma gota pendente o sinal será negativo.

A equação 3 trata-se de uma equação paramétrica não linear, que não possui uma solução analítica de modo geral. Historicamente, antes do desenvolvimento dos computadores capazes de resolver numericamente este tipo de equação, foi proposta a

utilização de tabelas que permitiam, a partir da forma da gota pendente, obter o valor da tensão interfacial. Estas tabelas eram construídas calculando a relação $\sigma = \left(\frac{D_E}{D_S} \right)$, onde D_E é definido como o diâmetro máximo da gota e D_S é o diâmetro da gota a uma distância D_E do vértice. Com o advento do cálculo numérico e a digitalização de imagens foram desenvolvidos métodos rápidos e mais precisos, baseados no ajuste entre o perfil da gota e a resolução numérica da equação de Young-Laplace que permitem encontrar precisamente os valores dos parâmetros β e R_0 . A figura 9 mostra um esquema do dispositivo experimental para realização da tensiometria de gota pendente.

Figura 9: Esquema de um dispositivo experimental para medida da tensão interfacial.

*Fonte: Gassin, P.M., 2014, p. 4.

Sendo A – lâmpada branca, B- suporte para a seringa; C – seringa e agulha curvada; D – webcam microscópica; E – cuba curvada transparente; F- computador com o software de tratamento de imagens.

Dois pontos são importantes para se produzir uma imagem da gota (I) grande nitidez e (II) grande contraste: além de tudo, é indispensável ter uma iluminação bem homogênea da gota.

Uma vez que a imagem da gota está registrada, uma primeira metodologia para a análise da forma da gota permitirá determinar um valor aproximado da tensão interfacial. Este método utiliza o parâmetro σ definido como a razão D_E/D_S para caracterizar a forma

da gota. A utilização das fórmulas polinomiais seguintes, equação 4 e 5, que são as aproximações das tabelas de Fordham permitindo então deduzir de σ um valor aproximado dos dois parâmetros β e R_0 . Assim, a utilização da equação 3 permitirá calcular a tensão interfacial γ .

$$\beta = 0,12836 - 0,7577\sigma + 1,7713\sigma^2 - 0,5426\sigma^3 \quad \text{Equação 4}$$

$$\frac{D_E}{2R_0} = 0,9987 + 0,1987\beta - 0,0734\beta^2 + 0,34708\beta^3 \quad \text{Equação 5}$$

A figura 10 mostra a imagem obtida e registrada num arquivo numérico de uma gota pendente de água pura no ar. O diâmetro da agulha da seringa, medidos com um paquímetro, é de 2,10 mm e corresponde a 206 pixels.

Figura 10: Imagem obtida pela webcam microscópica de uma gota de água no ar.

*Fonte: Gassin, P.M., 2014, p. 5.

Observa-se que os valores de D_E e D_S são de 345 pixels e 260 pixels, respectivamente. Assim o valor de $\sigma = \frac{D_E}{D_S}$ vale 0,75. Por aplicação das equações 4 e 5, encontra-se que $\beta = 0,33$ e $R_0 = 1,64$ mm. Sabendo que a massa volumétrica do ar e da água à 20 °C são de 0,0012 g/cm³ e 0,998 g/cm³, respectivamente, determina-se a partir da equação 3 que $\gamma = 79,4$ mN.m⁻¹. O valor tabulado da interface ar/água pura é de 72,8 mN/m. Mostrando que o resultado obtido é um valor aproximado em 10%. Esta variação provem principalmente das incertezas de β e R_0 ligadas ao seu método de determinação.

O segundo método aborda um procedimento de ajuste da equação 1 com o perfil real da gota. Este método foi implantado por um autor de um software disponível gratuitamente na internet sob o nome DROPFIT. O princípio do algoritmo é o seguinte:

Parte 1 - Introdução

o programa DROPFIT compara o perfil da gota com um banco de dados de perfis teóricos que resulta da resolução numérica da equação 2. O melhor perfil teórico, caracterizado pela combinação dos dois parâmetros (β , R_0), será escolhido e permitirá determinar a tensão interfacial *via* a equação 3. A figura 11A fornece o contorno teórico, em verde, que gera o melhor ajuste fotográfico da gota. O resultado da tensão interfacial dado pelo software é então de 72,3 mN/m com uma variação da ordem de 0,5 mN/m. Esta incerteza do algoritmo de 0,5 mN/m é avaliada a partir das incertezas relacionadas às determinações de β e R_0 . A Figura 11B apresenta a medida da tensão interfacial de uma interface líquida/líquida: Trata-se de uma gota ascendente de dodecano numa fase aquosa de água pura.

Figura 11: Esquematisação do monitor do software DROPFIT. (A) gota pendente de água no ar; (B) gota ascendente dodecano em água.

*Fonte: Gassin, P.M., 2014, p. 6.

A forma da gota é resultado da influência de duas forças principais: a tensão de superfície (a qual tende a dar uma forma esférica à gota) e a gravidade (a qual tende a alongá-la). O tratamento matemático que permite caracterizar a forma da gota é dado pela equação 26, que resulta da combinação de duas relações fundamentais: (1) Equação de *Laplace Young* e (2) Equação do equilíbrio de forças que atravessa todo o plano horizontal (tensão de superfície, força peso e diferença de pressão entre exterior e interior da gota). A combinação das duas equações explicam a forma da gota (equação 6).

$$\varpi = \frac{(g\Delta\rho)}{(\gamma b^2)} \quad \text{Equação 6}$$

onde ϖ é o fator de forma da gota, $g\Delta\rho$ a força da gravidade e γb^2 a força da tensão interfacial, sendo g = aceleração da gravidade; $\Delta\rho$ = variação de densidade; γ = tensão de superfície; b = curvatura do topo da gota.

A partir da análise do perfil da gota pode-se determinar os parâmetros b e ϖ , e deduzir a tensão de superfície γ . O emprego do tensiômetro à gota pendente para determinar a tensão de superfície através da equação 6 demanda o conhecimento de dois parâmetros físicos, a saber o fator de forma (ϖ) e a curvatura do topo da gota (b).

$$\gamma = \frac{(g\Delta\rho)}{(\varpi b^2)} \quad \text{Equação 7}$$

A influência da tensão de superfície sobre a forma da gota pode ser observada no momento de adsorção de um surfactante. A gota se alongará e o volume aumentará, em relação ao momento inicial (sem surfactante). Este aumento de volume é proporcional à diminuição da tensão de superfície com o tempo.

1.3.1. Determinação da viscoelasticidade da camada adsorvida à interface

Módulo de elasticidade complexo bidimensional (E) da camada adsorvida é encontrado da medida da variação da tensão superficial como resposta a variação de dilatação sinusoidal da área superficial. Analogamente com a reologia 3D, a parte real do módulo E , o módulo de armazenamento bidimensional (E'), é a parte imaginária, o módulo de perda bidimensional (E''), caracterizam o comportamento conservativo e dissipativo da camada adsorvida, respectivamente. Todas as medidas são feitas durante um tempo relativamente longo (usualmente maior que 5×10^4 s) de modo a acompanhar o efeito do envelhecimento da tensão superficial e das propriedades reológicas das camadas adsorvidas.

Tecnicamente, o estudo da cinética de formação da estrutura na camada de adsorção é realizado aplicando uma perturbação de expansão/compressão controlada (ΔA) na área (A) da bolha e registrando simultaneamente a variação da tensão superficial $\gamma(t)$ (Figura 12).

Figura 12: Variação sinusoidal da área $A(t)$ e tensão superficial $\gamma(t)$ para “liquid-like” (a) e “solid-like” (b) comportamento viscoelástico das camadas de adsorção da quitosana (a) e quitosana alquilada (b).

O mais simples modelo reológico de Maxwell com somente um tempo de relaxação característico (τ_0) (ou uma frequência de relaxação característica $\omega_0 = 2\pi/\tau_0$) pode ser usado como a primeira aproximação para a descrição quantitativa das propriedades elástica das camadas de adsorção. Formalmente, podemos expressar o tempo de relaxação (τ_0) a partir da razão

$$\tau_0 = \eta_0/E_0 \quad \text{Equação 8}$$

onde η_0 e E_0 são viscosidade intrínseca bidimensional e módulo de elasticidade bidimensional da camada de adsorção.

Variação periódica da área da gota (A) segundo a lei sinusoidal $\bar{\varepsilon} = \varepsilon_a \exp(i\omega t)$, (onde $\varepsilon = \Delta A/A$ é a deformação relativa da camada, e ε_a a amplitude desta deformação relativa) produz uma variação da pressão superficial $\bar{\pi}(t) = \pi_a \exp[i(\omega t + \varphi)]$, onde φ é o ângulo de fase (Figura 12). No domínio de deformação linear o módulo da elasticidade complexo depende da frequência como definido abaixo:

$$\bar{E}(\omega) = \frac{d\bar{\pi}}{d\bar{\varepsilon}} = - \frac{d\bar{\sigma}}{d\bar{\varepsilon}} = E'(\omega) + iE''(\omega) \quad \text{Equação 9}$$

onde as partes real ($E'(\omega)$) e imaginária ($E''(\omega)$) são expressas como:

$$E'(\omega) = E_0 \frac{(\frac{\omega}{\omega_0})^2}{1+(\frac{\omega}{\omega_0})^2} \quad \text{Equação 10}$$

$$E''(\omega) = E_0 \frac{\frac{\omega}{\omega_0}}{1+(\frac{\omega}{\omega_0})^2} \quad \text{Equação 11}$$

O módulo de elasticidade total (E) e o ângulo de fase são definidos como: $E(\omega) = \sqrt{E'^2(\omega) + E''^2(\omega)} = E_0 \frac{\omega/\omega_0}{\sqrt{1+(\frac{\omega}{\omega_0})^2}}$ Equação 12

$$\text{tg} \varphi = \frac{E''(\omega)}{E'(\omega)} = \frac{\omega_0}{\omega} \quad \text{Equação 13}$$

A dependência dos módulos relativos real, $E'_{rel} = E'/E_0$, e imaginário, $E''_{rel} = E''/E_0$, com a frequência aplicada ω para este simples modelo com um tempo de relaxação são representados na Figura 13.

Figura 13 - Efeito da frequência ω nos módulos relativos bidimensionais de armazenamento (E'_{rel}) e de perda (E''_{rel}) para um modelo de frequência reológica de Maxwell.

A uma frequência característica ω_0 do sistema ambos os módulos são iguais: $E'(\omega_0) = E''(\omega_0)$. Na região $\omega \gg \omega_0$ a camada de adsorção tem um comportamento reológico do tipo “solid-like” e a $\omega \rightarrow \infty$ o módulo de armazenamento elástico E' tende ao seu valor máximo E_0 independente da frequência aplicada ω . Em frequências muito baixas, $\omega \ll \omega_0$, a camada adsorvida tem um comportamento “liquid-like” porque $E' \ll E''$ e $E'' \approx \omega$.

O modelo reológico com um tempo de relaxação (o modelo de Maxwell) é válido somente para camadas adsorvidas cujo parâmetro E_0 e ω_0 são constantes e independente da frequência aplicada ω . No caso das camadas adsorvidas do tipo “gel-like”, que são caracterizadas por resistência ao escoamento bidimensional, os parâmetros E_0 e ω_0 tornam-se dependentes da frequência, e o modelo de Maxwell torna-se insuficiente para descrever quantitativamente as propriedades reológicas de tais camadas. Um modo para superar essa limitação é aumentar o número de frequências características ($\omega_{0i} = \frac{2\pi}{\tau_{0i}}$) do modelo reológico (onde ω_{0i} são tempos de relaxação característicos do sistema). Isto permite por analogia com a reologia 3D expressar os módulos como um somatório.

$$E'(\omega) = \sum_i E_{0i} \frac{\left(\frac{\omega}{\omega_{0i}}\right)^2}{1 + \left(\frac{\omega}{\omega_{0i}}\right)^2} \quad \text{Equação 14}$$

$$E''(\omega) = \sum_i E_{0i} \frac{\frac{\omega}{\omega_{0i}}}{1 + \left(\frac{\omega}{\omega_{0i}}\right)^2} \quad \text{Equação 15}$$

onde E_{0i} são pesos correspondentes do i -ésimo elemento de relaxação no módulo de elasticidade intrínseca total (E_0). Usando este procedimento, é possível, a princípio, descrever quantitativamente todos os detalhes do comportamento reológico das camadas adsorvidas.

Algumas vezes, uma descrição satisfatória do comportamento reológico de adsorção e monomocamadas estendidas de polímeros podem ser realizadas pelo uso de apenas algumas frequências características tendo claro significado físico. Por exemplo, usando o modelo reológico com somente dois tempos característicos, um da ordem de $\tau_1 \approx 10\text{s}$ e outro $\tau_2 \rightarrow \infty$ (elemento puramente elástico) revelou ser rápido suficiente para descrever o comportamento de relaxação dilacional das monomocamadas de adsorção de polímeros hidrofóbicos e hidrofílicos à interface óleo-água. O primeiro tempo de relaxação $\tau_1 \approx 10\text{s}$, é usualmente atribuído ao efeito Marangony (adsorção-dessorção de moléculas e segmentos durante perturbações dilacionais), sendo o segundo tempo, $\tau_2 \rightarrow \infty$, pode ser atribuído a reconformações mais lentas das macromoléculas adsorvidas no interior da camada de adsorção.

2.Motivação

Quitosana e seus derivados têm ganhado destaque nos últimos anos devido as suas propriedades peculiares (Mourya; Inamdar (2009) e Shahid; Mohammad (2013)), como os derivados hidrossolúveis de quitosana, tais como *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio (HPTAQ), polieletrólitos que têm cargas positivas permanentes, independentemente do pH do meio, os quais exibem propriedades antimicrobianas (Chi et al. (2007) e Hagenars et. al. (2009) e Hamman et. al. (2003) e Sajomsang et. al. (2009)). A versatilidade das modificações químicas que podem ser realizadas em quitosana, as diferentes propriedades específicas que podem ser desenvolvidas pelos derivados e, por consequência, a grande variedade de potenciais aplicações, fazem com que trabalhos sobre quitosana e derivados tenham se desenvolvido fortemente nos últimos 20 anos.

Recentemente as indústrias farmacêuticas e de cosméticos vêm ampliando esforços e investimentos para a elaboração de novas formulações de emulsões que sejam mais seguras e que utilizem constituintes biocompatíveis, o que tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas com biopolímeros potencialmente aplicáveis nestas áreas.

Complexos entre polieletrólitos e surfactantes têm ganhado crescente atenção, tanto do meio acadêmico como das indústrias, por causa de seu complexo comportamento e das suas potenciais aplicações em áreas tais como o encapsulamento e liberação de fármacos, tratamento de águas residuais e recuperação de hidrocarbonetos (Kato (2000) e Pascal et. al. (2002)). Trabalhos recentes também têm mostrado que complexos polieletrólito/surfactante possuem atividade de adsorção extremamente alta, e por isso são capazes de estabilizar emulsões e espumas (V.G. Babak et. al. (1999) e Desbrieres; Babak (2008)).

Assim, este trabalho visa o estudo de novos complexos polieletrólito/surfactante à base de derivados cationizados de quitosana (TMQ e HPTAQ) e decanossulfonato de sódio que apresentem atividade interfacial e promovam a estabilização de emulsões óleo/água, buscando avaliar a potencialidade desses sistemas para aplicações em formulações farmacêuticas e cosméticas.

3. Objetivos

A proposta deste projeto consiste, em sua primeira etapa, realizar um estudo sistemático e abrangente sobre a reação de obtenção de *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ), visando alcançar rendimentos mais elevados e amostras pouco despolimerizadas com diferentes graus médios de quaternização. Assim, são investigados os efeitos que o tempo de reação, a concentração de hidróxido de sódio e a proporção molar iodometano/quitosasana têm sobre as características estruturais e propriedades físico-químicas de *N,N,N*-trimetilquitosana.

Na segunda etapa foi estudada a reação de obtenção de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ), sendo investigados os efeitos do tempo de reação, temperatura e razão molar cloreto de glicidiltrimetilamônio/quitosana (CGTMA/Q) sobre o rendimento da reação e sobre a viscosidade intrínseca($[\eta]$) e grau médio de substituição ($\overline{GS}$) dos derivados produzidos.

Na última etapa do projeto foi desenvolvido um estudo visando explorar complexos do tipo surfactante-polieletrólito (CSP's) que apresentem atividade na interface. Os polieletrólitos utilizados são derivados hidrossolúveis de quitosana, obtidos a partir de *N*-metilação extensiva (TMQ) ou a partir da reação da quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio (HPTAQ), e o surfactante decanossulfonato de sódio. Estes complexos por apresentarem atividade interfacial podem ser utilizados como agentes estabilizantes em emulsões do tipo óleo/água.

4. Parte experimental

4.1 Materiais e reagentes

Os reagentes e solventes utilizados neste trabalho foram de grau técnico ou para análise, e foram usados conforme recebidos. A quitosana (Q) usada na síntese dos derivados hidrossolúveis, a saber *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ), foi adquirida da Cheng Yue Planting Co Ltda (China).

O grau médio de acetilação da amostra de quitosana foi determinado, conforme a literatura Campana-Filho; Britto (2009), por RMN-¹H, a partir da relação entre as áreas dos prótons metílicos do grupo acetamida (sinais 2,1 ppm) e da soma das áreas dos prótons ligados aos carbonos 2 a 6 do anel glicopiranosídico, (cujos sinais foram observados na região de deslocamento químico de 3,0 a 4,2 ppm), resultando em $\overline{GA} = 5\%$. Já a massa molar viscosimétrica média ($\overline{M}_v$) foi determinada por viscosimetria capilar, a partir do valor da viscosidade intrínseca e das constantes de Mark-Howink-Sakurada (Kasaai (2007)), resultando em $\overline{M}_v = 120\,000$ g/mol.

Iodometano e *N*-metil-2-pirrolidona foram adquiridos da Vetec – Brasil e Sigma/Aldrich, respectivamente. Iodeto de sódio e hidróxido de sódio foram adquiridos da Acros Organics, New Jersey – USA e Synth – Brasil, respectivamente. O cloreto de glicidiltrimetilamônio foi adquirido da Sigma/Aldrich e o ácido acético foi comprado da Synthec – Brasil.

4.2. Síntese da *N,N,N*-trimetilquitosana

Neste trabalho foi realizada a síntese da *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) a partir da extensiva metilação dos grupos aminos da quitosana comercial (Cheng Yue Planting Co. Ltda). A quitosana comercial foi previamente submetida a um processo de fracionamento, sendo selecionada a fração de partículas com diâmetro médio no intervalo 75,0 μm - 125,0 μm para a realização da reação.

A reação de *N*-metilação da quitosana para a produção da TMQ foi realizada conforme descrito a seguir. 1,0 g de quitosana foi suspensa em *N*-metil-2-pirrolidona e a suspensão foi mantida a 25 °C e agitação constante por 15h. Então, 2,4g de iodeto de sódio (NaI), 5,5 mL de solução aquosa de NaOH (15 % m/v) e iodoetano (CH₃I) na proporção de 9:1 em relação a quitosana foram adicionados. Após a adição destes reagentes a reação procedeu por 24h. Em seguida, a suspensão foi então transferida para membrana de diálise (limite de exclusão de 10 000 – 12 000 g/mol), onde foi dialisada contra água deionizada durante 3 dias, seguido por 2 dias contra solução de NaCl 0,1 mol/L, e novamente contra água deionizada por mais 3 dias. Após a diálise a solução foi filtrada num filtro de pressão positiva em membrana com tamanho de poros igual a 0,8 µm e em seguida a solução resultante foi liofilizada e a TMQ foi obtida na forma de um pó branco.

Os parâmetros variados na reação de *N*-metilação da quitosana foram:

- 1) **tempo de reação (t)**: após a adição dos reagentes a reação procedeu por 6 h ou 24 h.
- 2) **concentração de hidróxido de sódio ([NaOH])**: 5,5 mL de solução aquosa de NaOH foram adicionados ao meio reacional, sendo que a concentração da solução foi de 15 % (m/v) ou de 40 % (m/v).
- 3) **razão molar iodoetano/quitosana (CH₃I/Q)**: um excesso de iodoetano foi adicionado a reação de maneira a se obter uma razão molar CH₃I/Q 9:1 ou 36:1.

4.2.1. Planejamento Fatorial Completo 2³

Planejamento fatorial completo 2³ foi aplicado para determinar os efeitos principais e interações das variáveis tempo de reação (t), concentração de NaOH ([NaOH]) e razão molar de iodoetano/quitosana (CH₃I/Q) nas respostas grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$), viscosidade intrínseca ([η]) e rendimento mássico da reação. As variáveis independentes e seus níveis são mostrados na Tabela 1. Cada experimento foi realizado em duplicata.

Tabela 1: Níveis não codificados e codificados das variáveis independentes da *N*-metilação da quitosana.

Variáveis independentes	Símbolo	Níveis	
		-1	+1
Tempo (h)	X_1	6	24
[NaOH] (% m/v)	X_2	15	40
Razão molar $\text{CH}_3\text{I/Q}$	X_3	9	36

4.2.2. Análise estatística

Metodologia de regressão de múltiplos quadrados foi empregada para investigar a relação entre as variáveis dependentes e independentes. A equação de regressão múltipla foi usada para ajustar uma equação polinomial baseado nos dados experimentais como mostrado abaixo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 \quad \text{Equação 16}$$

Onde Y representa a resposta predita, β_0 é o intercepto do modelo, $\beta_1, \beta_2, \beta_3$, e $\beta_{12}, \beta_{23}, \beta_{13}, \beta_{123}$, são os coeficientes lineares e de interações, respectivamente, e X_1, X_2 e X_3 são as variáveis dependentes.

O teste *t*-Student foi aplicado para verificar a significância estatística do coeficiente de regressão, e o teste F-Fischer determinou o modelo de equação à uma probabilidade (p) de 0,05. A adequação do modelo foi determinado pela avaliação do coeficiente de determinação (R^2), coeficiente de determinação ajustado (R^2_{adj}) e o valor de *F*-teste obtido da análise de variância (ANOVA) que foi gerada. Superfícies de resposta foram determinadas usando o modelo matemático encontrado e mantendo uma variável independente constante e variando as outras duas variáveis. Todos os cálculos e gráficos foram realizados usando o software Statistica (Statsoft version 7.0, USA).

4.3. Síntese de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana

A reatividade dos grupos aminos frente a epóxidos em condições ácidas foi utilizada para a produção do cloreto de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ) (Ruihua, Huang et al. (2012).

A derivatização da quitosana foi realizada empregando diferentes proporções molares do cloreto de glicidiltrimetilamônio/quitosana, temperaturas e tempos de reação, conforme delineamento composto central rotacional com três fatores e dois níveis (2^3) apresentado na Tabela 2, totalizando 17 experimentos ($2^3 = 8$ pontos fatoriais; $2 \times 3 = 6$ pontos axiais e três repetições do ponto central). Tipicamente, aproximadamente 1,0 g de quitosana foi disperso em 40 mL de solução 1% de ácido acético e mantido sob agitação magnética por 20 minutos. Em seguida, cloreto de glicidiltrimetilamônio na proporção molar de 4:1 em relação aos grupos aminos foi adicionado ao meio reacional e a reação procedeu por 6h a temperatura de 50 °C, sob agitação magnética. Ao final da reação, o excesso do epóxido foi removido pela precipitação do produto da reação em mistura 1/1 (v/v) de etanol/propanona, o qual foi filtrado e seco a 37 °C em estufa com circulação forçada de ar para posteriores caracterização e aplicações.

4.3.1. Planejamento Fatorial Completo 2^3 com ponto central

A seleção dos fatores a serem estudados e os respectivos intervalos de variação foram definidas a partir da análise de trabalhos correlacionados (Ling et al. (2013 e Loubaki et al. (1991 e Luo, J et al. (2010 e Ruihua, H et al. (2012 e Sharma (2011 e Spinelli et al. (2004 e Wu et al. (2006, 2007 e Xiao et al. (2012 e Zhao et al. (2010)).

Tabela 2: Níveis das variáveis independentes estudadas no processo de síntese de HPTAQ.

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha$ (-1,682)	-1	0	+1	$+\alpha$ (1,682)
Razão molar (CGTMA/Q)	1,3	2	3	4	4,7
Temperatura (°C)	23	30	40	50	57
Tempo (hora)	2	6	12	18	22

As variáveis respostas a serem analisadas são o grau médio de substituição ($\overline{GS}$), viscosidade intrínseca da quitosana cationizada ($[\eta]$) e o rendimento da reação (R).

Análise estatística baseada na metodologia de múltiplos quadrados (MLS) foi aplicada para desenvolver uma equação polinomial que descreva o comportamento das respostas analisadas em função das variáveis estudadas.

4.4. Caracterização

4.4.1. Espectroscopia na região do infravermelho (FTIR)

Mudanças estruturais nas amostras de quitosana devido a *N*-metilação ou à *N*-substituição dos grupos aminos foram observadas através da espectroscopia no infravermelho.

Para obtenção dos espectros, aproximadamente 1,5 mg das amostras (Q, TMQ ou HPTAQ) foram secos em estufa à vácuo por 14 horas a 60 °C. Após esse período, 100 mg de KBr foram adicionadas e as pastilhas foram preparadas e deixadas em estufa à vácuo a 60 °C por 24 horas antes de se fazer a análise em espectrofotômetro BOMEM MB-102 com transformada de Fourier, com acúmulo de 48 varreduras e resolução 4cm⁻¹ no intervalo de 4000 – 450 cm⁻¹.

4.4.2. Ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio de alta resolução foi utilizada para a análise das estruturas químicas e para a determinação do grau médio de acetilação e grau médio de quaternização, ou substituição, das amostras. Os espectros das amostras produzidas neste trabalho foram obtidos no equipamento BRUKER AC400 a 80 °C.

Aproximadamente 10 mg de amostra foram adicionados a 1,0 mL de D₂O/HCl (1% v/v) e a suspensão foi mantida sob agitação constante por 24 horas, resultando em solução límpida e viscosa. Parte desta solução foi transferida para um tubo de 5 mm de diâmetro. Para a aquisição dos espectros foi utilizado supressão de água com sequência de pulsos 1-1, sendo o intervalo entre os pulsos de supressão de 3 segundos, acumulando 32 varreduras e o tempo de relaxação foi de 7 segundos. A janela espectral utilizada foi de 10,0 ppm e tamanho do fid 32K.

No espectro de RMN-¹H de quitosana (Figura 14) os sinais principais estão localizados em: A) ≈2.0 ppm, o qual é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupamento acetamido, B) ≈ 3,0 – 4,2 ppm, os quais são atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos 2 a 6 do anel glicopiranosídico. O valor do grau médio de acetilação por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H) foi calculado a partir da equação 17 (Hirai et al. (1991)).

$$\% \overline{GA} = \left(\frac{\frac{1}{3}A_{CH_3}}{\frac{1}{6}A_{H_2-H_6}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 17}$$

Onde: A_{CH_3} é a área dos sinais dos hidrogênios metílicos do grupo acetamido e $A_{H_2-H_6(A+D)}$ é a área dos hidrogênios ligados aos carbonos 2 – 6 do anel glicopiranosídico.

Figura 14: Espectro de RMN-¹H característico de quitosana em D₂O/HCl onde R=COCH₃ ou H.

O grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$) de *N,N,N*-trimetilquitosana se refere à metilação extensiva dos grupamentos aminos das unidades GlcN de quitosana, o qual foi determinado a partir do espectro de RMN-¹H de TMQ utilizando o método de Curti e Campana-Filho (2006), o qual toma como base a intensidade de todos os sinais dos hidrogênios metílicos no espectro de RMN-¹H. Assim o grau de quaternização das amostras de TMQ são determinados pelas equações abaixo:

$$\% \overline{GQ} = \left[\frac{[(CH_3)_3]}{9} \times \frac{1}{5} \right] \times 100 \quad \text{Equação 18}$$

$$S = \frac{[(CH_3)_3]}{9} + \frac{[(CH_3)_2]}{6} + \frac{[(NHCOCH_3)]}{3} \quad \text{Equação 19}$$

Um estudo da influência do pH no espectro de RMN-¹H da *N,N,N*-trimetilquitosana foi realizado para caracterizar a presença dos grupos aminos *di*- e *tri*-metilados. Para isso alíquotas de 15 µL de uma solução de DCl (ou NaOD) em D₂O foram adicionados à solução de TMQ, antes de proceder a análise de RMN-¹H, para ajustar o pH do meio.

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H) também foi empregada para a caracterização estrutural e para a determinação do grau médio de substituição ($\overline{GS}$) de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ). Um espectro típico deste derivado é mostrado na Figura 15, sendo possível observado os seus sinais característicos em 2,0 ppm (grupo acetamido); 3,2 ppm (grupo amino quaternário); 3,5 ppm (grupo hidroxila) e 4,8 à 5,0 ppm (hidrogênio anomérico), sendo o grau médio de substituição ($\overline{GS}$) determinado pela equação 20:

$$\% \overline{GS} = \frac{I_{1'}}{I_1 + I_{1'}} \quad \text{Equação 20}$$

Onde I_1 é a intensidade do sinal correspondente ao hidrogênio do carbono anomérico na unidade glicosídica não modificada e $I_{1'}$ corresponde ao hidrogênio do carbono anomérico da unidade glicosídica contendo grupo amino quaternário.

Figura 15: Espectro de RMN-¹H característico de HPTAQ em D₂O/HCl.

4.4.3. Viscosimetria

Para a determinação da viscosidade intrínseca de quitosana e de HPTAQ, cerca de 20 mg da amostra foram suspensos em 25mL de solução de ácido acético 0,6 mol L⁻¹ sob agitação magnética constante durante 24h. Em seguida foram adicionados 25ml de acetato de sódio 0,4 mol L⁻¹ e a agitação procedeu por mais 24 horas. A solução resultante foi filtrada sob pressão positiva em membrana com diâmetro dos poros de 0,45µm (Millipore – White SCWP). Para a determinação da viscosidade intrínseca de *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ), as soluções das amostras produzidas neste estudo foram preparadas pela dissolução de 125 mg da amostra em 50 mL de solução aquosa de NaCl 0,1 mol/L sob agitação constante por 24 horas, e após esse tempo a solução resultante foi submetida ao mesmo procedimento que as soluções de quitosana.

Alíquotas de 15mL das soluções de quitosana (ou TMQ ou HPTAQ) foram transferidas para um viscosímetro capilar de vidro (do tipo Ubbelohde, φ=0,53mm) e as medidas de tempo de escoamento foram determinadas em viscosímetro AVS-350 acoplado a um módulo diluidor automático AVS-20, ambos da Schott-Geräte. Todas as medidas de tempo de escoamento foram realizadas a (25,00 ± 0,01°C). No caso de quitosana e HPTAQ, tampão ácido acético 0,3 mol/L/ acetato de sódio 0,2 mol/L (pH = 4,5) foi usado como solvente para fazer as diluições sequenciais, enquanto que no caso das amostras de TMQ o solvente utilizado foi uma solução aquosa de NaCl 0,1 mol/L. Os valores de tempo de escoamento correspondem à média de três determinações independentes que não apresentaram variação maior que 0,5%. Empregando as condições e considerando os intervalos de concentração das soluções de quitosana analisadas, a aproximação seguinte foi utilizada:

$$\eta_{rel} \cong \frac{t'_c}{t'_0} \quad \text{Equação 21}$$

sendo: η_{rel} = viscosidade relativa da solução de quitosana de concentração C; t'_c = tempo de escoamento da solução de quitosana de concentração C (corrigido); t'_0 = tempo de escoamento do solvente (corrigido).

Para a determinação da viscosidade intrínseca das amostras, a viscosidade relativa (η_{rel}) das soluções foi mantida no intervalo de 1,2 - 1,8, caracterizando sistema diluído, e foi realizado a extrapolação do valor da viscosidade reduzida à concentração nula.

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{C}$$

Equação 22

4.4.4. Rendimento mássico

No caso da reação de *N*-metilação extensiva de quitosana, o rendimento mássico da reação (R) foi determinado a partir da razão entre as massas do produto recuperado após o processo de liofilização e dos reagentes de partida (massa quitosana + massa iodometano). O rendimento mássico da reação (R) de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio foi determinado a partir da razão entre as massas do produto recuperado após o processo de precipitação em acetona e secagem em estufa, e dos reagentes de partida (massa quitosana + massa cloreto de glicidiltrimetilamônio).

4.5. Preparo dos complexos surfactante-polieletrólito (CSP's)

Os polieletrólitos usados para formação dos complexos surfactante-polieletrólito foram selecionados dentre as amostras preparadas nos capítulos anteriores, sendo escolhido como amostra do derivado *N,N,N*-trimetiquitosana a TMQ2 e como amostra do *N*-(2-hidroxi)-propil-3trimetilamônio quitosana a HPTAQ6, enquanto que o surfactante escolhido foi o decanossulfonato de sódio adquirido da Sigma Aldrich.

Soluções estoques de TMQ2, HPTAQ6 e de decanossulfonato de sódio foram preparadas. A seguir volumes iguais das soluções de surfactante e polieletrólito foram misturados de modo a obter uma solução final onde a concentração do polieletrólito foi de 1×10^{-3} monomol/L (ou 3×10^{-3} monomol/L) e a concentração do surfactante foi de 1×10^{-3} mol/L (ou 1×10^{-4} mol/L), desse modo os complexos surfactante-polieletrólito produzidos apresentaram razão de carga ($Z = q_-/q_+$) de valor igual 1,0 ou 0,1 ou 0,03, onde q_- é carga devido os ânions decanossulfonato e q_+ é a carga devido os cátions TMQ^+ ou $HPTAQ^+$. A solução final foi deixada sob agitação durante 12 horas antes de se realizar qualquer medição de suas propriedades (Babak et al. (1999) e Desbrieres; Babak (2008)).

4.5.1. Estudo condutimétrico

A condutimetria é uma técnica utilizada frequentemente para o estudo dos tensoativos iônicos para determinar sua concentração micelar crítica (c.m.c.). Para tal estudo, foi preparado uma solução estoque do surfactante decanossulfonato de sódio ($C = 0,3 \text{ mol/L}$) em água. Alíquotas de 0,2 mL da solução estoque foram sucessivamente adicionadas à 25 mL de água à temperatura de 30°C , sendo anotado o valor da condutividade da solução após estabilização do sinal (ou resposta). Foi preparada uma solução estoque do polieletrólito TMQ2 (ou HPTAQ6) de concentração igual a $2 \times 10^{-2} \text{ monomol/L}$ em água. Alíquotas de 0,2 mL da solução estoque foram sucessivamente adicionadas à 25 mL de água à temperatura de 30°C , sendo anotado o valor da condutividade da solução após estabilização do sinal (ou resposta). Geralmente, em cada procedimento de titulação foram realizadas 30 adições e o experimento foi realizado em duplicata.

Titulação condutimétrica foi utilizada para determinar o valor da concentração micelar crítica do surfactante, além do efeito da concentração do surfactante decanossulfonato de sódio sobre a concentração de agregação crítica dos polieletrólitos (c.a.c.). Para tanto alíquotas de 0,2 mL de uma solução estoque de decanossulfonato de sódio foram consecutivamente adicionadas a 25 mL de uma solução aquosa de TMQ2, ou HPTAQ6, com concentração de $1 \times 10^{-1} \text{ monomol/L}$ (ou $3 \times 10^{-3} \text{ monomol/L}$). O número de alíquotas adicionadas foram tal que a concentração final de surfactante atingisse os valores de $1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ (ou $1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$).

4.5.2. Estudo tensiométrico

Soluções do surfactante decanossulfonato de sódio (DS) com concentração variando no intervalo $1 \times 10^{-6} \text{ mol/L} - 1 \times 10^{-1} \text{ mol/L}$; soluções aquosas dos polieletrólitos TMQ2 e HPTAQ6 com concentrações no intervalo $1 \times 10^{-3} \text{ monomol/L} - 3 \times 10^{-3} \text{ monomol/L}$ e soluções contendo os CSP's (TMQ2/DS, ou HPTAQ6/DS, contendo a razões de carga $Z = 0,03; 0,10$ ou $1,0$, foram estudadas no tensiometro de gota pendente Tracker IT Concept (França). A cinética de adsorção interfacial das espécies foi

acompanhada através da evolução do valor de tensão interfacial em função do tempo. As medidas de tensão interfacial (γ) foram feitas à 30 ($\pm 1^\circ\text{C}$).

Com a técnica de tensiometria da gota pendente também foi possível determinar a característica viscoelástica do filme interfacial formado a partir das cadeias adsorvidas de todas as espécies acima mencionadas. O módulo elástico complexo bi-dimensional (E) da camada adsorvida na interface foi encontrado da medida da variação da tensão superficial como resposta da variação da dilatação sinusoidal da área de superfície da gota. Todas as medidas foram realizadas durante um tempo suficientemente grande para acompanhar o efeito do envelhecimento da gota na tensão interfacial e nas propriedades reológicas da camada de surfactante, dos polieletrólitos e dos complexos adsorvidos à interface da gota ar/água.

4.6. Preparo das emulsões óleo/água

Emulsões foram preparadas pela adição de 5g de óleo de girassol em 15g de H_2O ; ou solução aquosa de dacanossulfonato de sódio; ou de polieletrólito (TMQ2 ou HPTAQ6); ou de CSP (TMQ2/DS ou HPTAQ6/DS). As concentrações finais de DS foi de 1×10^{-4} mol/L, polieletrólito igual a 1×10^{-3} monomol/L e os CSP apresentam um valor de $Z = 0,1$. Em seguida as amostras foram agitadas em ultraturrax durante 3 min, com o posterior armazenamento em geladeira a 4°C .

4.6.1. Estudo turbidimétrico e estudo de fluorescência

A fluorescência tem sido muito utilizada para estudar a interação entre polímeros, polieletrólitos e seus derivados hidrofobicamente modificados. Para avaliar tais interações, é necessário a presença de uma sonda fluorescente na solução, ou seja, moléculas e/ou íons que, sob apropriada excitação eletromagnética, emitem luz. Na prática, as características da banda de emissão da sonda são exploradas para fins de monitoramento do microambiente de sistemas moleculares organizados e estão atreladas a fatores como polaridade do meio. O pireno é a sonda fluorescente mais utilizada para este fim. Dentre as propriedades que tornam o pireno uma sonda atraente está a alta

sensibilidade à polaridade dos microambientes. A particularidade é que o espectro de emissão exibe bandas de vibração finas, cujas intensidades relativas são sensíveis à polaridade do meio. Enumerando as bandas de vibração de 1 a 5, que são observadas na temperatura ambiente, a banda I_3 , em 384 nm, mostra pouca sensibilidade aos solventes, enquanto que a banda I_1 , em 372,8 nm, muda a intensidade em função do solvente, aumentando em solventes polares. A medida da polaridade relativa é expressa em termos da relação I_1/I_3 e é utilizada como critério para avaliar a micropolaridade do meio e de microambientes de agregados micelares.

As medidas de fluorescência foram realizadas em fluorímetro F 4500 (HITACHI). Pireno, foi utilizado como sonda fluorescente, sendo a sua concentração igual a 6×10^{-6} mol/L na amostra analisada. A excitação foi realizada a 340 nm e o espectro de emissão foi registrado na escala de 350 a 500 nm. As fendas de excitação e emissão do monocromador foram ajustadas para 5 nm e 10 nm, respectivamente. Sabendo-se que a razão intensidade-altura do primeiro pico (I_1 em 372 nm) ao terceiro pico (I_3 em 384 nm) no espectro de emissão do pireno pode ser usada como um parâmetro sensível para representar a polaridade do microambiente, as razões I_1/I_3 foram plotadas em função das diferentes composições das emulsões de modo a indicar aquela mais hidrofóbica e a mais hidrofílica.

Medidas de análise de turbidez também foram realizadas com o intuito de determinar qual emulsão apresenta a melhor dispersão coloidal do tipo óleo/água. Para a determinação da turbidez destes sistemas, um espectrofotômetro Ultravioleta / Visível - Varian/Cary 5G foi utilizado, realizou-se uma varredura espectral na região do UV-Vis em todas as emulsões produzidas. A absorbância das soluções em $\lambda = 400$ nm foi determinada possibilitando acompanhar como a dispersão de luz é afetada com relação aos constituintes da emulsão (Naves; Petri (2005)).

Parte 5 - Resultados e discussões

A apresentação dos resultados e das discussões está dividida em três partes, sendo inicialmente apresentadas e discutidas as caracterizações estruturais da quitosana de partida e dos seus derivados cationizados (*N,N,N*-trimetilquitosana/TMQ e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana/HPTAQ). Espectroscopias no infravermelho (FTIR) e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-¹H) foram utilizadas para identificar as principais mudanças ocorridas na quitosana de partida, sendo também utilizadas para confirmar se os procedimentos de derivatização foram bem sucedidos. Também, a viscosimetria capilar foi utilizada para determinar a viscosidade intrínseca, o que permite avaliar os efeitos das reações de derivatização sobre o volume hidrodinâmico e inferir a respeito do processo de despolimerização entre os polímeros estudados.

Em seguida, foram discutidos os resultados referentes aos estudos dos efeitos das condições reacionais sobre o rendimento da derivatização de quitosana visando a produção de derivados cationizados (*N,N,N*-trimetilquitosana/TMQ e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana/HPTAQ) e sobre as características dos produtos obtidos.

Na última parte foram abordados os estudos de interação de derivados cationizados de quitosana com decanossulfonato de sódio visando produzir complexos do tipo surfactante-polieletrólito (CSP), sendo destacadas as propriedades condutimétricas, interfaciais e de estabilização de emulsões dos complexos.

5.1. Análises Estruturais de *N,N,N*-trimetilquitosana e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana

5.1.1. Espectroscopia no infravermelho

A análise por espectroscopia no infravermelho permite identificar a presença de grupos funcionais, permitindo assim identificar a ocorrência de modificações estruturais bem como a inserção de novos grupos. Como referências para as análises e comparações que se seguem as principais bandas de quitosana na região do infravermelho são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Bandas características de quitosana na região do infravermelho (De Britto; De Assis (2007) e Campana-Filho; Britto (2009) e Mourya; Inamdar (2009) e De Vasconcelos et al. (2011).

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
3600-3200 ^a	Banda de estiramento axial de O-H e N-H
2877 ^b	Banda de estiramento axial de ligação C-H (Csp ³)
1650 ^b	Deformação axial de C=O (banda de amida I)
1590 ^b	Deformação angular de N-H
1417 e 1377 ^b	Acoplamento de estiramento axial C-N e deformação angular N-H
1325 ^c	Amida III
1153 e 897 ^c	Estiramento de ligações glicosídicas C-O e C-O-C.
1066 ^c	Álcoois secundários

^a-banda larga e intensa; ^b- banda definida e média; ^c-banda definida e fraca.

Nas Figuras 16 e 17 estão apresentados os espectros no infravermelho de quitosana e da amostra TMQ2 nas regiões de 4000-400 cm⁻¹ e 1800-1200 cm⁻¹, respectivamente. A partir da análise desses espectros é possível identificar as mudanças estruturais nas cadeias de quitosana após *N*-metilação.

Figura 16: Espectros de FTIR de quitosana e *N,N,N*-trimetilquitosana 2 na região de 4000 - 400 cm^{-1} .

Figura 17: Espectro de FTIR de quitosana e *N,N,N*-trimetilquitosana2 na região de 1800-1200 cm^{-1} .

O espectro de quitosana (Figura 16) apresenta as bandas características desse polissacarídeo, conforme indicado na Tabela 3. Após *N*-metilação (Figura 16) observam-se mudanças na região de 1800-1200 cm^{-1} , sendo que a banda relativa à ligação N-H ($\approx 1590 \text{ cm}^{-1}$) praticamente desaparece, enquanto é observada a banda em 1475 cm^{-1} , que é atribuída à deformação angular assimétrica dos grupos CH_3 introduzidos nas cadeias poliméricas *via N*-metilação. De fato, com a metilação dos grupos aminos é esperado que a banda relativa a N-H diminua apreciavelmente de intensidade enquanto a banda observada em 1475 cm^{-1} confirma a inserção de grupos metila.

A análise do espectro da amostra TMQ2 (Figura 17) permite observar com maior clareza a ocorrência da *N*-metilação de quitosana, pois é nessa região (1800-1200 cm^{-1}) que ocorrem as principais mudanças espectrais que comprovam o sucesso da reação: (I) banda centrada em 1475 cm^{-1} , ausente no espectro de quitosana, devida à deformação angular assimétrica da ligação C-H dos grupos metilas, (II) banda no intervalo 1560 - 1590 cm^{-1} , deformação angular da ligação N-H de grupos aminos, banda presente no espectro de quitosana, mas geralmente pouco intensa ou ausente na TMQ; (III) nova banda ocorre em 1633 cm^{-1} , atribuída ao sal de amônio quaternário; (IV) são observadas bandas na região de 1370-1430 cm^{-1} , que são devidas à absorção característica de N-CH₃. O conjunto de espectros das amostras geradas neste estudo apresentam as mesmas características observadas no espectro da amostra TMQ 2, evidenciando a ocorrência de *N*-metilação de quitosana.

Na caracterização de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ), a espectroscopia no infravermelho também foi utilizada para evidenciar as modificações estruturais decorrentes da reação de quitosana com CGTMA.

Nas Figuras 18 e 19 estão apresentados os espectros no infravermelho de quitosana e da amostra HTPAQ8 nas regiões de 4000-400 cm^{-1} e 1800-800 cm^{-1} , respectivamente. A partir da análise desses espectros é possível identificar as mudanças estruturais nas cadeias de quitosana após *N*-substituição.

Figura 18: Espectro de FTIR de quitosana, e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ8) na região de 4000-400 cm^{-1} .

Figura 19: Espectro de FTIR de quitosana, e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ8) na região de 1800-1000 cm^{-1} .

O espectro de quitosana (Figura 18) apresenta as bandas características desse polissacarídeo. Após *N*-substituição são observadas mudanças na região de 1800 – 800

cm^{-1} , sendo que as diferenças entre os espectros do derivado HPTAQ8 e o da quitosana são semelhantes às aquelas destacadas na comparação entre quitosana e TMQ2, exceto pela banda intensa em 1400 cm^{-1} que é observada no espectro da HPTAQ8 e que é atribuída à deformação de CH_2 e CH_3 .

Na Figura 19 é possível observar com maior clareza a ocorrência da *N*-substituição de quitosana, pois é na região de $1800\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ que ocorrem as mudanças espectrais que comprovam a síntese da *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ). A exemplo do espectro da TMQ, no espectro de HPTAQ também são observadas as seguintes alterações: (I) diminuição de intensidade da banda em 1590 cm^{-1} ; (II) aparecimento da banda em 1475 cm^{-1} (grupos metilas de sais de amônios quaternários); (III) banda em 1400 cm^{-1} , referente à deformação de CH_2 e CH_3 . As bandas de álcoois primários e secundários em 1152 cm^{-1} e 1030 cm^{-1} não se alteraram, indicando que a substituição ocorreu no C_2 (Bu et. al. (2012) e Luo, Jiwen et. al. (2010) e Pereira et. al. (2003) e Ruihua, Huang et. al. (2012) e Sparks. (1998)). O conjunto de espectros das amostras de HPTAQ geradas neste estudo apresentam as mesmas características observadas no espectro da Figura 16, evidenciando a ocorrência da reação de quitosana e CGTMA.

5.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H)

No espectro de RMN- ^1H de quitosana (Figura 20) os sinais principais estão localizados em: (I) $\approx 2.0\text{ ppm}$, o qual é atribuído aos hidrogênios metílicos do grupamento acetamido, (II) $\approx 3,0 - 4,2\text{ ppm}$, os quais são atribuídos aos hidrogênios ligados aos carbonos 2 a 6 do anel glicopiranosídico. (III) $\approx 4,5 - 5,5\text{ ppm}$, os quais são atribuídos aos hidrogênios do carbono anomérico. O valor do grau médio de acetilação por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H) foi igual a 5,0%, calculado a partir da equação 17 (Hirai et al. (1991)).

Figura 20: Espectro de RMN- ^1H característico de quitosana em $\text{D}_2\text{O}/\text{HCl}$ onde $\text{R} = \text{COCH}_3$ ou H .

O espectro de RMN- ^1H da amostra TMQ2 (Figura 21) mostra sinais característicos em 2,7 ppm, 3,2 ppm, 3,5 – 4,0 ppm e 4,4 -5,5 ppm, conforme a literatura (De Britto; Assis (2007) e Curti et al. (2003) e Mourya; Inamdar (2009).

Entretanto, no sentido de identificar a ocorrência de *N,N*-dimetilação e para caracterizar precisamente os sinais devidos à *N,N,N*-trimetilação, o espectro de RMN- ^1H da TMQ2 foi adquirido em diferentes valores de pH, sendo observado que a maioria dos sinais não foi afetada pelo pH. Porém os sinais na região de 4,5 – 5,5 ppm foram influenciados pelo pH (Figura 22A) sendo observado que os sinais em 4,8 ppm e 4,6 ppm tendem a se sobrepor com o aumento da basicidade da solução, prejudicando assim a resolução do espectro. Além disso, o singlete centrado em 2,7 ppm foi deslocado para campo magnético mais intenso com o aumento da basicidade da solução (Figura 22A) enquanto que a redução do pH deslocou esse sinal para campo magnético menos intenso (Figura 22B). Tal comportamento claramente indica que a blindagem/desblindagem dos átomos de hidrogênio que produzem este sinal é influenciada pela disponibilidade de prótons no meio, sugerindo que o processo de protonação/desprotonação foi o responsável por esse comportamento.

Figura 21: Espectro de RMN- ^1H da amostra de TMQ2 em D_2O .

Figura 22: Espectro de RMN- ^1H da TMQ 2 em D_2O com sucessivas adições de NaOD 0,16M (A) e com sucessivas adições de DCl 0,16M (B).

(A)

(B)

De fato, os espectros apresentados na Figura 22 claramente mostram que o sinal em 3,2 ppm, atribuído aos sítios *N,N,N*-trimetilados não sofre qualquer influência do pH enquanto que o sinal em 2,7 ppm se desloca para campo magnético mais ou menos intenso de acordo com o valor do pH. É observado que quando o pH diminui devido a adição de um ácido forte (DCl), o sinal inicialmente observado em 2,7 ppm se desloca para uma região de maior deslocamento químico, atingindo o valor máximo de 3,1 ppm, portanto o deslocamento ocorre para região de campo magnético menos intenso, caracterizando a ocorrência de desblindagem. Por outro lado, quando uma base forte (NaOD) foi adicionada ao meio esse mesmo sinal se deslocou no sentido oposto, i. e. para a região de campo magnético de maior intensidade, caracterizando a ocorrência de blindagem. A análise dos espectros (Figura 22) também revela que o deslocamento do sinal em 2,7 ppm é reversível, indicando a ocorrência de equilíbrio químico envolvendo os íons D_3O^+ e o grupo funcional que origina este sinal. Tal comportamento permite atribuir inequivocamente as identidades dos sinais em 3,2 ppm e 2,7 ppm aos grupos *N,N,N*-trimetil e *N,N*-dimetil do derivado TMQ, respectivamente. De fato, como o grupo $-N^+(CH_3)_3$ não tem pares de elétrons não-compartilhados no átomo do nitrogênio, a presença dos íons D_3O^+ não afeta o deslocamento químico dos prótons metílicos. Entretanto, como o átomo de nitrogênio do grupo $-N(CH_3)_2$ tem um par de elétrons não-compartilhados, a espécie $-ND^+(CH_3)_2$ é formada como resultado da reação com íons D_3O^+ , alterando o ambiente químico e resultando no deslocamento do sinal relativo aos prótons metílicos do grupo *N,N*-dimetil.

A comparação dos comportamentos dos sinais dos hidrogênios dos grupos *N,N,N*-trimetil e *N,N*-dimetil em função do pH (Figura 23) confirma as atribuições acima mencionadas.

Figura 23: Deslocamento químico dos grupos aminos trimetilados e dimetilados em função do pH (A) e deslocamento químico relativo do grupo dimetilado ($\Delta\delta = \delta N(CH_3)_2 - \delta N^+(CH_3)_3$) em função do pH (B).

(A)

(B)

Tais dados mostram que o deslocamento químico dos prótons metílicos do grupo *N,N,N*-trimetil não se altera com a mudança do pH enquanto que o deslocamento químico dos prótons metílicos do grupo *N,N*-dimetil se desloca para menores valores quando o pH do meio é aumentado (Figura 23A). A curva da Figura 23B mostra o deslocamento do sinal dos prótons metílicos do grupo *N,N*-dimetil relativamente àquele dos prótons do grupo *N,N,N*-trimetil em função do aumento do pH. Assim, em meio ácido (pH=2,2) o grupo $-N(CH_3)_2$ é protonado e adquire carga positiva, tornando o ambiente químico dos hidrogênios metílicos deste grupo semelhante àquele dos hidrogênios metílicos do grupo $-N^+(CH_3)_3$, e resultando em $\Delta\delta \approx 0,25$ ppm (Figura 23B). Por outro lado, à medida que o pH do meio é aumentado pela adição de NaOD o ambiente químico dos hidrogênios metílicos do grupo *N,N*-dimetil vai se tornando cada mais diferente daquele dos hidrogênios metílicos do grupo $-N^+(CH_3)_3$ em função da progressiva desprotonação até atingir $\Delta\delta \approx 0,85$ ppm.

Assim, os seguintes sinais observados no espectro de RMN- 1H da TMQ2 (Figura 21) podem ser inequivocamente atribuídos: I) 2,7 ppm, sinal correspondente aos hidrogênios metílicos de $-N(CH_3)_2$, II) 3,2 ppm, sinal devido aos hidrogênios metílicos do grupo $-N^+(CH_3)_3$, III) 3,6 ppm e 3,5 ppm são atribuídos aos grupos metilas ligados nos oxigênios presentes nos carbonos 3 e 6 da unidade glicosamina, IV) 5,6 – 4,4 ppm, sinais relativos ao hidrogênio ligado ao carbono 1.

Com base nesses dados foi possível distinguir os sinais observados no espectro RMN- 1H do derivado *N*-metilado de quitosana, permitindo a determinação do grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$) das amostras de TMQ, os quais serão apresentados e discutidos no subitem 5.2.1. Importante ressaltar que embora tenham sido observados no espectro da amostra TMQ2 sinais que confirmam a ocorrência de *N,N*-dimetilação e *O*-metilação, estas ocorreram em baixa extensão e não comprometeram a hidrossolubilidade do derivado de quitosana. De fato, é descrito na literatura (Mourya; Inamdar (2009)) que a solubilidade de TMQ em meios aquosos se estende por amplo intervalo de acidez (pH de 1,0 – 9,0) desde que $\overline{GQ} \geq 10\%$, mas é reduzida na medida que a *O*-metilação é favorecida. Assim, considerando que todas as amostras de TMQ produzidas neste trabalho foram solúveis em água para Cp= 1g/L a análise quantitativa dos espectros TMQ se restringe à determinação do grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$).

O espectro de RMN- 1H da amostra HPTAQ8 (figura 24) mostra sinais característicos em 2,0 ppm, 3,0 ppm, 3,2 ppm, 3,3 ppm, 3,4 – 4,0 ppm, 4,6 ppm, 4,9 ppm e 5,0 ppm (Desbrières et. al. (1996) e Seong et. al. (2009)), sendo que o sinal mais intenso

em $\delta = 3,2$ ppm corresponde aos prótons do grupo metil da amina quaternária ($-N^+(CH_3)_3$). O sinal em $\delta = 2,0$ ppm foi atribuído aos prótons do grupo acetil ($-COCH_3$); os sinais em $\delta = 3,0$ ppm, $\delta = 3,3$ ppm e $\delta = 4,6$ ppm foram atribuídos aos prótons H_a , H_c e H_b , respectivamente. Os sinais no intervalo 3,4 ppm – 4,0 ppm foram atribuídos aos hidrogênios presentes nos carbonos C2 a C6 do anel glicosídico ($H_2 - H_6$). Já os sinais em 4,9 ppm e 5,0 ppm foram atribuídos ao hidrogênio do carbono anomérico (C1), sendo que o primeiro sinal atribuído a unidade glucosamina não substituída (H_1) e o último atribuído a unidade glucosamina monosubstituída ($H_{1'}$) (Desbrières et. al. (1996) e Luo, Jiwen et. al. (2010)).

Após a identificação dos sinais presentes no espectro de RMN- 1H da HPTAQ8 foi possível determinar o valor do grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$) deste derivado de quitosana, utilizando a equação 20, como $\overline{GQ} = 45,5\%$. Todas as demais amostras dos derivados HPTAQ apresentaram as características discutidas acima.

Adicionalmente, foi constatado que os sinais referentes a H_1 e $H_{1'}$ no espectro RMN- 1H de HPTAQ8 exibem deslocamentos químicos que dependem do pH, sendo encontrado uma melhor resolução do espectro quando este é feito em meio ácido, pois os sinais $H_{1'}$, H_1 e H_b apresentam-se mais definidos (Figura 25).

Figura 24: Espectro RMN-¹H do derivado HPTAQ8 em D₂O/HCl 1%.

Figura 25: Efeito do pH sobre o espectro de RMN-¹H do derivado HPTAQ8.

5.1.3. Viscosimetria

Todas as amostras de TMQ foram solúveis em água e em solução aquosa de NaCl 0,1mol/L, sendo esta última solução empregada como solvente para as medidas de viscosidade, enquanto que a quitosana de partida e as amostras de HPTAQ, as quais foram em sua maioria insolúveis em água e em solução aquosa de NaCl 0,1 mol/L, foram analisadas em tampão ácido acético 0,3 mol/L/ acetato de sódio 0,2 mol/L. As curvas de viscosidade reduzida versus concentração de quitosana, TMQ2 e HPTAQ9 são mostradas na Figura 26.

Figura 26: Curvas de viscosidade reduzida versus concentração de quitosana*, TMQ2** e HPTAQ9*.

*Tampão ácido acético 0,3mol/L/acetato de sódio 0,2mol/L; ** NaCl 0,1 mol/L; temperatura = 25 °C.

A viscosidade reduzida de uma solução de polieletrólito pode ser descrita como uma função de sua viscosidade intrínseca e de sua concentração se não ocorrerem interações entre as macromoléculas (sistema diluído) e quando existe a presença de excesso de sal. Neste caso, pode-se utilizar a relação de Huggins:

$$\eta_{red} = [\eta] + k_H[\eta]^2C \quad \text{Equação 21}$$

onde, η_{red} é a viscosidade reduzida; $[\eta]$ é a viscosidade intrínseca; k_H é a constante de Huggins e C é a concentração do polieletrólito.

Dessa forma a viscosidade intrínseca é dada pelo coeficiente linear da equação, sendo o seu valor determinado quando é realizada a extrapolação da viscosidade reduzida para um valor de concentração tendendo a zero. A viscosidade intrínseca fornece uma medida do volume hidrodinâmico efetivo da macromolécula isolada e depende da massa molar, estrutura e conformação da macromolécula, da qualidade do solvente e da temperatura.

Outra informação importante que pode ser obtida a partir da equação 21 é o valor da constante de Huggins (k_H), o qual pode ser obtido a partir do coeficiente angular da equação de η_{red} versus C , e expressa a qualidade do solvente utilizado para solubilizar o polieletrólito, sendo que valores de $k_H < 0,8$ indicam que se trata de bom solvente (Delpech et. al. (2007)).

O tratamento dos dados de viscosidade permitiu analisar a qualidade dos dados e do solvente empregado, bem como determinar a viscosidade intrínseca das amostras de TMQ (Tabela 4).

Tabela 4: Valores de grau médio de quaternização, viscosidade intrínseca e constante de Huggins das amostras de TMQ.

AMOSTRA	Solubilidade*	$\overline{GQ}$ (%)	$[\eta]$ (mL/g)	k_H	r^2
TMQ 1	+	$21,0 \pm 0,71$	$180,0 \pm 2,82$	0,51	0,987
TMQ 2	+	$46,0 \pm 1,13$	$213,0 \pm 0,71$	0,22	0,870
TMQ 3	+	$24,6 \pm 0,85$	$98,0 \pm 1,41$	0,70	0,983
TMQ 4	+	$28,5 \pm 0,85$	$116,5 \pm 0,71$	0,59	0,992
TMQ 5	+	$9,7 \pm 0,56$	$178,0 \pm 2,82$	0,29	0,999
TMQ 6	+	$20,8 \pm 0,56$	$193,0 \pm 1,41$	0,38	0,986
TMQ 7	+	$62,9 \pm 0,56$	$13,7 \pm 0,71$	0,60	0,994
TMQ 8	+	$67,1 \pm 0,71$	$69,5 \pm 1,41$	0,35	0,914

*Solvente água, à 25 °C; ($C_{polimero} = 1,0$ mg/mL); + (solúvel); - (insolúvel).

A partir dos dados apresentados na Tabela 4 é possível concluir que a solução aquosa NaCl 0,1 mol/L é uma boa escolha de solvente para determinar a viscosidade intrínseca de TMQ, visto que os valores de constante de Huggins são, em todos os casos, inferiores a 0,7. Adicionalmente, o ótimo ajuste dos pontos experimentais às retas calculadas ($r^2 \geq 0,9$), mostra a adequação dos procedimentos de diluição iso-iônica empregados nesses experimentos. Além disso, os dados da Tabela 4 mostram que a viscosidade intrínseca variou no intervalo $13,5 \text{ mL g}^{-1} \leq [\eta] \leq 213,0 \text{ mL g}^{-1}$, indicando que o volume hidrodinâmico dos derivados produzidos é extremamente influenciado pela condição reacional utilizada.

Tais variações de $[\eta]$ estão relacionadas à massa molecular dos polímeros, suas interações com o solvente e sua dinâmica conformacional, a qual é diretamente afetada pela rigidez/flexibilidade intrínseca das cadeias poliméricas, por fatores estéricos e pela densidade de cargas. A rigidez/flexibilidade intrínseca das cadeias dos derivados TMQ está relacionada à ligação glicosídica $\beta(1 \rightarrow 4)$, mas também devem ser considerados os efeitos decorrentes da presença, natureza e quantidade de substituintes. Assim, embora as unidades estruturais de TMQ sejam unidas pelo mesmo tipo de ligação que ocorre em quitosana, a presença de grupos metila, introduzidos *via* *N*-metilação, impõe restrições estéricas que podem levar ao aumento da rigidez e, conseqüentemente, à extensão das cadeias e ao aumento do volume hidrodinâmico. Adicionalmente, a ocorrência de numerosos sítios *N,N,N*-trimetilados também contribui para a extensão das cadeias devido às interações eletrostáticas repulsivas decorrentes do aumento da densidade de cargas, mais importante quanto maior o grau médio de quaternização de TMQ. De fato, no solvente empregado nessas medidas viscosimétricas, apenas os sítios *N,N,N*-trimetilados contribuem para a densidade de cargas em TMQ.

Assim, levando em conta as densidades de cargas, *i. e.* os graus de quaternização, e desconsiderando os efeitos de *N*- e *N,N*- e *O*-metilação, a comparação de amostras de TMQ quanto aos valores de $[\eta]$ pode ser empregada para avaliar a ocorrência de despolimerização

Por exemplo, a comparação das amostras TMQ1, TMQ3, TMQ4 e TMQ6 revela que aquelas com valores semelhantes de $\overline{GQ}$ (TMQ1/TMQ6; TMQ3/TMQ4) também exibem valores semelhantes de $[\eta]$. Nesse caso, pode ser inferido que a ocorrência de despolimerização foi mais importante na produção das amostras mais substituídas. No

mesmo sentido, a comparação das amostras TMQ5 e TMQ8 permite inferir que a última amostra é mais despolimerizada, pois apresenta uma maior densidade de carga ($\overline{GQ} = 67,1\%$), mas sua viscosidade intrínseca é muito menor ($[\eta] = 69,5 \text{ mL.g}^{-1}$).

Como discutido posteriormente, a ocorrência e a extensão de despolimerização está associada às condições empregadas na preparação de TMQ.

O tratamento dos dados de viscosimetria relativos aos derivados HPTAQ produzidos pela reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Valores de viscosidade intrínseca e constante de Huggins da quitosana de partida e das amostras de HPTAQ.

Amostra	Solubilidade*	$\overline{GS}$ (%)	$[\eta]$ (mL/g)	k_H	r^2
HPTAQ 1	-	1,0	431,5	0,35	0,995
HPTAQ 2	-	3,8	445,9	0,20	0,992
HPTAQ 3	+	1,6	430,7	0,44	0,999
HPTAQ 4	-	10,9	377,9	0,28	0,998
HPTAQ 5	-	1,7	355,7	0,25	0,980
HPTAQ 6	+	33,0	293,4	0,26	0,972
HPTAQ 7	-	7,8	413,8	0,32	0,991
HPTAQ 8	+	45,5	296,5	0,28	0,991
HPTAQ 9	-	0,7	448,0	0,33	0,999
HPTAQ 10	+	27,6	315,1	0,24	0,961
HPTAQ 11	-	0,7	390,8	0,27	0,979
HPTAQ 12	+	18,1	376,0	0,36	0,996
HPTAQ 13	-	1,4	446,5	0,20	0,998

HPTAQ 14	+	24,6	283,0	0,13	0,821
HPTAQ 15	-	7,2	427,7	0,14	0,988
HPTAQ 16	-	8,3	402,6	0,21	0,986
HPTAQ 17	-	8,3	394,5	0,25	0,990
Quitosana	-	-	411,5	0,41	0,999

*Solvente água, a 25 °C; ($C_{polimero} = 1,0$ mg/mL), sendo (+) amostra solúvel, (+/-) amostra parcialmente solúvel, (-) amostra insolúvel.

A partir dos resultados mostrados na Tabela 5 é observado que a viscosidade intrínseca das amostras de HPTAQ variou no intervalo 283,0 mL/g - 448,0 mL/g, revelando que a condição reacional empregada na síntese de HPTAQ também afeta a ocorrência de despolimerização. Neste caso, o fato das medidas de viscosidade terem sido realizadas em tampão ácido acético 0,3 mol/L/acetato de sódio 0,2mol/L (pH=4,5) permite considerar que a densidade de carga seja praticamente constante independentemente do grau médio de substituição ($\overline{GS}$) da amostra de HPTAQ, pois neste meio os grupos amino não-substituídos estão protonados. Além disso, a comparação de valores de viscosidade intrínseca também pode se estender à amostra da quitosana de partida, visto que também foi determinada no mesmo solvente. Assim, as diferenças de viscosidade intrínseca entre as amostras podem ser associadas, principalmente, aos valores de massa molecular. Portanto, a comparação entre a quitosana de partida e as amostras de HPTAQ revela que nos casos das amostras pouco substituídas ($\overline{GS} < 9$ %) a ocorrência de despolimerização não foi tão importante como nos casos em que $\overline{GS} > 10$ %, revelando que as condições que resultam em amostras mais substituídas também provocam despolimerização mais acentuada. Por exemplo, a execução da reação em temperatura elevada, como nos casos das amostras HPTAQ6, HPTAQ8 e HPTAQ14, todas produzidas a 50 °C, gera amostras mais substituídas mas também resulta em maiores taxas de despolimerização, provavelmente devido á maior liberação de íons H^+ no meio reacional (De Britto et al. (2011), favorecendo a ocorrência de hidrólise ácida (Gabriel (2009))).

Também, os dados da Tabela 5 revelam que o tampão ácido acético 0,3 mol/L/acetato de sódio 0,2 mol/L, empregado nas medidas de viscosidade de quitosana e

das amostras HPTAQ, é um bom solvente para esses polímeros, pois $k_H < 0,8$, e os valores de $r^2 \geq 0,98$ mostram a boa adequação dos procedimentos de diluição isoônica.

5.1.4. Conclusões parciais

As caracterizações estruturais da quitosana de partida e dos seus derivados cationizados (TMQ e HPTAQ) empregando espectroscopias no infravermelho (FTIR) e de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H) permitem concluir que, independentemente da condição reacional empregada, os procedimentos foram bem sucedidos no que diz respeito às modificações desejadas.

As análises dos espectros de FTIR da TMQ e da HPTAQ mostraram que as reações de derivatização de quitosana ocorreram preferencialmente nos grupamentos amino de unidades GlcN, em maior ou menor extensão em função da condição reacional empregada.

No espectro RMN- ^1H da amostra TMQ2, representativo do conjunto de amostras de *N,N,N*-trimetilquitosana, foram observados sinais relativos à ocorrência de *O*-metilação, o que não afetou a solubilidade das amostras em água e em solução aquosa de NaCl 0,1 mol/L, indicando que a *O*-metilação ocorreu em baixa extensão. Também, o estudo do efeito do pH sobre o espectro RMN- ^1H de TMQ2 permitiu distinguir inequivocamente o sinal relativo à presença de sítios *N,N*-dimetilados ($-\text{N}(\text{CH}_3)_2$), pois este se deslocou para a região de blindagem (desblindagem) quando o pH do meio foi aumentado (diminuído). Foi ainda observado que os sinais H_1 , H_1' e H_b do espectro de HPTAQ8, representativo das amostras de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana, são deslocados em função do pH.

As medidas de viscosidade permitiram concluir que tanto na preparação de *N,N,N*-trimetilquitosana quanto na de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana ocorreu despolimerização, mais ou menos acentuada em função das condições reacionais empregadas. Também foi possível concluir que a solubilidade de HPTAQ em água depende do grau médio de substituição da amostra, sendo observada completa solubilidade quando $\overline{GS} > 18\%$.

5.2. Planejamento fatorial e análise estatística da síntese dos derivado quaternário de quitosana

5.2.1. Síntese de *N,N,N*-trimetilquitosana via extensiva *N*-metilação

De acordo com o planejamento fatorial proposto, 8 experimentos foram realizados em duplicata, gerando os resultados expressos na Tabela 6.

Tabela 6: Variáveis independentes (tempo, [NaOH] e $\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$) do planejamento fatorial completo 2^3 e resultados experimentais relativos ao rendimento da reação (R) de *N*-metilação de quitosana e às características das amostras de TMQ.

Amostras	Variáveis Independentes			Respostas*		
	Tempo (h)	[NaOH] (% m/v)	$\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$	$\overline{GQ}$ (%)	$[\eta]$ (mL/g)	R (%)
TMQ1	6 (-1)	15 (-1)	9 (+1)	$21,0 \pm 0,71$	$180,0 \pm 2,82$	$58,0 \pm 0,28$
TMQ 2	24 (+1)	15 (-1)	9 (+1)	$46,0 \pm 1,13$	$213,0 \pm 0,71$	$81,8 \pm 0,71$
TMQ 3	6 (-1)	40 (+1)	9 (+1)	$24,6 \pm 0,85$	$98,0 \pm 1,41$	$78,4 \pm 0,35$
TMQ 4	24 (+1)	40 (+1)	9 (+1)	$28,5 \pm 0,85$	$116,5 \pm 0,71$	$58,7 \pm 1,83$
TMQ 5	6 (-1)	15 (-1)	36 (-1)	$9,7 \pm 0,56$	$178,0 \pm 2,82$	$31,9 \pm 0,28$
TMQ 6	24 (+1)	15 (-1)	36 (-1)	$20,8 \pm 0,56$	$193,0 \pm 1,41$	$71,1 \pm 0,14$
TMQ 7	6 (-1)	40 (+1)	36 (-1)	$62,9 \pm 0,56$	$13,7 \pm 0,71$	$12,1 \pm 0,42$
TMQ 8	24 (+1)	40 (+1)	36 (-1)	$67,1 \pm 0,71$	$69,5 \pm 1,41$	$25,3 \pm 0,28$

*valor médio $\pm$ desvio padrão

Tais dados mostram que as variações de $\overline{GQ}$ e do rendimento da reação (R) se inserem nos intervalos $9,7\% < \overline{GQ} < 67,1\%$ e $12,1\% < R < 81,8\%$, respectivamente, mostrando a forte influência das condições reacionais sobre a eficiência da reação no que diz respeito à geração de grupos $-N^+(\text{CH}_3)_3$ ao longo das cadeias de quitosana e quanto ao rendimento mássico da reação. Além disso, a variação de viscosidade intrínseca das amostras de TMQ, que se insere no intervalo $13,7 \text{ mL/g} < [\eta] < 213,0 \text{ mL/g}$, revela que as condições reacionais também afetam fortemente a ocorrência de despolimerização.

Assim, o conjunto de dados da Tabela 6 confirma que a escolha das variáveis independentes e de seus respectivos intervalos de variação bem como a elaboração do planejamento fatorial completo foram criteriosos, gerando um conjunto coerente de respostas que permite concluir sobre as melhores condições reacionais a serem aplicadas visando à preparação de TMQ.

O método estatístico dos mínimos quadrados (MLS) foi aplicado para ajustar um modelo polinomial aos dados experimentais. A qualidade do modelo gerado foi avaliado pelas análises de variância (ANOVA), coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente ajustado de determinação (R^2_{adj}). A partir dos resultados das análises de variância (Tabela 7) é observado que o modelo gerou valores elevados de F e baixos valores de p ($p < 0,01$) em relação às três respostas do sistema estudado. Além disso, valores elevados de R^2 e R^2_{adj} também foram observados, indicando que os modelos foram altamente significativos para os dados obtidos e que são capazes de descrever adequadamente as relações entre as condições dos experimentos e as respostas obtidas.

Tabela 7: Resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficientes de regressão estimados para o grau de quaternização ($\overline{GQ}$), viscosidade intrínseca ($[\eta]$) e rendimento de reação de *N*-metilação de quitosana.

Termo ^a	Respostas								
	$\overline{GQ}$ (%)			$[\eta]$ (mL/g)			Rendimento (%)		
	CE ^b	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value	CE	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value	CE	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value
X ₁	2,63*	24,25	834,89	3,54*	14,58	1277,13	2,65*	25,14	1438,88
X ₂	-0,34*	-5,48	3131,35	-1,35*	-9,58	18600,53	2,18*	35,69	2102,01
X ₃	-479,81*	-18,70	697,50	927,14*	16,12	2031,51	-52,19**	-2,09	8377,32
X ₁ .X ₂	-0,06*	-16,85	335,04	-0,09*	-10,59	59,77	-0,11*	-32,39	2170,21
X ₁ ..X ₃	-17,79*	-12,13	79,04	-40,71*	-12,39	32,36	3,91*	2,74	1047,50
X ₂ ..X ₃	25,64*	30,18	5495,54	-58,00*	-30,47	1039,17	-26,27*	-31,73	1777,33
X ₁ .X ₂ .X ₃	0,45*	9,28	86,17	1,76*	16,19	262,15	0,55*	11,71	137,01
R ²	0,9992			0,9996			0,9995		
R ² _{adj}	0,9986			0,9993			0,9991		

^aX₁ = tempo (h); X₂ = [NaOH] (% w/v); X₃ = razão molar CH₃I/Q; ^bCoeficiente estimado; * = significante à 1% de probabilidade (p < 0,01); ** = significante à 5% de probabilidade (p < 0,05).

Os diferentes termos de cada um dos componentes que compõem os modelos foram estatisticamente analisados no intuito de observar qual(ais) termo(s) afeta(m) significativamente as diferentes respostas analisadas. Para isso, os diagramas de Pareto (Figura 27) foram usados como ferramentas para observar graficamente a significância e a importância dos vários termos.

Figura 27: Gráfico de Pareto mostrando a significância dos diferentes termos dos modelos para (A) grau de quaternização $\overline{GQ}$; (B) viscosidade intrínseca ($[\eta]$) e (C) rendimento da reação de *N*-metilação de quitosana.

Assim, pode ser observado que no que tange aos efeitos das condições reacionais sobre o grau de quaternização ($\overline{GQ}$) das amostras de TMQ, todas as variáveis independentes bem como suas interações afetam a resposta analisada de maneira significativa (Figura 27A). Em todos os casos, *i. e.* em relação às variáveis independentes e suas combinações, os efeitos são no sentido de favorecer o aumento de $\overline{GQ}$, exceto as interações tempo de reação/concentração de NaOH (X1/X2) e tempo de reação/razão molar quitosana/iodometano (X1/X3) que apresentam efeito negativo. Também é observado que a interação concentração de NaOH/razão molar iodometano/quitosana (X2/X3) é o fator predominante a favorecer a ocorrência de *N*-metilação extensiva de quitosana. Portanto, as variáveis [NaOH] e CH₃I/Q devem ser consideradas simultaneamente quando o objetivo é preparar *N,N,N*-trimetilquitosana com elevado grau médio de quaternização.

Assim como observado no caso da resposta grau médio de quaternização, todas as variáveis estudadas e suas combinações tiveram efeitos significativos sobre a viscosidade intrínseca ($[\eta]$) das amostras de TMQ (Figura 27B). Entretanto, nesse caso a interação de variáveis concentração de NaOH/razão molar iodometano/quitosana (X2/X3) favorece a diminuição da viscosidade intrínseca bem como as variáveis independentes concentração de NaOH (X2) e razão molar iodometano/quitosana (X3), sendo que a primeira é a que provoca a redução mais acentuada de viscosidade intrínseca. De acordo com essa análise, a preparação de TMQ *via* reação de quitosana com iodometano em meio de solução aquosa de NaOH e *N*-metil-2-pirrolidona deve evitar o uso de elevado excesso de NaOH e iodometano se o objetivo é preservar a viscosidade intrínseca de *N,N,N*-trimetilquitosana.

Também foi observado que todas as variáveis e suas interações resultam em efeito significativo sobre o rendimento da reação, sendo que apenas a variável independente tempo de reação (X1) e as interações tempo de reação/razão molar iodometano/quitosana (X1/X3) e tempo de reação/concentração de NaOH/razão molar iodometano/quitosana (X1/X2/X3) favorecem rendimentos elevados (Figura 27C). Entretanto, é a variável razão molar iodometano/quitosana (X3) que afeta mais negativamente a resposta rendimento da reação e, assim, esta é a principal variável a ser considerada quando se busca rendimento elevado ao executar a reação de *N*-metilação extensiva de quitosana.

Os modelos ajustados para as respostas rendimento da reação (R), grau médio de quaternização ($\overline{GQ}$) e viscosidade intrínseca ($[\eta]$), excetuando todos os termos não-significativos e na forma codificada, são dados nas equações 22-24. A significância de cada coeficiente foi determinado usando *t*-teste e valores *p* como mostrado na Tabela 8.

$$\overline{GQ} = 20,68 + 2,63X_1 - 0,34X_2 - 479,81X_3 - 0,06X_1X_2 - 17,79X_1X_3 + 25,64X_1X_3 + 0,45X_1X_2X_3 \quad \text{Equação 22}$$

$$[\eta] = 187,49 + 3,54X_1 + 1,35X_2 + 927,14X_3 - 0,09X_1X_2 - 40,71X_1X_3 + 58,00X_2X_3 + 1,76X_1X_2X_3 \quad \text{Equação 23}$$

$$\text{Rendimento} = 30,73 + 2,65X_1 + 2,18X_2 - 0,11X_1X_2 + 3,91X_1X_3 - 26,27X_2X_3 + 0,55X_1X_2X_3 \quad \text{Equação 24}$$

Com base nas citadas equações foram geradas superfícies tridimensionais que expressam os efeitos das variáveis tempo de reação, concentração de NaOH e razão molar iodometano/quitosana, sobre as respostas avaliadas, *i. e.* grau médio de quaternização, viscosidade intrínseca e rendimento da reação (Figura 28).

Assim, é observado (Figuras 28A e 28B) que o aumento simultâneo do tempo de reação, da concentração de NaOH e da razão molar CH₃I/Q resulta em maior valor de $\overline{GQ}$. Entretanto, também é observado (Figura 25C) que em menor concentração de NaOH e elevada proporção de CH₃I/Q o valor de $\overline{GQ}$ diminui, mostrando o efeito que a presença dos íons hidróxido tem sobre os grupos amino e hidroxila da quitosana. Como é sabido, o meio fortemente alcalino torna os grupos –NH₂ e –OH da quitosana mais nucleofílico, favorecendo o ataque ao centro eletrofílico do iodometano. Também, a maior ou menor disponibilidade de iodometano no meio reacional pode influenciar diretamente o grau de quaternização da TMQ. Entretanto, embora as espécies ⁻OH e CH₃I participem diretamente na reação de substituição da quitosana, a maior disponibilidade dessas espécies não reflete diretamente em elevado valor de $\overline{GQ}$, devido à ocorrência de reações indesejadas, como a metilação dos oxigênios 3 e 6 das unidades glicosamina.

Figura 28: Superfícies de resposta relativas aos efeitos do tempo de reação, concentração de NaOH e razão molar quitosana/iodometano sobre grau médio de quaternização (A,B,C), viscosidade intrínseca (D,E,F) e rendimento da reação (G,H,I) de *N*-metilação de quitosana.

As superfícies de resposta descritas pelo modelo da equação para viscosidade intrínseca (Figuras 28D, 28E e 28F) mostram claramente que tempos longos de reação, baixas razões molares $\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$ e baixa concentração de NaOH resultam em aumento gradativo de viscosidade intrínseca. Por outro lado, a ocorrência de reações indesejadas (metilação dos oxigênios 3 e 6 ou mono- e di- metilação do grupo amino) e a despolimerização das cadeias do derivado de quitosana que resulta em diminuição da viscosidade intrínseca, são favorecidas pelo emprego de elevada concentração de NaOH e de maior excesso de iodometano. Tal efeito da $[\text{NaOH}]$ sobre a viscosidade intrínseca das amostras de TMQ pode ser atribuído à ocorrência de hidrólise alcalina das cadeias poliméricas, o que pode ocorrer através da clivagem randômica das ligações glicosídicas nos resíduos GlcNAc ou pelo ataque direto do íon hidróxido ao centro anomérico (Figura 29) (Curti (1999) e Martins et. al. (2013)).

Figura 29: Mecanismo para a hidrólise alcalina da cadeia de quitosana por ataque direto ao centro anomérico (Curti (1999) e Gabriel (2009)).

O tratamento dos dados também mostra que curto tempo de reação e elevada concentração de NaOH resultam em redução do rendimento da reação (Figura 28G), enquanto que o prolongamento da reação e o emprego de menor excesso de iodometano levam ao aumento do rendimento (Figura 28H). Entretanto, o aumento simultâneo da

concentração de NaOH e o emprego de elevada razão molar $\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$ levam à diminuição do rendimento da reação (Figura 28I). Isto pode ser entendido como uma consequência da maior disponibilidade do iodometano no meio reacional, a qual favorece a ocorrência da metilação ao longo das cadeias poliméricas. Dependendo da extensão da metilação a solubilidade da amostra de TMQ será melhorada, o que favorece a recuperação de uma maior quantidade do produto, justificando o maior rendimento da reação. Por isso a variável $\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$ tem grande influência no rendimento da reação. Como discutido anteriormente o emprego de elevada concentração de NaOH promoverá maior despolimerização do derivado de quitosana, o que pode levar a perdas durante o processo de purificação do produto, visto que as cadeias de baixo grau de polimerização podem ser excluídas durante a diálise. Adicionalmente, a maior disponibilidade de iodometano favorece a ocorrência de reações de *O*-metilação e, considerando que as cadeias extensivamente *O*-metiladas exibem baixa hidrossolubilidade, estas também serão excluídas durante o processo de purificação da TMQ.

De acordo com os dados experimentais e com as análises e discussões aqui apresentadas, as interações entre as variáveis independentes que favorecem a produção de TMQ com grau médio de quaternização e viscosidade intrínseca elevados em alto rendimento são relacionadas ao emprego de baixa concentração de NaOH e baixa razão molar iodometano/quitosana, sendo o tempo de reação a variável cuja exploração permite a modulação das respostas. Entretanto, os empregos de elevada concentração de NaOH e de maior excesso molar de iodometano, embora favoreçam a produção de TMQ com elevado grau de quaternização, também favorecem a redução da viscosidade intrínseca do derivado e baixo rendimento reacional, mesmo se a reação é executada por tempo reduzido.

Para determinar as condições experimentais que mais favorecem a obtenção de amostras hidrossolúveis de TMQ em rendimento elevado e baixa ocorrência de despolimerização, foi aplicada a função de desejabilidade (Derringer; Suich (1980)). Esta metodologia consiste na obtenção da função individual de desejabilidade, d , relativa a cada resposta considerada, y , sendo os valores das respostas expressos em escala adimensional variando no intervalo 0 - 1. Na condição de maximizar uma resposta, y , a correspondente função de desejabilidade, d , é do tipo “*the-larger-the-best*” (LTB), e o esquema de conversão pode ser descrito como se segue:

$$d = \begin{cases} 0, & \text{se } y \leq y^{min} \\ \left(\frac{y - y^{min}}{y^{max} - y^{min}} \right)^w, & \text{se } y^{min} \leq y \leq y^{max} \\ 1, & \text{se } y \geq y^{max} \end{cases} \quad \text{Equação 25}$$

onde y é o valor da resposta, y_{min} e y_{max} são os limites inferior e superior da resposta, respectivamente, e w é o peso do coeficiente (no caso $w = 1$). Assim, a desejabilidade global (D) pode ser determinada como:

$$D = (\prod_{h=1}^m d_h)^{1/m} \quad \text{Equação 26}$$

Considerando que a hidrossolubilidade de TMQ em ampla faixa de pH é alcançada a partir de $\overline{GQ} \geq 10\%$ desde que não ocorra extensiva *O*-metilação (Curti et. al. (2003)), que a mucoadesividade e a capacidade de melhorar o transporte transepitelial *via* abertura temporária das junções celulares apertadas (*cellular tight junctions*) de TMQ não são adicionalmente incrementadas para $\overline{GQ} > 48\%$ (Hamman et al. (2003)), e levando em conta os resultados do estudo realizado, os valores máximos e mínimos de $\overline{GQ}$, $[\eta]$ e rendimento reacional foram definidos, bem como os valores de desejabilidade global máxima (D). Os resultados do algoritmo de otimização são mostrados na Figura 30, sendo que as linhas vermelhas verticais nas três linhas superiores de gráficos indicam a condição para máxima desejabilidade individual relativa a $\overline{GQ}$, $[\eta]$ e rendimento reacional, enquanto que na linha inferior é expressa a desejabilidade máxima global, $D=0,8543$.

Figura 30: Perfis dos valores preditos e função de desejabilidade. Linha azul indica o valor atual após a otimização.

Assim, esta análise mostra que quando um dado conjunto de condições reacionais é empregado, *i. e.* tempo de reação de 24 horas, concentração de NaOH ([NaOH]) de 15 % (m/v) e razão molar iodometano/quitosana 9:1, a TMQ resultante apresenta $\overline{GQ}=46,0\%$ e $[\eta]=213,0$ mL/g, sendo o rendimento reacional de 81,8%.

Importante ressaltar que, embora trabalhos anteriores (Dung et. al. (1994) e Curti et. al. (2003)) indiquem tendências semelhantes àsquelas determinadas neste trabalho quanto à influência da concentração de NaOH e da razão molar $\text{CH}_3\text{I}/\text{Q}$ sobre o grau médio de quaternização de *N,N,N*-trimetilquitosana e que a influência da concentração de NaOH sobre a viscosidade intrínseca de TMQ também foi relatada anteriormente por Dung et. al. (1994) e Martins et. al. (2013), este é o primeiro trabalho que aplica planejamento experimental e análises estatísticas para avaliar criteriosamente os efeitos das condições reacionais sobre o rendimento da *N*-metilação extensiva de quitosana e as características de *N,N,N*-trimetilquitosana. Adicionalmente, tal estudo permitiu que fossem definidas as condições reacionais para a produção de TMQ hidrossolúvel com elevado grau de quaternização ($\overline{GQ}=46,0\%$) e elevada viscosidade intrínseca ($[\eta]=213,0$ mL/g), com elevado rendimento (81,8%).

5.2.2. Síntese de derivado quaternário de quitosana via reação com cloreto de glicidiltrimetilamônio

Na Tabela 8 abaixo são apresentados os valores de $\overline{GQ}$, $[\eta]$ e rendimento das reações de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio relativos aos 17 experimentos propostos no planejamento fatorial elaborado para a síntese da *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ).

Tabela 8: Variáveis independentes (tempo, temperatura e CGTMA/Q) do planejamento fatorial completo 2^3 com ponto central e resultados experimentais relativos ao rendimento da reação (R) e às características das amostras de HPTAQ.

Amostra	Variáveis			Respostas*		
	Tempo (h)	Temperatura (°C)	CGTMA/Q	$\overline{GQ}$ (%)	$[\eta]$ (mL/g)	Rendimento (%)
HPTAQ1	6(-1)	30(-1)	2(-1)	1,0	431,5	25,7
HPTAQ 2	6(-1)	50(+1)	2(-1)	3,8	445,9	32,5
HPTAQ 3	18(+1)	30(-1)	2(-1)	1,6	430,7	32,9
HPTAQ 4	18(+1)	50(+1)	2(-1)	10,9	377,9	30,6
HPTAQ 5	6(-1)	30(-1)	4(+1)	1,7	355,7	14,9
HPTAQ 6	6(-1)	50(+1)	4(+1)	33,0	293,4	30,9
HPTAQ 7	18(+1)	30(-1)	4(+1)	7,8	413,8	20,7
HPTAQ 8	18(+1)	50(+1)	4(+1)	45,5	296,5	22,5
HPTAQ 9	12(0)	23(-1,6)	3(0)	0,7	448,0	23,1
HPTAQ 10	12(0)	57(+1,6)	3(0)	27 ,6	315,1	18,6
HPTAQ 11	2(-1,6)	40(0)	3(0)	0,7	390,8	25,4
HPTAQ 12	22(+1,6)	40(0)	3(0)	18,1	376,0	24,9
HPTAQ 13	12(0)	40(0)	1,3(-1,6)	1,4	446,5	31,0
HPTAQ 14	12(0)	40(0)	4,7(+1,6)	24,6	283,0	30,6
HPTAQ 15	12(0)	40(0)	3(0)	7,2	427,7	23,5
HPTAQ 16	12(0)	40(0)	3(0)	8,3	402,6	24,2
HPTAQ 17	12(0)	40(0)	3(0)	8,3	394,5	24,8

Tais dados mostram que a variação de $\overline{GS}$ e do rendimento da reação (R) se inserem nos intervalos $0,7\% < \overline{GS} < 45,5\%$ e $18,6\% < R < 32,9\%$, respectivamente, mostrando a forte influência das condições reacionais sobre a eficiência da reação no que diz respeito à *N*-substituição ao longo das cadeias de quitosana e quanto ao rendimento mássico da reação. Além disso, a variação de viscosidade intrínseca das amostras de HPTAQ, que se insere no intervalo $283,0 \text{ mL/g} < [\eta] < 448,0 \text{ mL/g}$, revela que as condições reacionais também afetam fortemente a ocorrência de despolimerização.

A mesma abordagem empregada na análise estatística dos resultados do estudo de *N*-metilação de quitosana, a saber o método estatístico dos mínimos quadrados, foi aplicado para ajustar um modelo polinomial aos dados experimentais relativos ao estudo da reação de quitosana e cloreto de glicidiltrimetilamônio, sendo os resultados da ANOVA apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Resultados da análise de variância (ANOVA) e coeficientes de regressão estimados para o grau de substituição ($\overline{GS}$), viscosidade intrínseca $[\eta]$ e rendimento de reação (R) de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio.

Termo ^a	Respostas								
	GS(%)			η (mL/g)			Rendimento (%)		
	CE	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value	CE	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value	CE	<i>t</i> -value	<i>F</i> -value
X ₁	-4,4472	-142,07	25741,5	1,90	1,10	408,59	2,49	19,55	723,26
X ₂	-1,4200	-185,92	249696,0	5,62	7,42	0,21	0,36	6,46	5,01
X ₃	-22,05	-235,72	190104,0	-2,72	-0,29	182,03	-8,76	-12,75	335,01
X ₁ X ₂	0,0271	79,61	6337,5	-0,25	-7,54	64,78	-0,05	-19,42	42,46
X ₁ X ₃	0,2292	67,36	4537,5	2,71	8,02	76,21	-0,16	-6,58	118,67
X ₂ X ₃	0,7050	345,38	119286,0	-1,76	-8,72	57,10	0,17	11,08	363,18
R ²	0,9999			0,9981			0,9884		
R ² _{adj.}	0,9999			0,99125			0,9478		

^aX₁= tempo (h); X₂ = temperatura (°C); X₃ = razão molar GTMAC/Q; ^bCoefficiente estimado; * = significativo à 1% de probabilidade (p < 0,01);

**significativo à 5% de probabilidade (p < 0,05)

É observado que o modelo tem alto valores de F e pequenos valores de p ($p < 0,05$) para as três respostas analisadas (grau de substituição, viscosidade intrínseca e rendimento da reação). Além disso, altos valores de R^2 e R^2_{adj} também foram observados, indicando que os modelos foram altamente significativos para os dados obtidos e são capazes de descrever a relação entre as condições dos experimentos e as respostas obtidas.

Neste estudo o diagrama de Pareto foi novamente utilizado como uma ferramenta para demonstrar graficamente a significância e a importância dos vários termos que compõem os modelos matemáticos que descrevem a relação entre as variáveis estudadas e as respostas obtidas ($\overline{GQ}$, $[\eta]$ e Rendimento). O gráfico de Pareto para cada resposta são mostrados na Figura 31.

Figura 31: Gráfico de Pareto mostrando a significância dos diferentes termos dos modelos para (A) grau de quaternização; (B) viscosidade intrínseca e (C) rendimento da reação de quitosana e cloreto de glicidiltrimetilamônio.

(B) Viscosidade intrínseca

(C) Rendimento

No caso do grau de substituição é observado que todas as variáveis analisadas bem com as suas combinações foram significativas para um intervalo de confiança de 95 % (Figura 31A). Todos os termos influenciaram positivamente o valor de $\overline{GS}$, sendo as variáveis temperatura (X2) e razão molar CGTMA/Quitosana (X3), aquelas que mais influenciaram o valor de $\overline{GS}$, seguidos pela combinação das mesmas variáveis. Assim, de acordo com essa análise, na preparação de HPTAQ com elevado valor de $\overline{GS}$

via reação com CGTMA deve ser empregada temperatura relativamente elevada (50 °C), maior excesso de CGTMA (4:1) e maior tempo reacional (18 h).

Quanto à viscosidade intrínseca, é observado que apenas os efeitos das variáveis razão molar de CGTMA/Quitosana (X3) e temperatura (X2) foram significativos (Figura 31B), sendo que ambas afetam negativamente o valor de $[\eta]$. Assim deve ser empregado menor excesso de CGTMA e menor temperatura se o objetivo é produzir HPTAQ pouco despolimerizado.

Relativamente ao rendimento da reação de quitosana e CGTMA, é observado (Figura 31C) que as variáveis razão molar CGTMA/Quitosana (X3) e temperatura (X2) e a combinação das variáveis tempo de reação e temperatura (X1/X2) tiveram efeitos significativos sobre a resposta rendimento da reação. Entretanto, nesse caso a interação de variáveis tempo de reação e temperatura (X1/X2) bem como a variável CGTMA/Quitosana (X3) não favorecem elevado rendimento da reação, sendo que a variável CGTMA/Quitosana (X3) provoca redução mais acentuada que a interação das variáveis, enquanto que a variável temperatura (X2) favorece o aumento do rendimento da reação. Assim para se obter rendimento elevado na reação de quitosana com CGTMA, conforme as condições empregadas neste estudo, temperatura elevada (50 °C) e menor excesso de CGTMA devem ser empregados.

Os modelos ajustados para as respostas grau de substituição, rendimento da reação e viscosidade intrínseca ($[\eta]$), excetuando todos os termos não-significativos e na forma codificada, são dados nas equações 27-29. A significância de cada coeficiente foi determinada usando-se *t*-teste e valores *p* como mostrado na Tabela 10.

$$\overline{GS} = 59,40 + 0,13X_1^2 - 4,45X_1 - 1,42X_2 - 22,05X_3 + 0,03X_1X_2 + 0,23X_1X_3 + 0,70X_2X_3 \quad \text{Equação 27}$$

$$\text{Rendimento} = 17,49 - 8,76X_1 - 0,04X_2X_3 + 0,36X_3 \quad \text{Equação 28}$$

$$[\eta] = 377,81 - 2,81X_1 + 1,83X_3 \quad \text{Equação 29}$$

Com base nas citadas equações foram geradas superfícies de respostas tridimensionais que expressam os efeitos das variáveis tempo de reação, temperatura e razão molar de CGTMA/quitosana, sobre as respostas avaliadas, *i. e.* grau de substituição, viscosidade intrínseca e rendimento da reação (Figura 32).

Parte 5 – Resultados e discussões

Figura 32: Superfícies de resposta relativas aos efeitos do tempo de reação, temperatura e concentração de cloreto de glicidiltrimetilamônio sobre o grau de substituição (A,B,C), rendimento da reação (D, E, F) e viscosidade intrínseca (G).

As curvas apresentadas em 32A- 32C mostram o comportamento do grau de substituição como função da combinação das variáveis estudadas duas a duas. Pode-se observar a partir destas curvas que o aumento do tempo de reação de 6 horas para 18 horas resulta no aumento de $\overline{GS}$, porém aumentos mais significantes no valor de $\overline{GQ}$ foram observados quando a temperatura foi elevada de 30 °C para 50 °C ou quando a razão molar CGTMA/Quitosana passou de 2:1 para 4:1. A maior influência das variáveis temperatura (X2) e CGTMA/Quitosana (X3) sobre $\overline{GS}$ pode ser observada na maior curvatura presente na superfície de resposta (Figura 32C). Tal comportamento corrobora com diagrama de Pareto que mostra o efeito das três variáveis sobre a resposta $\overline{GS}$, o qual mostra que as variáveis temperatura e CGTMA/Quitosana são os fatores de maior influência sobre o valor de $\overline{GS}$. O emprego de temperatura reacional mais elevada promove maior ativação da quitosana e facilita a reação de substituição nucleofílica entre CGTMA e a quitosana, assim $\overline{GS}$ é aumentado quando a reação ocorre em temperatura mais elevada (Ruihua, Huang et. al. (2012)). Quanto ao efeito do excesso de CGTMA, este afeta diretamente a eficiência da reação de substituição e quanto maior a sua disponibilidade no meio reacional maior a probabilidade da reação de *N*-substituição ocorrer, o que também leva a obtenção de derivados mais substituídos, *i. e.* que apresentam valores elevados de $\overline{GS}$.

Conforme observado nas Figuras 32D e 32E, o emprego de menor excesso de CGTMA, de maior tempo de reação e de temperatura mais elevada favorece rendimento elevado da reação. Por outro lado, também foi observado que o maior rendimento da reação ocorreu com o aumento da temperatura e quando a reação ocorreu por tempo curto (Figura 29F) Além disso, é possível observar (Figura 32F) que quando a reação procedeu por tempo longo ($t = 18h$) o rendimento da reação foi praticamente constante independentemente se a reação foi realizada a 30 °C ou a 50 °C. Como explicado acima, o aumento da temperatura favorece a preparação de derivado mais substituído, o que também afeta positivamente a eficiência do processo de purificação do derivado e resulta em maior rendimento da reação. No mesmo sentido, o rendimento da reação é positivamente afetado por longos tempos. Observa-se também que a reação se processa completamente em um tempo bem inferior a 18 horas, por isso o rendimento da reação não se alterou com a variação de temperatura para um tempo de reação relativamente longo.

A superfície de resposta descrita pelo modelo da equação para viscosidade intrínseca (Figura 32G) mostra claramente que menor temperatura do meio reacional e menor excesso de CGTMA aumentam linearmente o valor da viscosidade intrínseca do derivado HPTAQ. Estudo anterior indica que em alta temperatura ocorre maior liberação de íons H^+ no meio reacional (De Britto et. al. (2011)) e, além disso, é sabido que polissacarídeos como a celulose e a quitosana podem sofrer hidrólise ácida devido o ataque da ligação glicosídica pelos íons H^+ (Figura 33).

Figura 33: Mecanismo para a hidrólise ácida da cadeia de quitosana por ataque direto ao centro anomérico. Gabriel (2009).

Desse modo, quando a síntese do HPTAQ é realizada a 50 °C a concentração de íons H^+ é mais elevada quando comparada a sua concentração a 30 °C, favorecendo assim o processo de despolimerização *via* hidrólise ácida. Por isso os derivados HPTAQ produzidos a 50 °C apresentam menores viscosidades intrínsecas quando comparados àqueles que foram produzidos a 40 °C ou 30 °C.

De acordo com os dados experimentais e com as análises e discussões aqui apresentadas, as interações entre as variáveis independentes que favorecem a produção de HPTAQ com elevado grau médio de quaternização são temperatura elevada e maior excesso de cloreto de glicidiltrimetilamônio, sendo a primeira variável aquela que permite a modulação das respostas. Embora o emprego de elevada temperatura e maior excesso de cloreto de glicidiltrimetilamônio favoreça a obtenção de derivado HPTAQ mais substituído, tais condições promovem redução no rendimento reacional e a ocorrência de despolimerização mais acentuada.

Neste estudo também foi aplicada a função desejabilidade (Derringer; Suich (1980)) para determinar as condições experimentais que mais favorecem a obtenção de amostras hidrossolúveis de HPTAQ em rendimento elevado e baixa ocorrência de despolimerização. Os resultados do algoritmo de otimização são mostrados na Figura 34, sendo que as linhas vermelhas verticais nas três linhas superiores de gráficos indicam a condição para máxima desejabilidade individual relativa a $\overline{GS}$, $[\eta]$ e rendimento reacional, enquanto que na linha inferior é expressa a desejabilidade máxima global, $D=0,9486$.

Figura 34: Perfis dos valores preditos e função de desejabilidade. Linha azul indicam valores atuais após a otimização.

Assim, esta análise mostra que quando um dado conjunto de condições reacionais é empregado na síntese da *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana *i. e.* tempo de reação de 6 horas, temperatura 50 °C e razão molar CGTMA/quitosana 4:1, a HPTAQ resultante apresenta $\overline{GQ} = 33,0\%$ e $[\eta] = 294,9$ mL/g, sendo o rendimento reacional de 30,3 %.

Alguns trabalhos anteriores (Luo, Jiwen et. al. (2010 e Ruihua, Huang et. al. (2012) e Seong et. al. (2009)) indicam tendência semelhantes às encontradas nesse estudo, porém este é o primeiro trabalho que aplica planejamento experimental e análises estatísticas para avaliar criteriosamente os efeitos das condições reacionais sobre o rendimento da reação e as características de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana.

5.2.3. Conclusões parciais

As análises dos resultados obtidos pela execução dos planejamentos fatoriais completos 2^3 nos estudos das reações da quitosana com iodometano e com cloreto de glicidiltrimetilamônio para produzir *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) e *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ), respectivamente, permitem concluir que as variáveis reacionais selecionadas e os intervalos de variação estudados foram adequados para ambos os casos. Também, dos resultados das ANOVA's e dos gráficos de Pareto, é possível concluir que todas as variáveis estudadas, e em alguns casos as interações entre as variáveis, resultaram em efeitos significativos sobre as respostas analisadas. Adicionalmente, a modelagem matemática, validada pelos testes estatísticos aplicados, permitiu determinar as condições experimentais a serem empregadas visando produzir os derivados cationizados de quitosana hidrossolúveis (TMQ e HPTAQ) em rendimento elevado e com baixa taxa de despolimerização.

A comparação das duas vias reacionais empregadas para produzir derivados cationizados de quitosana revela que, nas condições estudadas, a *N*-metilação de quitosana com iodometano levou à produção de amostras hidrossolúveis de TMQ com elevados graus médios de quaternização independentemente da condição reacional, enquanto que a reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio resultou em amostras hidrossolúveis apenas quando os derivados HPTAQ apresentaram $\overline{GS} > 18\%$.

Por outro lado, o emprego da primeira via reacional resultou em rendimentos significativamente mais elevados enquanto que a ocorrência de despolimerização foi menos acentuada quando a segunda via reacional foi empregada.

Assim, os fatores acima mencionados podem ser usados como critérios para a seleção entre as vias reacionais empregadas neste estudo para produção de derivados cationizados de quitosana, além daqueles que priorizem características específicas para atender determinadas aplicações finais dos derivados. Critérios adicionais, tais como o consumo de reagentes, solventes e energia, a geração e o descarte de resíduos, o tempo de reação e os procedimentos de isolamento e purificação dos produtos, também devem ser empregados na busca pela via reacional mais adequada.

Nesse sentido, os resultados deste trabalho indicam que a reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio em meio ácido é a via mais adequada, pois é executada em tempos reacionais mais curtos, temperatura branda, não são empregados solventes orgânicos e reagentes carcinogênicos, gera menor quantidade de resíduos e o procedimento de isolamento/purificação do produto é mais simples e rápido. Entretanto, estudos adicionais devem ser realizados visando determinar as condições experimentais que favoreçam rendimentos mais elevados.

Parte 5.3 – Produção de complexos do tipo surfactante-polieletrólito baseados em derivados quaternizados de quitosana para estabilização de emulsões do tipo óleo-água

Surfactantes aniônicos podem se auto-associar em condições adequadas formando micelas, mas também se associam fortemente a polímeros, sendo que a presença destes últimos, geralmente provoca a ocorrência do fenômeno micelização em concentrações mais baixas de surfactante. Em solução aquosa a associação entre polímero e surfactante formam complexos termodinamicamente estáveis, com propriedades físico-químicas diferentes daquelas observadas em soluções de surfactante puro. O conhecimento da composição e das propriedades interfaciais tem trazido entendimento sobre a ação de surfactantes, e outros compostos anfifílicos, para controlar a velocidade de reações químicas, alterar interações do tipo membrana-proteína e também em sistemas de liberação controlada de fármacos. Devido à importância destes complexos nestas áreas

de aplicação, o estudo da formação de complexos entre polímeros e surfactantes encontra particular interesse na área da pesquisa acadêmica e industrial, onde diversas combinações entre polímeros e surfactantes têm sido estudadas.

Nesta parte do trabalho as propriedades condutimétricas e interfaciais dos complexos surfactante-polieletrólito (CSP's), baseados nos derivados cationizados de quitosana (QCat, *i.e.* TMQ2; HPTAQ6) e o surfactante decanossulfonato de sódio (DS) serão estudadas. A escolha dos QCat's considerou as condições reacionais otimizadas anteriormente neste trabalho, e por isso as espécies TMQ2 e HPTAQ6 foram selecionados. Também são discutidos os resultados de estudo inicial visando avaliar a potencial aplicação dos CSP's como agentes estabilizantes de emulsões do tipo óleo/água.

5.3.1. Estudo condutimétrico

A condutividade é a medida da mobilidade das espécies iônicas em solução e, assim, a condutividade de uma solução depende diretamente do número, das cargas e da mobilidade dos íons presentes. Para eletrólitos fortes, a concentração de íons na solução é diretamente proporcional à concentração de eletrólito adicionado, enquanto que para eletrólitos fracos, a concentração de íons na solução depende de seu equilíbrio de dissociação e, assim, a condutividade também depende do grau de ionização, α , do eletrólito. A condutividade molar (expressa em $S.cm^2/mol$) medida na solução de um eletrólito fraco é, na verdade, a condutividade resultante da fração α da concentração total de eletrólito adicionado.

Os surfactantes são compostos que, em certas condições termodinâmicas, tendem a sofrer processo de auto-associação formando as micelas. Esse processo de auto-associação é regido por um equilíbrio químico entre os monômeros do surfactante e as micelas formadas e por isso dependendo da concentração de surfactante, este terá um comportamento de eletrólito forte ou fraco. Em condições termodinâmicas onde a micelização não ocorre, o surfactante se comporta como um eletrólito forte, enquanto que em condições onde o processo de micelização passa a ocorrer o surfactante comporta-se como um ácido fraco, devido ao equilíbrio de dissociação que existe entre os monômeros do surfactantes livre e os monômeros de surfactante que estão formando a micela.

A partir da curva de concentração molar do surfactante ($[S]$) *versus* condutividade específica (σ) pode ser determinada a concentração micelar crítica (c.m.c.), que é caracterizada por uma mudança abrupta da inclinação da curva ($[S]$) *versus* σ . O aumento linear da condutividade abaixo da c.m.c. é característico de eletrólitos fortes, sendo a inclinação da curva dependente da condutividade molar das espécies (contra-íon e radical orgânico) em solução. Após a ocorrência de micelização, cada monômero adicionado contribui para a formação de micelas. As micelas iônicas não são, necessariamente, totalmente ionizadas, mas apenas uma fração α de íons fica livre na solução, comportamento esperado para um eletrólito fraco. A quebra brusca da curva $[S]$ *versus* σ em torno (ou nas proximidades de) c.m.c. ocorre porque no agregado micelar formado nem todos os monômeros estão ionizados e uma fração de contra-íons permanece ligada. Este comportamento de micelização é muito bem observado em uma titulação condutimétrica.

A condutimetria por ser uma técnica rápida e barata é frequentemente utilizada para o estudo dos surfactantes iônicos para determinar sua concentração micelar crítica (c.m.c.). A figura a seguir apresenta a variação da condutividade iônica do surfactante decanossulfonato de sódio, em água, em função da sua concentração.

Figura 35: Curva de condutância versus concentração de decanossulfonato de sódio em água deionizada à 30 °C.

Esta curva apresenta duas partes lineares, sendo que a primeira parte corresponde à dissolução do surfactante liberando as suas moléculas individuais na forma solvatada, as quais são denominadas “monômeros”. Na segunda parte da curva se formam novas espécies carregadas “as micelas”, as quais contribuem para a modificação da inclinação da reta. A região onde ocorre a mudança de inclinação da reta, caracteriza o processo de micelização do surfactante. Assim, na intersecção das duas regiões lineares da curva ($[S]$ *versus* σ) é possível encontrar o valor de concentração a partir do qual passa a ocorrer o processo de micelização, a qual é denominada concentração micelar crítica (c.m.c.). A partir da curva da Figura 35, resulta c.m.c. = 0,0367 mol/L para decanossulfonato de sódio, o qual está em concordância com aquele encontrado na literatura (Moroi et. al. (1999)).

Conforme exposto, a condutividade iônica do decanossulfonato de sódio (DS) em solução aquosa é devida unicamente às espécies $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{SO}_3^-$ e Na^+ .

$$\sigma = (\lambda_{\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{SO}_3^-}^0 + \lambda_{\text{Na}^+}^0) \cdot C_T \quad \text{Equação 30}$$

Segundo a teoria d’ONSAGER (Pirenne (1949)), que descreve o comportamento limite dos íons em solução diluída, a inclinação da curva antes da micelização é representada por:

$$S_{\text{monomero}} = \lambda_{\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{SO}_3^-}^0 + \lambda_{\text{Na}^+}^0 \quad \text{Equação 31}$$

onde $\lambda_{\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{SO}_3^-}^0$ e $\lambda_{\text{Na}^+}^0$, são as condutividades limites equivalentes dos íons decanossulfonato e sódio, respectivamente, extrapolados à diluição infinita (Desbrières; Rinaudo (1999)).

Sendo a teoria d’ONSAGER válida apenas para valores de concentrações de surfactante $\leq 10^{-3}$ mol/L, e conhecendo o valor de $\lambda_{\text{Na}^+}^0 = 50,10 \text{ S.cm}^2/\text{mol}$, pode ser deduzido que $\lambda_{\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2\text{SO}_3^-}^0 = 20,65 \text{ S.cm}^2/\text{mol}$, em concordância com os resultados obtidos para outros surfactantes (Desbrières; Rinaudo (1999)).

O grau de ionização micelar (α) pode ser estimado a partir da razão dos coeficientes angulares (S) das regiões lineares dos gráficos de condutividade específica *versus* [DS], conforme expresso na equação.

$$\alpha = S_{\text{micelar}} / S_{\text{monomero}} \quad \text{Equação 32}$$

onde S_{micelar} e $S_{\text{monômero}}$ referem-se aos coeficientes angulares das regiões lineares acima e abaixo da c.m.c., respectivamente.

Assim, a partir da curva da Figura 35, foi determinado $\alpha = 0,81$ para o decanossulfonato de sódio, indicando a ocorrência de uma elevada associação entre os monômeros do surfactante na formação das micelas.

A exemplo do decanossulfonato de sódio, os derivados TMQ2 e HPTAQ6, são também espécies carregadas, devido à presença de sítios carregados positivamente (grupos amino quaternizados) e os respectivos contra-íons, e por isso é possível realizar estudos condutimétricos destes derivados (Figura 36).

Figura 36: Curva de condutância dos polieletrólitos TMQ2 e HPTAQ6 em água deionizada, à 30 °C.

(A)

(B)

Das Figuras 36A e 36B é possível identificar as inclinações das curvas de condutividade específica *versus* concentração de TMQ2 e HPTAQ6, como 73,4 S.cm²/mol e 25,7 S.cm²/mol, respectivamente. Esses valores representam as contribuições dos íons liberados em solução a partir da dissolução das espécies TMQ2⁺, HPTAQ6⁺ e Cl⁻, e como a mesma concentração de polieletrólito foi utilizada, pode-se inferir que a contribuição iônica do TMQ2⁺ é mais significativa que do HPTAQ6⁺. Como o $\overline{GQ}$ de TMQ2 é superior ao $\overline{GS}$ do HPTAQ6, temos que a primeira apresenta uma maior densidade de carga o que explica a sua maior condutividade. Outra hipótese que pode ser levantada é o fato da TMQ2 possuir um menor volume hidrodinâmico que a HPTAQ6, o que é indicado pelo valor da viscosidade intrínseca de ambas, e por isso a TMQ2 possui uma maior mobilidade cinética e consequentemente uma maior condutividade.

A Figura 37 apresenta os perfis de condutividade *versus* [DS] na presença dos polieletrólitos TMQ2 (1x10⁻³monomol/L) e HPTAQ6 (1x10⁻³monomol/L).

Figura 37: Curva de condutância de TMQ 2 + DS em água (A) e HPTAQ 6+DS em água (B), a 30 °C.

É observado que a curva de condutividade polieletrólito + DS é mais complexa que a dos constituintes puros, destacando-se que as mudanças das inclinações das curvas de condutividade dos sistemas TMQ2/DS e HPTAQ6/DS ocorrem próximas a $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L, concentração 37x inferior que a c.m.c. do DS puro. Esta ruptura da inclinação caracteriza a concentração de agregação crítica (c.a.c.) entre o polímero e o DS. Antes da c.a.c., os monômeros de DS adicionados se associam às moléculas do polieletrólito (TMQ2 ou HPTAQ6) e após a c.a.c. as cadeias dos polieletrólitos encontram-se saturadas

e os novos monômeros de DS adicionados encontram-se livres promovendo um maior aumento da condutividade elétrica na solução.

A tabela 10 lista os valores de c.a.c., coeficientes angulares e razão de cargas obtidos a partir dos gráficos da figura 36.

Tabela 10: Paramêtros obtidos da titulação condutimétrica do sistema TMQ2/DS e HPTAQ6/DS.

Parâmetro	TMQ2 ($\overline{GQ}$ = 46,0%)	HPTAQ6 ($\overline{GS}$ = 33,0%)
c.a.c	$1,09 \times 10^{-3}$ mol/L	$1,02 \times 10^{-3}$ mol/L
Z	1,17	1,19
$S_{\text{antes c.a.c}}$	38,97 S.cm ² /mol	93,72 S.cm ² /mol
$S_{\text{após c.a.c}}$	88,92 S.cm ² /mol	129,97 S.cm ² /mol
$S_{\text{Surfactante puro}}$	70,75 S.cm ² /mol	70,75 S.cm ² /mol

* $S_{\text{antesc.a.c.}}$ = inclinação da curva de titulação condutimétrica antes da c.a.c.; ** $S_{\text{após c.a.c.}}$ = inclinação da curva de titulação condutimétrica após a c.a.c.; *** $S_{\text{Surfactante puro}}$ = inclinação da curva de titulação condutimétrica do decanossulfonato de sódio.

Ao utilizar a equação abaixo e os dados apresentados na tabela 10.

$$\frac{S_{\text{Pol-DS before c.a.c}}}{S_{\text{Surfactant pure}}} = 1 + \left[\frac{\theta}{S_{\text{Surfactant pure}}} \cdot (\lambda_{\text{Cl}^-}^0 - \lambda_{\text{DS}^-}^0 - S_{\text{Pol pure}}) \right] \quad \text{Equação 33}$$

onde λ_i^0 é a mobilidade do ion “i” e θ o grau de associação entre o polieletrólito (TMQ e HPTAQ) e surfactante.

Encontram-se os valores de $\theta = 1,80$ e $0,76$ para TMQ2 e HPTAQ6, respectivamente, indicando que a fração de pares iônicos formados nos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS são elevados, uma vez que valores de $\theta \approx 1,0$ indicam forte interação polieletrólito-surfactante e por isso o processo de dissociação entre ambos ocorre em baixa extensão.

Os resultados das medidas condutimétricas indicam ocorrer uma forte interação entre o decanossulfonato de sódio e os polieletrólitos (TMQ2 e HPTAQ6) pois os valores determinados de θ são proximos de 1,0. Tal interação leva a formação de complexos do tipo surfactante-polieletrólito em concentrações da ordem de 10^{-3} mol/L de surfactante,

valor este que é 37x menor que a c.m.c. do decanossulfonato de sódio puro. Outro comportamento interessante é que os CSP formados por HPTAQ6/DS apresentam uma maior densidade de carga ou mobilidade cinética que os TMQ2/DS levando a uma inversão do comportamento para os polieletrólitos puros.

5.3.2. Estudo de tensiometria

As medidas de tensão de superfície dinâmica e estática foram feitas em tensiometro de gota pendente, disponível no grupo de pesquisa do Prof. Dr. Jacques Desbrières (IPREM/EPCP/UPPA; França). O procedimento consistiu na imersão de uma agulha recurvada dentro de um líquido mais denso, seguido da formação de uma gota pendente de ar na extremidade da agulha. A gota foi iluminada por uma fonte de luz e a imagem de seu perfil foi registrada e enviada para tratamento computacional (software DROPFIT).

Um estudo sistemático da cinética de adsorção dos complexos decanossulfonato de sódio/derivados cationizados de quitosana (QCat/DS) à interface ar/água foi realizado com a finalidade de avaliar como o tipo de derivado de quitosana, a saber *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ2) ou *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana (HPTAQ6), afeta a atividade de superfície de tais complexos.

Inicialmente foi estudado o comportamento de adsorção interfacial de surfactante decanossulfonato de sódio (DS) em água em função de sua concentração. Na figura abaixo pode ser observado como o fenômeno de adsorção deste surfactante, a 30 °C, é influenciado pela concentração ([DS]).

Figura 38: Cinéticas de adsorção à interface ar/água para as soluções de diferentes concentrações de decanossulfonato de sódio, à 30 °C.

A figura 38 mostra as isotermas de tensão de interface dinâmica das soluções de diferentes concentrações do surfactante decanossulfonato de sódio, permitindo ser observado que o aumento da concentração de 1×10^{-6} mol/L até 1×10^{-4} mol/L praticamente não alterou o comportamento das isotermas de tensão de interface, enquanto que em concentrações mais elevadas (1×10^{-3} mol/L – 1×10^{-1} mol/L), a tensão interfacial (γ) apresentou redução significativa.

De modo geral também foi observado que as curvas de tensão de interface em função do tempo apresentam diferentes etapas de adsorção com diferentes tempos característicos: (1) *lag time*; (2) *postlag time* e (3) estágio final, conforme é ilustrado pelo figura 39.

Figura 39: Esquema dos diferentes estágios de adsorção de compostos superficialmente ativos.

O *lag time* ($t < \tau_1$) é um período caracterizado por lenta taxa de redução na tensão de interface, pois a camada de adsorção neste período caracteriza o “estado gasoso” em razão da baixa densidade interfacial da espécie adsorvida. Ao fim deste período, a quantidade adsorvida é aumentada *via* processo de difusão das moléculas do seio da solução para a interface, e um “estado líquido” é formado, levando a uma destacada redução da tensão interfacial. No período *postlag time* ($\tau_1 < t < \tau_2$), a camada adsorvida torna-se mais densa, e o decaimento da tensão de interface é provocado pelo processo de difusão de novas moléculas do seio da solução e, simultaneamente, pela reorganização das moléculas dentro na camada de adsorção já formada pela difusão interna dos segmentos superficialmente ativos e seu ancoramento na interface. Em um longo tempo de corrida, é possível observar o “estágio final” da formação da camada de adsorção ($t > \tau_2$), o qual é caracterizado pela redução significativa da taxa de adsorção das moléculas de surfactante.

Foi observado a partir das cinéticas de adsorção interfacial (Figura 38) que o aumento da concentração do decanossulfonato de sódio provocou a redução nos valores de τ_1 e τ_2 (Tabela 11) indicando que o processo de difusão dos monômeros do surfactante do seio da solução para a interface ar/água foi acelerado e, assim, para $[DS] > 1 \times 10^{-3}$ mol/L o fenômeno de *lag time* não pode ser observado por necessitar de um intervalo de tempo muito pequeno para ocorrer.

Na Figura 40 são apresentadas as cinéticas de adsorção dos polieletrólitos TMQ2 e HPTAQ6, em duas concentrações diferentes (1×10^{-3} monomol/L e 3×10^{-3} monomol/L), à interface ar/água, a partir das quais pode ser observado que o próprio polieletrólito TMQ2 possui atividade de interface. Assim é observada a redução da tensão de interface em relação à água pura, ≈ 20 mN/m, mas a atividade de interface não foi aumentada para uma maior concentração de TMQ2. Também, as curvas da Figura 40A permitem observar as três etapas de formação estrutural da camada de adsorção na interface, mas o aumento da concentração de TMQ2 não afetou os processo de formação da camada adsorvida na interface.

Figura 40 : Cinéticas de adsorção à interface ar/água dos polieletrólitos (A)TMQ2 e (B) HPTAQ 6.

(A)

(B)

As isotermas de adsorção do polieletrólito HPTAQ6 na interface ar/água (Figura 40B) mostram que este polieletrólito também apresenta atividade interfacial e que a presença deste, a exemplo da TMQ2, resultou na redução da tensão interfacial (≈ 20 mN/m). Entretanto, diferentemente do que foi observado com TMQ2, o aumento da concentração de HPTAQ6 (de 1×10^{-3} mol/L para 3×10^{-3} mol/L) promoveu redução mais

acentuada do valor de γ . Além disso, o aumento da concentração de HPTAQ6 reduziu os valores de τ_1 (de 1636 s para 685 s) e de τ_2 (de 11828 s para 4120 s).

Na figura 41 são apresentadas as cinéticas de adsorção à interface de decanossulfonato de sódio, TMQ2 e complexo TMQ2/DS, em diferentes valores de razão de carga (Z).

As concentrações do surfactante foram iguais a 1×10^{-4} mol/L e 1×10^{-3} mol/L, (c.a.c. = $1,28 \times 10^{-3}$ mol/L; c.m.c = 0,0367 mol/L, enquanto as concentrações de TMQ 2 foram 1×10^{-3} monomol/L e 3×10^{-3} monomol/L. Dessa forma a razão de cargas ($Z = q_{surf}/q_{pol.}$) dos complexos formados foram iguais a 0,03; 0,1 e 1,0.

Figura 41: Cinéticas SPEC's TMQ2-decanossulfonato de sódio (A) Z = 0,1 ; (B) Z = 0,03 e (C) Z = 1,0.

(B)

(C)

As curvas apresentadas na figuras 41A – C mostram que o decanossulfonato de sódio isoladamente quase não tem capacidade de alterar o valor da tensão interfacial, pois resulta em pequena redução de γ (≈ 5 mN/m), enquanto que a amostra TMQ2 *per si* apresenta atividade interfacial mais acentuada, pois a redução de γ é mais importante (≈ 20 mN/m), porém é necessário um tempo relativamente longo ($t > 40000$ s) para que o valor de mínimo de γ seja atingido nesse último caso. No caso da curva de tensão superficial *versus* tempo relativa o complexo TMQ2/DS e com $Z=0,1$ (Figura 41A), é observado um efeito sinérgico na redução da tensão interfacial (≈ 25 mN/m), sendo

necessário um tempo bem menor para que uma redução significativa do valor de γ fosse observada. A partir desse comportamento pode ser concluído que a difusão dos complexos TMQ2/DS do seio da solução para a interface ocorre muito mais rapidamente quando comparada com as soluções contendo exclusivamente TMQ2 ou DS.

Na figura 41B são apresentados as isotermas de adsorção à interface do decanossulfonato de sódio ($C = 1 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$), da TMQ2 ($C_p = 3 \times 10^{-3} \text{ monomol/L}$) e do complexo TMQ2/DS com $Z=0,03$. As curvas apresentam comportamento muito semelhante aos da Figura 41A, mas pode ser observado que o complexo TMQ2/DS ($Z=0,03$) apresentou atividade superficial ainda mais acentuada, uma vez que este provocou maior redução de γ ($\approx 30 \text{ mN/m}$). Também foi observado que neste caso houve redução no tempo de difusão à interface quando comparado ao comportamento observado na Figura 12A (TMQ2/DS com $Z=0,1$).

Na figura 41C são mostradas as isotermas de adsorção à interface do decanossulfonato de sódio ($C = 1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$), TMQ ($C_p = 1 \times 10^{-3} \text{ monomol/L}$) e do complexo TMQ2/DS com $Z=1,0$. Na curva do decanossulfonato de sódio com concentração foi possível identificar os valores de τ_1 ($\approx 1000 \text{ s}$) e τ_2 ($\approx 20000 \text{ s}$), e para um tempo suficientemente longo ($t \approx 100000 \text{ s}$) o decanossulfonato de sódio promoveu a redução de γ ($\approx 17 \text{ mN/m}$). Também pode ser observado na Figura 41C que a isoterma de TMQ2 pura possui comportamento semelhante ao da curva do decanossulfonato de sódio, se diferenciando dessa última apenas nos valores de τ_1 ($t \approx 900 \text{ s}$) e τ_2 ($t \approx 10000 \text{ s}$). Comportamento muito interessante é observado na isoterma de adsorção à interface do complexo TMQ2/DS com $Z=1,0$, pois este apresentou forte atividade interfacial, visto que $\gamma < 50 \text{ mN/m}$ desde o início das medidas e em todo o intervalo estudado. Isto indica que este complexo possui uma elevada difusão para a interface ar/água, o que corrobora com o fato de não ter sido possível registrar o valor de τ_1 para este complexo.

Uma comparação das curvas dos CSP formados na Figura 41A - C mostra que o aumento da razão de carga entre os CSP levou a uma maior atividade interfacial, o que pode ser explicado pelo fato de que em maiores valores de Z , ocorre uma maior neutralização das cargas do polieletrólito concomitantemente com o aumento do caráter hidrofóbico dos complexos, favorecendo a migração dos CSP para a interface ar/água.

As cinéticas relativas à amostra HPTAQ6 e aos complexos HPTAQ6/DS, adquiridas nas mesmas condições experimentais empregadas para adquirir as curvas da Figura 41A – C, são apresentados na figura 42.

Figura 42: Cinéticas dos complexos HPTAQ6 –decanossulfonato de sódio (A) $Z=0,1$; (B) $Z = 0,03$ e (C) $Z=1,0$.

(A)

(B)

(C)

As curvas apresentadas na Figura 42A-C mostram que o surfactante puro na concentração utilizada (1×10^{-4} mol/L) quase não altera o valor da tensão interfacial. Por outro lado, a presença de HPTAQ6 pura resultou na redução de γ (≈ 10 mN/m) em tempo relativamente longo ($t > 10000$ s), indicando que este polieletrólito também apresenta atividade interfacial. Já o complexo HPTAQ6/DS, com $Z=0,1$, promoveu redução mais importante do valor de γ (≈ 22 mN/m), além disso é observado que a difusão dos complexos produzidos do seio da solução para a interface ar/água ocorre desde o início das medidas e por isso não é observado o valor de τ_1 .

Na Figura 42B são apresentados as cinéticas de adsorção à interface do decanossulfonato de sódio (1×10^{-4} mol/L), da HPTAQ6 (3×10^{-3} monomol/L) e do complexo surfactante-polieletrólito com $Z=0,03$. Pode ser observado que o aumento da concentração da HPTAQ6 resultou em maior atividade interfacial, pois ocorreu importante redução do valor de γ (≈ 22 mN/m). Além disso, é observado que para $t > 4000$ s o comportamento da isoterma da HPTAQ6 puro foi muito semelhante ao do complexo HPTAQ6/DS com $Z = 0,03$, mostrando que este último exibem maior difusão para a interface ar/água que os componentes isolados do complexo.

Na Figura 42C são mostradas as cinéticas de adsorção à interface do decanossulfonato de sódio ($C = 1 \times 10^{-3}$ mol/L), HPTAQ6 ($C_p = 6 \times 10^{-3}$ monomol/L) e do complexo HPTAQ6/DS ($Z=1,0$). Nas isotermas de adsorção à interface das espécies

isoladas são observados os valores de τ_1 e τ_2 , sendo o processo de adsorção à interface mais rápido para o surfactante na presença de elevada concentração de HPTAQ6. Comportamento muito interessante é visto na isoterma de adsorção à interface do complexo surfactante-polieletrólito com $Z=1,0$. O CSP apresentou uma contínua redução da atividade interfacial ($\gamma < 60$ mN/m), até atingir um mínimo em $\gamma \approx 32$ mN/m. Em todo intervalo de medida o CSP apresentou atividade interfacial indicando que este complexo possui uma elevada difusão para a interface ar/água, o que corrobora com o fato de não ter sido possível registrar o valor de τ_1 para este complexo.

Os HPTAQ6/DS com o aumento dos valores de Z apresentaram o mesmo comportamento observado para os TMQ2/DS, indicando que CSP mais hidrofóbicos (maior valor de Z) tende a possuir maior atividade interfacial.

Na figura 43 é mostrado uma comparação entre os complexos surfactante-polieletrólito produzidos utilizando a TMQ2 e a HPTAQ6.

Figura 43: Efeito do tipo do polieletrólito sobre a atividade interfacial do CSP's formado com decanossulfonato de sódio (A) $Z=0,1$; (B) $Z=0,03$ e (C) $Z=1,0$.

(A)

(B)

(C)

A análise dos dados da Figura 43, na qual são comparadas as cinéticas dos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS, mostra que ambos os complexos levaram a redução semelhante do valor de γ . Além disso, esta comparação mostra que o aumento gradual de Z dos complexos (de 0,03 até 1,0) levou à redução cada vez maior do valor de γ . A origem desta capacidade anômala de adsorção à interface dos complexos está baseada na adsorção cooperativa de surfactantes e polieletrólitos na interface (Babak;

Desbrières (2006)). A formação destes associados dinâmicos solúveis em água estabilizados eletrostaticamente conduz à hidrofobização mútua dos componentes e, conseqüentemente, ao aumento da energia livre de adsorção e da atividade de superfície de ambos os componentes. Devido à multiplicidade dos contatos eletrostáticos dos polieletrólitos com as moléculas de surfactante absorvidos, o processo de dessorção dos polieletrólitos e moléculas surfactantes a partir da interface torna-se cineticamente desfavorável e leva à adsorção praticamente irreversível dos complexos. Além disso, estes complexos se caracterizam por apresentar elevada mobilidade, a labilidade das ligações entre surfactante e polieletrólito nestes complexos torna possível expor todas as moléculas com atividade superficial à interface, fazendo com que estes complexos possuam maior eficiência na redução da tensão interfacial.

Outro comportamento observado em todas as cinéticas de adsorção do complexos ou dos polieletrólitos estudados é que em tempos relativamente longos ($t > \tau_2$) a camada adsorvida começa a atuar como uma barreira estérica para novas espécies que se aproximam da interface. Evidências para esta conclusão vêm da redução da taxa de $d\gamma/dt$ após o τ_2 . A continua redução de γ para intervalos $t > 10^4$ s mostra que as macromoléculas adsorvidas controlam a difusão de segmentos interfacialmente ativos através de sua reorganização espacial (ou conformacional) dentro da camada adsorvida (Desbrières; Babak (2008)).

Informação muito importante que pode ser obtida a partir das isotermas de adsorção à interface é a viscoelasticidade do filme formado na interface ar/água, a qual é caracterizada pelo valor do módulo elástico (E). A tabela 11 apresentada o conjunto de informações sobre tensão de superfície, módulo de elasticidade, “lag time” e “postlag time” para todas as espécies químicas estudadas.

Análise dos dados da Tabela 11 permite observar que o módulo de elasticidade do decanossulfonato de sódio sofreu redução com o aumento de sua concentração, indicando que em maiores concentrações as moléculas de decanossulfonato de sódio que se encontram na interface apresentam maior desorganização, provavelmente decorrente da repulsão eletrostática entre as cabeças polares de espécies vizinhas. Outro efeito causado pelo aumento da concentração do surfactante é a redução do tempo de indução, ou seja, em maiores concentrações, as moléculas de surfactante migram mais rapidamente para a interface.

Tabela 11: Valores de tensão de superfície, módulo de elasticidade (E) e “lag time” (τ) do surfactante decanossulfonato de sódio, TMQ2 e HPTAQ 6 em diferentes concentrações, e complexos TMQ2-decanossulfonato de sódio e HPTAQ 6 - decanossulfonato de sódio.

Amostras		Tensão Superfície (mN/m)	Módulo E (mN/m)	lag time	
				τ_1 (s)	τ_2 (s)
Decanosulfonato de sódio	1×10^{-6}	72,00	25,00	34058	XXX
	1×10^{-5}	73,03	16,00	43508	XXX
	1×10^{-4}	69,07	22,00	17188	XXX
	1×10^{-3}	55,35	13,00	1538	6619
	1×10^{-2}	30,68	9,49	XXX	482
	5×10^{-2}	35,99	6,36	XXX	XXX
	1×10^{-1}	36,44	8,98	XXX	XXX
TMQ2	1×10^{-3}	51,59	43,00	XXX	930
	3×10^{-3}	53,54	60,00	823	28762
HPTAQ 6	1×10^{-3}	57,05	89,67	1636	11828
	3×10^{-3}	52,31	92,48	685	4120
Complexo	TMQ 2 1×10^{-3} +DS 1×10^{-4}	50,16	58,00	XXX	11878
	TMQ 2 3×10^{-3} +DS 1×10^{-4}	47,10	50,00	XXX	8307
	TMQ 2 1×10^{-3} +DS 1×10^{-3}	37,24	31,00	XXX	5022
	HPTAQ 6 1×10^{-3} + DS 1×10^{-4}	48,06	96,11	XXX	1207
	HPTAQ 6 3×10^{-3} + DS 1×10^{-4}	50,68	86,26	XXX	2730
	HPTAQ 6 1×10^{-3} + DS 1×10^{-3}	39,83	70,14	XXX	1767

Os derivados de quitosana apresentam uma apreciável atividade de superfície $\gamma \approx 54,00$ mN/m. Além disso, é observado que o derivado HPTAQ6 apresenta menor “lag time” quando comparado à TMQ2. É também observado que o aumento da concentração do polieletrólito resultou no aumento do módulo de elasticidade, indicando maior

ordenação das cadeias poliméricas que se encontram na interface, o que é explicado pelo aumento das interações hidrofóbicas intermoleculares que ocorrem na interface.

Os complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS apresentaram elevado módulo de elasticidade (44,00 – 96,11 mN/m), indicando que tais complexos podem formar filmes interfaciais com boas propriedades mecânicas, e por isso podem ser aplicados como agentes de estabilização de emulsões.

Pelos valores de *lag time* encontrados conclui-se que os complexos se adsorvem rapidamente na interface. Conforme discutido anteriormente tais complexos apresentam elevada mobilidade, o que explica esse o rápido processo de difusão para a interface (Babak; Desbrières (2006)).

5.3.3. Estabilização de emulsões do tipo óleo/água

A estabilização de emulsões é um importante objeto de estudo no sentido de melhor fundamentar as suas numerosas aplicações nos domínios das indústrias alimentícias, cosméticas, petrolífera, entre outras. Geralmente, a estabilização de emulsões é alcançada pela adição de surfactantes e/ou de macromoléculas com atividade superficial. O uso de macromoléculas apresenta certas vantagens como aumento de viscosidade ou atividade interfacial, sendo que na maioria das formulações industriais macromoléculas de origem sintética são empregadas (Desbrières et. al. (2007)).

Os derivados anfífilos de quitosana, bem como os complexos do tipo surfactante-poli eletrólito formados por esta classe de macromoléculas apresentam destacada atividade à interfaces ar/água ou água/óleo. A atividade interfacial de um dado polímero é caracterizada por sua capacidade de se adsorver à interface e assim reduzir a tensão interfacial. A força-motriz da adsorção dos polieletrólitos anfífilos é o ganho de energia-livre do sistema devido ao efeito hidrofóbico acompanhado pela imersão das cadeias hidrofóbicas ligadas de modo eletrostático na fase apolar.

As repulsões estéricas e eletrostáticas entre as camadas de adsorção dos complexos surfactante-poli eletrólito impedem a coalescência das gotículas da emulsão e das bolhas das espumas, aumentando a estabilidade das emulsões e das espumas (Asnacios et. al. (2000)). Devido ao aumento local da concentração na interface, os

complexos surfactante-polieletrólito podem formar associações intermoleculares que levam à formação de uma estrutura do tipo “gel físico” no seio das camadas de adsorção. Este fenômeno pode ter consequência sobre a estabilidade das emulsões e das espumas, pois a camada de adsorção se comporta como uma barreira mecânica prevenindo mais eficazmente a ruptura dos filmes da emulsão, ou da espuma, e assim protegendo estas estruturas contra a sua destruição (Desbrières et. al. (2007)).

Estudos iniciais sobre a capacidade de TMQ2 e HPTAQ6 e dos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS promoverem a estabilização de emulsões do tipo óleo/água foram realizados.

Assim, emulsões do tipo óleo/água foram preparadas, sendo a fase oleosa composta de óleo de girassol, e as espécies TMQ2, HPTAQ6, DS e os complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS foram então adicionados às emulsões para avaliar as suas capacidade de estabilização. A Figura 44 mostra o aspecto das emulsões produzidas após armazenamento durante 4 meses em geladeira à 4 °C.

Figura 44: Imagens das emulsões óleo/água puros (A) ou na presença do surfactante decanossulfonato de sódio (B), TMQ2 (C), HPTAQ6 (D), TMQ2/DS (E) e HPTAQ6/DS (F).

O/A+ HPTAQ 6(1×10^{-3} monomol/L)
(D)

O/A+TMQ2(1×10^{-3} monomol/L)+DS(1×10^{-4} M)
(E)

O/A+ HPTAQ 6(1×10^{-3} monomol/L)+DS(1×10^{-4} M)
(F)

Podemos observar que a mistura óleo/água sem a adição de quaisquer dos potenciais agentes de estabilização estudados (Figura 44A) apresenta completa separação entre as fases óleo e água, sendo ambas as fases límpidas após o processo de segregação. Entretanto, quando são analisadas as imagens referentes às emulsões às quais foram adicionados algum dos agentes de estabilização estudados neste trabalho (Figura 44B - F), é possível observar que a segregação de fases não foi tão nítida, e que as fases apresentaram aspecto turvo, indicando a presença de dispersão nas mesmas. Tal fato se deve à atividade interfacial dos agentes adicionados à mistura óleo/água que, assim, promovem a estabilização das gotículas de óleo no seio da fase aquosa.

5.3.3.1. Análise de turbidez

Os sistemas coloidais, tais como as emulsões, são misturas compostas por uma fase contínua e uma fase dispersa, sendo que nesta última as espécies apresentam diâmetros no intervalo 1 nm – 1 μ m. No caso das emulsões estudadas neste trabalho, a fase contínua é água e a fase dispersa é óleo de girassol. Nesse tipo de sistema, as partículas dispersas são significativamente menores do que aquelas que podem ser percebidas a olho nu, porém bem maiores do que as moléculas individuais. Elas são

grandes o bastante para refletir e dispersar a luz visível, sendo que este efeito é conhecido com efeito Tyndall.

Figura 45: Influência das espécies constituintes das emulsões sobre a sua capacidade de dispersar luz na região do visível.

Devido a característica de dispersão da luz visível, as emulsões apresentam aspecto turvo e, assim, a análise de turbidez do sistema fornece informações a respeito da formação e da estabilização da emulsão. Assim, medidas de turbidez das emulsões óleo de girassol/água, na ausência e na presença de agentes de estabilização, foram realizadas para avaliar suas características quanto à estabilização (Figura 45).

A Figura 45 mostra que as emulsões às quais foram adicionados HPTAQ6 ou o complexo HPTAQ6/DS foram aquelas que apresentaram maiores valores de absorbância em $\lambda = 400 \text{ nm}$. Segundo a lei de Lambert-Beer, que relaciona o valor da absorbância com a concentração da espécie, pode ser concluído que tais emulsões possuem maior concentração de espécies dispersantes de luz, *i. e.* microfases de óleo dispersas na fase aquosa, do que as outras emulsões estudadas.

Assim podemos vislumbrar uma potencial aplicação da HPTAQ6 ou o complexo HPTAQ6/DS, é possível produzir uma emulsão estável do tipo óleo/água.

5.3.3.2. Fluorescência

O processo de fotoluminescência que ocorre com átomos e moléculas que são excitados ao absorverem radiação eletromagnética e que, ao retomarem ao estado fundamental, liberam energia através da emissão de radiação. A fluorescência tem sido muito utilizada para estudar a interação entre polímeros, polieletrólitos e seus derivados hidrofobicamente modificados. Para avaliar tais interações, é necessário a presença de uma sonda fluorescente na solução, ou seja, moléculas e/ou íons que, sob apropriada excitação eletromagnética, emitem luz. Na prática, as características da banda de emissão da sonda são exploradas para fins de monitoramento do microambiente de sistemas moleculares organizados e estão atreladas a fatores como a polaridade do meio, sendo que o pireno é a sonda fluorescente mais utilizada para este fim, pois apresenta elevada sensibilidade à polaridade dos microambientes. Outra característica interessante é que o espectro de emissão do pireno exibe bandas de vibração finas, cujas intensidades relativas são sensíveis à polaridade do meio. Dentre as principais bandas de vibração do pireno que são observadas à temperatura ambiente (Figura 46), a banda I_3 , em $\lambda = 384$ nm, mostra pouca sensibilidade aos solventes, enquanto que a banda I_1 , em $\lambda = 372,8$ nm, tem sua intensidade alterada em função da natureza do solvente, sendo mais intensa em solventes polares.

Figura 46: Espectro da sonda de fluorescência (pireno), em solução hidroalcoólica à 6×10^{-6} mol/L, à temperatura ambiente.

Assim, a medida da polaridade relativa de sistemas é expressa em termos da relação I_1/I_3 e é utilizada como critério para avaliar a micropolaridade do meio e de microambientes de agregados micelares. A concentração micelar crítica (c.m.c.) e a concentração de agregação crítica (c.a.c.) podem ser obtidas pela mudança da razão I_1/I_3 em função da concentração de polímero ou surfactante. Assim, no início da formação da micela, a razão I_1/I_3 diminui acentuadamente, o que reflete na solubilização do pireno em um ambiente hidrofóbico. A sensibilidade do pireno com relação a polaridade do meio também possibilita utilizar esta técnica como uma forma de caracterizar as modificações hidrofóbicas realizadas nos polímeros.

Utilizando esta característica peculiar do pireno, de responder ao caráter hidrofílico/hidrofóbico do meio no qual ele se encontra, a técnica de fluorescência foi utilizada de modo a indicar dentre os tipos de emulsões preparadas aquela que apresenta maior caráter hidrofóbico.

A Figura 47 mostra a variação do valor da razão I_1/I_3 em função das espécies constituintes das emulsões do tipo óleo de girassol/água.

Figura 47: Influência da adição do decanossulfonato de sódio, da TMQ2 e HPTAQ6 e dos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS no caráter hidrofóbico de emulsões óleo/água.

Pode ser observado que o valor de I_1/I_3 foi reduzido quando qualquer uma das espécies analisadas (decanossulfonato de sódio, TMQ2, HPTAQ6, TMQ2/decanossulfonato de sódio e HPTAQ6/decanossulfonato de sódio) foram utilizadas na preparação das emulsões óleo/água. Além disso, é observado que as

emulsões preparadas com o decanossulfonato de sódio puro ou HPTAQ6 puro apresentam caráter hidrofóbico semelhante. Já quando o complexo HPTAQ6/DS foi utilizado como estabilizante, o valor de I_1/I_3 foi o menor dentre todos os determinados neste estudo, indicando que esta formulação é a que apresenta maior caráter hidrofóbico. Este comportamento apresentado pela emulsão formada com o complexo HPTAQ6/DS indica que esta apresenta um maior conteúdo de microfases de óleo dispersas em água.

Assim, esses testes preliminares indicam a potencial aplicação dos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS como agentes estabilizantes de emulsões do tipo óleo/água, sendo que este último aparenta ser o mais promissor. Entretanto, estudos mais detalhados e mais elaborados devem ser realizados para melhor avaliar tal potencialidade, bem como para aprofundar o conhecimento sobre tais sistemas.

5.3.4. Conclusões parciais

O estudo de condutividade mostrou que para o decanossulfonato de sódio (DS) em água deionizada a 30 °C, c.m.c. = 0,0367 mol/L e que a formação do complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS ocorre em concentração de surfactante aproximadamente 37x menor que a c.m.c. do surfactante puro em água.

Medidas de tensiometria mostraram que os derivados de quitosanas, a saber TMQ2 e HPTAQ6, apresentam atividade interfacial, a qual também foi observada nos complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS. Além disso os complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS apresentam elevado módulo de elasticidade, formando filmes interfaciais com elevada resistência mecânica, e por isso estes complexos podem ser aplicados como agentes de estabilização de emulsões.

Estudo iniciais feitos a partir de medidas de fluorescência e de turbidez das emulsões do tipo óleo/água mostraram que a TMQ2 e HPTAQ 6, bem como os complexos TMQ2/DS e HPTAQ6/DS, promovem certa estabilidade a este tipo de emulsão. Porém estudos mais detalhados devem ser realizados para se possibilitar uma melhor caracterização destes sistemas.

6. Considerações finais

As duas vias reacionais estudadas visando à preparação de derivados cationizados de quitosana (QCat), a saber a reação de *N*-metilação de quitosana com iodometano e a reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio, permitem a produção de derivados com características estruturais que são, em grande parte, definidas através do controle das condições reacionais. Entretanto, nas condições empregadas neste estudo, a preparação de *N,N,N*-trimetilquitosana (TMQ) *via* *N*-metilação de quitosana com iodometano foi mais eficiente tanto com respeito à introdução de maior número de cargas positivas nas cadeias poliméricas como em relação ao rendimento do processo. Em decorrência de exibirem maiores graus de cargas, as amostras de TMQ foram todas solúveis em água e em solução aquosa de NaCl 0,1 M, porém as medidas de viscosidade indicam que a ocorrência de despolimerização foi mais acentuada do que aquela observada na reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio, empregada para produzir *N*-(2-hidroxi)-propil-3-propil-trimetilamônio quitosana (HPTAQ). Por outro lado, a execução da reação de *N*-substituição de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio consumiu menos tempo (6 horas) e temperatura branda (50 °C) e, além disso, o processo de separação e purificação do produto final (HPTAQ) é mais simples, rápido e com menor geração de resíduos quando comparado ao procedimento empregado na preparação de TMQ *via* *N*-metilação de quitosana com iodometano.

Ambos os complexos surfactante-polieletrólito formados pela interação dos derivados QCat com decanossulfonato de sódio (DS), a saber TMQ2/DS e HPTAQ6/DS, apresentaram atividade interfacial e estudos preliminares permitiram concluir positivamente sobre a potencialidade desses complexos serem empregados como agentes de estabilização de emulsões óleo/água.

7. Perspectivas futuras

O estudo de nova rota de preparação de *N*-(2-hidroxi)-propil-3-trimetilamônio quitosana *via* reação de quitosana com cloreto de glicidiltrimetilamônio com o emprego de irradiação de micro-ondas, o qual vem sendo desenvolvido no âmbito do Grupo de Físico-Química Orgânica, indica que a reação pode ser executada em tempo consideravelmente mais curto (< 30 min.) e com rendimento elevado (> 70%), gerando amostras de HPTAQ menos despolimerizadas e exibindo maiores valores de grau médio de substituição. Assim, o desenvolvimento de estudo sistemático dos efeitos das condições reacionais sobre a eficiência da reação executada com irradiação de micro-ondas e sobre as características de HPTAQ pode indicar melhores perspectivas para a preparação desse derivado de quitosana.

Estudos mais amplos e mais aprofundados sobre a formação, as características e as propriedades dos complexos HPTAQ/DS devem ser desenvolvidos para incrementar o conhecimento sobre esses sistemas e fundamentar suas aplicações. Em particular, no que tange à aplicação desses complexos como agentes de estabilização de emulsões óleo/água, é importante o desenvolvimento de estudos que permitam uma melhor caracterização das emulsões em que tais complexos sejam adicionados, principalmente em relação ao diâmetro da fase dispersa, fração volumétrica de fase oleosa/fase aquosa, tempos de armazenamento (“shelf-life”), entre outros parâmetros relevantes.

8.Referências bibliográficas

ANITHA, A.; MAYA, S.; DEEPA, N.; et al. Efficient water soluble O-carboxymethyl chitosan nanocarrier for the delivery of curcumin to cancer cells. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 452–461, 2011.

ASNACIOS, A.; KLITZING, R.; LANGEVIN, D. Mixed monolayers of polyelectrolytes and surfactants at the air–water interface. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 167, n. 1-2, p. 189–197, 2000.

BABAK, V. G. Principes physico-chimiques de contrôle du comportement de l'émulsion lors de son utilisation. 2eme Congrès Mondiale de l'émulsion. **Anais...** . p.221 – 240, 1998. Paris.

BABAK, V. G.; DESBRIÈRES, J. Dynamic surface tension and dilational viscoelasticity of adsorption layers of alkylated chitosans and surfactant-chitosan complexes. **Colloid Polymer Science**, 2006.

BABAK, V. G.; LUKINA, I. G.; BODOREV, M. M.; KLEMENTEV, V. G. Experimental study of the coalescence of air bubbles in aqueous solutions of surfactants and polymers by the contact interaction method. **Colloid Journal**, v. 58, n. 6, p. 707–712, 1996.

BABAK, V.; LUKINA, I.; VIKHOREVA, G.; DESBRIERES, J. Interfacial properties of dynamic association between chitin derivatives and surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 147, n. 1-2, p. 139–148, 1999.

DE BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. A novel method for obtaining a quaternary salt of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, n. 2, p. 305–310, 2007.

DE BRITTO, D.; DE ASSIS, O. B. G. Synthesis and mechanical properties of quaternary salts of chitosan-based films for food application. **International journal of biological macromolecules**, v. 41, n. 2, p. 198–203, 2007.

DE BRITTO, D.; FREDERICO, F. R.; ASSIS, O. B. A. Optimization of N, N, N-trimethylchitosan synthesis by factorial design. **Polymer International**, v. 60, n. 6, p. 910–915, 2011.

BU, G.; WANG, C.; FU, S.; TIAN, A. Water-Soluble Cationic Chitosan Derivative to Improve Pigment-Based Inkjet Printing and Antibacterial Properties for Cellulose Substrates. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, p. 1674 – 1680, 2012a.

BU, G.; WANG, C.; FU, S.; TIAN, A. Water-soluble cationic chitosan derivative to improve pigment-based inkjet printing and antibacterial properties for cellulose substrates. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 125, p. 1674–1680, 2012b.

CAMPANA-FILHO, S. P.; BRITTO, D. DE. Estudo das interações entre o complexo polieletrólito trimetilquitosana/carboximetilcelulose e Cu²⁺, ácido húmico e atrazina em solução aquosa. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1461–1466, 2009.

CHI, W.; QIN, C.; ZENG, L.; LI, W.; WANG, W. Microbiocidal Activity of Chitosan- N -2-hydroxypropyl Trimethyl Ammonium Chloride. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 103, p. 3851–3856, 2007.

- CHO, J.; GRANT, J.; PIQUETTE-MILLER, M.; ALLEN, C. Synthesis and physicochemical and dynamic mechanical properties of a water-soluble chitosan derivative as a biomaterial. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 12, p. 3548, 2006.
- CURTI, E. **Estudos da obtenção e caracterização de quitosanas e de N,N,N-trimetilquitosana**, 1999. Universidade de São Paulo.
- CURTI, E.; DE BRITTO, D.; CAMPANA-FILHO, S. P. Methylation of Chitosan with Iodomethane: Effect of Reaction Conditions on Chemoselectivity and Degree of Substitution. **Macromolecular Bioscience**, v. 3, n. 10, p. 571–576, 2003.
- CURTI, E.; CAMPANA-FILHO, S. P. Viscosity Behavior of Chitosan and N,N,N-Trimethylchitosan Chloride Salts in Acid-Free Aqueous Solution. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 43, n. 3, p. 555–572, 2006.
- DELPECH, M. C.; COUTINHO, F. M. B.; SOUSA, K. G. M.; HUGGINS, D. Estudo Viscosimétrico de Prepolímeros Uretânicos. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 17, p. 294–298, 2007.
- DERRINGER, G.; SUICH, R. SIMULTANEOUS-OPTIMIZATION OF SEVERAL RESPONSE VARIABLES. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214–219, 1980.
- DESBRIÈRES, J.; BABAK, V. G. Interfacial properties of amphiphilic systems on the basis of natural polymers—chitin derivatives. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 78, n. 11, p. 2230–2238, 2008.
- DESBRIÈRES, J.; BOUSQUET, C.; BABAK, V. G. Propriétés interfaciales de systèmes amphiphiles ioniques à base de polyssacharides. **Revue Roumaine de Chimie**, v. 52, p. 423 – 430, 2007.
- DESBRIÈRES, J.; MARTINEZ, C.; RINAUDO, M. Hydrophobic derivatives of chitosan: characterization and rheological behaviour. **International journal of biological macromolecules**, v. 19, n. 1, p. 21–28, 1996a.
- DESBRIÈRES, J.; MARTINEZ, C.; RINAUDO, M. Hydrophobic derivatives of chitosan: characterization and rheological behaviour. **International journal of biological macromolecules**, v. 19, n. 1, p. 21–8, 1996b.
- DESBRIÈRES, J.; RINAUDO, M. Interaction between chitin derivatives and surfactants. In: M. A. EL-NOKALY; H.A. SOINI (Orgs.); **Polysaccharide Applications: Cosmetics and Pharmaceuticals**. 1ed ed, p.199 –213, 1999. Washington DC: ACS.
- DICKINSON, E. Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. **Food Hydrocolloids**, v. 23, p. 1473 – 1482, 2009.
- DOMARD, A.; RINAUDO, M.; TERRASSIN, C. New method for the quaternization of chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 8, n. 2, p. 105–107, 1986.
- DUNG, P. LE; MILAS, M.; RINAUDO, M.; DESBRIÈRES, J. Water soluble derivatives obtained by controlled chemical modifications of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 24, n. 3, p. 209–214, 1994.

FORSTER, T.; RUBINSKI, W. VON. **Applications of emulsions in Modern Aspects of Emulsion Science**. 1st ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1998.

GABRIEL, J. R. **Estudo da hidrólise de carboidratos em meio neutro , utilizando uma mistura de ésteres derivados do óleo de mamona** ., 2009. Universidade de São Paulo.

GASSIN, P.-M. Mesure de la tension superficielle par la technique de la goutte pendante. **Unions des professeurs de physique et de chimie**, v. 108, p. 1–8, 2014.

HAGENAARS, N.; MASTROBATTISTA, E.; VERHEUL, R. J.; et al. Physicochemical and immunological characterization of N,N,N-trimethyl chitosan-coated whole inactivated influenza virus vaccine for intranasal administration. **Pharmaceutical research**, v. 26, n. 6, p. 1353–64, 2009.

HAMMAN, J. H.; SCHULTZ, C. M.; KOTZÉ, A F. N-trimethyl chitosan chloride: optimum degree of quaternization for drug absorption enhancement across epithelial cells. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 161–72, 2003.

HIRAI, A.; ODANI, H.; NAKAJIMA, A. Determination of degree of deacetylation of chitosan by ¹H NMR spectroscopy. **Polymer Bulletin**, v. 26, p. 87–94, 1991.

KASAAI, M. R. Calculation of Mark–Houwink–Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent–temperature system using experimental reported viscometric constants data. **Carbohydrate Polymers**, v. 68, n. 3, p. 477–488, 2007.

KATO, A. Maillard-Type protein-polyssacharide conjugate, in. In: G. D. and V. Kiosseoglou (Org.); **Novel Macromolecules in Food Systems**. p.385 – 396, 2000. Amsterdam: Elsevier Ltd.

LI, Y.; XU, G.; WU, D.; SUI, W. The aggregation behavior between anionic carboxymethylchitosan and cetyltrimethylammonium bromide: MesoDyn simulation and experiments. **European Polymer Journal**, v. 43, n. 6, p. 2690 – 2698, 2007.

LING, Y.; LUO, Y.; LUO, J.; WANG, X.; SUN, R. Synthesis optimization of quaternized chitosan and its action as reducing and stabilizing agent for gold nanoparticles. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 50, n. 12, p. 1194–1200, 2013.

LISSANT, K. Emulsions and emulsions technology,. In: K. LISSANT (Org.); **Surfactants Science Series**. 3 ed ed., p.456, 1974. New York: CRC Press.

LOUBAKI, E.; OUREVITCH, M.; SICSIC, S. Chemical modification of chitosan by glycidyl trimethylammonium chloride. characterization of modified chitosan by ¹³C- and ¹H-NMR spectroscopy. **European Polymer Journal**, v. 27, n. 3, p. 311–317, 1991.

LUO, J.; WANG, X.; XIA, B.; WU, J. Preparation and characterization of quaternized chitosan under microwave irradiation. **Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry**, v. 47, n. 9, p. 952–956, 2010.

LUO, J.; WANG, X.; XIA, B.; WU, J. Preparation and Characterization of Quaternized Chitosan Under Microwave Irradiation. **Journal of Macromolecular Science, Part A**, v. 47, n. 9, p. 952–956, 2010.

- MARTINS, A. F.; BUENO, P. V. A.; ALMEIDA, E. A. M. S.; et al. Characterization of N-trimethyl chitosan/alginate complexes and curcumin release. **International journal of biological macromolecules**, v. 57, p. 174–84, 2013.
- MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions - Principles, practices and Techniques**. Florida: CRC Press LLC, 2005.
- MCCLEMENTS, D. J. Non covalent interactions between proteins and polysaccharides. **Biotechnology Advances**, v. 6, p. 621 – 625, 2006.
- MOROI, Y.; OTONISHI, A.; YOSHIDA, N. Micelle Formation of Sodium 1-Decanesulfonate and Change of Micellization Temperature by Excess Counterion. **Journal Physic Chemistry**, v. 103, p. 8960–8964, 1999.
- MOURYA, V. K.; INAMDAR, N. N. Trimethyl chitosan and its applications in drug delivery. **Journal of materials science. Materials in medicine**, v. 20, n. 5, p. 1057–79, 2009.
- MUZZARELLI, R. A. A.; TANFANI, F. The N-permethylation of chitosan and the preparation of N-trimethyl chitosan iodide. **Carbohydrate Polymers**, v. 5, n. 4, p. 297–307, 1985.
- NAVES, A. F.; PETRI, D. F. S. The effect of molecular weight and degree of substitution on the interactions between carboxymethyl cellulose and cetyltrimethylammonium bromide. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 254, n. 1-3, p. 207–214, 2005.
- NUD'GA, L. A.; PLISKO, E. A.; DANILOV, S. N. N-alkilirovaniye hitozana. **Zhurnal Obschey Himii**, v. 43, p. 2756 – 2760, 1973.
- PASCAL, I.; SADTLER, V. M.; DELLACHERIE, E. Phenoxy-substituted dextran as emulsifying agent: role of the substitution ration on O/W emulsion stability and interfacial activity. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 211, p. 157 – 164, 2002.
- PEREIRA, L.; SOUSA, A.; COELHO, H.; AMADO, A. M.; RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Use of FTIR, FT-Raman and ¹³C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 223–228, 2003.
- PIRENNE, J. Sur la théorie des diélectriques d'Onsager et la polarisation spontanée des cristaux. **Helvetica Physica Acta**, v. 22, n. 1, p. 479 – 488, 1949.
- PRADO, H. J.; MATULEWICZ, M. C. Cationization of polysaccharides: A path to greener derivatives with many industrial applications. **European Polymer Journal**, v. 52, n. 1, p. 53–75, 2014.
- RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science**, v. 31, n. 7, p. 603–632, 2006.
- ROUTUREAU, E.; LEONARD, M.; DELLACHERIE, E.; DURAND, A. Amphiphilic derivatives of dextran: Adsorption at air/water and oil/water interfaces. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 279, p. 68 – 77, 2004.
- RUIHUA, H.; BINGCHAO, Y.; ZHENG, D.; WANG, B. Preparation and characterization of a quaternized chitosan. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 2, p. 845–851, 2012.

- RUIHUA, H.; BINGCHAO, Y.; ZHENG, D.; WANG, B. Preparation and characterization of a quaternized chitosan. **Journal of Materials Science**, v. 47, n. 2, p. 845–851, 2012.
- RÚNARSSON, Ö. V.; HOLAPPA, J.; JÓNSDÓTTIR, S.; STEINSSON, H.; MÁSSON, M. N-selective “one pot” synthesis of highly N-substituted trimethyl chitosan (TMC). **Carbohydrate Polymers**, v. 74, n. 3, p. 740–744, 2008.
- SAJOMSANG, W.; TANTAYANON, S.; TANGPASUTHADOL, V.; DALY, W. H. Quaternization of N-aryl chitosan derivatives: synthesis, characterization, and antibacterial activity. **Carbohydrate research**, v. 344, n. 18, p. 2502–11, 2009.
- SEONG, H.; WHANG, H. S. U. K.; KO, S. Synthesis of a Quaternary Ammonium Derivative of Chito- oligosaccharide as Antimicrobial Agent for Cellulosic Fibers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 76, p. 2009–2015, 2009.
- SHAHID, M.; MOHAMMAD, F. Green Chemistry Approaches to Develop Antimicrobial Textiles Based on Sustainable Biopolymers—A Review. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 15, p. 5245–5260, 2013.
- SHARMA, T. A. S. C. P. In vitro evaluation of N-(2-hydroxy) propyl-3-trimethyl ammonium chitosan for oral insulin delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 84, p. 103 – 109, 2011.
- SHI, W.; JI, Y.; ZHANG, X.; SHU, S.; WU, Z. Characterization of pH- and thermosensitive hydrogel as a vehicle for controlled protein delivery. **J. Pharm. Sci**, v. 100, p. 886 – 895, 2011.
- SPARKS, D. L. **Soil - Physical Chemistry**. 2nd ed. CRC Press LLC, 1998.
- SPINELLI, V. A.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. Preparation and characterization of quaternary chitosan salt: adsorption equilibrium of chromium(VI) ion. **Reactive and Functional Polymers**, v. 61, n. 3, p. 347–352, 2004.
- SUN, Y.; WAN, A. Preparation of nanoparticles composed of chitosan and its derivatives as delivery systems for macromolecules. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 105, p. 552 – 561, 2007.
- DE VASCONCELOS, C. L.; BEZERRIL, P. M.; PEREIRA, M. R.; GINANI, M. F.; FONSECA, J. L. C. Viscosity-temperature behavior of chitin solutions using lithium chloride/DMA as solvent. **Carbohydrate research**, v. 346, n. 5, p. 614–8, 2011. Elsevier Ltd.
- WAN, A.; SUN, Y.; LI, H. Characterization of Novel Quaternary Chitosan Derivative Nanoparticles Loaded with Protein. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 114, p. 2639 – 2647, 2009.
- WAN, A.; XU, Q.; SUN, Y.; LI, H. Antioxidant activity of high molecular weight chitosan and N,O-quaternized chitosans. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 28, p. 6921–8, 2013.
- WU, J.; SU, Z.-G.; MA, G.-H. A thermo- and pH-sensitive hydrogel composed of quaternized chitosan/glycerophosphate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 315, n. 1–2, p. 1–11, 2006.

WU, J.; WEI, W.; WANG, L.-Y.; SU, Z.-G.; MA, G.-H. A thermosensitive hydrogel based on quaternized chitosan and poly(ethylene glycol) for nasal drug delivery system. **Biomaterials**, v. 28, n. 13, p. 2220–2232, 2007.

XIAO, B.; WAN, Y.; WANG, X.; et al. Synthesis and characterization of N-(2-hydroxy)propyl-3-trimethyl ammonium chitosan chloride for potential application in gene delivery. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 91, n. 0, p. 168–174, 2012.

ZHANG, P.; CAO, M. Preparation of a novel organo-soluble chitosan grafted polycaprolactone copolymer for drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 65, n. 0, p. 21–27, 2014.

ZHAO, S.; WU, X.; GUO, W.; et al. N-(2-hydroxyl) propyl-3-trimethyl ammonium chitosan chloride nanoparticle as a novel delivery system for Parathyroid Hormone-Related Protein 1–34. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 393, n. 1–2, p. 269–273, 2010.