



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOÃO GONÇALVES DA CRUZ

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DA QUITOSANA
HIDROFOBIZADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon*
***winterianus*).**

FORTALEZA

2018

JOÃO GONÇALVES DA CRUZ

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DA QUITOSANA
HIDROFOBIZADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon
winterianus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C962s Cruz, Joao Gonçalves da.
Síntese e caracterização de derivados da quitosana hidrofobizados com óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*) / Joao Gonçalves da Cruz. – 2018.
89 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.
Orientação: Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula .
1. Alquilação. 2. Quitosana. 3. *Cymbopogon winterianus*. 4. Hidrofobização. 5. Derivados.
I. Título.

CDD 540

JOÃO GONÇALVES DA CRUZ

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE DERIVADOS DA QUITOSANA
HIDROFOBIZADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE CITRONELA (*Cymbopogon
winterianus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Haroldo César Beserra de Paula (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Jeanny da Silva Maciel
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me conceder o dom da vida, pela sua provisão, pela saúde, por esta nova fase de minha vida e por mais esta promessa alcançada.

Aos meus Pais, Geralda Gonçalves da Cruz (*In Memoriam*) e Pedro Barbosa da Cruz, pelo exemplo de vida e cuidado.

A minha Esposa, Cláudia Geni, pelo amor e companheirismo sempre. Aos meus filhos, Luiz Eduardo e Vinícius, razão de minha vida.

Aos meus Irmãos e Irmãs que são meus amigos e companheiros para toda a vida. A minha Irmã Ms.Ruth Duarte, e ao meu Cunhado Dr. João Furlan, que foram decisivos para todas essas conquistas.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Haroldo Cesar B. de Paula pela paciência, pela dedicação, auxílio e orientação no decorrer de todo este trabalho.

Aos Professores e Professoras das disciplinas da pós-graduação, que além de transmitirem o conhecimento, são exemplos de perseverança, conquistas e dedicação ao que fazem.

Ao Companheiro Rudson pela parceria na realização dos experimentos, e por esclarecer muitas dúvidas durante a consecução deste trabalho.

Aos Caros Colegas Alunos (as) e Professores do LABPOL pelas contribuições que deram para a realização deste projeto.

A Dra Nádia sempre disponível na realização dos infravermelhos e análise elementar e a Profa. Tereza pela realização das análises térmicas.

Ao CEUNAREM e a EMBRAPA na pessoa do Prof. Men de Sá e a Lorena Mara pelas análises de ressonância magnética nuclear de próton e carbono.

Aos Membros da Banca de Qualificação, Prof. Dr. Luiz Constantino Grombone Vasconcellos, Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa, Profa. Dra. Pablyana Leila Rodrigues da Cunha, pelas sugestões para o melhoramento deste trabalho.

A Secretaria da Educação do Ceará e a CREDE 02 pelo apoio e auxílio durante este curso. Aos Gestores e Professores da EEM Raimundo Nonato Ribeiro, Trairi-CE, pela compreensão e incentivo a alcançar mais este objetivo.

Enfim, a Todos que direta ou indiretamente fizeram parte de mais esta conquista, meu abraço, e agradecimentos.

Dedico este trabalho a minha querida família, em especial minha mãe Profa. Geralda Gonçalves da Cruz (*In Memoriam*) que sempre me deram amor, força e motivação para realização de mais este sonho.

RESUMO

Derivados hidrofóbicos de quitosana (QT) foram preparados por meio de reações de N-Alquilação via base de Schiff, usando como fonte de grupos alquila o aldeído insaturado 3,7-dimetil-oct-6-enal, componente majoritário do óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*), seguida pela redução com borohidreto de sódio. A reação foi realizada em meio aquoso, em condições homogêneas e a temperatura ambiente. Os derivados sintetizados receberam o código QT-CTN e foram caracterizados por Análise Elementar, Teste de Insaturação, Teste de Solubilidade, Espectroscopia de FTIR, Ressonância Magnética Nuclear de Próton e Carbono 13, Grau de Substituição, Tamanho Médio de Partículas, PDI, Potencial Zeta, Termogravimetria e Calorimetria Diferencial de Varredura. A hidrofobização da quitosana foi evidenciada por FTIR, no qual novas bandas aparecem em 2929 cm^{-1} devido à presença do grupo metil juntamente com a presença de banda forte em 1580 cm^{-1} relacionada à N- substituição. Além disso, os RMN de próton e carbono mostram, além dos deslocamentos químicos característicos da quitosana, sinais relativos a grupos metilas, o que corroboram a inserção da cadeia alquila no esqueleto do polímero. Os DS dos derivados mostram que para soluções de quitosana mais diluídas, maior será a quantidade de grupos alquilas inseridos na cadeia polimérica. Esses dados foram comprovados por análise elementar e por RMN ^1H . O teste de insaturação deu positivo para os novos compostos comprovando a presença de insaturações nas amostras, que provavelmente indica que a cadeia inserida possui uma ligação dupla. A distribuição dos tamanhos de partículas foi na sua maioria unimodais, com tamanhos de partículas na faixa de 218-274 nm e potencial zeta variando de +0,44 a +0,63 mV. Os baixos valores para o PDI indicam haver regularidade nos tamanhos das cadeias do polímero. As análises térmicas mostraram que os derivados são menos estáveis que a molécula original de quitosana. Os produtos obtidos são prováveis candidatos para o uso no encapsulamento e transporte de princípios ativos de interesse na área de alimentos, farmácia e medicina.

Palavras-chave: Alquilação. Quitosana. *Cymbopogon winterianus*. Hidrofobização. Derivados.

ABSTRACT

Hydrophobic chitosan (CS) derivatives were prepared by means of Schiff-based N-Alkylation reactions using as the source of alkyl groups the 3,7-dimethyl-oct-6-enal unsaturated aldehyde, the major component of citronella essential oil (*Cymbopogon winterianus*), followed by reduction with sodium borohydride. The reaction was carried out in aqueous medium under homogeneous conditions and at room temperature. The synthesized derivatives received the CS-CTN code and were characterized by Elementary Analysis, Unsaturation Test, Solubility Test, FTIR Spectroscopy, Proton and Carbon 13 Nuclear Magnetic Resonance, Degree of Substitution, Mean Particle Size, PDI, Zeta Potential, Thermogravimetry and Differential Scanning Calorimetry. The hydrophobization of chitosan was evidenced by FTIR, in which new bands appear in 2929 cm^{-1} due to the presence of the methyl group together with the presence of strong band in 1580 cm^{-1} related to N-substitution. In addition, proton and carbon NMR show, in addition to the chemical shifts characteristic of chitosan, signals related to methyl groups, which corroborate the insertion of the alkyl chain in the polymer backbone. The DS of the derivatives show that for more dilute chitosan solutions, the greater the amount of alkyl groups inserted in the polymer chain. These data were confirmed by elemental analysis and by ^1H NMR. The unsaturation test was positive for the new compounds, proving the presence of unsaturation in the samples, which probably indicates that the inserted chain has a double bond. The particle size distribution was mostly unimodal, with particle sizes in the range of 218-274 nm and zeta potential ranging from +0.44 to +0.63 mV. The low values for the PDI indicate regularity in the sizes of the polymer chains. Thermal analyzes have shown that the derivatives are less stable than the original chitosan molecule. The products obtained are likely candidates for use in the encapsulation and transport of active principles of interest in the food area, pharmacy and medicine.

Keywords: *Alkylation. Chitosan. Cymbopogon winterianus. Hydrophobization. Derivatives.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estrutura química da quitosana.....	21
Figura 2	– Reação de desacetilação da quitina	22
Figura 3	– Formação da imina a partir da reação do 3-amino-1-propanol com o glutaraldeído.....	24
Figura 4	– Esquema do mecanismo de reação da formação da base de Schiff	24
Figura 5	– Reação de síntese de derivado lipossolúvel a partir da Carboximetilquitosana e o anidrido ricinoleico	25
Figura 6	– Reação de síntese do N-benzil-O-acetil-quitosana	26
Figura 7	– Reação de formação de bases de Schiff através da interação da quitosana com o 4-(2-cloroetil) benzaldeído.	26
Figura 8	– Mecanismo proposto para a redução da base de Schiff usando NaBH ₄ em Etanol	28
Figura 9	– Fotografia do Capim citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>).....	28
Figura 10	– Estrutura molecular do citronelal.....	30
Figura 11	– Esquema das etapas de purificação da quitosana	32
Figura 12	– Metodologia de síntese dos derivados	34
Figura 13	– Metodologia de redução usando NaBH ₄ em Etanol.....	35
Figura 14	– Sistemas reacionais e imagens dos derivados	35
Figura 15	– (a) Curva da titulação potenciométrica da quitosana. (b) Derivada segunda da curva de titulação	42
Figura 16	– Espectro na região do infravermelho da quitosana	44
Figura 17	– Espectro de RMN ¹ H da quitosana obtido em DCl/D ₂ O	45
Figura 18	– Espectro de RMN ¹³ C da quitosana obtido em HCl/D ₂ O a 70 °C ..	46
Figura 19	– Termograma de TGA/DTG da quitosana obtido em atmosfera de N ₂ e razão de aquecimento 10°C/min.....	48

Figura 20 – DSC para a quitosana obtida sob atmosfera de N ₂	49
Figura 21 – Teste de insaturação para a quitosana e para os derivados QT CTN	50
Figura 22 – Espectros na região do infravermelho dos derivados QT-CTN.....	51
Figura 23 – Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivado QT- CTNa1	52
Figura 24 – Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2	53
Figura 25 – Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2.....	53
Figura 26 – Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNa1, QT-CTNb1 e QT-CTNc1	55
Figura 27 – Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2	55
Figura 28 – Espectro de RMN ¹ H do derivado QT-CTNa1 obtido em DCI/D ₂ O..	57
Figura 29 – Espectro de RMN ¹ H do derivado QT-CTNb1 obtido em DCI/D ₂ O .	58
Figura 30 – Espectro de RMN ¹ H do derivado QT-CTNb2 obtido em DCI/D ₂ O .	58
Figura 31 – Espectro de RMN ¹ H do derivado QT-CTNc1 obtido em DCI/D ₂ O .	59
Figura 32 – Espectro de RMN ¹ H do derivado QT-CTNc2 obtido em DCI/D ₂ O .	59
Figura 33 – Relação entre os espectros de RMN ¹ H dos derivados	60
Figura 34 – Espectro de RMN ¹³ C do derivado QT-CTNb1 obtido em HCl/D ₂ O a 70 °C	62
Figura 35 – Espectro de RMN ¹³ C dos derivados QT-CTNc1 obtido em HCl/D ₂ O a 70 °C	63
Figura 36 – Relação entre os espectros de RMN ¹³ C da quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1.	64
Figura 37 – Gráfico da distribuição do tamanho médio de partículas (nm) para a quitosana e derivados QT-CTN.....	67

Figura 38 – Gráfico 3D do potencial zeta, tamanho médio de partículas e PDI em função do DS.....	69
Figura 39 – Termogramas de TGA/DTG da quitosana e dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2 obtidos em atmosfera de N ₂	70
Figura 40 – Termogramas de TGA/DTG da quitosana e dos derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2 obtidos em atmosfera de N ₂	71
Figura 41 – Termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1 obtidos em atmosfera de N ₂	70
Figura 42 – Termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2 obtidos em atmosfera de N ₂	72
Figura 43 – TGA em função do DS.	73
Figura 44 – TGA em função do tamanho médio de partículas.	74
Figura 45 – DSC para a quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2 obtidas sob atmosfera de N ₂	76
Figura 46 – DSC para a quitosana e derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2 obtidas sob atmosfera de N ₂	76
Figura 47 – DSC para os derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1 obtidas sob atmosfera de N ₂	77
Figura 48 – DSC para os derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2 obtidas sob atmosfera de N ₂	78
Figura 49 – DSC em função do DS.	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Principais condições reacionais usadas para a obtenção dos derivados QT-CTN: Concentração em massa de quitosana por volume de solução aquosa de ácido acético. Razão em mmols de QT: CTN	33
Tabela 2	– pH das soluções de quitosana em diferentes concentrações (m/v).	33
Tabela 3	– Composição percentual do OEC obtido por GC-MS	41
Tabela 4	– Grau de desacetilação.....	43
Tabela 5	– Bandas de absorção da quitosana	44
Tabela 6	– Deslocamentos químicos de prótons da quitosana obtido em DCI/D ₂ O	45
Tabela 7	– Deslocamentos químicos de carbono 13 da quitosana obtido em DCI/D ₂ O a 70°C	47
Tabela 8	– Percentual de carbono (C) e nitrogênio (N), e a razão C/N da quitosana e derivados.....	49
Tabela 9	– DS dos derivados determinado por análise elementar	50
Tabela 10	– Bandas de absorção dos espectros de FTIR dos derivados QT-CTN	56
Tabela 11	– Deslocamentos químicos de prótons dos derivados obtidos em DCI/D ₂ O a 70 °C	61
Tabela 12	– DS dos derivados determinado por RMN ¹ H	62
Tabela 13	– Deslocamentos químicos de carbono 13 dos derivados obtidos em HCl/D ₂ O a 70 °C	65
Tabela 14	– DS dos derivados determinado por RMN ¹ H e por AE.....	65
Tabela 15	– Tamanho médio de partículas e PDI para a quitosana e derivados	66
Tabela 16	– Potencial zeta para a quitosana e derivados	68
Tabela 17	– Resultados das análises termogravimétricas da quitosana e derivados	74

Tabela 18 – Temperaturas (°C) correspondentes ao <i>onset</i> , <i>endset</i> e picos de degradação térmica da quitosana e derivados, e a perda de massa correspondente	75
Tabela 19 – Resultados obtidos na análise dos gráficos de DSC da quitosana e derivados	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	Análise Elementar
CTN	Citronelal
DS	Grau de Substituição
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
DTG	Derivada Primeira da TGA
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
GD	Grau de Desacetilação
Mv	Milivolts
Mg	Miligramas
mL	Mililitros
OEC	Óleo Essencial Citronela
PDI	Índice de Polidispersividade
pH	Potencial Hidrogeniônico
QT	Qitosana
QT-CTN	Derivado
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Próton
TGA	Análise Termogravimétrica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	OBJETIVOS.....	20
2.1	Objetivo geral	20
2.2	Objetivo específico	20
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
3.1	Quitosana.....	21
3.2	Óleo Essencial de Citronela (<i>Cymbopogon winterianus</i>).....	28
4	EXPERIMENTAL	31
4.1	Materiais	31
4.1.1	<i>Reagentes</i>	31
4.2	Métodos	31
4.2.1	<i>Purificação da quitosana</i>	31
4.2.2	<i>Síntese dos derivados QT-CTN</i>	32
4.2.3	<i>Redução dos derivados QT-CTN</i>	34
4.2.4	<i>O grau de desacetilação da quitosana</i>	36
4.2.5	<i>GC-MS do óleo essencial de citronela</i>	37
4.2.6	<i>Análise elementar</i>	37
4.2.7	<i>Teste de insaturação</i>	37
4.2.8	<i>Teste de solubilidade</i>	38
4.2.9	<i>Espectroscopia na região do Infravermelho - FTIR</i>	38
4.2.10	<i>Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ¹H</i>	38
4.2.11	<i>Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ¹³C</i>	38
4.2.12	<i>Grau de substituição - DS</i>	39
4.2.13	<i>Distribuição de tamanho médio de partículas, PDI e Potencial zeta</i> .	39
4.2.14	<i>Análise termogravimétrica – TGA/DTG</i>	40
4.2.15	<i>Calorimetria diferencial de varredura - DSC</i>	40
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1	GC-MS do óleo essencial de citronela.....	41
5.2	Caracterização da quitosana	42
5.2.1	<i>O grau de desacetilação</i>	42
5.2.2	<i>Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR</i>	43
5.2.3	<i>Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ¹H</i>	45

5.2.4	<i>Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ¹³C</i>	46
5.2.5	<i>Análise termogravimétrica – TGA/DTG</i>	47
5.2.6	<i>Calorimetria diferencial de varredura - DSC</i>	48
5.3	<i>Caracterização dos derivados QT-CTN</i>	49
5.3.1	<i>Análise elementar</i>	49
5.3.2	<i>Teste de insaturação</i>	50
5.3.3	<i>Teste de solubilidade</i>	50
5.3.4	<i>Espectroscopia na região do Infravermelho - FTIR</i>	51
5.3.5	<i>Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ¹H</i>	57
5.3.6	<i>Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ¹³C</i>	62
5.3.7	<i>Distribuição de tamanho médio de partículas e PDI</i>	65
5.3.8	<i>Potencial zeta</i>	68
5.3.9	<i>Análise termogravimétrica – TGA/DTG</i>	69
5.3.10	<i>Calorimetria diferencial de varredura – DSC</i>	75
6	CONCLUSÃO	80
	REFERÊNCIAS	81

1 INTRODUÇÃO

A inserção de pequenas moléculas na estrutura de biopolímero por modificação química geralmente resulta em novos materiais, que provavelmente exibirão funcionalidades que permitirão um campo maior de aplicações, em áreas como farmacêutica, alimentos e medicina (JAIN *et al.*, 2013; MONTIEL-HERRERA *et al.*, 2015; PETIT *et al.*, 2015)

A quitosana é um polissacarídeo de cadeia linear constituída por unidades monoméricas 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e N-acetil-2-desoxi-D-glicopirranose em proporções variáveis (WANG, JUNHUA *et al.*, 2016). Em meio aquoso ácido, os grupos amino são protonados tornando a quitosana solúvel e proporcionando-lhe um caráter catiônico, que é uma propriedade muito importante ao lado de outras como biocompatibilidade, biodegradabilidade e não toxicidade (PILLAI *et al.*, 2009; WANG, JING *et al.*, 2016a).

Nanopartículas de quitosana foram usadas para a preparação de compostos, resultando nos chamados “bionanocompósitos” um material interessante com grande potencial de aplicações (SHCHIPUNOV *et al.*, 2009). Além disso, numa perspectiva de química verde, foi considerada como uma matéria-prima renovável permitindo a síntese de produtos de alto valor e de interesse para as indústrias de alimentos e farmacêutica (BARBER *et al.*, 2013). Geralmente, os derivados de quitosana são sintetizados por reações que ocorrem no grupo amino do C2 ou nas hidroxilas do C3 e C6, como por exemplo, N-alquilações redutoras, N-acilações, N,N,N-trimetilação e O-carboximetilação (SON *et al.*, 2004; KURITA; ISOGAI, 2012; ROBLES *et al.*, 2013).

A alquilação redutora é um método confiável para inserir grupos alquila no grupo amino da quitosana, em que é tratada com cetona ou com aldeído para produzir uma imina (base de Schiff) e, em seguida, é usado o agente redutor (borohidreto de sódio ou cianoborohidreto) para obter o derivado alquila. Derivados anfifílicos de quitosana que exibem propriedades reológicas e de superfície ativa foram preparados por esta reação (PETIT *et al.*, 2015). Em outras abordagens, os derivados são reivindicados possuindo potencial para aplicações na administração do DNA. Outras aplicações incluem revestimento de membrana, engenharia de

tecidos, revestimentos antibacteriano e encapsulamento de produtos farmacêuticos e cosméticos (JAIN *et al.*, 2014).

Óleos essenciais são compostos ricos em terpenos e sesquiterpenos. O óleo essencial *C. winterianus*, possui vários componentes, entre os quais está o aldeído citronelal (3,7-dimetil-oct-6-enal) (KAKARAPARTHI *et al.*, 2014). Os óleos essenciais de plantas tais como o *C. winterianus* são descritos na literatura como possuidor de atividade biológica, como a repelência (SOLOMON *et al.*, 2012). Há relatos que os extratos de plantas da espécie *C. winterianus* possuem atividades biológicas, como por exemplo, atividades inseticidas (MACIEL *et al.*, 2010), antimicrobiana (TYAGI; MALIK, 2010; HERCULANO *et al.*, 2015), anti-hiperglicêmica, antioxidantes e anti-helmínticas (MACEDO *et al.*, 2010).

Neste trabalho foram sintetizados derivados N-Alquil-quitosana utilizando o óleo essencial *C. winterianus* como única fonte de cadeias alquilas. Os derivados obtidos foram reduzidos com borohidreto NaBH₄ e foram caracterizados por Análise Elementar (AE), Espectroscopia de FTIR, Ressonância Magnética Nuclear de próton e carbono, Tamanho Médio de Partículas, PDI, Potencial Zeta, Termogravimetria e Calorimetria Diferencial de Varredura. O grau de substituição (DS) foi calculado por AE e por RMN ¹H. Por fim, os DS dos derivados foram comparados com suas propriedades físico-químicas como solubilidade, distribuição de tamanho de partículas, potencial zeta, e com os picos de temperaturas dos eventos térmicos. Os derivados que apresentaram melhores propriedades serão estudados mais detalhadamente, e verificada sua eficiência como agentes encapsulantes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e caracterizar derivados de quitosana hidrofóbizados por meio da reação de N-Alquilação redutiva via base de Schiff usando o óleo essencial de citronela.

2.2 Objetivos Específicos

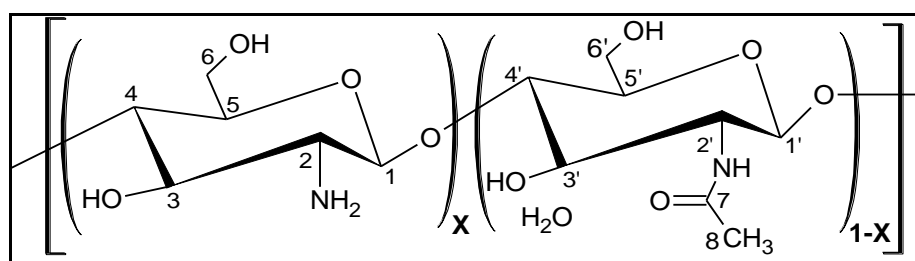
- Purificação da quitosana e caracterização por grau de desacetilação, análise espectroscopia de FTIR, espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C , e análises térmicas (TGA, DSC).
- Síntese de derivados através da reação do grupo amino livre da quitosana com o 3,7-dimetil-oct-6-enal composto majoritário no óleo essencial de citronela (*Cymbopogon winterianus*), seguida de redução com borohidreto de sódio (NaBH_4).
- Caracterização estrutural e físico-química dos derivados por análise elementar, teste de insaturação, teste de solubilidade, espectroscopia de FTIR, espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C , grau de substituição, distribuição de tamanho médio de partículas, PDI, potencial zeta e análises térmicas (TGA e DSC).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Quitosana

A quitosana é um polímero natural de cadeia linear derivado da quitina. A cadeia polimérica da quitosana é constituída por unidades monoméricas 2-amino-2-desoxi-D-glicopirranose e N-acetil-2-desoxi-D-glicopirranose ligadas por ligações do tipo β (1 \rightarrow 4) como mostra a Figura 1 (PILLAI et al., 2009; WANG, JUNHUA et al., 2016).

Figura 1: Estrutura química da quitosana.

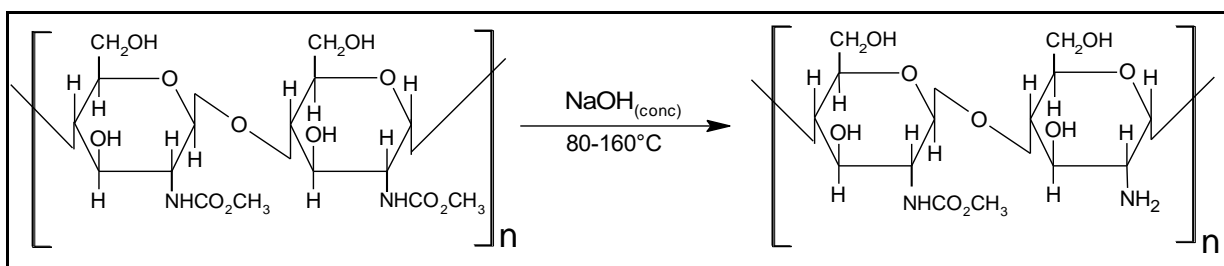


Fonte: Adaptado de (RINAUDO, 2006; WANG, JUNHUA et al., 2016).

A quitosana é um derivado N-desacetilado da quitina com grau de desacetilação na faixa de 50 a 90% (PILLAI et al., 2009; WANG, JUNHUA et al., 2016). A quitina é o segundo polissacarídeo mais abundante da natureza, é extraída principalmente do exoesqueleto de crustáceos, mas pode ser também encontrada em moluscos, anelídeos, artrópodes e na parede celular de certos fungos como *Mucor rouxii* e *Choanephora cucurbitaru* (PENICHE et al., 2008).

A Figura 2 mostra a reação de desacetilação da quitina. A quitina quando submetida a condições alcalinas com hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio e a temperaturas que podem variar de 80 a 160 °C sofre uma reação na qual a unidade acetilada perde o grupo acetil dando origem ao grupo amino livre (RAVI KUMAR, 2000).

Figura 2: Reação de desacetilação da quitina.



Fonte: adaptado de Ravi Kumar (2000).

O grau de desacetilação e a massa molar média da quitosana são os parâmetros mais importantes para a determinação de suas propriedades físicas e químicas (SORLIER *et al.*, 2002; PILLAI *et al.*, 2009). O grau de desacetilação da quitosana depende de fatores como a fonte da quitina e o método empregado na reação de desacetilação. A quitosana disponível no comércio possui grau de desacetilação que pode variar de 60 a 100% (YOGESHKUMAR *et al.*, 2013).

Existem vários métodos usados para determinar o grau de desacetilação da quitosana, entre as quais podemos destacar: Espectroscopia de RMN ¹H, espectroscopia de FTIR e titulação potenciométrica (PENICHE *et al.*, 2008).

A massa molar média da quitosana pode ser determinada por cromatografia líquida ou viscosimetria, sendo o método viscosimétrico o mais empregado. A massa molar média desse polissacarídeo pode variar de 100.000 a 1.200.000 g/mol (DAMIAN *et al.*, 2005).

Desbrières *et al.* (1996) determinaram por viscosimetria a massa molar média da quitosana, obtida da Aber Technologies França, e encontraram o valor aproximado de 190.000 g/mol.

Zhu *et al.* (2016) utilizaram quitosana com massa molar média de 100.000 g/mol e com grau de desacetilação acima de 95% na síntese de derivados com melhor solubilidade em água e com ação antibacteriana.

A quitosana é formada por cadeias poliméricas que estão fortemente agrupadas devido às interações de hidrogênio que ocorrem ao longo da cadeia polissacarídica. Esta característica do polímero contribui para sua cristalinidade e solubilidade (CHIVANGKUL *et al.*, 2014). A quitosana é insolúvel em água, no entanto, ela pode ser dissolvida em ácidos orgânicos diluídos como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido cítrico e ácido succínico (YING *et al.*, 2011). A solubilização deste polímero em meio ácido ocorre porque os grupos amino são

protonados formando um polieletrólito catiônico, com isto aumentam as repulsões entre as cadeias poliméricas, favorecendo este processo (DAMIAN *et al.*, 2005; RINAUDO, 2006).

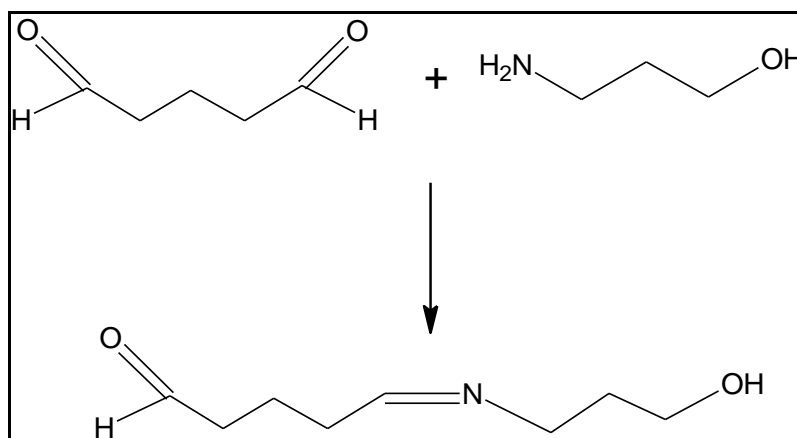
A quitosana possui características biológicas relevantes como biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, atividade microbiana, biodegradabilidade enzimática, mucoadesão e permeabilidade epitelial (PENICHE *et al.*, 2008; SINGH; MISHRA, 2013). Em função destas propriedades, a quitosana e seus derivados têm sido empregados em diversas áreas. Como por exemplo, na área biomédica, na engenharia de tecidos (KUMAR GIRI *et al.*, 2012), na farmacêutica, principalmente no preparo de sistemas para transporte e liberação controlada de fármacos (LARANJEIRA; FÁVERE, DE, 2009; ANIRUDHAN *et al.*, 2016). A quitosana também tem sido aplicada em outros campos como agricultura, indústria de alimentos, indústria de cosméticos e absorção de cátions metálicos (PENICHE *et al.*, 2008; YOGESHKUMAR *et al.*, 2013).

Além destas características, a presença do grupo amino na cadeia polimérica favorece uma variedade de modificações químicas, ampliando assim, sua aplicabilidade. Vários trabalhos reportam acerca da modificação química da quitosana (KURITA, 2001; JAIN *et al.*, 2013).

N-lauril-carboximetilquitosana foram preparados e usados no encapsulamento micelar do Taxol® permitindo sua aplicação por injeção intravenosa tornando assim, a ação terapêutica deste fármaco mais efetiva. Neste trabalho os autores inseriram cadeias hidrofóbicas e hidrofílicas na quitosana, dando ao derivado uma natureza anfifílica, com o propósito de solubilizar o fármaco. A cadeia hidrofóbica foi obtida fazendo reagir o grupo amino do polímero com o lauril aldeído, já a porção hidrofílica foi inserida a partir da reação do grupo hidroxila da quitosana com o ácido monocloroacético (MIWA *et al.*, 1998; RINAUDO, 2006).

Alves (2008) sintetizou novos compostos a base de quitosana, através da N-Alquilação redutiva usando o 3-amino-1-propanol e o glutaraldeído como agente reticulante. Inicialmente a autora fez reagir o 3-amino-1-propanol com o glutaraldeído obtendo uma imina, como mostra a Figura 3. Em seguida, o grupo aldeído da imina reagiu com o grupo amino livre, alterando dessa forma a hidrofobicidade do polímero. A modificação química foi evidenciada por mudança na viscosidade dos derivados, mudança de cor, solubilidade e na sua estabilidade térmica.

Figura 3: Formação da imina a partir da reação do 3-amino-1-propanol com o glutaraldeído.

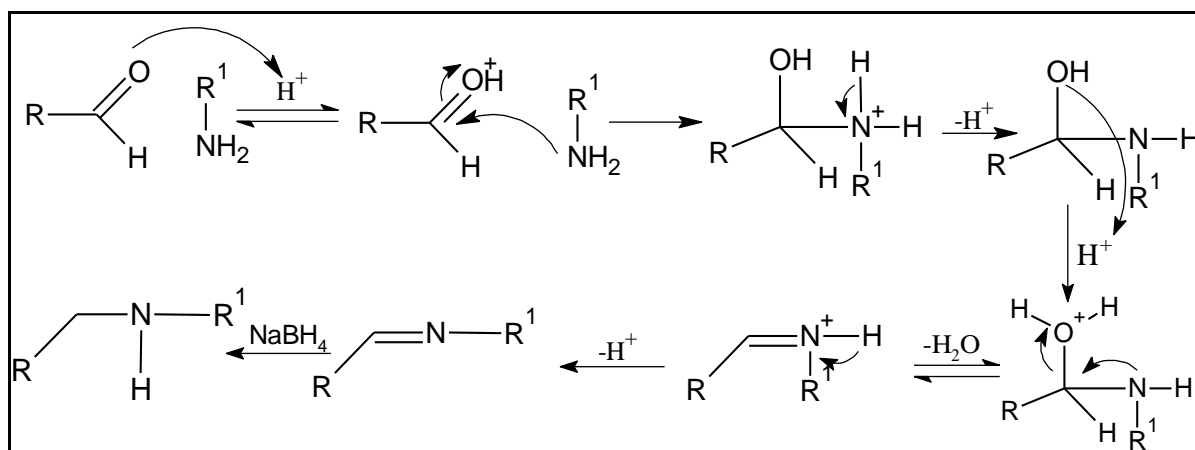


Fonte: Adaptado de Alves (2008)

Kurita e Isogai (2012) prepararam compostos N-Alquilados de quitosana com alto grau de substituição usando o 2-bromoetanol, o brometo de benzila, o ácido monocloroacético e o ácido monobromoacético na presença de bicarbonato de sódio (NaHCO_3). Em seguida estudaram detalhadamente a relação entre as condições reacionais e o grau de substituição dos compostos N-Alquilas obtidos.

He *et al.* (2012) modificaram quimicamente a quitosana fazendo reagir o grupo amino com a carbonila do salicilaldeído (2-hidroxibenzaldeído) e do dodecil aldeído produzindo bases de Schiff que foram, em seguida, reduzidas com borohidreto de sódio (NaBH_4). Logo após, caracterizaram esses derivados por espectroscopia de FTIR, XRD e por suas propriedades reológicas e avaliaram sua capacidade hemostática *in vitro*. A Figura 4 exibe o mecanismo da reação empregada na síntese do N-derivado.

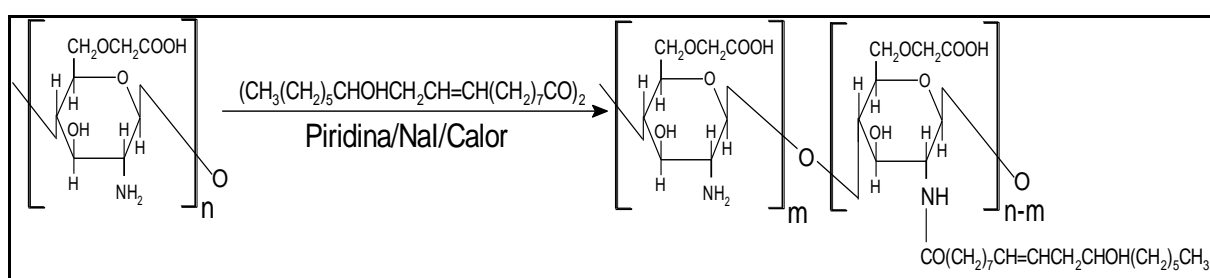
Figura 4: Mecanismo de reação de N-Alquilação via base de Schiff.



Fonte: Adaptado de HE *et al.* (2012).

Feng e Peng (2012) sintetizaram um composto anfifílico a partir da reação da Carboximetilquitosana com o anidrido ricinoleico com o intuito de preparar uma bioemulsão micelar em escala nanométrica para o transporte do pesticida Azadiractin[®]. A Figura 5 mostra o esquema da reação onde a Carboximetilquitosana, polímero solúvel em água, reage com o ácido ricinoleico para formar um composto com propriedades favoráveis a formação de micelas com características lipossolúveis e hidrossolúveis.

Figura 5: Reação de síntese de derivado lipossolúvel a partir da Carboximetilquitosana e o anidrido ricinoleico.

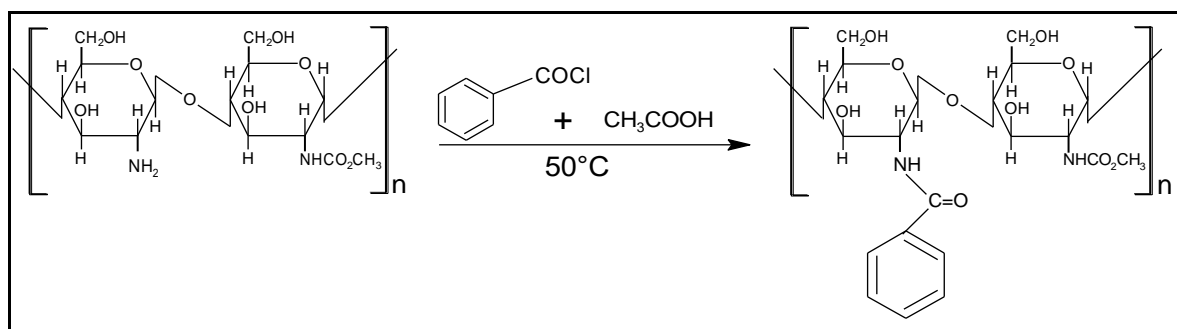


Fonte: Adaptado de Feng e Peng (2012).

Beyki *et al.* (2014) sintetizaram nanogéis de ácido quitosano-cinâmico modificada fazendo primeiramente o ácido cinâmico reagir com o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) - carbodiimida, agente ativante de grupos carboxilas para acoplamentos de amins primárias, seguida pela reação com o grupo amino do C2 do anel D-Glicosamino. O nanogel obtido neste experimento foi usado para encapsulamento do óleo essencial de Menta Piperita, desta forma favorecendo a estabilidade e a ação *in loco* do óleo contra infecções causadas pelo fungo *Aspegilus flavus*.

Cai *et al.* (2015) sintetizaram e caracterizaram a substância N-benzil-O-acetil-quitosana utilizando o cloreto de benzila e quitosana em ácido acético puro. As estruturas das substâncias envolvidas no processo bem como as condições reacionais estão representadas na Figura 6.

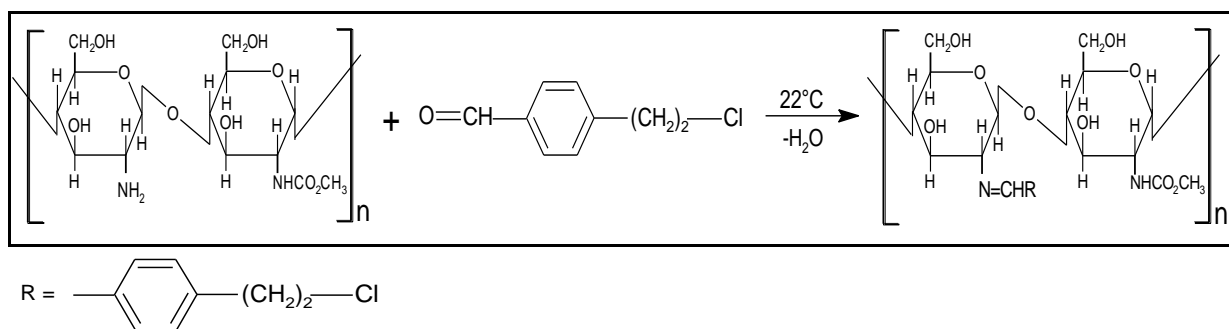
Figura 6: Reação de síntese do N-benzil-O-acetil-qitosana.



Fonte: Adaptado de Cai *et al.* (2015).

Gavalyan (2016) produziu novas bases de Schiff em meio levemente ácido, reagindo a quitosana com os aldeídos aromáticos 4-(2-cloroetil) benzaldeído e 4-(2-bromoetil) benzaldeído. A Figura 7 mostra a reação da quitosana com o 4-(2-cloroetil) benzaldeído. Depois, os produtos foram submetidos a reação de desidrohalogenação, sob condições alcalinas, para obter os respectivos compostos vinílicos. A proposta é disponibilizar esses grupos vinílicos para possíveis reações de polimerização e copolimerização gerando a oportunidade de obtenção de novas estruturas poliméricas.

Figura 7: Reação de formação de bases de Schiff através da interação da quitosana com o 4-(2-cloroetil) benzaldeído.



Fonte: Adaptado de Gavalyan (2016).

Bobu *et al.* (2011) sintetizaram derivados hidrofóbicos de quitosana inserindo cadeias alquilas no grupo amino com o objetivo de melhorar a solubilidade em meio neutro, e assim, favorecer sua aplicabilidade como aditivo na fabricação de papel. Os derivados foram obtidos reagindo o octanal com a quitosana seguida pela redução com cianoborohidreto de sódio. Após a redução, os produtos foram precipitados em hidróxido de sódio (pH 9,0), centrifugados e secos. Os compostos

foram precipitados na forma de cloridrato sendo atestada a solubilidade de quase 100% em água.

Nanopartículas de quitosana hidrofobizada com cadeias alquila de 8, 10 e 12 carbonos foram sintetizadas e complexadas com a insulina usada como modelo de proteína. Em seguida, os autores investigaram a influência da hidrofobização na formação, propriedades físicas, solubilidade e perfil de liberação das nanopartículas, e compararam com as nanopartículas da quitosana original. Concluiu-se que as nanopartículas hidrofóbicas apresentaram menor tamanho médio, maior carga superficial e maior eficiência de carregamento de proteína a pH 6. Os estudos também mostraram ser a insulina liberada mais lentamente quando complexadas a estes compostos (ROBLES *et al.*, 2013).

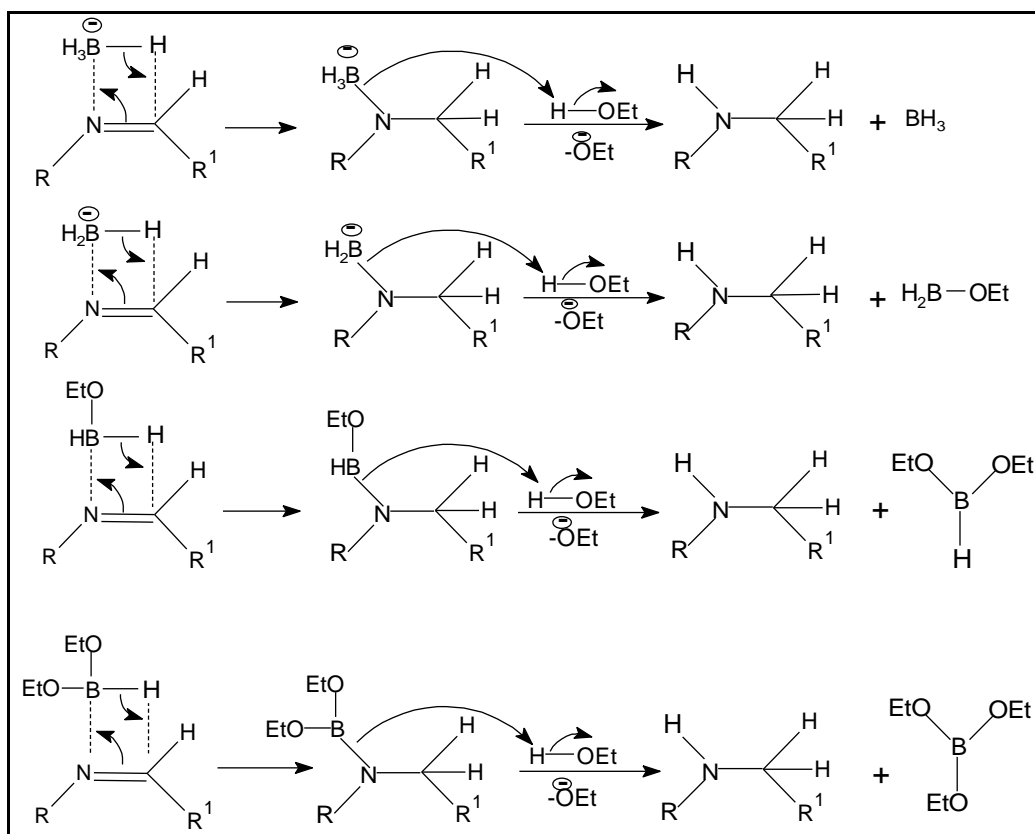
Compostos anfífilicos de quitosana N-substituída foram preparados usando radiação de micro-ondas em lugar do aquecimento convencional. Neste experimento observou-se o tempo de reação em função do rendimento e possíveis alterações na cadeia polimérica. O aquecimento por irradiação de micro-ondas demonstrou ser mais eficiente, pois em menor intervalo de tempo obteve-se maior rendimento. Os resultados também mostraram que o biopolímero irradiado não sofreu alterações na sua base estrutural, e que não houve mudanças em propriedades como viscosidade e tensão superficial (PETIT *et al.*, 2015).

O borohidreto de sódio é frequentemente empregado como agente redutor em reações orgânicas (DEMIRCI *et al.*, 2010). O borohidreto de sódio é o reagente de escolha para a redução de aldeídos e cetonas em álcoois em solventes próticos (RAYATI *et al.*, 2015).

Saberi *et al.* (2014) sintetizaram aminas secundárias a partir da reação de aldeídos e cetonas com aminas primárias, e usaram NaBH_4 em metanol como agente redutor.

Njogu *et al.* (2016) propuseram um mecanismo para a redução de bases de Schiff em etanol como mostra a Figura 8.

Figura 8: Mecanismo proposto para a redução da base de Schiff usando NaBH₄ em Etanol.



Fonte: Adaptado de Njogu *et al.* (2016).

3.2 Óleo Essencial de Citronela (*Cymbopogon winterianus*)

O *Cymbopogon winterianus*, conhecido popularmente como capim citronela (Figura 9), é uma planta de origem indiana cultivada em países de clima tropical e subtropical como a Índia, Sri Lanka, Malásia, Guatemala, Brasil e México (TIMUNG *et al.*, 2016).

Figura 9: Fotografia do Capim Citronela (*Cymbopogon winterianus*).



Fonte: <https://davesgarden.com/guides/pf/go/54667/>

O gênero *Cymbopogon* inclui cerca de 140 espécies, sendo as espécies *Cymbopogon nardus* (citronela de Ceilão) e *Cymbopogon winterianus* (citronela de Java) as de maior aplicabilidade tanto na indústria farmacêutica como na indústria de cosmético e de perfumaria (SILVEIRA *et al.*, 2012).

O óleo essencial *Cymbopogon* é rico em monoterpenos e sesquiterpenos, que são hidrocarbonetos pertencentes à classe dos terpenos, conhecidos também como terpenóides (VICTORIA *et al.*, 2012).

Os terpenos são constituídos por duas ou mais unidades do isopreno 2-metil-1,3-butanodieno (T.W. GRAHAM SOLOMONS CRAIG B. FRYHLE, 2011).

Os componentes majoritários do óleo essencial da espécie *Cymbopogon winterianus* são o citronelal, o geraniol e o citronelol (CASSEL *et al.*, 2009; KAKARAPARTHI *et al.*, 2014). A Figura 10 exibe a estrutura molecular do citronelal.

Cassel *et al.* (2009) cultivaram o capim citronela no Estado do Rio Grande do Sul-Brasil, e por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC/MS) determinaram a composição química do óleo de citronela, sendo encontrado aproximadamente 35% de citronelal.

Quintans-Júnior *et al.* (2008) analisaram por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (GC/MS) a composição do óleo essencial de citronela da espécie *Cymbopogon winterianus*, cultivada no Nordeste do Brasil, e encontraram os seguintes componentes em maiores quantidades, o geraniol (46,06%), o citronelal (27,44%) e o citronelol (10,45%).

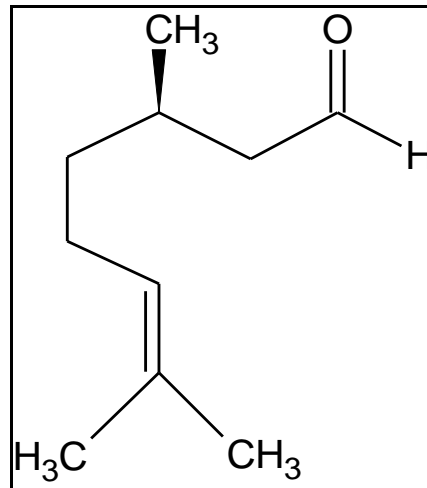
Silveira *et al.* (2012) verificaram a composição do óleo essencial *Cymbopogon winterianus*, cultivado na cidade de Concórdia – SC, e avaliaram sua atividade antibacteriana. Neste estudo foi atribuído o percentual de 41,80% de citronelal na composição do óleo.

Moncada *et al.* (2014) ao estudarem uma técnica econômica e sustentável para extração de óleo essencial do *Cymbopogon winterianus* cultivado na Colômbia, destacaram os componentes majoritários presentes nesta espécie, sendo o citronelal o composto mais abundante com percentual de 54,16%.

O óleo essencial de citronela possui propriedades medicinais. Na medicina popular do nordeste brasileiro o capim citronela é usado no tratamento de epilepsia e ansiedade (QUINTANS-JÚNIOR *et al.*, 2008). Os autores também destacam o uso do óleo essencial citronela como essências para alimentos e como fragrância na indústria de perfumes. Na literatura é possível encontrar relatos de que

o óleo essencial *C. winterianus* possui atividades antifúngicas, podendo ser usado contra fungos das espécies *Aspergillus*, *Penicillium* e *Eurotium* devido à presença do citronelal e o linalol (WANY *et al.*, 2013). O óleo de citronela possui ação repelente contra insetos, podendo ser usado para matar a lava do mosquito *Aedes aegypti* e também possui atividade antimicrobiana (SILVEIRA *et al.*, 2012).

Figura 10: Estrutura molecular do citronelal.



Fonte: Adaptado de Victoria *et al.*, 2012.

4 EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

4.1.1 Reagentes

Foram utilizados os seguintes materiais para o desenvolvimento deste projeto: Quitosana fornecida pela Polymar S/A. Óleo essencial *C. winterianus* obtido da Ferquima. Hidróxido de sódio P.A, Borohidreto de sódio P.A, ácido clorídrico P.A, Biftalato de potássio P.A, Óleo surfactante Tween 80 P.S, Dimetilsulfóxido – DMSO P.A todos comprados da Vetec. Ácido acético glacial P.A, Acetona P.A e Etanol absoluto adquiridos da Synth. Água destilada e água milliQ. Água deuterada e ácido clorídrico deuterado comprados da empresa Sigma Aldrich.

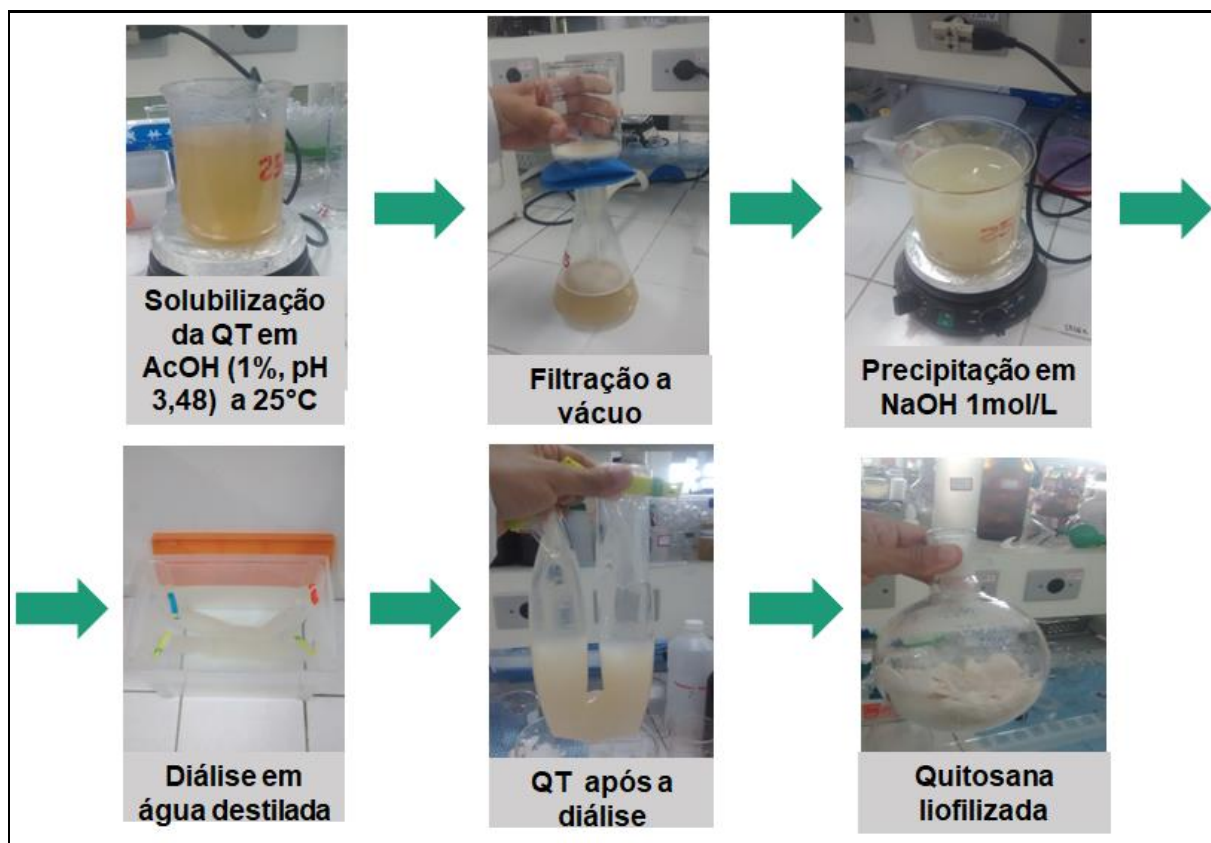
4.2 Métodos

4.2.1 Purificação da quitosana

A quitosana foi purificada dissolvendo-se 5,0 g da mesma em 0,5 L de ácido acético a 1% (v/v; pH 3,48) sob agitação magnética constante durante 24 h e a temperatura ambiente. Logo após a solubilização, a solução polimérica (pH 4,13) foi filtrada em funil de placa sinterizada N° 02 para remoção de partículas insolúveis como resíduos de proteínas e pigmentos. Em seguida, a solução polimérica foi precipitada em 600 mL de solução aquosa de NaOH (1,0 mol/L; pH 15,43). Depois, o precipitado foi lavado com água, e logo após, adicionada a uma membrana celulósica de diálise e colocada em caixa plástica com cerca de 5,0 L de água destilada. As trocas da água de diálise ocorreram a cada 24 h acompanhando a condutividade. Observado que a condutividade elétrica da água de diálise permaneceu constante em aproximadamente $4,6 \mu\text{S}/\text{cm}^2$, a solução de quitosana foi removida da membrana de diálise e submetida ao processo de secagem por liofilização. A liofilização ocorreu durante um período de aproximadamente 48 h. Em seguida, a quitosana liofilizada foi macerada e deixada no dessecador até a remoção completa de umidade. A massa do polímero, obtida após a secagem, foi

igual a 3,58 g com rendimento de 71,6%. A Figura 11 exibe as etapas seguidas no processo de purificação.

Figura 11: Esquema das etapas de purificação da quitosana.



Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.2 Síntese dos derivados QT-CTN

Nestes experimentos foram sintetizados e caracterizados cinco derivados a base de quitosana que receberam a denominação de QT-CTN. Eles foram obtidos variando as concentrações da solução aquosa de quitosana e a razão QT:OEC. Os produtos da reação receberam os seguintes códigos: QT-CTNa1, QT-CTNb1, QT-CTNb2, QT-CTNc1 e QT-CTNc2, em que as terminações a1, b1, b2, c1, c2 estão relacionadas às condições reacionais como mostra a Tabela 1.

Tabela 1: Principais condições reacionais usadas para a obtenção dos derivados QT-CTN: Concentração em massa de quitosana por volume de solução aquosa de ácido acético. Razão em mmols de QT: CTN.

Derivados QT-CTN	Condições reacionais	
	C(m/v)	Razão QT:CTN(mmols/mmols)
QT-CTNa1	0,125%	1:0,8
QT-CTNb1	0,25%	1:0,8
QT-CTNb2	0,25%	1:0,6
QT-CTNc1	0,5%	1:0,8
QT-CTNc2	0,5%	1:0,6

Inicialmente, preparou-se a solução aquosa de quitosana em três concentrações: 0,125%, 0,25% e 0,5%. A solução a 0,125% foi obtida dissolvendo 125 mg de quitosana em 100 mL de ácido acético a 1% (v/v; pH 3,32). A solução a 0,25% foi preparada dissolvendo 250 mg de quitosana em 100 mL de ácido acético a 1% (v/v; pH 3,64). A solução a 0,5% foi preparada dissolvendo 500 mg de quitosana em 100 mL de ácido acético a 1% (v/v; pH 4,35). Em todos os experimentos as soluções foram preparadas em béqueres de 250 mL, à temperatura ambiente e sob agitação constante por um período de 24 horas. Os valores de pH das soluções poliméricas estão registrados na Tabela 2.

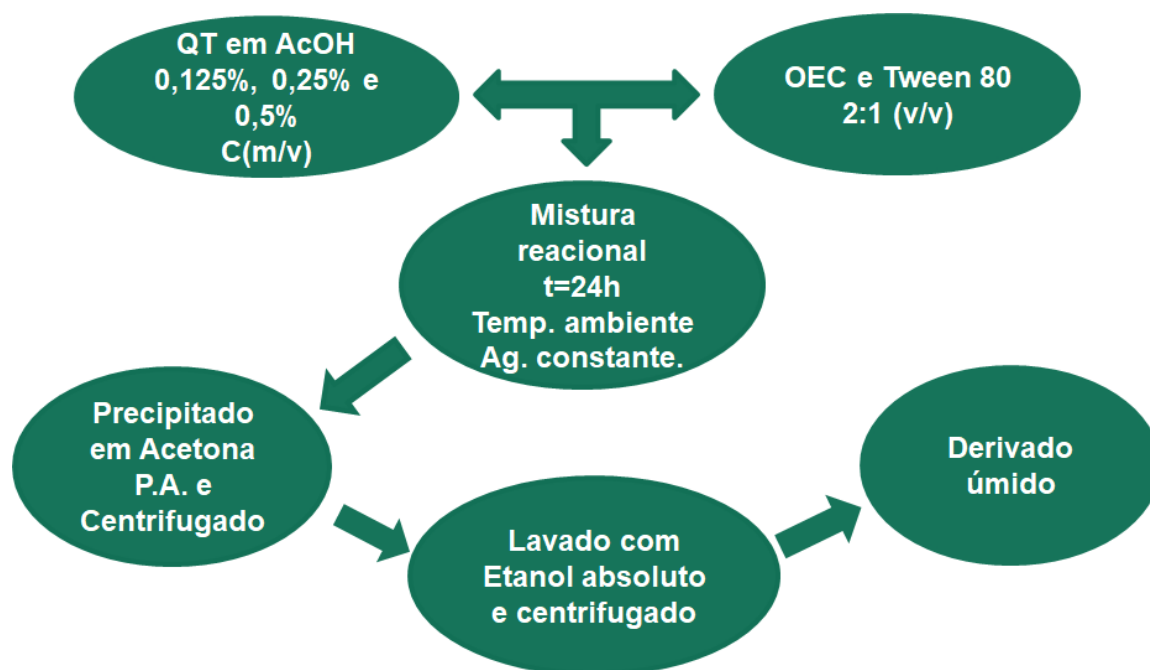
Tabela 2: pH das soluções poliméricas em diferentes concentrações (m/v).

Solução polimérica C(m/v)	pH
0,125%	3,32
0,25%	3,64
0,5%	4,35

Em seguida, preparou-se a fase orgânica misturando o óleo essencial citronela ao óleo Tween 80 na razão 2:1 (m/m). A quantidade de óleo essencial citronela utilizada na síntese obedeceu às razões mostradas na Tabela 1. Posteriormente, a fase orgânica foi adicionada lentamente a fase aquosa, sob agitação constante, ao abrigo da luz, e a temperatura ambiente. A reação ocorreu durante o período de 24 horas. Depois, o produto reacional foi precipitado em 300 mL de acetona P.A, a temperatura de 5 °C e, em seguida, deixado no freezer por aproximadamente 12 h. Logo após o precipitado foi centrifugado em ciclos de 15 minutos numa centrífuga da marca Sigma e modelo 3-30 K, a 30.000 rpm e à

temperatura de 5 °C. Depois o precipitado foi lavado com etanol absoluto e centrifugado novamente. A Figura 12 mostra o sistema reacional montado para a obtenção dos derivados e os produtos da reação.

Figura 12: Metodologia de síntese dos derivados.

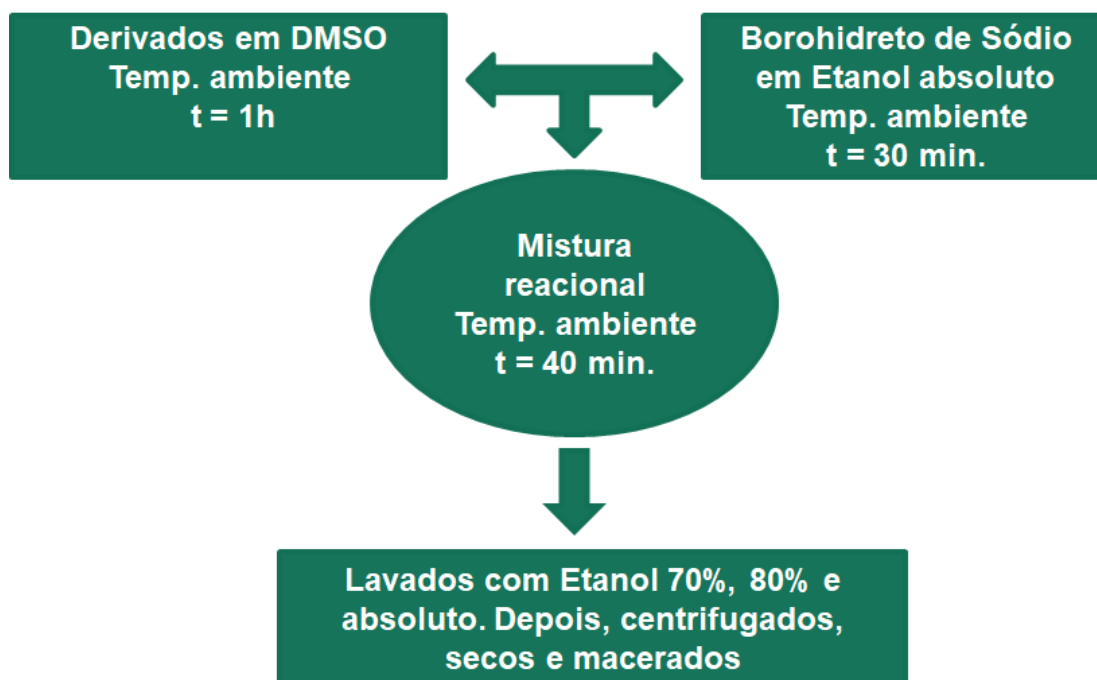


Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.3 Redução dos derivados QT-CTN

A redução dos derivados foi efetuada usando borohidreto de sódio P.A (NaBH₄). Primeiramente, as amostras foram solubilizadas em 5,0 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) sob agitação magnética constante por um período de 1 h. Paralelamente, a massa de NaBH₄ foi pesada na proporção 1:1 (mmols de NaBH₄/mmols de citronelal) e solubilizada em 5,0 mL de etanol absoluto sob agitação magnética constante por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, a solução alcoólica contendo NaBH₄ foi adicionada vagarosamente a suspensão derivado/DMSO e deixando agitar por 40 minutos. Depois da redução, os derivados foram lavados com etanol 70%, 80% e etanol absoluto sendo que, após cada lavagem, as amostras foram centrifugadas em uma centrífuga da marca Sigma 3-30 K, em ciclos de 15 minutos, a temperatura de 5°C e a 30.000 rpm. Em seguida, os derivados foram secos e macerados. As etapas seguidas durante a redução dos derivados estão mostradas na Figura 13.

Figura 13: Metodologia de redução usando NaBH_4 em Etanol



Fonte: Elaborado pelo autor

A figura 14 mostra os sistemas reacionais de síntese e de redução dos derivados, bem como os derivados úmidos e secos.

Figura 14: Sistemas reacionais e imagens dos derivados



Fonte: Elaborado pelo autor

4.2.4 O grau de desacetilação da quitosana

O grau de desacetilação foi determinado por titulação potenciométrica e RMN ^1H . A titulação potenciométrica foi realizada dissolvendo-se 0,2 g de quitosana em 40 mL de solução aquosa de ácido clorídrico (HCl) a 0,0555 mol/L padronizada com hidrogeno ftalato de potássio ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$). A amostra permaneceu sob agitação magnética constante até a completa solubilização do polímero, e depois, adicionou-se água até o volume total de 150 mL para permitir uma melhor dispersão dos íons H^+ . Posteriormente, titulou-se a solução polimérica com solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,0975 mol/L padronizada com hidrogeno ftalato de potássio, sob agitação constante e a temperatura ambiente. A titulação foi conduzida adicionando volumes de 0,5 mL até 23,5 mL com o auxílio de uma bureta. A variação de pH em função da adição da base foi observada em um pHmetro da marca Digimed e modelo DM-22. Com isto obteve-se a curva característica da titulação potenciométrica. A partir da derivada segunda da curva potenciométrica da amostra de quitosana obtém-se os volumes referentes aos pontos de inflexão, que correspondem ao volume de solução de NaOH consumido na neutralização do excesso de próton H^+ e o volume de solução de NaOH consumido na desprotonação dos grupos amino livres da cadeia polimérica.

O cálculo do grau de desacetilação foi realizado segundo Weska *et al.* (2007), usando a Equação 4.1 onde, 161 é a massa molar da unidade monomérica desacetilada, v_1 e v_2 são os volumes em litro de hidróxido de sódio consumidos, e m é a massa em gramas de quitosana.

$$\text{GD} = \frac{161 \times [\text{base}] \times (v_2 - v_1)}{m} \times 100 \quad (\text{Equação 4.1})$$

A determinação do grau de desacetilação por RMN ^1H foi realizada empregando o método desenvolvido por Lavertu *et al.* (2003), onde foram usados as integrais dos sinais em 4,9 ppm referente ao hidrogênio do carbono anomérico da unidade desacetilada, e em 2,04 ppm relativo ao hidrogênio do grupo acetila, como mostra a Equação 4.2.

$$GD = \frac{\int I_{H1(D)}}{\int I_{H1(D)} + \frac{\int I_{H(Ac)}}{3}} \times 100 \quad \text{(Equação 4.2)}$$

4.2.5 GC-MS do óleo essencial de citronela

A composição do óleo essencial de citronela foi determinada através de cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massa (GC-MS), utilizando um equipamento SHIMADZU modelo QP5050, equipado com uma coluna capilar DB-1 (30 m, ID 0,25 mm, espessura do filme 0,25 µm) e auto injetor AOC-20i. Foi usado hélio como gás de arraste (1.7 mL/min.). A temperatura inicial da coluna foi mantida a 25 °C e, em seguida, aumentou-se até 230 °C a uma taxa de 3 °C/min. O detector seletivo de massa foi utilizado no modo de ionização de elétrons, com o intervalo de massa entre 35 e 500 m/z.

4.2.6 Análise elementar

O teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre foram determinados nas amostras por microanálise utilizando o equipamento 2400 Series II CHNS/O Analyser da Perkin Elmer. Os dados foram obtidos em triplicata.

4.2.7 Teste de insaturação

O teste de insaturação, também conhecido como teste de Baeyer, é um método analítico qualitativo empregado para identificar a presença de ligações duplas ou triplas nas amostras. A solução empregada consiste numa solução fria de $KMnO_4$ que oxida as insaturações. Durante a reação de oxidação ocorre a mudança de coloração da solução que passa da cor roxa para a cor laranja. As análises foram realizadas adicionando em um frasco de vidro cerca de 5,0 mg das amostras sólidas em 5,0 mL de solução de $KMnO_4$ (0,001 mol/L) a frio e sob agitação magnética.

4.2.8 Testes de solubilidade

A solubilidade para cada derivado foi realizada nos seguintes solventes: acetona, etanol, metanol, DMSO, ácido clorídrico (1%), ácido acético (1%) e em água milliQ. Para o teste de solubilidade foram adicionados 5,0 mg da amostra em 2,0 mL do solvente deixando sob agitação magnética por 24 h a temperatura ambiente.

4.2.9 Espectroscopia na região do Infravermelho – FTIR

Os espectros de FTIR para a quitosana e derivados foram obtidos em pastilhas de KBr em um espectrômetro da marca Shimadzu FTIR - 8500 operando na faixa de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . As amostras foram preparadas usando 1,0 mg em 100 mg de KBr.

4.2.10 Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ^1H

O espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNa1 foram obtidos em um espectrômetro da marca Varian nmr600-vnmrs600, a $70\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram preparadas na concentração de 1% (m/v), dissolvendo 20 mg da amostra em 2,0 mL de uma mistura de DCI/D₂O a 1% (v/v). Os espectros de RMN ^1H da quitosana e derivados QT-CTNb1, QT-CTNb2, QT-CTNc1 e QT-CTNc2 foram obtidos em um equipamento da marca Bruker Avance DRX 500 MHz a $70\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram preparadas dissolvendo aproximadamente 15 mg da amostra numa mistura de DCI/D₂O a 2% (v/v).

4.2.11 Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ^{13}C

Os espectros de RMN ^{13}C da quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1 foram obtidos em um espectrômetro da marca Varian nmr600-vnmrs600, a $70\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram preparadas na concentração de 1% (m/v), dissolvendo 20 mg da amostra em 2,0 mL de uma mistura de HCl/D₂O a 1% (v/v).

4.2.12 Grau de substituição – DS

O grau de substituição (DS) dos derivados foi calculado por análise elementar e por RMN ^1H . A equação 4.2 proposta por Ma *et al.* (2010) foi usada para calcular o DS a partir dos dados obtidos por micro análise.

$$\text{DS} = \frac{\left[\left(\frac{\text{C}}{\text{N}} \right) - \left(\frac{\text{C}}{\text{N}} \right)_0 \right]}{n} \quad \text{Equação 4.2}$$

Onde, (C/N) é a razão (m/m) de carbono e nitrogênio do derivado, (C/N)₀ a razão (m/m) de carbono e nitrogênio da quitosana, e n o número de átomos de carbonos da cadeia alquila inserida no polímero.

A equação 4.3, usada para calcular o DS a partir dos dados de RMN ^1H , foi adaptada da equação proposta por Montiel-Herrera *et al.* (2015), onde, $\int \text{I}_{\text{CH}_3}$ equivale a área integrada do sinal em 1,4 ppm referente ao deslocamento químico dos prótons da cadeia alquila, e $\int \text{I}_{\text{H}_2}$ a área integrada do deslocamento químico em 3,2 ppm relacionado ao próton do C2 do anel D-Glicosamino, e o 9 equivale ao total de prótons metílicos da cadeia do aldeído citronelal inserida na unidade polimérica.

$$\text{DS} = \frac{\int \text{I}_{\text{CH}_3}}{9} \times 100 \quad \text{Equação 4.3}$$

4.2.13 Distribuição de tamanho médio de partículas, PDI e Potencial zeta

Para realizar as análises de distribuição de tamanho médio de partículas, PDI e potencial zeta, 5,0 mg de cada uma das amostras foram suspensos em 5,0 mL de solução de ácido acético a 1% (v/v), e deixadas em agitação por 24 h. Em seguida, as amostras foram filtradas em membranas millipore. Após a filtração uma alíquota de 1,0 mL foi transferida para a cubeta. A análise foi realizada em triplicata

a temperatura ambiente. Essas caracterizações foram realizadas utilizando o equipamento Nano-Zetasizer modelo ZEN3600 - Malvern Instruments.

4.2.14 Análise termogravimétrica – TGA/DTG

A estabilidade térmica da quitosana e derivados foi avaliada em um analisador termogravimétrico da marca Shimadzu, modelo TGA Q50. Aproximadamente 10,0 mg das amostras foram pesadas e analisadas, no intervalo de temperatura de 20 a 800 °C sob atmosfera de nitrogênio, usando uma taxa de aquecimento de 10 °C/min.

4.2.15 Calorimetria diferencial de varredura – DSC

Para a análise de DSC da quitosana e derivados foram usados um calorímetro da marca Shimadzu, modelo DSC-50. Aproximadamente 5,0 mg das amostras foram pesadas e aquecidas até 600 °C usando-se uma taxa de aquecimento de 10°C/min. sob atmosfera de nitrogênio, numa taxa de vazão igual a 50,0 mL/min.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 GC-MS do óleo essencial de citronela

A Tabela 3 exibe os resultados obtidos na análise GC-MS do óleo essencial de citronela. Observa-se que o citronelal ((R)-3,7-dimetil-6-octenal) é o componente em maior quantidade, com um percentual de 24,42%.

Tabela 3: Composição percentual do OEC obtido por GC-MS.

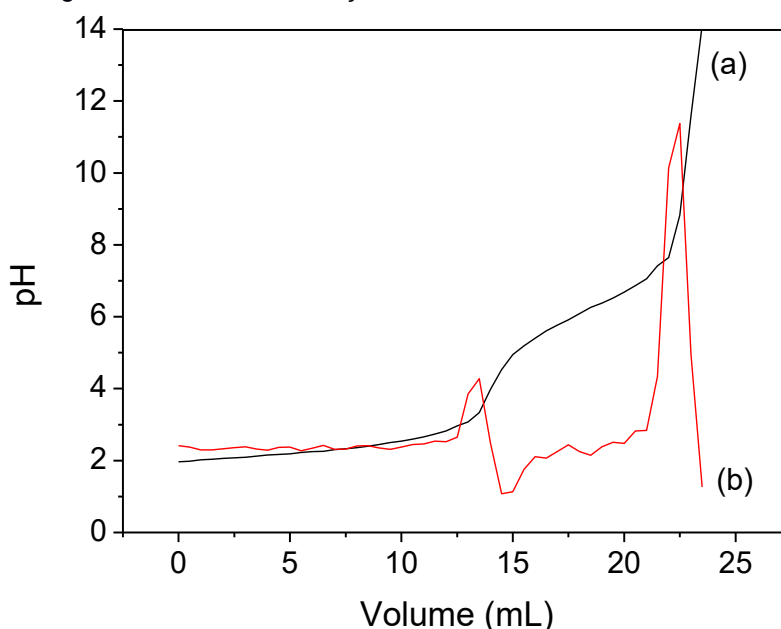
Componentes	Composição (%)
Metil-ciclohexano	1,58
2,5-dimetil-hexano	0,89
2,4-dimetil-hexano	1,54
5-metil-1-heptano	1,18
2,3-dimetil-hexano	0,98
4-etil-2-metil-hexano	3,23
4-metil-heptano	1,20
Tolueno	4,23
3-metil-heptano	4,23
Octano	2,81
3-etil-2-metil-hexano	1,35
3,4-dimetil-heptano	1,64
Etilbenzeno	2,95
o-xileno	14,35
o-xileno	4,46
(R)-3,7-dimetil-oct-6-enal	24,42
3,7-dimetil-6-octen-1-ol	5,15
(E)-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	10,53
(E)-acetato-3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol	2,40
(Z,Z)-cloreto-9,12-octadienol	10,87

5.2 Caracterização da quitosana

5.2.1 O grau de desacetilação

As curvas obtidas na titulação potenciométrica da quitosana são exibidas na Figura 15. O gráfico relaciona o pH com o volume de solução de hidróxido de sódio (NaOH) gastos no processo. A curva (b) é relativa a derivada segunda da curva potenciométrica. A curva da derivada segunda mostra dois picos, um em 13,49 mL e outro em 22,51 mL correspondentes aos volumes de NaOH consumidos na titulação. O grau de desacetilação calculado substituindo estes valores na equação 3.1 foi igual a 70,8%. O valor do grau de desacetilação encontrado através da titulação potenciométrica está de acordo com o reportado na literatura. Santos *et al.* (2011) titularam amostras de quitosana obtida do camarão da espécie *Macrobrachium jelskii* e obtiveram o grau de desacetilação igual a 76,2%. Para determinar o grau de desacetilação da quitosana Alves (2008) titularam a solução polimérica acidificada e encontraram o valor de 73,4%.

Figura 15: (a) Curva da titulação potenciométrica da quitosana. (b) Derivada segunda da curva de titulação.



Fonte: Elaborado pelo autor

O grau de desacetilação também foi calculado a partir dos dados obtidos do espectro de RMN ^1H . O cálculo foi realizado substituindo os valores das integrais

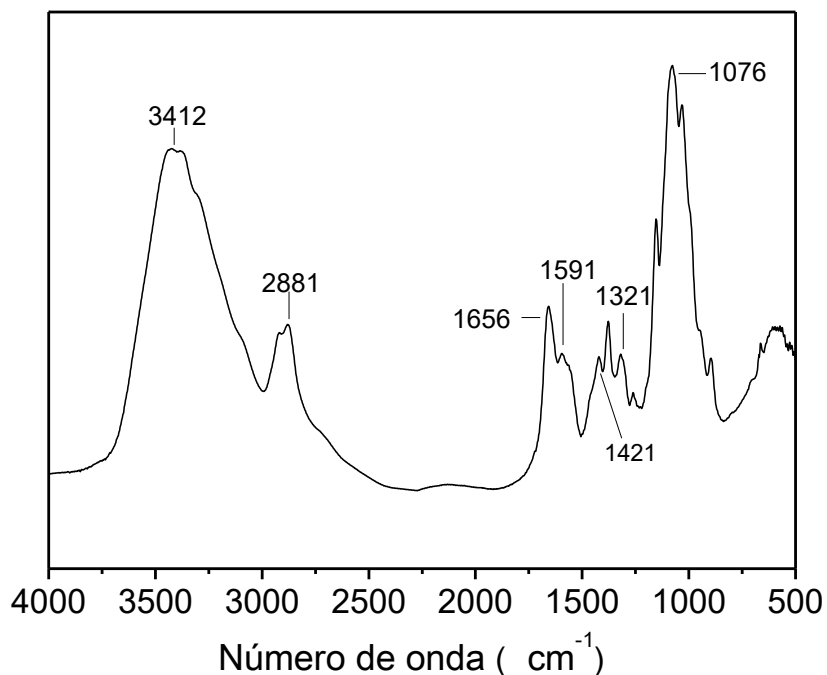
dos sinais em 4,9 ppm e em 2,04 ppm na Equação 4.2, e o valor obtido foi de 75,9%. Os valores para o grau de desacetilação determinados por titulação potenciométrica e por RMN ^1H estão representados na Tabela 4.

Tabela 4: Grau de desacetilação.

Técnica empregada	GD
Titulação Potenciométrica	70,8%
RMN ^1H	75,9%

5.2.2 Espectroscopia na região do Infravermelho - FTIR

O espectro de FTIR da quitosana (Figura 16) mostra uma banda de absorção larga na região de 3412 cm^{-1} , associada com a deformação axial dos grupos O–H e N–H de amina I e II, ambos os grupos ligados ao anel D-Glicopiranosídico (DELGADILLO-ARMENDARIZ *et al.*, 2014; ZHAO *et al.*, 2014). Podemos observar uma banda de absorção em torno de 2881 cm^{-1} que corresponde ao estiramento simétrico e assimétrico de -CH- (FENG; PENG, 2012; PAUL *et al.*, 2014). O espectro também exibe um pico intenso em 1656 cm^{-1} referente à deformação axial de C=O de amida I (GAVALYAN, 2016). O espectro mostra um sinal de absorção perto de 1591 cm^{-1} relacionado à deformação angular da ligação N-H de amina I e II (BOBU *et al.*, 2011; ZHAO *et al.*, 2014). É possível observar um pico de absorção em 1421 cm^{-1} característico de deformação angular de CH_2 e CH_3 (ROBLES *et al.*, 2013; PAUL *et al.*, 2014). A banda de absorção observada ao redor de 1321 cm^{-1} é referente à deformação angular de N-H de amida I (MAREI *et al.*, 2016). As bandas intensas de absorção que aparecem na região de 1076 cm^{-1} indicam a presença de ligações C-O e ligações glicosídicas, C–O–C, características da estrutura polissacarídica (BOBU *et al.*, 2011). A Tabela 5 exibe as bandas de absorção observadas no espectro de infravermelho da quitosana.

Figura 16: Espectro na região do infravermelho da quitosana.

Fonte: Elaborado pelo autor.

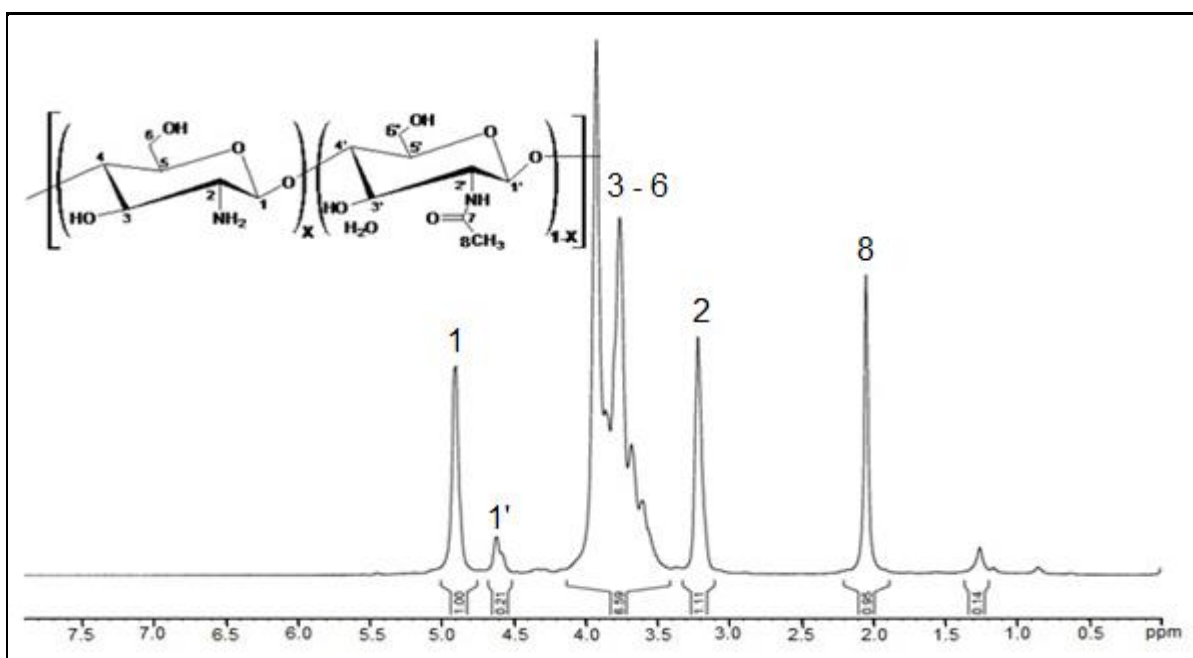
Tabela 5: Bandas de absorção da quitosana.

Absorção (cm^{-1})	Atribuições	Referências
3412	Estiramento axial de O-H, e de grupos N-H de amins I e II.	(DELGADILLO-ARMENDARIZ <i>et al.</i> , 2014).
2881	Estiramento axial simétrico e assimétrico de -CH-.	(FENG; PENG, 2012; PAUL <i>et al.</i> , 2014).
1656	Estiramento axial de C=O de Amida I	(GAVALYAN, 2016).
1591	Deformação angular do grupo NH de amina I	(BOBU <i>et al.</i> , 2011; ZHAO <i>et al.</i> , 2014).
1421	Deformação angular de CH ₂ e CH ₃	(PAUL <i>et al.</i> , 2014).
1321	Deformação angular de NH de amida I	(MAREI <i>et al.</i> , 2016).
1076	Deformação axial de C-O e C-O-C	(MAREI <i>et al.</i> , 2016).

5.2.3 Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ^1H

No espectro de RMN ^1H da quitosana exibido na Figura 17 é possível observar um sinal largo entre 3,60-3,92 ppm atribuído aos prótons dos carbonos C3-C6 do anel piranosídico. O deslocamento químico em 2,04 ppm são referentes aos prótons do CH_3 do grupo N- acetila. O espectro mostra um sinal em 3,2 ppm relacionado ao próton do C2 (KASAAI, 2010). O deslocamento químico em 4,9 ppm é característico do próton do carbono anomérico da unidade desacetilada. Observe também outro sinal que aparece em 4,7 ppm referente ao próton do carbono anomérico da unidade acetiladas (LAVERTU *et al.*, 2003). Na Tabela 6 estão os principais deslocamentos químicos dos prótons da quitosana.

Figura 17: Espectro de RMN ^1H da quitosana obtido em $\text{DCl/D}_2\text{O}$.



Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 6: Deslocamentos químicos de prótons da quitosana obtidos em $\text{DCl/D}_2\text{O}$.

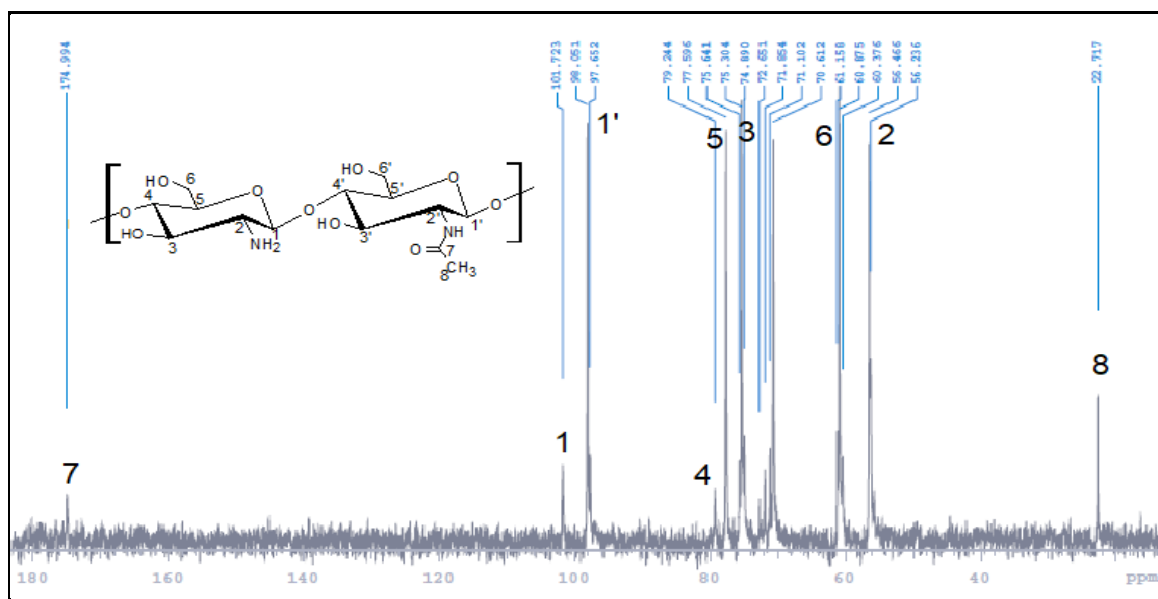
	Prótons				
	H1-D	H1-A	H-3/6	H2-D	H-Ac
Deslocamentos químicos (ppm)	4,9	4,7	3,6-4,0	3,2	2,04
Referências	(LAVERTU <i>et al.</i> , 2003; ZHANG <i>et al.</i> , 2003; KASAAI, 2010; BOBU <i>et al.</i> , 2011; ROBLES <i>et al.</i> , 2013)				

H-1D:Próton da unidade desacetilada. H1-A:Próton da unidade acetilada. H-3/6: Próton dos C3-C6. H2-D: Próton do C2 da unidade desacetilada. H-Ac: Próton do grupo acetila.

5.2.4 Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ^{13}C

A Figura 18 apresenta o espectro de RMN ^{13}C da quitosana. O espectro mostra um sinal em 22,71 ppm relativo ao carbono do grupo acetila. No espectro é possível observar os deslocamentos químicos referentes aos carbonos do anel piranosídico C2, C3, C4, C5 e C6 que são, respectivamente, 56,46, 75,40, 79,24, 77,59 e 61,15 ppm. Também se observa no espectro um pico atribuído ao carbono da carbonila do grupamento acetila, que está em 174,99 ppm. Os sinais relativos aos carbonos anoméricos estão em aproximadamente 97,65 ppm para o C1 da unidade desacetilada, e em 101,72 para o C1 da unidade acetilada (LAVERTU *et al.*, 2003; BUSCHMANN *et al.*, 2013). A Tabela 7 mostra os deslocamentos químicos de carbono 13 para a quitosana.

Figura 18: Espectro de RMN ^{13}C da quitosana obtido em HCl/D₂O a 70 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 7: Deslocamentos químicos de carbono 13 da quitosana obtidos em DCI/D₂O a 70°C.

Deslocamentos Químicos (ppm)	Atribuições	Referências
22,71	CH ₃ (Acetila)	
56,46	C2	
61,15	C6	
75,40	C3	(LAVERTU et al., 2003; BUSCHMANN et al., 2013).
77,59	C5	
79,24	C4	
98,05	C1D	
101,72	C1A	
174,99	C = O	

C1D: Carbono anomérico da unidade desacetilada. C1A: Carbono anomérico da unidade acetilada.

5.2.5 Análise termogravimétrica – TGA/DTG

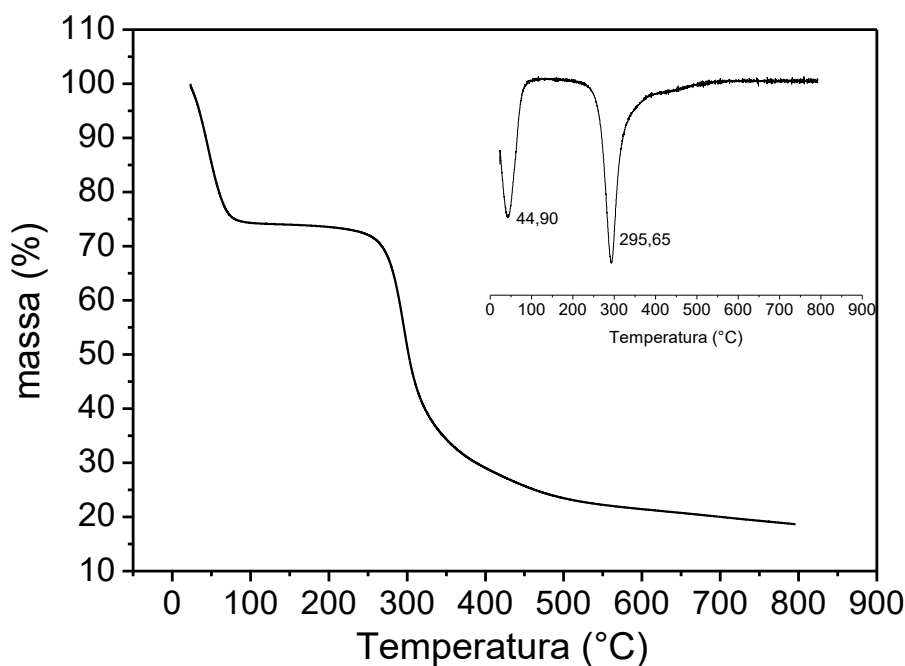
As curvas de TGA/DTG da quitosana estão representadas na Figura 19. Observam-se pelas curvas de TGA/DTG dois eventos térmicos bem definidos. O primeiro evento ocorreu em 44,9 °C com perda de massa de 26,0%, em virtude da perda de humidade do polissacarídeo. O segundo evento ocorreu em 295,6 °C correspondendo a perda de 53,9% de massa relacionada à decomposição da matriz polimérica (LAUS *et al.*, 2006). Ao final do processo restaram, a 800 °C, aproximadamente 18,7% de massa não degradada.

Resultados semelhantes foram encontrados por Abreu e Campana-Filho (2009) que ao fazerem a análise térmica da quitosana, observaram que o primeiro evento ocorreu numa faixa de temperatura entre 25-110 °C com o pico em 47,2 °C que foi atribuída à evaporação da água, neste evento a perda de massa foi de 11,2%. O segundo estágio de degradação ocorreu em 317 °C com perda de massa igual a 43,5% associado a decomposição da cadeia da quitosana.

Dantas (2015) obteve resultados semelhantes na análise térmica da quitosana. O autor observou dois eventos bem definidos, o primeiro ocorreu a 27 °C com perda de 11,4% da massa, segundo o autor atribuída a perda de humidade, e o

segundo evento foi observado em 270 °C com perda de 57,4% de massa, neste caso atribuída a degradação do polissacarídeo.

Figura 19: Termograma de TGA/DTG da quitosana obtido em atmosfera de N₂ e razão de aquecimento 10°C/min.

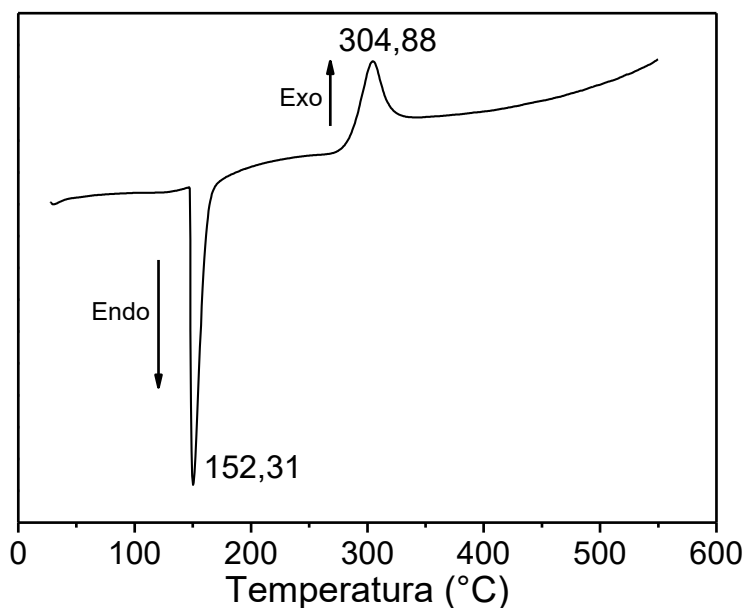


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.2.6 Calorimetria diferencial de varredura – DSC

A curva de DSC da quitosana está representada na Figura 20. O que se pode perceber analisando esse termograma são dois eventos térmicos bem definidos. No primeiro evento observa-se um pico endotérmico estreito em 152,3 °C e o $\Delta H = 108,74$ J/g relativo à perda de umidade do polímero. No segundo evento observa-se um pico largo exotérmico em 304,8 °C e $\Delta H = - 73,78$ J/g relacionado à degradação da cadeia polimérica (ZHANG *et al.*, 2003). Resultados estes próximos a aqueles encontrados na literatura. Dantas (2015) realizou o DSC da quitosana variando a temperatura de 20 a 800 °C, onde obteve um pico endotérmico entre 176 e 177°C , e um pico exotérmico em 302,1 °C. Kittur *et al.* (2002) efetuaram o DSC da quitosana variando a temperatura de 50 a 550 °C, encontrando um pico endotérmico em 143,7 °C, que foi atribuído a evaporação da água contida na estrutura do polissacarídeo, e um pico de temperatura exotérmico em 284,4 °C que foi relacionado à clivagem da cadeia polimérica.

Figura 20: DSC para a quitosana obtida sob atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3 Caracterização dos derivados QT-CTN

5.3.1 Análise elementar e DS

Os percentuais de C, N e H na composição química da quitosana e dos derivados QT-CTN, bem como a razão C/N são dados na Tabela 8. A razão C/N para a quitosana é menor que para os compostos QT-CTN mostrando que houve aumento do número de átomos de carbono nas amostras.

Tabela 8: Percentual de carbono (C) e nitrogênio (N), e a razão C/N da quitosana e derivados.

Amostras	C (%)	N (%)	Razão C/N
QT	39,45	6,94	5,68
QT-CTNc1	39,92	6,08	6,56
QT-CTNc2	35,69	5,22	6,84
QT-CTNb1	27,18	3,61	7,53
QT-CTNb2	31,32	3,37	9,29
QT-CTNa1	14,10	1,42	9,93

O DS dos derivados determinado por AE variou de 0,09 – 0,43, como mostra a Tabela 9. Observa-se que aumentando o DS, por conseguinte aumenta a razão C/N indicando maior quantidade de carbono nos derivados mais substituídos.

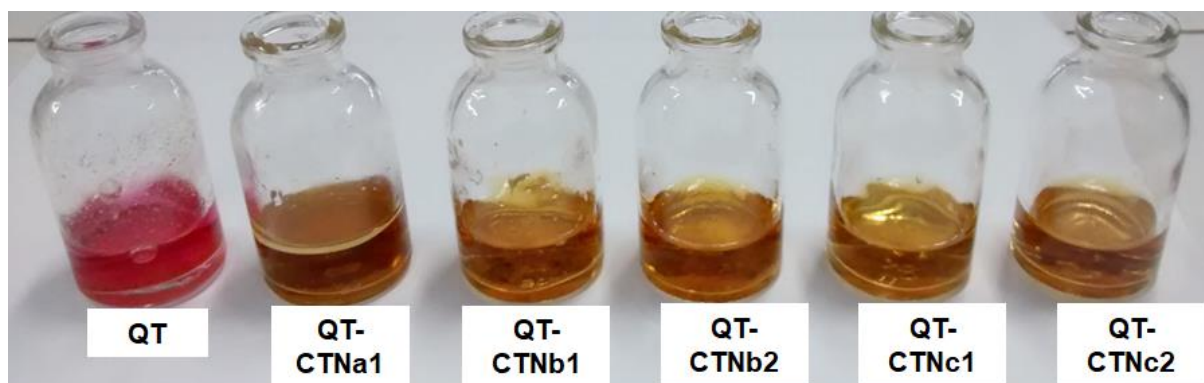
Tabela 9: DS dos derivados determinado por análise elementar.

Amostras	Razão C/N	DS
QT-CTNc1	6,56	0,09
QT-CTNc2	6,84	0,12
QT-CTNb1	7,53	0,18
QT-CTNb2	9,29	0,36
QT-CTNa1	9,93	0,43

5.3.2 Teste de insaturação

O teste de insaturação para os derivados apresentaram resultados positivos. Houve mudança de coloração dos sistemas contendo derivados de rosa para marrom alaranjada, evidenciando a presença de insaturações nas amostras. A Figura 21 mostra os resultados obtidos nos experimentos.

Figura 21: Teste de insaturação para a quitosana e para os derivados QT-CTN.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.3 Teste de solubilidade

A solubilidade dos derivados QT-CTN, testada nos solventes, metanol, etanol, acetona, ácido acético, Dimetil Sulfoxido e ácido clorídrico tiveram o seguinte comportamento. Em metanol e etanol, apresentaram-se pouco solúvel formando um sistema com aspecto leitoso. Em acetona os derivados formaram um sistema de coloração amarela. No DMSO os derivados formaram uma suspensão com aspecto

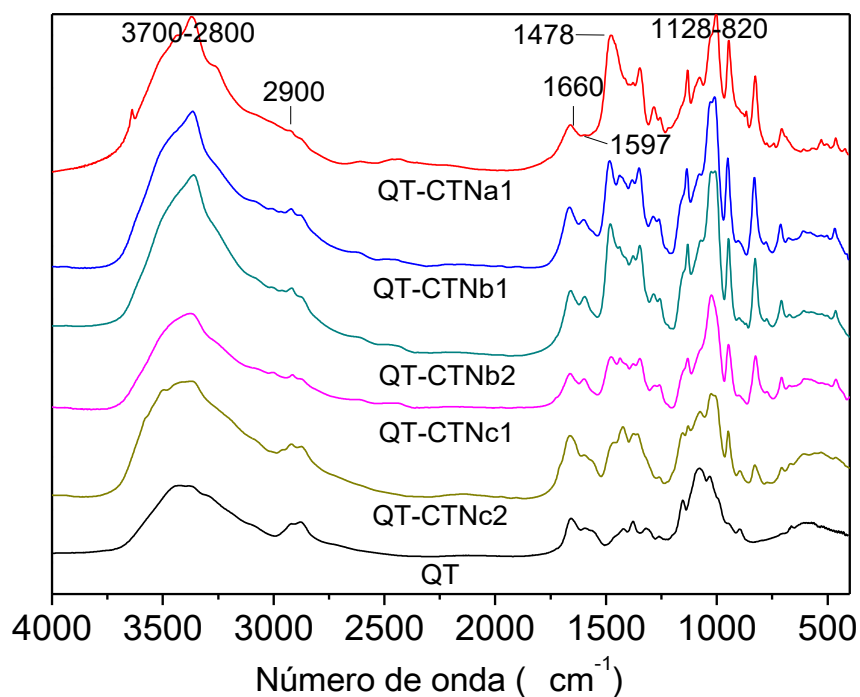
límpido, demonstrando maior solubilidade, em condições apróticas. Em ácido acético e em ácido clorídrico os compostos solubilizaram.

5.3.4 Espectroscopia na região do Infravermelho - FTIR

Nos espectros de FTIR dos derivados, exibidos na Figura 22, observa-se uma banda larga de absorção entre 3700 e 2800 cm^{-1} que é característica do estiramento das ligações de O-H e N-H de amina I e II (ROBLES *et al.*, 2013). Nota-se nessa região um estreitamento da banda de absorção que podem evidenciar possível modificação nos grupos amino da quitosana. Percebe-se também, mudanças na região do espectro ao redor de 2900 cm^{-1} referente ao estiramento simétrico e assimétrico de -CH-. Comparando a banda de absorção em 1660 cm^{-1} característica de carbonila amídica, com a que aparece em 1597 cm^{-1} referente ao pico de amina primária, observa uma acentuada alteração na razão entre esses sinais, indicando alterações nos grupos amino, causada pela inserção da cadeia alquila (ZHAO *et al.*, 2014). Corroborando esta ideia, Lopes e Fascio (2004) afirmam que as alterações na região de 1660 a 1250 cm^{-1} , evidenciam a inserção de cadeia alquila insaturada no C2 do grupo D-Glicosamino. As bandas de absorção entre 1128 e 820 cm^{-1} estão relacionados às ligações C-O e C-O-C presentes na estrutura do polissacarídeo. O sinal em 1597 cm^{-1} é relativo ao grupo -NH₂ e durante a modificação química ocorre à diminuição da intensidade dessa banda devido a conversão do -NH₂ em N-Alquil, e novo pico aparece em 1478 cm^{-1} que corresponde ao estiramento assimétrico de C-H de grupo metila presente na cadeia alquila que provavelmente foi inserida (BOBU *et al.*, 2011; ZHAO *et al.*, 2014).

As principais bandas de absorção do óleo de citronela foram encontradas em 3384 cm^{-1} , 2922 cm^{-1} , 1733 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} e 1373 cm^{-1} sobrepostas às outras bandas dos espectros (DANTAS, 2015). Assim analisando os espectros fica claro que os derivados possuem evidências de inserção da cadeia alquila.

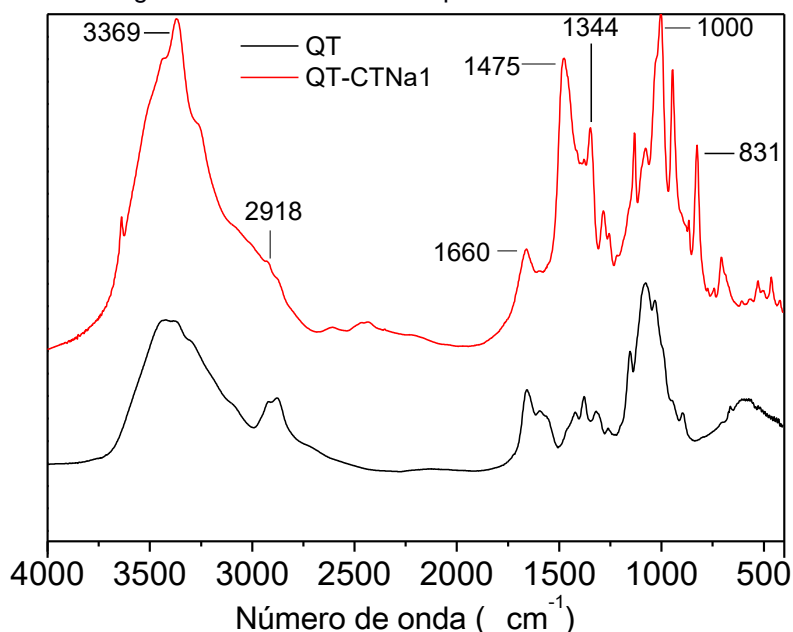
Figura 22: Espectros na região do infravermelho dos derivados QT-CTN.



Fonte: Elaborado pelo autor

A Figura 23 mostra os espectros de FTIR da quitosana e do derivado QT-CTNa1 obtido na concentração QT/AcOH igual a 0,125% (m/v). O espectro do derivado QT-CTNa1 apresenta um pico de absorção em 3369 cm^{-1} e uma banda mais estreita em relação a aquela observada na quitosana, evidenciando uma possível alteração nos grupos N-H de amina primária para amina secundária em decorrência da modificação química (ROBLES *et al.*, 2013). O derivado QT-CTNa1 ainda mostra a banda intensa em 1475 cm^{-1} , referente à deformação angular de -CH- de cadeias alquila (PAUL *et al.*, 2014). O espectro do derivado QT-CTNa1 mostra um decréscimo no pico em 1597 cm^{-1} em relação ao sinal em 1660 cm^{-1} sugerindo a alteração nos grupos amino.

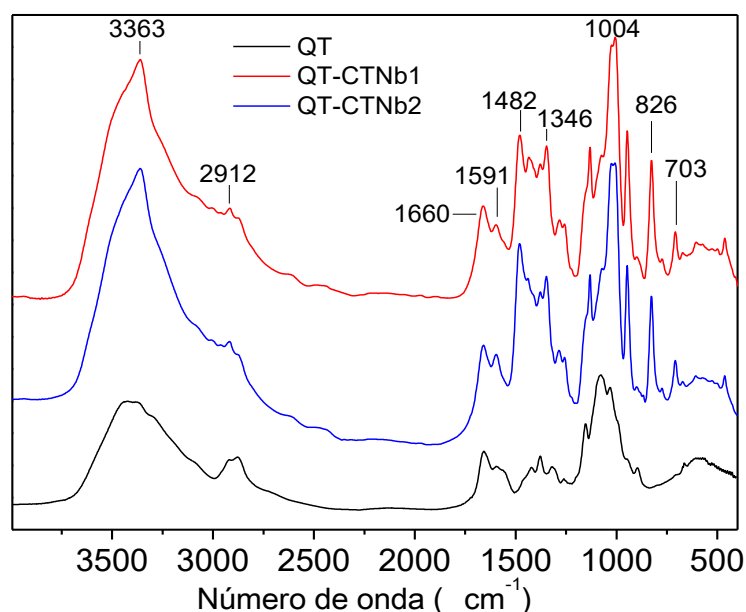
Figura 23: Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivado QT-CTNa1.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao comparar os espectros de FTIR dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2 obtidos na concentração QT/AcOH de 0,25% (m/v) e em diferentes razões QT:OEC (Figura 24). Nota-se que ambos os espectros possuem uma banda de absorção mais estreita em 3369 cm^{-1} e mais deslocada para a direita, que aquele observado para a quitosana. Existe, também, diferença nos sinais de absorção entre 1660 e 703 cm^{-1} , onde podemos destacar a maior intensidade do pico em 1482 cm^{-1} referente à $-\text{CH}-$ observado no espectro do derivado QT-CTNb2.

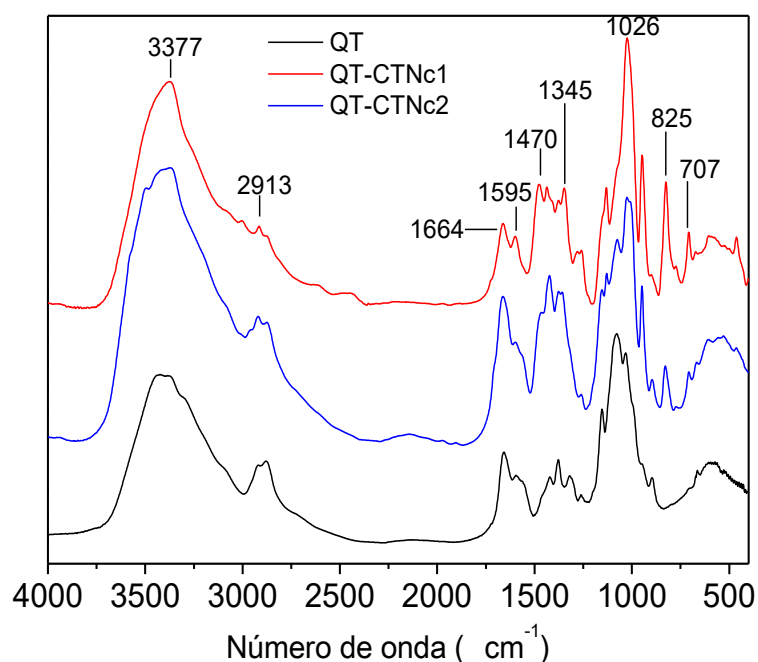
Figura 24: Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os espectros de FTIR da quitosana e das amostras QT-CTNc1 e QT-CTNc2 obtidos na concentração QT/AcOH de 0,5% (m/v) e em razões diferentes QT:OEC são exibidos na Figura 25. Os derivados apresentam bandas diferentes daquelas observadas no espectro da quitosana, como uma banda em 3377 cm^{-1} mais intensa e novas bandas entre $1664\text{--}707\text{ cm}^{-1}$, sugerindo a obtenção de novos compostos.

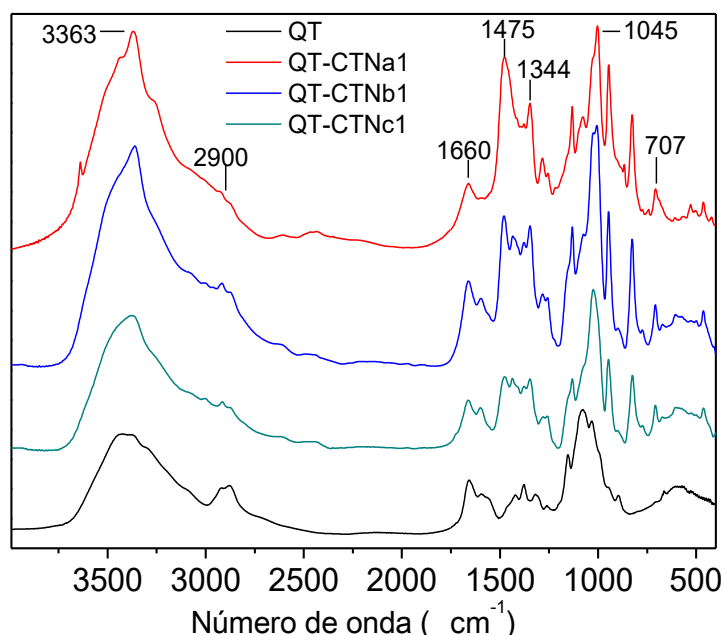
Figura 25: Espectros na região do infravermelho da quitosana e dos derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 26 mostra os espectros de FTIR da quitosana e dos derivados QT-CTNa1, QT-CTNb1 e QT-CTNc1 obtidos em diferentes concentrações de solução polimérica e mantendo a razão QT:OEC. Comparando os espectros observa-se que o derivado QT-CTNc1 apresenta sinais mais evidentes de modificação, o mesmo possuindo uma menor razão entre as bandas em 1660 e em 1595 cm^{-1} . Por outro lado, a banda em 1475 cm^{-1} é mais intensa na amostra QT-CTNa1 o que pode ser atribuído ao maior DS do derivado. É possível observar bandas de absorção em comum entre os compostos, como em 1344 cm^{-1} referente à deformação angular de NH de amida I, e em torno de 1045 cm^{-1} relativo a ligação C-O (ZHAO *et al.*, 2014; CAI *et al.*, 2015).

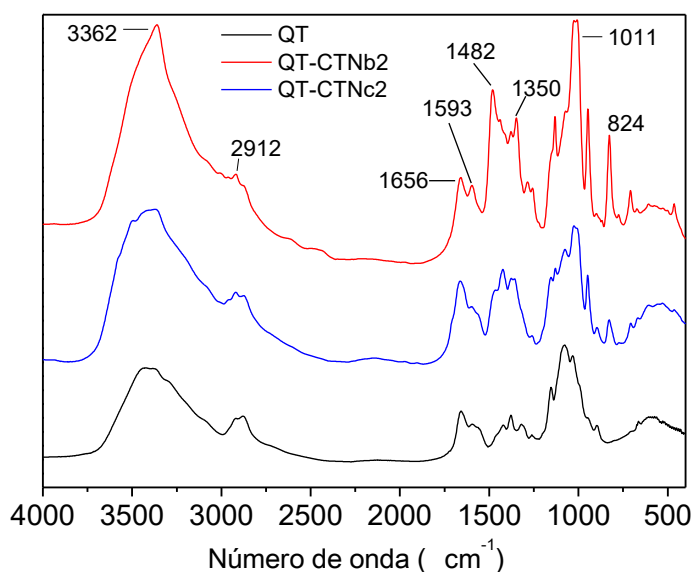
Figura 26: Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNa1, QT-CTNb1 e QT-CTNc1.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Na Figura 27 temos os espectros de FTIR da quitosana e dos derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2 obtidos na mesma concentração QT/OEC e na mesma razão QT:OEC. É possível notar a alteração nas bandas de absorção do polímero modificado, principalmente entre 1600 e 825 cm^{-1} , confirmando a obtenção de novos produtos. Porém o derivado QT-CTNb2 tem a banda em 1435 cm^{-1} , relativo a deformação angular de CH_2 e CH_3 , bem mais intenso em comparação aos outros derivados.

Figura 27: Espectros na região do infravermelho da quitosana e derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2



Fonte: Elaborado pelo autor.

Resultados semelhantes a estes são descritos na literatura. Feng e Peng (2012) caracterizaram a carboximetilquitosana através da espectroscopia de FTIR, e observaram a banda larga em 3427cm^{-1} característica do estiramento dos grupos OH e NH. Os autores também identificaram a mudança do pico de 1597cm^{-1} para 1560cm^{-1} comprovando a reação de N-substituição, e encontraram uma banda em 720cm^{-1} relacionada as vibrações dos CH_2 da cadeia alquila inserida no polissacarídeo. Muzzarelli *et al.* (2000) ao compararem os espectros de FTIR da quitosana e os espectros de FTIR do dimetilaminopropil quitosana encontraram alterações nas bandas entre $1600\text{-}1650\text{cm}^{-1}$ e em 1100cm^{-1} , o que comprovou a diferença estrutural da quitosana e do produto N-derivado. Na Tabela 10 são exibidos as bandas de absorção obtidas nos espectros de FTIR dos derivados.

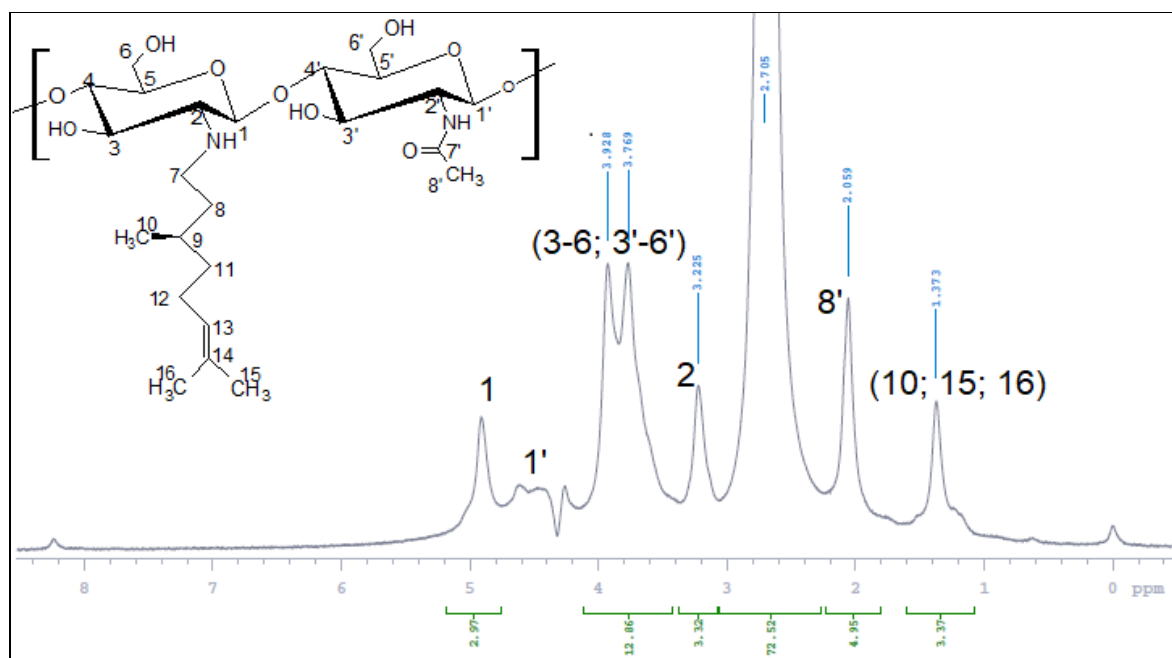
Tabela 10: Bandas de absorção dos espectros de FTIR dos derivados QT-CTN.

Bandas (cm^{-1})					Atribuições	Referências
QT-CTNa1	QT-CTNb1	QT-CTNb2	QT-CTNc1	QT-CTNc2		
3369	3363	3362	3377	3369	Estiramento axial de O-H, e de grupos N-H de amins I e II.	(DELGADILLO-ARMENDARIZ <i>et al.</i> , 2014; ZHAO <i>et al.</i> , 2014).
2918	2912	2912	2913	2918	Estiramento axial simétrico e assimétrico de $-\text{CH}-$.	(FENG; PENG, 2012; PAUL <i>et al.</i> , 2014).
1660	1660	1656	1664	1666	Estiramento axial de $\text{C}=\text{O}$ de Amida I	(GAVALYAN, 2016).
1594	1591	1593	1595	1593	Deformação angular do grupo NH de amina I	(BOBU <i>et al.</i> , 2011; ZHAO <i>et al.</i> , 2014).
1475	1482	1482	1470	1427	Deformação angular de CH_2 e CH_3	(PAUL <i>et al.</i> , 2014).
1344	1346	1344	1345	1350	Deformação angular de NH de amida I	(MAREI <i>et al.</i> , 2016).
1025	1004	1018	1026	1025	Deformação axial de C-O e C-O-C	(MAREI <i>et al.</i> , 2016).
831	826	824	824	831	Deformação angular de C-H fora do plano de $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$	(Lopes & Fascio, 2004).

5.3.5 Ressonância magnética nuclear de próton – RMN ^1H e DS

O espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNa1 (Figura 28) mostra os deslocamentos químicos característicos da quitosana. No entanto, percebe-se um novo sinal que aparece em 1,37 ppm atribuído a prótons de grupos metilas de cadeia alquila (BOBU *et al.*, 2011; ROBLES *et al.*, 2013). Observa-se no espectro alterações nos sinais relacionados aos prótons dos carbonos anoméricos, que tem deslocamentos próximos a 5,0 ppm. Há evidências de modificação química, também, quando ocorrem mudanças na intensidade e nos valores de deslocamentos químicos. Isto pode ser observado nos espectros dos derivados em que há alterações nos deslocamentos químicos.

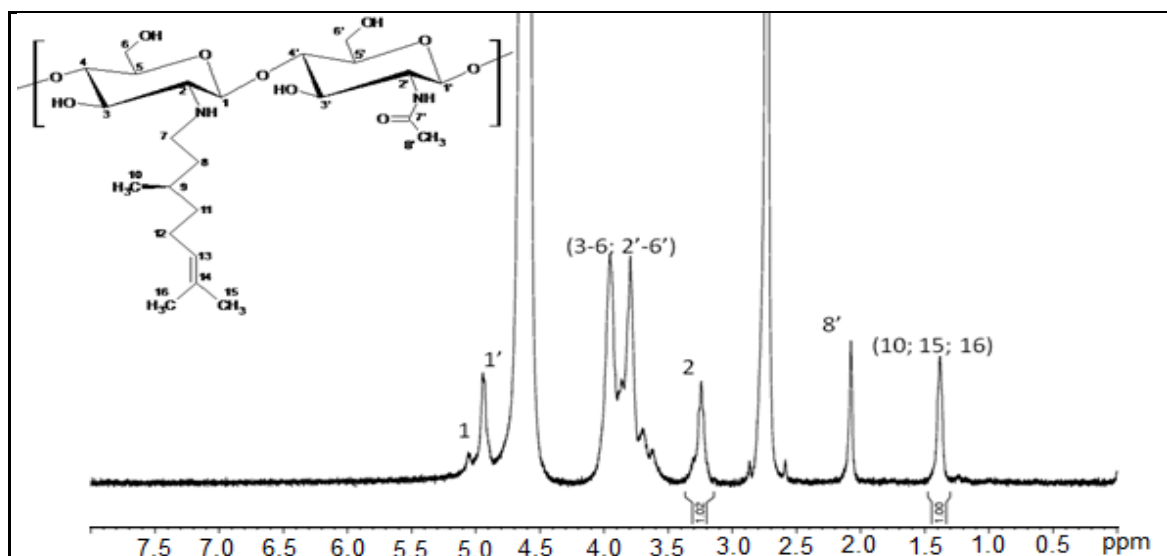
Figura 28: Espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNa₁ obtido em DCI/D₂O.



Fonte: Elaborado pelo autor.

No espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNb1 (Figura 29) além dos deslocamentos químicos característico da quitosana, observa-se também um sinal em 1,4 ppm típicos de prótons de CH₃ de cadeias alquila. É possível observar alterações na intensidade dos sinais em 3,2 ppm característica do próton do C2 onde ocorre a inserção da cadeia carbônica. Constatam-se mudanças nos deslocamentos químicos dos prótons de carbonos anoméricos em função das modificações do polímero.

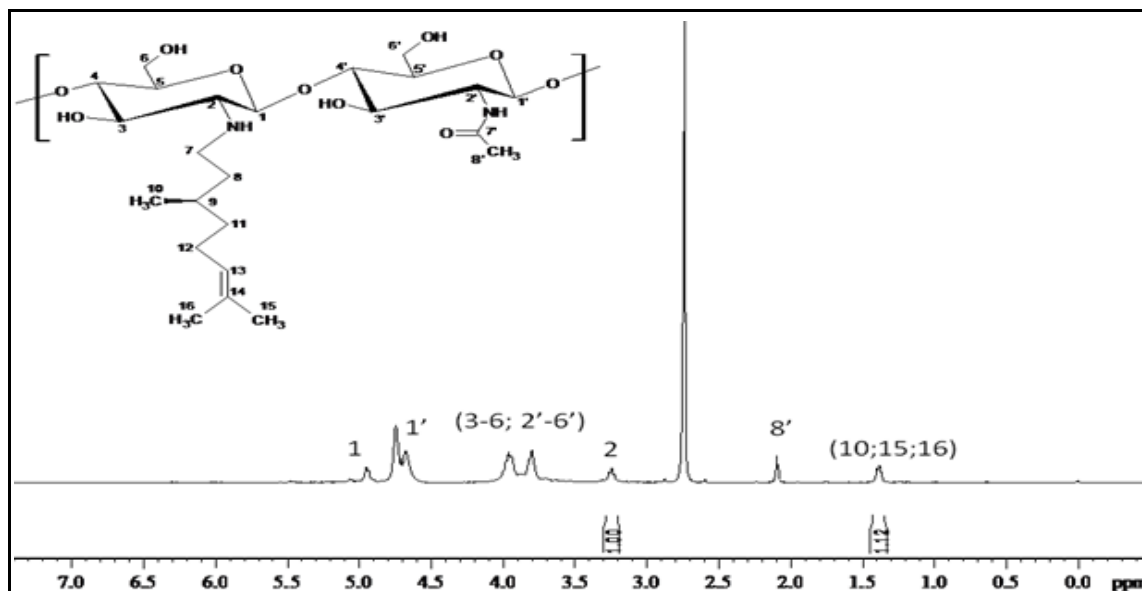
Figura 29: Espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNb1 obtido em DCI/D $_2\text{O}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 30 mostra o espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNb2 que além de apresentar os sinais referentes a quitosana, exibe um pico em 1,38 ppm relacionado a próton de CH_3 da cadeia alquila.

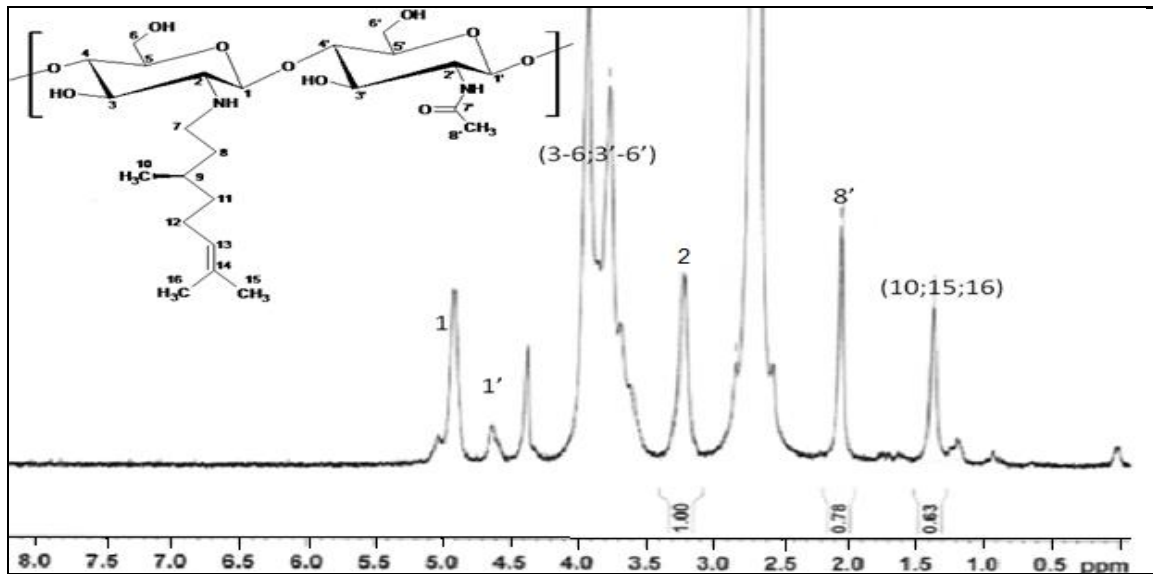
Figura 30: Espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNb2 obtido em DCI/D $_2\text{O}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 31 exibe o espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNc1. É possível notar no espectro os sinais característicos da quitosana, bem como outros sinais em 0,92, 1,20 e 1,38 ppm atribuídos aos prótons grupos metilas de cadeia alquila.

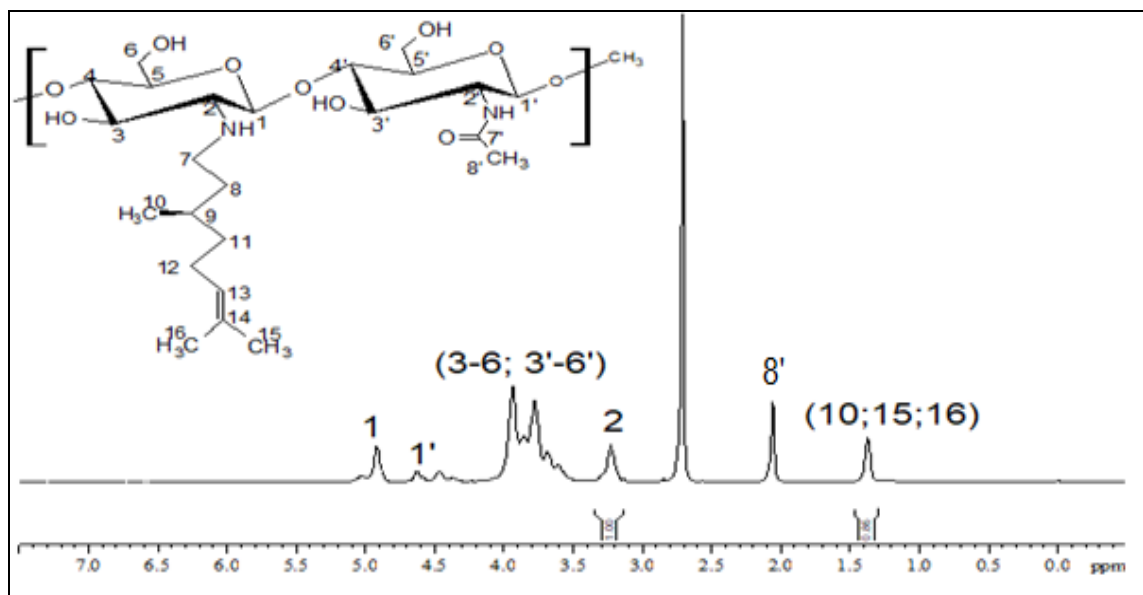
Figura 31: Espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNc1 obtido em $\text{DCI}/\text{D}_2\text{O}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNc2 mostra o sinal em 1,38 ppm relacionado a prótons de CH_3 de cadeias carbônicas (Figura 32). Tem-se, ainda, neste espectro os deslocamentos químicos inerentes ao biopolímero quitosana.

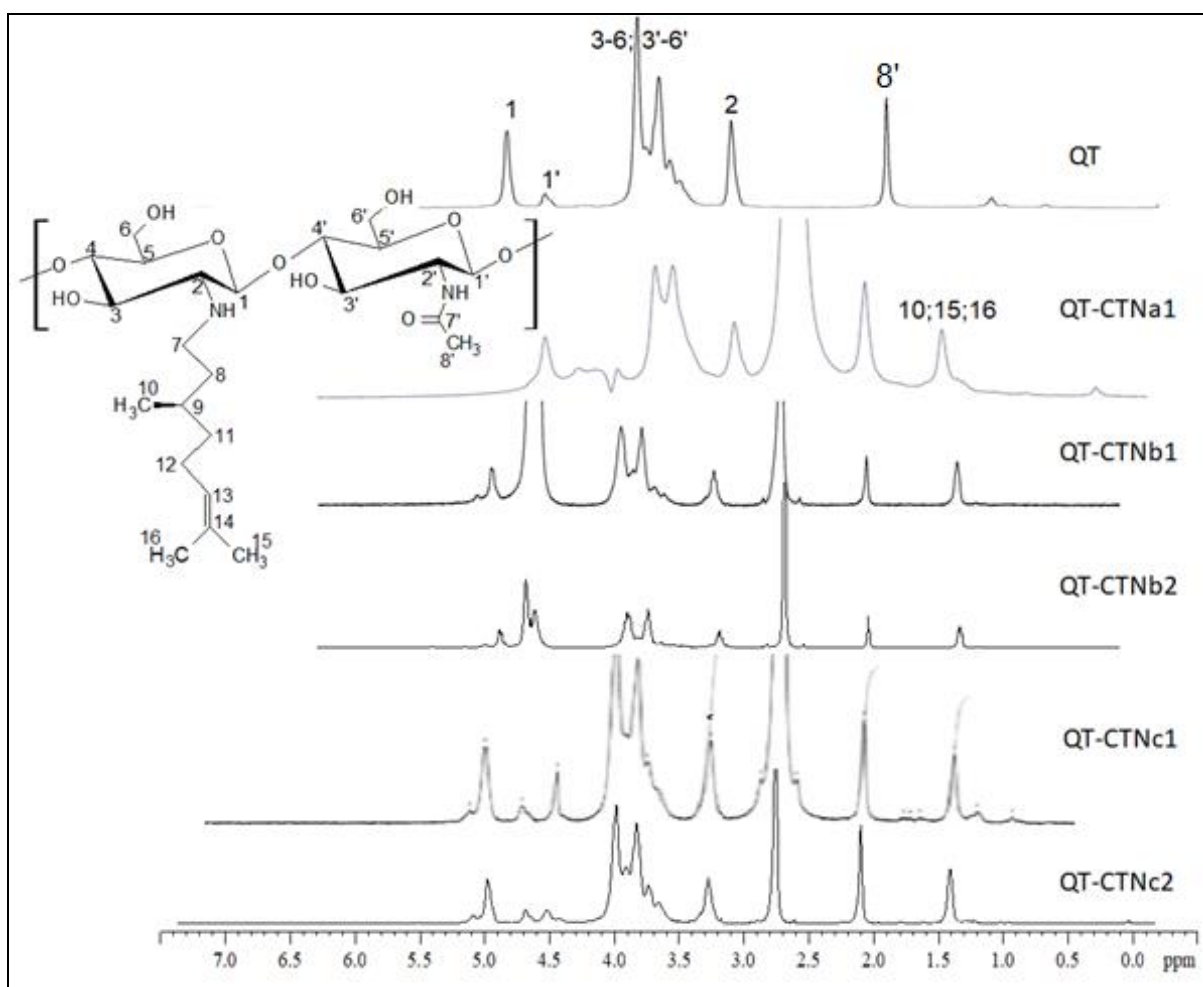
Figura 32: Espectro de RMN ^1H do derivado QT-CTNc2 obtido em $\text{DCI}/\text{D}_2\text{O}$.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparando os espectros de RMN ^1H da quitosana e seus derivados, como mostra a Figura 33, observam-se algumas diferenças, tais como a alteração na intensidade e área do sinal próximo a 4,9 ppm referente ao próton do C1 da unidade monomérica desacetilada. Também é possível notar a presença de sinais em torno de 1,3 ppm característicos de grupos metílicos (CH_3). Essas diferenças evidenciam a modificação química no grupo amino da quitosana, a partir da inserção de cadeia lateral alquila.

Figura 33: Relação entre os espectros de RMN ^1H dos derivados.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Tabela 11 mostra os deslocamentos químicos de prótons dos derivados.

Tabela11: Deslocamentos químicos de prótons dos derivados obtidos em DCI/D₂O a 70°C.

Deslocamentos químicos (ppm)					Atribuições	Referências
QT-CTNa1	QT-CTNb1	QT-CTNb2	QT-CTNc1	QT-CTNc2		
1,37	1,38	1,38	1,20; 1,38	1,37	Prótons dos grupos CH ₃ de cadeia alquila.	(BOBU <i>et al.</i> , 2011; ROBLES <i>et al.</i> , 2013)
2,06	2,08	2,11	2,06	2,05	Prótons do grupo Acetila	(LAVERTU <i>et al.</i> , 2003; BOBU <i>et al.</i> , 2011; ROBLES <i>et al.</i> , 2013).
3,23	3,24	3,24	3,23	3,22	Próton do C2 do anel D-Glicosamino.	(LAVERTU <i>et al.</i> , 2003; KASAAI, 2010).
3,77-3,93	3,80-3,95	3,80-3,98	3,70-3,93	3,60-3,93	Prótons do C3-C6 das unidades acetiladas e desacetilada.	(BOBU <i>et al.</i> , 2011; ROBLES <i>et al.</i> , 2013).
4,60	4,95	4,75	4,37	4,92	Próton do carbono anomérico da unidade D-Glicosamino.	(LAVERTU <i>et al.</i> , 2003; KASAAI, 2010).
4,91	5,06	4,95	4,63	5,03	Próton do carbono anomérico da unidade N-Acetil-D-Glicosamino.	(LAVERTU <i>et al.</i> , 2003; KASAAI, 2010).

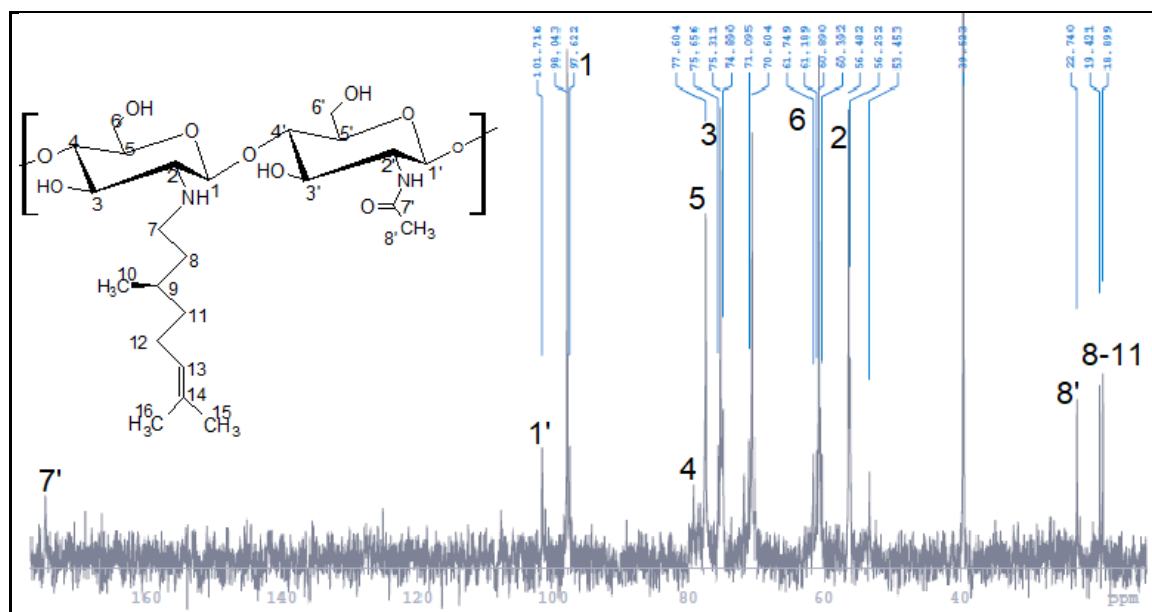
Os valores de DS calculado por RMN ¹H variaram de 0,07 – 0,12. Em geral, observa-se que os derivados obtidos a partir de solução de quitosana menos concentrada apresentaram maior DS, enquanto que aqueles obtidos em solução mais concentrada tiveram menor valor para o grau de substituição. Isto ocorre porque provavelmente em menor concentração as cadeias do polímero estão mais dispersas e mais abertas favorecendo a inserção da cadeia lateral. Os resultados do DS para os derivados obtidos por RMN ¹H estão registrados na Tabela 12.

Tabela 12: DS dos derivados determinado por RMN ¹H.

Derivados	DS (RMN ¹ H)
QT-CTNc1	0,07
QT-CTNc2	0,10
QT-CTNb1	0,11
QT-CTNb2	0,12
QT-CTNa1	0,11

5.3.6 Ressonância magnética nuclear de carbono 13 – RMN ¹³C

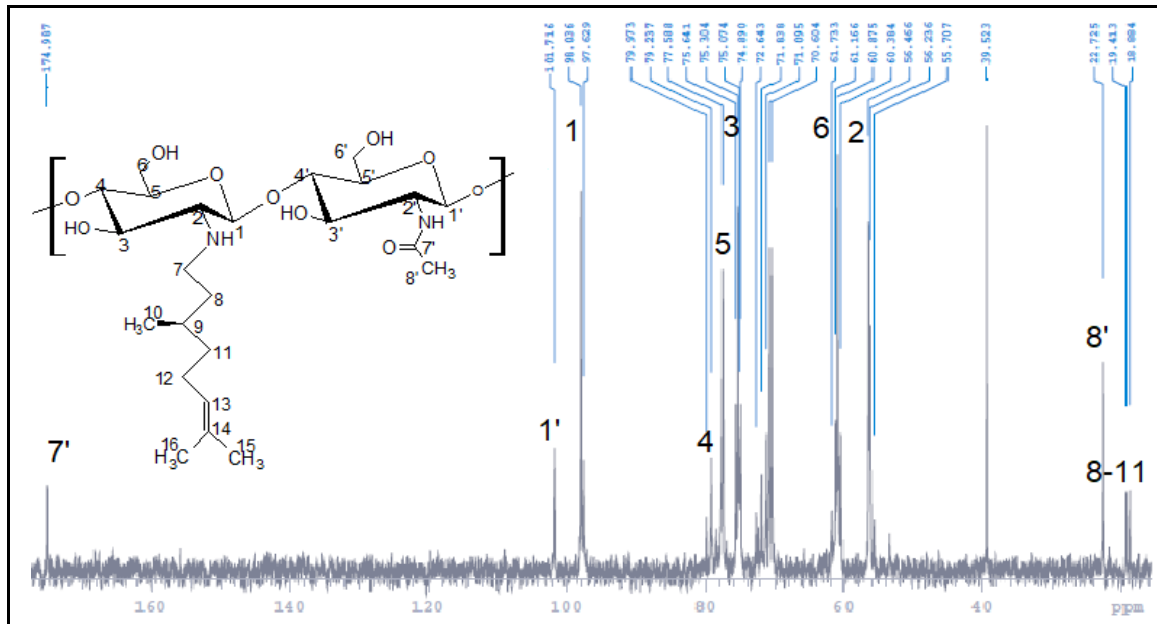
O espectro de RMN ¹³C do derivado QT-CTNb1 (Figura 34) mostra os sinais característicos da quitosana, mas, além disso, aparecem sinais em 18,88 ppm e 19,41 ppm relativos a carbonos de grupos metilas de cadeia alquila (WANG, JING et al., 2016b).

Figura 34: Espectro de RMN ¹³C do derivado QT-CTNb1 obtido em HCl/D₂O a 70 °C.

Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 35 mostra o espectro de RMN ¹³C do derivado QT-CTNc1, onde aparecem os sinais correspondentes aos carbonos da quitosana, mas com relativas alterações nos deslocamentos químicos e na intensidade dos sinais, principalmente aqueles diretamente influenciados pela inserção da cadeia alquila. Neste espectro temos ainda sinais em 18,88 ppm e 19,41 ppm relacionados a carbonos de grupos metilas. Isto ressalta a presença de cadeia alquila no novo composto.

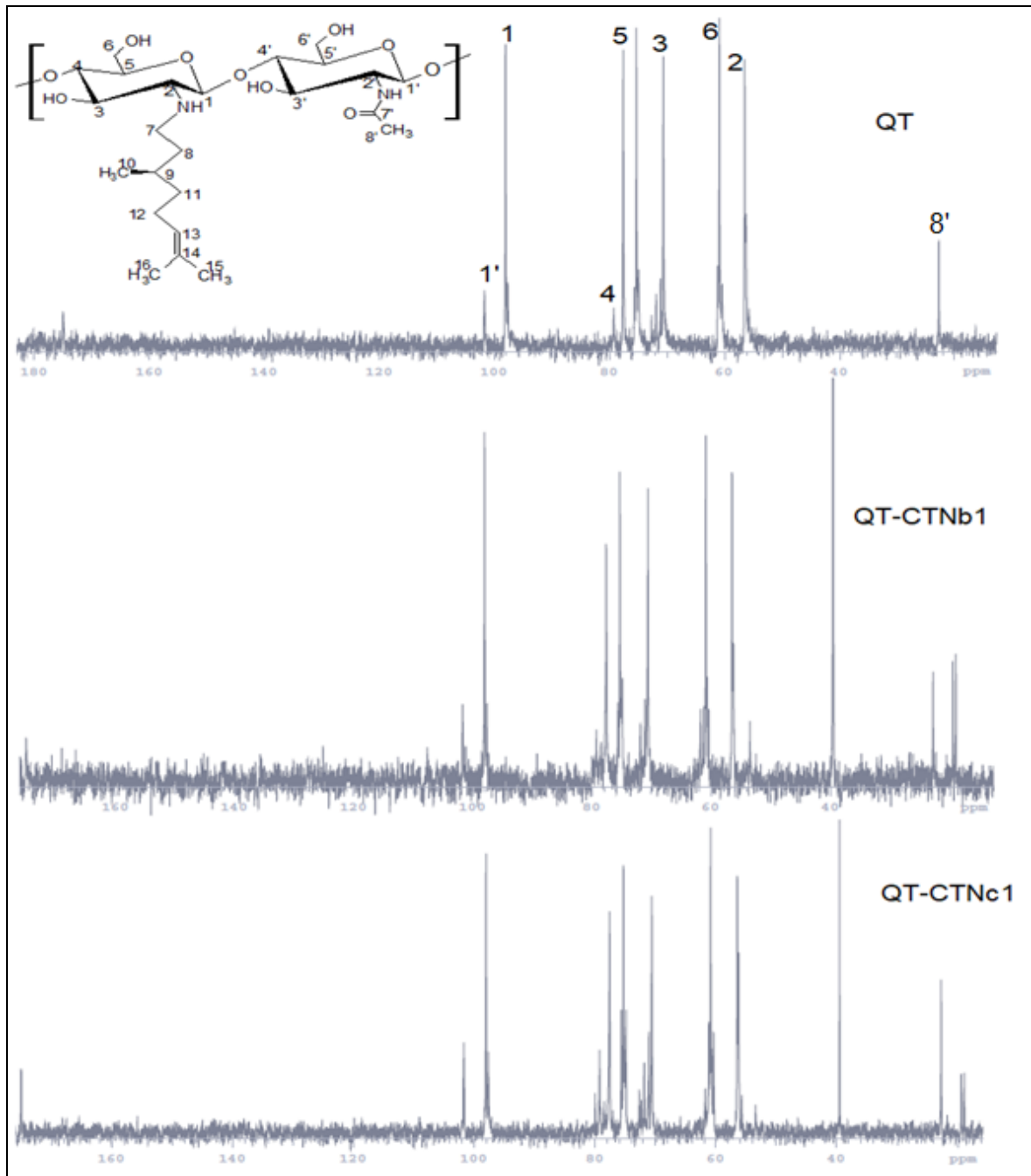
Figura 35: Espectro de RMN ^{13}C do derivado QT-CTNc1 obtido em HCl/D $_2$ O a 70 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 36 mostra os três espectros de RMN ^{13}C onde é possível relacionar as principais mudanças ocorridas nos sinais dos deslocamentos químicos dos derivados em comparação com os sinais relativos à quitosana. Os dados de deslocamentos químicos para ambos os derivados e para a quitosana estão na Tabela 13, bem como suas respectivas atribuições e referências teóricas.

Figura 36: Relação entre os espectros de RMN ^{13}C da quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 13: Deslocamentos químicos de carbono 13 dos derivados obtidos em HCl/D₂O a 70°C.

Deslocamentos Químicos (ppm)		Atribuições	Referências
QT-CTNb1	QT-CTNc1		
18,90; 19,42	18,88; 19,41	CH ₃ (Alquil)	
22,74	22,71	CH ₃ (Acetila)	
53,45	55,70	CH ₂	
56,46	56,46	C2	
60,89	61,15	C6	(KASAAI, 2010;
75,31	75,40	C3	BUSCHMANN et al., 2013;
77,60	77,59	C5	WANG, JING et al., 2016b).
79,24	79,24	C4	
98,04	98,05	C1D	
101,72	101,72	C1A	
174,99	174,99	C = O	

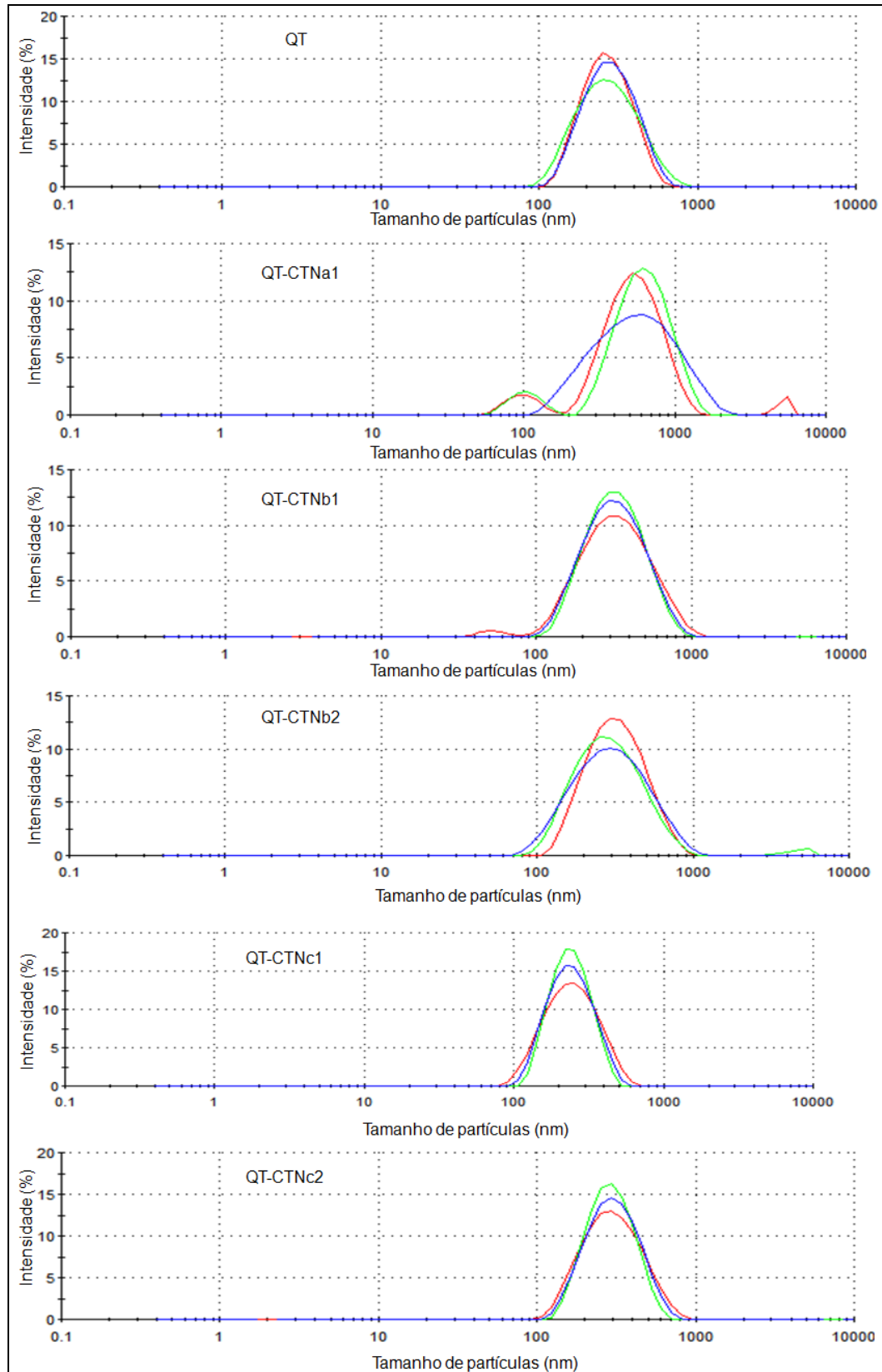
5.3.7 Distribuição do tamanho médio de partículas e PDI

Os dados referentes a distribuição do tamanho médio de partículas e ao PDI da quitosana e derivados estão registrados na Tabela 14. Segundo esses dados a quitosana possui tamanho médio de 422,3 nm, valor este maior que aqueles observados para os derivados. Em geral os derivados possuem tamanhos menores que a quitosana. Isto provavelmente acontece porque com a inserção da cadeia alquila há o aumento nas interações hidrofóbicas resultando, assim, em partículas menores. Comparando o DS dos derivados com o tamanho das partículas, observa-se que houve pouca variação nesta propriedade dos novos compostos. No entanto o derivado com DS 0,07 foi o que apresentou menor tamanho de partícula. Quanto ao PDI, os resultados mostram que as cadeias poliméricas dos derivados possuem tamanhos mais uniformes que a quitosana, pois possuem valores mais próximos de zero. Quando comparamos os derivados, o que possui DS 0,07 é o que tem menor valor de PDI.

Tabela 15: Tamanho médio de partículas e PDI para a quitosana e derivados.

Amostras	DS	Tamanho médio (nm)	PDI
Quitosana	-	422,3 ±10,6	0,381 ±0,38
QT-CTNc1	0,07	218,3 ±2,01	0,127 ±0,28
QT-CTNc2	0,10	262,9 ±2,25	0,16 ±0,16
QT-CTNb1	0,11	274,3 ±2,48	0,212 ±0,21
QT-CTNb2	0,12	255,5 ±8,18	0,250 ±0,25
QT-CTNa1	0,11	240,6 ±1,70	0,187±0,19

As nanopartículas dos derivados apresentam em geral distribuição de tamanho unimodal como mostra os gráficos da Figura 37. Isto evidencia a presença de cadeias poliméricas com uniformidade de tamanhos próximas a idealidade.

Figura 37: Distribuição do tamanho médio de partículas (nm) para a quitosana e derivados QT-CTN.

Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.8 Potencial zeta

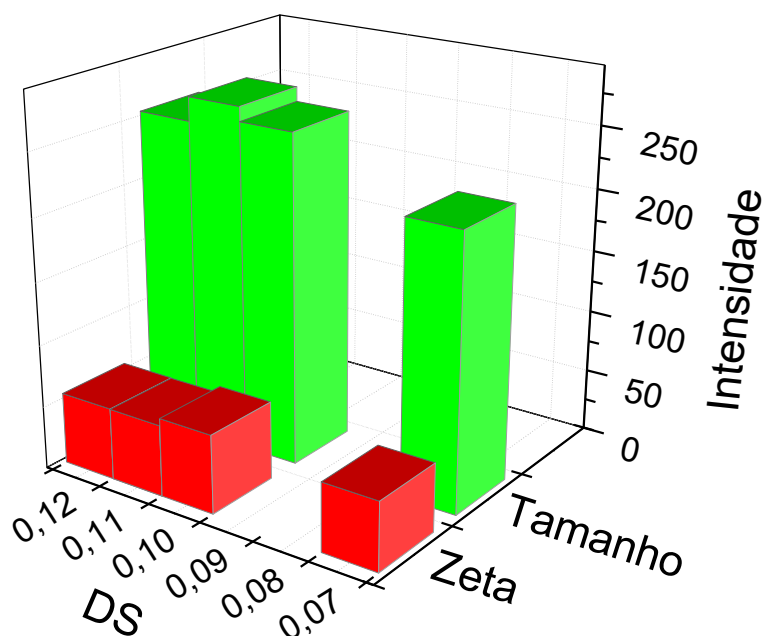
O valor de potencial zeta encontrado para a quitosana foi de +56,9 mV, resultado da natureza catiônica desse polímero e da presença de grupos amino protonados (NH_3^+) (CHANG *et al.*, 2015). Nos derivados espera-se o aumento da carga superficial, pois com a inserção dos grupos alquilas ocorrerá interações hidrofóbicas que deixarão mais expostos os grupos amino protonados. Isto é observado principalmente no derivado com DS 0,10 que apresenta medida de potencial zeta igual +63,0 mV. Com o aumento das interações hidrofóbicas entre as cadeias dos polímeros haverá mais disponibilidade de carga superficial, o que se confirma com o crescimento do potencial zeta. Em geral busca-se maximizar as forças de repulsão, a fim de minimizar as interações e formações de agregados e, conseqüentemente, a desestabilização da solução polimérica (TOLEDO, 2015). A determinação do potencial zeta de um sistema é importante para verificar a sua estabilidade físico-química, bem como a interação eletrostática entre as nanopartículas. Valores altos, em módulo, desse potencial aumentam as forças repulsivas entre essas partículas reduzindo a possibilidade de agregação das nanopartículas (REZENDE *et al.*, 2003). A Tabela 16 relaciona os valores de DS dos derivados com o potencial zeta.

Tabela 16: Potencial zeta para a quitosana e derivados.

Amostras	DS (RMN ^1H)	Zeta (mV)
QT	-	+56,9 \pm 2,71
QT-CTNc1	0,07	+54,70 \pm 2,72
QT-CTNc2	0,10	+63,0 \pm 2,36
QT-CTNb1	0,11	+57,3 \pm 1,82
QT-CTNb2	0,12	+57,7 \pm 2,29
QT-CTNa1	0,11	+44,8 \pm 3,04

A Figura 38 exhibe a relação entre o potencial zeta, o tamanho de partículas e o PDI em função do DS. Derivados mais substituídos apresentam menor potencial zeta, enquanto que para os compostos menos substituídos observa-se maior potencial zeta e menor tamanho de partículas.

Figura 38: Gráfico 3D do potencial zeta e tamanho médio de partículas em função do DS.

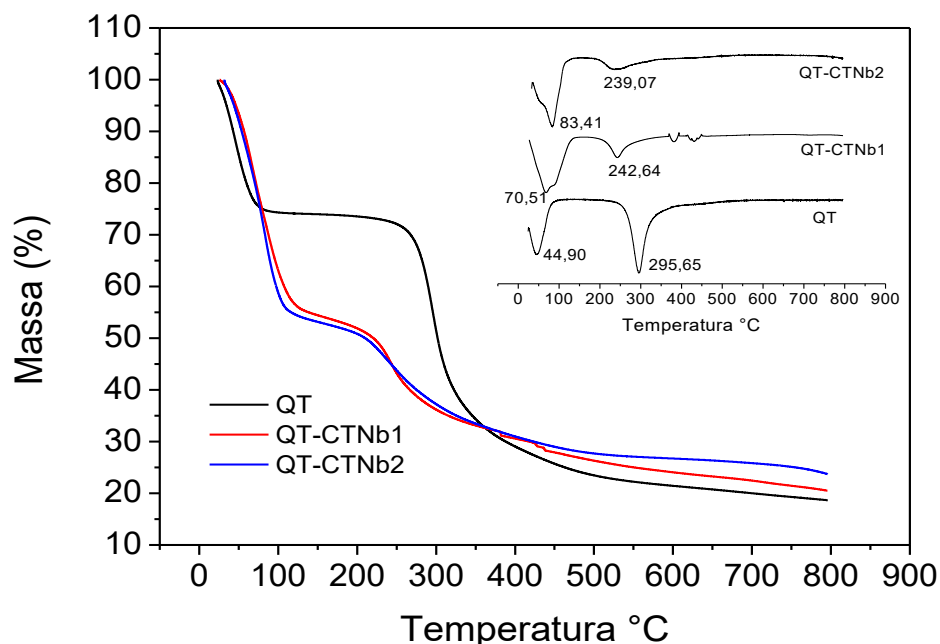


Fonte: Elaborado pelo autor.

5.3.9 Análise termogravimétrica – TGA/DTG

Os termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb1 com DS 0,10 e QT-CTNb2 com DS 0,12, sintetizados a partir de soluções de quitosana a 0,25%, são exibidos na Figura 39. A amostra com DS 0,10 apresenta o primeiro evento na temperatura de 70,51°C, com perda de massa de 46,08%. O segundo evento térmico ocorre em 242,64 °C com perda de massa igual a 21,37%. Também ocorre um terceiro evento em 450,0 °C com perda de massa 11,40%. Ainda é observada uma massa residual a 800 °C de 20,57%. O termograma do derivado com DS 0,12 mostra a primeira ocorrência de decomposição em 83,41 °C com perda de massa de 46,96%. O segundo evento acontece a 239,07 °C com perda de massa de 19,73%. O terceiro estágio de perda de massa ocorre a 445,10 °C com perda de 9,36%. A análise térmica ainda apresenta uma massa residual a 800 °C de 23,85%. Comparando os dois termogramas observa-se que a temperatura em torno de 240,0 °C, os derivados apresentam praticamente o mesmo comportamento térmico. No entanto, quando se analisa a perda de massa no intervalo de temperatura entre o *onset* e o *endset*, observa-se que o derivado com DS 0,10 possui maior velocidade de perda de massa. Os dados referentes ao *onset* e *endset* da quitosana derivados estão descritos na Tabela 18.

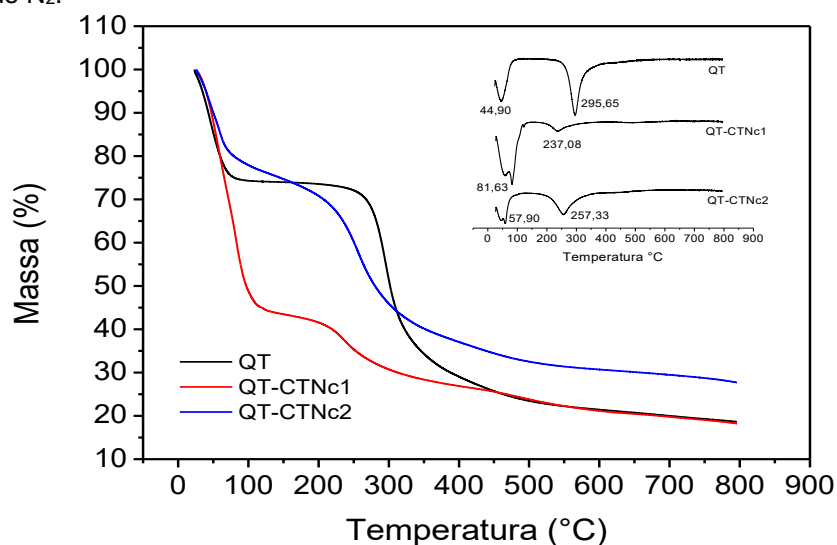
Figura 39: Termogramas de TGA/DTG da quitosana e dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2 obtidos em atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Os termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNc1 com DS 0,07 e QT-CTNc2 com DS 0,10 são exibidos na Figura 40. O derivado QT-CTNc1 com menor DS apresenta o primeiro evento em 81,63 °C com perda de massa de 56,38%. O segundo evento de degradação térmica ocorre em 237,08 °C com 16,28% de perda de massa. Ainda é observado outro evento, que aparece em 470 °C com perda de massa de 8,13%. A massa residual a 800 °C é de 18,31%. Para o derivado QT-CTNc2 com maior DS o primeiro evento ocorreu em 57,90 °C com perda de massa de 24,17%. O segundo evento vai ocorrer em 257,33 °C com perda de 38,90% de massa. O terceiro estágio de degradação ocorreu em 447,0 °C com perda de 8,77% de massa. A massa residual a temperatura de 800 °C foi de 27,81%. Com base nos termogramas, a amostra QT-CTNc1 parece ser mais higroscópica que a amostra QT-CTNc2, pois se observa maior perda de massa na temperatura próxima aos 100 °C. Observa-se que o derivado mais substituído tem maior perda de massa no segundo evento térmico, temperatura em torno de 257 °C, apresentando assim menor estabilidade térmica. Quando comparados com o termograma da quitosana, nota-se que os derivados são menos estáveis.

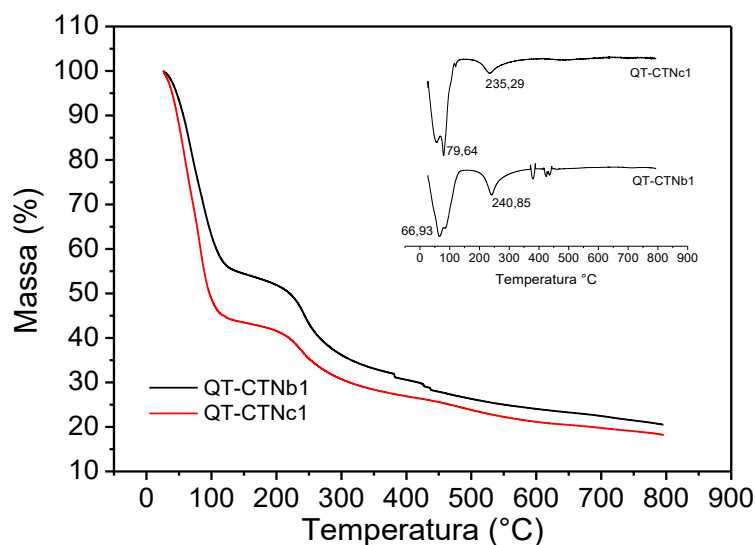
Figura 40: Termogramas de TGA/DTG da quitosana e dos derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2 obtidos em atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 41 mostra os termogramas dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1. Esses derivados possuem, respectivamente, DS igual a 0,10 e 0,09. Ao comparar a estabilidade térmica dessas amostras, ambos apresentam características semelhantes. Todavia, observa-se que o derivado com DS 0,10 tem maior perda de massa na temperatura próxima a 240 °C, apresentando assim menor estabilidade. Para essas amostras também foram comparados os intervalos de temperaturas entre o *onset* e o *endset* (Tabela 18) onde se verifica que o derivado com maior grau de substituição tem maior perda de massa em menor intervalo de aquecimento. Isto corrobora a ideia de ser a amostra com maior DS a menos estável.

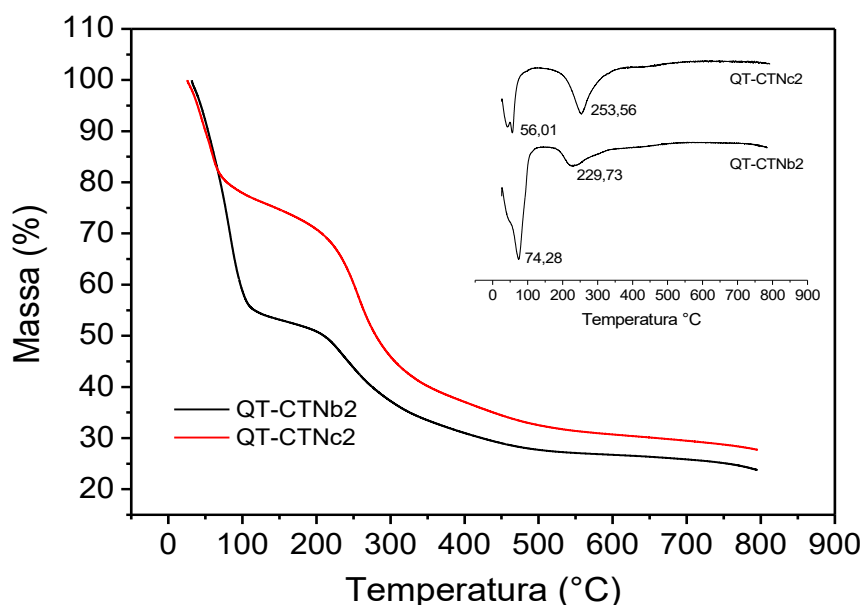
Figura 41: Termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1 obtidos em atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 42 compara as curvas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb2 com DS 0,12 e QT-CTNc2 com DS 0,10. Ao comparar a estabilidade térmica dessas amostras, a temperatura próxima a 250 °C observa-se que o derivado QT-CTNc2 tem maior perda de massa, apresentando assim menor estabilidade.

Figura 42: Termogramas de TGA/DTG dos derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2 obtidos em atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Enquanto que para a quitosana o segundo evento de degradação térmica ocorre próximo a 290,0 °C, as cadeias dos compostos QT-CTN se decompõem a temperatura média de 244,03 °C. Isto mostra a diminuição da estabilidade térmica causada pela modificação química. Diante disto, constata-se uma diminuição da estabilidade térmica dos derivados, provavelmente relacionada à inserção da cadeia alquila, comprovando a obtenção de um novo material. A Tabela 13 mostra os resultados obtidos da análise termogravimétrica da quitosana e dos derivados.

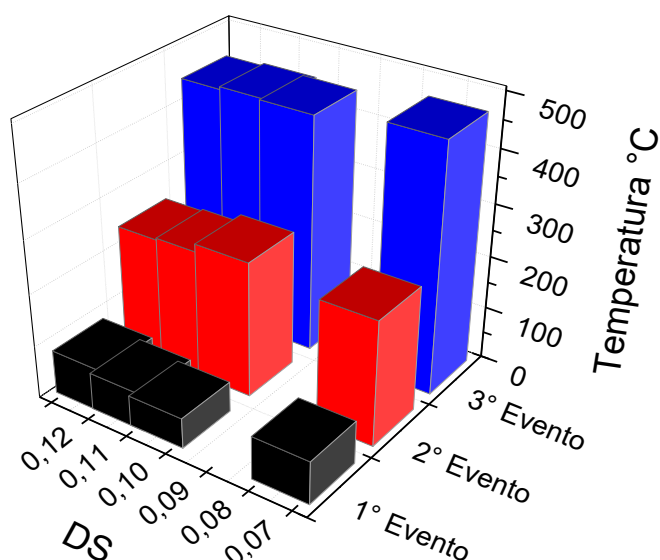
Resultados semelhantes foram encontrados por Pestov *et al.* (2016) que, ao analisarem os termogramas do derivado N-(5-metil-4-imidazol)-metil-quitosana, observaram a diminuição da estabilidade térmica deste composto em comparação com a estabilidade térmica da quitosana e da quitina.

Cai *et al.* (2015) ao analisar a estabilidade térmica da quitosana e do derivado N-benzil-O-acetil-quitosana, verificou a diminuição da temperatura de decomposição do derivado no segundo evento térmico. O autor percebeu que para a

quitosana este evento ocorreu em 180 °C, com perda de massa igual a 58,2%, enquanto que para o derivado o segundo evento ocorreu a 180 °C com perda de massa de 64,76%. Porém, a partir de 180 °C a velocidade de decomposição do derivado é maior que a velocidade de decomposição da quitosana, conclui o autor.

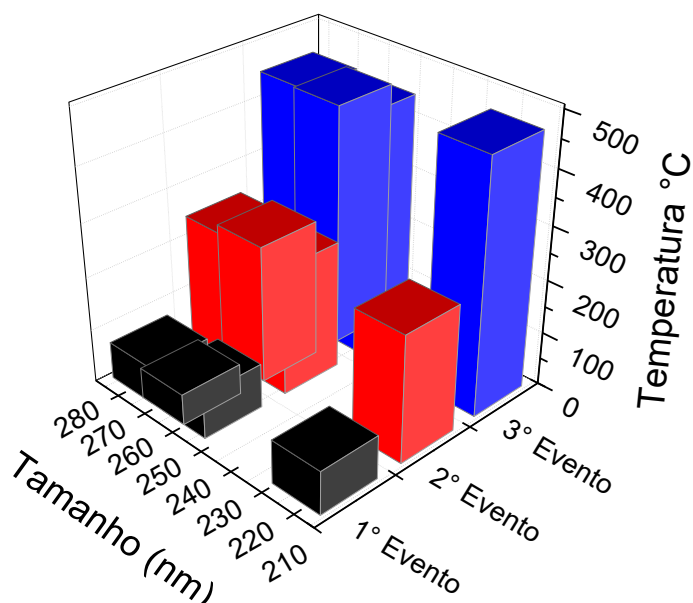
O gráfico 3D exibido na Figura 43 relaciona os três eventos térmicos observados nos termogramas dos derivados e correlaciona esses eventos com o DS das amostras e com o pico de temperatura de degradação. Observa-se que o aumento do DS diminui o pico máximo de temperatura para o evento, demonstrando ter se um produto mais instável. Com o aumento da hidrofobização haverá redução no grau de cristalinidade da quitosana, o que é o resultado da diminuição das interações de hidrogênio.

Figura 43: TGA em função do DS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 44 mostra os eventos termogravimétricos em função do tamanho médio de partículas. O gráfico mostra haver regularidade entre os eventos de decomposição térmica e o tamanho médio das partículas. Não sendo possível correlacionar esta propriedade com a estabilidade térmica dos derivados. No entanto não podemos descartar esse parâmetro, visto que partículas menores possuem características dentro do padrão identificado para derivados com partículas maiores. Isto favorece a aplicabilidade destes compostos com tamanhos nanométricos.

Figura 44: TGA em função do tamanho médio de partículas.

Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 17: Resultados das análises termogravimétricas da quitosana e derivados.

Amostras	DS	TGA			
		Eventos	Temp. Máx (°C)	Perda de massa (%)	Resíduo a 800°C (%)
QT	-	I	44,90	26,04	18,73
		II	295,65	53,93	
QT-CTNc1	0,07	I	81,63	56,38	18,31
		II	237,08	16,28	
		III	470,00	8,13	
QT-CTNc2	0,09	I	57,90	24,17	27,81
		II	257,33	38,90	
		III	447,00	8,77	
QT-CTNb1	0,10	I	70,51	46,08	20,57
		II	242,64	21,37	
		III	450,00	11,40	
QT-CTNb2	0,12	I	83,41	46,96	23,85
		II	239,07	19,73	
		III	445,10	9,36	

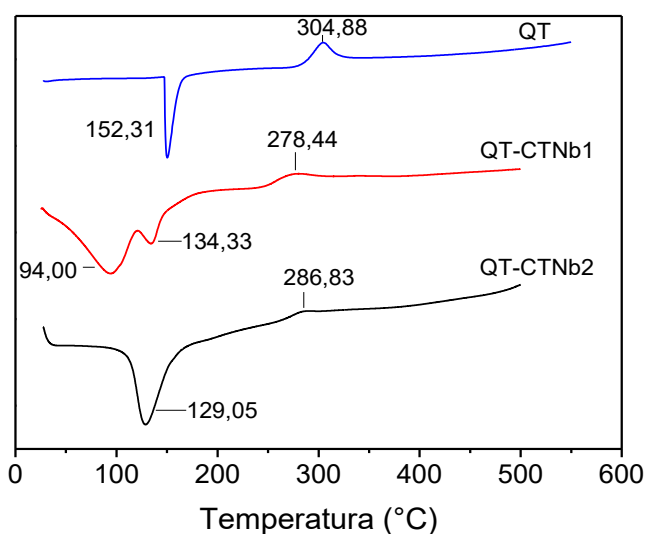
Tabela 18: Temperaturas (°C) correspondentes ao *onset*, *endset* e pico de degradação térmica da quitosana e derivados, e a perda de massa correspondente.

Amostras	DS (%)	Temperatura (°C)			Perda de massa (%)
		<i>Onset</i>	<i>Endset</i>	Pico	
Primeiro Evento					
QT	-	23,96	85,76	44,90	26,04
QT-CTNc1	0,07	28,42	121,73	81,63	56,38
QT-CTNc2	0,09	26,63	85,20	57,90	24,17
QT-CTNb1	0,10	30,59	129,25	70,51	46,08
QT-CTNb2	0,12	32,10	115,36	83,41	46,96
Segundo Evento					
QT	-	227,6	443,7	295,65	53,93
QT-CTNc1	0,07	193,2	301,2	237,08	16,28
QT-CTNc2	0,09	174,9	295,6	257,33	38,90
QT-CTNb1	0,10	203,3	298,7	242,64	21,37
QT-CTNb2	0,12	200,1	311,1	239,07	19,73

5.3.10 Caloria diferencial de varredura - DSC

A Figura 45 exibe as curvas de DSC da quitosana e dos derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2. No termograma do derivado QT-CTNb1, com DS 0,10 observa-se dois picos endotérmicos entre 94 e 135 °C que são atribuídos a temperatura de vaporização da água. Ainda é possível observar um pico exotérmico em 278,44 °C relacionado a eventos como a despolimerização, a quebra do anel piranosídico e a degradação das cadeias laterais. Na curva de DSC do composto QT-CTNb2 com DS 0,12 percebe-se um pico endotérmico em 129,05 °C, e um pico exotérmico em 286,83 °C. Em ambos derivados se observam picos endotérmicos próximos a aquele observado para a quitosana, na temperatura em torno de 150 °C, que são relacionados à evaporação da água. No entanto em relação aos eventos exotérmicos, referente à degradação do polímero, estes acontecem a temperaturas menores, sugerindo menor estabilidade dos derivados quando comparados a matriz polimérica de partida. O pico endotérmico intenso em 129,05 °C do derivado QT-CTNb1 pode estar relacionado à presença de água no polímero, o que também é visto no TGA desta amostra (Figura 39).

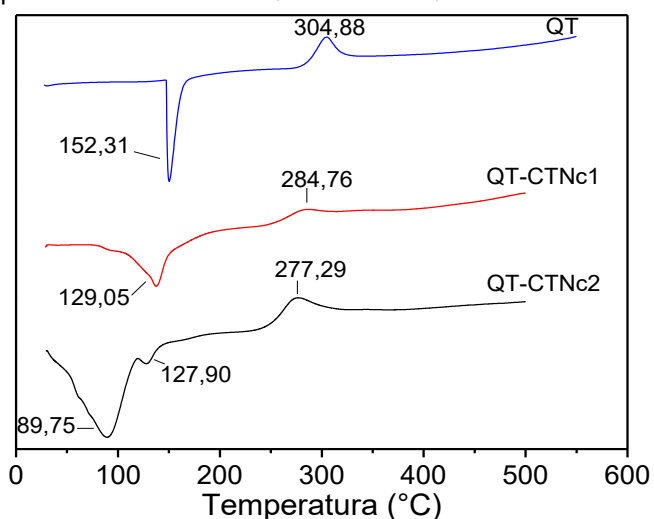
Figura 45: DSC para a quitosana e derivados QT-CTNb1 e QT-CTNb2 obtidas sob atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 46 mostra as curvas de DSC para a quitosana e para os derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2. Em ambos derivados encontramos picos endotérmicos e exotérmicos. O DSC do derivado QT-CTNc1 (DS 0,07) mostra um pico endotérmico em 129,05 °C e um pico exotérmico na temperatura de 284,76 °C. Enquanto isto, a análise térmica do derivado QT-CTNc2 (DS 0,09) exibe dois picos endotérmicos próximos, sendo um em 89,75 e o outro em 127,90. Já o pico exotérmico aparece em 277,29 °C. Neste caso observa-se que o derivado mais substituído possui menor temperatura de picos tanto para os eventos endotérmicos como para os exotérmicos, demonstrando ser mais instáveis.

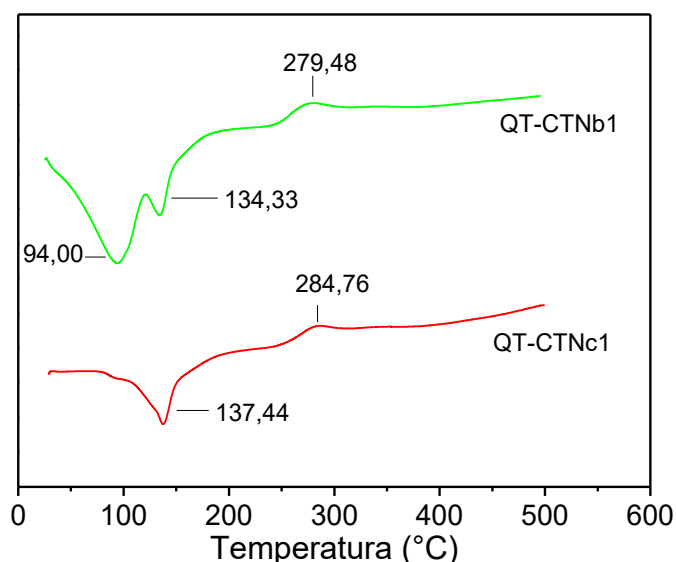
Figura 46: DSC para a quitosana e derivados QT-CTNc1 e QT-CTNc2 obtidas sob atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Comparando as curvas de DSC das amostras QT-CTNb1 e QT-CTNc1 (Figura 47), observa-se que a amostra com DS 0,10 é a que possui menor temperatura de vaporização da água. Os picos exotérmicos aparecem em 284,76 °C para o derivado de DS 0,07, e em 279,48 °C para a amostra de DS 0,10 identificando ser o derivado com maior valor de DS o mais instável. Em geral os dados de DSC para os derivados são valores menores que aqueles observados nos eventos térmicos para a quitosana. Isto mostra que a adição de substituintes no grupo amino da quitosana diminui sua estabilidade térmica (ABREU, DE; CAMPANA-FILHO, 2009; PENICHE-COVAS *et al.*, 1993).

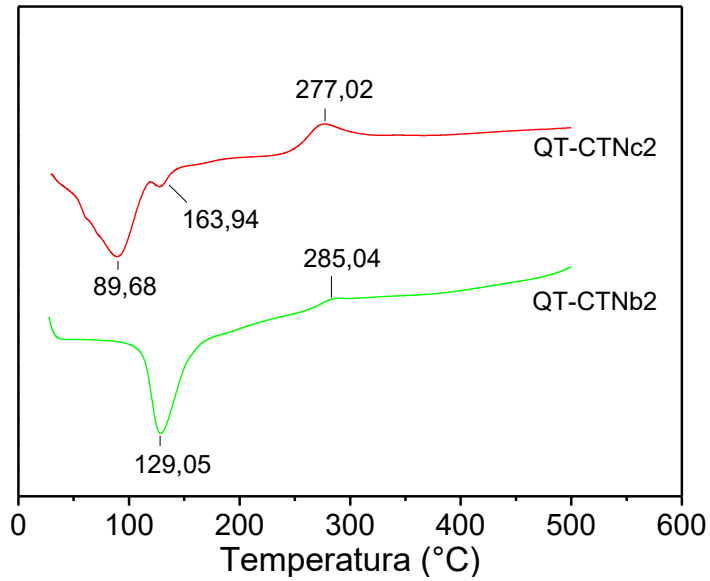
Figura 47: DSC para os derivados QT-CTNb1 e QT-CTNc1 obtidas sob atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 48 mostra as curvas de DSC para os derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2. Ao comparar os seguintes termogramas, observa-se que o derivado QT-CTNb2 possui comportamento semelhante a aquele visto para o derivado QT-CTNc2. Quando relaciona o valor do DS com as curvas de DSC observa-se que todos os derivados são menos estáveis que a quitosana. Este fato era aguardado, pois a modificação do polímero altera várias propriedades do material entre as quais destacamos a estabilidade térmica.

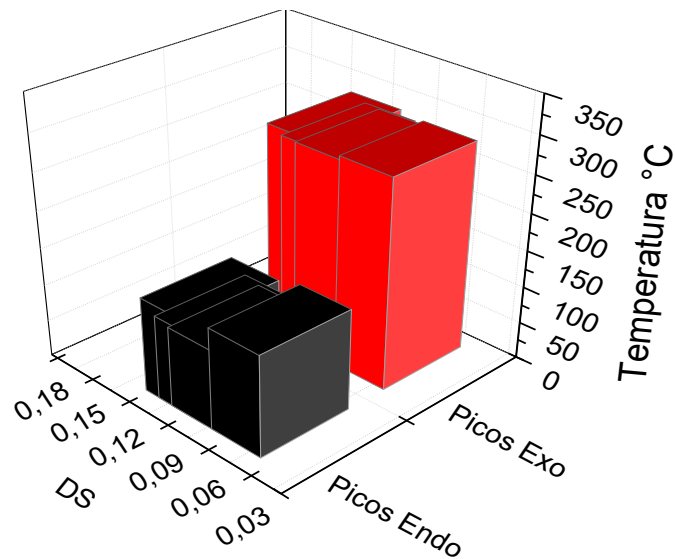
Figura 48: DSC para os derivados QT-CTNb2 e QT-CTNc2 obtidas sob atmosfera de N₂.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A Figura 49 mostra o gráfico 3D onde relaciona os eventos térmicos obtidos no DSC em função do DS. Nota-se que os derivados possuem regularidade nos eventos térmicos. Em todos os casos os derivados menos substituídos possuem maior valor de temperatura de pico. Isto corrobora a ideia de que aqueles compostos menos substituídos são os mais estáveis. Na Tabela 19 encontramos os eventos térmicos para a quitosana e derivados obtidos a partir das curvas de DSC.

Figura 49: DSC em função do DS.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 19: Resultados obtidos na análise dos gráficos de DSC da quitosana e derivados.

Amostras	DS	Transição endotérmica		Transição exotérmica	
		Temperatura (° C)	ΔH (J/g)	Temperatura (° C)	ΔH (J/g)
QT	-	152,31	-108,74	304,88	73,78
QT-CTNc1	0,07	137,53	-226,07	282,13	35,47
QT-CTNc2	0,09	89,75	-11,56	277,29	113,01
		127,9	-449,48		
QT-CTNb1	0,11	94,00	-347,52	278,44	39,83
		134,33	-47,97		
QT-CTNb2	0,12	129,05	-458,88	286,83	25,37

6 CONCLUSÃO

Um novo derivado da quitosana foi obtido através da inserção de cadeias alquilas na molécula com DS na faixa de 7,0-12,0 %. Os resultados obtidos a partir dos espectros de FTIR, bem como os dados de RMN ^1H e RMN ^{13}C confirma a presença de cadeias alquilas nas amostras dos derivados.

Os gráficos de distribuição do tamanho médio de partículas dos derivados foram na sua maioria unimodais demonstrando homogeneidade na distribuição dos tamanhos das cadeias poliméricas. Os tamanhos médios das partículas dos derivados, no geral, são menores que as partículas de quitosana. O PDI apresentou valores próximos de zero para os derivados o que caracteriza um material com partículas com tamanhos semelhantes. O potencial zeta para os derivados mostra que eles possuem carga superficial positiva com valores maiores que a quitosana.

As análises térmicas TGA e DSC mostraram que os derivados QT-CTN são menos estáveis que a quitosana. Os picos de temperaturas tanto para os eventos endotérmicos, quanto para os eventos exotérmicos são menores que para aqueles observados na quitosana, com isto, corroborando a obtenção de um novo derivado. Alguns derivados demonstraram maior velocidade de decomposição, isto é, tiveram maior perda de massa em menor intervalo de temperatura.

A análise elementar dos compostos QT-CTN apresentou maior razão C/N para os derivados que para a quitosana, evidenciando o aumento no número de átomos de carbono que, provavelmente, está associado a cadeia carbônica inserida. Quando se compara a razão C/N com o DS das amostras, tem-se que aumentando o DS, aumenta a razão C/N. Logo, quanto mais substituído, maior será o teor de carbono no derivado.

Em relação a solubilidade, todos os derivados são solúveis em ácido acético e em ácido clorídrico diluídos. Em acetona, metanol e etanol as amostras dos novos derivativos apresentaram baixa solubilidade. No solvente DMSO, os derivados apresentaram melhor solubilidade.

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. R. DE; CAMPANA-FILHO, S. P. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 214–221, 2009.
- ALVES, K. S. **Alquilação redutiva da quitosana a partir do glutaraldeído e 3-amino-1-propanol**. 2008. 97f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2008.
- ANIRUDHAN, T. S.; DIVYA, P. L.; NIMA, J. Synthesis and characterization of novel drug delivery system using modified chitosan based hydrogel grafted with cyclodextrin. **Chemical Engineering Journal**, v. 284, p. 1259–1269, 2016.
- BARBER, P. S.; GRIGGS, C. S.; BONNER, J. R.; ROGERS, R. D. Electrospinning of chitin nanofibers directly from an ionic liquid extract of shrimp shells. **Green Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 601, 2013.
- BEYKI, M.; ZHAVEH, S.; KHALILI, S. T.; et al. Encapsulation of Mentha piperita essential oils in chitosan-cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 310–319, 2014.
- BOBU, E.; NICU, R.; LUPEI, M.; CIOLACU, F.; DESBRIÈRES, J. Synthesis and characterization of N-Alquyl Chitosan for papermaking applications. **Cellulose Chemistry and Technology**, v. 45, n. 910, p. 619–625, 2011.
- BUSCHMANN, M. D.; MERZOUKI, A.; LAVERTU, M.; et al. Chitosans for delivery of nucleic acids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 9, p. 1234–1270, 2013.
- CAI, J.; DANG, Q.; LIU, C.; et al. Preparation and characterization of N-benzoyl-O-acetyl-chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 77, p. 52–58, 2015.
- CASSEL, E.; VARGAS, R. M. F.; MARTINEZ, N.; LORENZO, D.; DELLACASSA, E. Steam distillation modeling for essential oil extraction process. **Industrial Crops and Products**, v. 29, n. 1, p. 171–176, 2009.
- CHANG, S. H.; LIN, H. T. V.; WU, G. J.; TSAI, G. J. pH Effects on solubility, zeta

potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 74–81, 2015.

CHIVANGKUL, T.; PENGPRECHA, S.; PADUNGROS, P.; et al. Enhanced water-solubility and mucoadhesion of N,N,N-trimethyl-N-gluconate- N-homocysteine thiolactone chitosan. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, p. 224–231, 2014.

DAMIAN, C.; BEIRÃO, L. H.; TEIXEIRA, E. Quitosana : Um amino polissacarídeo com características funcionais. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 2, p. 195–205, 2005.

DANTAS, F. D. DOS S. **Derivados N-Substituídos obtidos a partir da quitosana e do óleo essencial de Eucalyptus staigeriana**. 2015. 75f. Dissertação (Mestrado em Química) Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

DELGADILLO-ARMENDARIZ, N. L.; RANGEL-VAZQUEZ, N. A.; MARQUEZ-BRAZON, E. A.; ROJAS-DE GASCUE, B. Interactions of chitosan/genipin hydrogels during drug delivery: A QSPR approach. **Quimica Nova**, v. 37, n. 9, p. 1503–1509, 2014.

DEMIRCI, U. B.; AKDIM, O.; ANDRIEUX, J.; et al. Sodium borohydride hydrolysis as hydrogen generator: Issues, state of the art and applicability upstream from a fuel cell. **Fuel Cells**, v. 10, n. 3, p. 335–350, 2010.

DESBRIÈRES, J.; MARTINEZ, C.; RINAUDO, M. Hydrophobic derivatives of chitosan: Characterization and rheological behaviour. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 19, p. 21–28, 1996.

FENG, B. H.; PENG, L. F. Synthesis and characterization of carboxymethyl chitosan carrying ricinoleic functions as an emulsifier for azadirachtin. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, p. 576–582, 2012.

GAVALYAN, V. B. Synthesis and characterization of new chitosan-based Schiff base compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 37–47, 2016.

GOTTLIEB, H. E.; KOTLYAR, V.; NUDELMAN, A.; et al. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. **The Journal of organic chemistry**, v. 62, n. 21, p. 7512–7515, 1997.

HE, Q.; GUAN, J.; JING, M.; et al. Synthesis and characterization of hydrophobically modified chitosan. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 6, n. 48, p. 3285–3292, 2012.

HERCULANO, E. D.; PAULA, H. C. B. DE; FIGUEIREDO, E. A. T. DE; DIAS, F. G. B.; PEREIRA, V. DE A. Physicochemical and antimicrobial properties of nanoencapsulated Eucalyptus staigeriana essential oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 2, p. 484–491, 2015.

JAIN, A.; GULBAKE, A.; SHILPI, S.; et al. A New Horizon in Modifications of Chitosan: Syntheses and Applications. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 30, n. 2, p. 91–181, 2013.

JAIN, A.; THAKUR, K.; KUSH, P.; JAIN, U. K. Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: Formulation, characterization and cytotoxicity studies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 69, p. 546–553, 2014.

KAKARAPARTHI, P. S.; SRINIVAS, K. V. N. S.; KUMAR, J. K.; et al. Variation in the essential oil content and composition of Citronella (*Cymbopogon winterianus* Jowitt.) in relation to time of harvest and weather conditions. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 240–248, 2014.

KASAAI, M. R. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 79, p. 801–810, 2010.

KITTUR, F. S.; HARISH PRASHANTH, K. V.; UDAYA SANKAR, K.; THARANATHAN, R. N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v. 49, p. 185–193, 2002.

KUMAR GIRI, T.; THAKUR, A.; ALEXANDER, A.; BADWAIK, H.; KRISHNA TRIPATHI, D. Modified chitosan hydrogels as drug delivery and tissue engineering systems: present status and applications. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 2, n. 5, p. 439–449, 2012.

KURITA, K. Chemistry and application of chitin and chitosan. **Polymer Degradation**

and Stability, v. 59, p. 17–20, 1998.

KURITA, K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 26, p. 1921–1971, 2001.

KURITA, Y.; ISOGAI, A. N-Alkylations of chitosan promoted with sodium hydrogen carbonate under aqueous conditions. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 741–746, 2012.

LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T. DE. Quitosana: Biopolímero funcional com potencial industrial biomédico. **Quimica Nova**, v. 32, n. 3, p. 672–678, 2009.

LAUS, R.; LARANJEIRA, M. C. M.; MARTINS, A. O.; et al. Microesferas de quitosana reticuladas com tripolifosfato utilizadas para remoção da acidez, ferro III e manganês II de águas contaminadas pela mineração de carvão. **Quimica Nova**, p. 34–39, 2006.

LAVERTU, M.; XIA, Z.; SERREQUI, A. N.; et al. A validated ¹H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 32, p. 1149–1158, 2003.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quimica Nova**, v. 27, n. 4, p. 670–673, 2004.

MA, G.; QIAN, B.; YANG, J.; HU, C.; NIE, J. Synthesis and properties of photosensitive chitosan derivatives(1). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 46, n. 5, p. 558–561, 2010.

MACEDO, I. T. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; OLIVEIRA, L. M. B. DE; et al. Anthelmintic effect of Eucalyptus staigeriana essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 1–2, p. 93–98, 2010.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; et al. Chemical composition of Eucalyptus spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**, v. 167, n. 1, p. 1–7, 2010.

MAREI, N. H.; EL-SAMIE, E. A.; SALAH, T.; SAAD, G. R.; ELWAHY, A. H. M.

Isolation and characterization of chitosan from different local insects in Egypt.

International Journal of Biological Macromolecules, v. 82, p. 871–877, 2016.

MIWA, A.; ISHIBE, A.; NAKANO, M.; et al. Development of novel chitosan derivatives as micellar carriers of taxol. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 1844–1850, 1998.

MONCADA, J.; TAMAYO, J. A.; CARDONA, C. A. Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from Citronella (*Cymbopogon winteriana*) and Lemongrass (*Cymbopogon citratus*): A Colombian case to evaluate different extraction technologies. **Industrial Crops and Products**, v. 54, p. 175–184, 2014.

MONTIEL-HERRERA, M.; GANDINI, A.; GOYCOOLEA, F. M.; et al. N-(furfural) chitosan hydrogels based on Diels-Alder cycloadditions and application as microspheres for controlled drug release. **Carbohydrate Polymers**, v. 128, p. 220–227, 2015.

MUZZARELLI, R. A. A.; FREGA, N.; MILIANI, M.; MUZZARELLI, C.; CARTOLARI, M. Interactions of chitin, chitosan, N-lauryl chitosan and N-dimethylaminopropyl chitosan with olive oil. **Carbohydrate Polymers**, v. 43, p. 263–268, 2000.

NJOGU, E. M.; OMONDI, B.; NYAMORI, V. O. Synthesis, Physical and Antimicrobial Studies of Ferrocenyl-N-(pyridinylmethylene) anilines and Ferrocenyl-N-(pyridinylmethyl) anilines. **South African Journal of Chemistry**, v. 69, p. 51–66, 2016.

PAUL, S.; JAYAN, A.; SASIKUMAR, C. S.; CHERIAN, S. M. Extraction and purification of chitosan from chitin isolated from sea prawn (*Fenneropenaeus indicus*). **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 7, n. 4, p. 201–204, 2014.

PENICHE-COVAS, C.; ARGUELLES-MONAL, W.; SAN ROMÁN, J. A kinetic study of the thermal degradation of chitosan and a mercaptan derivative of chitosan. **Polymer Degradation and Stability**, v. 39, n. 1, p. 21–28, 1993.

PENICHE, C.; ARGÜELLES-MONAL, W.; GOYCOOLEA, F. M. Chitin and Chitosan: Major Sources, Properties and Applications. **Monomers, Polymers and**

Composites from Renewable Resources, p. 517–542, 2008.

PESTOV, A. V.; MEHAEV, A. V.; KODESS, M. I.; et al. Imidazolyl derivative of chitosan with high substitution degree: Synthesis, characterization and sorption properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 138, p. 252–258, 2016.

PETIT, C.; REYNAUD, S.; DESBRIERES, J. Amphiphilic derivatives of chitosan using microwave irradiation. Toward an eco-friendly process to chitosan derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 116, p. 26–33, 2015.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 34, p. 641–678, 2009.

QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; SOUZA, T. T.; LEITE, B. S.; et al. Phytochemical screening and anticonvulsant activity of *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae) leaf essential oil in rodents. **Phytomedicine**, v. 15, p. 619–624, 2008.

RAVI KUMAR, M. N. . A review of chitin and chitosan applications. **Reactive and Functional Polymers**, v. 46, p. 1–27, 2000.

RAYATI, S.; BOHLOULBANDI, E.; ZAKAVI, S. Sodium borohydride reduction of aldehydes catalyzed by an oxovanadium(IV) Schiff base complex encapsulated in the nanocavity of zeolite-Y. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 54, p. 38–40, 2015.

REZENDE, S.; STANISÇUASKI, S.; LUCCA, L. DE; RAFFIN, A. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726–737, 2003.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Progress in Polymer Science (Oxford)**, v. 31, p. 603–632, 2006.

ROBLES, E.; VILLAR, E.; ALATORRE-MEDA, M.; et al. Effects of the hydrophobization on chitosan-insulin nanoparticles obtained by an alkylation reaction on chitosan. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 129, p. 822–834, 2013.

SABERI, D.; AKBARI, J.; MAHDUDI, S.; HEYDARI, A. Reductive amination of

aldehydes and ketones catalyzed by deep eutectic solvent using sodium borohydride as a reducing agent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 196, p. 208–210, 2014.

Elsevier B.V. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2014.03.024>>. .

SANTOS, M. C.; CIRILO, A. T. D. O.; NUNES, M. L. Determinação do grau de desacetilação de quitosana obtida de camarão “ Saburica ” (*Macrobrachium jelskii* , Miers , 1877). **Scientia plena**, v. 7, n. 9, p. 3–5, 2011.

SHCHIPUNOV, Y. A.; IVANOVA, N. A.; SARIN, S. A. In situ formation of chitosan hydrogels with anionic polysaccharides. **Mendeleev Communications**, v. 19, n. 3, p. 149–151, 2009.

SILVA, M. R.; XIMENES, R. M.; COSTA, J. G. M. DA; et al. Comparative anticonvulsant activities of the essential oils (EOs) from *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. in mice. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 381, n. 5, p. 415–426, 2010.

SILVEIRA, S. M. DA; CUNHA, A. J.; SCHEUERMANN, G. N.; et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* (citronela), *Eucalyptus paniculata* (eucalipto) e *Lavandula angustifolia* (lavanda). **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 3, p. 471–480, 2012.

SINGH, K.; MISHRA, A. Water soluble chitosan nanoparticle for the effective delivery of lipophilic drugs: A review. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 5, n. 3, p. 1–6, 2013.

SOLOMON, B.; SAHLE, F. F.; GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K.; NEUBERT, R. H. H. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 1, p. 61–66, 2012.

SON, S.; YOUNG CHAE, S.; CHOI, C.; et al. Preparation of a Hydrophobized Chitosan Oligosaccharide for Application as an Efficient Gene Carrier. **Macromolecular Research**, v. 12, n. 6, p. 573–580, 2004.

SORLIER, P.; VITON, C.; DOMARD, A. Relation between solution properties and degree of acetylation of chitosan: Role of aging. **Biomacromolecules**, v. 3, n. 6, p.

1336–1342, 2002.

T.W. GRAHAM SOLOMONS CRAIG B. FRYHLE. **Organic Chemistry**. 10ed ed. United States of America, 2011.

TIMUNG, R.; BARIK, C. R.; PUROHIT, S.; GOUD, V. V. Composition and anti-bacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: Process optimization study. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 178–188, 2016.

TOLEDO, A. M. N. DE. **Encapsulação do óleo essencial de laranja em nanopartículas de quitosana: Desenvolvimento e avaliação da citotoxicidade in vitro do produto final**. 2015. 68f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciências de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial action of essential oil vapours and negative air ions against *Pseudomonas fluorescens*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, n. 3, p. 205–210, 2010.

VICTORIA, F. N.; RADATZ, C. S.; SACHINI, M.; et al. Further analysis of the antimicrobial activity of α -phenylseleno citronellal and α -phenylseleno citronellol. **Food Control**, v. 23, p. 95–99, 2012.

WANG, J.; JIANG, J.; CHEN, W.; BAI, Z. Synthesis and characterization of chitosan alkyl urea. **Carbohydrate Polymers**, v. 145, p. 78–85, 2016a.

WANG, J.; JIANG, J.; CHEN, W.; BAI, Z. Data in Brief Data of ^1H / ^{13}C NMR spectra and degree of substitution for chitosan alkyl urea. **Data in Brief**, v. 7, p. 1228–1236, 2016b.

WANG, J.; WANG, L.; YU, H.; et al. Recent progress on synthesis, property and application of modified chitosan: An overview. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 88, p. 333–344, 2016.

WANY, A.; JHA, S.; NIGAM, V. K.; PANDEY, D. M. Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from *Cymbopogon winterianus*: A short review. **International Journal of Advanced Research**, v. 1, n. 6, p. 504–521, 2013.

WESKA, R. F.; MOURA, J. M.; BATISTA, L. M.; RIZZI, J.; PINTO, L. A. A.

Optimization of deacetylation in the production of chitosan from shrimp wastes: Use of response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 80, n. 3, p. 749–753, 2007.

YING, G. Q.; XIONG, W. Y.; WANG, H.; SUN, Y.; LIU, H. Z. Preparation, water solubility and antioxidant activity of branched-chain chitosan derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 1787–1796, 2011.

YOGESHKUMAR, G.; ATUL, G.; ADHIKRAO, Y. Chitosan and Its Applications: A Review of Literature. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 4, n. 1, p. 312–331, 2013.

ZHANG, C.; PING, Q.; ZHANG, H.; SHEN, J. Synthesis and characterization of water-soluble O-succinyl-chitosan. **European Polymer Journal**, v. 39, p. 1629–1634, 2003.

ZHAO, L.; HU, Y.; XU, D.; CAI, K. Surface functionalization of titanium substrates with chitosan-lauric acid conjugate to enhance osteoblasts functions and inhibit bacteria adhesion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 119, p. 115–125, 2014.

ZHU, D.; CHENG, H.; LI, J.; et al. Enhanced water-solubility and antibacterial activity of novel chitosan derivatives modified with quaternary phosphonium salt. **Materials Science and Engineering C**, v. 61, p. 79–84, 2016.