

Tese de Mestrado Integrado em Engenharia Química  
Faculdade de Ciência e Tecnologia da Universidade de Coimbra

## Chitosan based poly ionic liquids



**Supervisor:** Hermínio José Cipriano de Sousa, PhD

**Co-supervisor:** Ana Maria Antunes Dias, PhD

**Estudante:** Luís Filipe Ferreira Gomes

Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância.

John F. Kennedy



## **Agradecimentos**

A realização deste trabalho foi possível graças à colaboração e ao espírito de entajuda existente entre o pessoal do grupo dos biopolímeros. Um muito obrigado a todos com quem convivi e partilhei os laboratórios, António Rosa, Martin Jakubec, Rita Chim, Sofia Marceneiro, Luísa Filipe, Maria de Matos e finalmente Ana Cortez, a quem agradeço especialmente a boa disposição e disponibilidade para me orientar nos primeiros tempos num mundo onde para mim muita coisa era novidade.

À minha família, amigos de infância e de faculdade que fui fazendo ao longo dos anos, que sempre me apoiaram e ajudaram a tomar decisões em alturas complicadas.

Um agradecimento à equipa de orientadores do grupo, Professor Doutor Hermínio Sousa, Doutora Mara Braga e em especial à Doutora Ana Dias pela dedicação, paciência, valiosa partilha de informação e ajuda prestada.

Muito obrigado a todos!



## Resumo

Materiais modificados baseados em biopolímeros, e capazes de responder a estímulos internos ou externos representam actualmente uma das áreas da ciência dos materiais mais emergentes, e com potencial para serem exploradas comercialmente em termos de aplicações. Paralelamente aos desafios no desenvolvimento destes sistemas, existem oportunidades de síntese e *design* de sistemas poliméricos com capacidade de estímulo-resposta, onde a Natureza tem servido de inspiração na criação destes sistemas. O quitosano (CTS) é um dos biopolímeros de base mais utilizados com tais objectivos, devido às suas características e potencialidades já bem definidas. A presença de grupos OH e NH<sub>2</sub>, confere-lhe uma reactividade que permite mudanças estruturais, na tentativa de melhorar propriedades químicas, físicas e termomecânicas, que definem a aplicabilidade do novo material sintetizado.

Este trabalho visou precisamente a modificação estrutural de um biopolieletrólito, dotando-o de uma carga permanente e independente do pH, através da introdução na sua estrutura de um catião reactivo de um IL, o imidazólio. Esta modificação foi feita num processo sequencial que envolveu duas etapas: numa primeira parte pretendia-se o *grafting* do CTS com GMA pelos grupos hidroxil, deixando livres os grupos amina para que o material tivesse sensibilidade ao pH; numa segunda fase pretendeu-se fixar o IL através de uma ligação forte às matrizes poliméricas, impedindo assim a sua lixiviação. A metacrilção visou dotar o polímero modificado de um centro reactivo insaturado que posteriormente seria utilizado para ligar covalentemente um IL vinílico, com catião imidazólio. A metacrilção foi feita de acordo com um método descrito na literatura, e confirmada por FTIR-ATR-KBr e <sup>1</sup>H-RMN.

O estudo comparativo do efeito do IL na estrutura resultante e nas propriedades dos filmes obtidos foi feito variando a quantidade adicionada de IL (30% e 60% em fracção mássica) com e sem a adição de um agente reticulante. Os filmes produzidos por evaporação do solvente foram caracterizados em termos de *swelling* em meio aquoso (a diferentes pH e força iónica), propriedades térmicas (TGA e DSC), e potencial de sorção de fármacos, neste caso usando um fármaco modelo, o ácido acetilsalicílico (ASA). Pretendeu-se avaliar se a carga permanente introduzida no material com o catião imidazólio, é um factor contributivo para além dos grupos NH<sub>3</sub><sup>+</sup> (apenas em meio ácido) na sorção de ácido acetilsalicílico em meios com diferente pH.

Os resultados demonstraram que o IL induz uma hidrofiliçidade directamente proporcional à sua proporção relativa nos filmes obtidos. Verificou-se que o IL influenciou significativamente a capacidade de sorção de ASA em relação ao CTS, e que este processo é altamente dependente do pH e da força iónica do meio. De modo geral o sistema desenvolvido neste trabalho apresenta potencial como bio-adsorvente.

## Abstract

Synthetic materials based on biopolymers and able to respond to internal or external stimuli currently represent one of the most emerging areas of materials science, and less commercially exploited in terms of applications. Alongside the challenges in developing these systems, there are opportunities for synthesis and design of polymeric systems capable of stimulus-response, where Nature has inspired the creation of these systems. Chitosan is one of the most used biopolymers with such objective, since his characteristics and potential are already well established. The presence of  $\text{NH}_2$  and  $\text{OH}$  groups allows a wide range of reactivity, introducing structural modifications searching for improve their physical-chemical and thermo-mechanical properties, that when properly quantized define the applicability of the new synthesized material. This work aimed precisely the development of a new material through the combination of biopolymers and the emergent field of ionic liquids.

On first stage, it was intended the chitosan grafting modification with glycidyl methacrylate through the hydroxyl groups, allowing the amino groups free to provide pH sensibility and on second stage the fixation of an ionic liquid through a strong bond with the polymeric matrices, preventing his segregation. The methacrilation aimed the existence of an unsaturated reactive center which would then be used to covalently attach a based imidazolium vinylic ionic liquid, the 1-allyl-3-methylimidazolium chloride. The methacrilation reaction was made according a method described in literature, and confirmed through FTIR-ATR-KBr and  $\text{H}^1\text{NMR}$  analysis.

The comparative study of the IL effect on the synthezied structures, was made by the variation of the added IL quantity (30% and 60%, weight ratio), with and without a crosslinking agent. The films were produced by solvent evaporation, and then characterized by aqueous *swelling* (with different pH values and ionic strength) and thermo-physical properties (TGA and DSC), and his potential use for drug uptake tested through the addition of a regular drug, the acetylsalicylic acid (ASA).

It was intended to evaluate if the IL covalently linked to modified polymer, and the positive charge of the imidazolium cation (beyond the  $\text{NH}_3^+$  groups in acidic media) would act like a contributory factor on the sorption of drugs in aqueous medias with pH values such acetylsalicylic acid is negatively charged.



## Índice

Agradecimentos	iv
Resumo	vi
Abstract	viii
Índice de figuras	ix
Índice de tabelas	xii
1. Introdução	1
1.1. Polímeros com capacidade estímulo-resposta	1
1.2. Polímeros sensíveis ao pH	2
1.3. Quitosano como exemplo de biopolieletrólito	3
1.3.1. Estrutura do CTS e da quitina	4
1.3.2. Produção de CTS	5
1.3.3. Propriedades físico-químicas do CTS	5
1.4. Líquidos iônicos	9
1.5. Líquidos iônicos polimerizados (PILs)	11
2. Materiais e métodos	15
2.1. Materiais	15
2.2. Grafting do CTS com GMA	15
2.3. Grafting do CTSM com IL	17
2.4. Preparação dos filmes	18
2.5. Lavagem e neutralização dos filmes	19
2.6. Síntese do IL polimerizado	19
2.7. Testes de caracterização	20
2.7.1. FTIR – ATR-KBr	20
2.7.2. <sup>1</sup> H-NMR	20
2.7.3. <i>Swelling</i> em meio aquoso	20
2.7.4. Caracterização térmica – TGA e DSC	21
2.7.5. Sorção de ácido acetilsalicílico (ASA)	21
3. Resultados e discussão	23
3.1. Grau de deacetilação do CTS	23
3.2. Modificação do CTS em CTSM (metacilação do CTS com GMA)	23
3.3. Grafting do CTSM com IL	26

3.4. Análise Térmica	30
3.5. <i>Swelling</i> em meio aquoso	36
3.5.1 Efeito da variação do pH nos filmes de CTS e CTSM	37
3.5.2 Efeito da variação do pH nos filmes de CTSM com IL	38
3.5.3 Efeito da reticulação no <i>swelling</i> dos filmes	40
3.6. Sorção de ASA	41
3.6.1 Sorção em água Mili-Q	42
3.6.2 Sorção em pH 4	43
3.6.3 Sorção em meio salino	45
3.6.4 Sorção em meio alcalino	46
Conclusões	48
Bibliografia	50
Anexos	58

## Índice de figuras

- Figura 1 - Estrutura da quitina (a) e do quitosano (CTS) (b)
- Figura 2 - Estrutura do GMA, onde é visível o grupo epóxido no terminal
- Figura 3 - Reacções do CTS com epóxidos
- Figura 4 - Exemplos dos catiões e aniões mais comuns
- Figura 5 - Monómeros de líquidos iónicos, “P” representa a unidade polimerizável
- Figura 6 - Esquema reaccional do *grafting* do CTS com GMA para obter CTSM.
- Figura 7 - *Grafting* do CTSM com IL
- Figura 8 - Esquema representativo do procedimento experimental realizado
- Figura 9 - Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do CTS e localização do protão utilizado no cálculo do grau de deacetilação
- Figura 10 - Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do CTSM
- Figura 11 - FTIR-ATR do GMA
- Figura 12 - Espectro FTIR-ATR para o filme de CTS (preto) e CTSM (cinza-cheio). O espectro FTIR- KBr do CTSM foi também medido para comparação (cinza-tracejado)
- Figura 13 - Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do CTSM-30%IL (esquerda) e CTSM-60%IL (direita)
- Figura 14 - Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do IL [Amim]Cl
- Figura 15 - FTIR-ATR do IL [Amim]Cl
- Figura 16 - FTIR-ATR dos filmes de CTSM (preto), CTSM-30%IL (cinza-cheio), CTSM-60%IL (cinza-tracejado)
- Figura 17 - Perfil termo-gravimétrico do IL (linha a cheio) e primeira derivada do perfil (linha a tracejado)
- Figura 18 - DSC do IL puro
- Figura 19 - Vias de decomposição do [Amim]Cl
- Figura 20 - Termogramas do CTS ( $\circ$ ), CTSM (+), CTSM-30%IL ( $\bullet$ ), CTSM-60%IL ( $\square$ )
- Figura 21 - DSC dos filmes de CTS (preto) e do CTSM (cinza)
- Figura 22 - DSC do CTS (tracejado), CTSM-30%IL (preto) e CTSM-60%IL (cinza)
- Figura 23 - Representação esquemática do *swelling* e desidratação de um hidrogel
- Figura 24 - Efeito do pH em hidrogéis
- Figura 25 - Dependência do *swelling* de um hidrogel em relação ao meio onde está inserido
- Figura 26 - Constante de dissociação, pKa do CTS
- Figura 28 - Constante de dissociação, pKa do ASA

Figura 29 - Perfis de sorção de ASA em água Mili-Q, CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

Figura 30- Perfis de sorção de ASA em água Mili-Q, CTS-30%IL (▲), CTSM-30%IL-Ret (●)

Figura 31- Perfis de sorção de ASA em meio aquoso de pH4, CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

Figura 32 - Perfis de sorção de ASA em meio aquoso de pH4, CTSM-60%IL (◆), CTSM-60%IL-Ret (-)

Figura 33- Perfis de sorção de ASA em meio salino, CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

Figura 34 - Perfis de sorção de ASA em meio alcalino, CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

### **Índice de tabelas**

Tabela 1 - Vantagens e desvantagens do CTS na sua utilização como bio-adsorvente

Tabela 2 - Coeficiente de correlação e rectas de calibração para cada meio

Tabela 3 - Influência da quantidade de IL e efeito da reticulação nas propriedades térmicas dos filmes preparados

Tabela 4 - Valores de pH medidos em cada meio de sorção

## 1. Introdução

### 1.1. Polímeros com capacidade estímulo-resposta

Polímeros com capacidade de estímulo-resposta são aqueles que respondem significativa e bruscamente a mudanças (estímulos) nas condições físicas ou químicas do meio. Estes polímeros também podem ser chamados de polímeros ‘inteligentes’, ou sensíveis ao ambiente (Hoffman, 2013). A natureza destes estímulos pode ser classificada em três categorias: física (temperatura, campos electromagnéticos), química (pH, força iónica) e biológica (enzimas p.e.). A resposta do material pode ser expressa em várias formas tais como uma mudança na forma e tamanho do polímero, alteração nas suas propriedades ópticas ou eléctricas, bem como mudanças na sua permeabilidade (Kuckling et al, 2012; Meng et Li, 2013, Adiga et Brenner, 2012). Aplicando um procedimento apropriado e controlado, é possível melhorar as performances de resposta, alterando conformações poliméricas, solubilidade ou degradabilidade. (Dias et al, 2013). Os estímulos químicos ou biológicos apresentam um efeito na interacção entre as cadeias poliméricas, ou entre estas e as moléculas do meio solvente onde estão inseridos, enquanto os estímulos físicos influenciam interacções moleculares resultando em transições de fase, sendo estas as bases das mudanças microscópicas que tornam o polímero inteligente (Kuckling et al, 2012). Para que tal aconteça, mecanismos de reconhecimento de sinais, amplificação desses sinais e a sua transdução em mudanças nas propriedades dos materiais usando a energia neles armazenada, ou recebendo-a do ambiente externo (estímulos) devem ser assegurados e combinados no *design* desses materiais. A habilidade para estes materiais reconhecerem um estímulo e lhe responderem deriva de processos ao nível molecular e/ou supramolecular, que são depois transduzidos e amplificados para o nível macroscópico (Lendlein et Shastri, 2010; Tokarev et al, 2009).

A arquitectura e design destes materiais permite a sua aplicação em diferentes formas, desde macromoléculas em solução, sistemas micelares, superfícies modificadas, assim como hidrogéis reticulados, e juntamente com a habilidade de responder a um ou mais estímulos, permite diversas aplicações para estes materiais, desde sistemas de libertação de fármacos, biotecnologia, sensores, sorção, sistemas ópticos assim como revestimentos e têxteis (Gil et Hudson, 2004; Kuckling et al, 2012).

Actualmente, no âmbito de desenvolvimento destes materiais, o desafio é a criação de matrizes poliméricas estáveis e biocompatíveis, e dependendo da aplicação

capazes de induzir mudanças que levem a uma resposta físico-química controlada perante um estímulo interno ou externo (Liu et Urban, 2010; Perez et al, 2012).

Especial ênfase será dada a sistemas sensíveis ao pH, pois um dos principais objectivos deste trabalho é a síntese de um material com tais características.

## 1.2. Polímeros sensíveis ao pH

Mudanças estruturais e na solubilidade em resposta a variações no pH são características comuns dos biopolímeros, pois estes apresentam grupos funcionais ácidos ou básicos. A sua protonação/desprotonação origina mudanças estruturais acompanhando a alteração da reactividade. Biopolímeros sensíveis ao pH apresentam grupos funcionais ionizáveis, capazes de aceitar ou doar protões ( $H^+$ ) de acordo com a concentração destas espécies no meio, podendo assim ser chamados de polielectrólitos. O ponto de transição entre o equilíbrio de protonação/desprotonação dos grupos funcionais na matriz polimérica, é o valor de pKa. Quando o valor do pH do meio se aproxima do pKa do polielectrólito, o grau de ionização altera-se drasticamente (Kuckling et al, 2012). Com o pH acima do valor de pKa das macromoléculas elas estão desionizadas, não exibem carga e adoptam uma conformação colapsada com interacções entre as cadeias poliméricas. Já com o pH abaixo do valor de pKa, as cadeias são ionizadas, levando a uma conformação expandida devido à repulsão electrostática dos grupos ionizados e aos processos de hidratação responsáveis pelo *swelling* e solubilização (Kuckling et al, 2012).

Variações no pH ou na força iónica do meio levam a transições de fase reversíveis e mudanças na solubilidade dos polímeros, causadas por distúrbios no volume hidrodinâmico, em resultado da pressão osmótica gerada que origina entrada de água na matriz para neutralização das cargas (Chen et al 2010; Cortez, 2012).

Os polímeros sensíveis ao pH são classificados entre poliácidos ou polibases, de acordo com a presença de grupos acídicos ou básicos na sua estrutura. Uma polibase apresenta grupos amina pendentos na sua matriz, que aceitarão protões a pH ácido libertando-os a pH neutro ou básico. O *swelling* de um hidrogel catiónico aumentará com a diminuição do pH, comportando-se como uma polibase, enquanto que um hidrogel de natureza aniónica terá o seu *swelling* aumentado com o aumento do pH, comportando-se como um poliácido (Gil et Hudson, 2004; Bajpai et al, 2008).

Por outro lado, quando a força iónica da solução é aumentada (pela adição de um sal por exemplo) o hidrogel pode trocar iões com a solução. Fazendo isso, ele mantém a

neutralidade de carga e a concentração de contra iões livres dentro da sua matriz aumenta, criando uma pressão osmótica que fará com que entrem moléculas de água, causando *swelling* na estrutura. Quando a força iónica da solução for elevada o suficiente, poderá ser igualada a pressão osmótica entre o hidrogel e a solução, causando *deswelling*, ou encolhimento (Bajpai et al, 2008; Zhang et al, 2007).

Outro fenómeno associado à força iónica que tem influência no *swelling* de um hidrogel é o efeito de blindagem que a dissociação de um sal tem na estrutura polimérica. Num meio com elevada força iónica, existe um grande número de contraíões presentes perto das unidades ionizadas das matrizes poliméricas, criando uma barreira iónica entre as cadeias. No caso de uma força iónica mais baixa, verifica-se a falta de iões para criar essa barreira electrostática entre as cadeias do polímero, resultando numa capacidade de *swelling* superior. (Gemeinhart et al, 2000)

Os polielectrólitos podem ser divididos em dois grupos, de acordo com a natureza iónica dos seus grupos característicos, nomeadamente polielectrólitos e anfotéricos. Os polielectrólitos contêm nas suas matrizes grupos ionizáveis (aniónicos ou catiónicos), enquanto os anfotéricos contêm ambos os grupos. (Cortez, 2012; Tan et al, 2006; Dobrynin et Rubinstein, 2005).

A capacidade de adsorção dos polielectrólitos tem atraído muita atenção recentemente, devido ao seu potencial uso industrial generalizado em várias áreas (Saarinen et al, 2009). Assim, polímeros iónicos não solúveis apresentam variadas aplicações na sua fase sólida, desde separação de proteínas, sorção de moléculas iónicas, cromatografia iónica, catálise ou sensores químicos. O desenvolvimento de polímeros que contêm grupos amina dadores de electrões tem forte aplicação devido à sua capacidade em destabilizar colóides de carga negativa, em efluentes e na clarificação de água, ou recuperação de iões metálicos (Martinez et al, 2012). Muitas aplicações dos polielectrólitos têm surgido ultimamente devido à propensão que estes materiais apresentam para se ligarem a superfícies de cargas opostas, ou se associarem e formarem complexos com polímeros de carga negativa (Scraton et al, 1995).

### **1.3. Quitosano como exemplo de biopolielectrólito**

Os polielectrólitos podem ser de origem sintética, (como as poliacrilamidas e seus derivados) ou de base natural, como por exemplo o CTS ou a pectina. (Mortimer, 1991; Straton et al, 1995)

Nos últimos anos a quitina e o CTS têm recebido imensa atenção da comunidade científica e acadêmica, tendo sido alvo de variadíssimos estudos experimentais. Este foco de interesse deve-se ao facto de serem materiais provenientes de fontes naturais abundantes e renováveis, mas também pelo grande potencial verificado para aplicações nas áreas farmacêuticas, cosmética, biomédica, biotecnológica, tratamento de efluentes de indústrias químicas dos mais variados tipos. Estes materiais poliméricos exibem ainda grande versatilidade devido à combinação de excelentes propriedades como actividade antimicrobiana, biocompatibilidade, biodegradabilidade, promoção da adesão celular, baixa toxicidade entre outras propriedades físico-químicas de interesse (Coimbra et al, 2011).

### 1.3.1. Estrutura do CTS e da quitina

A quitina é um dos polissacarídeos mais abundantes na Natureza, e é formada pela repetição de unidades monoméricas de N-Acetilglicosamina, que na forma de microfibras e em associação com outras biomacromoléculas (proteínas e carboidratos) serve como componente estrutural de bio-compósitos encontrados em paredes celulares e em matrizes extracelulares de fungos ou nos exoesqueletos de artrópodes e invertebrados. É um polímero linear de natureza insolúvel e grande estabilidade química, havendo poucos solventes capazes de a solubilizar. O quitosano (CTS) é igualmente um polímero polissacarídico, e derivado da quitina, consistindo na repetição das unidades estruturais de N-Acetilglicosamina parcialmente desacetilada. Importa salientar que o CTS não se refere a um composto em particular, mas sim a um polissacarídeo derivado da quitina que apresenta diferentes percentagens de unidades acetiladas e desacetiladas, que os torna solúvel e insolúvel em ácido acético, repectivamente.

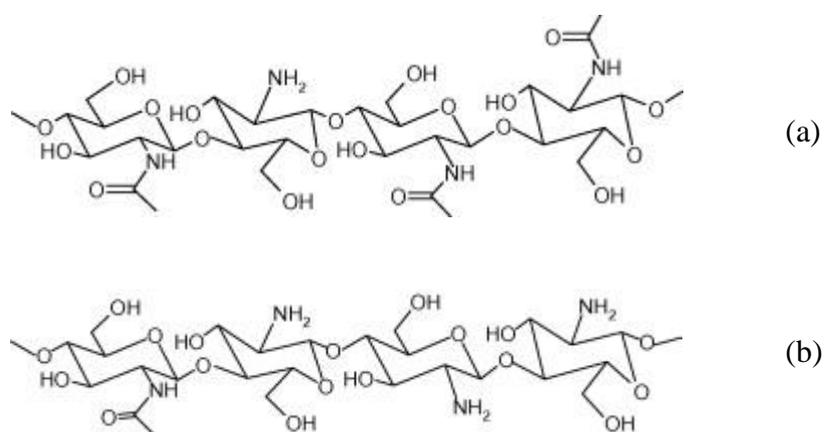


Figura 1 - Estrutura da quitina (a) e do CTS (b) (Mourya et Inamdar, 2008)

### **1.3.2. Produção do quitosano**

A principal fonte de quitina são os exoesqueletos de crustáceos marinhos, que como já foi citado são compostos por variados constituintes, daí a necessidade de um tratamento rigoroso e específico para remover o material quitinoso e extraí-lo em larga escala. As proteínas podem ser removidas por duas vias: a química, onde a matéria-prima é tratada em meio alcalino, ou a biológica através da acção de enzimas proteolíticas. A desmineralização da matéria prima é conseguida pela adição de ácido clorídrico. Por fim, a conversão de quitina em CTS é conseguida através da hidrólise alcalina dos grupos acetamida presentes nas unidades estruturais da quitina. Este tratamento recorre ao uso de bases fortes e concentradas (NaOH ou KOH entre 40-50%), e dependendo da natureza do produto final a  $T > 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ou à  $T_{\text{amb}}$  para a remoção dos grupos acetil da quitina, libertando deste modo os grupos amina, que em meios de pH abaixo do seu pKa conferem ao polímero uma natureza catiónica, que será do maior interesse no contexto deste trabalho. Este processo é chamado de desacetilação, e a sua extensão depende da concentração de base, da temperatura de reacção, do tempo de reacção, do tamanho e densidade das partículas de CTS. A desacetilação quase total da quitina pode ser conseguida, no entanto verifica-se uma redução na viscosidade do produto resultante, o que poderá ser indicativo da quebra de cadeias (Badawy et al; 2011; Barbosa et al, 2011).

### **1.3.3. Propriedades físico-químicas do CTS**

**Grau de acetilação** - Este é um dos parâmetros mais importantes na classificação de derivados da quitina e tem grande influência na solubilidade do polímero. Consiste na razão entre o número de unidades acetiladas e desacetiladas. Na quitina as cadeias apresentam um grau de acetilação superior a 90%, enquanto no seu derivado CTS prevalecem as unidades desacetiladas, resultando numa acetilação menor que 30%. Para definir esta razão, aplicam-se técnicas analíticas complementares, destacando a espectroscopia IR,  $^1\text{H-RMN}$  e  $^{13}\text{C-RMN}$ , cada uma com as suas vantagens específicas (Badawy et al, 2011).

A análise por FTIR apresenta-se bastante atractiva, pois é rápida, não destrutiva, económica, e permite a análise de amostras solúveis e insolúveis, enquanto a análise por  $^1\text{H-RMN}$  permite determinar com maior exactidão a estrutura química da quitina e seus derivados, estando no entanto restrita a amostras solúveis, limitando a sua aplicação a

derivados de quitina com um grau de acetilação inferior a 30%. A espectroscopia  $^1\text{H}$ -RMN permite a quantificação das unidades desacetiladas face às acetiladas, e assim a determinação do grau de acetilação do material obtido após o processamento termoquímico da desacetilação (Badawy et al; 2011; Barbosa et al, 2011).

**Peso molecular e viscosidade** - Sendo um polissacarídeo, o CTS é polidisperso em termos de distribuição de pesos moleculares das cadeias, parâmetro este que divide o CTS entre baixo, médio e alto peso molecular. O seu peso molecular depende da sua origem e das condições de desacetilação da quitina, nomeadamente o tempo de reacção de alquilação, a temperatura e a concentração de agente alquilante. O CTS obtido através da quitina proveniente de crustáceos, pode ter um peso molecular superior a 100.000 Da, o que limita várias aplicações, por isso reduz-se o seu peso molecular através de métodos químicos ou enzimáticos, que permitem baixar o peso molecular do polímero de forma a permitir aplicações comerciais concretas e uma boa actividade biológica. A determinação do peso molecular do CTS pode ser conseguida por vários métodos, principalmente viscosimetria e a cromatografia de exclusão molecular, que são duas técnicas de procedimento relativamente simples e económico, apresentando a vantagem de serem aplicáveis a polímeros naturais e sintéticos.

A sua viscosidade é dependente do peso molecular, visto que pesos moleculares mais elevados de CTS dão origem a soluções mais viscosas, o que não é desejável nem prático para o seu manuseamento ou uso em reacções químicas, devido às limitações impostas à transferência de massa (Badawy et al, 2011; Barbosa et al, 2011).

**Solubilidade e densidade de cargas** - Dependendo da origem da quitina, quando o seu grau de desacetilação é superior a 50%, ela torna-se solúvel em meio aquoso ácido a pH menor que 6, e pode ser chamada de CTS, sendo no entanto insolúvel na maioria dos solventes orgânicos comuns. Por outro lado, o CTS sendo um polissacarídeo catiónico em meio ácido, contém grupos amina livres, sendo por isso solúvel em água. Em meio ácido, estes grupos amina são protonados, a pH abaixo de 5.5 (pKa 6.3-6.4) dá-se a quaternização dos grupos amina, tornando possível a solubilização em água, sendo normalmente usadas concentrações de ácido acético entre 1-3 % (v/v) para a sua solubilização. O perfil de solubilização depende muito da distribuição de grupos acetilados e de grupos amina livres, que quando protonados na forma de  $\text{NH}_3^+$  tornam-se positivamente carregados e fazem as cadeias de polímero

alongar-se devido à repulsão electrostática destes grupos, abrindo espaço para a inclusão de moléculas de água, e tornando o CTS num polielectrólito catiónico solúvel em água (Santos et al, 2003).

Por outro lado, o aumento do pH leva à desprotonação dos grupos amina, o polímero perde as suas cargas, e torna-se insolúvel. Desta forma um factor importante que contribui para facilitar a dissolução deste polímero é o seu grau de desacetilação e consequentemente a densidade de cargas positivas, pois quanto maior este for, mais grupos amina livres existem para serem protonados (Mao et al, 2010). Actualmente, os estudos sobre solubilidade de derivados da quitina centram-se na melhoria da sua solubilidade em água, o que é um factor importante, pois a maioria das aplicações pretendidas para estes materiais requer que estes sejam processáveis e activos a pH neutro. Nesse sentido várias estratégias têm sido propostas, partindo da introdução de grupos hidrofílicos, permitindo reacções de acilação, alquilação, carboximetilação, etc que produzem derivados mais hidrofílicos (Chung et al, 2006; Sreedhar et al, 2007).

**Reactividade química** - O CTS é um polissacarídeo que devido às suas capacidades reactivas permite a formação de numerosos derivados com as mais variadas aplicações. Esta reactividade é conferida pela existência de três sítios reactivos em cada unidade monomérica, dois grupos hidroxilo, e um grupo amina proveniente da desacetilação da quitina (Mahdavinia et al, 2004). Os grupos amina têm o potencial para reacções químicas, desde acetilação, alquilação, quaternização, *grafting* ou formação de quelatos. Os grupos hidroxilo também podem ser reactivos, destacando-se reacções de acetilação, reticulação, carboximetilação, ligações por pontes de H com átomos polares e *grafting* (Bobu et al, 2011). De entre as muitas modificações possíveis documentadas (Mourya e Inamdar, 2008) destacam-se os derivados hidroxialquilados representados na figura 3, que são obtidos através da reacção com grupos epóxido, presentes or exemplo no GMA, cuja estrutura se encontra na figura 2.

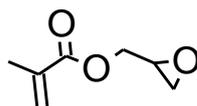


Figura 2 – Estrutura do GMA, onde é visível o grupo epóxido no terminal

Estes derivados podem ser obtidos através de duas vias reaccionais, que em função do solvente e da temperatura determinam que a substituição ocorra

preferencialmente nos grupos hidroxilo ou amina, ou em ambos. A selectividade desta substituição depende ainda do catalisador utilizado (NaOH ou HCl), uma vez que sem a sua presença do ácido, a substituição nos grupos amina é exclusiva. A catálise ácida gera principalmente substituição nos grupos amina mas também parcialmente nos grupos OH (Mourya e Inamdar, 2008).

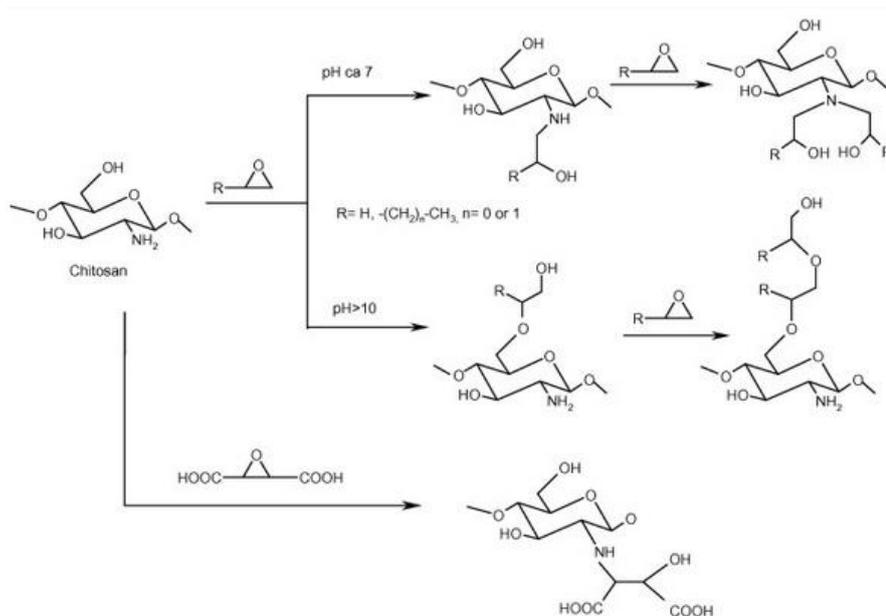


Figura 3 – Reacções do CTS com epóxidos *e.g.* (Mourya et Inamdar, 2008)

O controlo do pH do meio reaccional é por isso determinante para a substituição pretendida neste trabalho, porque se pretende deixar os grupos amina livres de modo a conferir sensibilidade por parte do material ao pH.

O interesse no *grafting* do CTS com GMA em particular, deve-se ao facto de este monómero exibir um grupo vinílico insaturado, e um anel epóxido que apresenta capacidades de entrar numa série de reacções através da clivagem do anel. Este *grafting* deve ser feito a valores de pH entre 3.5-3.8, pois neste intervalo o GMA reage preferencialmente pela abertura do anel epóxido, enquanto que a pH igual a 10.5 o monómero sofre um processo de hidrólise básica e reage por esterificação e abertura do anel (Dodi et al, 2012).

#### 1.4. Líquidos Iónicos

Os líquidos iónicos (ILs) são sais líquidos à temperatura ambiente, apresentando um ponto de fusão geralmente inferior a 100 °C. Quando o seu ponto de fusão é abaixo de 100°C, eles são chamados de RTIL (Room Temperature Ionic Liquids). São categorizados como sais viscosos, devido às fortes interações electrostáticas entre os seus iões, verificando-se que a diminuição do seu ponto de fusão está directamente relacionada com a diminuição da viscosidade (Ohno, 2009). A sua descoberta data do início do século XX, e desde então têm-se multiplicado as possíveis aplicações destes compostos em áreas tão diversas como a electroquímica, química verde, e o uso como solventes em reacções de síntese orgânica, quando os solventes orgânicos comuns não se mostram suficientemente efectivos. Neste caso em particular, o uso de líquidos iónicos em detrimento dos solventes orgânicos comuns para operações de síntese ou extracção apresenta muitas vantagens conferidas pelas propriedades únicas destes compostos.

Eles apresentam uma baixa volatilidade, ajuste de solubilidade, alta condutividade iónica, excelente estabilidade térmica e química, e não são inflamáveis (Ramesh et al, 2011). Apesar da baixa volatilidade, foi demonstrado que alguns ILs, especialmente os que contêm bistriflamide podem ser recuperados por destilação sem sofrerem decomposição, no entanto são necessárias altas temperaturas, em torno de 200-300 °C, e um vácuo elevado (Earle et al, 2006). Os IL são miscíveis numa grande variedade de substâncias, e devido à sua gama de polaridades podem dissolver simultaneamente compostos orgânicos e inorgânicos (Marsh et al, 2004).

Em contraponto com os sais comuns que são tipicamente inorgânicos e formados por halogenetos, um IL é constituído tipicamente por um catião orgânico de baixa simetria (do qual fazem parte elementos específicos tais como azoto, fósforo ou enxofre) carregados positivamente, e um anião orgânico ou inorgânico.

Os ILs apresentam uma versatilidade muito interessante devido ao grande número de combinações possíveis entre anião e catião. A procura de um IL com determinadas propriedades, ou para uma aplicação específica é possível através da manipulação quer do catião quer do anião, e pelo tamanho das cadeias ligadas ao catião (Kubisa, 2009; Zhao et Anderson, 2012). As suas características físico-químicas são governadas pela geometria, natureza, interacção entre o anião e o catião, e pela distribuição de cargas. A interacção dos iões determina também propriedades como o comportamento ácido-base, hidrofobicidade, e miscibilidade em água. Regra geral, o anião controla a miscibilidade

em água, no entanto o catião também poderá ter influência na hidrofobicidade ou na capacidade de estabelecer ligações por pontes de hidrogénio (Huddleston et al, 2001).

O catião apresenta normalmente uma baixa simetria, e os mais comuns usados na síntese de IL são o amónio, sulfónio, imidazólio, fosfónio e piridina. Estudos baseados no catião imidazólio, permitiram concluir que à medida que o tamanho e assimetria do catião aumenta, o seu ponto de fusão diminui, e por outro lado, um aumento na ramificação da cadeia alquílica eleva o ponto de fusão, característica importante que, juntamente com a estabilidade térmica poderão definir a aplicação do IL (Chiappe et Pieraccini, 2005; Keshin et al 2007). A título de exemplo, quando se substitui o catião do cloreto de sódio (ponto de fusão de 801 °C) pelo 1-butil-3-metilimidazol, verifica-se que o ponto de fusão diminui drasticamente para aproximadamente 70 °C. Desta forma, a troca do anião cloreto pelo TFSI origina um RTIL (Yuan et al, 2013).

Por outro lado, ao contrário da densidade e do ponto de fusão, o aumento de tamanho das cadeias alquílicas não significa directamente no aumento da viscosidade (Marsh et al, 2004) uma vez que esta está relacionada com o tipo de catião e de anião, sendo superior à viscosidade dos solventes orgânicos (Cortez, 2012; Chiappe et al Pieraccini, 2005).

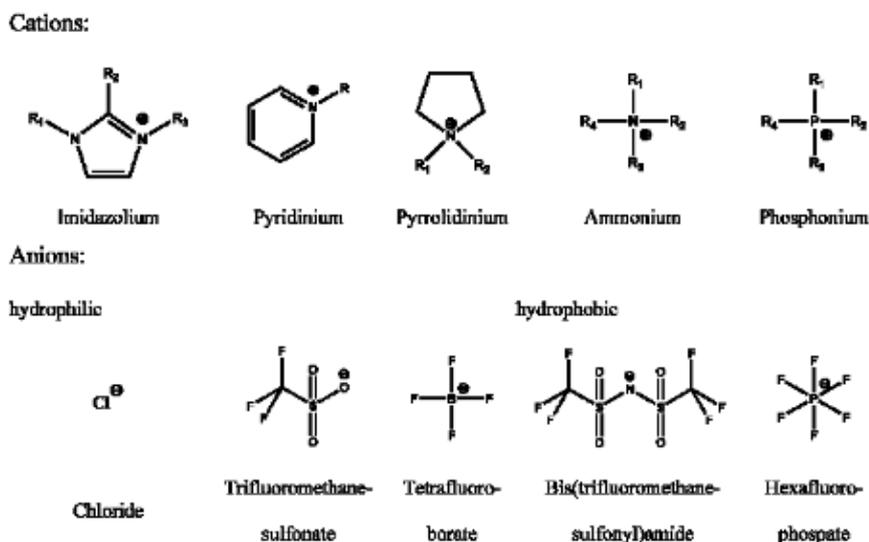


Figura 4 – Exemplos dos catiões e aniões mais comuns (Erdmenger et al, 2010)

Os ILs, actualmente encontram uma variada gama de outras aplicações, que vão desde o desenvolvimento de células de combustível, plastificantes, baterias, sensores e outras aplicações electroquímicas, na ciência de polímeros, ou na dissolução de biomacromoléculas (Monti et al, 2014; Hasanzadeh et al, 2012; Wang et al, 2011; Izawa

et Kadokawa, 2010, Chowdhury et al, 2007). Actualmente verifica-se também um enorme interesse no uso de ILs em biocatálise e catálise química. Foi descoberto que enzimas de diversos tipos podiam manter-se activas em ILs, oferecendo estes ILs a vantagem da maior solubilidade dos substratos comparada com a água, aumento da estabilidade térmica e operacional, em alguns casos aumentando a selectividade, e facilitando o processo de separação de produtos, devido à baixa pressão de vapor (Olivier-Bourbigou et al, 2010; Kragl, 2002).

### **1.5. Líquidos iónicos polimerizados (PILs)**

Na ciência de polímeros, os ILs são usados como solventes para diversos tipos de processos de polimerização, devido à sua excelente estabilidade térmica e baixa volatilidade podendo ser aplicados a processos onde os produtos sejam obtidos a altas temperaturas (Kubisa, 2009) e na imobilização de catalisadores, tornando a sua recuperação mais fácil. No entanto, têm sido exploradas possibilidades de os usar como aditivos a cadeias poliméricas ou materiais híbridos. O número cada vez maior de ILs com catiões ou aniões polimerizáveis tem levado também ao desenvolvimento de polielectrólitos, que apresentam uma elevada densidade de carga e têm aplicações em diversas áreas como os nanocompósitos, superfícies inteligentes, química analítica, biotecnologia ou catálise (Lu et al, 2009; Yuan et Antonietti, 2011).

Líquidos iónicos polimerizados (PILs) são um tipo especial de polielectrólitos, pois os monómeros base para a sua formação (ILs) possuem um estado de ionização independente do pH do meio solvente. Estes compostos carregam um IL em cada uma das suas unidades, ou seja os centros catiónicos e aniónicos estão ligados covalentemente a cadeias poliméricas, ou os próprios líquidos iónicos são os monómeros que vão formar o PIL. O interesse nestes compostos tem aumentado significativamente nas áreas da química de polímeros, devido à combinação das propriedades únicas dos ILs com uma estrutura macromolecular polimérica, mas também pelas novas propriedades e funções. Face aos IL, os PILs por eles formados apresentam propriedades melhoradas, tais como estabilidade mecânica, durabilidade, maior facilidade de processamento, (Yuan e Antonietti, 2011) no entanto a condutividade iónica geralmente baixa consideravelmente com a polimerização, devido à elevação da temperatura de transição vítrea, e à menor mobilidade dos iões depois de ligados covalentemente (Lu et al, 2009; Ohno, 2007).

PILs podem ser sintetizados por duas estratégias: a polimerização directa dos monómeros de IL, ou a modificação química de um polímero já existente.

Cada uma das estratégias apresenta particularidades próprias, tais como abertura de anéis, polimerização vinílica, polimerização convencional e radicalar e muitas mais, que vão por conseguinte definir diferenças estruturais entre PILs. A polimerização de líquidos iónicos, implica que estes monómeros tenham incorporada na sua estrutura uma ou mais unidades polimerizáveis, que poderão estar localizada no catião, no anião, ou mesmo em ambos, como demonstra a figura 5.

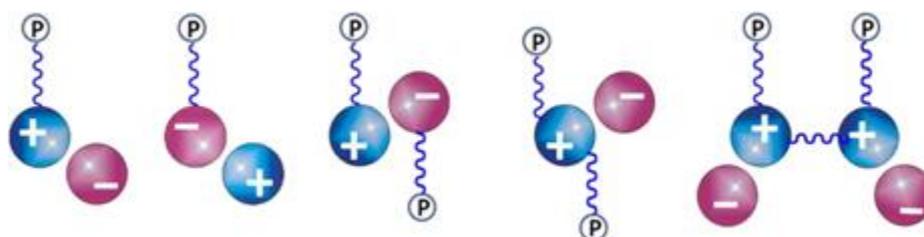


Figura 5 – Monómeros de líquidos iónicos, “P” representa a unidade polimerizável (Yuan e Antonietti, 2011)

Actualmente, a via mais utilizada no preparo de PILs é a polimerização radicalar de monómeros de IL. Em alternativa, a polimerização iónica é altamente sensível a impurezas, e sabendo que os IL são excelentes solventes dos mais variados compostos, a possibilidade de contaminação ou presença de humidade é um factor de risco na aplicação desta técnica (Yuan et Antonietti, 2011).

As aplicações dos PILs, centram-se actualmente na ciência dos materiais (no sentido de desenvolver dispositivos electroquímicos, tais como actuadores, baterias de lítio, células solares ou transístores), e no desenvolvimento de materiais inteligentes. As áreas de aplicação emergente dos PILs, são por exemplo a química analítica, a catálise química, membranas porosas, ou a síntese de polímeros electroactivos (Mecerreyes, 2011).

## Objectivo deste trabalho

A primeira associação entre polielectrólitos e ILs foi reportada pela primeira vez em 1999 (Noda et Watanabe, 2000) e desde essa altura têm-se desenvolvido sucessivos estudos para expandir estes sistemas ao uso de líquidos iónicos mais estáveis (Kowsari, 2011). Mais recentemente os ILs têm sido ligados covalentemente a polímeros e substratos orgânicos, levando a alterações na condutividade iónica e mobilidade de cargas dos filmes ou membranas produzidos (Lu et al, 2009). Novas aplicações dos ILs covalentemente ligados a biopolímeros incluem uma nova classe de materiais com capacidade de estímulo-resposta, encontrando aplicações por exemplo na captação de compostos com carga, através de interacções de natureza electrostática.

O objectivo desta tese, foi a preparação e caracterização de filmes de um polielectrólito catiónico derivado do CTS, ao qual foi incorporado um IL, o *1-Allyl-3-methylimidazolium chloride*, ligado covalentemente, e em diferentes proporções mássicas. Pretendeu-se avaliar desta forma se a contribuição para o aumento da densidade de cargas positivas promovido pelo catião imidazólio, influencia a capacidade de captação de compostos com carga negativa. Para isso foram realizados testes de sorção usando como composto modelo um fármaco de carga negativa, o ácido acetilsalicílico. Tal como foi referido, o CTS apresenta grupos amina protonados em meio ácido o que o torna candidato a material com características adsorptivas, e as suas vantagens e desvantagens como material adsorptivo encontram-se na tabela 1.

Tabela 1 – Vantagens e desvantagens do CTS na sua utilização como bio-adsorvente.

Vantagens	Desvantagens
Polímero hidrofílico de baixo custo	Variabilidade de características dos polímeros
Deriva de fontes renováveis	Adsorvente não poroso
Polissacarídeo catiónico (em meio ácido)	Não efectivo para compostos catiónicos (excepto depois de modificado)
Bioadsorvente versátil	Sensível ao pH
Cinética de sorção rápida	Requer modificação para melhoria de propriedades

No entanto esta capacidade está limitada a meios ácidos, pois em pH neutro e básico os grupos amina estão desprotonados, limitando a capacidade de captar compostos de carga negativa. A solução encontrada foi uma modificação na sua estrutura através da ligação covalente de um IL, conferindo ao polímero modificado uma carga positiva permanente e independente do estado de ionização do CTS.

Pretende-se com a ligação covalente entre ambos evitar a lixiviação do IL, característica em meio aquoso, e com esse objectivo é necessário modificar as cadeias de CTS com um grupo funcional que contenha uma ligação vinílica, por onde se dará o *grafting* do IL através de uma reacção de polimerização radicalar simples. Foi escolhido o GMA para essa modificação, pois a abertura do seu anel epóxido dá-se a valores de pH na qual o CTS é solúvel, permitindo a reacção pretendida.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1. Materiais

Todos os materiais foram usados tal como foram recebidos, sem nenhuma etapa prévia de purificação. O CTS, hidróxido de potássio (>85%), persulfato de potássio; o glicidil metacrilato estabilizado com hidroquinona (97%), cloreto de sódio (99,5%), o ácido acetilsalicílico (>99%) e o etilenoglicol dimetacrilato foram fornecidos pela Sigma-Aldrich, Portugal; o ácido clorídrico (36,5-38%), e ácido acético glacial (99,7%) pela Panreac, Espanha; o acetonitrilo (99,9%) e hidróxido de sódio (>98%) pela Carlo Erba, Itália; o tetrahydrofurano (99%) pela Scharlau, Espanha; o AIBN pela Acros Organics, Bélgica e o 1-Allyl-3-methylimidazolium chloride (>98%) pela Io-li-tec, Alemanha.

### 2.2. Grafting do CTS com GMA

Nesta primeira etapa pretende-se o *grafting* das cadeias de CTS com GMA de acordo com o mecanismo da figura 6.

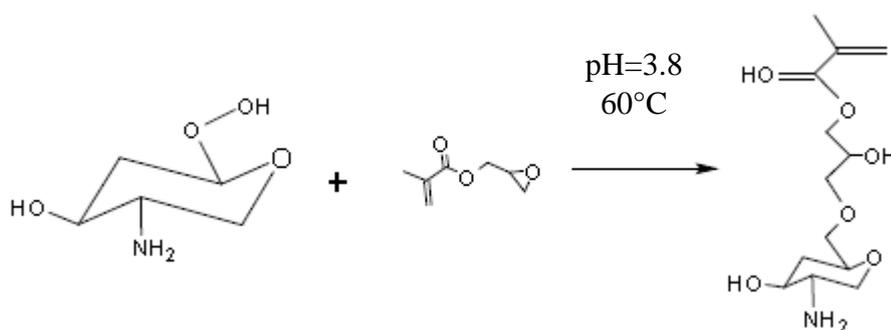


Figura 6 – Esquema reaccional do *grafting* do CTS com GMA para obter CTSM

O objectivo desta modificação é dotar as unidades estruturais do CTS com uma ligação vinílica terminal que possa gerar radicais reactivos. O CTS (MW = 145 000 g/mol) numa concentração de 1% w/v, foi dissolvido em água Mili-Q contendo 3% (v/v) de ácido acético glacial e deixado em agitação durante pelo menos quatro dias para total solubilização.

O ajuste do pH foi feito através da adição de solução de base KOH (0.5 M) previamente preparada. O volume de base adicionado foi determinado empiricamente para elevar o pH até cerca de 3.8, o valor indicado pela literatura (Bostan et al, 2013)

O controlo periódico com um medidor permitiu concluir que a evolução do pH é lenta, e que a solução funciona como um tampão, principalmente devido ao efeito da viscosidade na transferência de massa, que limita a dispersão dos grupos OH<sup>-</sup> e ao facto do CTS ser já por si um polímero de natureza altamente catiónica em meio ácido.

Esta solução de coloração amarelada e fortemente viscosa, é sujeita à acção de ultra-sons (Elma, modelo S30H) durante 10 minutos para desgaseificação, e de seguida inserida num banho de gelo durante cerca de 30 minutos, sendo nesse período sujeita a uma atmosfera de azoto.

O volume estequiométrico de GMA de 1.978 mL arrefecido em gelo, (MW=142.15 g/mol) é então lentamente adicionado sob agitação mecânica com pás (Heidolph, modelo RZR-1, nível de agitação 10) à solução previamente arrefecida. Com a introdução do reactor num banho de óleo térmico a 60 °C, em refluxo, vigorosa agitação e sob uma atmosfera de azoto, deu-se início à reacção, ocorrendo durante 4 horas. A mais notória mudança visível no decorrer da reacção foi a alteração da coloração da solução, que passou a ter um aspecto leitoso; não se verificou nenhuma alteração na viscosidade da solução ao fim do tempo reaccional. A paragem da reacção foi feita através da introdução do reactor num banho de gelo durante cerca de 30 minutos. O produto (CTSM) foi então precipitado em acetonitrilo numa proporção de 1:7, operação realizada lentamente recorrendo a uma bomba peristáltica (Gilson, modelo Minipuls 3) debitando um caudal constante e sob forte agitação magnética (800 rpm), sendo depois filtrado em papel de filtro e lavado, mergulhando o precipitado em dois volumes de THF de 30 mL durante cerca de 20 minutos cada com leve agitação magnética (100 rpm).

Para evitar a reticulação do CTSM devido a reacções paralelas e à posterior dificuldade em o solubilizar, voltou a dissolver-se de imediato o produto numa solução de água acidificada 3% v/v de ácido acético glacial semelhante à original onde ele se encontrava. Após 24 horas e com o produto totalmente solubilizado, verifica-se a retoma do aspecto leitoso da solução. Procede-se então a uma nova etapa de precipitação usando a mesma proporção de acetonitrilo da primeira etapa.

O precipitado revelou-se impossível de separar através de simples filtração, por isso é usada a centrifugação (HERMLE, modelo Z366) em tubos de Falcon, onde o produto é obtido no fundo dos tubos com uma coloração esbranquiçada. Este produto é depois lavado com pequenos volumes de THF e água até que se obtenha um aspecto de gel. Esta operação é necessária para remover o possível homopolímero poli(GMA) que

se tenha formado no decurso da reacção. Esta operação de lavagem deve ser acompanhada de filtração a vácuo, para remover o máximo de THF e água possível, tornando a operação de secagem o mais rápida possível.

De seguida recorrendo ao uso de azoto líquido congelaram-se as amostras de produto e colocaram-se no liofilizador dentro de um banho de gelo durante três dias. Após a operação de liofilização, o CTSM é obtido totalmente seco, de coloração branca e com um formato irregular. O material foi guardado num contentor com sílica à temperatura ambiente, para minimizar a absorção de água.

Amostras deste material são posteriormente recolhidas para análises FTIR, ou dissolvidas em água deuterada e acidificada com ácido acético para a realização da análise  $^1\text{H-NMR}$ , para comprovar a ocorrência de modificação da estrutura molecular do CTS.

Um factor importante a tomar em consideração quando se pretendem obter derivados de CTS, é a viscosidade do meio reaccional, que está dependente da concentração, e do CTS utilizado. Inicialmente pretendia-se utilizar uma solução de CTS de concentração 2% w/v, no entanto verificou-se que a viscosidade adquirida por essa solução afectava negativamente a transferência de massa, e logo a dispersão e homogeneização dos reagentes. É fundamental por isso a optimização deste parâmetro e a utilização de uma agitação adequada no decorrer da reacção, e assim baixou-se a concentração da solução de CTS para metade e passou a utilizar-se um reactor com agitação de pás.

### **2.3. *Grafting* do CTSM com IL**

Foram preparados filmes com 2 quantidades diferentes de IL e em cada caso com e sem agente reticulante. Num balão de reacção são colocados 0,2 g de CTSM e 20 mL de uma solução de água acidificada com ácido acético (5% v/v), deixando a mistura em leve agitação magnética sem temperatura até se verificar a total solubilização da fase sólida. A sequência de passos na reacção de *grafting* segue uma ordem de adição de reagentes, onde em primeiro lugar deverá ser adicionado o iniciador KPS para a criação de radicais livres, e em segundo lugar o IL. No caso dos ensaios com agente reticulante etilenoglicol dimetacrilato, este será o último reagente a ser adicionado. Este procedimento é repetido para cada síntese realizada, e o IL adicionado em diferentes percentagens mássicas, 30 e 60% em relação à massa de CTSM.

A quantidade de iniciador a adicionar, deverá ser de 0.5% (mol) relativamente ao número de moles de IL. O iniciador sendo um pó, deverá ser solubilizado e adicionado em forma de solução, para facilitar a sua dispersão pelo meio reaccional, e com esse objectivo foi previamente preparada uma solução de concentração 0.05 M.

O IL, devido à sua hidrofiliçidade dissolve-se facilmente, e é adicionado directamente no meio reaccional. O agente reticulante, numa proporção de 1% molar em relação ao número de moles de IL, foi adicionado sob a forma de uma solução com o mesmo objectivo de facilitar a sua mistura no meio reaccional. Para isso prepara-se previamente uma solução de concentração 0.05 M. O esquema reaccional desta modificação encontra-se ilustrado na figura 7.

Cada reacção desta série de ensaios experimentais decorre durante 2 h, sob atmosfera de azoto, leve agitação magnética (400 rpm) e a 70 °C, a temperatura de activação do iniciador. Findo este período de tempo, o volume reaccional é transferido para uma caixa de Petri, posto sob acção de ultra-sons e por último colocado numa estufa com recirculação a 55 °C para permitir a continuidade da reacção e ao mesmo tempo a evaporação dos solventes, visando também a formação de um filme.

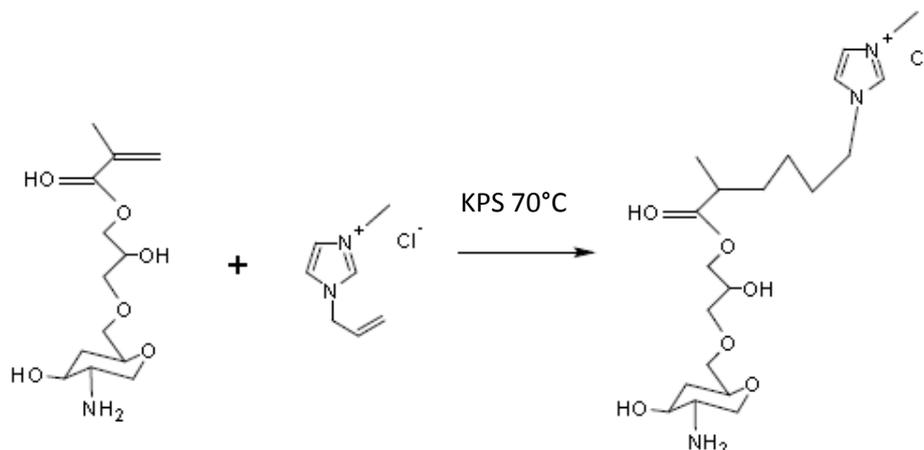


Figura 7 – *Grafting* do CTSM com IL

#### 2.4. Preparação dos filmes

Todos os filmes foram preparados recorrendo à técnica convencional de evaporação do solvente. Os filmes de CTSM carregados com IL, foram colocados em caixas de Petri e postas numa estufa com recirculação a 55°C, até que o solvente evapore totalmente. É importante levar estas soluções ao ultra-sons a cada duas horas, para remover o oxigénio dissolvido e as bolhas de ar presentes, para que se obtenham no final filmes com uma superfície lisa e sem bolhas. Filmes de CTS puro e modificado

(CSTM) foram também obtidos para comparação, pela dissolução (1% w/v) do pó numa solução aquosa de ácido acético (2% v/v), e deixados em agitação durante quatro dias para uma solubilização total. Os filmes foram secos tal como descrito anteriormente.

## **2.5. Lavagem e neutralização dos filmes**

A lavagem e neutralização dos filmes obtidos após evaporação do solvente é essencial para a remoção de ácido acético residual, e visa desprotonar os grupos amina, conferindo uma natureza próxima do neutro às cadeias poliméricas. Este processo é essencial porque pretende-se que os polímeros sejam capazes de produzir uma resposta perante variações no pH do meio em que estão inseridos, e para isso os grupos amina devem recuperar a capacidade de serem novamente protonados.

Assim, numa primeira fase mergulha-se cada filme numa solução básica de NaOH 2% (w/v) em etanol 80% (v/v) durante cerca de 20 minutos sob leve agitação (100 rpm), e posteriormente numa solução de Etanol 80% (v/v) igualmente durante 20 minutos com leve agitação (He et al, 2011). Este processo foi realizado duas vezes consecutivas, e quando concluído os filmes foram lavados com água Mili-Q, secos e guardados à temperatura ambiente, em sílica.

## **2.6. Síntese do Poli([Amim]Cl) (PIL)**

A síntese do PIL teve como objectivo verificar a hipótese da polimerização do IL, no momento do *grafting* deste com o CTSM, pois o catião *1-Allyl-3-methylimidazolium* apresenta uma ligação vinílica reactiva.

A síntese do PIL foi realizada de acordo com um procedimento já descrito na literatura (Marcilla et al, 2004): 31,04 mg de AIBN (1%), um iniciador térmico com temperatura de activação de 60 °C, são colocadas num balão de fundo redondo contendo 30 mL de etanol em refluxo a 70 °C, agitação magnética (400 rpm) e sob atmosfera de azoto. Este processo visa a decomposição do iniciador através da sua clivagem homolítica, formando radicais livres. Posteriormente, 3g de IL [Amim]Cl, correspondendo a 0,0189 mol, são colocados no balão, dando-se início à reacção que ocorreu durante 8h:30 min. O volume reaccional final foi evaporado para a remoção do etanol, e deixado em vácuo parcial durante 24 h a uma temperatura de 37 °C, obtendo-se no final uma massa de 2,96 gramas, que correspondente a um rendimento de 98,67%. De seguida foram feitas análises FTIR-ATR e <sup>1</sup>H-NMR para caracterizar o material e comprovar a polimerização do IL.

## 2.7. Ensaios de caracterização

### 2.7.1. FTIR-ATR-KBr

A análise espectrofotométrica foi realizada em modo de reflexão com uma resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  e a 128 scans, entre os  $500$  e os  $4000\text{ cm}^{-1}$  (Jasco FT/IR-4200, Japão) de modo a identificar os grupos funcionais característicos de cada composto, assim como as possíveis interações entre eles, para comprovar a modificação da estrutura do CTS. Cada amostra foi sujeita a uma análise em duplicata à temperatura ambiente. Uma única análise de CTSM foi feita em modo KBr de modo a obter informação mais detalhada sobre as alterações à estrutura química do CTS após modificação.

### 2.7.2. $^1\text{H-NMR}$

Os espectros de cada composto utilizado nas sínteses foram obtidos num espectrofotómetro Bruker Avance III 400 MHz, com uma sonda de detecção TIX 5-mm de ressonância tripla, usando  $\text{D}_2\text{O}$  como solvente, com um mínimo de ácido acético para tornar a amostra solúvel e a  $70^\circ\text{ C}$ , para haver separação de picos. Na análise dos espectros usou-se o software MestReNova v6.0.2-5475.

### 2.7.3. *Swelling* em meio aquoso

Amostras com cerca de  $1\text{ cm}^2$  de filme neutralizadas são pesadas e colocadas em caixas de poços e guardadas em sílica durante 24 h para garantir a remoção total da humidade. Após uma pesagem final, cada filme é mergulhado em soluções aquosas de diferente pH (4, 7, 10), e diferente força iónica, usando  $\text{HCl}$  ( $1 \times 10^{-4}\text{ M}$ ), água Mili-Q,  $\text{NaOH}$  e  $\text{NaCl}$  ( $0.1\text{ M}$ ) no preparo de cada solução. O pH de cada solução foi confirmado com um medidor de pH (Standard pH Meter, MeterLab). Cada ensaio de *swelling* foi realizado numa estufa própria à temperatura de  $25^\circ\text{ C}$ , e as pesagens feitas periodicamente a cada uma hora, até perfazer 8 h. Outras medidas foram tiradas mais tarde para confirmar tendências no perfil de *swelling* de cada amostra, que foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$ws (\%) = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (1)$$

onde  $m_0$  representa a massa do filme no momento da sua imersão, e  $m_t$  a massa no momento t. Os valores apresentados nos resultados tratam-se da média dos ensaios em triplicata para cada tipo de filme, sendo também determinado o desvio padrão para cada conjunto de valores.

#### 2.7.4. Caracterização térmica – TGA e DSC

A análise termogravimétrica (TGA) foi realizada num equipamento modelo TGA-Q500 (TA Instruments), com um programa de aquecimento desde a temperatura ambiente até aos 600 °C, a uma taxa de 10 °C/min e uma atmosfera de azoto. Por sua vez, as análises DSC foram realizadas num equipamento modelo DSC-Q100 (TA Instruments), com as amostras seladas em cápsulas de alumínio e sujeitas a um programa de aquecimento a uma taxa de 10°C/min, desde a temperatura ambiente até aos 100°C para eliminar a história térmica da amostra. De seguida realiza-se um aquecimento à mesma taxa, desde -80 até 200 °C, a um fluxo de azoto constante de 50 mL/min. Antes da encapsulação, as amostras foram colocadas num recipiente com sílica e à temperatura ambiente para controlo da humidade, assegurando assim a reprodutibilidade da análise, que deve ser feita em duplicata.

#### 2.7.5. Sorção de ácido acetilsalicílico (ASA)

Os testes à capacidade de sorção de ASA dos filmes foram realizados num espectrofotómetro (modelo Jasco V-650), monitorando a absorvância máxima, situada a 297 nm. Estes ensaios foram realizados nos mesmos meios do *swelling*.

A variação de concentração ao longo do tempo foi calculada com base em rectas de calibração para cada meio utilizado. A equação da recta obtida para cada meio encontra-se na Tabela 2 e os pontos experimentais medidos encontram-se em anexo.

Tabela 2 – Coeficiente de correlação e rectas de calibração para cada meio

Meio	R <sup>2</sup>	Recta de ajuste
pH 4	0,9999	Abs = 13,583 [ASA]
pH 10	0,9997	Abs = 16,575 [ASA]
NaCl (0.1 M)	0,9998	Abs = 18,659 [ASA]
Mili-Q	0,9989	Abs = 18,910 [ASA]

Amostras de filmes de CTS puro e modificado, e modificado com 30% e 60% de IL com e sem reticulação, foram previamente secas em sílica, e imersas num volume de solução de ASA de 13,25 mL de concentração 0,05 mg/mL a 37°C. Os frascos foram postos em agitação (100 rpm) e manutenção de temperatura no *termoshaker*

(Gerhardt). Durante as primeiras duas horas da operação, a absorvância de cada solução foi medida a cada 30 minutos, e posteriormente a cada hora.

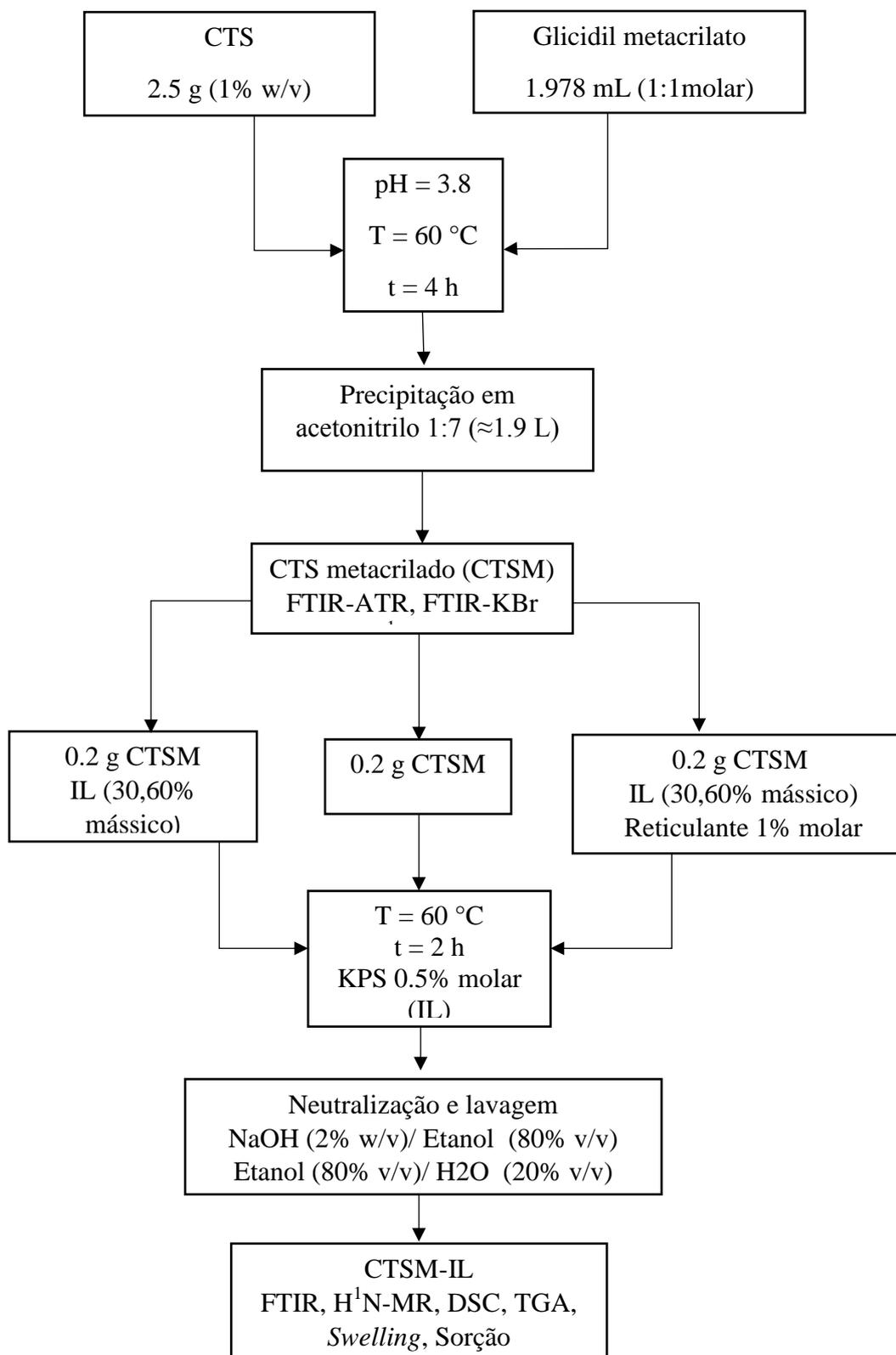


Figura 8 – Esquema representativo do procedimento experimental realizado.

### 3. Resultados e Discussão

#### 3.1. Grau de deacetilação do CTS

Através da análise do espectro de  $^1\text{H-NMR}$  da figura 9 foi possível determinar o grau de deacetilação do CTS usado. O cálculo efetuado teve por base a identificação e integração dos picos referentes aos prótons  $\text{H}^1$  das unidades acetiladas e deacetiladas, e determinado pela equação seguinte (Lavertu et al, 2003):

$$DDA(\%) = \left( \frac{H1D}{H1D+H1A} \right) \times 100 = \left( \frac{347263}{347263+68933} \right) \times 100 \approx 84\%$$

O resultado obtido foi de 84%, o que está de acordo com a gama apresentada pelo fabricante.

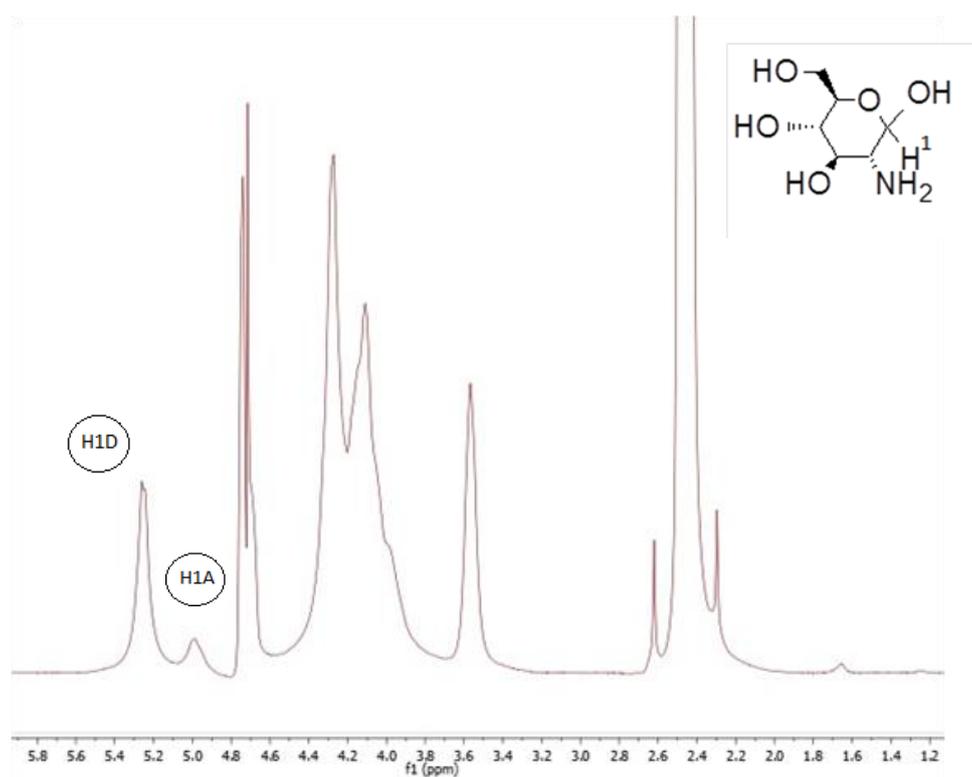


Figura 9 – Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do CTS e localização do próton utilizado no cálculo do grau de deacetilação

#### 3.2. Modificação do CTS em CTSM (metacrilização do CTS com GMA)

A confirmação da metacrilização do CTS está evidenciada no espectro da figura 10 com o aparecimento de dois picos localizados nos desvios químicos 6.01 ppm e 6.41 ppm, que são atribuídos aos átomos de hidrogênio pertencentes à ligação vinílica (Bostan et al, 2013). Os picos verificados entre os 2 ppm e os 2.5 ppm são atribuídos ao

grupo metil do GMA (Dodi et al, 2012). Devido ao facto de as análises terem sido realizadas a 70 °C, os picos dos espectros obtidos apresentam um ligeiro desfasamento em relação aos resultados da literatura, mas permitem igualmente confirmar o *grafting* das unidades monoméricas de CTS.

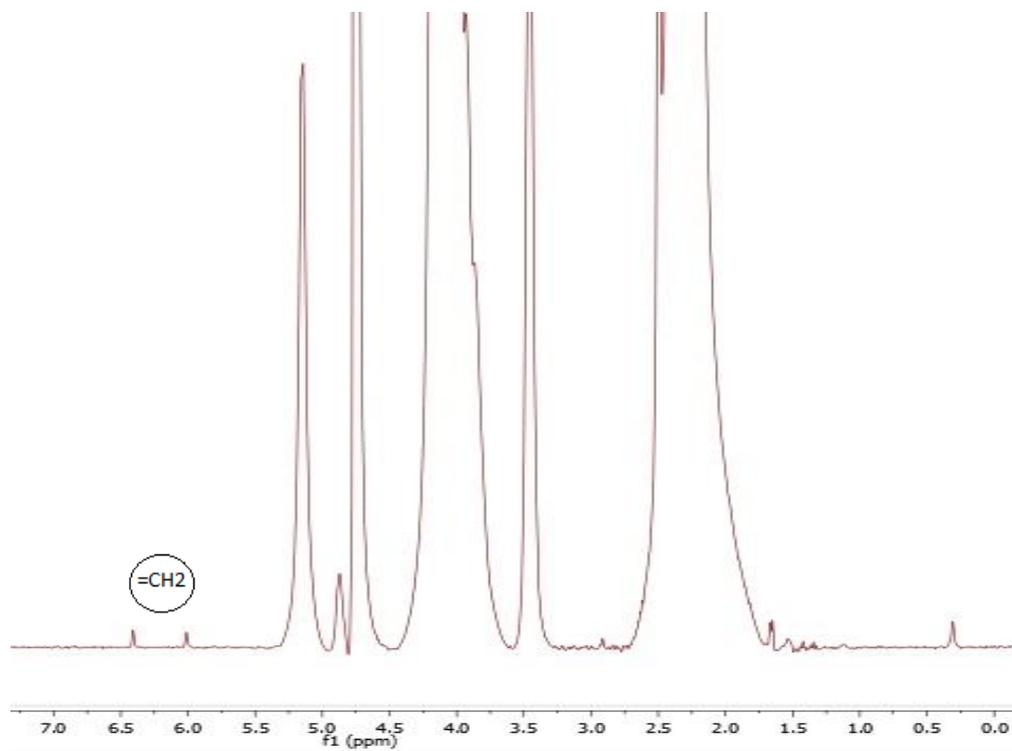


Figura 10 – Espectro <sup>1</sup>H-NMR do CTSM

Esta análise não permitiu contudo determinar o grau de substituição, ou se esta ocorreu preferencialmente nos grupos amina ou hidroxilo. Na primeira parte da síntese pretende-se o *grafting* na estrutura do CTS com o GMA, e que tal fixação ocorra preferencialmente pelos grupos hidroxilo pelos motivos já citados. Para que tal aconteça, a reação deve dar-se em meio ácido, pois desta forma a solubilização é promovida pela protonação dos grupos amina (NH<sub>3</sub><sup>+</sup>), e também porque para valores de pH de 3.5 o GMA reage preferencialmente pelo anel epóxido. Em meio básico, com o pH à volta de 10.5, este monómero sofre um processo de hidrólise e reage com as matrizes poliméricas através de mecanismo de esterificação e abertura do anel epóxido (Dodi et al, 2012).

A análise de FTIR permite identificar os picos característicos do CTS e do GMA, e ainda que não seja quantitativa permite avaliar modificações à estrutura molecular do primeiro aquando da sua funcionalização com o GMA.

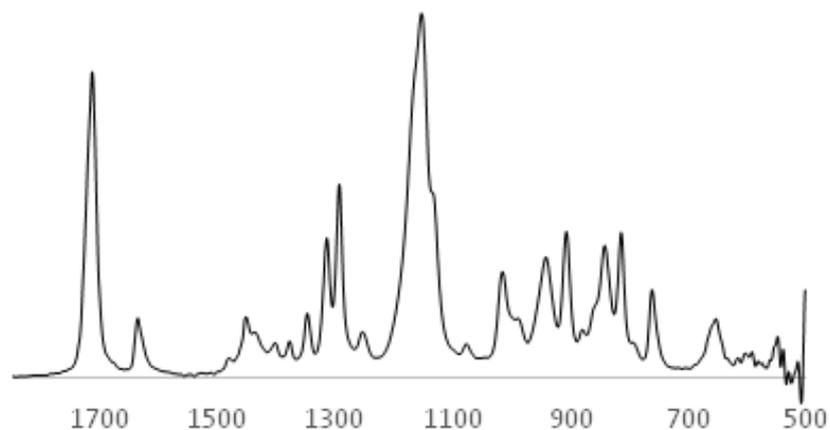


Figura 11 – FTIR-ATR do GMA

As bandas características do GMA são as relativas aos modos vibracionais das ligações C=O, -CH<sub>2</sub>-, CH<sub>3</sub>- , C=C, e do grupo epóxido no terminal da molécula. O pico relativo ao *stretching* das ligações C=O localiza-se nos 1715 cm<sup>-1</sup>, a presença do grupo C=C verifica-se pelo pico localizado nos 1637 cm<sup>-1</sup>. As bandas relativas às vibrações de alongamento das ligações -CH<sub>2</sub>- e -CH<sub>3</sub>- estão evidenciadas nos 1453 e 1378 cm<sup>-1</sup> respectivamente, e por fim os sinais característicos da vibração do anel epóxido são os picos localizados nos 1255, 907 e 1255 cm<sup>-1</sup> (Dodi, et al, 2012).

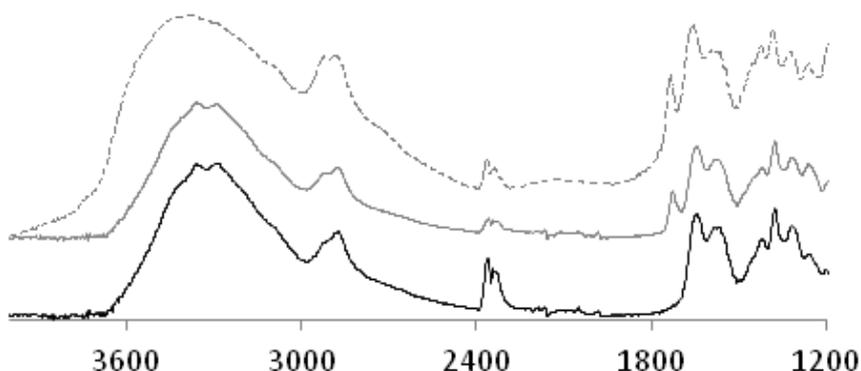


Figura 12 – Espectro FTIR-ATR para o filme de CTS (preto) e CTSM (cinza-cheio). O espectro FTIR- KBr do CTSM foi também medido para comparação (cinza-tracejado)

O CTS também apresenta bandas de absorção características, desde logo a extensa banda localizada entre os 3000 e 3500 cm<sup>-1</sup>, que é atribuída ao estiramento axial das ligações O-H, a qual está sobreposta à banda do estiramento N-H, sendo estas bandas de absorção características de polissacarídeos (Dias et al, 2011). As bandas localizadas nos 1636 cm<sup>-1</sup> e 1325 cm<sup>-1</sup> são atribuídas à deformação axial da ligação C=O, e

características das unidades acetiladas (Bobu et al, 2011). O pico verificado nos 1536  $\text{cm}^{-1}$  representa o *overlapping* das bandas relativas à deformação angular N-H e ao estiramento da ligação C-N da amida (Santos et al, 2003). A banda que aparece a 1404  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à vibração das ligações C-H e O-H, e por fim as bandas verificadas a 1152, 1060, 1017, e 895  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à vibração das ligações C-O-C (Silva et al, 2008). O *grafting* do CTS com GMA permite a introdução deste nas cadeias lineares do polímero através da ruptura do anel epóxido e a ligação com o grupo hidroxilo, daí que seja de esperar o aparecimento de novas bandas relativas aos grupos funcionais do GMA, ou a atenuação ou desaparecimento de outras bandas características. As análises FTIR-ATR não permitiram confirmar totalmente a ocorrência da modificação, deste modo, a análise FTIR ao CTSM foi feita também em modo KBr, pois esta última permite uma análise mais precisa da amostra, contribuindo para uma melhor identificação das ligações intermoleculares presentes.

O sinal mais evidente da substituição verificado pela análise do seu espectro é o aparecimento da ligação C=O do GMA nos 1732  $\text{cm}^{-1}$ . A ligação C=C do GMA absorve na região dos 1650  $\text{cm}^{-1}$  com uma intensidade média, no entanto o seu pico está sobreposto com a banda relativa à ligação C=O das unidades acetiladas do CTS, que absorve igualmente nesse número de onda.

### 3.3. Grafting do CTSM com IL

A análise feita dos espectros  $^1\text{H-NMR}$  dos filmes de CTS modificado com IL apresentados na figura 13 permitem concluir que em ambos os casos se verifica o desaparecimento dos picos relativos à ligação vinílica do GMA anteriormente registada, o que sugere que ocorreu uma ligação covalente entre o IL e a ligação dupla do CTSM.

O espectro apresentado na parte inferior da figura 13, representa uma ampliação da região onde se encontrariam os picos referentes às ligações vinílicas caso a reacção não tivesse sucesso. O aumento de escala foi importante para confirmar que eles não estão presentes em nenhuma das situações. Não se verifica a presença dos picos característicos do IL, nomeadamente os situados no grupo alil do catião imidazólio, o que poderá ser um indicativo de que o *grafting* ocorreu de facto pelas ligações vinílicas dos grupos alil.

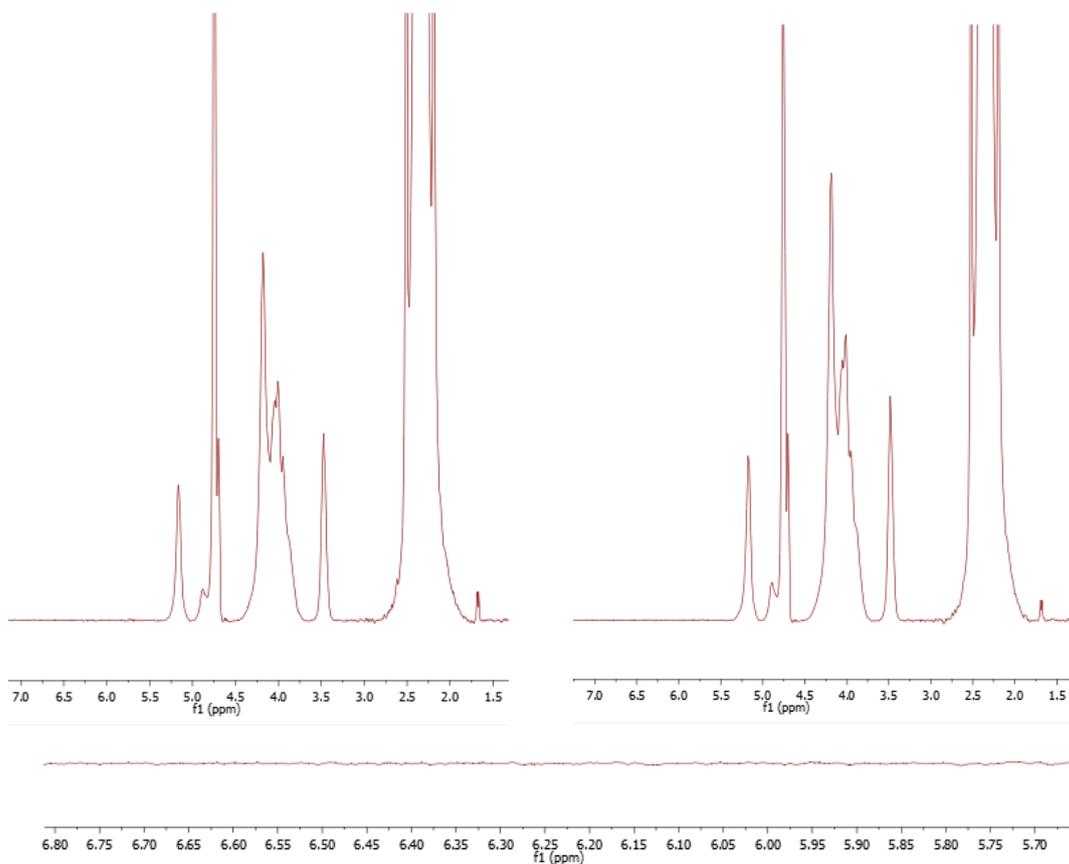


Figura 13 - Espectro <sup>1</sup>H-NMR do CTSM-30%IL (esquerda) e CTSM-60%IL (direita)

Relativamente ao espectro de RMN do IL puro representado na figura 14, os três grupos de picos posicionados nos desvios químicos entre 4.75-5, 5.5-5.75 e 6.25-6.5 são correspondentes aos prótons posicionados do grupo alil nas posições 1, 2 e 3 respectivamente. O pico verificado entre 4-4.25 é atribuído ao próton do grupo metilo (Qiang et al, 2003).

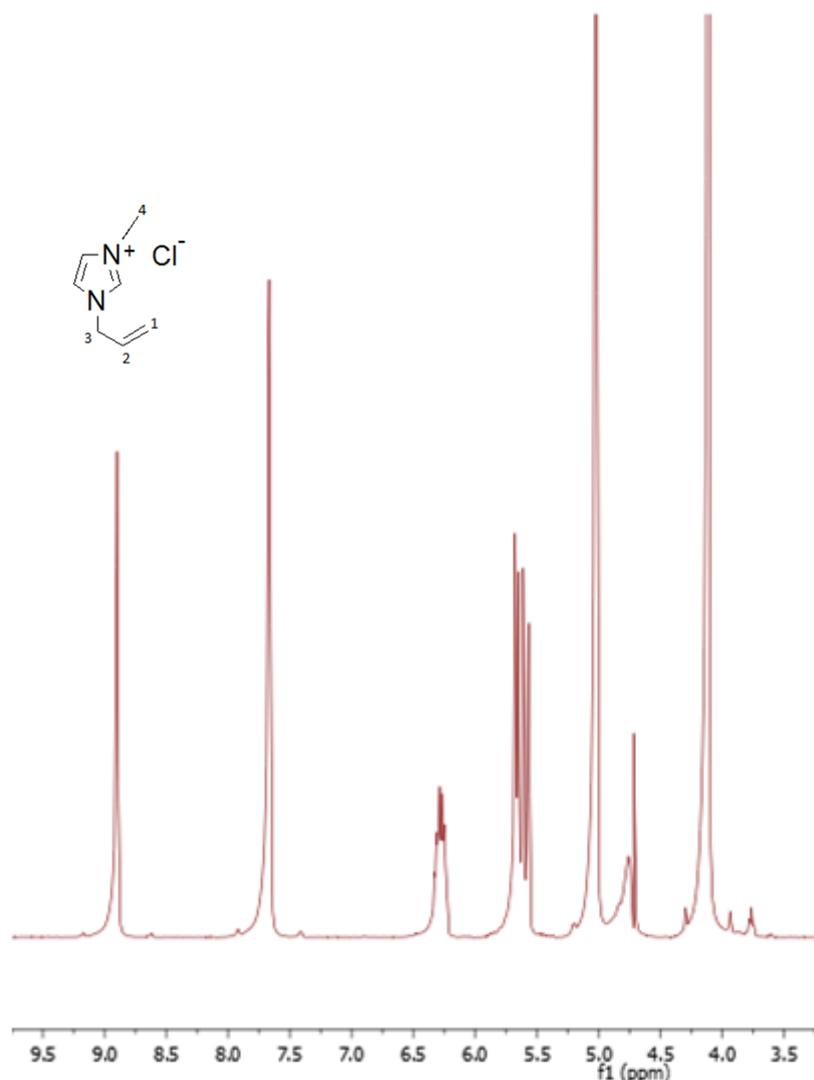


Figura 14 - Espectro  $^1\text{H-NMR}$  do IL [Amim]Cl

Foi também tentado comprovar o *grafting* do CTSM com IL por análise FTIR-ATR. No espectro do IL ilustrado na figura 15, a banda entre os  $3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  atribui-se à vibração de alongamento anti simétrico das ligações C=NH, entre os  $3100$  e  $3000\text{ cm}^{-1}$  verifica-se a absorção devida ao alongamento anti simétrico C=C-H; às bandas cujos picos são  $2856$  e  $2962\text{ cm}^{-1}$  está atribuído o alongamento das ligações C-H; o pico situado nos  $1645\text{ cm}^{-1}$  atribui-se à vibração de alongação da ligação dupla C=C do grupo alil. A ligação vinílica =CH<sub>2</sub> no terminal do grupo alil confirma-se pelo pico localizado nos  $996\text{ cm}^{-1}$ , e é devido à sua vibração de superfície; ao ânion Cl<sup>-</sup>, está atribuído o pico situado nos  $761\text{ cm}^{-1}$  e é devido à vibração do átomo, e por fim o conjunto de picos situado entre os  $1000$  e os  $1380\text{ cm}^{-1}$  fica atribuído à vibração de alongamento das ligações C-N do anel (Li et al, 2013).

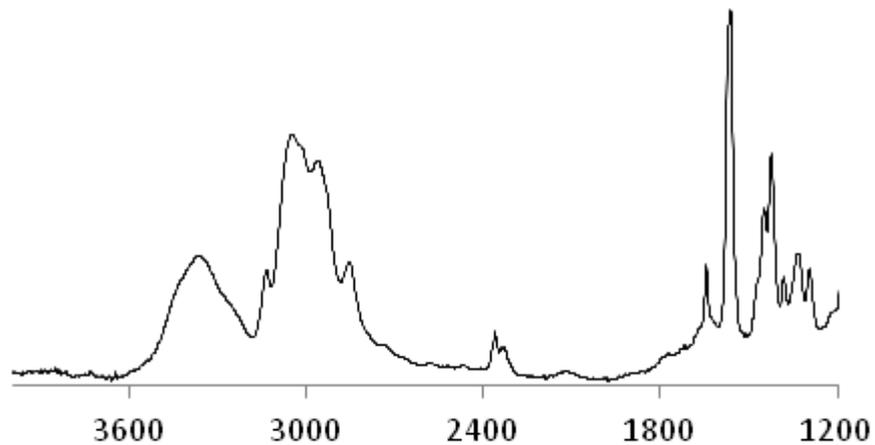


Figura 15 - FTIR-ATR do [Amim]Cl

O *grafting* do CTSM com IL, mesmo com o aumento da quantidade relativa de IL de 30 para 60% não provoca nenhuma mudança perceptível por esta técnica, tal como evidenciam os espectros apresentados na figura 16. Seria de esperar uma atenuação ou eliminação das ligações C=C nos filmes com IL, no entanto o *overlapping* das bandas relativas à deformação axial da ligação C=O características das unidades acetiladas do CTS, que coexistem na mesma gama de absorção das ligações C=C, não permitem verificar essa alteração.

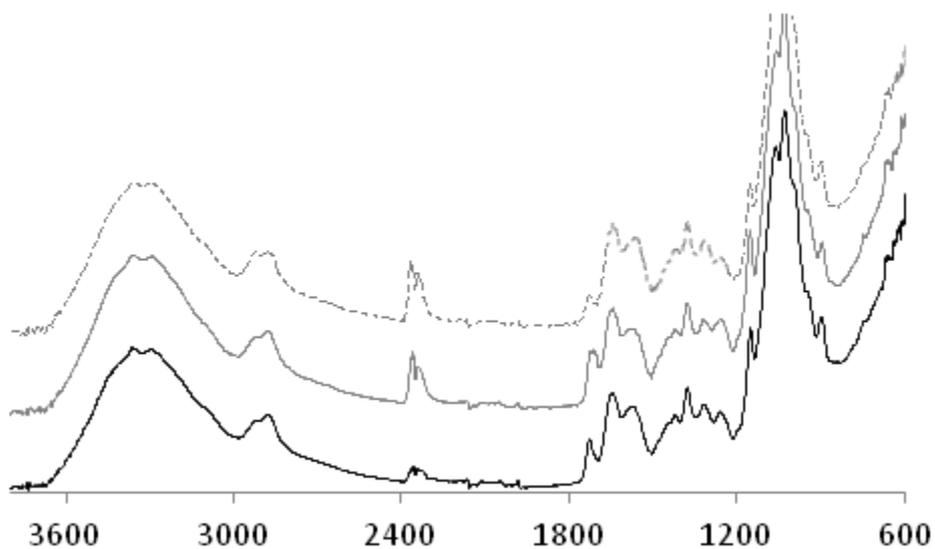


Figura 16 - FTIR-ATR dos filmes de CTSM (preto), CTSM-30%IL (cinza-cheio), CTSM-60%IL (cinza-tracejado)

### 3.4 Análise Térmica

Apesar de não ser esperado que os materiais desenvolvidos sejam sujeitos a temperaturas elevadas durante a sua aplicação, os seus perfis térmicos foram analisados sob o ponto de vista académico para conhecer o efeito das modificações efectuadas e particularmente o efeito da incorporação do IL nas propriedades termofísicas dos filmes. Deste modo, os perfis termo-gravimétricos foram medidos para o IL puro, para o CTS e CTSM e para os filmes modificados com IL nas diferentes proporções mássicas, com e sem reticulante.

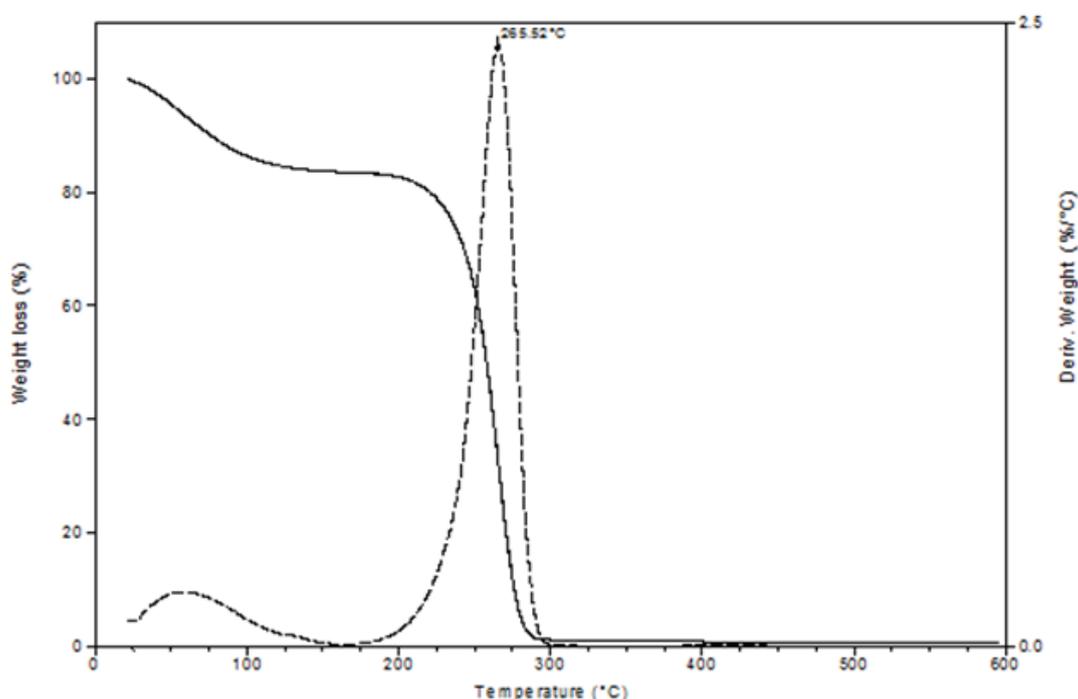


Figura 17 – Perfil termo-gravimétrico do IL (linha a cheio) e primeira derivada do perfil (linha a tracejado)

De acordo com a análise do seu termograma (Figura 17), a decomposição do IL começa a uma temperatura aproximadamente igual a 185 °C. A perda de massa inferior aos 185 °C, foi de aproximadamente 17% do total, e atribui-se à evaporação de água retida no IL (os ILs com anião cloreto são geralmente bastante hidrofílicos).

A partir da 1ª derivada do termograma (curva a tracejado), foi determinada a temperatura de decomposição máxima ( $T_d$ ) do IL, que corresponde à temperatura a que se verifica a taxa máxima da perda de massa, e que é igual a  $265,9 \pm 0,54$  °C. Esta temperatura é inferior à reportada na literatura,  $T_d$  de  $285 \pm 1$  °C para um teor de humidade semelhante de cerca de 20% (Li, et al, 2013).

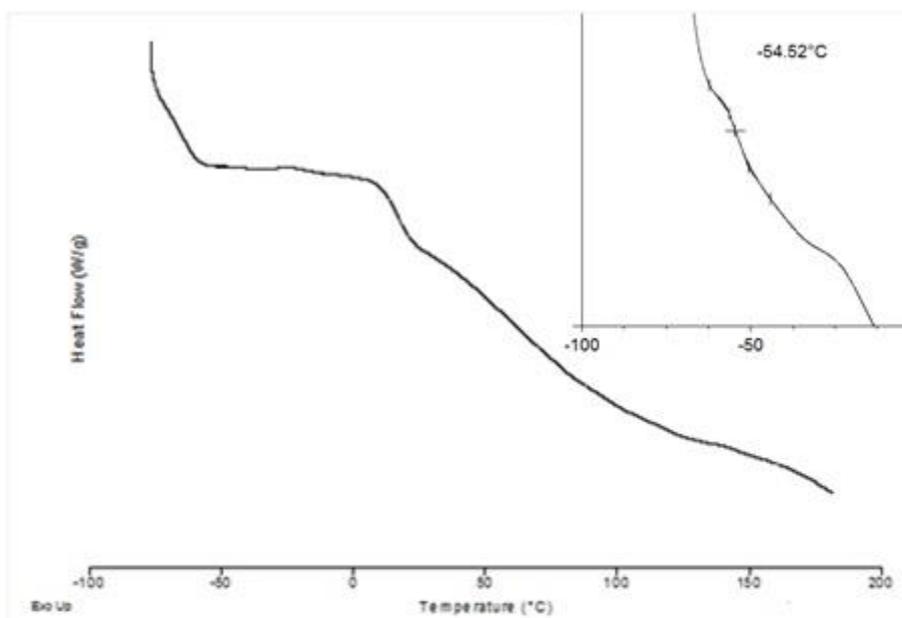


Figura 18 – DSC do IL puro

A partir da análise de DSC ao IL, (Figura 18) detectou-se a existência de uma temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) verificada nos  $-54.52\text{ }^\circ\text{C}$ , semelhante ao valor reportado na literatura (Kreyenschulte et al, 2012). O aumento de escala nessa região permite comprovar isso, verificando-se a inflexão característica. Esta  $T_g$  é devida a um arranjo à escala molecular que origina uma transição entre o estado sólido e o sólido amorfo. A baixa temperatura de transição vítrea é uma das características dos electrólitos, (Mirkhani et al, 2012), e caracteriza-se por uma mudança perceptível nas propriedades termodinâmicas secundárias, tais como capacidade calorífica e expansividade térmica, que normalmente acompanham a solidificação de um líquido viscoso durante o seu arrefecimento (ou por vezes compressão) (Gharagheizi et al, 2012).

Um trabalho realizado no âmbito da decomposição térmica de IL, sugere dois possíveis mecanismos para a degradação do IL estudado e quais os subprodutos daí resultantes tal como indicado na Figura 19. De acordo com os autores, a degradação do [Amim]Cl quando sujeito a pirólise pode ocorrer por duas vias, a primeira levando à formação de cloreto de alilo e de metilimidazólio, e uma segunda pela formação de cloreto de metilo e de alilimidazólio (Hao et al; 2010).

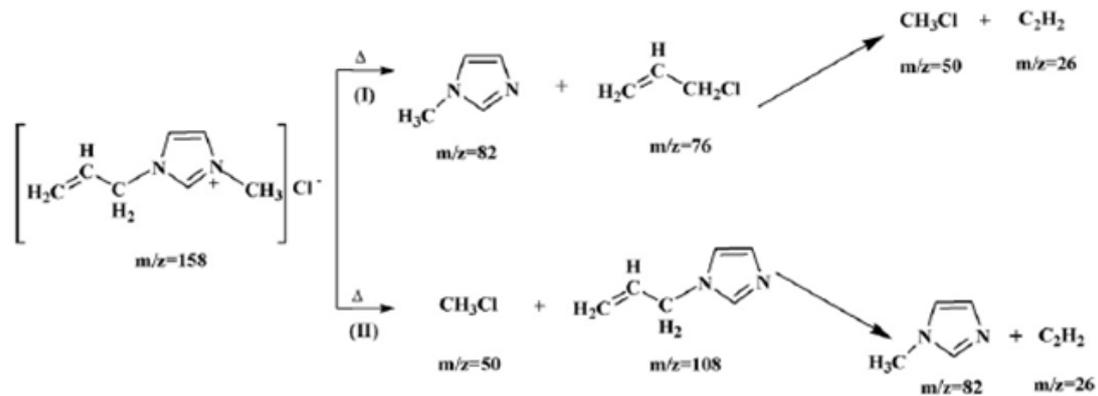


Figura 19 – Vias de decomposição do [Amim]Cl

O termograma do filme de CTS (Figura 20), exibe dois estágios de perda de massa, onde o primeiro origina uma diminuição na massa até aos 130 °C, e é relativo à evaporação da água retida na matriz. O segundo, é relativo à decomposição das matrizes polisacáridicas do CTS, que se inicia a partir dos 200 °C até aos 400°C e onde se verifica uma perda de 44% da massa.

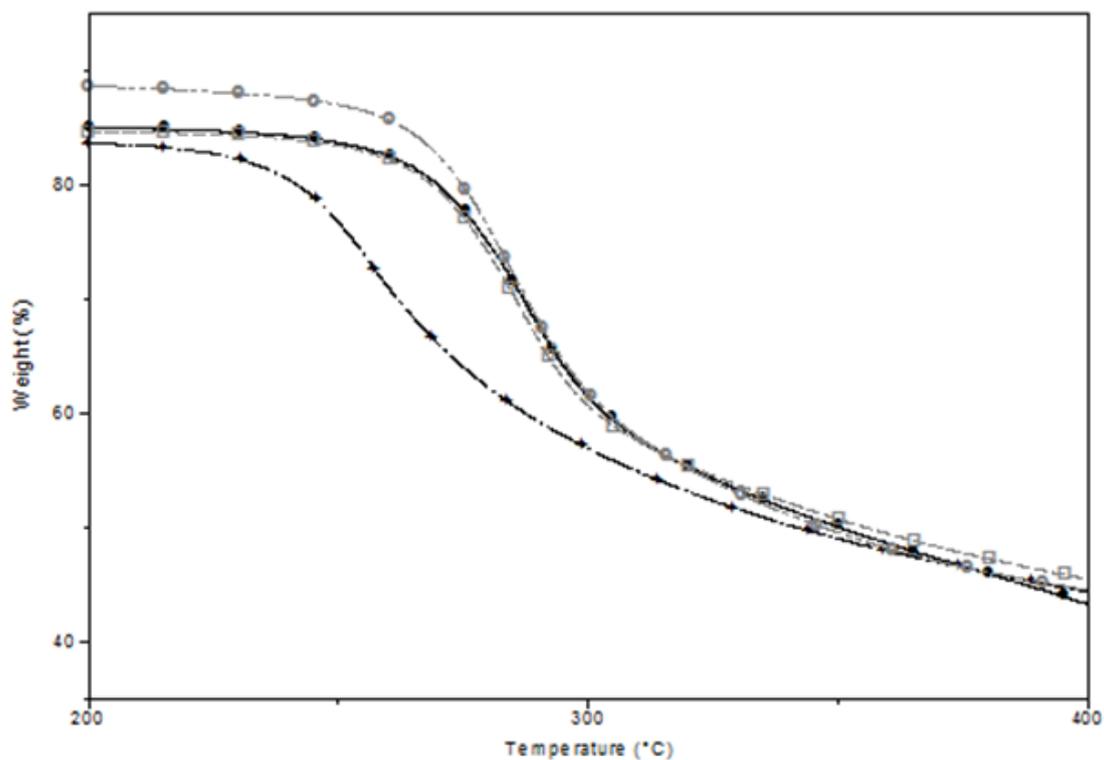


Figura 20 – Termogramas do CTS (○), CTSM (+), CTSM-30%IL (●), CTSM-60%IL (□)

A sua temperatura de degradação máxima é de 285 °C, determinada pelo máximo da 1ª derivada do termograma. A decomposição do CTS dá-se pela despolimerização das cadeias poliméricas, acompanhada pela decomposição dos anéis de piranose por desidratação e deaminação, e finalmente a abertura do anel (Zawadzki et al, 2010). Estes resultados estão de acordo com os obtidos na literatura, cujos valores de  $T_d$  estão na gama de 276-296 °C (Zawadzki et al, 2010; Arora et al, 2011). Estas diferenças, devem-se ao facto de que, por ser um polímero natural, algumas propriedades do CTS como cristalinidade, peso molecular e grau de deacetilação podem variar dependendo do método de síntese, e isso irá influenciar a  $T_d$  (Jayakumar et al, 2013).

Relativamente ao CTSM, verifica-se que a modificação origina um material com características termofísicas distintas do CTS, e como se pode observar pelo seu termograma (figura 20) esta modificação origina um polímero menos estável termicamente que o CTS. O CTSM inicia a sua decomposição a uma temperatura inferior, com uma temperatura de decomposição máxima que decresce para os 257 °C. É possível observar três fases distintas de perda de massa, a primeira devida à evaporação de água residual, a segunda atribuída à desfragmentação parcial do *grafting* do GMA, e a terceira relativa à degradação do CTSM (Elizalde-Peña et al, 2013).

Relativamente aos filmes com IL, foram obtidos termogramas semelhantes ao do CTS, com temperaturas máximas de decomposição muito semelhantes na ordem dos 280-290°C, e onde se verifica que a inclusão do IL originou um aumento de estabilidade térmica nos filmes relativamente ao CTSM. O efeito do agente reticulante não se fez notar, já que os termogramas e as temperaturas de decomposição máximas são muito semelhantes em relação aos filmes sem reticulante. Um resumo dos resultados pode ser consultado na tabela 3. Verificou-se ainda que as amostras em estudo tinham diferentes teores de água, o que pode ser uma medida comparativa da hidrofiliabilidade dos filmes. No caso, uma maior quantidade relativa IL confere uma maior hidrofiliabilidade em relação ao CTS original mas menor em relação ao CSTM.

Os resultados obtidos a partir da análise de DSC para os filmes de CTS, CTSM com e sem IL e com e sem reticulante estão apresentados nas Figuras 21 e 22 e na Tabela 3. A análise pretende identificar possíveis alterações de estrutura ocorridas durante os processos de *grafting*, tanto a metacilação do CTS, como o *grafting* com o IL, assim como variações na interação dos filmes com moléculas de água e portanto com a hidrofiliabilidade dos novos filmes. Diferenças na área e posição do pico endotérmico observado indicam que os filmes possuem diferentes capacidades de

retenção e interação com a água (Kittur et al, 2002). O cálculo das entalpias de vaporização permitiu perceber a força dessa interação comparativamente ao CTS, pois quanto maior for o seu valor, mais fortemente ligadas estão as moléculas de água, sendo necessária mais energia para as remover.

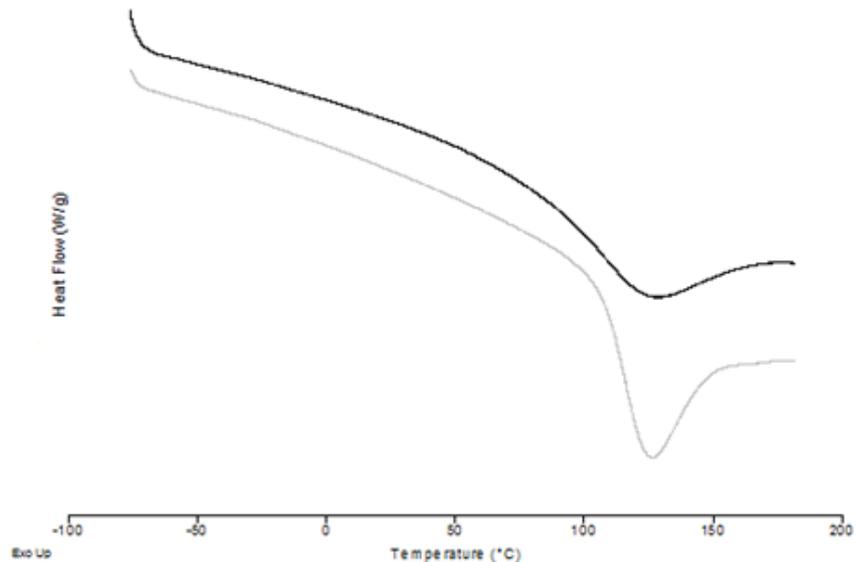


Figura 21 – DSC dos filmes de CTS (preto) e do CTSM (cinza)

No caso de CTS o pico endotérmico verificado nos 125 °C, é devido ao processo de dissociação das ligações por pontes de hidrogénio da estrutura do CTS, processo esse diretamente relacionado com a evaporação de água presente no material (Yang et al, 2004). É sabido que os polissacarídeos têm forte afinidade para a água e possuem estruturas desordenadas que podem ser facilmente hidratadas (Kittur et al, 2002).

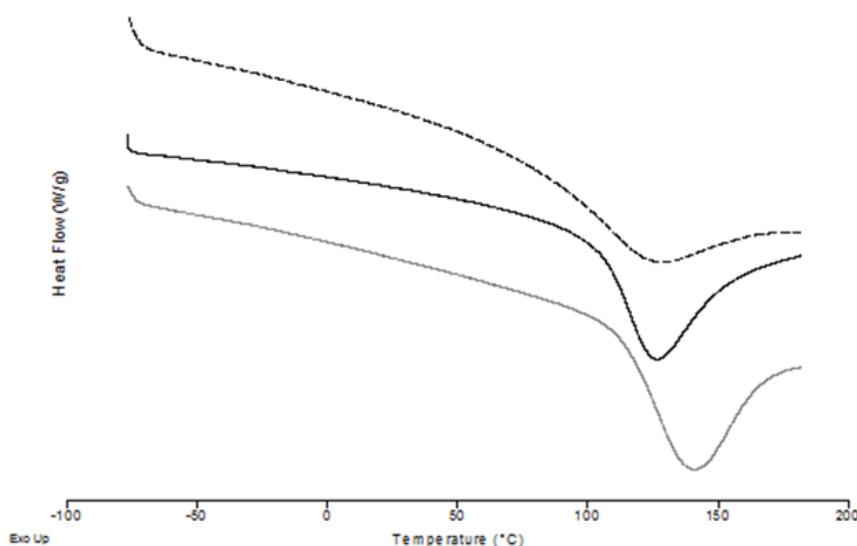


Figura 22 – DSC do CTS (tracejado), CTSM-30%IL (preto) e CTSM-60%IL (cinza)

Uma análise ao termograma dos filmes modificados com IL (Figura 22) permite verificar que a presença do IL covalentemente ligado às matrizes poliméricas do CTSM, origina uma diferente capacidade de retenção e ligação com a água, e forças de interação água-polímero de magnitude diferente, pois a sua temperatura de evaporação é superior, sendo necessária mais energia para as remover, como mostram os valores de entalpia de vaporização apresentados na tabela 3.

Um dos sistemas soluto-solvente mais estudados que envolvem ILs, é a interação entre a água e ILs com catião imidazólio, que tem sido largamente estudada tendo-se verificado que as moléculas de água interagem preferencialmente com ILs através de ligações por pontes de hidrogénio (López-Pastor et al, 2006; Gonfa et al, 2011). Tal observação está de acordo com os resultados obtidos com o *grafting* do IL nos filmes de CTSM, onde se verifica uma interação crescente com a água com o aumento da quantidade relativa de IL adicionada, possivelmente relacionada com o aumento do número de ligações por pontes de hidrogénio.

Tabela 3 – Influência da quantidade de IL e efeito da reticulação nas propriedades térmicas dos filmes preparados

	$T_d$ (°C)	(%) H <sub>2</sub> O a 180 °C	$T_{\text{evap/água}}$	$\Delta H$ (J/g)
<i>IL</i>	265,9	16,6	-	-
<i>CTS</i>	285,0	10,5	125,3	57,9
<i>CTSM</i> %IL(m/m)				
0	256,5	9,0	125,2	123,0
30	288,4	8,7	126,2	136,3
30 <i>Retic</i>	290,6	11,8	132,9	123,3
60	286,6	15,2	139,7	152,4
60 <i>Retic</i>	282,7	12,9	130,4	136,0

### 3.5 Swelling em meio aquoso

Hidrogéis são materiais compostos por uma rede polimérica tridimensional onde estão presentes grupos hidrofílicos, preenchida nos seus espaços vazios com moléculas de água. Estes materiais têm uma aparência sólida, e são formados por um ou mais componentes, sendo um deles uma fase líquida presente em grande quantidade. São materiais capazes de absorver e manter uma massa de água (ou outro fluido biológico) muitas vezes superior à sua massa quando secos, sendo também polímeros inteligentes, pois respondem reversivelmente a alterações físico-químicas no ambiente onde estão inseridos. Podem ser classificados como neutros ou iónicos, de acordo com a natureza dos seus grupos monoméricos, ou dos grupos adicionados à matriz original no caso de um polímero obtido por *grafting* (Brannon-Peppas et Peppas, 1991).

As propriedades de *swelling* e posterior desidratação de um hidrogel, dependem da natureza do polímero, da sua hidrofiliçidade, da compatibilidade entre este e o solvente, e do grau de reticulação. O CTS e os seus derivados sintetizados no decorrer deste trabalho, são hidrogéis de natureza catiónica, e a sua cinética depende das limitações à transferência de massa, da interacção iónica, e da troca iónica entre as espécies presentes (Pieróg et al, 2009; Martínez-Ruvalcaba et al, 2009).

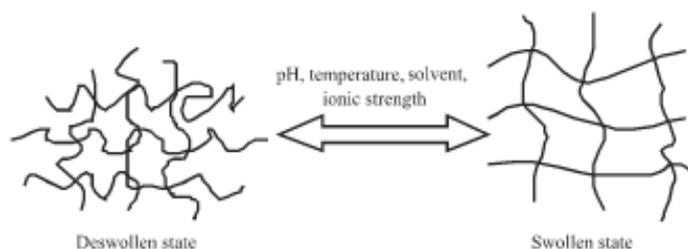


Figura 23 – Representação esquemática do *swelling* e desidratação de um hidrogel

O *swelling* de um hidrogel pode ser afectado por vários estímulos em simultâneo, desde forças mecânicas, pH, concentração salina, temperatura, luz e campo eléctrico, embora no contexto deste trabalho apenas tenham sido considerados os efeitos do pH e da concentração salina. Esta sensibilidade ao pH, é conferida pela presença nas suas matrizes poliméricas de grupos ácidos ou básicos, que quando ionizados criam uma pressão osmótica entre o interior do hidrogel e o meio solvente, resultando numa repulsão electrostática que faz com que moléculas de água entrem na matriz do hidrogel para promover o equilíbrio de cargas (Martínez-Ruvalcaba et al, 2009; Marcombe et al, 2010).

A expansão do polímero/hidrogel, deve-se à difusão entrópica dos constituintes das suas cadeias e dos seus contra-íões, e é contraposta pelas forças elásticas entre as cadeias de polímero e as forças atractivas inter-cadeia. Do ponto de vista termodinâmico, o sistema polímero-solvente tende a atingir um mínimo da energia livre de Gibbs de mistura, que é a *driving force* global do processo (Izák et al, 2007).

### 3.5.1. Efeito da variação do pH nos filmes de CTS e CTSM

Antes de iniciar a análise dos resultados, é importante identificar quais as espécies iónicas envolvidas, e a importância da distribuição de cargas responsável pelo *swelling*. O CTS, com um valor de pKa igual a 6,3 (Spinks et al, 2006) tem na sua estrutura grupos  $\text{NH}_2$ , que em meio ácido de pH abaixo de 6,3 se encontram protonados na forma de iões  $\text{NH}_3^+$ , aumentando a densidade de cargas. A repulsão electrostática entre os grupos  $\text{NH}_3^+ - \text{NH}_3^+$  é responsável pelo aumento da pressão osmótica dentro do polímero, logo isto fará com que moléculas de água provenientes da solução externa entrem na matriz polimérica, que é também a causa da dissolução do polímero em meio ácido (Pourjavadi et al, 2006; Berger et al, 2004).

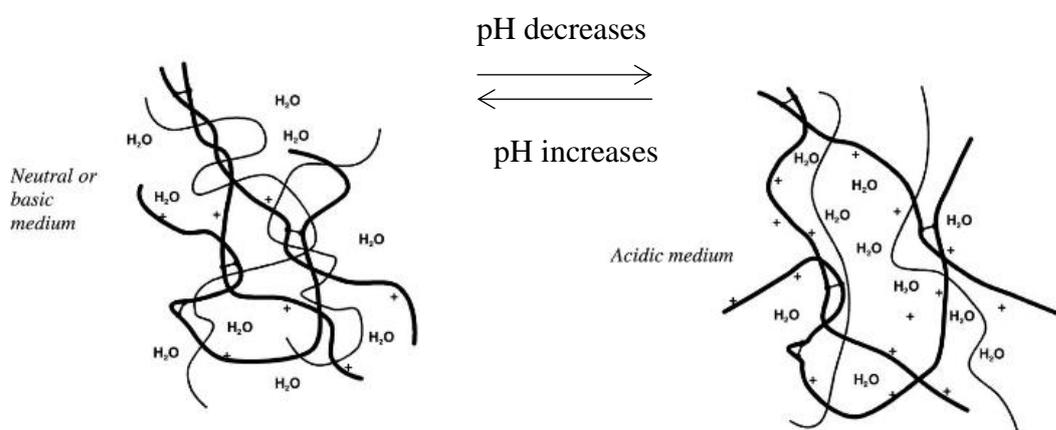


Figura 24 – Efeito do pH em hidrogéis

Para valores de pH acima do pKa, a espécie responsável pelo controlo do *swelling* são os grupos  $\text{NH}_2$ . O aumento do pH, conduz inevitavelmente a uma mudança na força iónica do CTS, já que os contra-íões associados às unidades ionizadas são libertados da matriz polimérica devido à fraca atracção electrostática, logo a perda de carga vem directamente da matriz polimérica ( $\text{NH}_3^+ \rightarrow \text{NH}_2$ ). A diminuição da repulsão electrostática conduz à menor difusão de moléculas de água para o hidrogel, diminuindo o seu *swelling* (Spinks et al, 2006).

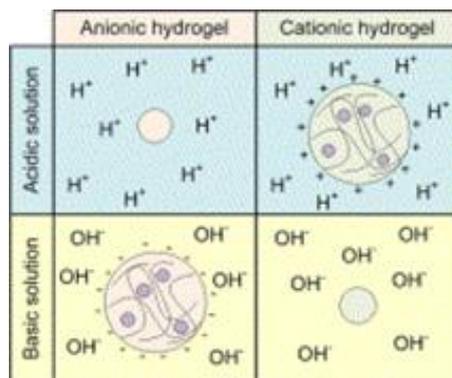


Figura 25 – Dependência do *swelling* de um hidrogel em relação ao meio onde está inserido (Gupta et al, 2002).

Foi incluído no estudo o *swelling* dos filmes de CTS em meio salino, com o objectivo de determinar a influência da concentração de espécies iónicas diferentes no meio exterior ao hidrogel, usando uma solução de NaCl de concentração 0.1M. A presença deste sal, e a sua dissociação em iões  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  conduzem ao aumento da força iónica do meio, o que leva teoricamente a uma diminuição na pressão osmótica entre o hidrogel e o meio exterior. Esta diminuição será responsável pela diminuição da capacidade de *swelling*, pois a difusão de moléculas de água para a matriz polimérica será igualmente diminuída (Islam et al, 2012).

### 3.5.2. Efeito da variação do pH nos filmes de CTSM com IL

A ligação covalente entre o IL, e a matriz polimérica altera o número e a concentração de cargas em relação ao sistema anterior. O polímero passa a exibir cargas fixas nas suas cadeias provenientes do catião imidazólio, levando a um aumento da pressão osmótica entre as cadeias de polímero e o meio exterior. O objectivo neste ponto será o de estudar o efeito destas cargas na capacidade de *swelling* em diferentes meios e fazer uma análise comparativa relativamente aos materiais anteriores.

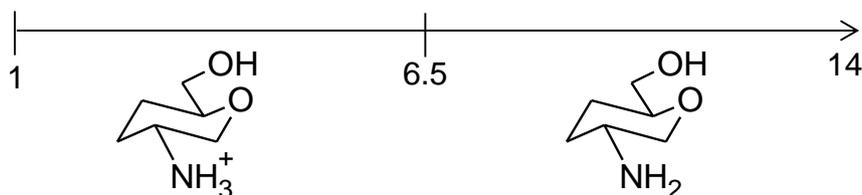


Figura 26 – Constante de dissociação, pKa do CTS.

Todos os filmes foram neutralizados com uma solução de NaOH em etanol após secagem e evaporação do solvente, e lavados com água Milli-Q. Este processo visa

remover os resíduos de ácido acético e desprotonar os grupos amina. O ácido acético pode induzir ele próprio um certo gradiente osmótico que promova o *swelling*, cujo resultado é um *overshoot* inicial. Este fenómeno não se verificou nos perfis, sugerindo que a neutralização foi eficaz. No entanto, os resultados obtidos revelam pouca variância entre si na capacidade de *swelling* dos filmes nos diferentes meios. Hipoteticamente pode considerar-se que a neutralização promoveu um rearranjo nas matrizes poliméricas devido à remoção do ácido acético e à diminuição do volume livre à volta das cadeias. Isto significa que houve um aumento na reticulação intrínseca dos materiais devido à menor repulsão electrostática. A neutralização reduziu a solubilidade dos materiais em água, e a sua capacidade de adsorver moléculas de água devido desprotonação dos grupos amina. Contudo, é um processo necessário à preparação dos filmes, pois retarda a sua hidrólise, o que é fundamental tendo em conta a aplicação pretendida para os materiais.

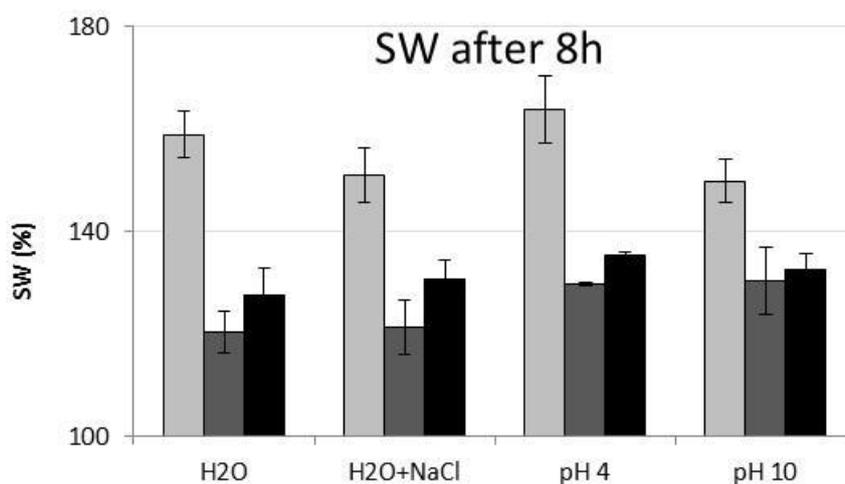


Figura 27 – *Swelling* do CTS (preto), CTSM-30%IL (cinza escuro) e CTSM-60%IL (cinza claro) nos diferentes meios.

A figura 27 resume os resultados do *swelling* para os filmes de CTS puro e modificados com IL. Tal como comentado anteriormente não há diferenças significativas entre o *swelling* do CTS medido nos diferentes meios porque o efeito da neutralização na reticulação dos filmes foi muito forte. De qualquer forma verifica-se um ligeiro aumento a pH 4 devido às repulsões electrostáticas entre grupos  $\text{NH}_3^+$  já referidas. Em relação ao CTS modificado com IL, verifica-se que os filmes de CTSM-60%IL têm uma capacidade de *swelling* superior aos restantes em qualquer dos meios devido às repulsões entre os grupos imidazólio carregados positivamente, independentemente do pH do meio. A diferença observada entre os pH 4 e 10 deve-se ao facto de que a pH 4 os

grupos amina do CTS também contribuem para o *swelling* enquanto que a pH 10 apenas as cargas fixas responsáveis pela formação do gradiente osmótico são somente os grupos imidazólio do IL. Em meio salino seria de esperar uma diminuição no *swelling*, pois ocorre a desprotonação dos grupos amina, e a dissociação do NaCl aumenta a força iónica do meio, logo a diferença na pressão osmótica é diminuída, reduzindo a entrada de água e a capacidade de *swelling* (Pourjavadi et al, 2006). Esta tendência verifica-se igualmente nos resultados, principalmente no caso dos filmes CTSM-60%IL. Relativamente ao CTSM-30%IL, os valores de *swelling* são menores que os do CTSM-60%IL em qualquer um dos meios pelos motivos já citados. Os mecanismos são semelhantes, mas neste caso a quantidade de IL na matriz é menor, logo os gradientes osmóticos gerados pelo catião imidazólio serão também inferiores. Estes filmes em meio ácido experimentaram um certo grau de dissociação, pois a protonação dos grupos amina transformou os filmes em polielectrólitos catiónicos solúveis em água (Dash et al, 2011).

### **3.5.3. Efeito da reticulação no *swelling* dos filmes**

A reticulação de um hidrogel tem como objectivo evitar a dissolução das cadeias hidrofílicas do polímero em meio aquoso (entre outros efeitos), e a densidade desta reticulação depende da eficiência de incorporação do agente reticulante nas matrizes poliméricas (Mahdavinia et al, 2004).

Há a considerar que a hidrofobicidade/hidrofilicidade de um polímero reticulado depende da reticulação de toda a cadeia, incluindo do agente reticulante, e neste caso o reticulante utilizado, o EGDMA é hidrofóbico (Tsai et Wang, 2009; Kafouris et al, 2009), logo à partida seria de esperar uma diminuição lógica no *swelling*.

Desde modo, existem duas contribuições para a diminuição do *swelling* em polímeros reticulados, por um lado a hidrofobicidade do reticulante, e por outro a diminuição do volume de vazios, que diminui a mobilidade das cadeias da matriz polimérica (Choudalakis et Gotsis, 2012).

Seria de esperar que a reticulação das matrizes diminuísse o *swelling*, levando à menor capacidade das matrizes para estabelecer ligações por pontes de hidrogénio com a água, ou porque o agente reticulante cria restrições à elasticidade das cadeias, prevenindo a sua expansão em meio aquoso (Tasselli et al, 2013). No entanto, e de acordo com os perfis obtidos, verifica-se que a reticulação dos filmes não alterou a capacidade de *swelling*, registando-se perfis semelhantes entre filmes reticulados e sem

reticulação. Este resultado pode dever-se à baixa eficiência de incorporação do reticulante, ou à sua baixa concentração molar. Verificou-se ainda que no decorrer dos ensaios, os filmes reticulados são mais estáveis e resistentes à dissolução que os filmes sem reticulante em pH4, um resultado já esperado.

### 3.6. Ensaio de sorção de ácido acetilsalicílico

A sorção, é um processo pela qual um ou mais componentes (solutos) são captados, retidos e ligados à superfície de um sólido (adsorvente) com a qual estão em contacto. A natureza exacta desta ligação (iónica, covalente ou metálica) depende das propriedades das espécies envolvidas, no geral os materiais adsorvidos são geralmente classificados como exibindo capacidade de sorção física, química, ou electrostática. Neste trabalho o ácido acetilsalicílico foi usado como molécula modelo para testar a capacidade de adsorção dos filmes de CTS modificados. O ASA foi adicionado com as soluções a pH estável, no entanto, verificou-se que após a sua adição o pH de cada solução baixou à excepção da solução básica. O ASA é um ácido fraco, e apesar de ter uma constante de dissociação ( $K_a$ ) consideravelmente mais baixa que o HCl baixou o pH das soluções, pois a dissociação de ácidos liberta iões  $H^+$  (Figura 28). Os valores finais de pH foram por isso medidos e apresentados na tabela 4.

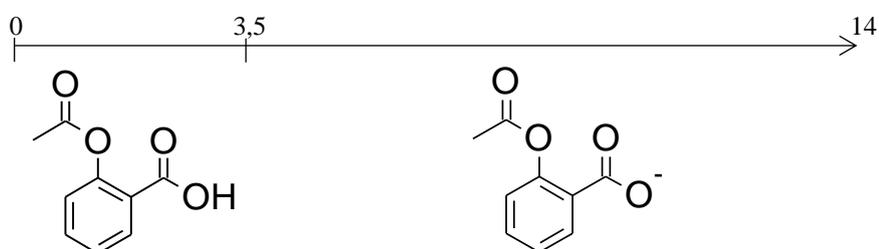


Figura 28 - Constante de dissociação, pKa do ASA.

Tabela 4 – Valores de pH medidos em cada meio de sorção

Meio de sorção	pH medido
Milli-Q	4,5
Meio ácido	3,5
Meio básico	10,5
Meio salino	4,5

### 3.6.1. Sorção em água Milli-Q

Com este ensaio pretendia-se obter o perfil de sorção dos filmes num ambiente de pH neutro, no entanto devido aos motivos atrás citados, o pH verificado foi de 4,5. Nestas condições que os grupos amina do CTS encontram-se protonados, embora numa extensão menor que na solução de pH 4 (3.5). Desta forma poderão formar-se pares de iões entre os grupos  $\text{NH}_3^+$ , o catião imidazólio e os grupos  $\text{R-COO}^-$ . Teoricamente seria de esperar uma capacidade crescente de sorção no sentido da maior densidade de cargas positivas dentro da matriz, ou seja o CTS seria o que teria a menor capacidade, seguido do CTSM-30%IL e CTSM-60%IL. Esta ordem não se verificou como se vê nos perfis da figura 29, no entanto o CTSM-60%IL é o que apresenta um perfil mais estável, um menor erro e uma maior capacidade de sorção em relação aos restantes, devido ao maior número de cargas presentes na sua matriz, o que potencia a formação de pares de iões por ligações de natureza electrostática.

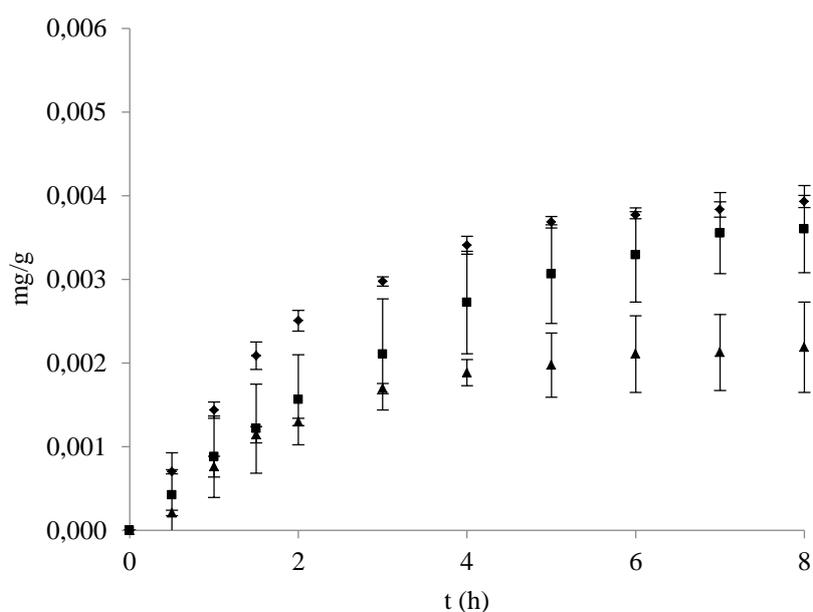


Figura 29 - Perfis de sorção de ASA em água Milli-Q para o CTS (■), CTSM-30%IL (▲) e CTSM-60%IL (◆)

Relativamente ao CTS e CTSM-30%IL, os perfis obtidos poderão ser explicados com recurso aos seus resultados de *swelling*, onde já se tinha verificado que os filmes de CTS apresentaram uma capacidade de *swelling* relativamente superior aos de CTSM-30%IL em meio aquoso. Esta tendência parece transpor-se para a sorção, na medida em que a menor capacidade de entrada de água nos filmes de CTSM-30%IL impossibilita o

transporte de iões  $R-COO^-$  para as matrizes poliméricas, resultando numa capacidade de sorção menor.

Relativamente ao efeito da reticulação, não se verificou alteração na capacidade de sorção dos filmes de CTSM-60%IL e CTSM-60%IL-Ret, cujos perfis são semelhantes entre si. No entanto, nos filmes de CTSM-30%IL e CTSM-30%IL-Ret os resultados mostram o efeito contrário ou seja, a reticulação aumentou a capacidade de sorção dos filmes, como mostram os perfis da figura 30. Recorrendo ao resultado comparativo do *swelling* destes filmes, verificou-se um paralelismo, pois os filmes de CTSM-30%IL-Ret apresentaram também um *swelling* superior ao CTSM-30%IL.

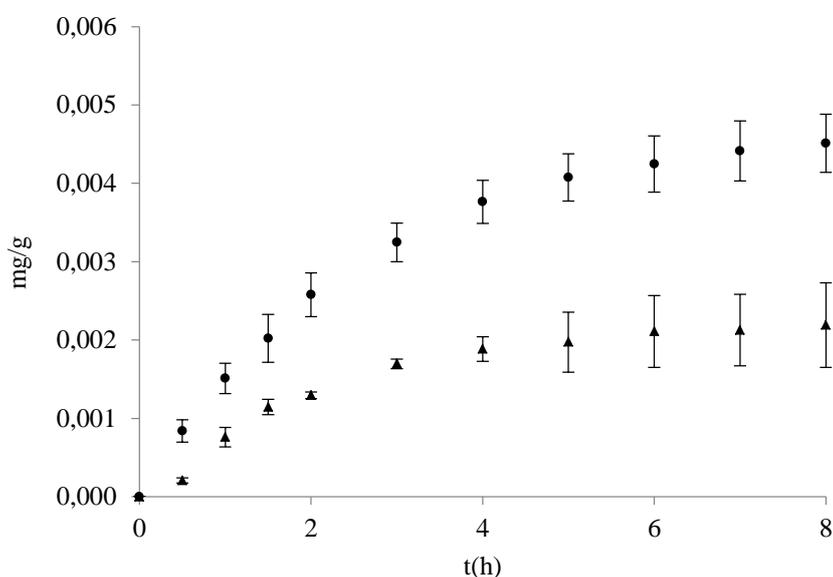


Figura 30- Perfis de sorção de ASA em água Milli-Q para o CTS-30%IL (▲), CTSM-30%IL-Ret (●)

### 3.6.2. Sorção em pH 4

Nestas condições de pH, o CTS pode apresentar uma extensão de protonação de 99% (Hasan et al, 2008), e absorver aniões por neutralização de cargas. Quanto maior for a atracção entre as cargas negativas e positivas, mais forte é a energia de ligação e a adsorção. (Qian et al, 2000). Assim, em meio ácido os grupos  $NH_3^+$  irão formar pares de iões com o ião  $R-COO^-$  do ASA através de ligações de natureza electroestática, aprisionando-os na sua matriz (Singh et al, 2009; Zhang et Bai, 2003, Gerente et al, 2007). Verifica-se através do gráfico um aumento na capacidade de sorção nos filmes modificados com IL, o que seria de esperar pois para além dos grupos  $NH_3^+$ , o aumento da densidade de cargas positivas nas matrizes origina um maior número de locais onde

se pode estabelecer a formação de pares de iões, neste caso entre o catião imidazólio e os grupos R-COO<sup>-</sup>.

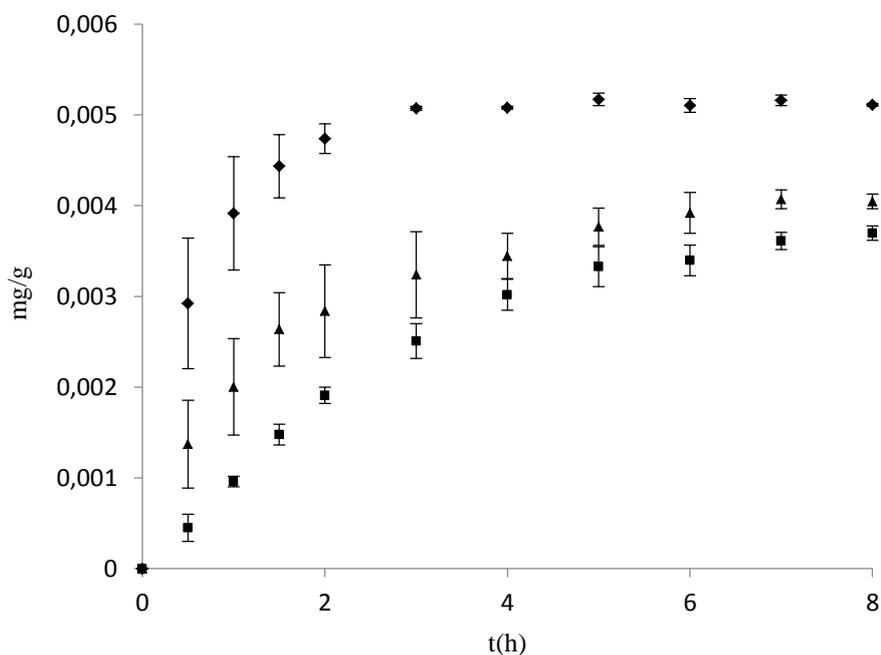


Figura 31- Perfis de sorção de ASA em pH 4 para o CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

Com o CTSM-60%IL atingiu-se o máximo de adsorção, verificando-se que o IL parece ter definitivamente melhorado as propriedades adsorptivas dos filmes em relação ao CTS. Os filmes de CTSM experimentaram dissociação no decorrer dos ensaios de sorção a pH 4, resultando em perfis de sorção instáveis. Este resultado sugere e vem atestar a ideia de que a modificação do CTS com GMA origina um material menos estável e resistente que o CTS, tal como já se tinha verificado através da análise térmica.

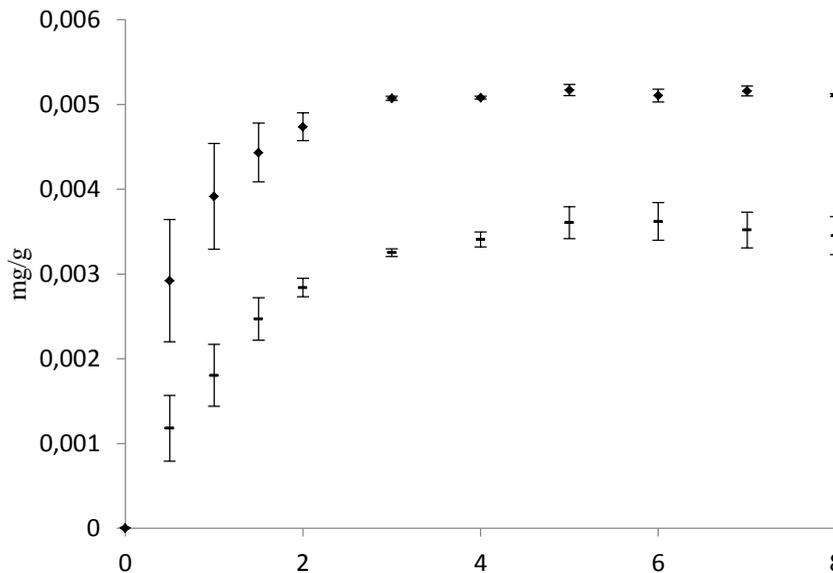


Figura 32 - Perfis de sorção de ASA em pH 4 para o CTSM-60%IL (◆), CTSM-60%IL-Ret (-)

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios para os filmes reticulados de CTSM-30%IL, verificou-se que o aumento da reticulação não teve efeito na capacidade de sorção, que se manteve igual aos filmes sem reticulante. As hipóteses para este resultado são a baixa quantidade de reticulante usada, que originou uma reticulação muito baixa, ou a sua incorporação nas matrizes foi ineficiente, não ocorrendo reticulação de facto. Em relação aos filmes de CTSM-60%IL, a reticulação já foi efectiva, traduzindo-se numa diminuição significativa da capacidade de sorção. Este resultado está expresso nos perfis da figura 32.

### 3.6.3. Sorção em meio salino

Os resultados dos ensaios em meio salino revelam que nestas condições não houve sorção de ASA em nenhum dos filmes. Os seus perfis estão representados na figura 33. O ASA sendo um ácido, com um valor de pKa de 3,5 vai dissociar-se no meio aquoso, protonando os grupos  $\text{NH}_2$  do CTS, resultando numa diminuição do pH da solução. Efectivamente o pH medido para a solução usada nestes ensaios foi de 4,5. A influência da força iónica do meio solvente parece ser o motivo para tais resultados. O gradiente osmótico gerado pelo aumento da força iónica no solvente, e os contra-íons  $\text{H}^+$  provenientes da dissociação do ASA, fazem com que a água não tenha tendência a entrar nas matrizes poliméricas.

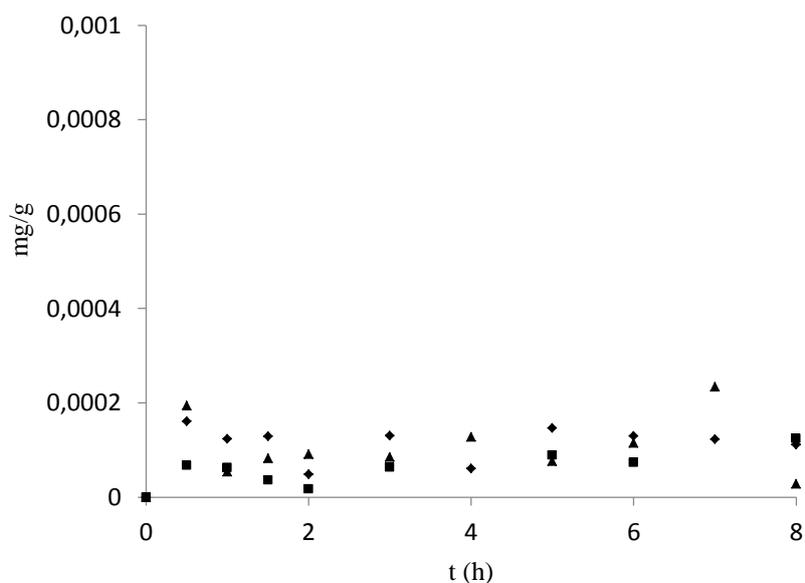


Figura 33- Perfis de sorção de ASA em meio salino para o CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

Teoricamente, o ASA ionizado ( $R-COO^-$ ) iria estabelecer um mecanismo electrostático de formação de pares com os grupos  $NH_3^+$  do CTS, e com o catião imidazólio do IL nos filmes modificados. No entanto parece verificar-se o efeito de *screening*/blindagem electrostática entre os grupos  $Cl^-$ ,  $NH_3^+$  e imidazólio, um fenómeno muito comum em hidrogéis (Pourjavadi et al, 2006). Outra das hipóteses colocadas será os próprios iões do NaCl adsorverem preferencialmente nos sítios activos do polímero devido a uma maior afinidade e facilidade de transporte em relação às moléculas de ASA (Crini et Badot; 2007).

#### 3.6.4. Sorção em meio alcalino

Os ensaios realizados em meio alcalino de pH 10, cujos perfis estão ilustrados na figura 34, revelaram um resultado semelhante aos do meio salino, embora por motivos diferentes. Nestas condições de operação nenhum dos filmes revelou capacidade de sorção, o que pode dever-se a vários motivos. Teoricamente já seria de esperar uma menor capacidade de sorção relativamente aos meios de pH 4 e Milli-Q, pois devido à desprotonação dos grupos amina, o catião imidazólio é o único com capacidade de interagir electrostaticamente com os grupos  $R-COO^-$ .

Os resultados sugerem que a quantidade de IL adicionada pode não ter sido suficiente para potenciar o processo adsorptivo independentemente do pH do meio. Outra das hipóteses é que a adição do ASA aumentou significativamente a força iónica do meio, aumentando a densidade de cargas em relação ao interior das matrizes

poliméricas, fazendo com que a água não tenha tendência para entrar. Por outras palavras, o incremento de carga potenciado pelos catiões imidazólio não é suficiente para equilibrar a alteração da força iónica no meio aquoso.

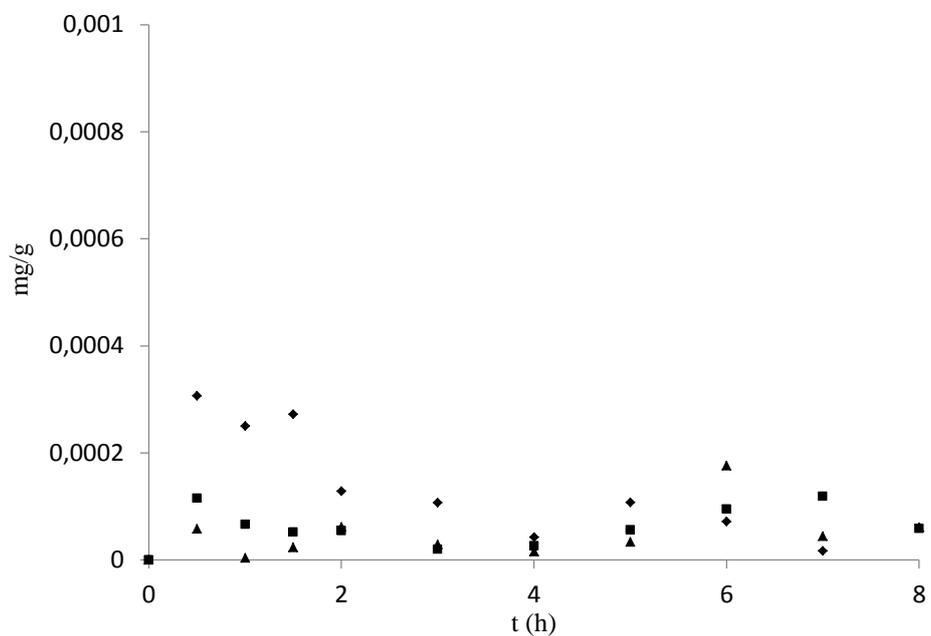


Figura 34 - Perfis de sorção de ASA em pH 10 para o CTS (■), CTSM-30%IL (▲), CTSM-60%IL (◆)

## Conclusões

Este trabalho provou o potencial dos filmes de biopolieletrólitos para aplicações na captação de compostos com carga. O CTS e alguns seus derivados já foram extensamente estudados com bio-adsorventes, na forma de hidrogéis ou filmes, como se reporta na literatura, no entanto o efeito da neutralização, do aumento da hidrofiliçidade, e da adição de um IL para melhoria das suas propriedades de resposta nunca foi estudado sendo uma área com relativo espaço de progressão. Desta forma, retiraram-se algumas conclusões importantes decorrentes dos resultados obtidos:

- A funcionalização do CTS com GMA é possível de realizar, no entanto o processo deve ser otimizado em termos de estequiometria de reagentes para aumentar o grau de substituição, e o seu processamento secundário deve ser refinado para aumentar o rendimento e a pureza do derivado
- Em termos de caracterização do CTSM, devem ser realizadas análises SEM para avaliar: possíveis mudanças estruturais, homogeneidade da conversão e distribuição do GMA, e cristalografia de raios-x para avaliar alterações na cristalinidade
- A análise térmica provou a modificação do CTS como demonstrou o TGA, obtendo-se um derivado menos estável termicamente, a espectroscopia  $^1\text{H-NMR}$  provou a conversão do CTS em CTSM e os resultados do FTIR igualmente, no entanto não foi possível calcular o grau da conversão
- A análise DSC provou que o CTSM apresenta uma interacção mais forte com a água que o CTS puro, como foi demonstrado pelo cálculo das entalpias de vaporização, sem necessariamente alterar a hidrofiliçidade
- A caracterização térmica provou que o aumento da quantidade relativa de IL induz mudanças na hidrofiliçidade dos filmes, e igualmente na força de interacção entre a água e as matrizes como se verificou pelo cálculo das entalpias de vaporização
- Os testes realizados permitiram concluir que a capacidade de swelling não é muito dependente do pH do meio, tendo sido obtida pouca variância entre cada um, sugerindo que a neutralização dos filmes foi muito acentuada e este processo deve igualmente ser otimizado
- Os resultados obtidos estão no entanto de acordo com o esperado, o aumento na pressão osmótica entre as matrizes e o meio origina um maior fluxo de água para dentro

das matrizes aumentando o swelling, e foi notório o efeito do aumento de carga promovido pelo IL na capacidade de sorção de água relativamente ao CTS

- Os ensaios revelaram que nas condições de operação utilizadas, a capacidade de sorção é muito dependente do pH e da força iónica do meio, verificando-se que o efeito de shielding promovido pelo aumento da força iónica controla o processo

- Ensaios SEM devem ser realizados aos filmes com IL, para avaliar a sua distribuição pelas matrizes

- O grafting com IL aumentou de facto a capacidade de sorção das cargas R-COO<sup>-</sup> em meios ácidos, verificando-se que o aumento da sua quantidade relativa aumenta igualmente a capacidade de sorção, efeito que se deve ao aumento de carga promovido pelo catião imidazólio, e logo pelo maior formação de pares catião-anião por interacções de natureza electroestáticas

Durante a realização deste trabalho surgiram dificuldades na fase inicial de execução dos trabalhos, pois houve a necessidade de otimizar a viscosidade da solução de CTS, que se concluiu ter influência no acerto do pH e na dispersão do GMA. Resolvida esta questão, na segunda parte pretendia-se determinar o grau de substituição do CTS, para a partir daí trabalhar em base molar relativamente ao número de ligações duplas calculadas. Como não foi possível realizar esse cálculo apesar da metodologia estar definida, decidiu-se continuar os trabalhos em base mássica relativamente ao CTSM.

A realização de testes de libertação fazia parte do planeamento inicial, no entanto devido a limitações de tempo não foram possíveis de realizar, ficando adiados para o desenvolvimento do trabalho pós tese.

Em termos gerais, os objectivos propostos inicialmente foram cumpridos, e a hipótese do IL induzir uma carga permanente num biopolielectrólito independentemente do pH do meio foi verificada. A associação de IL ao CTS melhora a sua capacidade de sorção, comprovando-se a sua aplicabilidade como sistemas de captação de compostos aniónicos como bio-adsorvente. O desenvolvimento futuro de trabalhos neste âmbito deve incidir na optimização do sistema biopolímero/IL, experimentando novos IL's com outros catiões potencialmente mais reactivos, ou até desenvolver sistemas desta natureza para a captação de compostos de carga positiva.

## Bibliografia

Abbasizadeh S., Keshtkar A.R., Mousavian M.A., Sorption of heavy metal ions from aqueous solution by a novel cast 3 PVA/TiO<sub>2</sub> nanohybrid adsorbent functionalized with amine groups. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* xxx (2013) xxx–xxx (Article in press)

Adiga S.P., Brenner D.W., Stimuli-Responsive Polymer Brushes for Flow Control through Nanopores. *Journal of Functional Biomaterials* 2012; Vol. 3: 239-256

Arora S., Lal S., Kumar S., Kumar M., Kumar M., Comparative degradation kinetic studies of three biopolymers: Chitin, chitosan and cellulose. *Archives of Applied Science Research* 2011; Vol. 3: 188-201

Badawy M.E.I., Rabea E.I. A Biopolymer Chitosan and Its Derivatives as Promising Antimicrobial Agents against Plant Pathogens and Their Applications in Crop Protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry* 2011; Volume 2011

Bajpai A.K., Shukla S.K., Bhanu S., Kankane S. Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science* 2008; Vol. 33:1088–1118

Barbosa M.A., Pêgo A.P., Amaral I.F. Chitosan. 2011 Elsevier

Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O., Gurny R., Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2004 ; Vol. 57: 35-52

Bobu E., Nicu R., Lupei M., Ciolacu F.L. Desbrières J. Synthesis and characterization of n-alkyl chitosan for papermaking applications. *Cellulose Chemistry and Technology* 2011; Vol. 45: 9-10,619-625

Bostan M.S., Senol M., Cig T., Peker I., Goren A.C., Ozturk T., Eroglu M.S., Controlled release of 5-aminosalicylic acid from chitosan based and temperature hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules* 2013; Vol 52: 177–183

Campos M.G.N., Grosso C.R.F., Cárdenas G., Mei L.H.I. Effects of neutralization on preparation and characterization of chitosan membranes for wound dressing. *Macromol Symp* 2005; Vol. 229:253-257

Carreira A.S., Gonçalves F.A.M.M., Mendonça P.V., Gil M.H., Coelho J.F.J. Temperature and pH responsive polymers based on chitosan: Applications and new graft copolymerization strategies based on living radical polymerization. *Carbohydrate Polymers* 2010; Vol. 80: 618-630

Chen T., Ferris R., Zhang J., Ducker R., Zauscher S. Stimulus-responsive polymer brushes on surfaces: Transduction mechanisms and applications. *Progress in Polymer Science* 2010; Vol. 35: 94–112

Chiappe C., Pieraccini D., Review Commentary Ionic liquids: solvent properties and organic reactivity. *Journal Of Physical Organic Chemistry* 2005; Vol. 18: 275–297

Choudalakis G., Gotsis A.D, Free volume and mass transport in polymer nanocomposites. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* 2012; Vol. 17: 132–140

Chowdhury S., Mohan R.S., Scott J.L., Reactivity of ionic liquids. *Tetrahedron* 2007; Vol. 63: 2363–2389

Chung Y.C., Tsai C.F., Li C.F., Preparation and characterization of water-soluble chitosan produced by Maillard reaction. *Fisheries Science* 2006; Vol. 72: 1096–1103

Coimbra P., Ferreira P., Sousa H.C., Batista P., Rodrigues M.A., Correia I.J., Gil M.H. Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications. *International Journal of Biological Macromolecules* 2011; Vol. 48: 112–118

Cortez A.R. Development and characterization of chitosan and N-carboxybutylchitosan materials doped with biocompatible ionic liquids for application as stimuli-responsive biopolymers. University of Coimbra 2012

Crini G., Badot. P. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in Polymer Science* 2008; Vol. 33: 399-447

Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R.M., Chiellini E.. Chitosan – a versatile semisynthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science* 2011; Vol. 36: 981-1014.

Dias A.M.A., Cortez A.R., Barsan M.M., Santos J.B., Brett C.M.A., de Sousa H.C. Development of greener multi-responsive chitosan biomaterials doped with biocompatible ammonium ionic liquids. 2013

Dobrynin A.V., Rubinstein M., Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. *Progress in Polymer Science* 2005; Vol. 30: 1049–1118

Dodi G., Hritcu D., Lisa G., Popa M.I. Core-shell magnetic chitosan particles by grafting: Synthesis and characterization. *Chemical Engineering Journal* 2012; Vol 203: 130–141

Earle M.J., Esperança J.M.S.S., Gilea M.A., Lopes J.N.C., Rebelo L.P.N, Magee J.W., Seddon K.R., Widegren J.A., The distillation and volatility of ionic liquids. *Nature* 2006; Vol 439: 831-834

Elizalde-Peña E.A., Zarate-Triviñoa D.G., Nuño-Donlucas S.M., Medina-Torre L., Goughd J.E., Sanchez I.C., Villaseñor F., Luna-Barcenas G. Synthesis and characterization of a hybrid (chitosan-g-glycidyl methacrylate)–xanthan hydrogel. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 2013; Vol. 24(12):1426-1442

Gemeinhart R.A., Chen J., Park H., Park K., pH sensitivity of fast responsive superporous materials. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 2000; Vol. 11: 1371-1380

Gerente C., Lee V. K. C., Le Cloirec P., McKay G., Application of Chitosan for the Removal of Metals From Wastewaters by Adsorption—Mechanisms and Models Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 2007; Vol. 37: 41–127

Gharagheizi F., Ilani-Kashkouli P.s Mohammadi H.A., A group contribution method for estimation of glass transition temperature ionic liquids. *Chemical Engineering Science* 2012; Vol. 81: 91–105

Gil S.E., Hudson S.M. Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates. *Progress on Polymer Science* 2004; Vol. 29: 1173–1222

Gonfa G., Bustam A.S., Man Z., Mutalib M.I.A. Unique Structure and Solute –Solvent Interaction in Imidazolium Based Ionic Liquids: A Review. *Asian Transactions on Engineering* 2011; Vol. 1; 5

Gupta P., Vermani K., Garg S., Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today* 2002; Vol. 7: 10: 569–579

Hao Y., Peng J., Hu S., Li J., Zhai M., Thermal decomposition of allyl-imidazolium-based ionic liquid studied by TGA-MS analysis and DFT calculations. *Thermochimica Acta* 2010; Vol. 501:78-83

Hasan S., Ghosh T.K., Viswanath D.S., Boddu V.M., Dispersion of chitosan on perlite for enhancement of copper(II) adsorption capacity. *Journal of Hazardous Materials* 2008; Vol. 152(2): 826–837

Hasanzadeh M., Shadjou N., Eskandani M., de la Guardia M., Room-temperature ionic liquid-based electrochemical nanobiosensors. *Trends in Analytical Chemistry* 2012; Vol. 41: 58-74

He Q., Ao Q., Gong Y., Zhang X., Preparation of chitosan films using different neutralizing solutions to improve endothelial cell compatibility. *J Mater Sci: Mater Med* 2011; Vol. 22: 2791-2802

Hoffman A.S. Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2013; Vol. 65: 10–16

Huddleston J.G., Visser A.E., Reichert W.M., Willauer H.D., Broker G.a., Rogers R.D., Characterization and comparison of hydrophilic and hydrophobic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. *Green Chemistry* 2001; Vol. 3: 156–164

Islam A., Yasin T., Bano I., Riaz M. Controlled Release of Aspirin from pH-Sensitive Chitosan/Poly(vinyl alcohol) Hydrogel. *Journal of Applied Polymer Science* 2012; Vol. 124: 4184–4192

Izák P., Hovorka S., Bartovský T., Bartovská L., Crespo J.G. Swelling of polymeric membranes in room temperature ionic liquids. *Journal of Membrane Science* 2007; Vol. 296: 131-138

Izawa H., Kadokawa J., Preparation and characterizations of functional ionic liquid-gel and hydrogel materials of xanthan gum. *Journal of Materials Chemistry* 2010; Vol. 20: 5235-5241

Jayakumar S., Sudha P.N., Physicochemical characterization of chitosan/nylon6/polyurethane foam chemically cross-linked ternary blends. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 2013; Vol. 105: 20–23

Kafouris D., Gradzielski M., Patrickios C.S., Semisegmented Amphiphilic Polymer Conetworks: Synthesis and Characterization. *Macromolecules* 2009; Vol. 42: 2972-2980

Keshin S., Kayrak-Talay D., Akman U., Hortaçsu O., A review of ionic liquids towards supercritical fluid applications. *Journal of supercritical fluids* 2007; Vol. 43: 150-180

Kittur F.S., Prashanth K.V.H., Sankar K.U., Tharanathan R.N. Characterization of chitin, chitosan and their carboxymethyl derivatives by differential scanning calorimetry. *Carbohydrate Polymers* 2002; Vol. 49: 185-193

Kowsari, Elaheh. *Ionic Liquids: Applications and Perspectives*. InTech, 21 February 2011

Kragl U., Eckstein M., Kaftzik N., Enzyme catalysis in ionic liquids. *Current Opinion in Biotechnology* 2002, Vol. 13: 565–571

Kreyenschulte H., Ritcher S., Gotze T., Fischer D., Steinhauser D., Kluppel M., Heinrich G., Interaction of 1-allyl-3-methyl-imidazolium chloride and carbon black and its influence on carbon black filled rubbers. *Carbon* 2012; Vol. 50: 3649–3658

Kubisa P. Ionic liquids as solvents for polymerization processes—Progress and challenges. *Progress in Polymer Science* 2009; Vol. 34: 1333–1347

Kuckling D., Doering A., Krahl F., Arndt K.F. *Stimuli-Responsive Polymer Systems* 2012. Elsevier B.V.

Lavertu M., Xia Z., Serreqi A.N., Berrada M., Rodrigues A., Wang D., Buschmann M.D., Gupta A. A validated <sup>1</sup>H NMR method for the determination of the degree of deacetylation of chitosan. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; Vol. 32: 1149-1158

Lendlein A., Shastri V.P. Stimuli-Sensitive Polymer. *Advanced Materials* 2010; Vol. 22(31): 3344–3347

Liu F., Urban M.W. Recent advances and challenges in designing stimuli-responsive polymers. *Progress in Polymer Science* 2010; Vol. 35: 3–23

Li W., Ju M., Wang Y., Liu L., Jiang Y., Separation and recovery of cellulose from *Zoysia japonica* by 1-allyl-3-methylimidazolium chloride. *Carbohydrate Polymers* 2013; Vol. 92: 228–235

López-Pastor M., Ayora-Cañada M.J., Valcárcel M., Lendl B., Association of methanol and water in ionic liquids elucidated by infrared spectroscopy using two-dimensional correlation and multivariate curve resolution. *J. Phys. Chem. B* 2006; Vol. 110: 10896-10902

Lu J., Yan F., Texter J., Advanced applications of ionic liquids in polymer science. *Progress in Polymer Science* 2009; Vol. 34: 431-438

Mahdavinia G.R., Pourjavadi A., Hosseinzadeh H., Zohuriaan M.J. Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly(acrylic acid-co-acrylamide) grafted chitosan with salt- and pH-responsiveness properties. *European Polymer Journal* 2004; Vol. 40:1399-1407

Mahdavinia N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2000; Vol. 50: 27-46

Mao S., Sun W., Kissel., Chitosan-based formulations for delivery of DNA and siRNA. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2010; Vol. 62: 12–27

Marcilla R., Blasquez J.A., Rodriguez J., Pomposo J.A., Mecerreyes D. Tuning the solubility of polymerized ionic liquids by simple Anion.Exchange Reactions. *Journal of Polymer Science* 2004 Part A: Polymer Chemistry, Vol. 42: 208-212

Marcombe R., Cai S., Hong W., Zhao X., Lapusta Y., Suo Z., A theory of constrained swelling of a pH-sensitive hydrogel. *Soft Matter* 2010; Vol. 6: 784-793

Marsh K.N., Boxall J.A., Lichtenhaler R. Room temperature ionic liquids and their mixtures –a review. *Fluid Phase Equilibria* 2004; Vol. 219: 93-98.

Martínez J.M.L., Chattah A.K., Sánchez R.M.T., Buldain G.Y., Orto V.C.D. Synthesis and characterization of novel polyampholyte and polyelectrolyte polymers containing imidazole, triazole or pyrazole. *Polymer* 2012; Vol. 53: 1288-1297

Martinez-Ruvalcaba A., Sánchez-Diaz J.C., Berreca F., Cruz-Barba L.E. Swelling characterization and drug delivery kinetics of polyacrylamide-co-itaconic acid/chitosan hydrogels. *Express Polymer Letters* 2009; Vol. 3, No.1: 25-32

Mecerreyes D. Polymeric ionic liquids: Broadening the properties and applications of polyelectrolytes. *Progress in Polymer Science* 2011; Vol. 36: 1629–1648

Meng H., Li G. A review of stimuli-responsive shape memory polymer composites. *Polymer* 2013; Vol. 54: 2199-2221

Mirkhani S.A., Gharagheizi F., Kashkouli P.I., Farahani N., Determination of the glass transition temperature of ionic liquids: A molecular Approach. *Thermochimica Acta* 2012; Vol. 543: 88– 95

Monti D., Jónsson E., Palacín N.R., Johansson P., Ionic liquid based electrolytes for sodium-ion batteries: Na<sup>+</sup> solvation and ionic conductivity. *Journal of Power Sources* 2014; Vol. 245: 630-636

Mortimer D.A., Synthetic Polyelectrolytes-A Review. *Polymer International* 1991; Vol. 25: 29-41

Mourya V.K., Inamdar N.N., Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore. *Reactive & Functional Polymers* 2008; Vol. 68: 1013-1051

Noda A., Watanabe M., Highly conductive polymer electrolytes prepared by in situ polymerization of vinyl monomers in room temperature molten salts. *Electrochimica Acta* 2000; Vol. 45: 1265-1270

Ohno H., Design of Ion Conductive Polymers Based on Ionic Liquids. *Macromolecular Symposia Special Issue: Advanced Polymer for Emerging Technologies* 2007; Vol. 249-250, 1: 551-556

Ohno H. *Ionic Liquids*. 2009 Elsevier B.V.

Olivier-Bourbigou H., Magna L., Morvan D., Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. *Applied Catalysis A* 2010; Vol. 373: 1-56

Brannon-Peppas L., Peppas N.A., Equilibrium Swelling Behaviour of pH-sensitive hydrogels. *Chemical Engineering Science* 1991; Vol. 46: 715-722

Perez R.A., Won J.E., Knowles J.C., Kim H.W. Naturally and synthetic smart composite biomaterials for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2012; Vol. 65(4): 471-496

Pieróg M., Gierszewska-Drużyńska M., Ostrowska-Czubenko J., Effect of Ionic Crosslinking Agents On Swelling Behavior Of Chitosan Hydrogel Membranes. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives* 2009; Vol. 14

Pourjavadi A., Mahdavinia G.R., Superabsorbency, pH-Sensitivity and Swelling Kinetics of Partially hydrolyzed chitosan-g-poly (Acrylamide) Hydrogels. *Turkish Journal of Chemistry* 2006; Vol. 30: 595-608

Qian S., Huang G., Jiang J., He F., Wang Y., Studies of Adsorption Behavior of Crosslinked Chitosan for Cr(VI), Se(VI). *Journal of Applied Polymer Science* 2000; Vol. 77: 3216-3219

Qiang R., Jin W., Jun Z., Jiasong H., Meili G., Synthesis of 1-allyl 3-methylimidazolium-based room-temperature ionic liquids and preliminary study of its dissolving cellulose. *Acta Polymerica Sinica* 2003; Vol. 1(3): 448-451

Ramesh S., Shanti R., Morris E. Plasticizing effect of 1-allyl-3-methylimidazolium chloride in cellulose acetate based polymer electrolytes. *Carbohydrate Polymers* 2011 vol. 87(4): 2624-2629

Saarinen T., Osterberg M., Laine J. Properties of Cationic Polyelectrolyte Layers Adsorbed on Silica and Cellulose Surfaces Studied by QCM-D—Effect of Polyelectrolyte Charge Density and Molecular Weight. *Journal of Dispersion Science and Technology* 2009; vol 30:969–979

Santos J.E., Soares J.P., Dockal E.R., Filho S.P.C., Cavalheiro E.T.G. Caracterização de Quitosanas Comerciais de Diferentes Origens. *Polímeros: Ciência e Tecnologia* 2003; vol. 13(4): 242-249

Scraton A. B., Rangarajan B., Klier J. Biomedical applications of Polyelectrolytes. *Advances in Polymer Science* 1995; vol 122: 1-54.

Silva C.L., Pereira J.C., Ramalho A., Pais A.C.C.A, João Sousa J.J.S., Films based on chitosan polyelectrolyte complexes for skin drug delivery: Development and characterization. *Journal of Membrane Science* 2008; vol 320: 268–279

Singh V., Sharma A.K., Tripathi D.N., Sanghi R., Poly(methylmethacrylate) grafted chitosan: An efficient adsorbent for anionic azo dyes. *Journal of Hazardous Materials* 2009; vol 161: 955–966

Soucek M.D., Yi Y. Synthesis and Characterization of Water Soluble Carboxymethyl Chitosan with Glycidyl Methacrylate. *Journal of Macromolecular Science, part A: Pure and Applied Chemistry* 2011; Vol 48: 562-568

Spinks G.M., Lee C.K., Wallace G.G., Kim,S.I., Kim S.J. Swelling Behavior of Chitosan Hydrogels in Ionic Liquid-Water Binary Systems. *Langmuir* 2006; Vol. 22: 9375-9379

Sreedhar B., Aparna Y., Sairam M., Hebalkar N., Preparation and Characterization of HAP/Carboxymethyl Chitosan Nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science* 2007; Vol. 105: 928–934

Tan B.H., Ravi P., Tam K.C. Synthesis and Characterization of Novel pH-Responsive Polyampholyte Microgels. *Macromolecular Rapid Communications* 2006; Vol. 27: 522-528

Tasselli F., Mirmohseni A., Seyed Dorraji M.S., Figoli A., Mechanical, swelling and adsorptive properties of dry–wet spun chitosan hollow fibers crosslinked with glutaraldehyde. *Reactive & Functional Polymers* 2013; Vol.73: 218–223

Tokarev I., Motornov M., Minko S. Molecular-engineered stimuli-responsive thin polymer film: a platform for the development of integrated multifunctional intelligent materials. *Journal of Materials Chemistry* 2009; 19: 6932-6948.

Tsai H., Wang Y., Properties of hydrophilic chitosan network membranes by introducing binary crosslink agents. *Polymer Bulletin* 2008; Vol. 60: 103–113

Wang X., Li H., Cao Y., Tang Q., Cellulose extraction from wood chip in an ionic liquid 1-allyl-3-methylimidazolium chloride (AmimCl). *Bioresource Technology* 2011; Vol. 102: 7959–7965

Wasserschei P. Welton T. Ionic Liquids in Synthesis, Copyright © 2002 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA

Yamamuro O., Minamimoto Y., Inamura Y., Hayashi S., Hamaguchi H., Heat capacity and glass transition of an ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Chemical Physics Letters* 2006; Vol. 423: 371–375

Yang J.M., Su W.Y., Leu T.L., Yang M.C., Evaluation of chitosan/PVA blended hydrogel membranes. *Journal of Membrane Science* 2004; Vol. 236: 39–51

Yuan J., Antonietti M. Poly(ionic liquid)s: Polymers expanding classical property profiles. *Polymer* 2011; Vol. 52(7) 1469–1482

Yuan J., Mecerreyes D., Antonietti M., Poly(ionic liquids): An update. *Progress in Polymer Science* 2013 Vol. 38(7): 1009-1036

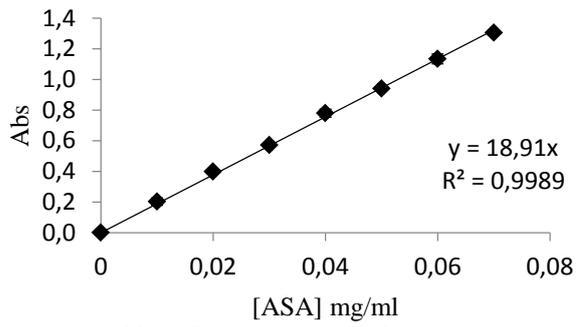
Zawadzki J., Kaczmarek H., Thermal treatment of chitosan in various conditions 2009; *Carbohydrate Polymers* 2010; Vol. 80: 394–400

Zhang K., Luo Y., Li Z., Synthesis and Characterization of a pH- and Ionic Strength-Responsive Hydrogel. *Soft Materials* 2007; Vol. 5(4): 183–195

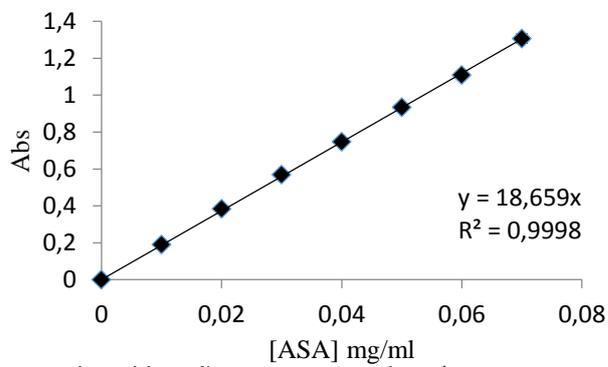
Zhang X., Bai R., Mechanisms and kinetics of humic acid adsorption onto chitosan-coated granules. *Journal of Colloid and Interface Science* 2003; Vol. 264: 30–38

Zhao Q., Anderson J.L., *Ionic Liquids*; Elsevier Inc 2012

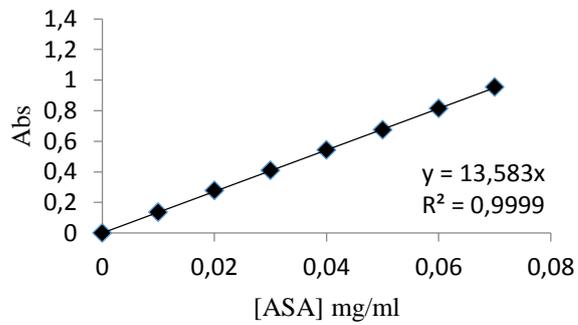
## Anexos



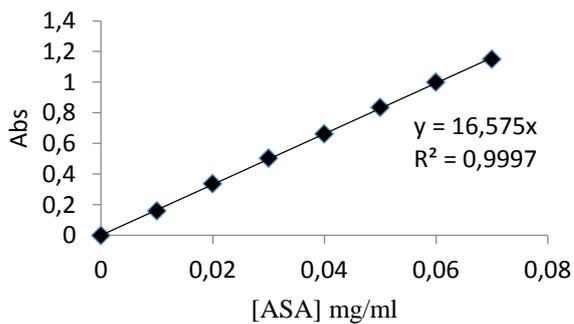
Recta de calibração para água Mili-Q



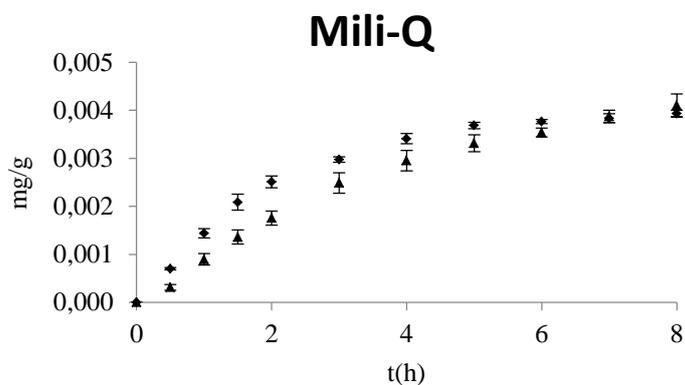
Recta de calibração para meio salino (0.1 M em NaCl)



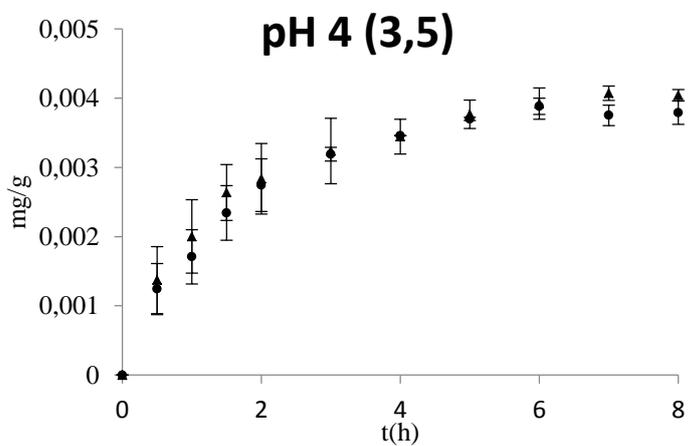
Recta de calibração para pH4



Recta de calibração para pH10



Perfis de sorção em meio aquoso do CTSM-60%IL (♦) e do CTSM-60%IL-Ret (▲)



Perfis de sorção em meio aquoso de pH 4 co CTSM-30%IL (▲) e do CTSM-30%IL-Ret (●)