



**Universidade de Brasília (UnB)**  
**Instituto de Química (IQ - UnB)**  
**Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC)**

**“LÍQUIDOS IÔNICOS COMO MEIO NA MODIFICAÇÃO DE ÉSTERES E  
ÁCIDOS (GRAXOS) VIA AMINÓLISE CATALÍTICA E NA SÍNTESE DE  
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS”**

Tese apresentada como parte dos requisitos exigidos  
à obtenção do título de Doutor pelo Programa de  
Pós-Graduação em Química da Universidade de  
Brasília.

**Vanda Maria de Oliveira**

**Orientador: Prof. Dr. Joel Camargo Rubim**

**Co-orientador: Prof. Dr. Brenno Amaro DaSilveira Neto**

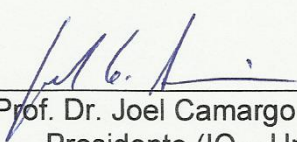
**Brasília, 07 de dezembro de 2011**

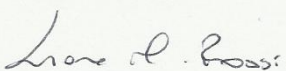


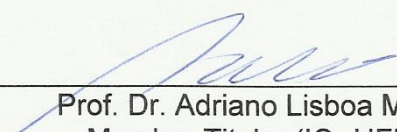
Universidade de Brasília – Instituto de Química

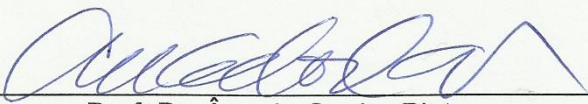
## COMUNICADO

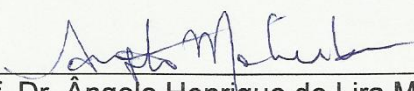
Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese de Doutorado da aluna **Vanda Maria de Oliveira**, intitulada “**Líquidos iônicos como meio na modificação de ésteres e ácidos (graxos) via aminólise catalítica e na síntese de nanopartículas magnéticas**”, apresentada no Instituto de Química da Universidade de Brasília em 07 de dezembro de 2011.

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Joel Camargo Rubim  
Presidente (IQ – UnB)

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dr.ª Liane Márcia Rossi  
Membro Titular (IQ - USP)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Adriano Lisboa Monteiro  
Membro Titular (IQ- UFRGS)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ângelo Cunha Pinto  
Membro Titular (IQ – UFRJ)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ângelo Henrique de Lira Machado  
Membro Titular (IQ-UnB)

Brasília, 07 de dezembro de 2011.

✉ Caixa Postal 4478 - CEP: 70904-970 - Brasília - DF - BRASIL  
☎ (061) 3307-2147 / 3307-2150 Fax: (061) 3273-4149  
🌐 [www.unb.br/iq/pg](http://www.unb.br/iq/pg) [posgiq@unb.br](mailto:posgiq@unb.br)

*“E assim, depois de muito esperar, num dia como outro qualquer, decidi triunfar...*

*Decidi não esperar as oportunidades e sim, eu mesmo buscá-las.*

*Decidi ver cada problema como uma oportunidade de encontrar uma solução.*

*Decidi ver cada deserto como uma possibilidade de encontrar um oásis.*

*Decidi ver cada noite como um mistério a resolver.*

*Decidi ver cada dia como uma nova oportunidade de ser feliz.*

*Naquele dia descobri que meu único rival não era mais que minhas próprias limitações e que enfrentá-las era a única e melhor forma de as superar.*

*Naquele dia, descobri que eu não era o melhor e que talvez eu nunca tenha sido.*

*Deixei de me importar com quem ganha ou perde, agora, importa-me simplesmente saber melhor o que fazer.*

*Aprendi que o difícil não é chegar lá em cima, e sim deixar de subir.*

*Aprendi que o melhor triunfo que posso ter, é ter o direito de chamar a alguém de ‘Amigo’.*

*Descobri que o amor é mais que um simples estado de enamoramento, ‘o amor é uma filosofia de vida’.*

*Naquele dia, deixei de ser um reflexo dos meus escassos triunfos passados e passei a ser a minha própria tênue luz deste presente.*

*Aprendi que de nada serve ser luz se não vai iluminar o caminho dos demais.*

*Naquele dia, decidi trocar tantas coisas...*

*Naquele dia, aprendi que os sonhos são somente para fazer-se realidade.*

*E desde aquele dia já não durmo para descansar...*

*Agora simplesmente durmo para sonhar.”*

*Texto magnífico de Walt Disney.*

*“Você nunca sabe a força que tem,  
até que a sua única alternativa é ser forte.”*

*Johnny Depp*

*Dedicatória*

*Aos meus pais, pelo amor e por tudo. E  
ao Prof. Joel, pelos ensinamentos e  
exemplo.*

## **Agradecimentos**

*Agradeço a Deus por ter me guiado, pelas oportunidades e pelas pessoas que colocou em meu caminho.*

*Ao professor Joel – orientador – pelo apoio, incentivo, confiança e por todos os ensinamentos.*

*Ao professor Brenno – co-orientador – por toda orientação e incentivo.*

*Ao professor Paulo, pelas discussões proveitosas, pela ajuda e piadas.*

*Aos colegas e amigos de toda a pós-graduação, UNICAMP e UnB, pelos momentos de discussão, apoio e conversas. Por toda amizade ao longo de todos estes anos. Em especial, agradeço ao Marcelo, Sávio, Robson, Vinícius, Bia e Fábio. Ao Anderson e Wanessa agradeço pela colaboração.*

*A minha família, em especial aos meus pais, irmãos e sobrinhos, os quais nem sempre entenderam minha ausência, mas que sempre esperaram por mim com muito amor. Obrigada por nunca deixarem de me amar, por sempre torcerem por meu sucesso e por sempre me fazerem feliz. Amo vocês.*

*Ao Renan, por todo apoio e paciência nesta fase final. E principalmente, por tornar meus dias mais felizes.*

*Aos amigos e alunos da UCB, com os quais eu tanto aprendi.*

*Agradeço aos professores que participaram da banca de qualificação, Prof. Luiz Carlos Dias (UNICAMP), Prof. Jez William, Prof. Peter Bakuzis e Prof. Alexandre Umpierre. Obrigada por tudo.*

*Aos membros da banca.*

*Ao Instituto de Química.*

## Resumo

Nos últimos anos, os Líquidos Iônicos (LIs) tem sido considerados como meios reacionais alternativos ecologicamente amigáveis, com inúmeras propriedades atrativas. Nesta Tese, os LIs foram utilizados de forma eficiente na modificação de ésteres e (ácidos graxos) via aminólise catalítica. Os produtos obtidos a partir da modificação do óleo de soja foram aplicados na Química do Biodiesel sendo produzido um aditivo antioxidante e biocida. De forma eficiente, o LI também foi aplicado na síntese de nanopartículas magnéticas. Neste contexto, o Capítulo 1 descreve a eficiência do sistema catalítico utilizando ácidos de Lewis ( $\text{CdO}$  ou  $\text{SnCl}_2$  ou  $\text{BF}_3\cdot\text{OEt}_2$ ) suportados em LIs imidazólios como catalisadores na promoção de reações de aminólise (formação de amida) a partir de ésteres e ácidos carboxílicos. Relatamos a alta atividade catalítica dos catalisadores  $\text{SnCl}_2$  e  $\text{CdO}$  e este último como o melhor catalisador testado; o líquido iônico desempenhando um importante papel na estabilização de intermediários carregados e polares através de interações  $\text{CH}\cdots\pi$  e formação de pares iônicos; um estudo mecanístico por meio da análise de ESI-QTOF-MS(MS); a possibilidade de pelo menos oito reações de ciclo sem perda de atividade do catalisador e com menos de 1 % de lixiviação para o  $\text{CdO}$  e nenhuma lixiviação para o  $\text{SnCl}_2$ .

O Capítulo 2 descreve a eficiente aplicação da metodologia desenvolvida no Capítulo 1 no preparo de amidas graxas em escala de grama a partir do óleo de soja e de ácidos graxos. Os produtos desenvolvidos apresentaram propriedades físico-químicas favoráveis para serem utilizados como aditivos antioxidantes. A avaliação biológica do material obtido mostrou que a mistura de amidas produzida possui atividade microbicida, em diversas concentrações, tanto para fungos do tipo levedura e filamentoso quanto para bactérias, gram negativas e positivas, podendo também ser utilizado com biocida em biodiesel.

O Capítulo 3 descreve a eficiente utilização do Líquido iônico como meio reacional na preparação de NPMs ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  e  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) funcionalizadas com aminoácidos em uma única etapa. Foram obtidas partículas com tamanho médio que variam de 10 a 13 nm de acordo com análises de DRX e Microscopia de Transmissão. O tipo de ferrita obtida foi identificado por

espectroscopia Raman. Por meio de espectroscopia de absorção no infravermelho pode-se verificar a funcionalização das NPMs obtidas por aminoácidos. O meio reacional foi reutilizado pelo menos seis vezes. As partículas foram dispersas tanto em água quanto em pH fisiológico indicando uma possível aplicação biomédica dos nanomateriais obtidos.

## Abstract

Ionic liquids (LIs) appear as environmentally friendly alternative reaction media, with many attractive properties. In this work, the LIs were used effectively in catalytic aminolysis (amide formation) from esters and carboxylic acids. The products obtained from the modification of the soybean oil were used in Biodiesel's chemistry with the production of an antioxidant additive and biocide. Efficiently, the LI was also applied in the synthesis of magnetic nanoparticles.

In Chapter 1 is described the efficiency of a novel catalytic system using Lewis acids ( $\text{CdO}$  or  $\text{SnCl}_2$  or  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ) supported in imidazolium-based ionic liquids to promote aminolysis reactions (amide formation) from esters and carboxylic acids. We report the high catalytic activity of  $\text{SnCl}_2$  and  $\text{CdO}$  as catalysts, and the second one as the best. Ionic liquid played an important role in the stabilization of charged and polar intermediates through  $\text{CH} \dots \pi$  interactions and ion-pairing formation. A mechanistic study through ESI-QTOF-MS(MS) and NMR experiments was also performed. At least eight recycle reactions were conducted with no loss of catalytic activity. ICP analyses showed less than 1% of Cd leaching and no Sn leaching.

Chapter 2 describes the efficient application of the methodology used in Chapter 1 for the preparation of amides on the scale of grams from soybean oil and fatty acids. Products from these reactions showed favorable Physical-chemistry properties for use as antioxidant additives. The biological evaluation of the material obtained also showed that amides mixtures have microbicide activity in various concentrations for both fungi and yeast and for filamentous bacteria of gram negative and positive types, thus showing that the amide derivatives can also be used as biocide additive for biodiesel blends.

Chapter 3 describes the efficient use of ionic liquids as reaction media in the preparation of NPMs ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) functionalized with amino acids and in just one step. Particles were obtained with an average size ranging from 10 to 13 nm according to XRD analyses and MET. The synthesis of NPMs by functionalization with amino acids could be confirmed by infrared absorption spectroscopy. The type of ferrite obtained was identified by Raman



spectroscopy. Recycle reactions were conducted at least six times. The particles disperse well in water at physiological pH, thus indicating a possible biomedical application of the obtained nanomaterials.

## Sumário

0. Apresentação da Tese .....	16
1. Reações de amidação (aminólise) catalítica em Líquidos Iônicos.....	19
1.1 Introdução.....	19
1.2 Objetivo.....	25
1.2.1 Metas .....	25
1.3 Resultados e Discussão .....	26
1.3.1 Reações de amidação catalítica em líquidos iônicos .....	26
1.4 Conclusões .....	54
2. Modificações químicas do biodiesel de soja em meio de líquidos iônicos .....	55
2.1 Introdução.....	55
2.1.1 Biodiesel .....	55
2.1.2 Modificação Química do Biodiesel.....	60
2.1.3 Contaminação microbiana de diesel e biodiesel .....	63
2.2 Objetivos .....	66
2.2.1 Metas .....	66
2.3 Resultados e Discussão .....	66
2.3.1 Análise físico-química da amida graxa derivada de oleato de metila.....	70
2.3.2 Síntese de amidas graxas a partir de óleo de soja.....	73
2.3.3 Análises físico-químicas da mistura de amidas graxas obtidas a partir do óleo de soja. 74	
2.4 Ensaio microbiológico – Teste de perfuração em agar.....	76
2.5 Conclusão.....	78
3. Síntese <i>One-pot</i> de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com aminoácidos.....	79
3.1 Introdução.....	79
3.1.1 Síntese de Nanopartículas funcionalizadas com aminoácidos .....	82
3.1.2 Efeito da funcionalização das NPs .....	86
3.1.3 Aplicações Biomédicas .....	86
3.2 Objetivo.....	90
3.2.1 Metas .....	90
3.3 Resultados e Discussão .....	91
3.3.1 Síntese de Ferritas de Cobalto (CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> ) funcionalizadas com aminoácidos. ..	108
3.3.2 Dispersão de Nanopartículas funcionalizadas com aminoácidos.....	113
3.4 Perspectivas .....	115

3.5	Conclusões .....	116
4.	Parte Experimental.....	117
4.1	Reagentes utilizados .....	117
4.2	Métodos cromatográficos.....	117
4.3	Métodos de análises .....	117
4.3.1	Ressonância Magnética Nuclear .....	117
4.3.2	Análise de HPLC .....	118
4.3.3	Análises de ICP-OES.....	118
4.3.4	Difração de Raios-X .....	118
4.3.5	Espectroscopia Raman .....	119
4.3.6	Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (FTIR) .....	119
4.3.7	Análise Térmogravimétrica (TGA).....	119
4.3.8	Espectrometria de massas.....	119
4.3.9	Análise de densidade de acordo com a norma NBR 7148 .....	120
4.3.10	Determinação do ponto de entupimento a frio ASTM D 6371 .....	120
4.3.11	Viscosidade ASTM D445 .....	121
4.3.12	Estabilidade oxidativa EN14112 .....	122
4.3.13	Avaliação Biocida – Testes de Perfuração em Ágar. ....	124
4.4	Procedimentos Experimentais das Reações.....	126
4.4.1	Síntese do Líquido Iônico BMI.NTf <sub>2</sub> .....	126
4.4.2	Reação geral de amidação catalítica.....	127
4.4.3	Síntese do Biodiesel .....	127
4.4.4	Síntese de Nanopartículas na presença de aminoácidos. ....	127
4.5	Caracterização dos compostos obtidos nas reações de amidação catalítica.....	128

## Lista de Tabelas

Tabela 1.1– Reação de amidação (aminólise) com e sem catalisador em diferentes meios reacionais. Oleato de metila (1,00 mmol), pirrolidina (2,00 mmol) e catalisador (0,05 mmol) a 135 °C por 24 h. ....	30
Tabela 1.2– Variação das aminas na reação de amidação catalítica. ....	32
Tabela 1.3– Variação do rendimento em função da temperatura. ....	33
Tabela 1.4– Reação de aminólise com diferentes catalisadores e BMI.NTf <sub>2</sub> oleato de metila (1,00 mmol), pirrolidina (2,00 mmol) e catalisador (0,05 mmol) a 135 °C por 24 h. ....	34
Tabela 1.5- Reações de aminólise utilizando-se BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub> (0,05 mmol) como catalisador em BMI.NTf <sub>2</sub> a 135 °C.....	35
Tabela 1.6- Reações de aminólise utilizando-se SnCl <sub>2</sub> (0,05 mmol) como catalisador em BMI.NTf <sub>2</sub> a 135 °C.....	36
Tabela 1.7- Reações de aminólise utilizando-se CdO (0,05 mmol) como catalisador em BMI.NTf <sub>2</sub> a 135 °C. ....	37
Tabela 1.8- Reações entre ácido oléico e ácido graxo(1,00 mmol) com pirrolidina (2,00 mmol) e Catalisador (0,05 mmol) em BMI.NTf <sub>2</sub> a 135 °C por 24 h. ....	38
Tabela 1.9– Deslocamento químico do espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz) das ligações C=O e C=C da amida e das misturas. O CDCl <sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm.....	43
Tabela 1.10– Deslocamento químico do espectro de RMN <sup>13</sup> C (75 MHz) das ligações C=O e C=C da amida e das misturas. O CDCl <sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm. ....	47
Tabela 2.1– Especificações exigidas pela ANP de acordo com a resolução ANP N° 7, DE 19.3.2008 - DOU 20.3.2008. *Os dados presentes nesta tabela foram retirados do site da Agência Nacional do Petróleo e estão disponíveis no endereço: <a href="http://www.anp.gov.br">http://www.anp.gov.br</a> , acessado em 12 de outubro de 2011.....	59
Tabela 2.2– Valores referentes à análise de calorimetria diferencial de varredura.....	71
Tabela 2.3- Análise de oxidação acelerada de acordo com a norma EN 14112. ....	72
Tabela 2.4- Análise de oxidação acelerada de acordo com a norma EN 14112. ....	75
Tabela 2.5– Valores médios das dimensões dos halos de inibição em milímetros. ....	77
Tabela 3.1– Bandas vibracionais dos espectros de absorção no infravermelho da magnetita funcionalizada com L-arginina descritas na literatura e obtidas neste trabalho.....	97
Tabela 3.2– Dados obtidos com as análises de TGA das NPMs funcionalizadas. ....	99
Tabela 3.3– Bandas de Raman de Magnetitas funcionalizadas com L- serina e Glicina. ....	102
Tabela 3.4– Números de onda (cm <sup>-1</sup> ) observados para os modos de estiramento simétrico e antissimétrico de magnetitas funcionalizadas com Glicina, L- serina e L-ácido aspártico em seus respectivos espectros de IV. ....	105
Tabela 3.5– Números de onda (cm <sup>-1</sup> ) observados para as bandas referentes a ferrita de cobalto e para as ferritas de cobalto funcionalizadas com L- serina e Glicina em seus respectivos espectros de absorção no IV. ....	111
Tabela 3.6– Números de onda (cm <sup>-1</sup> ) observados para os modos de estiramento simétrico e antissimétrico de ferritas de cobalto funcionalizadas com Glicina, L- serina e L-ácido aspártico em seus respectivos espectros de absorção no IV. ....	113

## Lista de Figuras

Figura 1.1. Líquidos iônicos comumente utilizados.....	23
Figura 1.2- Espectros de FTIR-(ATR) do oleato de metila puro e da amida derivada da reação entre o oleato de metila e a pirrolidina. ....	28
Figura 1.3- Espectros de RMN <sup>1</sup> H dos compostos (1.10 e 1.11).....	29
Figura 1.4- Aminas utilizadas nas reações de amidações catalítica.....	31
Figura 1.5- Reações de reciclo em BMI.NTf <sub>2</sub> a 135 °C utilizando óleo de soja (1,00 mmol) ou ácido graxo proveniente da hidrólise do óleo de soja (1,00 mmol) e pirrolidina (2,00 mmol) como amina por 24 h. (A / B) CdO (0,05 mmol) e (C / D) SnCl <sub>2</sub> (0,05 mmol) como catalisadores. ....	40
Figura 1.6– Perfil do rendimento da reação versus o tempo reacional envolvendo CdO (esquerda) e SnCl <sub>2</sub> (direita) como catalisadores.....	41
Figura 1.7– TON (x10 <sup>2</sup> ) e TOF instantâneo das reações catalisadas por CdO (Δ com ajuste sigmoidal da curva) e SnCl <sub>2</sub> (◻ com ajuste linear da curva) foram calculadas como mols do substrato convertido em produto por mol em catalisador. TOF instantâneos são representados pela derivada de primeira ordem da curva ajustada. Linha tracejada para SnCl <sub>2</sub> e linha pontilhada para CdO. ....	42
Figura 1.8– Ampliações dos espectros de RMN - <sup>13</sup> C para os sinais referentes ao carbono da carbonila (esquerda) e para os sinais referentes aos carbonos da ligação C=C (direita). (A) e (D) Mistura de oleato de metila e BMI.NTf <sub>2</sub> . (B) e (E) Mistura de oleato de metila, BMI.NTf <sub>2</sub> , pirrolidina e CdO. (C) e (F) Oleato de metila puro. O CDCl <sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm. ....	44
Figura 1.9– Ativação do carbono da carbonila na presença de BMI.NTf <sub>2</sub> . Interação entre o oleato de metila e o cátion imidazólio.....	45
Figura 1.10– Proposta da interação ocorrida na mistura reacional (oleato de metila, BMI.NTf <sub>2</sub> , pirrolidina e CdO).....	46
Figura 1.11- ESI(+)-QTOF de alta resolução da mistura de CdO, pirrolidina e oleato de metila em solução de ácido metanóico (ácido fórmico 0,01%). (A) Espectro completo da mistura, (B) Expansão da região de m/z 649-660 do espectro real. (C) Espectro simulado do íon [C <sub>24</sub> H <sub>47</sub> NO <sub>5</sub> Cd <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , (D) Expansão da região m/z 451-458 do espectro real, (E) Espectro simulado do íon [C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> O <sub>4</sub> Cd] <sup>+</sup> .....	49
Figura 1.12– Íon interceptado de m/z 649-660.....	50
Figura 3.1– Representação esquemática da síntese do tipo One Pot de NPMs funcionalizadas com aminoácidos.....	92
Figura 3.2- (a) Imagem MET e (b) Histograma da distribuição de tamanho de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizadas com L- Arginina. ....	92
Figura 3.3- Difratoograma de Raios-X (método do pó) para a NPM funcionalizada com L- Arginina. ....	93
Figura 3.4– Espectros Raman: (a) L- Arginina e (b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com L- Arginina. ....	95
Figura 3.5– DRIFT-IR para (a) Arginina e (b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada. ....	96
Figura 3.6– Estruturas propostas por Nakamoto para compostos metal carboxilato.....	98
Figura 3.7- Termograma para a amostra de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> , Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada e o funcionalizador (L- Arginina). ....	98
Figura 3.8– Aminoácidos e dipeptídeo utilizados na síntese de NPMs.....	100

Figura 3.9- Difratoograma de Raios-X (método do pó) para a NPM funcionalizada com L- serina e glicina. ....	101
Figura 3.10- Espectros Raman de magnetitas funcionalizadas com L-serina e Glicina.....	102
Figura 3.11– Espectros de absorção no Infravermelho para (a) L-ácido aspártico e (b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com L-ácido aspártico. ....	103
Figura 3.12– FT-IR para (a) Glicina e (b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com Glicina. ....	103
Figura 3.13– FT-IR para (a) L-serina e (b) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com L-serina. ....	104
Figura 3.14– Espectro Raman obtido da amostra de Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com Glicina após o aumento da frequência do laser.....	106
Figura 3.15- Espectro de FTIR (a) magnetita funcionalizada com D-L-alanina; (b) magnetita funcionalizada com L-fenilalanina (c) magnetita funcionalizada com L- prolina.....	107
Figura 3.16- Espectro de FTIR magnetita funcionalizada com glutatona. ....	108
Figura 3.17– Representação esquemática da síntese do tipo One Pot de NPMs do tipo CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> funcionalizadas com aminoácidos. ....	109
Figura 3.18- Difratoograma de Raios-X (método do pó) para a NPM do tipo CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> funcionalizada com L-ácido aspártico, L- serina e glicina.....	110
Figura 3.19- Espectro RAMAN: (a) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Ser (b) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Gly.....	111
Figura 3.20- Espectro de FTIR (a) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /ASP (b) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Ser (c) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Gly. ....	112
Figura 3.21- (a) Nanopartículas dispersas tempo zero. (b) Nanopartículas após uma hora. ...	114
Figura 3.22– (1) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ser; (2) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Ser; (3) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Ac.Asp; (4) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Ac.Asp; (5) Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> /Gly; (6) CoFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /Gly.....	114
Figura 4.1– Viscosímetro de Ubbelohde e banho termostatizado .....	121
Figura 4.2- Aparelho 873 Biodiesel Rancimat.....	122
Figura 4.3– Esquema geral do sistema de oxidação acelerada do biodiesel .....	123
Figura 4.4– (a) Placa de Petri contendo ágar-sangue e preparo dos reservatórios. (b) Aplicação de cultura de fungo em placa de Petri contendo ágar Sabouroud-maltose .....	125
Figura 4.5– Etapa de incubação.....	125

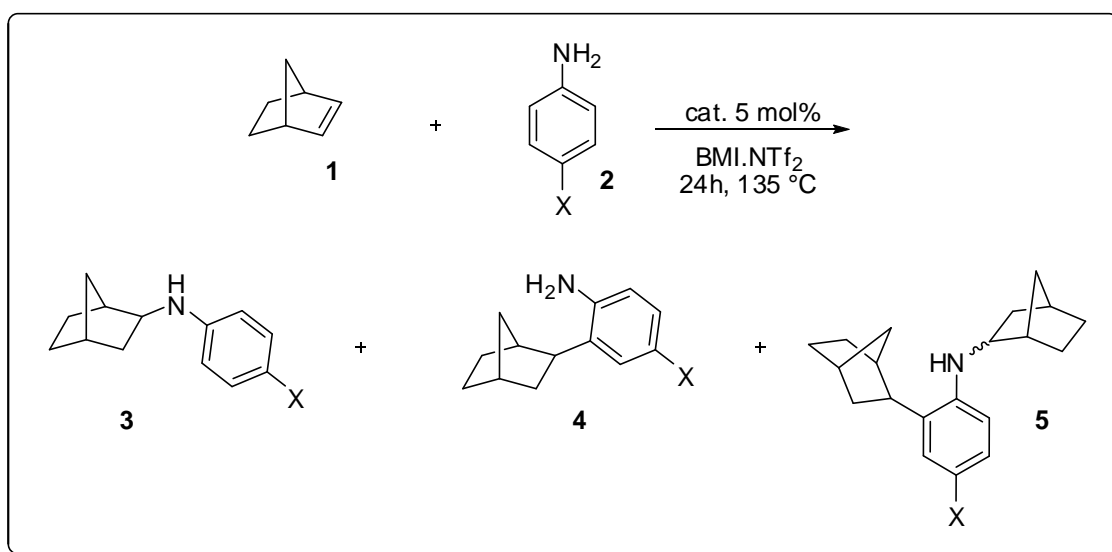
## Lista de Esquemas

Esquema 1.1– Metodologia de síntese de amidas graxas desenvolvida por D' Oca e colaboradores.....	20
Esquema 1.2– Reação de amidação de álcoois alílicos e benzílicos catalisada por FeCl <sub>3</sub> .....	20
Esquema 1.3– Reação de acoplamento de ácidos carboxílicos e azida via formação de selenotriazolina .....	21
Esquema 1.4– Síntese de amidas graxas.....	22
Esquema 1.5– Preparação do bis-(trifluorometilsulfonil)imida de 1-n-butil-3-metilimidazólio (1.9).....	26
Esquema 1.6 - Reação teste de aminólise catalítica utilizando oleato de metila.....	27
Esquema 1.7- Reação geral de amidação (aminólise) catalítica.....	30
Esquema 1.8– Reação de aminólise catalítica utilizando óleo de soja .....	39
Esquema 1.9- Proposta de ciclo catalítico para reações de aminólise em líquidos iônicos imidazólios.....	51
Esquema 1.10– Estado de transição de seis membros proposto para reação de aminólise. ....	52
Esquema 2.1- Reação de transesterificação na formação de biodiesel.....	56
Esquema 2.2– Modificação Química do biodiesel com geração de grupos éteres e hidroxilas na cadeia. ....	61
Esquema 2.3- Modificação Química do biodiesel com geração de grupos ésteres e hidroxilas na cadeia .....	62
Esquema 2.4– Síntese de amidas derivadas de cloretos de ácidos em meio básico.....	67
Esquema 2.5– Síntese de amidas a partir de óleo de soja.....	68
Esquema 2.6- Reação de aminólise catalisada por CdO em BMI.NTf <sub>2</sub> na temperatura de 135 °C. ....	69
Esquema 2.7– Reação de aminólise catalítica utilizando óleo de soja. ....	73

## Apresentação da Tese

A busca crescente por fontes renováveis de energia devido ao aumento do consumo de combustíveis fósseis e a diminuição de suas reservas, aliados a questões políticas, sociais, econômicas e ambientais. O principal biodiesel produzido no Brasil, o biodiesel de soja, possui principalmente problemas relacionados à estabilidade oxidativa. Alternativas para solucionar este problema já vêm sendo tomadas. Porém, são soluções para utilização em curto prazo, sugerindo a necessidade de desenvolver metodologias envolvendo a modificação química do biodiesel, de forma a obter um biocombustível com maior fluidez e estabilidade à oxidação, além de melhor desempenho a baixas temperaturas.

Neste contexto, a idéia inicial da Tese era inserir nas moléculas de biodiesel o grupo amina por meio de uma reação de hidroaminação (Esquema 1), conforme metodologia desenvolvida por Dupont *et al.*<sup>1</sup>



Esquema 1 - Reação de Hidroaminação e hidroarilação em Líquidos iônicos.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Lapis, A. A. M.; Neto, B. A. D.; Scholten, J. D.; Nachtigall, F. M.; Eberlin, M. N.; Dupont, J. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 6775.



A utilização da metodologia de hidroaminação tinha por objetivo a busca por um novo biocombustível, o qual apresentaria não somente a sua estabilidade oxidativa aumentada, mas também uma melhora significativa nas suas propriedades a frio, já que nas duplas presentes na estrutura do biodiesel seriam trocadas pelo grupamento amina.

Em seguida, sabendo-se que recentemente em nosso grupo de pesquisas, foi demonstrado que NPMs podem ser obtidas em uma única etapa via decomposição térmica de precursores do tipo  $M^n(\text{Acac})_n$  ( $n = 2$  ou  $3$ ;  $M = \text{Fe, Co, Ni, Mn}$ ;  $\text{Acac} = \text{acetilacetonato}$ ) empregando LIs como solventes e oleilamina como agente redutor e modificador de superfície,<sup>2</sup> a estratégia a ser adotada previa o uso dos produtos obtidos por modificação química de biodiesel ou de ácidos graxos do óleo de soja. Assim, esperava-se desenvolver materiais nanoestruturados baseados em nanopartículas (NPs) magnéticas derivadas de maguemita e ferritas do tipo  $M\text{Fe}_2\text{O}_4$  ( $M = \text{Fe, Co, Ni, Mn, Cu, Zn}$ ), entre outras, funcionalizadas por substâncias sintetizadas pela modificação química de óleo de soja, tendo em vista a obtenção de lubrificantes com propriedades magnéticas.

No entanto, sabendo-se da diferença do substrato utilizado por Dupont (norboneno) em relação ao utilizado neste trabalho, espera-se tanto o produto de uma reação de hidroaminação quanto o de uma reação de aminólise. Pelo fato de a olefina utilizada neste trabalho ser menos reativa que a utilizada no trabalho citado, obteve-se o produto de aminólise por meio do ataque nucleofílico da amina à carbonila do éster ou ácido carboxílico. Dessa forma, resolveu-se investigar a fundo esse tipo de reação, devido à possibilidade de desenvolvimento de uma metodologia eficiente para a promoção de reações de aminólises catalíticas (formação de amida) a partir de ésteres e ácidos graxos, envolvendo diferentes ácidos de Lewis em líquidos iônicos.

Vale ressaltar que, como não foram obtidos produtos da reação de hidroaminação, que seriam utilizadas na produção de lubrificantes magnéticos, resolveu-se ampliar a metodologia desenvolvida em nosso grupo de pesquisas por Oliveira e colaboradores citada anteriormente. Dessa forma, foram

---

<sup>2</sup> Oliveira, F. C. C.; Rossi, L. M.; Rubim, J. C. "Processo de obtenção de nanopartículas magnéticas utilizando líquidos iônicos como solventes e sua aplicação na preraração de dispersões estáveis em solventes não-polares." (Prot. INPI: 01210000066). **2010**.

utilizados aminoácidos para a funcionalização das nanopartículas magnéticas (NPMs).

É importante ressaltar que a escolha por sintetizar NPMs do tipo  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) funcionalizadas por aminoácidos se deu pelo fato de se buscar a obtenção de uma dispersão estável em meio biológico e/ou meio aquoso. Levando-se em consideração que tanto o ferro quanto os aminoácidos estão presentes no organismo humano, a presença do ferro e dos aminoácidos pode indicar uma biocompatibilidade das NPMs formadas para com o organismo, de forma a não causar danos e minimizar possíveis rejeições, possibilitando a utilização das NPMs obtidas na liberação controlada de fármacos, como agentes de contraste e hipertermia, por exemplo.

# 1. Reações de amidação (aminólise) catalítica em Líquidos Iônicos

## 1.1 Introdução

A construção de moléculas com aplicação biológica ou tecnológica, bem como a união de fragmentos complexos são pontos chaves na síntese orgânica. Dessa forma, estudos que possibilitem a formação da ligação amida são de grande importância. As amidas possuem grande aplicabilidade na indústria, seja na área farmacológica, estando presente em aproximadamente 25 % dos fármacos conhecidos,<sup>3</sup> seja em aplicações tecnológicas, como por exemplo, na Química do Biodiesel.<sup>4</sup> Em virtude de tantas aplicações, o empenho em estudos metodológicos que visem a construção da ligação amida por um sistema catalítico, ecologicamente mais amigável, se torna um desafio.

Apesar das amidas, em especial as amidas graxas, estarem ganhando um destaque bastante significativo quanto às várias aplicações biológicas que possuem, pouco estudo vem sendo desenvolvido quanto à síntese destes compostos.<sup>5</sup> De um modo geral, as reações de aminólise são efetuadas a partir de derivados de ácidos carboxílicos que possuem carbonilas mais reativas, para um posterior tratamento com amina e formação da amida.<sup>6</sup> Essa alternativa de síntese se torna viável a partir do momento em que é sabido que à temperatura ambiente, aminas e ácidos carboxílicos levam à formação de sais.

Recentemente, D'Oca e colaboradores demonstraram a síntese de amidas graxas em duas etapas.<sup>7</sup> A primeira, sendo a transesterificação do óleo de mamona em ésteres metílico, pelo tratamento do óleo com ácido sulfúrico e

<sup>3</sup> Ghose, A. K.; Viswanadhan, V. N.; Wendoloski, J. J. *Comb. Chem.* **1999**, *1*, 55.

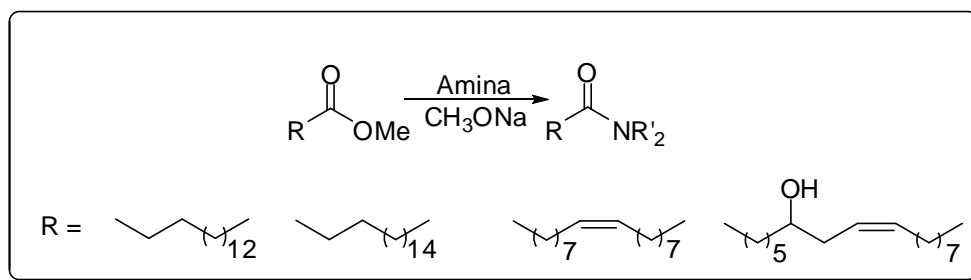
<sup>4</sup> Serdari, A.; Lois, E.; Stourmas, S. *Int. J. Energ. Res.* **2000**, *24*, 455.

<sup>5</sup> Farrell, E. K.; Merkle, D. J. *Drug Discov. Today*, **2008**, *13*, 558.

<sup>6</sup> (a) Bender, M. L. *Chem. Rev.* **1960**, 53. (b) kangani, C. O.; Kelley, D. E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8917. (c) Won, J. E.; Kim, K. K.; Yim, J. J.; Kim, M. J.; Kang, S. B.; Chung, H. A.; Lee, S. G.; Yoon, Y. J. *Tetrahedron*, **2008**, *63*, 12720. (d) Kumar, N.; Krishnan, M.; Azzam, T.; Magora, A.; Ravikumar, M. N. V.; Flanagan, D. R.; Domb, A. J. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, *465*, 257. (e) Guo, Z.; Dowdy, E. D.; Li, W. S.; Polniaszek, R.; Delaney, E. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1843.

<sup>7</sup> Lopes, C. R.; D'Oca, C. D. R. M.; Duarte, R. C.; Kurz, M. H. S.; Primel, E. G.; Clementin, R. M.; Villarreyes, J. A. M.; D'Oca, M. G. M. *Química Nova*, **2010**, *33*, 1335.

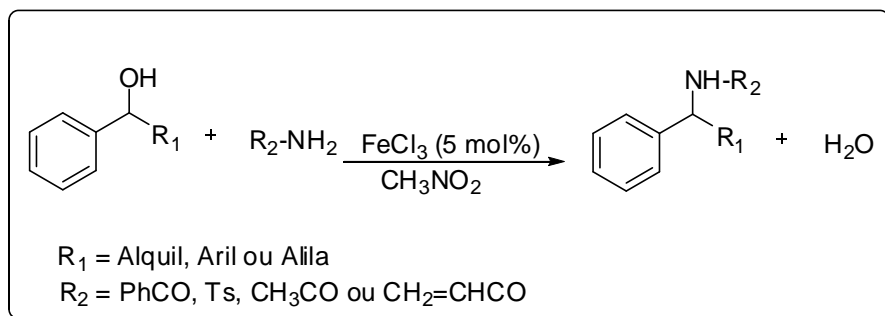
metanol. A segunda etapa ocorreu do tratamento dos ésteres metílicos derivados do óleo de mamona com metóxido de sódio e amina (Esquema 1.1).



**Esquema 1.1– Metodologia de síntese de amidas graxas desenvolvida por D’Oca e colaboradores**

Este trabalho é interessante, pois além de possuírem a ligação amida, os compostos obtidos possuem longas cadeias carbônicas que são bastante úteis na Química Medicinal e na Química do Biodiesel. Vale ressaltar que foram obtidas amidas graxas a partir de aminas acíclicas e cíclicas por um processo simples. A síntese, porém, ocorre em duas etapas e utiliza-se uma base forte adicional.

Um outro método, desenvolvido por Jana e colaboradores, sintetiza amidas a partir de álcoois secundários e amina.<sup>8</sup> Nesta reação, a síntese é mediada por cloreto de ferro (III) em nitrometano (Esquema 1.2).

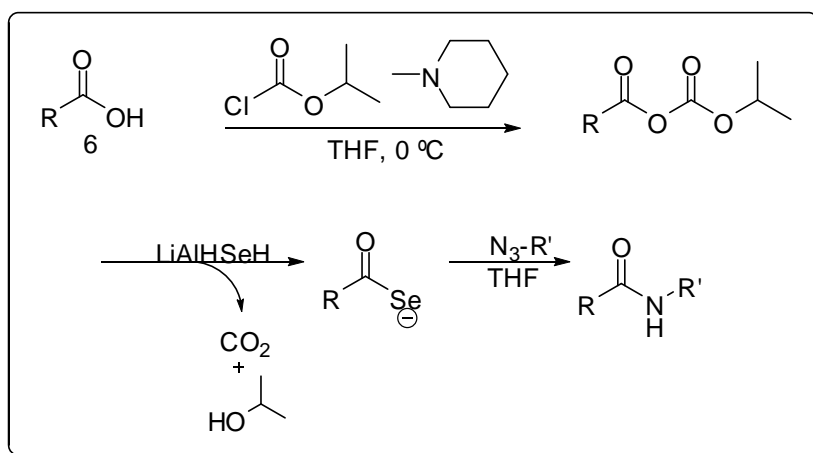


**Esquema 1.2– Reação de amidação de álcoois alílicos e benzílicos catalisada por FeCl<sub>3</sub>**

Apesar de ser um método que utiliza um catalisador bastante prático, a metodologia é bastante restrita, não sendo utilizada para sistemas simples como ésteres e ácidos carboxílicos.

<sup>8</sup> Jana, U.; Maiti, S.; Biswas, S. *Tetrahedron. Lett.* **2008**, *49*, 858.

Em 2007, Hu e colaboradores sintetizaram amidas a partir do acoplamento do ácido carboxílico e azida via formação de selenotriazolina (Esquema 1.3).<sup>9</sup>



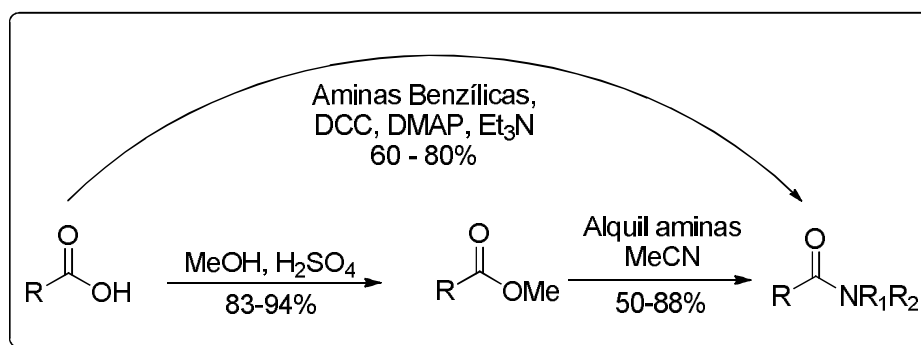
**Esquema 1.3– Reação de acoplamento de ácidos carboxílicos e azida via formação de selenotriazolina**

Nessa metodologia, os ácidos carboxílicos são tratados com LiAlHSeH para ativação do ácido carboxílico na forma de selenocarboxilatos. Em seguida, esses reagem com azidas para a formação de amidas via formação de selenotriazolina. Apesar de ser um método interessante, que ocorre de forma *one pot*, não se trata de um método muito viável por utilizar reagentes caros.

Recentemente, em outro trabalho, D'Oca e colaboradores demonstraram a síntese de amidas graxas com atividade antituberculose.<sup>10</sup> Neste trabalho, os autores demonstraram dois métodos de síntese. O primeiro método ocorre em duas etapas, sendo a primeira de esterificação, seguida do tratamento dos ésteres obtidos com amina em acetonitrila (Esquema 1.4).

<sup>9</sup> Wu, X.; Hu, L. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 765.

<sup>10</sup> D'Oca, C. D. M.; Coelho, T.; Marinho, T. G.; Hack, C.R,L.; Duarte, R. C.; da Silva, P. A.; D'Oca, M. G. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5255.



*Esquema 1.4– Síntese de amidas graxas*

O segundo método ocorre pelo tratamento de ácidos graxos com aminas benzílicas, DCC, DMAP, Et<sub>3</sub>N em acetonitrila com rendimentos que variam de moderados a bons (Esquema 1.4). Este trabalho apesar de ter levado a diversas amidas com atividade antituberculose, sendo bastante significativa na área biológica, faz uso de reagentes de custo elevado, o que é em muitos casos limitante quanto a aplicabilidade da metodologia. Outro fator importante, é que em um dos casos, a metodologia necessita de duas etapas para síntese de amidas graxas, não podendo ser utilizada diretamente a partir de ácidos graxos de óleos vegetais e animais.

De um modo geral, várias metodologias de aminólise foram desenvolvidas. Nessas metodologias, são obtidos baixos rendimentos, utilizam-se reagentes caros, o sistema ocorre com difícil separação do produto e a não reutilização do catalisador, ocorrem com o emprego de grande excesso molar de reagentes, o uso de solventes orgânicos e, em alguns casos, a presença de uma base adicional tornam estes métodos não muito utilizados. Alguns exemplos, são a utilização de Sn (IV), Sm (III),<sup>11</sup> enzimas,<sup>12</sup> deoxo-reagente flúor,<sup>13</sup> ésteres ativados com benzotriazóis,<sup>14</sup> ou de solvente.<sup>15</sup>

<sup>11</sup> Chisholm, M. H.; Delbridge, E. E.; Gallucci, J. C. *New J. Chem.* **2004**, 28, 145.

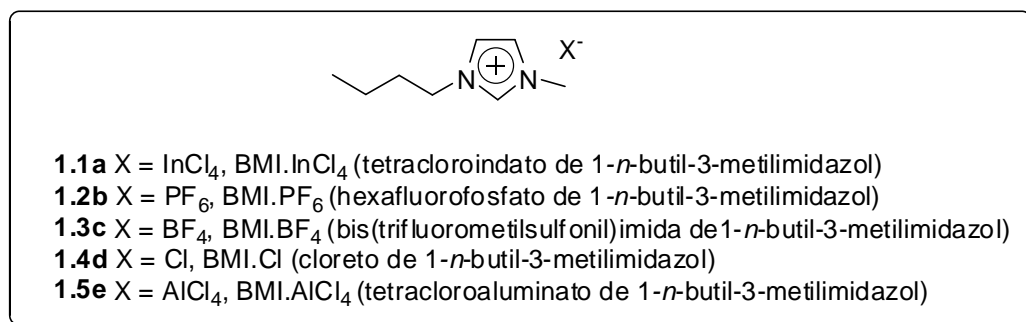
<sup>12</sup> (a) Couturier, L.; Taupin, D.; Yvergnaux, F. *J. Mol. Catal. B: Enz.* **2009**, 56, 29. (b) Aoyagi, N.; Kawauchi, S.; Izumi, T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 5609. (c) Dhake, K. P.; Qureshi, Z. S.; Singhal, R. S.; Bhanage, B. M. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2811.

<sup>13</sup> Kangani, C. O.; Kelley, D. E. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 8917.

<sup>14</sup> (a) Carpino, L. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 4397. (b) Malow, M.; Wehrstedt, K.D.; Neuenfeld, S. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 1233.

<sup>15</sup> (a) Karis, N. D.; Loughlin, W. A.; Jenkins, I. D. *Tetrahedron* **2007**, 63, 12303. (b) Sabot, C.; Kumar, K. A.; Meunier, S.; Mioskowski, C. *Tetrahedron Lett.* **2007**, 48, 3863.

Dentre os grandes problemas das metodologias citadas anteriormente, está o uso de solventes orgânicos. A busca por metodologias cada vez mais eficientes deve estar aliada ao desenvolvimento auto-sustentável. Com isso, é crescente a preocupação com o desenvolvimento de técnicas e metodologias que reduzam ou eliminem o uso de solventes ou a geração de produtos e subprodutos tóxicos, os quais são nocivos a saúde humana ou ao meio ambiente.<sup>16</sup> Apesar de alguns trabalhos na literatura contestarem pontos relacionados a toxidez dos LIs,<sup>17</sup> estes têm sido considerados como meios reacionais alternativos ecologicamente amigáveis, com inúmeras propriedades atrativas, sendo em diversos casos, facilmente adaptado ao processo industrial, se enquadrando perfeitamente na química sustentável (LIs, Figura 1.1).<sup>18</sup>



**Figura 1.1. Líquidos iônicos comumente utilizados**

Por serem bons solventes para materiais orgânicos e inorgânicos, os LIs tornam viável a utilização de ambos materiais no mesmo meio reacional. Possuem pressão de vapor desprezível, o que os torna um excelente solvente para química verde. Outras características relevantes tornam ainda mais atrativa a utilização de LIs, tais como: são solventes não coordenantes; podem

<sup>16</sup> Collins, T. *Science* **2001**, 291, 48.

<sup>17</sup> (a) Samorì, C.; Sciutto, G.; Pezzolesi, L.; Galletti, P.; Guerrini, F.; Mazzeo, R.; Pistocchi, R.; Prati, S.; Tagliavini, E. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, 24, 392. (b) Ranke, J.; Stolte, S.; Stormann, R.; Arning, J.; Jastorff, B. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 2183. (c) Pham, T. T. P.; Cho, C.W.; Yun, Y.S. *Water Res.* **2010**, 44, 352.

<sup>18</sup> (a) Schüth, F. *Chem. Unserer Zeit* **2006**, 40, 92-103. (b) Reichhardt, C; *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, Wiley-VCH: Weinheim, 4<sup>th</sup> Edition **2010**. (c) Wasserscheid, P.; Welton, T.; *Ionic Liquids in Synthesis*, Wiley-VCH: Weinheim, 2<sup>th</sup> Edition **2007**.

ser utilizados em catálise heterogênea; há diversos relatos na literatura de que melhoram a seletividade e rendimentos de reações orgânicas;<sup>19</sup> além de promoverem reações que em meio de solventes orgânicos clássicos são difíceis de ocorrer.<sup>20</sup> Além disso, podem ser utilizados em reações de reciclo, as quais são importantes devido a economia e a conservação de recurso. De um modo geral, a importância dos LIs está intimamente ligada a sua estrutura, o que possibilita a capacidade de co-promover a formação e/ou estabilização de intermediários através da formação de diversos pares iônicos supramoleculares: é o chamado “efeito do líquido iônico” (“*ionic liquid effect*”).<sup>21</sup> Esses pares iônicos supramoleculares que os LIs apresentam são formados por meio de interações do tipo: forças de interação Coulombianas, ligações de hidrogênio, interações do tipo empilhamento  $\pi$  ( $\pi$ -stacking) entre anéis aromáticos e interações do tipo van der Waals entre cadeias alifáticas.<sup>22</sup>

Mediante o exposto, e sabendo da importância de se desenvolver sistemas catalíticos para promoção de reações importantes como as reações de aminólises de ésteres (e ácidos carboxílicos) que estão entre as reações mais básicas e fundamentais,<sup>23</sup> especialmente na geração de amidas em biomoléculas, torna-se altamente desafiador o desenvolvimento de uma metodologia que alie a Química sustentável, à formação da ligação carbono-nitrogênio e à utilização de sistemas catalíticos eficientes.

---

<sup>19</sup> (a) Pilli, R. A.; Robello, L. G.; Camilo, N. S.; Dupont, J.; Lapis, A. A. M.; DaSilveira Neto, B. A. *Tetrahedron Let.* **2006**, *47*, 1669. (b) DaSilveira Neto, B. A.; Ebeling, G.; Gonçalves, R. S.; Gozzo, F. C.; Eberlin, M. N.; Dupont, J. *Synthesis* **2004**, 1155. (c) Neto, B. A. D.; Lapis, A. A. M.; Alves, M. B., Nachtigall, F. M.; Eberlin, M. N.; Dupont, J.; Suarez, P. A. Z. *J. Catal.* **2007**, *249*, 154.

<sup>20</sup> (a) Chauvin, Y.; Musmann, L.; Olivier, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1996**, *34*, 2698. (b) Dullius, J. E. L.; Suarez, P. A. Z.; Einloft, S.; de Souza, R. F.; Dupont, J. *Organometallics* **1998**, *17*, 815. (c) Carmichael, A. J.; Earle, M. J.; Holbrey, J. D.; McCormac, P. B.; Seddon, K. R. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 997. (d) de Bellefon, C.; Pollet, E.; Grenouillet, P. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1999**, *145*, 121.

<sup>21</sup> Dupont, J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2004**, *15*, 341.

<sup>22</sup> Consorti, C. S.; de Souza, R. F.; Dupont, J.; Suarez, P. A. Z. *Quim. Nova*, **2001**, *24*, 830.

<sup>23</sup> Ilieva, S.; Galabov, B.; Musaev, D. G.; Morokuma, K.; Schaefer, H. F. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1496.



## 1.2 Objetivo

Desenvolver uma metodologia de aminólise catalítica em meio ecologicamente amigável (Íquidos iônicos - LIs).

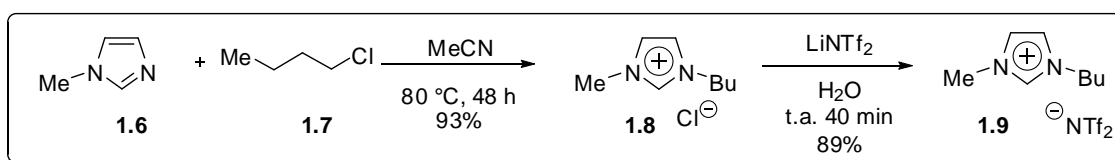
### 1.2.1 Metas

- Síntese dos LIs imidazólios;
- Estudo de condições reacionais envolvendo variações do meio, aminas, catalisadores, ésteres e ácidos carboxílicos utilizados;
- Viabilização de reações de reciclo;
- Estudo do efeito do LI na reação;
- Estudo mecanístico da reação de aminólise.

## 1.3 Resultados e Discussão

### 1.3.1 Reações de amidação catalítica em líquidos iônicos

A primeira etapa do trabalho foi a síntese do LI imidazólio (BMI.NTf<sub>2</sub>) de acordo com a metodologia desenvolvida por Dupont e colaboradores (Esquema 1.5).<sup>24</sup>



*Esquema 1.5– Preparação do bis-(trifluorometilsulfonyl)imida de 1-n-butil-3-metilimidazólio (1.9).*

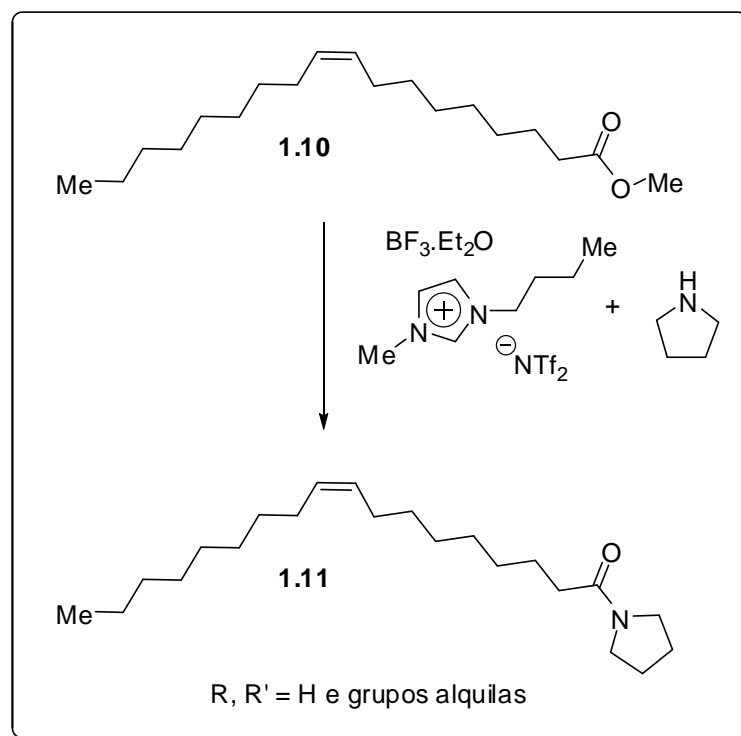
De acordo com o Esquema 1.5, o composto (1.8) foi obtido pelo tratamento de *N*-metilimidazol (1.6) com 1-cloro-butano (1.7) a 80 °C em acetonitrila anidra por 48 h, obtendo-se o produto em 93% de rendimento. Em seguida, o composto (1.8) foi tratado com LiNTf<sub>2</sub> em água por 40 min à temperatura ambiente para a obtenção do LI (BMI.NTf<sub>2</sub>) em 89% de rendimento. O LI obtido foi caracterizado por análise de Ressonância Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C RMN). Vale ressaltar que para compreender a troca iônica para a formação do LI dois fatores devem ser levados em consideração: a estabilidade do ânion (a formação do par iônico BMI<sup>+</sup> e NTf<sub>2</sub><sup>-</sup> é energeticamente mais favorável em relação ao par iônico BMI<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup>) e a solubilidade (efeito *salting-out* - o LiCl formado se solubiliza na água diminuindo a solubilidade do LI formado, que fica na fase orgânica).<sup>25</sup>

Após a síntese do LI, testou-se uma reação utilizando-se oleato de metila (1.10) como substrato modelo, principalmente devido à aplicação de diversos de seus derivados na indústria química<sup>26</sup> (Esquema 1.6).

<sup>24</sup> Dupont, J.; Consorti, C. S.; Suarez, P. A. Z.; de Souza, R. F. *Organic Syntheses, Coll. Vol.* **2004**, *10*, 184 e **2002**, *79*, 236.

<sup>25</sup> Hey, M. J.; Jackson, D. P.; Yan, H. *Polymer* **2005**, *46*, 2567.

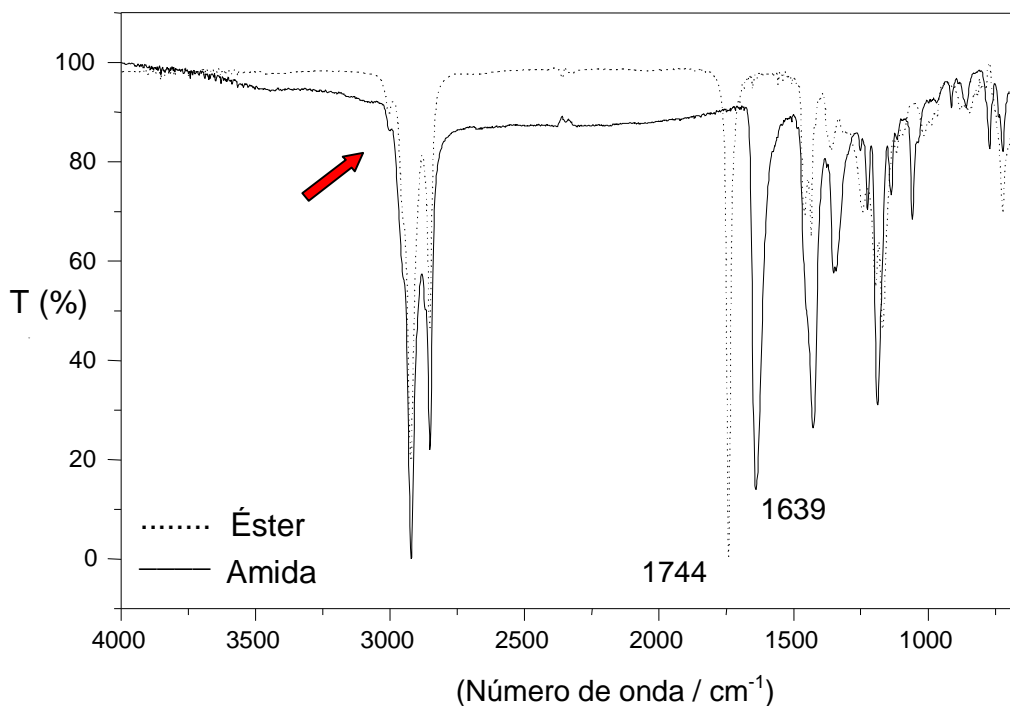
<sup>26</sup> Satyarthi, J. K.; Srinivas, D.; *Appl. Catal., A* **2011**, *401*, 189.



**Esquema 1.6 - Reação teste de aminólise catalítica utilizando oleato de metila.**

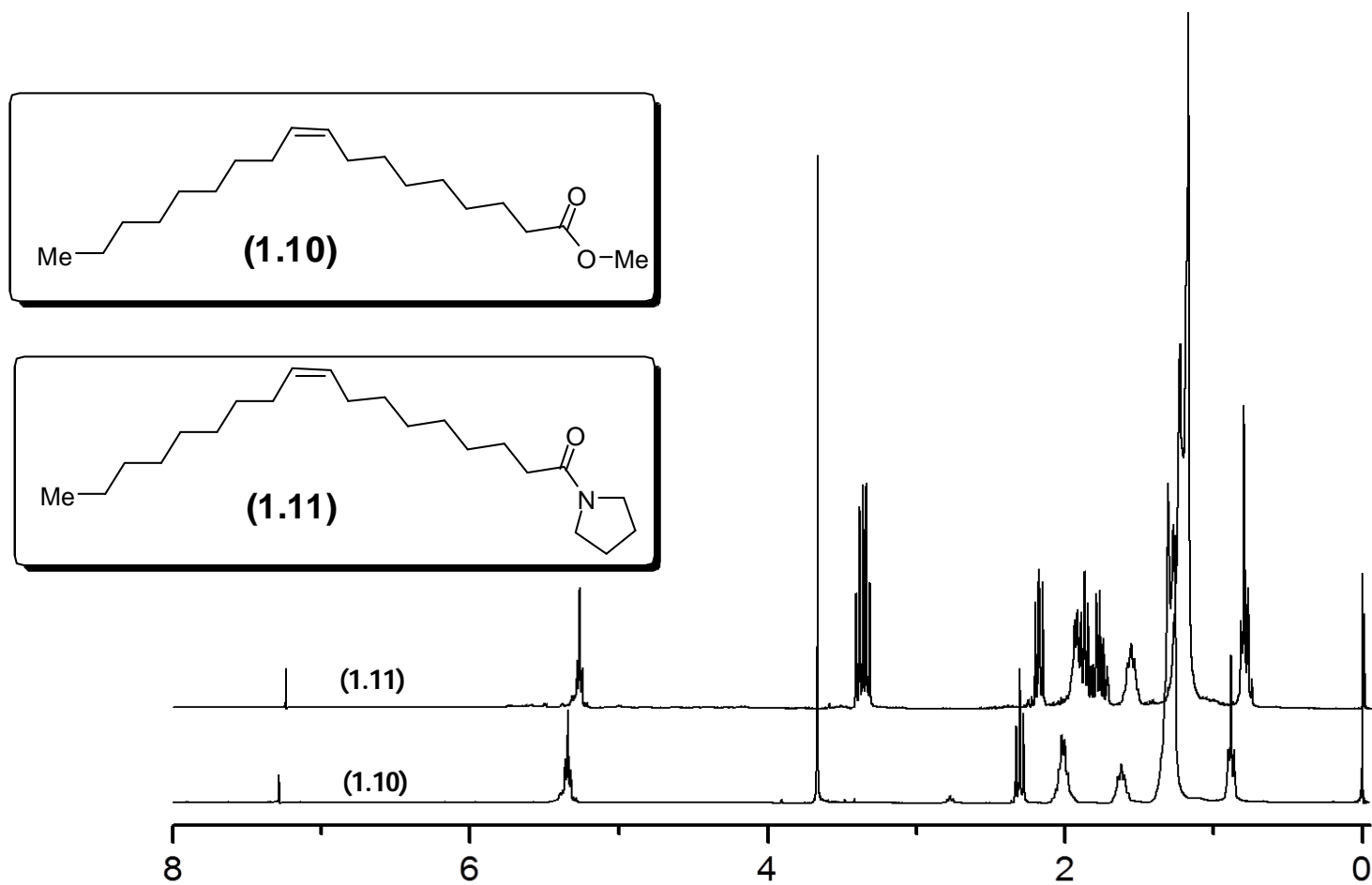
Utilizando-se Schlenk selado, foram adicionados o LI, o oleato de metila (**1.10**), a pirrolidina e o  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (ácido de Lewis, 0,05 mol%). Após o sistema ser mantido por 24 h a  $135\text{ }^\circ\text{C}$ , o produto foi extraído do meio reacional com hexano e em seguida isolado em 95 % de rendimento e caracterizado por HPLC, IV,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ -RMN.

Como pode ser observado na Figura 1.2, os espectros de absorção no infravermelho do éster e da amida apresentam as bandas referentes ao estiramento  $\text{C}=\text{O}$  do éster e da amida com os números de onda diferenciados:  $1744\text{ cm}^{-1}$  para o éster e  $1639\text{ cm}^{-1}$  para a amida. Essa diferença de deslocamento pode ser explicada por dois fatores: a força de ligação  $\text{C}-\text{O}$  é maior que a da ligação  $\text{C}-\text{N}$  e a doação do par de elétrons não ligante do nitrogênio para o orbital  $\pi^*_{\text{C}=\text{O}}$  é mais efetiva do que a doação do par de elétrons livre do oxigênio.



*Figura 1.2- Espectros de FTIR-(ATR) do oleato de metila puro e da amida derivada da reação entre o oleato de metila e a pirrolidina.*

Outro ponto relevante é que, após o isolamento do produto, a presença de hidrogênios olefínicos (acima de  $3000\text{ cm}^{-1}$ , como indicado pela seta na Figura 1.2) ainda continua sendo observado. A presença desses hidrogênios pode ser confirmada pela Figura 1.3 que apresenta os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para oleato de metila (**1.10**) e para o composto (**1.11**).

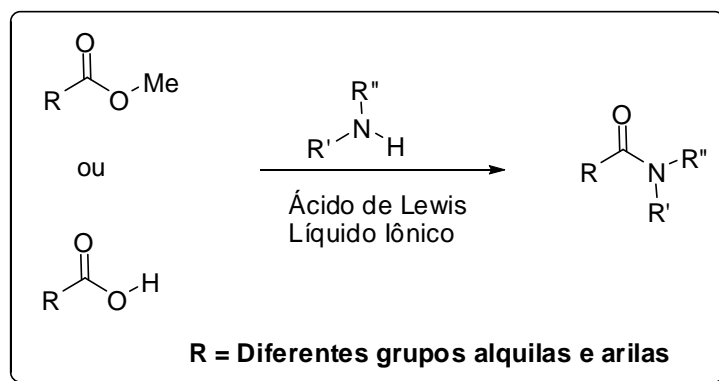


**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** **Composto (1.10)** -  $\delta$  (ppm) 5,34 (m, 2H); 3,66 (s, 3H); 2,30 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H); 2,00 (m, 2H); 1,62 (m, 2H); 1,26 (m, 22H); 0,88 (t,  $J = 6,7$  Hz, 3H).  
**Composto (1.11)**  $\delta$  (ppm) 5,28 (m, 2H); 3,36 (m, 4H); 2,18 (t,  $J = 7,3$  Hz, 2H); 1,86 (m, 4H); 1,57 (qt,  $J = 7,3$  Hz, 4H); 1,23 (sl, 20H); 0,80 (m, 5H).

**Figura 1.3- Espectros de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos (1.10 e 1.11).**

De acordo com a Figura 1.3, pode-se perceber a permanência dos hidrogênios olefínicos em 5,28 ppm para o composto **(1.11)** o que indica que o catalisador testado é quimiosseletivo. Outros pontos importantes que podem ser observados nos espectros da Figura 1.3 são: o desaparecimento do sinal em 3,66 ppm referente a metila do grupamento ester do oleato de metila **(1.10)** e o aparecimento de sinais na região de 3,36 ppm referentes aos hidrogênios pirrolidínicos. Esses sinais, juntamente com os espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  e infravermelho, confirmam a formação do produto.

De forma a dar continuidade ao trabalho, a reação foi estudada sob diferentes condições reacionais e variações dos substratos (Esquema 1.7).



*Esquema 1.7- Reação geral de amidação (aminólise) catalítica.*

Primeiramente, variou-se o meio reacional com o uso de diferentes LIs (BMI.NTf<sub>2</sub>, BMI.BF<sub>4</sub> e BMI.PF<sub>6</sub>), tolueno e na ausência de catalisador em meio iônico. Os resultados são apresentados na Tabela 1.1.

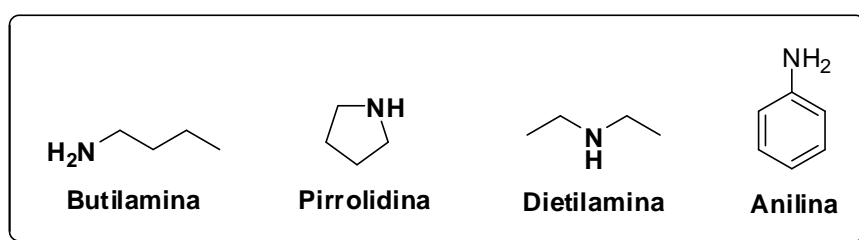
*Tabela 1.1- Reação de amidação (aminólise) com e sem catalisador em diferentes meios reacionais. Oleato de metila (1,00 mmol), pirrolidina (2,00 mmol) e catalisador (0,05 mmol) a 135 °C por 24 h.*

Entrada	Catalisador	Líquido iônico/Solvente	Rendimento (%)
1	BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub>	Tolueno	17
2	Nenhum	BMI.NTf <sub>2</sub>	56
3	BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub>	BMI.NTf <sub>2</sub>	99
4	BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub>	BMI.BF <sub>4</sub>	94
5	BF <sub>3</sub> ·OEt <sub>2</sub>	BMI.PF <sub>6</sub>	98

De acordo com a Tabela 1.1, o LI desempenha um papel fundamental na reação de aminólise. Na Entrada 1, quando utilizado o solvente orgânico (tolueno), obteve-se apenas 17 % de rendimento, mesmo na presença de um ácido de Lewis. Por outro lado, na mesma reação realizada sem nenhum catalisador e em meio iônico (BMI.NTf<sub>2</sub>), o produto desejado foi obtido com 56 % de rendimento (Tabela 1.1, Entrada 2) - o que mostra um efeito significativo do LI para formação do produto desejado. Acredita-se que este efeito do LI pode ser atribuído à natureza iônica dessa classe de compostos, que é capaz, em muitos casos, de co-promover a formação e a estabilização de intermediários iônicos e polares, como será discutido ao longo do trabalho.

A mesma reação, com BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> como ácido de Lewis e em meio iônico (BMI.NTf<sub>2</sub>), forneceu a amida com 99 % de rendimento, apresentando uma combinação favorável entre o LI e o ácido de Lewis (Tabela 1.1, Entrada 3). Outros LIs (BMI.BF<sub>4</sub> e BMI.PF<sub>6</sub>) também foram utilizados na presença de BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> como catalisador, obtendo-se o produto desejado com 94 % e 98 % de rendimento, respectivamente (Tabela 1.1, Entradas 4 e 5).

Após a análise da influência do LI nas reações de amidações, foi investigada a influência do grupo alquila e arila de diferentes aminas para um maior entendimento da reação. As aminas utilizadas estão apresentadas na Figura 1.4 (butilamina, pirrolidina, dietilamina e anilina).



**Figura 1.4- Aminas utilizadas nas reações de amidações catalítica.**

Nestas reações utilizou-se BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub> como ácido de Lewis e BMI.NTf<sub>2</sub> como meio iônico. Os resultados obtidos com estas reações estão apresentados na Tabela 1.2.

**Tabela 1.2– Variação das aminas na reação de amidação catalítica.**

Entrada	Amina	Rendimento (%)
1	Butilamina	89
2	Pirrolidina	99
3	Dietilamina	-
4	Anilina	-

Conforme a Entrada 1 da Tabela 1.2, observa-se um ótimo rendimento quando utilizada a butilamina, que é uma amina primária. Quando utilizada uma amina secundária cíclica (pirrolidina), observa-se uma conversão total do substrato para o produto (100 %, Tabela 3, Entrada 2). No caso do emprego da dietilamina, que também é uma amina secundária, observa-se que não há sequer traços de produto (Tabela 1.2, Entrada 3). A utilização da anilina, uma amina aromática (Entrada 4), também não levou a formação de produto. De um modo geral, acredita-se que o efeito estérico seja predominante na taxa de conversão da reação: quanto mais impedida, maior a dificuldade de ocorrer um ataque à carbonila do éster. Comparando-se a pirrolidina e a dietilamina, sabe-se que a primeira é mais nucleofílica.<sup>27</sup> A anilina, por sua vez, é menos nucleofílica, justificando a ausência de produto formado nas condições testadas.

Após a análise da influência do LI nas reações de aminólises, foi investigado o perfil da reação em relação à temperatura (a variação da temperatura ocorreu de 70 a 135 °C) por 3h. Para isto, foi utilizado oleato de metila como substrato, BMI.NTf<sub>2</sub>, pirrolidina como amina e CdO como catalisador (Tabela 1.3).

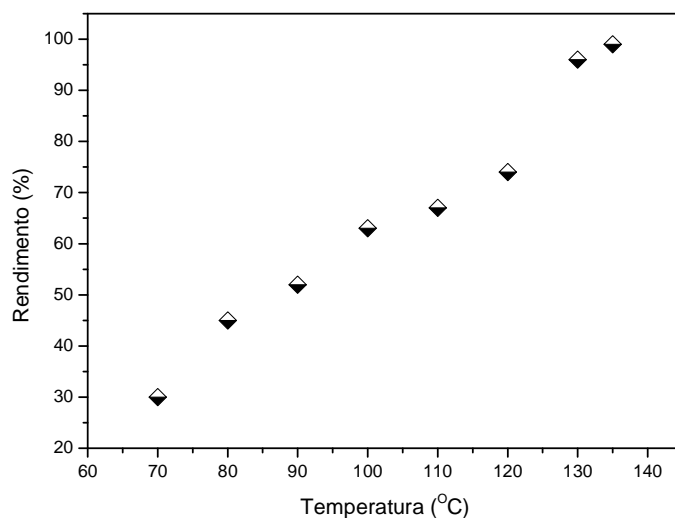
<sup>27</sup> Menezes, F. G.; Ricardo, J.; Dias, R.; Bortoluzzi, A. J.; Zucco, C. *Quim. Nova.* **2007**, 30, 356.



**Tabela 1.3– Variação do rendimento em função da temperatura.**

Entrada	Temperatura	Rendimento (%)
1	70	30
2	80	45
3	90	52
4	100	63
5	110	67
6	120	74
7	130	96
8	135	99

Conforme a Tabela 1.3, a partir de 100 °C, já se obtém um rendimento razoável. No entanto, rendimentos quase que quantitativos são obtidos a partir de 130 °C. De acordo com o Gráfico 1.1, é perceptível a relação do aumento da temperatura resultando no aumento do rendimento.



**Gráfico 1.1- Relação entre a temperatura e o rendimento da reação de amidação.**

Essa relação apresentada no Gráfico 1.1 indica que é necessária uma quantidade grande de energia para se transpor a energia de ativação com um número considerável de moléculas com energia cinética mínima para ocorrer a

reação. Em virtude desses resultados, para as próximas variações de parâmetros em busca de melhores condições reacionais, fixou-se a temperatura em 135 °C.

Em seguida, decidiu-se investigar a melhor condição reacional quanto a diferentes catalisadores suportados em meio iônico (Tabela 1.4). O LI padrão utilizado nestas reações foi o BMI.NTf<sub>2</sub>, devido à degradação do ânion dos LIs BMI.BF<sub>4</sub> e BMI.PF<sub>6</sub> sob diferentes condições de catálise (formação de HF)<sup>28</sup>. Os ácidos de Lewis e de Brønsted utilizados nas reações foram CdO, InCl<sub>3</sub>, Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, SnCl<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Após executado o mesmo procedimento reacional descrito anteriormente, as reações foram encerradas e os produtos isolados com os rendimentos estão sumarizados na Tabela 1.4.

*Tabela 1.4– Reação de aminólise com diferentes catalisadores e BMI.NTf<sub>2</sub> oleato de metila (1,00 mmol), pirrolidina (2,00 mmol) e catalisador (0,05 mmol) a 135 °C por 24 h.*

Entrada	Catalisador	Rendimento (%)
1	CdO	98
2	InCl <sub>3</sub>	75
3	Ce(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	97
4	SnCl <sub>2</sub>	99
5	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	99
6	HCl	99




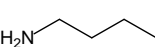
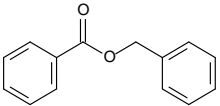

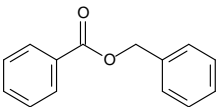
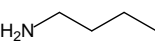
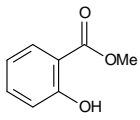

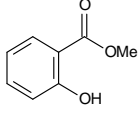
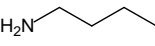

Conforme descrito na Tabela 1.4, a utilização dos ácidos CdO, Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, SnCl<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl como catalisadores resultou em rendimentos quase que quantitativos (Tabela 1.4, Entradas 1, 3, 4, 5 e 6). No entanto, as reações promovidas pelos sais Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> foram de difícil extração do produto, já que se observou a formação de emulsões e turbidez na mistura reacional. No caso da reação envolvendo os ácidos de Bronsted H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl apesar do elevado rendimento reacional, a lixiviação do catalisador para o produto é algo que inviabiliza algumas aplicações dos compostos obtidos (Tabela 1.4, Entrada 5 e 6). O emprego do CdO na promoção da reação resultou em excelente rendimento, podendo também ser utilizado em reações de reciclo (Tabela 1.4,

<sup>28</sup> Dupont, J.; Spencer, J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, 43, 5296.

Entrada 1). Já com o  $\text{InCl}_3$ , obteve-se apenas um bom rendimento (Tabela 1.4, Entrada 3).

A fim de se verificar a generalidade da metodologia, decidiu-se testar os ácidos de Lewis  $\text{SnCl}_2$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  e  $\text{CdO}$  nas reações de aminólise, utilizando-se diferentes ésteres e aminas. Na Tabela 1.5 estão dispostos os resultados obtidos utilizando-se  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  como catalisador.




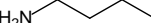
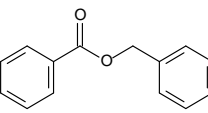

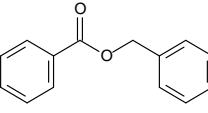
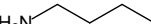
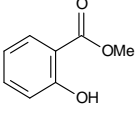

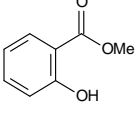
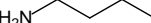

**Tabela 1.5- Reações de aminólise utilizando-se  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (0,05 mmol) como catalisador em  $\text{BML.NTf}_2$  a 135 °C.**

Entrada	Éster (1,00 mmol)	Amina (2,00 mmol)	Amida – Rendimento (%)
1			92
2			82
3			67
4			70
5			81
6			93
7	Óleo de soja		98

Os resultados da Tabela 1.5 indicam um sucesso na variação dos ésteres, pois foram obtidos rendimentos de bons a excelentes (67-98%). De um modo geral, ambas as aminas apresentaram eficiência na reação, sendo o melhor resultado obtido na entrada 7, quando do emprego do triglicerídeo.




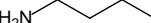
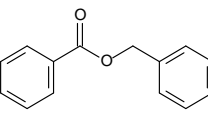

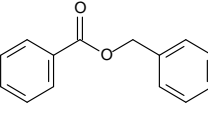
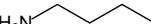
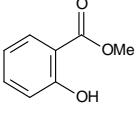

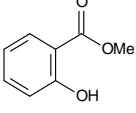
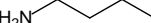

Na Tabela 1.6, resolveu-se substituir o catalisador utilizado por  $\text{SnCl}_2$  e avaliar a influência deste nas reações.

**Tabela 1.6- Reações de aminólise utilizando-se SnCl<sub>2</sub> (0,05 mmol) como catalisador em BML.NTf<sub>2</sub> a 135 °C.**

Entrada	Éster (1.00 mmol)	Amina (2.00 mmol)	Amida – Rendimento (%)
1			82
2			74
3			73
4			89
5			67
6			72
7	Óleo de Soja		98

Conforme a Tabela 1.6, utilizando-se SnCl<sub>2</sub> como catalisador, observou-se que ao se utilizar benzoato de benzila (Entradas 3 e 4) como substrato, obteve-se melhores rendimentos quando comparados com BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>. Na Tabela 1.7, utilizou-se o CdO como catalisador e os resultados estão apresentados a seguir.

**Tabela 1.7- Reações de aminólise utilizando-se CdO (0,05 mmol) como catalisador em BMLNTf<sub>2</sub> a 135 °C.**

Entrada	Éster (1.00 mmol)	Amina (2.00 mmol)	Amida – Rendimento (%)
1			95
2			90
3			75
4			92
5			85
6			94
7	Óleo de Soja		99

Os resultados apresentados na Tabela 1.7 mostram que as reações ocorreram em excelentes rendimentos. Quando comparados com outros ácidos de Lewis utilizados, observa-se claramente que o CdO foi o mais ativo. Os rendimentos obtidos na Tabela 1.5 – Entradas 1, 6 e 7- e na Tabela 1.6 - Entrada 7 - foram semelhantes aos obtidos com CdO. Isso indica que todos os três catalisadores foram ativos, podendo ser utilizados em reações de aminólise catalítica. Com todos os três catalisadores utilizados, as reações envolvendo o par óleo de soja e pirrolidina levaram a rendimentos quantitativos. Este resultado é interessante, principalmente do ponto de vista tecnológico, pois abre um leque para a obtenção de derivados de biomassa.

Por existir um interesse em amidas provenientes de óleos e gorduras, que será explicado no próximo capítulo, e para avaliar a eficiência dos sistemas catalíticos, reações de aminólises utilizando ácidos carboxílicos também foram realizadas nas mesmas condições (Tabela 1.8). Para isto, utilizou-se como

substratos nas reações o ácido oléico e também uma mistura de ácidos graxos preparados a partir da hidrólise do óleo de soja.

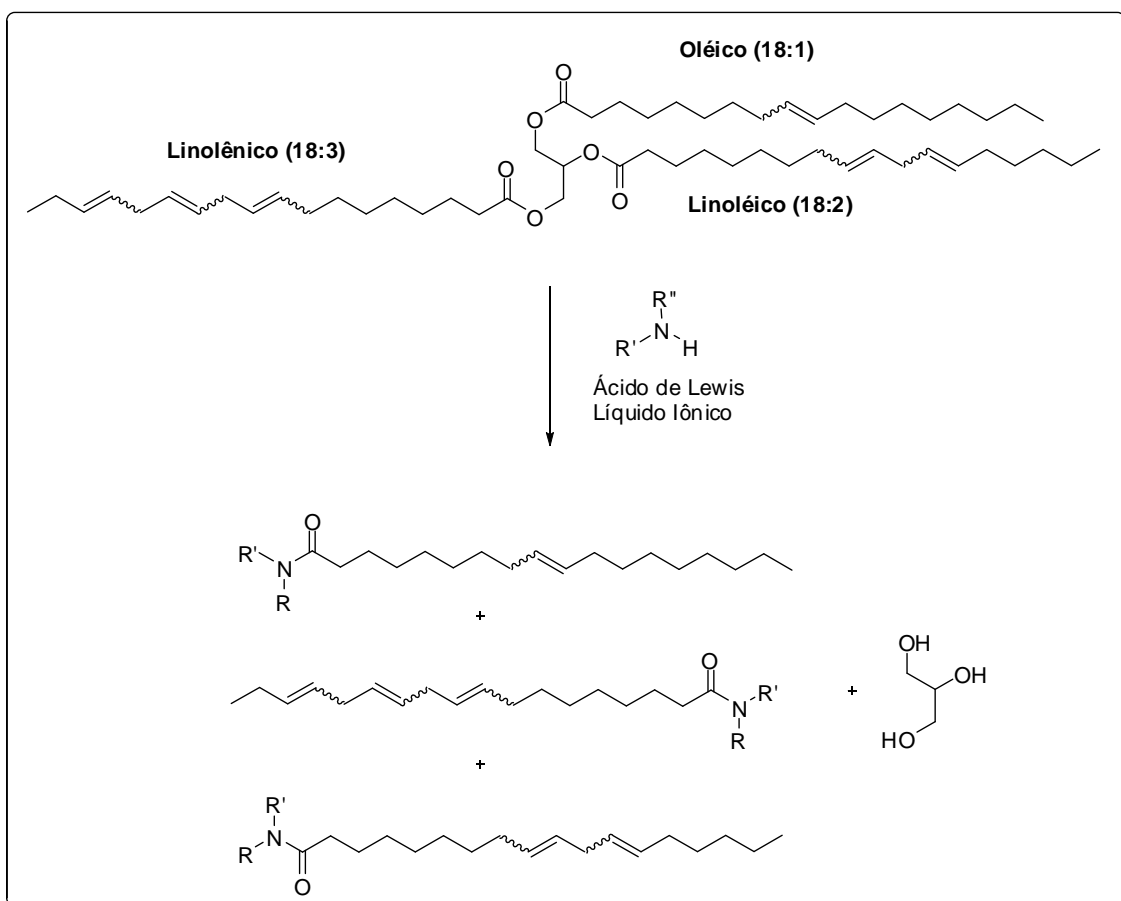
**Tabela 1.8- Reações entre ácido oléico e ácido graxo(1,00 mmol) com pirrolidina (2,00 mmol) e Catalisador (0,05 mmol) em BMI.NTf<sub>2</sub> a 135 °C por 24 h.**

Entrada	Catalisador (0,05 mmol)	Ácido Carboxílico (1,00 mmol)	Amida Rendimento (%)
1	CdO	ácido oléico	95
2	CdO	ácidos graxos <sup>a</sup>	97
3	BF <sub>3</sub> -OEt <sub>2</sub>	ácidos graxos <sup>a</sup>	92
4	SnCl <sub>2</sub>	ácidos graxos <sup>a</sup>	89
5	CdO	Ácido benzóico	82

<sup>a</sup> Ácido graxo obtido a partir da hidrólise do óleo de soja. Mistura de ácido oléico (24 %), linoléico (52 %), palmítico (14 %) e linolênico (5 %).

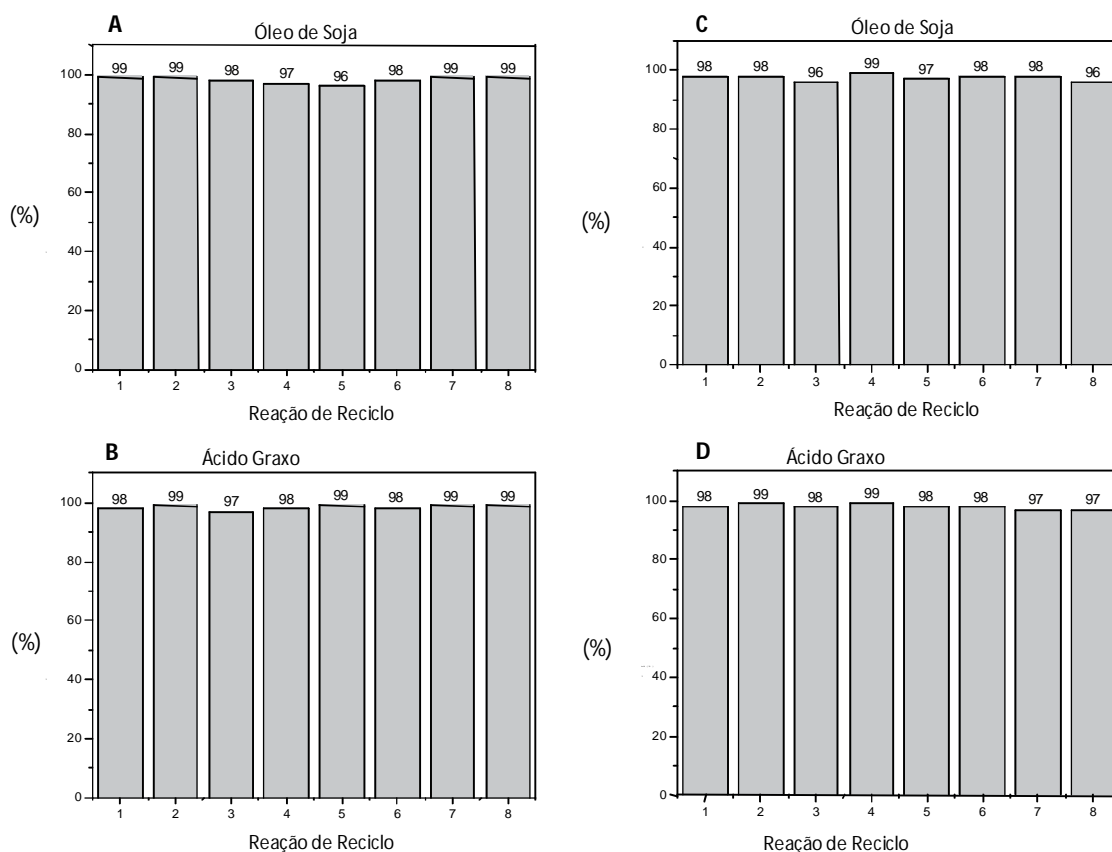
Conforme a Tabela 1.8, os três ácidos de Lewis (CdO, SnCl<sub>2</sub> e BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>) foram capazes de promover a formação de amida pelo tratamento dos ácidos carboxílicos nas condições desenvolvidas. Mais uma vez, CdO mostrou ser o catalisador mais ativo entre todos os testados. Além disso, a metodologia pode ser entendida como um método de amidação muito interessante, quando levado em consideração a possibilidade de se utilizar tanto o óleo de soja, quanto ésteres simples e ácidos graxos. Na Entrada 5 da Tabela 1.8, tem-se um resultado para um ácido carboxílico aromático, o que comprova a versatilidade da técnica.

Vale ressaltar que o óleo de soja possui em sua estrutura três diferentes cadeias alquilas provenientes dos ácidos graxos: oléico, linoléico e linolênico (Esquema 1.8). Os grupos ésteres da estrutura do óleo de soja foram totalmente convertidos a amidas, já que nenhum traço de éster foi verificado.



**Esquema 1.8– Reação de aminólise catalítica utilizando óleo de soja**

Um ponto bastante explorado na atualidade, devido à busca pelo desenvolvimento sustentável, é o desenvolvimento de novas metodologias que possibilitem a reutilização do catalisador e/ou do meio reacional (reações de reciclo). Neste sentido, foi avaliado o reciclo do sistema  $\text{LI}/\text{CdO}$  e  $\text{LI}/\text{SnCl}_2$ . Para as reações de reciclo, o produto é decantado e separado. Quando necessário, o produto é extraído com hexano ou acetato de etila, permanecendo no Schlenk apenas o catalisador suportado no meio iônico. Depois disso, acrescentou-se apenas os substratos reacionais (o éster e a amina) e novamente promoveu-se a reação de aminólise nas condições desenvolvidas. A Figura 1.5 apresenta as eficiências das reações de reciclo.



**Figura 1.5- Reações de reciclo em BMI.NTf<sub>2</sub> a 135 °C utilizando óleo de soja (1,00 mmol) ou ácido graxo proveniente da hidrólise do óleo de soja (1,00 mmol) e pirrolidina (2,00 mmol) como amina por 24 h. (A / B) CdO (0,05 mmol) e (C / D) SnCl<sub>2</sub> (0,05 mmol) como catalisadores.**

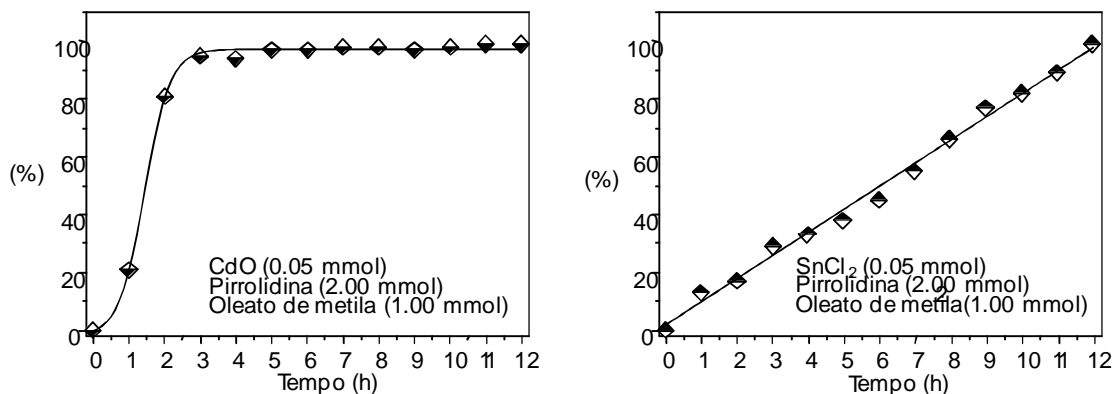
Os gráficos da Figura 1.5 indicam que os meios reacionais suportados com os catalisadores CdO e SnCl<sub>2</sub> podem ser utilizados pelo menos oito vezes com a mesma atividade catalítica. Já o uso de BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> resultou em bons rendimentos, conforme esperado, mas vale ressaltar que nesse caso o catalisador não é reutilizável, necessitando de quantidades adicionais para a promoção da reação. Isso mostra que apenas o meio iônico pode ser reutilizado, não ocorrendo reações de reciclo.

O fato de não ocorrer perda da atividade catalítica está diretamente relacionado ao fato de um ancoramento eficiente dos catalisadores no meio reacional. Análises de ICP-OES do produto isolado da reação catalisada por CdO revelou a presença de menos de 44 ppm de Cd, correspondente a menos de 1% de lixiviação. Para o produto da reação catalisada por SnCl<sub>2</sub> não foi



detectado Sn nos produtos de reação, indicando também que não houve a lixiviação do catalisador deste sistema.

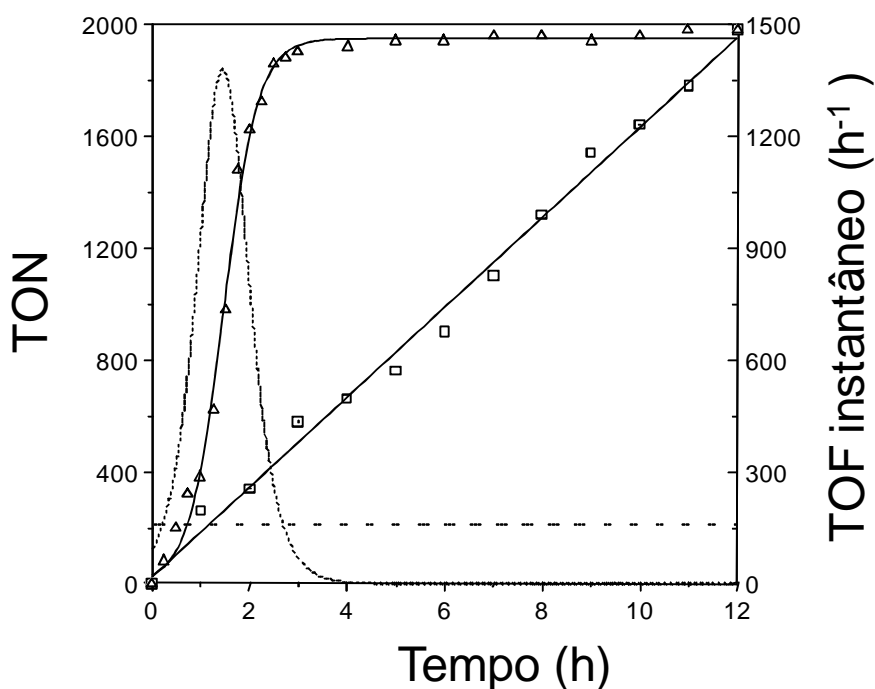
Outra análise feita da metodologia de aminólise catalítica em LI foi relacionada ao perfil da reação *versus* o tempo reacional, envolvendo diferentes ácidos de Lewis (Figura 1.6). Para a obtenção do perfil da reação, as reações foram montadas e a cada hora de reação completa uma alíquota foi retirada para análise, até que se completaram 24 h de reação.



**Figura 1.6– Perfil do rendimento da reação versus o tempo reacional envolvendo CdO (esquerda) e SnCl<sub>2</sub> (direita) como catalisadores.**

Como pode ser observado na Figura 1.6, a reação promovida por CdO é mais rápida do que a promovida por SnCl<sub>2</sub>. São necessárias apenas 3 h para atingir um rendimento quantitativo com o primeiro ácido de Lewis, enquanto a reação promovida por SnCl<sub>2</sub> necessita de 12 h para atingir o mesmo rendimento. A reação envolvendo BF<sub>3</sub>.OTf<sub>2</sub> como catalisador necessitou de 23 h para atingir rendimento quantitativo (gráfico não mostrado), além do fato da inviabilidade de reações de reciclo com esse catalisador.

O perfil da reação, TON (*turnover Numbers*) vs tempo e o TOF (*turnover frequencies*) instantâneo vs tempo correspondentes as reações promovidas pelos catalisadores SnCl<sub>2</sub> e CdO são apresentados na Figura 1.7.



**Figura 1.7– TON ( $\times 10^2$ ) e TOF instantâneo das reações catalisadas por CdO ( $\Delta$  com ajuste sigmoideal da curva) e SnCl<sub>2</sub> ( $\square$  com ajuste linear da curva) foram calculadas como mols do substrato convertido em produto por mol em catalisador. TOF instantâneos são representados pela derivada de primeira ordem da curva ajustada. Linha tracejada para SnCl<sub>2</sub> e linha pontilhada para CdO.**

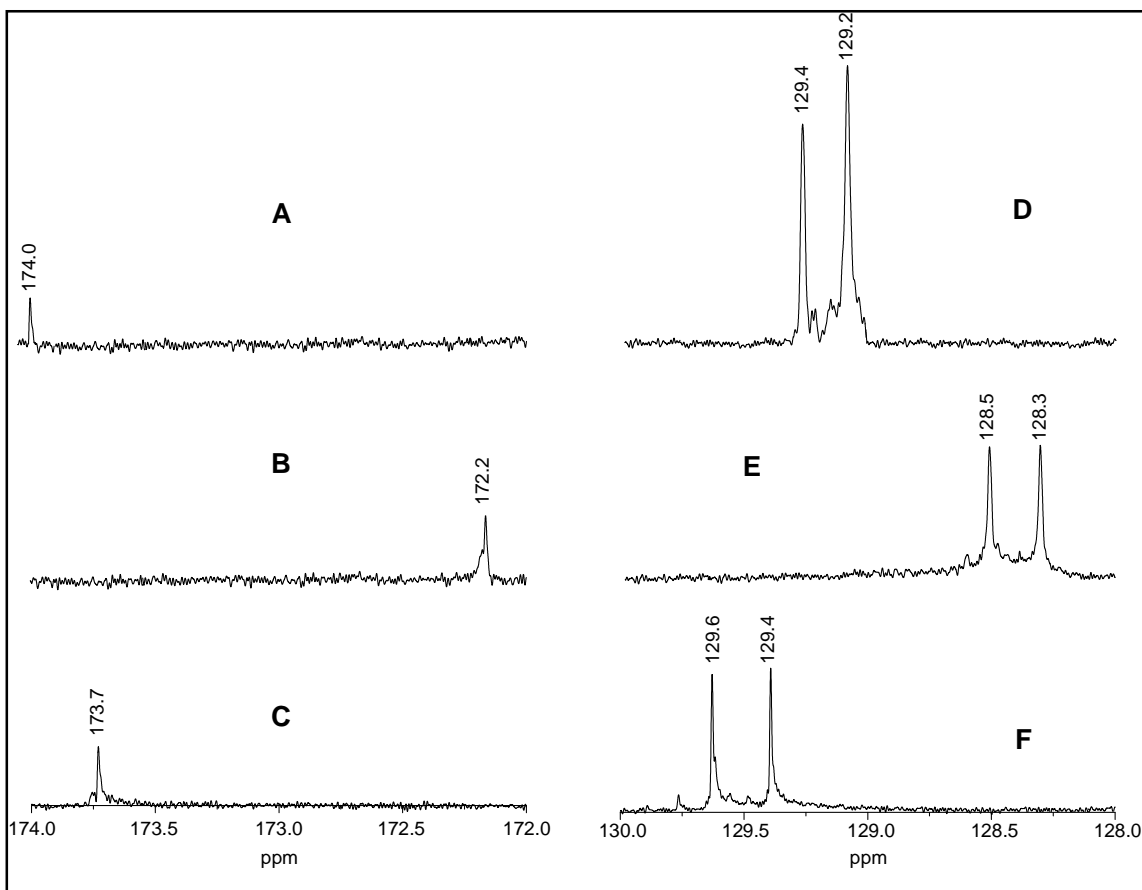
A atividade catalítica de ambos os sistemas é elevada, com valores de TON de aproximadamente 20 mol/mol. A atividade catalítica instantânea de acordo com o TOF é de aproximadamente 1500 h<sup>-1</sup> para o CdO como catalisador no período mais ativo da reação. A atividade catalítica instantânea para o SnCl<sub>2</sub> mostrou um valor constante de 150 h<sup>-1</sup>.

Como visto anteriormente (Tabela 1.2), é perceptível a influência do LI nas reações de aminólise catalítica, mostrando-se necessário um estudo mais aprofundado, de modo a explicar este efeito. Para isto, foi utilizada a espectroscopia de <sup>1</sup>H RMN e <sup>13</sup>C RMN. Todos os experimentos foram executados utilizando uma mistura de BMI.NTf<sub>2</sub>, oleato de metila, pirrolidina e CdO em tubo selado contendo CDCl<sub>3</sub> como solvente de referência. A escala externa de referência utilizada foi de 77,0 ppm e a razão molar da mistura utilizada foi 1,00:1,00:1,00:0,10 (LI: oleato de metila: pirrolidina:CdO). Os dados obtidos com os espectros de <sup>13</sup>C RMN são apresentados na Tabela 1.9 e as ampliações dos espectros na Figura 1.8.

*Tabela 1.9– Deslocamento químico do espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz) das ligações C=O e C=C da amida e das misturas. O CDCl<sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm.*

Entrada	BMI.NTf <sub>2</sub>	Oleato de Metila	Oleato de metila e BMI.NTf <sub>2</sub>	Oleato de metila, BMI.NTf <sub>2</sub> , pirrolidina e CdO	Amida	Amida, BMI.NTf <sub>2</sub> e CdO
1	-	173,7	174,0	172,2	173,5	172,3
2	135,2*	-	135,2*	134,8*	-	135,0*
3	125,7**	129,6	129,4	128,5	129,8	128,7
4	123,1**	129,4	129,2	128,3	129,6	128,5
5	121,9*	-	123,2*	122,3*	-	122,6*
6	121,5**	-	121,9*	121,0*	-	121,3*
7	117,2**	-	-	-	-	-
8	112,9**	-	-	-	-	-

\* Deslocamento químico do cátion imidazólio. \*\* Sinais referentes ao acoplamento do carbono com os átomos de F da porção CF<sub>3</sub> do ânion.



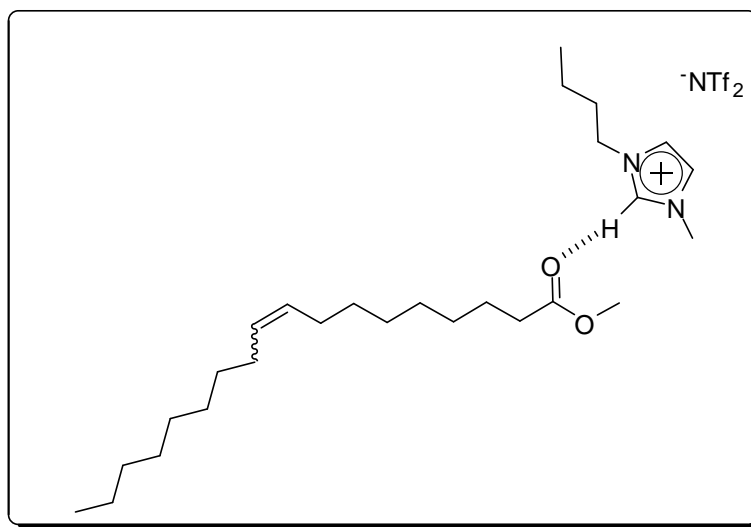
**Figura 1.8– Ampliações dos espectros de RMN -  $^{13}\text{C}$  para os sinais referentes ao carbono da carbonila (esquerda) e para os sinais referentes aos carbonos da ligação C=C (direita). (A) e (D) Mistura de oleato de metila e BMI.NTf<sub>2</sub>. (B) e (E) Mistura de oleato de metila, BMI.NTf<sub>2</sub>, pirrolidina e CdO. (C) e (F) Oleato de metila puro. O CDCl<sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm.**

Em 2006, Dupont e colaboradores propuseram a ativação de aldeídos pelo cátion imidazólio baseado em LIs como co-catalisadores para a reação de Baylis-Hillman<sup>29</sup> Em 2009, Yadav e colaboradores propuseram que o hidrogênio ácido do anel imidazólio da posição C2 (NCHN) interage com os pares de elétrons da carbonila de forma a ativar o carbono da carbonila para um ataque de um nucleófilo.<sup>30</sup>

<sup>29</sup> Santos, L. S.; Neto, B. A. D.; Consorti, C. S.; Pavam, C. H.; Almeida, W. P.; Coelho, F.; Dupont, J.; Eberlin, M. N. *J. Phys. Org. Chem.* **2006**, *19*, 731.

<sup>30</sup> Yadav, L. D. S.; Rai, V. K.; Yadav, B. S. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 1306.

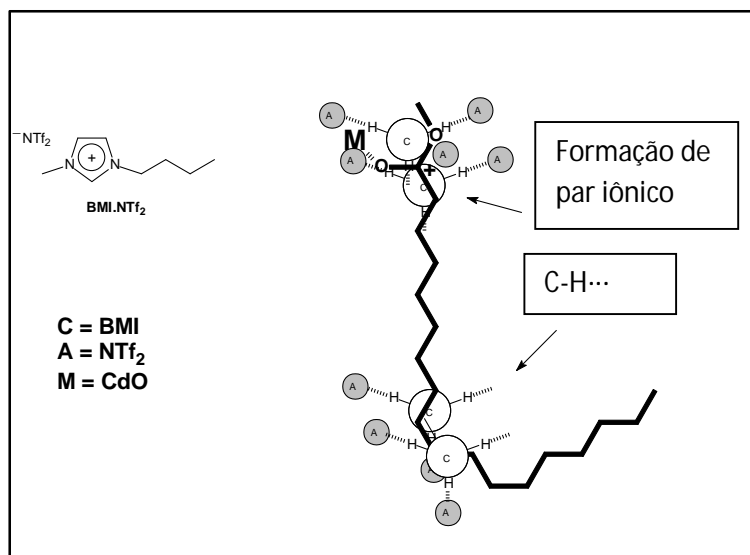
Como visto na Figura 1.8 (ver **A** e **C**), na presença de BMI.NTf<sub>2</sub> ocorre um deslocamento no sinal referente ao carbono da carbonila, suportando as proposições de Dupont e Yadav (Figura 1.9).



**Figura 1.9– Ativação do carbono da carbonila na presença de BMI.NTf<sub>2</sub>. Interação entre o oleato de metila e o cátion imidazólio.**

Considerando a baixa habilidade de coordenação do ânion NTf<sub>2</sub>, espera-se que o cátion BMI esteja mais disponível para coordenar com o grupo carbonila do oleato de metila. Além disso, a Tabela 1.1, Entrada 2, permite uma melhor compreensão sobre a origem da eficiência da reação realizada em meio de LI, quando a reação é testada sem qualquer ácido de Lewis, na qual mesmo sem catalisador a reação ocorreu com rendimento moderado, apesar do tempo de 24 h ser elevado.

No entanto, um efeito de blindagem magnética é notório na mistura de reação (Figura 1.8B e 1.8E). Esse efeito pode ser atribuído à interação do ácido de Lewis (cádmio) e o grupo C=O. Interação que resulta em uma alta polarização da ligação dupla. O resultado é a formação de pareamento iônico, como consequência da polarização e formação da carga parcial apresentada na carbonila (Figura 1.10).



**Figura 1.10– Proposta da interação ocorrida na mistura reacional (oleato de metila, BMI.NTf<sub>2</sub>, pirrolidina e CdO).**

Nessa fase, a presença de ânions e cátions de BMI.NTf<sub>2</sub> em torno da ligação C=O a fim de estabilizar as cargas parciais é mais do que razoável. O resultado dessas interações é uma blindagem magnética observada nos espectros de RMN <sup>13</sup>C. Como observado (Figura 1.8C), o carbono da carbonila do oleato de metila puro possui um deslocamento químico de 173,7 ppm. Quando se adiciona BMI.NTf<sub>2</sub>, observa-se uma desblindagem desse mesmo carbono, que passa a apresentar um deslocamento de 174,0 ppm (Figura 1.8A) devido à interação sugerida (Figura 1.9). A adição de quantidades catalíticas de óxido de cádmio (Figura 1.8B), leva a uma blindagem magnética, em que o carbono da carbonila apresenta um deslocamento de 172,2 ppm devido a um arranjo supramolecular nas proximidade da ligação C=O.

Outro dado relevante a ser extraído dos espectros da Figura 1.8D-F, é a relação entre as interações apresentadas na Figura 1.10 com o deslocamento químico dos carbonos da dupla ligação do oleato de metila, em que a presença do LI e do CdO provocam uma blindagem nestes carbonos.

Já foi demonstrado que a interação CH...π entre o cátion imidazólio e o anel fenila do ânion tetrafenilborato causa o mesmo efeito de proteção.<sup>31</sup> Tais interações CH...π podem ser mais pronunciadas para as ligações C=C do que

<sup>31</sup> Dupont, J.; Suarez, P. A. Z.; De Souza, R. F.; Burrow, R. A.; Kintzinger, J. P. *Chem.-Eur. J.* **2000**, 6, 2377.

para ligações C=O em que a estabilização parece ser, preferencialmente, por meio da formação de pares iônicos devido à presença de cargas parciais (Figura 1.10).

A formação de carga parcial no carbono da carbonila (Figura 1.10), como consequência da presença de ácido de Lewis no meio reacional, permite ao LI desempenhar um papel importante na estabilização dos intermediários. Dessa forma, a formação da espécie reativa ocorre facilmente, devido à sua estabilização adicional através do chamado efeito do líquido iônico (formação de pares iônicos), o que explica o maior rendimento obtido utilizando o sistema catalítico desenvolvido.

Um efeito similar foi observado para o carbono da carbonila e também para os carbonos da ligação C=C quando realizado o experimento com a mistura contendo a amida derivada da pirrolidina em vez de oleato de metila (Tabela 1.10).

*Tabela 1.10– Deslocamento químico do espectro de RMN <sup>13</sup>C (75 MHz) das ligações C=O e C=C da amida e das misturas. O CDCl<sub>3</sub> foi utilizado como solvente de referência e a escala de referência utilizada foi 77,0 ppm.*

Amida derivada da pirrolidina	Amida derivada da pirrolidina + BMI.NTf <sub>2</sub> + CdO
173,5	172,3
	135,0*
129,8	128,7
129,6	128,5
	122,6*
	121,3*

\*Deslocamento Químico do Carbono referente ao cátion BMI.

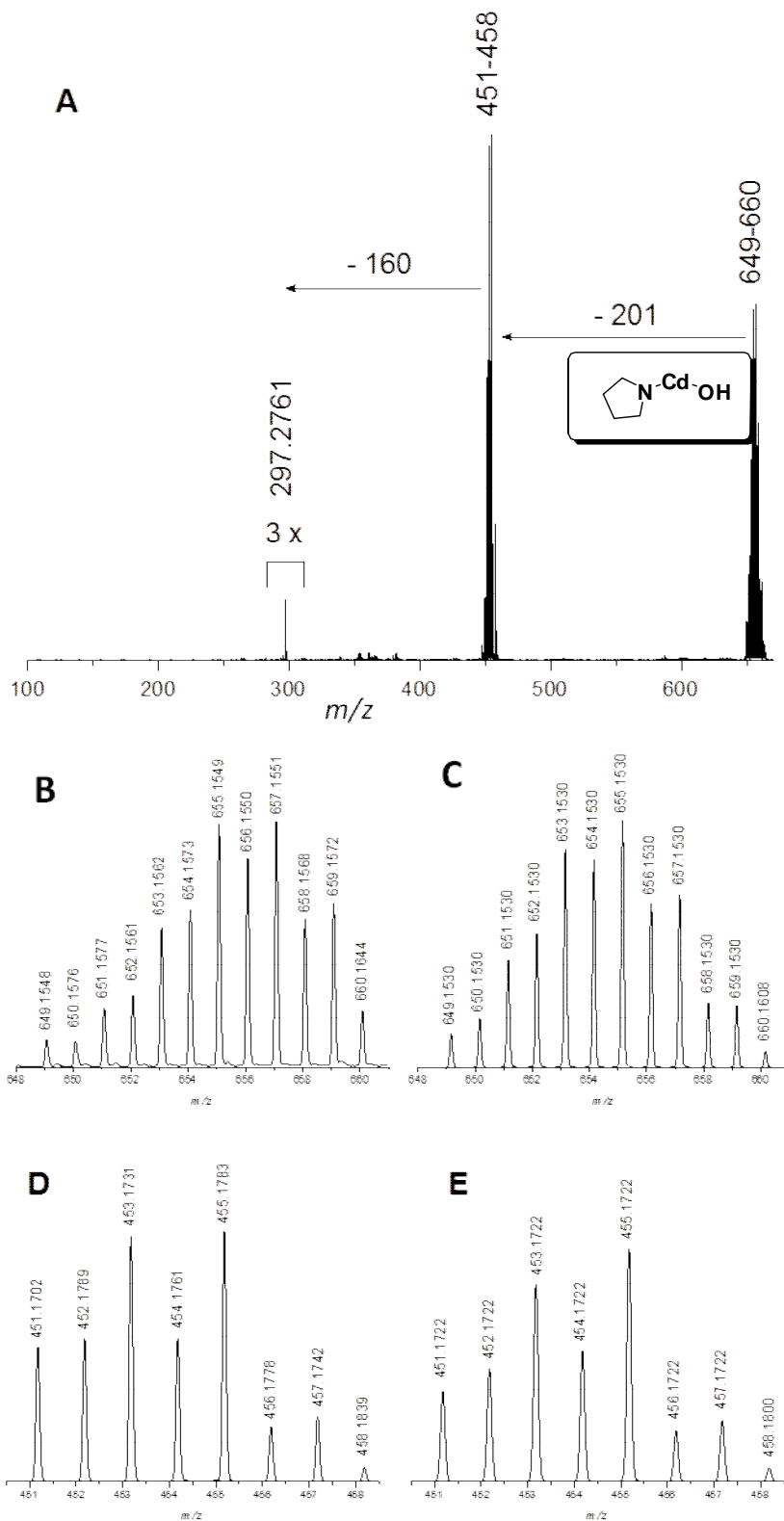
Conforme a Tabela 1.10, o carbono da carbonila da amida, após adição de amina, LI e CdO, sofre uma blindagem magnética, diminuindo o deslocamento químico de 173,5 ppm para 172,3 ppm. No caso dos carbonos da dupla, o mesmo efeito se manifesta, pois os deslocamentos químicos que aparecem em 129,8 ppm e 129,6 ppm, mudam para 128,7 ppm e 128.5 ppm, respectivamente.

Como forma de reunir informações para uma proposta de mecanismo catalítico para a nova metodologia desenvolvida, utilizando o CdO como catalisador, foi realizada uma série de experimentos envolvendo espectrometria de massas com ionização por *electrospray* – ESI-QTOF-MS(MS). A espectrometria de massas foi escolhida para o estudo por ser uma técnica com potencial de aplicação em diversas áreas e de ionização branda, mostrando coerentemente e, em muitos casos, um perfeito paralelo entre a realidade da solução e o que é transferido para fase gasosa.<sup>32</sup> A sua aplicação em estudos mecanísticos é de extrema importância, visto que auxilia na busca por melhores condições de reação, favorecendo a obtenção de bons rendimentos e seletividades das mesmas. Dentre tantas técnicas de ionização, a ionização por *electrospray* (ESI-MS), como uma forma branda e eficiente de transferir íons da fase líquida para a gasosa, possibilita a caracterização e o isolamento destes íons permitindo a detecção de espécies transientes em solução. O monitoramento da reação em solução de metanol por infusão direta via ESI-QTOF-MS permitiu a detecção e caracterização estrutural (ESI-QTOF-MSMS) alguns íons interessantes que foram fundamentais à proposta mecanística que será apresentada ao longo do texto (Figura 1.11).

---

<sup>32</sup> Coelho, F.; Eberlin, M. N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 5261.

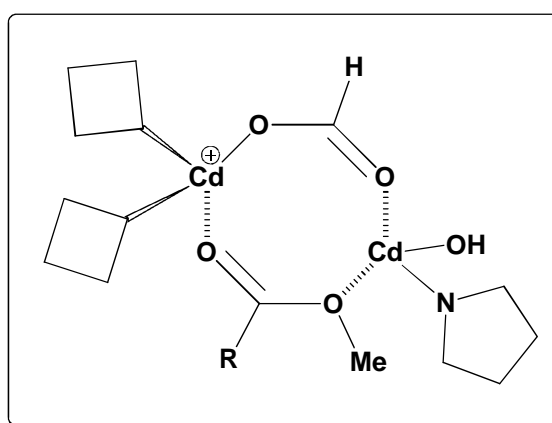




**Figura 1.11- ESI(+)-QTOF de alta resolução da mistura de CdO, pirrolidina e oleato de metila em solução de ácido metanóico (ácido fórmico 0,01%). (A) Espectro completo da mistura, (B) Expansão da região de *m/z* 649-660 do espectro real. (C)**

*Espectro simulado do íon  $[C_{24}H_{47}NO_5Cd_2]^+$ , (D) Expansão da região  $m/z$  451-458 do espectro real, (E) Espectro simulado do íon  $[C_{20}H_{37}O_4Cd]^+$ .*

Todos os adutos de cádmio mostraram-se bastante estáveis e um íon muito interessante de  $m/z$  649-660 foi interceptado (Figura 1.11). Esse íon é atribuído a um complexo contendo dois átomos de Cádmio, uma molécula de oleato de metila, uma de pirrolidina e uma de formiato, conforme proposto (Figura 1.12).

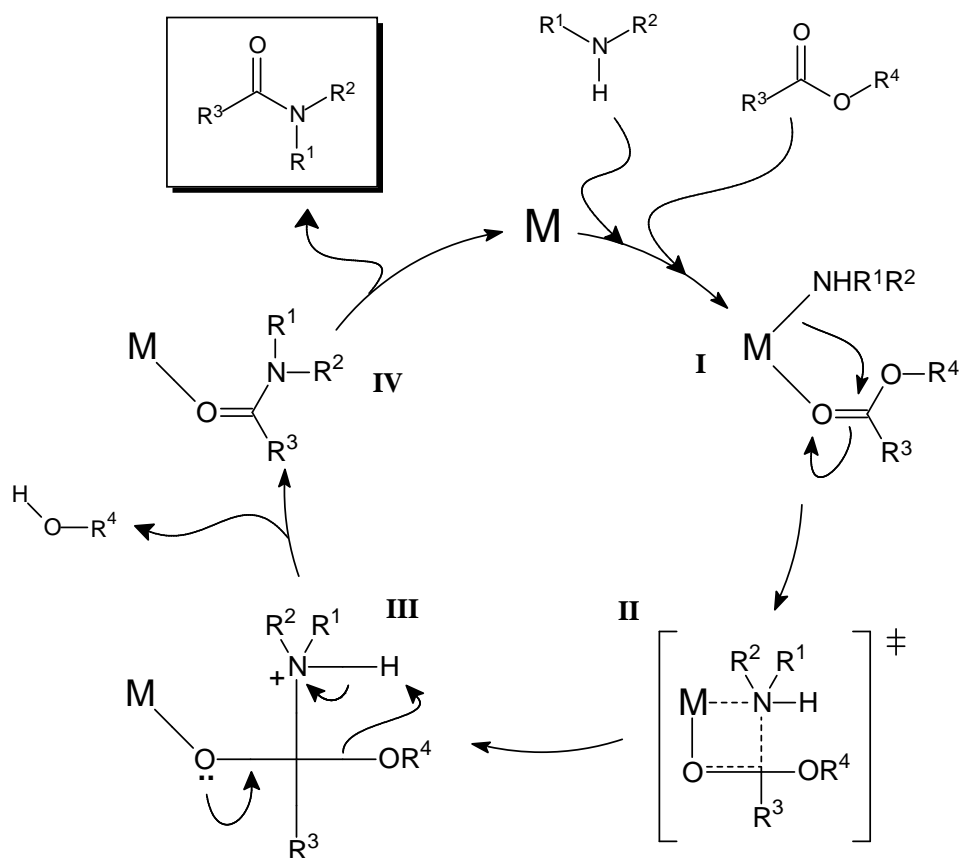


**Figura 1.12– Íon interceptado de  $m/z$  649-660.**

A perda de 201 Da (Figura 1.11A) é atribuída à perda de  $CdC_4H_9(OH)$ , que corresponde a uma molécula de pirrolidina adicionada ao  $CdO$ . A perda de 160 Da pode ser atribuída a um complexo de Cd (formiato), resultando em oleato de metila protonado de  $m/z$  297,2761 (Simulado para  $C_{19}H_{37}O_2N$ ,  $m/z$  297,2794). Com base no que foi observado e discutido do espectro de massas da Figura 1.11, fica evidente a presença de oleato de metila e pirrolidina associados com o centro metálico.

Outro íon interessante é o de  $m/z$  752-771 (espectro não mostrado). Este íon, mostra duas perdas consecutiva de 201 Da resultando no íon de  $m/z$  360, atribuído a um dímero de  $Cd_2(\text{formiato})_3$ . Esse resultado indica que é possível a participação de duas moléculas de pirrolidina no estado de transição e também explica a importância do excesso da amina no meio reacional. Além disso, nossos resultados indicam que a espécie cataliticamente ativa pode ser mais complexa do que apenas um centro metálico e pode incluir a participação de dois ou mais átomos de cádmio.

Com base nos resultados experimentais descritos e discutidos acima, e em alguns relatos anteriores da literatura citados a seguir, apresenta-se abaixo uma proposta de ciclo catalítico para explicar os resultados da metodologia desenvolvida para formação de amida (Esquema 1.9).



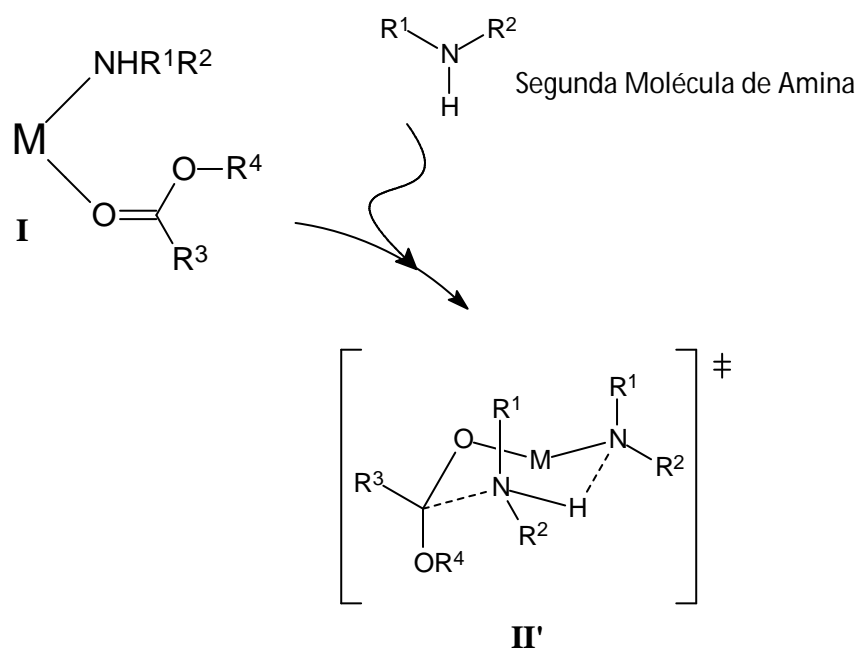
**Esquema 1.9- Proposta de ciclo catalítico para reações de aminólise em líquidos iônicos imidazólios.**

No ciclo catalítico proposto, observa-se que na etapa (I) o catalisador é capaz de passar por uma coordenação dupla entre o substrato e a amina, como já descrito para a reação de amidação catalisada por zircônio.<sup>33</sup> Os experimentos de RMN discutidos anteriormente corroboram com esta hipótese, apontando firmemente para a formação do primeiro intermediário (I). Em seguida, o intermediário (I) passa por um estado de transição de quatro

<sup>33</sup> Stephenson, N. A.; Zhu, J.; Gellman, S. H.; Stahl, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 10003.

membros (II), levando ao intermediário (III), proposto com base em um trabalho publicado anteriormente para catalisadores de alumínio.<sup>34</sup>

Tuulmets e colaboradores<sup>35</sup> também discutiram a possibilidade de uma formação dos anéis de seis membros e a importância de uma molécula adicional de amina, mostrando o porquê da exigência de pelo menos dois equivalentes da amina na reação. De acordo com os resultados obtidos com a análise de espectrometria de massas, acredita-se que um estado de transição de 6 membros também pode acontecer em nosso ciclo catalítico (Esquema 1.10).



OR<sup>4</sup> = ácido carboxílico ou éster

M = Metal

**Esquema 1.10– Estado de transição de seis membros proposto para reação de aminólise.**

Dando continuidade ao ciclo (Esquema 1.9), o intermediário (III) elimina o álcool (ou água), resultando no intermediário (IV) que, prontamente, libera a

<sup>34</sup> Hoerter, J. M.; Otte, K. M.; Gellman, S. H.; Cui, Q.; Stahl, S. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 647.

<sup>35</sup> (a) Talvik, A. T.; Tuulmets, A.; Vaino, E. *J. Phys. Org. Chem.* **1999**, *12*, 747. (b) Ilieva, S.; Galabov, B.; Musaev, D. G.; Morokuma, K.; Schaefer, H. F. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1496.

amida, restaurando a espécie catalítica M. Vale ressaltar que a presença de intermediários polares e carregados pode ser eficientemente estabilizada pela presença do íon imidazólio no meio reacional, através do efeito do líquido iônico que, como discutido anteriormente, desempenha o papel de promover melhorias nos tempos de reação e nos seus rendimentos.

Com base na diferença nos perfis de reação para os catalisadores de metal utilizado (CdO e SnCl<sub>2</sub> – ver a Figura 1.7) é possível indicar que estes catalisadores podem sofrer a reação através de caminhos diferentes. Possivelmente, a diferença está na formação do estado de transição que leva à amida desejada. O catalisador SnCl<sub>2</sub> prefere sofrer a reação através de um estado de transição de quatro membros (II no Esquema 1.8), enquanto CdO um estado de transição de seis membros (II' no Esquema 1.9).

## 1.4 Conclusões

Em resumo, foi demonstrada a eficiência do sistema catalítico utilizando ácidos de Lewis (CdO ou SnCl<sub>2</sub> ou BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub>) suportados em LIs imidazólios como catalisadores na promoção de reações de aminólise (formação de amida) a partir de ésteres e ácidos carboxílicos. O CdO foi o melhor catalisador testado, fornecendo produtos em um menor espaço de tempo do que as reações envolvendo SnCl<sub>2</sub> e BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> como os catalisadores.

Também foi demonstrado que o líquido iônico desempenha um papel importante na estabilização de intermediários carregados e polares através de interações CH $\cdots\pi$  e formação de pares iônicos.

Análise de ESI-QTOF-MS(MS) contribuiu para uma melhor compreensão da transformação, indicando a possibilidade de dois ou mais centros metálicos para promover a reação. Além disso, a análise ajudou a compreender a necessidade do excesso de amina no meio reacional.

Por meio da análise do perfil da reação, TON (*turnover numbers*) vs tempo e o TOF (*turnover frequencies*) instantâneo vs tempo correspondente promovido pelos catalisadores SnCl<sub>2</sub> e CdO verificou-se alta atividade catalítica, sendo ainda maior para o CdO.

O reciclo do sistema catalítico LI/ácido de Lewis pode ser realizado constatando que o reciclo pode ser realizado pelo menos oito vezes sem perda notável de atividade e em rendimentos quase que quantitativos, tornando o sistema catalítico, aqui descrito, um dos melhores já relatados em relação à reação de aminólise, envolvendo ainda um meio ecologicamente amigável.

Análises de ICP apresentaram menos de 1 % de lixiviação para o CdO e para o sistema envolvendo SnCl<sub>2</sub> não foi detectado traços de Sn. Isso mostra a manutenção da elevada atividade catalítica e a eficiência do sistema nas reações de reciclo.

Os resultados presentes neste capítulo estão publicados no periódico internacional *ChemCatChem* com o DOI 10.1002/cctc.201100221. O artigo está disponível *online* e é intitulado “*Catalytic Aminolysis (Amide Formation) from Esters and Carboxylic Acids: Mechanism, Enhanced Ionic Liquid Effect, and its Origin*”.

## 2. Modificações químicas do biodiesel de soja em meio de líquidos iônicos

### 2.1 Introdução

Em meio a tantos avanços científico-tecnológicos, uma atenção especial vem sendo dada a busca por fontes renováveis de energia. O aumento do consumo de combustíveis fósseis e a diminuição de suas reservas, aliados a questões políticas, sociais, econômicas e ambientais são fatores que vêm impulsionando essa nova busca.<sup>36</sup> Vale ressaltar que entre as alternativas estudadas até o momento, o biodiesel é o grande destaque no cenário brasileiro. A prova disso é que, em 2004, foi lançado no Brasil, pelo governo federal, um projeto que, em médio prazo prevê a substituição parcial do diesel pelo biodiesel. De acordo com o projeto, em janeiro de 2013 seria obrigatória a adição de 5% de biodiesel ao diesel de petróleo. Porém, essa porcentagem já vem sendo utilizada desde janeiro de 2010. Desta forma, busca-se, em um primeiro momento, a substituição parcial do diesel por biodiesel.<sup>37</sup> Sabe-se que o Brasil é um importante produtor e exportador de álcool e, ao que tudo indica, espera-se que o mesmo ocorra em relação à exportação de biodiesel. Assim, o desenvolvimento da indústria do biodiesel poderá gerar riquezas ao país. Além disso, para que isso venha a ser viável, o Brasil precisa adequar o seu produto às exigências técnicas internacionais.

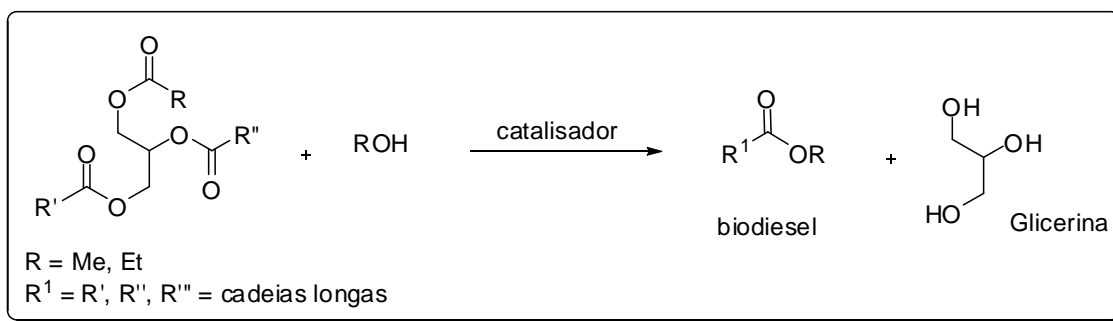
#### 2.1.1 Biodiesel

A obtenção de biocombustíveis a partir de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal pode ocorrer por processos tais como craqueamento, esterificação e transesterificação. Esse último é o mais utilizado na produção de biodiesel e consiste na reação de tri-acilglicerídeos com um mono-álcool (normalmente etanol ou metanol), na presença de um catalisador, tendo como produtos ésteres (etílicos ou metílicos) – o biodiesel – e glicerina (Esquema 2.1).

---

<sup>36</sup> Farrell, A. E.; Plevin, R. J.; Turner, B. T.; Jones, A. D.; O'Hare, M.; Kammen, D. M. *Science* **2006**, *311*, 506.

<sup>37</sup> Pousa, G. P. A. G.; Santos, A. L. F.; Suarez, P. A. Z.; *Energ. Policy* **2007**, *35*, 5393.



**Esquema 2.1- Reação de transesterificação na formação de biodiesel.**

A reação de transesterificação para obtenção de biodiesel tem sido bastante estudada.<sup>38</sup> Sabe-se que, para um melhor rendimento reacional, uma quantidade elevada de álcool é requerida. A reação deve ocorrer na ausência de água para evitar a hidrólise e, conseqüentemente a formação de ácidos graxos. Catalisadores básicos como o KOH e ácidos como H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCl são bastante utilizados. No caso de catalisadores básicos, a presença de elevada concentração de ácidos graxos livres pode levar à formação de sabão durante a reação. Este é um inconveniente, pois além de baixo rendimento o sistema apresenta dificuldades para a separação do biodiesel do glicerol.<sup>39</sup>

Vale destacar que, uma das formas de se aumentar a competitividade do biodiesel (já que hoje este ainda é considerado de preço elevado) seria a minimização dos custos de produção através da venda dos co-produtos gerados durante o processo de produção, tais como a glicerina, adubo e ração protéica vegetal. A glicerina obtida ainda é um inconveniente, já que apesar de vários estudos em busca de uma aplicação, não se tem um destino que absorva toda glicerina gerada na produção de biodiesel.

Os tri-acilglicerídeos, dos quais é obtido o biodiesel, são derivados de ácidos graxos naturais, que se encontram na forma esterificada com o glicerol. As propriedades físicas e químicas do biodiesel são diretamente relacionadas à matéria-prima utilizada para sua produção, em especial os ácidos graxos

<sup>38</sup> (a) Ma, F.; Hanna, M. A.; *Bioresour. Technol.* **1999**, *70*, 15. (b) Lang, X.; Dalai, A. K.; Bakhshi, N. N.; Reaney, M. J.; Hertz, P. B. *Bioresour. Technol.* **2001**, *80*, 62. (c) Pinto, A. C.; Guarieiro, L. L. N.; Rezende, M. J. C.; Ribeiro, N. M.; Torres, E. A.; Lopes, W. A.; Pereira, P. A.; de Andrade, J. B.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, *16*, 1313.

<sup>39</sup> Ma, F.; Clements, L. D.; Hanna, M. A.; *Ind. Eng. Chem. Res.* **1998**, *37*, 3768. (b) Liu, K. S.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1994**, *71*, 1179.



presentes nos tri-acilglicerídeos.<sup>40</sup> Esses ácidos graxos possuem geralmente um número par de átomos de carbono disposto em uma cadeia linear longa. Este fato é devido à biossíntese, onde ocorrem sucessivas reações de grupos malonil coenzima A com unidades de acil-coenzima A com eliminação de CO<sub>2</sub>.

Devido às particularidades do mercado produtor brasileiro, a principal matéria-prima utilizada na produção de biodiesel é a soja. O percentual dessa matéria prima varia de acordo com a época do ano e se situa entre 80 e 90 %. O óleo de soja possui 50 % de sua composição em ácido linoléico, que contém duas insaturações em sua cadeia alquílica.<sup>41</sup> Isto torna o ácido linoléico bastante suscetível à oxidação, o que acarreta problemas de armazenamento, formação de depósitos e coqueificação em sistema de injeção e em motores. O biodiesel com estas características aumenta a necessidade de manutenção e diminui a vida útil do motor. Neste cenário, os países que introduziram o biodiesel em sua matriz energética têm criado legislações estabelecendo o teor de insaturações máximo permitido. Esse teor é geralmente medido através do teste de índice de iodo, mas também através de testes de estabilidade à oxidação. Uma opção quanto ao controle de oxidação é o uso de antioxidantes, mas estes não são suficientes para atender essas especificações quando também é exigida a realização do teste de índice de iodo. Costuma-se também combinar o uso de aditivos com a mistura de biodiesel de soja e de outra matéria-prima com baixo teor de insaturação, como, por exemplo, o sebo bovino, que no Brasil chega a corresponder à 15 % do total. Essa solução tem, porém, o inconveniente de, com o aumento do teor de cadeias saturadas, aumentar a temperatura de cristalização do biodiesel, prejudicando suas propriedades a frio.<sup>3</sup>

É importante destacar que, para utilização do biodiesel, é necessário que esse esteja enquadrado em normas internacionais, as quais estão diretamente ligadas às propriedades físico-químicas do biodiesel, sendo esse um grande desafio tecnológico.

---

<sup>40</sup> Rodrigues Jr., J. de A., Cardoso, F. de P.; Lachter, E. R.; Estevão, L. R. M.; Lima, E.; Nascimento, R. S. V.; *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2006**, 83, 4.

<sup>41</sup> Abreu, F. R.; Lima, D. G.; Hamú, E. H.; Wolf, C.; Suarez, P. A. Z.; *J. Mol. Catal. A.* **2004**, 209, 29.

O processo de obtenção do biodiesel de soja que é realizado no Brasil tem como produto um óleo combustível bastante viscoso, com ponto de fusão alto e um poder de combustão menor que o diesel de petróleo. No entanto, antes do biodiesel chegar às bombas é necessário que o combustível tenha passado por análises para controle de qualidade, propriedades a frio, dentre outras. A análise do biodiesel é realizada a partir de uma amostra representativa do mesmo, obtida segundo métodos ABNT NBR 14883, ou ASTM D 4057, ou ISO 5555. De acordo com a resolução da ANP Nº 7, DE 19.3.2008 - DOU 20.3.2008, a Tabela 2.1 apresenta as características constantes de Especificação que o biodiesel deverá obedecer.

*Tabela 2.1– Especificações exigidas pela ANP de acordo com a resolução ANP Nº 7, DE 19.3.2008 - DOU 20.3.2008. \*Os dados presentes nesta tabela foram retirados do site da Agência Nacional do Petróleo e estão disponíveis no endereço: <http://www.anp.gov.br>, acessado em 12 de outubro de 2011.*

<b>Característica</b>	<b>Unidade</b>	<b>Limite</b>
<b>Aspecto</b>	-	LII (1)
<b>Massa específica a 20 ° C</b>	kg/m <sup>3</sup>	850-900
<b>Viscosidade Cinemática a 40 °C</b>	Mm <sup>2</sup> /s	3,0-6,0
<b>Teor de Água, Max.</b>	mg/kg	500
<b>Contaminação Total, máx.</b>	mg/kg	24
<b>Ponto de fulgor, mín.</b>	°C	100,0
<b>Teor de éster, mín</b>	% massa	96,5
<b>Resíduo de carbono</b>	% massa	0,050
<b>Cinzas sulfatadas, máx.</b>	% massa	0,020
<b>Enxofre total, máx.</b>	mg/kg	50
<b>Sódio + Potássio, máx.</b>	mg/kg	5
<b>Cálcio + Magnésio, máx.</b>	mg/kg	5
<b>Fósforo, máx.</b>	mg/kg	10
<b>Corrosividade ao cobre, 3 h a 50 °C, máx.</b>	-	1
<b>Número de Cetano</b>	-	Anotar
<b>Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.</b>	°C	19 (7)
<b>Índice de acidez, máx.</b>	mg KOH/g	0,50
<b>Glicerol livre, máx.</b>	% massa	0,02
<b>Glicerol total, máx.</b>	% massa	0,25
<b>Mono, di, triacilglicerol</b>	% massa	Anotar
<b>Metanol ou Etanol, máx.</b>	% massa	0,20
<b>Índice de Iodo</b>	g/100g	Anotar
<b>Estabilidade à oxidação a 110 °C, mín</b>	H	6

Para verificar se o biodiesel está de acordo com as especificações exigidas, análises padrão, com protocolos disponibilizados pela ANP, devem ser executados em laboratórios autorizados por essa Agência.<sup>42</sup> As principais

<sup>42</sup> Métodos de análise: densidade NBR7148; viscosidade ASTM D 445; estabilidade oxidativa\_EN 14112; entupimento a frio D 6371; índice de acidez AOCS; resíduo de carbono

análises são: análise de densidade, viscosidade, teste de estabilidade oxidativa, entupimento a frio, índice de acidez, determinação de percentagem de resíduo de carbono (coque); determinação do ponto de fulgor; análise do índice de cetano; análise de teor de enxofre; análise de corrosividade. Essas análises visam, de um modo geral, verificar e evitar possíveis falhas de escoamento do combustível através de dispositivos que contenha filtros; saber quanto do produto é vaporizado e quanto fica no interior das câmaras de combustão como carbono na forma alotrópica coque; evitar excesso de energia nas câmaras de combustão e o mau funcionamento dos pistões e problemas com os motores; além de evitar corrosão aos motores.

Vale ressaltar que, o principal biodiesel produzido no Brasil, o biodiesel de soja, possui principalmente problemas relacionados à estabilidade oxidativa. Conforme relatado anteriormente, medidas como adição de aditivo antioxidante e mistura de biodiesel a partir de sebo bovino ao biodiesel de soja vem sendo utilizadas para que o biocombustível esteja enquadrado nas especificações exigidas pela ANP. Porém, sabe-se que, em curto prazo estas medidas são válidas, mas de certa forma, a necessidade de tomá-las sugere estudos envolvendo a modificação química do biodiesel, de forma a obter um biocombustível com maior fluidez e estabilidade à oxidação, além de melhor desempenho a baixas temperaturas.

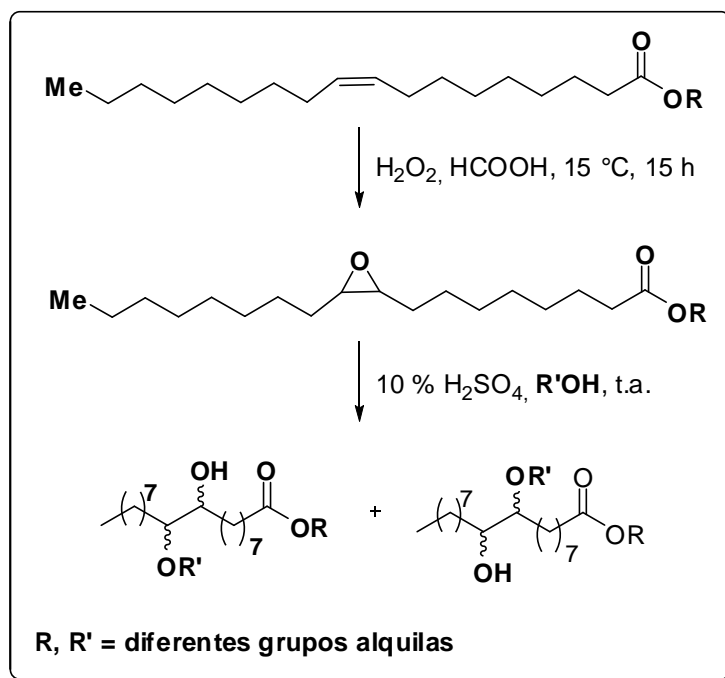
### **2.1.2 Modificação Química do Biodiesel**

Apesar desse grande desafio da modificação química do biodiesel, foram desenvolvidos poucos estudos visando a eliminação de problemas quanto à estabilidade à oxidação. Moser e colaboradores propuseram a epoxidação das ligações duplas com posterior substituição nucleofílica com abertura de epóxido gerando grupos éteres<sup>43</sup> e hidroxilas na cadeia (Esquema 2.2).

---

ASTM D189; Ponto de Fulgor D93; Índice de Cetano D 4737; Análise Teor de Enxofre; Determinação da corrosividade ao cobre D130.

<sup>43</sup> Moser, B. R.; Erhan, S. Z. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* **2007**, 109, 206.

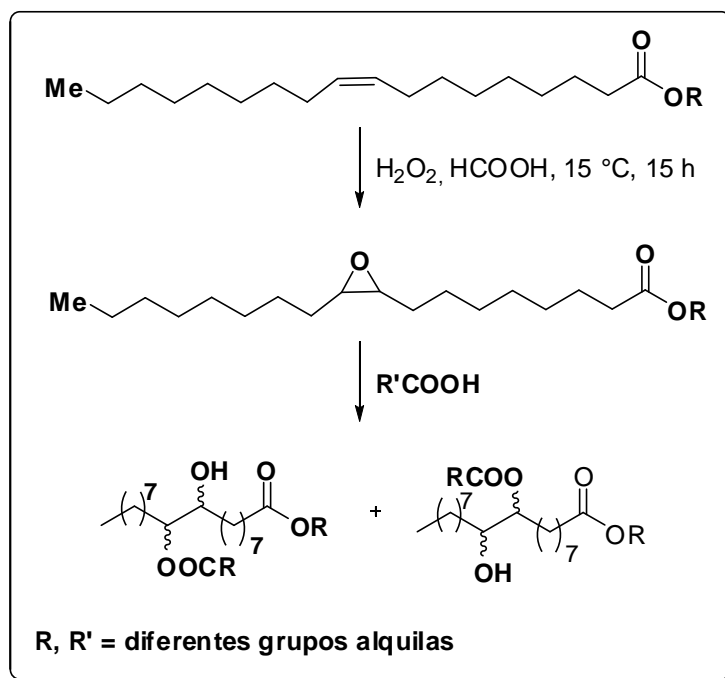


*Esquema 2.2– Modificação Química do biodiesel com geração de grupos éteres e hidroxilas na cadeia.*

Essa estratégia mostrou ser extremamente promissora, pois, além de aumentar a estabilidade à oxidação, também melhorou as propriedades a frio, uma vez que a presença desses grupos na cadeia dificulta o empacotamento e a cristalização do biodiesel. Porém, observou-se a elevação da viscosidade e da densidade do biodiesel, devido ao grupo hidroxila formado durante a reação de epoxidação.

Em outro trabalho, Doll e colaboradores promoveram a epoxidação com posterior formação de hidroxiésteres<sup>44</sup> nas cadeias (Esquema 2.3).

<sup>44</sup> Doll, K. M.; Sharma, B. K.; Erhan, S. Z. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2007**, 46, 3513.



**Esquema 2.3- Modificação Química do biodiesel com geração de grupos ésteres e hidroxilas na cadeia**

Conforme o trabalho de Moser, este trabalho trouxe resultados similares, melhora nas propriedades a frio e estabilidade e comprometimento da viscosidade e densidade.

Visando também a melhora na estabilidade oxidativa, outros grupos propuseram a hidrogenação parcial do biodiesel, aumentando o teor das cadeias oléicas e eliminando as cadeias linoléicas.<sup>45</sup> A estabilidade à oxidação e índice de iodo do biodiesel foram melhorados. No entanto, com a hidrogenação e a consequente formação de cadeias saturadas, acarretou problemas de propriedades a frio.

Um trabalho recente de Suarez e colaboradores envolveu a hidrogenação parcial do biodiesel com catálise heterogênea em líquido iônico.<sup>46</sup> Com este trabalho, foi possível observar a hidrogenação seletiva, evitando a geração de compostos completamente saturados. Como vantagem da

<sup>45</sup> Moser, B. R.; Haas, M. J.; Winkler, J. K.; Jackson, M. A.; Erhan, S. Z.; List, G. R. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2007**, *109*, 17.

<sup>46</sup> Carvalho, M. S.; Lacerda, R. A.; Leão, J. P. B.; Scholten, J. D.; Neto, B. A. D.; Suarez, P. A. *Z. Catal. Sci. Technol.* **2011**, *1*, 480.

metodologia desenvolvida, destaca-se a reutilização do catalisador suportado em meio iônico sem perda significativa de atividade.

Em linhas gerais, o trabalho desenvolvido por Suarez e colaboradores também abre uma perspectiva bastante interessante, a incorporação da Química sustentável no desenvolvimento de metodologias para a modificação Química do biodiesel. A possibilidade de se utilizar LI, conforme já destacado no capítulo anterior, ocorre aliada a diversos benefícios, tais como: possibilidade de utilização em catálise heterogênea; melhora na seletividade e rendimentos de reações orgânicas; não utilização de solventes orgânicos clássicos; podem ser feitos ciclos do catalisador suportado, as quais são importantes devido à economia e a conservação de recurso.

É importante salientar, que além de problemas envolvendo as propriedades físico-químicas do biodiesel, problemas como contaminação microbiana também são observados. Este problema está diretamente relacionado às etapas de transporte do combustível, recebimento e armazenamento.

### **2.1.3 Contaminação microbiana de diesel e biodiesel**

Os primeiros relatos de contaminação de combustíveis por microorganismos ocorreram nos anos 50. No Brasil, o primeiro relato de estudos envolvendo a contaminação microbiana em combustíveis foi realizado em um tanque com querosene de aviação de onde foi isolado o fungo *Cladosporium resinae*.<sup>47</sup>

O biodiesel, em relação ao diesel apresenta, duas características importantes: é mais higroscópico e possui maior degradabilidade. Em virtude dessas características, a adição de biodiesel ao diesel potencializa problemas como a contaminação microbiológica, a oxidação, a deterioração e surgimento de impurezas. Conseqüentemente, pode trazer problemas como o bloqueio de mangueiras, válvulas e filtros, aumento do conteúdo de água, formação de

---

<sup>47</sup> Gutheil, N. G. Ocorrência de *Cladosporium resinae* (lindau) de Uries em Querosene de aviação no Brasil. Porto Alegre, Instituto tecnológico de Rio Grande do Sul. **1966**, 9.

sedimento, corrosão de tanques e tubulações, produção de sólidos suspensos, degradação dos hidrocarbonetos e bloqueio de injetores.

Esses problemas gerados podem ser minimizados caso cuidados estabelecidos pela norma NBR 15512, que estabelece os requisitos e procedimentos para o armazenamento, transporte, abastecimento e controle de qualidade de biodiesel e/ou mistura óleo diesel/biodiesel, sejam obedecidos. Além disso, um método químico também pode ser utilizado, sendo ele a adição de aditivos. Vale ressaltar que, apenas nos EUA e na Alemanha ocorre essa adição.

A presença de água é fundamental para o desenvolvimento microbiano. No Brasil, a especificação para o óleo diesel permite uma quantidade máxima de 0,05 % de água. No entanto, alguns microlitros no combustível são suficientes para permitir o crescimento inicial de microorganismos.<sup>48</sup> Vale a pena ressaltar que, uma vez iniciado o processo de crescimento microbiano, esse metabolismo celular resulta na produção de mais água agravando a contaminação.

É sabido que os microorganismos podem até sobreviver na ausência de água, devido á estruturas de resistência, mas não se desenvolvem caso a disponibilidade de nutrientes minerais seja limitada. Assim, além da água, nutrientes como fósforo, potássio, magnésio e outros também são limitantes em sistema de armazenamento.<sup>49</sup> Alguns microorganismos podem utilizar hidrocarbonetos como única fonte de energia para seu crescimento.<sup>50</sup> O crescimento de microorganismos pode gerar aldeídos, cetonas e ácidos assim como o processo de oxidação em um sistema de estocagem de diesel e biodiesel.<sup>51</sup> Uma população microbiana, ao encontrar condições adequadas de água e nutrientes, é capaz de se desenvolver em um tanque de armazenamento em uma ampla faixa de temperatura (4 a 60 °C) e pH (4 a 9).<sup>52</sup>

---

<sup>48</sup> Gaylarde, C.C.; Bento, F.M. *Braz. J. Microbiol.* **1999**, *30*, 01.

<sup>49</sup> Bento, F.M. and Gaylarde, C.C. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2001**, *2*, 107.

<sup>50</sup> Davis, J.B. *Petroleum Microbiol.* **1967**, 604.

<sup>51</sup> Dunn, R.O. *Fuel Process Technol.*, **2005**, *86*, 1071.

<sup>52</sup> (a) Yemashova, A. N; Murygina, V. P; Zhukov D. V; Zakharyantz, A. A; Gladchenko, M. A; Appanna, V.; Kalyuzhnyi, S. V. *Sci. Biotechnol.* **2007**, *4*, 315. (b) Leung, D. Y. C.; Koo, B. C. P.;



O oxigênio está normalmente presente em quantidades suficientes em combustíveis, e é continuamente reabastecido quando os tanques são recarregados. Sua presença no sistema favorece o crescimento microbiano aeróbico. No entanto, mesmo que o combustível torne-se anaeróbico, não está protegido contra uma contaminação microbiana, uma vez que os organismos facultativos, como *Bacillus*, e anaeróbios, tais como bactérias redutoras de enxofre (BRS), continuam a proliferar.

Dessa forma, para que aconteça a contaminação microbiana em combustíveis, é necessário que esses microorganismos sejam capazes de utilizar o diesel e o biodiesel como fonte de carbono. Muitas espécies de bactérias, leveduras e fungos filamentosos já foram isoladas e já é conhecida sua capacidade de crescer em sistemas de estocagem de combustíveis. O crescimento de bactérias anaeróbicas do tipo redutoras de sulfato e nitrificantes também já foi detectado. Apesar de, na maioria dos casos, os problemas relativos à contaminação microbiana, especialmente no diesel, somente serem investigados quando começam a ocorrer danos nos equipamentos, o problema da contaminação microbiana é atual e sugere um desafio tecnológico: estudos que envolvam a obtenção de um biodiesel modificado que procure melhorar as propriedades físico-químicas e que ao mesmo tempo atue como um biocida.

## 2.2 Objetivos

Modificar quimicamente o biodiesel por meio de reações de aminólise catalítica em meio ecologicamente aceitável, conforme metodologia desenvolvida no Capítulo 1. Desenvolver um biocombustível que atue de forma a melhorar a estabilidade à oxidação, as propriedades a frio e ao mesmo tempo como biocida.

### 2.2.1 Metas

- Determinar as condições ideais de reação de modificação do biodiesel em LIs utilizando o oleato de metila como sonda;
- Determinar as propriedades físico-químicas (densidade, viscosidade, estabilidade à oxidação, entupimento de filtro a frio) do oleato de metila modificado;
- Modificar o biodiesel de soja em condições otimizadas e avaliar as propriedades físico-químicas (densidade, viscosidade, estabilidade à oxidação, entupimento de filtro a frio);
- Avaliar por meio do teste de perfuração em ágar a atividade biocida (fungicida e bactericida) do biodiesel modificado em várias concentrações;

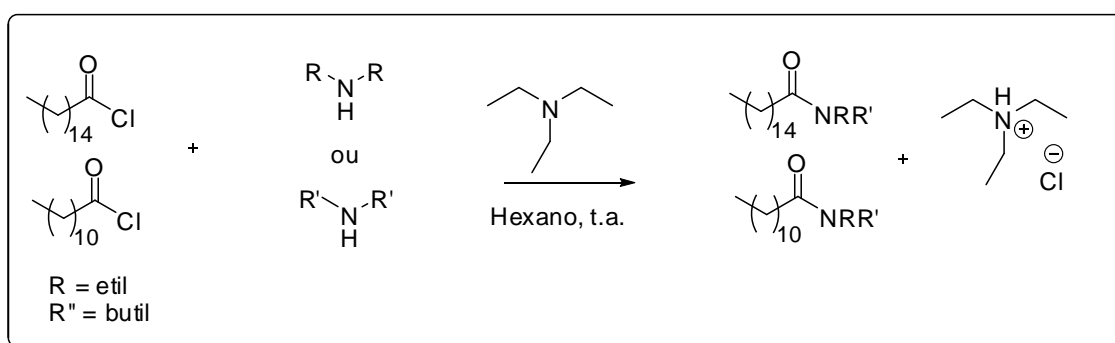
## 2.3 Resultados e Discussão

A primeira etapa deste Capítulo foi a escolha do tipo de modificação que seria feita no biodiesel. A escolha pela síntese de amidas ocorreu pelo fato de as amidas graxas possuírem um importante papel na tecnologia do biodiesel. Tem sido demonstrado que as amidas derivadas de ácidos graxos têm um comportamento de ignição muito melhor do que os ésteres simples dos ácidos graxos.<sup>53</sup> Pelo fato das amidas derivadas de ácidos graxos não conterem enxofre ou aromáticos em sua estrutura, esses compostos podem também ajudar a aliviar o efeito estufa (também porque a matéria-prima é derivada de biomassa que está envolvida tanto no ciclo natural do carbono quanto no fenômeno da fotossíntese).<sup>17</sup>

---

<sup>53</sup> Serdari, A.; Lois, E.; Stournas, S. *Int. J. Energ. Res.* **2000**, *24*, 455.

Lois e colaboradores prepararam amidas graxas derivadas de cloretos de ácidos graxos (derivados do ácido palmítico e do ácido láurico) e amins secundárias (dietilamina e dibutilamina).<sup>54</sup> A reação ocorreu com excesso de amina (triethylamina) em hexano por 48 h a temperatura ambiente (Esquema 2.4).



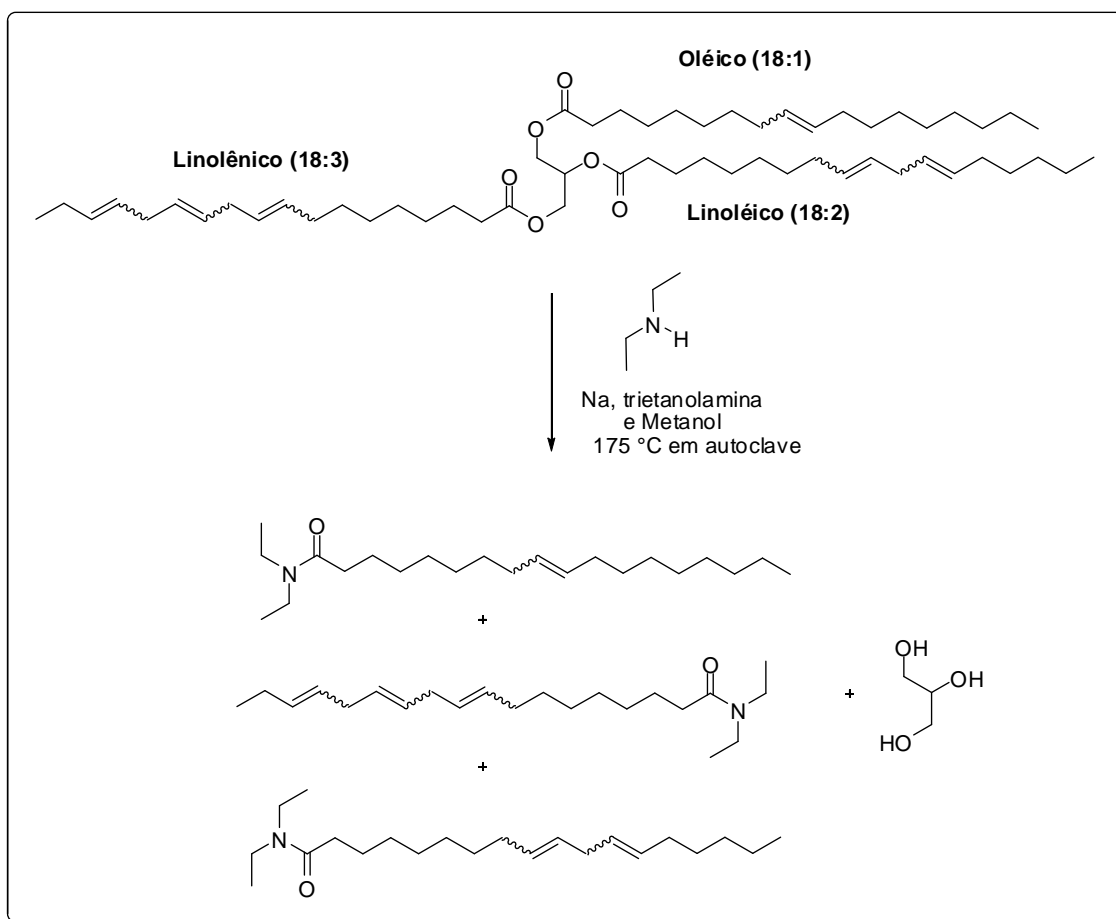
**Esquema 2.4– Síntese de amidas derivadas de cloretos de ácidos em meio básico.**

Os autores demonstraram um bom índice de cetano para os compostos obtidos. Porém, a metodologia não se apresenta como uma metodologia viável, visto que exige um longo período reacional e um grande excesso de amina, tendo que ser neutralizado ao término da reação.

Em outro estudo, Canoira e colaboradores obtiveram amidas a partir de óleo de soja refinado e óleo de soja após a fritura.<sup>55</sup> Para isto, os autores trataram o óleo de soja com 6,2 equivalentes de dietilamina e utilizaram sódio metálico e trietanolamina em quantidades catalíticas em autoclave a 175 °C (Esquema 2.5). Após 48 h de reação foi obtido um produto com 75 % de conversão e apresentando melhora na propriedade de ignição como números de cetanos.

<sup>54</sup> Stournas, S.; Lois, E.; Serdari A. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1995**, *72*, 433.

<sup>55</sup> Alcantara, R.; Amores, J.; Canoira, L.; Fidalgo, E.; Franco, M.J.; Navarro A. *Biomass and Bioenergy*, **2000**, *18*, 515.

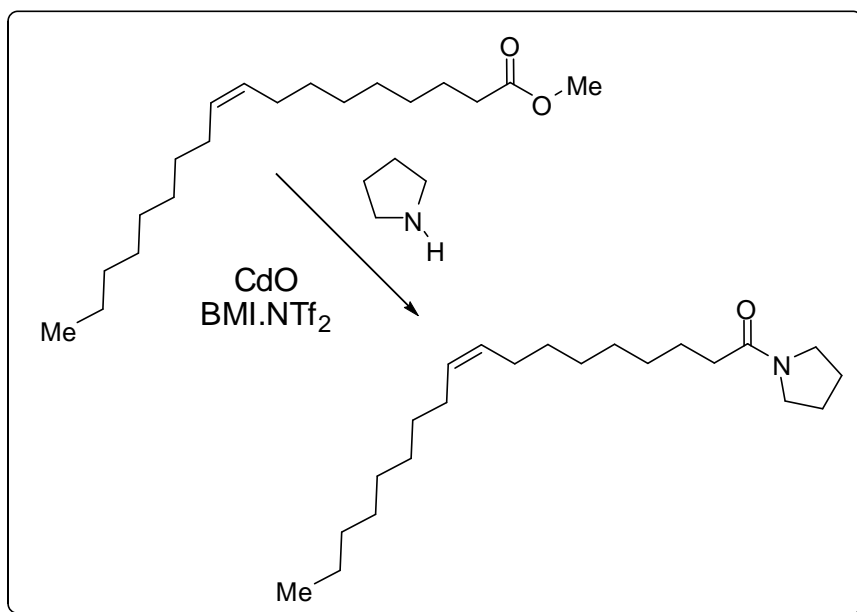


**Esquema 2.5– Síntese de amidas a partir de óleo de soja.**

Em relação as metodologias apresentadas na literatura, percebe-se que ambas apresentam melhoras no índice de cetano. Porém, as reações são demoradas, utilizam um grande excesso de base, e em um dos casos utilizando-se uma segunda base. É importante ressaltar que uma das metodologias anteriormente citadas utilizou um derivado de ácido graxo, não podendo ser utilizado diretamente o óleo de soja na reação. Já a metodologia de Canoiras (Esquema 2.5) em que utilizou diretamente o óleo de soja, a metodologia não leva a uma conversão total do óleo em amida, o que juntamente com o grande excesso de base e a elevada temperatura reacional torna a metodologia inviável industrialmente.

Mediante o exposto, escolheu-se modificar o biodiesel quimicamente para a formação de amida por saber da excelente propriedade de ignição dessa classe de compostos. Além disso, visionou-se uma metodologia rápida e eficiente, que levasse a uma total conversão do óleo de soja em amidas

graxas. Na primeira reação executada em escala de grama obteve-se uma amida graxa a partir da reação entre o oleato de metila e a pirrolidina em meio a LI e utilizando o CdO como catalisador 135 °C (Esquema 2.6).



*Esquema 2.6- Reação de aminólise catalisada por CdO em BMI.NTf<sub>2</sub> na temperatura de 135 °C.*

O oleato de metila foi escolhido como substrato por estar presente em torno de 25 % no biodiesel de soja. A escolha da pirrolidina ocorreu em virtude de se buscar obter uma amida terciária diferente das já obtidas na literatura para a Química do Biodiesel, além de ter o conhecimento de compostos que possuem a porção pirrolidilamida apresentarem atividades biológicas relevantes.<sup>7</sup> O CdO e o BMI.NTf<sub>2</sub> foram utilizados por, na metodologia desenvolvida no capítulo 1, ser a condição reacional que levou a melhores rendimentos.

O produto da reação em escala de grama foi obtido em 97 % de rendimento sendo caracterizado por <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN e IV. Após a obtenção do produto, passou-se para a avaliação das propriedades físico-químicas.

### 2.3.1 Análise físico-química da amida graxa derivada de oleato de metila.

A primeira análise feita foi a de viscosidade cinemática das amostras, sendo obtido o valor de 22,5 cSt para amida graxa, que apresentou um aumento de aproximadamente 16 cSt em relação ao oleato de metila (6,5 cSt).

Em seguida, foram executadas análises de calorimetria diferencial de varredura (DSC), para verificar a temperatura de fusão tanto para o Biodiesel quanto para blends de biodiesel com adições crescentes da amida: 0 %, 1 %, 3 %, 5 %, 10 %, 25 % e 50 %. Os perfis para a análise de calorimetria diferencial de varredura estão dispostos no Gráfico 2.1 e os valores estão sumarizados na Tabela 2.2.

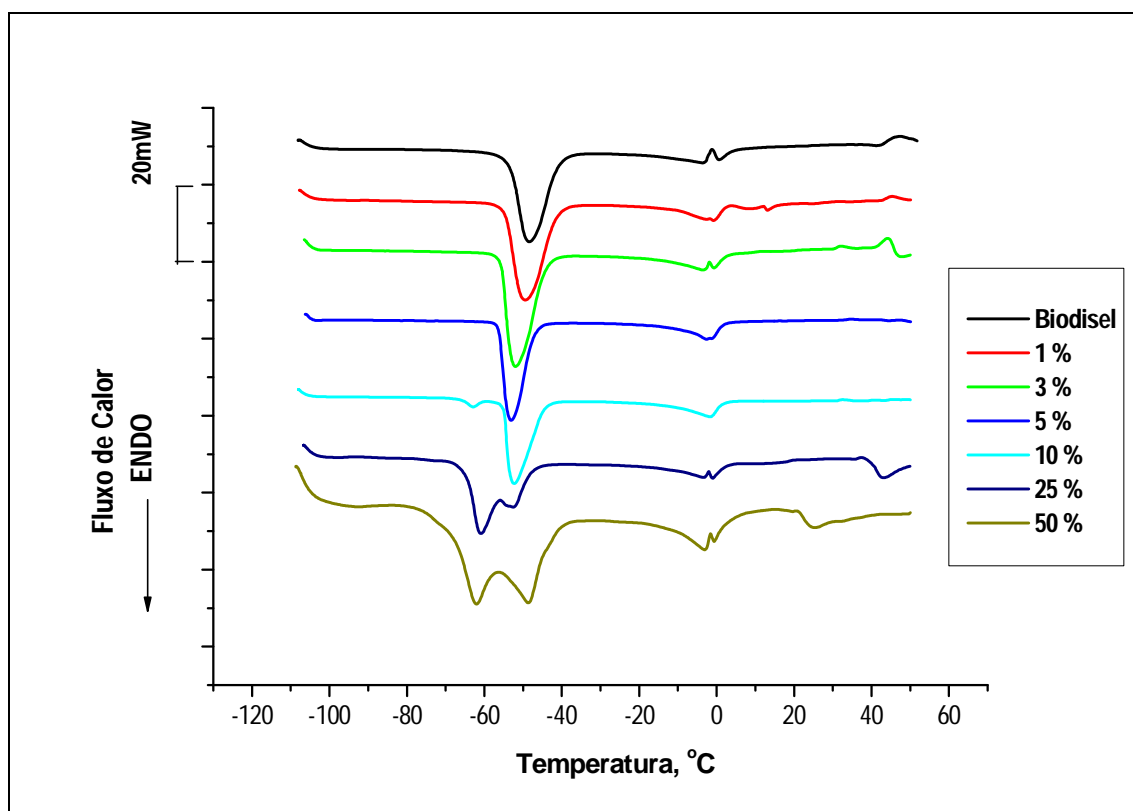


Gráfico 2.1- Perfis para a análise de calorimetria diferencial de varredura.

*Tabela 2.2– Valores referentes à análise de calorimetria diferencial de varredura.*

<b>Amostra</b>	<b>1 estágio (°C)</b>	<b>2 estágio (°C)</b>
<b>Biodiesel</b>	-	-48,44
<b>1 % amida</b>		-49,51
<b>3 % amida</b>		-52,03
<b>5 % amida</b>		-52,97
<b>10 % amida</b>	-62,79	-52,33
<b>25% amida</b>	-60,87	-52,60
<b>50% amida</b>	-62,05	-48,67

É possível observar na Tabela 2.2 que para todos os valores obtidos o pico correspondente ao biodiesel está em uma temperatura menor que para o biodiesel puro, o que é excelente para o trabalho. Outro fato interessante, é que ao serem adicionadas porcentagens de 1 a 5 de amida ao biodiesel verifica-se uma diminuição significativa da temperatura de fusão em relação ao biodiesel puro. Percebe-se também que a partir de 10 % os valores vão aumentando, o que mostra que a adição da amida só é viável até certo ponto. No caso das blendas com 10 e 25 %, também foi possível observar um aumento da temperatura de fusão, mas os valores apresentaram-se praticamente constantes, mostrando que um aumento na proporção de oleato de metila modificado acima de 5 % não acarreta em significativas mudanças. No entanto, para 50 % observou-se um decréscimo significativo da temperatura de fusão em relação aos valores de 10 e 25 %. Para 10, 25 e 50 % foram observados dois valores de temperatura de fusão: os valores do primeiro estágio (relacionado à temperatura de fusão da amida) e do segundo estágio (relacionado à temperatura de fusão do biodiesel).

Em seguida, foram executadas análises de Rancimat para verificar a estabilidade oxidativa da amida graxa formada e de blendas de biodiesel com adições crescentes da amida: 1 %, 3 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 % e 100 % (amida graxa) e biodiesel, de acordo com a norma EN 14112, e os resultados estão sumarizados na Tabela 2.3.

**Tabela 2.3- Análise de oxidação acelerada de acordo com a norma EN 14112.**

<b>Amostra</b>	<b>Tempo de indução (h)</b>	<b>Tempo para atingir a condutância de 200 <math>\mu\text{S cm}^{-1}(\text{h})</math></b>
<b>Biodiesel</b>	1,6	3,7
<b>1 % de amida</b>	7,4	11,4
<b>3 % de amida</b>	9,3	13,5
<b>5 % de amida</b>	10,9	17,1
<b>10 % de amida</b>	14,0	23,3
<b>25 % de amida</b>	0,1	0,9
<b>50 % de amida</b>	0,03	0,14
<b>100 % de amida</b>	0,02	0,07

Os resultados dispostos na Tabela 2.3 mostram que com o aumento da proporção de amida graxa no biodiesel há um aumento da estabilidade oxidativa do material, sendo o melhor valor obtido o referente à adição de 10 %. A partir de 25 %, percebe-se um decréscimo drástico do tempo de indução, o que pode indicar que todo o material foi oxidado imediatamente. Desta forma, acredita-se a amida produzida está atuando como um agente antioxidante, mas que a partir de 10 % não é viável, já que uma grande quantidade de amida levaria a uma rápida oxidação. Já que esta se oxida primeiramente que o biodiesel.

Uma vez que tanto o Rancimat quanto o DSC indicam uma boa eficiência na melhoria das propriedades físico-químicas para a blenda com adição de 5 % (Tabelas 2.2 e 2.3), a mesma foi submetida a novas análises.

A viscosidade cinemática a 40 °C para a adição de 5 % de amida apresentou um valor de 4,2 cSt e a análise de entupimento de filtro a frio forneceu o valor de -1 °C (estes valores estão dentro das especificações exigidas pela ANP para o Biodiesel). A determinação do ponto de entupimento a frio ocorreu de acordo com a norma ASTM D 6371. Mediante os resultados obtidos, percebe-se que a adição de 5 % de amida ao biodiesel mostrou uma maior estabilidade oxidativa em relação ao biodiesel de soja, sem aumentar a viscosidade e a temperatura de entupimento de filtro a frio. Os valores das propriedades físico-químicas da blenda com 5 % de amida encontram-se nos

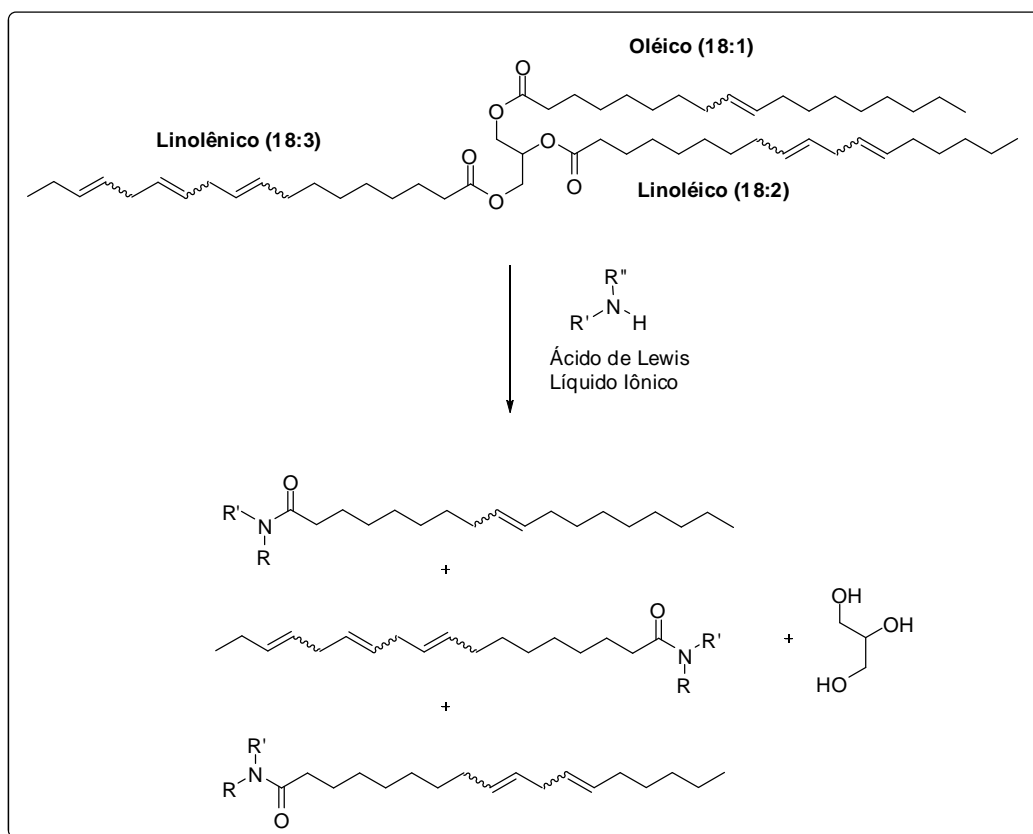


padrões de especificação que correspondem à parte da qualidade exigida para o biodiesel, podendo ser utilizado com um aditivo para o biodiesel.

Após as análises físico-químicas do material obtido a partir do oleato de metila, partiu-se para a reação de aminólise para a obtenção de uma mistura de amidas derivadas de ácido graxo.

### 2.3.2 Síntese de amidas graxas a partir de óleo de soja.

Nesta parte do trabalho havia duas possibilidades: transesterificar o óleo de soja para a obtenção de biodiesel e posteriormente submetê-lo a reação de aminólise; ou utilizar diretamente o óleo de soja para a obtenção de uma mistura de amidas graxas. Escolheu-se então a segunda alternativa, como uma forma de diminuir o número de etapas e aumentar a eficiência da reação (Esquema 2.7).



*Esquema 2.7– Reação de aminólise catalítica utilizando óleo de soja.*

O óleo de soja possui em sua estrutura três diferentes cadeias alquílicas provenientes dos ácidos graxos: oléico, linoléico e linolênico (Esquema 2.7). Os

grupos ésteres da estrutura do óleo de soja foram totalmente convertidos a amidas, já que nenhum traço de éster foi verificado em um rendimento de 95 %. Após a obtenção do produto, este foi submetido às análises físico-químicas

### **2.3.3 Análises físico-químicas da mistura de amidas graxas obtidas a partir do óleo de soja.**

A primeira análise feita do biodiesel modificado por meio de amidação catalítica com pirrolidina foi a de viscosidade cinemática. Após a execução do procedimento de acordo com a norma ASTM D 445, obteve-se um valor de 24,5 cSt que quando comparado ao valor da viscosidade do óleo de soja (36,5 cSt), percebe-se que ocorreu uma diminuição do valor. Quando comparado o valor da viscosidade da mistura de amidas obtidas em relação a viscosidade exigida pela ANP para o biodiesel (de 4 a 6 cSt), verifica-se um aumento no valor.

Em seguida, foi analisada a densidade do produto obtido, de acordo com o procedimento de análise descrito na norma NBR7148. O procedimento foi efetuado em triplicata e o valor de densidade obtido a 15 °C foi de 1,049 g/cm<sup>3</sup>. Quando realizado a 20 °C, o valor médio da densidade foi de 1,046 g/cm<sup>3</sup>. Comparativamente com o valor obtidos na literatura,<sup>56</sup> 0,922 cm<sup>3</sup> a 20 °C para o óleo de soja, observa-se um pequeno aumento. Quando comparados ao biodiesel, de acordo com a ANP (Tabela 2.1), o biodiesel deve ter uma densidade entre 0,850 e 0,900 g/cm<sup>3</sup>. Os valores obtidos revelam que a amida obtida possui um valor maior que o exigido pela ANP.

Em seguida, partiu-se para a avaliação da propriedade oxidativa do material obtido. Novamente, foram preparadas blendas da mistura de amidas obtidas a partir do óleo de soja, com o biodiesel. As blendas preparadas possuíram um aumento gradual da mistura de amida graxa obtida a partir do óleo de soja (1 %, 3 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 %) ao biodiesel. Os resultados estão sumarizados na Tabela 2.4.

---

<sup>56</sup> [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482\\_99.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm). Acessado em 30 de outubro de 2011.

**Tabela 2.4- Análise de oxidação acelerada de acordo com a norma EN 14112.**

<b>Amostra</b>	<b>Tempo de indução (h)</b>	<b>Tempo para atingir a condutância de 200 <math>\mu\text{S cm}^{-1}(\text{h})</math></b>
<b>Biodiesel</b>	1,6	3,7
<b>1 % de amida</b>	3,5	6,4
<b>3 % de amida</b>	4,1	7,4
<b>5 % de amida</b>	5,1	9,0
<b>10 % de amida</b>	6,8	11,6
<b>25 % de amida</b>	0,03	0,2
<b>50 % de amida</b>	0,03	0,1

Como pode ser observado na Tabela 2.4, os valores obtidos a partir da análise de estabilidade oxidativa pelo método Rancimat de acordo com a norma EN14112, indicam um aumento da estabilidade oxidativa das blendas analisadas a partir da adição de 1 a 10 % de amida ao biodiesel. A adição superior ao valor mencionado diminui drasticamente a estabilidade das blendas (25 e 50 %), de modo similar as análises obtidas com a amida proveniente do oleato de metila. Esses valores mostram que a mistura de amidas obtida a partir do óleo de soja podem ser utilizadas como um aditivo antioxidante ao biodiesel, até 10 %. Comparativamente aos resultados obtidos a partir da Tabela 2.3, percebe-se que a amida obtida a partir do oleato de metila possui maior propriedade antioxidante do que a mistura de amidas a partir do óleo de soja. Isto se deve ao fato de que a amida obtida a partir do óleo de soja possui maior quantidade de ligações duplas que são derivadas dos ácidos linoléico e linolênico do óleo de soja, os quais possuem, respectivamente, duas e três ligações duplas presentes em sua estrutura. Essas ligações estão presentes na cadeia em disposição capaz de estabilizar intermediários radiculares de reação de oxidação o que confere uma baixa estabilidade oxidativa ao biodiesel.

Os resultados indicam que tanto a amida derivada do oleato de metila, quanto do óleo de soja podem ser utilizadas como aditivos antioxidante. Contudo, a amida derivada do oleato é mais ativa neste papel. Conforme verificado na Tabela 2.4, a maior estabilidade a oxidação foi obtida com a blenda contendo 10 % de amida em biodiesel. Com isso, como forma de

verificar se o biodiesel aditivado com 10 % de amida está de acordo com as normas exigidas pela ANP, essa blenda passou novamente por análises físico-químicas.

Em um primeiro momento, foi analisada a densidade da blenda nas temperaturas de 15 e 20 °C. A 15 °C, de acordo com a norma NBR 7148, a densidade obtida foi de 0,891 g/cm<sup>3</sup> e a 20 °C o valor obtido foi de 0,887 g/cm<sup>3</sup>. Os valores obtidos estão dentro das normas exigidas pela ANP, que determina um valor entre 0,850 e 0,900 g/cm<sup>3</sup>.

Outra análise feita com a blenda contendo 10 % de amida foi a viscosidade cinemática de acordo com a norma ASTM 445, obtendo-se um valor de 4,67 cSt. Este valor está dentro dos padrões exigidos pela ANP, que exige uma viscosidade entre 4 e 6 cSt.

A análise de entupimento a frio, de acordo com a norma ASTM D 6371, forneceu uma temperatura de -1 °C. Esta temperatura está dentro do limite exigido pela ANP, que exige um valor de até 19 °C. Além disso, a temperatura aferida do ponto de entupimento a frio é a mesma obtida para o biodiesel puro, -1 °C. Com isso, verifica-se a possibilidade da blenda com 10 % de amida derivada do óleo de soja ser utilizada como um aditivo antioxidante

## **2.4 Ensaios microbiológicos – Teste de perfuração em agar**

Para o teste de perfuração em ágar foram utilizadas cepas de bactérias e fungos padronizadas ATCC (*American Type Culture Collection*). Os organismos utilizados nos testes foram escolhidos por serem comuns no ar, no solo e nos seres humanos. São eles: as bactérias *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 31488), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), e os fungos *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporium canis* (ATCC 36299) e *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218).

Nos reservatórios presentes no ágar foram adicionados 10 µL das blendas. As proporções da mistura de amidas graxas obtidas a partir do óleo de soja em biodiesel utilizadas nas blendas foram de 1 %, 3 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 % e 100 %. Após o tempo de incubação foram medidas as zonas de inibição (onde não houve crescimento). Os halos de inibição foram medidos,

incluindo o diâmetro da perfuração, com o auxílio de projetor ótico e um paquímetro. O cálculo foi feito a partir da média das leituras em triplicatas das amostras em teste e os dados estão dispostos na Tabela 2.4.

*Tabela 2.5– Valores médios das dimensões dos halos de inibição em milímetros.*

Microorganismo	Amostras						
	1%	3%	5%	10%	25%	50%	100%
<i>Escherichia coli</i> *	-/-	13	-/-	21	-/-	-/-	19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	17	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Staphylococcus aureus</i> *	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
<i>Microsporum canis</i> **	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	9	17
<i>Candida albicans</i> **	-/-	-/-	-/-	-/-	10	10	16
<i>Trichophyton rubrum</i> **	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	19

\* Bactéria; \*\* Fungos.

Como pode ser observado na Tabela 2.5, foram utilizados quatro bactérias e três fungos. Dentre as quatro bactérias as amostras analisadas apresentaram atividade para duas. Para a bactéria *Escherichia coli*, a blenda contendo 3 % em massa de amida já apresentou atividade, com um halo de inibição de 13 mm. As blenda contendo 10 e 100 % de amida apresentaram a média dos halos de inibição de 21 e 19 mm, respectivamente. Outra bactéria utilizada nos testes foi a *Pseudomonas aeruginosa*, e para ela as blendas contendo 50 e 100 % da mistura de amidas graxas apresentaram valores de 17 e 15 mm, respectivamente para as médias dos halos de inibição.

Para os três fungos utilizados o material analisado apresentou inibição. Para o teste com o fungo do tipo levedura, *Candida albicans*, com 25 % de amida em biodiesel já foi possível observar atividade. Os valores das médias dos halos obtidos para as blendas contendo 25, 50 e 100% de amida foram de respectivamente, 10, 10, 16 mm. Com relação ao fungo *Microsporum canis* as amostras contendo 50 e 100 % da mistura de amidas graxas apresentaram halo de inibição de 9 e 17 mm, respectivamente. Para o *Trichophyton rubrum* apenas a amida graxa pura apresentou inibição, com um halo de 19 mm.

Outro ponto interessante observado durante os testes é que nas proximidades dos reservatórios houve uma diminuição do crescimento, podendo as blendas com misturas de amidas serem consideradas biostáticas, ou seja, não inibe, mas diminui o crescimento. Cabe destacar, que o fato de as blendas terem apenas diminuído o crescimento ao redor do meio de cultura pode ser devido ao material não ter difundido de forma adequada no meio de cultura. Dessa forma, isto sugere que sejam realizados testes em outros meios ou utilizando outra técnica, como a microdiluição.

De um modo geral, estes resultados são bastante interessantes, pois mesmo nos ensaios que não foram formados halos pode ser observada uma diminuição do crescimento de fungos e bactérias, o que já é interessante para a Química do Biodiesel.

## **2.5 Conclusão**

A metodologia desenvolvida no Capítulo 1 se mostrou bastante eficiente para o preparo de amidas graxas em escala de grama a partir do óleo de soja. Dessa forma, foi possível obtê-las a partir do óleo de soja, não necessitando a prévia preparação do biodiesel.

Os resultados obtidos com as análises físico-químicas tanto para a amida derivada do oleato de metila, quanto para a mistura de amidas obtidas a partir do óleo de soja, mostraram propriedades físico-químicas interessantes, indicando que o material obtido possa vir a ser utilizado como um aditivo antioxidante.

Além disso, a avaliação biológica do material obtido mostrou que a mistura de amidas produzida possui atividade microbicida, em diversas concentrações, tanto para fungos do tipo levedura e filamentoso quanto para bactérias, gram negativas e positivas. O material obtido, mesmo quando não apresentou halos definidos de inibição mostrou diminuição no crescimento dos microorganismos sendo essa atividade do tipo biostática. Desse modo, a mistura de amidas se apresenta como possível utilização biocida em biodiesel.

Os resultados descritos neste capítulo serão publicados em periódico internacional.

### 3. Síntese *One-pot* de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com aminoácidos.

#### 3.1 Introdução

A Nanotecnologia não é uma ciência recente. Já em 1959 os primeiros conceitos de Nanotecnologia foram formulados por Richard Feynman<sup>57</sup> e em 1974 Norio Taniguchi introduziu o termo “nanotecnologia”.<sup>58</sup> Nas últimas décadas, a crescente preocupação em desenvolver equipamentos e técnicas para o entendimento da matéria em escala nanométrica se torna constante. Este fato se deve a ampla aplicação dessa Ciência e a possibilidade de união de diversas áreas. Atualmente, a nanotecnologia está presente em todo o cotidiano, desde chips de computadores até na medicina.<sup>59</sup>

Neste contexto, as nanopartículas (NPs) surgem com imensa importância devido às diversas aplicações, seja na nanomedicina (prevenção, diagnóstico e tratamento de doenças), seja no aspecto tecnológico (desenvolvimento de selos de vedação, fluidos magnéticos e materiais nanoestruturados). Em busca de uma linguagem comum, de acordo com o documento PAS71,<sup>60</sup> são consideradas NPs, partículas com o tamanho de até 100 nm.

Dentre as NPs, as nanopartículas magnéticas (NPMs) têm ganhando bastante atenção no meio científico. Uma característica importante das NPMs é a magnetização, que ocorre de uma forma muito especial, pela união do ferromagnetismo de muitos spins atômicos e um único monodomínio, denominado superparamagnetismo. A grande área superficial e a magnetização das NPMs aliadas à possibilidade de funcionalização com

---

<sup>57</sup> Em palestra para a Sociedade Americana de Física em 1959.

<sup>58</sup> N. Taniguchi, Proc. Intl. Conf. Prod. Eng. Tokyo, Part II, Japan Society of Precision Engineering, 1974).

<sup>59</sup> Gewin, V. *Nature* **2009**, *460*, 540.

<sup>60</sup> PAS71 - Esta Especificação Pública (do inglês Publicly Available Specification - PAS) foi comissionada pelo Departamento inglês de Comércio e Indústria (UK Department of Trade and Industry) - DTI) em colaboração com a Instituição Britânica de Padrões (British Standards Institution - BSI) com a finalidade de desenvolver e encorajar o uso de uma linguagem comum para as tecnologias de nanopartícula. Consultado em ([www.bsi-global.com/en/](http://www.bsi-global.com/en/)). Acessado em 12 de outubro de 2011.

diferentes ligantes tornam as NPMs passíveis de serem utilizadas em diversos campos da ciência. Sabendo-se que as propriedades físicas e químicas das NPs estão relacionadas à sua morfologia e tamanho, e com o intuito de melhorar as propriedades desses materiais, várias metodologias de síntese e modificação de NPs têm sido desenvolvidas.<sup>61</sup>

No caso das nanopartículas magnéticas (NPMs), que são constituídas por óxido metálico superparamagnético, a busca por dispersões estáveis se torna necessária, visto que as características das NPMs são fornecidas ao sistema e sua morfologia e tamanho estão relacionados às possíveis aplicações, como, por exemplo, a utilização desses fluidos em processos de fixação, separação, transporte, marcação ou seleção dos alvos em aplicações terapêuticas.<sup>62</sup> Cabe ressaltar, que em processos envolvendo transformação de energia, catálise ou funcionalidade de dispositivos mecânicos, tais como, sensores, atuadores e armazenadores de dados, entre outros, características eletrônicas diferenciadas podem ser úteis.

Em meio a tantas possíveis aplicações, várias rotas foram desenvolvidas e podem ser utilizadas para obtenção de NPMs, seja por reações de co-precipitação,<sup>63</sup> por reações envolvendo redução<sup>64</sup> ou por reações de síntese em elevadas temperatura e pressão.<sup>65</sup> Dentre essas rotas, a co-precipitação e a decomposição térmica são as mais utilizadas para a obtenção de óxidos de ferro. Estes óxidos possuem estrutura cristalina que variam de acordo com a fase de óxido de ferro a qual pertencem. Existem 16 diferentes fases de ferro. No entanto, as fases mais utilizadas em aplicações biomédicas são a magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) e a maguemita ( $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ), as quais apresentam estrutura do tipo

---

<sup>61</sup> (a) Jain, T. K.; Richey, J.; Strand, M.; Leslie-Pelecki, D. L.; Flask, C. A. *Biomaterials*, **2008**, 29, 4012. (b) Yuanbi, Z.; Zumin, Q.; Jiaying, H. *Chinese J. Chem. Eng.* **2008** 16(3), 451. (c) Bonder, M. J.; Zhang, Y.; Kiick, K. L.; Ppafthymiou, V.; Hadjipanayis, G. C. *J. Magn. Mater.* **2007**, 311, 658.

<sup>62</sup> (a) Ehrlich, P. Em *Collected Studies on Immunology*; Ehrlich, P., ed.; John Wiley & Sons: Londres, **1906**, 404. (b) Choi, S. J.; Oh, J. M.; Choi, J. H. *J. Phys. Chem. Solids.* **2008**, 69, 1528.

<sup>63</sup> Yuanbi, Z.; Zumin, Q.; Jiaying, H. *Chinese J. Chem. Eng.* **2008** 16(3), 451.

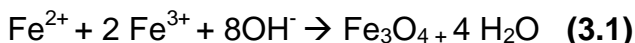
<sup>64</sup> Bonder, M. J.; Zhang, Y.; Kiick, K. L.; Ppafthymiou, V.; Hadjipanayis, G. C. *J. Magn. Mater.* **2007** 311, 658.

<sup>65</sup> Lim, Y. T.; Cho, M. Y.; Lee, J. M.; Chung, S. J.; Chung, B. H. *Biomaterials* **2009**, 30, 1197.



espinélio cúbica. Dentre todas as fases, a mais estável é a hematita ( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) com estrutura hexagonal romboédrica.<sup>66</sup> A partir de outras fases, (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) e ( $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), por meio de processos oxidativos ou térmicos, pode-se obter a hematita.

Nas reações de co-precipitação, a formação do óxido ocorre sob atmosfera inerte, pela adição de uma base a uma mistura de soluções de sais de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup>, conforme a equação 3.1.



Neste processo, a natureza da base tem papel fundamental nas propriedades físico-químicas das NPs formadas. Porém, esse método ocorre sem grande controle de morfologia e tamanho. Para aplicações biomédicas, a co-precipitação pode ser utilizada de forma viável, visto que permite a funcionalização direta com ligantes hidrofílicos.

No caso da decomposição térmica, não se sabe ao certo o mecanismo da reação. Porém, é observado que as elevadas temperaturas em que as reações ocorrem (100 a 350 °C) levam a formação de estruturas cristalinas regulares.

A decomposição do precursor pela temperatura leva a formação de núcleos. Em seguida, a agregação destes leva a formação de nanocristais. O controle reacional envolvendo temperatura, tempo de reação e precursor escolhido permite o controle do tamanho e forma, os quais afetarão diretamente nas propriedades magnéticas. Como geralmente o solvente utilizado neste tipo de reação é apolar, para aplicações biomédicas é necessária a troca do ligante ou uma segunda etapa para funcionalização com um ligante hidrofílico.

Existe uma variedade de processos de obtenção de NPMs funcionalizadas, os quais envolvem a presença de aminoácidos,<sup>67</sup>

---

<sup>66</sup> Wonterghem, J. V.; Mørup, S.; Charles, S. W.; Wells, S. *J. Colloid Interface Sci.* **1988**, *121*, 558.

<sup>67</sup> (a) Durmus, Z.; Kavas, H.; Toprak, M. S.; Baykal, A.; Altınçekiç, T. G.; Aslan, A.; Bozkurt, A.; Coşgun, S. *J. Alloy. Compd.* **2009**, 371. (b) Duan, L.; Jia, S.; Wang, Y.; Chen, J.; Zhao, L. *J. Mater. Sci.* **2009**, 4407. (c) Tie, S. L.; Lin, Y. Q.; Lee, H. C.; Bae, Y. S.; Lee, C. H. *Coll. Surf. A* **2006** 75. (d) Park, J. Y.; Choi, E. S.; Baek, M. J.; Lee, G. H. *Mater. Lett.* **2009**, 379. (e) Marinescu, G.; Patron, L.; Culita, D. C.; Neagoe, C.; Lepadatu, C. I.; Balint, I.; Bessais, L.;

surfactantes,<sup>68</sup> polióis,<sup>69</sup> polímeros naturais e sintéticos,<sup>70</sup> proteínas,<sup>71</sup> fosfolipídios,<sup>72</sup> entre outros. Nos processos descritos na literatura, em que se utilizam aminoácidos, um dos maiores inconvenientes é o envolvimento de duas etapas no preparo das NPs, sendo a primeira etapa de síntese e a segunda de modificação. Em outros processos as reações são conduzidas em meio altamente alcalino, com a geração de resíduos tóxicos devido a utilização de solventes orgânicos ou precursores instáveis.

### 3.1.1 Síntese de Nanopartículas funcionalizadas com aminoácidos

De acordo com a literatura, poucos trabalhos envolvem o preparo de NPs na presença de aminoácidos. Zhan e colaboradores reportaram a formação de NPs do tipo magnetita funcionalizada com *L*-arginina. Neste trabalho, as ferritas são preparadas na presença de glicerol e água a uma temperatura de 200 °C por 6 h.<sup>73</sup>

Lee e colaboradores por meio do método de co-precipitação em meio básico, envolvendo duas etapas, obtiveram NPMs funcionalizadas com leucina (Leu), arginina (Arg), cisteína (Cys), cistina, ácido aspartico (Asp) e tirosina (Tyr). Primeiramente ocorreu a preparação da NPM funcionalizada com oxalato em pH 9. Em seguida ocorreu a troca do ligante oxalato por aminoácidos em

---

Cizmas, C. B.; *J. Nanopart. Res.* **2006** 1045. (f) Viota, J. L.; Arroyo, F. J.; Delgado, A. V.; Horno, J. J. *Coll. Int. Sci.* **2010**, 144.

<sup>68</sup> Wong, H. L.; Bendayan, R.; Raucht, A. M.; Li, Y.; Wu, X. Y. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2007**, 59, 491.

<sup>69</sup> Chan, J. M.; Zhang, L.; Yuet, K. P.; Liao, G.; Rhee, J.; Langer, R.; Farokhzad, O. C. *Biomaterials*, **2009**, 30, 1627.

<sup>70</sup> (a) Langereis, S.; Dirksen, A.; Hackeng, T. M.; Van Genderen, M. H. P.; Meijer, E. W. *New J. Chem.* **2007**, 31, 1152. (b) Yang, W.; Cheng, Y.; Xu T.; Wang, X.; Wen, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, 44, 862. (c) Shukla, R.; Thomas, T. P.; Peters, J.; Kotlyar, A.; Myc, A.; Baker Jr, J. R. *Chem. Commun.* **2005**, 5739.

<sup>71</sup> Guo, P.; Wei, C. *Nanomed-Nanotechnol.* **2005**, 1, 122.

<sup>72</sup> Wong, H. L.; Bendayan, R.; Raucht, A. M.; Li, Y.; Wu, X. Y. *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2007**, 59, 491.

<sup>73</sup> Lai, W.; Yin, W.; Liu, J.; Xi, R.; Zhan, J. *Nanoscale Res Lett.* **2010**, 5, 302.

pH 5.<sup>74</sup> Como desvantagem, este método ocorre em duas etapas em meio alcalino.

Hegman e colaboradores sintetizaram NPMs funcionalizadas com *L*-ácido Glutâmico e *L*-arginina utilizando  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  como precursor e  $\text{NaBH}_4$  como agente redutor.<sup>75</sup> Primeiramente os aminoácidos foram adicionados a solução com  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , após desoxigenação e rotação de 1000 rpm por 15 min. Para a formação das nanopartículas foi adicionado  $\text{NaBH}_4$ .

Cizmas e colaboradores, prepararam nanopartículas magnéticas na presença de aminoácidos (*L*-ácido-aspártico, *L*-ácido glutâmico, cloridrato de arginina, *L*-prolina, *DL*-triptofano) pelo método de co-precipitação em meio de hidróxido de amônio.<sup>76</sup> Esta síntese possui dois inconvenientes, utiliza meio básico e um grande excesso de aminoácidos, sendo a proporção utilizada de  $\text{Fe(III):Fe(II):AA}$  igual a 2:1:4 e 2:1:8.

O mesmo grupo de pesquisas, publicou outro trabalho em que NPs funcionalizadas com *L*-tirosina e *L*-histidina foram sintetizadas pelo método relatado anteriormente. Neste trabalho os autores demonstraram que a reação requer uma grande quantidade de hidróxido de amônio para a obtenção de NPs magnéticas. Apesar da obtenção das partículas magnéticas, este método é praticamente inviável pois ocorre em meio fortemente básico e com um grande excesso de aminoácidos.<sup>77</sup>

Um trabalho bastante interessante e também intrigante é o de Yang e colaboradores, intitulado “*One-pot green synthesis of biocompatible arginine-stabilized magnetic nanoparticles*”.<sup>78</sup> Segundo os autores, foram obtidas nanopartículas do tipo  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  e  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  funcionalizadas com arginina. As NPs de magnetita foram obtidas utilizando  $\text{FeCl}_2$  como um precursor e o procedimento adotado por estes autores foi a mistura de uma

---

<sup>74</sup> Tie, S. L.; Lin, Q.; Lee, H.C.; Bae, Y-S, Lee, S-H. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2006**, 273, 75.

<sup>75</sup> Yathindranath, V.; Rebbou, L.; Moore, D.F; Miller, D. W.; Hegmann, T. *Adv. Funct. Mater.* **2011**, 21, 1457.

<sup>76</sup> Marinesc, G.; Patron, L.; Culita, D. C.; Neagoe, C.; Lepadatu, C. I.; Balint, J.; Bessais, J.; Cizmas, C. B. *Journal of Nanoparticle Research*, **2006**, 8, 1045.

<sup>77</sup> Culita, D. C. Marinescu, G.; Patron, L.; Carp, O.; Cizmas, C. B. Diamandescuc, L. *Materials Chemistry and Physics*, **2008**, 111, 381.

<sup>78</sup> Wang, Z.; Zhu, H.; Wang, X.; Yang, F.; Yang, X. *Nanotechnology*, **2009**, 20, 465606.

solução aquosa 20 mM FeCl<sub>2</sub> com igual volume de uma solução aquosa arginina 20 mM sob um atmosfera de nitrogênio a 15 °C com agitação vigorosa. Transcorridas 3 h de reação, as NPs foram submetidas à separação magnética e lavadas com água três vezes. O material sólido resultante foi lavado com etanol e secos em um forno a vácuo a 50 °C."

O que parece surpreendente neste processo é que a síntese de NPs de magnetita ocorreu a partir de sais de Fe (II) sem uso de qualquer agente oxidante. É sabido que a magnetita tem sítios de Fe (II) e Fe (III) em sua estrutura cúbica. Portanto, vários relatos na literatura mostram que a magnetita foi obtida a partir de precursores de Fe (III) com o uso de agentes redutores, ou pelo uso de uma mistura na proporção de 1:2 de sais de Fe (II): Fe (III).<sup>79</sup> Poderia ser argumentado que parte do Fe (II) é oxidada a Fe (III) pelo oxigênio atmosférico. No entanto, a reação foi conduzida sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Durante a discussão sobre o mecanismo de reação, os autores mencionam o trabalho de Aslam e colaboradores,<sup>80</sup> que obtiveram NPs do tipo magnetita utilizando como precursor Fe (II) e dodecilamina. No entanto, Aslam *et al.* afirmam que o sal Fe (II) utilizado já continha uma certa quantidade de Fe (III), já que Fe (II) é facilmente oxidado a Fe (III), mesmo na presença de vestígios de oxigênio. Além disso, na obra de Aslam *et al.* a reação foi conduzida a 85 °C uma vez que é muito maior do que a 15 °C, temperatura utilizada no artigo comentado.

Existem alguns estudos que relatam a síntese de NPs de magnetita a partir de sais de Fe (II) na atmosfera de Ar. No entanto, nestes estudos a síntese foi realizada sob sonicação.<sup>81</sup> Sob sonicação, bolhas de solventes são formadas e, durante seu colapso, espécies reativas de radicais são formadas, como a hidroxila radicalar, que pode então reagir para formar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que por sua vez, promove a oxidação de Fe (II) para Fe (III). Além disso, é sabido que

---

<sup>79</sup> (a) Park, J.; Joo, J.; Kwon, S. G.; Jang, Y.; Hyeon, T *Angew. Chem. Int. Ed.* . **2007**, *46*, 4630. (b) Laurent, S.; Forge, D.; Port, M.; Roch, A.; Robic, C.; Elst, L. V.; Muller, R. N.; *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 2064. (c) Shylesh, S.; Schünemann, V.; Thiel, W. R.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010** *49* 3428.

<sup>80</sup> Asla, M.; Schultz, E. A; Sun, T.; Meade, T.; Dravid, V. P. *Cryst. Grow. Des.* **2007**, *7*, 471

<sup>81</sup> Kumar, R. V.; Koltypin, Y.; Xu, X. N.; Yeshurun, Y.; Gedanken, A.; Felner, I. *J. Appl. Phys.* **2001**, *89*, 6324. Theerdhala, S.; Bahadur, D.; Vitta, S.; Perkash, N.; Zhong, Z. Y.; Gedanken, A. *Ultrason. Sonochem.* **2010** , *17*, 730.

aminoácidos como a *L*-arginina são agentes redutores. Por exemplo, eles são capazes de reduzir os sais de prata ou de ouro para prata metálica ou ouro metálico.<sup>82</sup> Portanto, é difícil acreditar que a magnetita pode ser obtida pelo procedimento descrito pelos autores no artigo citado. Também é sabido que para a obtenção de ferritas como  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  e  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  é preciso de sais na proporção 2:1 (Fe (III): M (II), M = Co, Mn). De acordo com o procedimento relatado no artigo comentado, os autores utilizaram um sal Fe (II) misturado com sais de Co (II) ou Mn (II).

Outra metodologia interessante emprega a sonicação para a formação de magnetita. Na primeira etapa é utilizado como precursor o acetato de Ferro (II) para a formação do óxido de ferro. Em seguida, ocorre a funcionalização em solução de *L*-arginina por 48 h. Apesar de muito interessante, a reação é demorada, não sendo viável para produção industrial.<sup>83</sup>

Recentemente, foi demonstrado que NPMs podem ser obtidas em uma única etapa via decomposição térmica de precursores do tipo  $\text{M}^n(\text{Acac})_n$  ( $n = 2$  ou  $3$ ; M = Fe, Co, Ni, Mn; Acac = acetilacetonato) empregando LIs como solventes e oleilamina como agente redutor e modificador de superfície.<sup>84</sup> No entanto, as NPMs formam dispersões estáveis apenas em solventes apolares. Para aplicações biomédicas, as soluções coloidais estáveis devem ocorrer em meio polar fazendo-se necessário uma segunda etapa, envolvendo a substituição da oleilamina por outro agente modificador de superfície. Para se obter dispersões estáveis em diferentes meios, faz-se necessário que a NPM seja funcionalizada por outras moléculas com diferentes polaridades. Neste contexto, obtenção de NPMs funcionalizadas com aminoácidos, em uma só etapa, pelo método de decomposição térmica em meio ecologicamente amigável (LI), e que formem dispersões estáveis em meio biológico, se torna um desafio.

---

<sup>82</sup> Bhargava, S. K.; Booth, J. M.; Agrawal, S.; Coloe, P. Kar, G. *Langmuir* **2005**, *21*, 5949. (b) Si, S. ; Dinda, E. ; Mandal, T. K. ; *Chem.-Eur. J.* **2007** , *13*, 9850.

<sup>83</sup> Sriharsha ,T. ; Dhirendra, B. ; Satish, V. ; Nina, P. ; Zhong, Z. ; Gedanken, A. *Ultrason. Sonochem.* **2010**, *17*, 730.

<sup>84</sup> Oliveira, F. C. C.; Rossi, L. M.; Rubim, J. C. "Processo de obtenção de nanopartículas magnéticas utilizando líquidos iônicos como solventes e sua aplicação na preraração de dispersões estáveis em solventes não-polares." (Prot. INPI: 01210000066). **2010**.

### 3.1.2 Efeito da funcionalização das NPs

É sabido que todos os sistemas tendem a permanecer em sua forma menos energética. No caso das NPs, a aglomeração ou *bulk* metálico, diminui a energia de superfície, que é elevada devido a grande área superficial das NPs. Quando ocorre a funcionalização, geralmente por moléculas orgânicas de cadeia longa, ocorre uma repulsão entre as moléculas dos ligantes por meio do efeito estérico e eletrônico, evitando a aglomeração e a oxidação de NPs metálicas.

Além disso, o ligante possui um papel importante para a formação de dispersões estáveis. Para fins biomédicos, é necessária a incorporação de um ligante hidrofílico que permita a estabilização em pH fisiológico em torno de 7,2. Outra possibilidade é a incorporação de moléculas bioativas, as quais além de evitar a aglomeração poderão ser utilizadas como agentes ativos no tratamento de doenças.

### 3.1.3 Aplicações Biomédicas

De acordo com a definição do Instituto Nacional do Câncer (INCA), câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo.<sup>85</sup> Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas. Estas células malignas deixam de responder aos mecanismos de controle e defesa do organismo, multiplicando-se continuamente e desordenadamente para criar os tumores. O câncer pode ser causado por fatores internos (*e.g.*; mutações inerentes, hormônios, condições imunológicas) e externos (*e.g.*; tabaco, substâncias químicas, radiação, alimentação, agentes infecciosos), sendo que ambos os fatores podem atuar simultaneamente ou sequencialmente para a iniciação ou promoção da carcinogênese. A proliferação celular anormal é associada a alterações genéticas em etapas-chave de regulação do ciclo celular. Na

---

<sup>85</sup> <http://www.inca.gov.br/> acessado em 18 de outubro de 2011.

maioria dos tumores, os mecanismos de regulação são desarranjados, de maneira que a proliferação celular ocorre de maneira independente aos fatores mitogênicos externos.

De acordo com dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA), aproximadamente 600 mil novos casos de câncer são diagnosticados no Brasil a cada ano, sendo a segunda maior causa de morte por doença no país.<sup>86</sup> Dentre os tipos de câncer pelo INCA, o de mama é segundo tipo de câncer mais freqüente no mundo. Foram estimados 49.240 mil novos casos de câncer de mama no Brasil em 2010. Cerca de 30% dos pacientes com diagnóstico precoce de câncer podem ser curados utilizando medidas locais como a cirurgia ou a radioterapia. No restante dos casos, entretanto, há o desenvolvimento precoce de micrometástases, sendo necessária uma abordagem sistêmica concomitante.<sup>87</sup>

É sabido que a principal forma de tratamento para o câncer é a quimioterapia, que ocorre de forma invasiva, acarretando diversos efeitos colaterais. A baixa seletividade dos medicamentos utilizados faz com que uma grande quantidade de medicamento seja administrada, acarretando muitas vezes a morte de células sadias e de células de crescimento acelerado, como as células capilares. Dessa forma, sabe-se que a cura está relacionada ao diagnóstico precoce e a terapias eficientes. Com isso, a aplicação da nanotecnologia à saúde em busca da prevenção, do diagnóstico e do tratamento, não só do câncer, mas de diversas doenças, vem sendo bastante estudada. A nanomedicina vem explorando as propriedades biológicas, químicas e físicas dos materiais em escala nanométrica na busca por novas formas de diagnósticos e terapias, de forma a aliviar o sofrimento das pessoas com câncer e daquelas que possuem outras doenças.

Mediante o exposto, as NPMs vêm sendo um dos principais alvos do estudo. Apesar de não existir um protocolo com as características ideais que estas partículas devem possuir para que sejam utilizadas na nanomedicina, sabe-se que elas possuem tamanhos comparáveis a genes (2 nm de largura e 10 a 100 nm de comprimento); proteínas (5 - 50 nm); vírus (20 - 450 nm); e

---

<sup>86</sup> Estimativa 2010 – Incidência de Câncer no Brasil. <http://www.inca.gov.br>. Acessado em 18 de outubro de 2011.

<sup>87</sup> ACS, American Cancer Society (2007). Cancer Facts & Figures 2007. <http://www.cancer.org>. Acessados em 18 de outubro de 2011.

células (10 - 100  $\mu\text{m}$ ). A dimensão similar das NPMs as dimensões das unidades biológicas citadas, tornam as NPMs passíveis de utilização em aplicações biomédicas. Em virtude de diversas aplicações existentes, sabe-se que outras características como propriedade superparamagnética, tamanhos e formas uniformes e a possibilidade de funcionalização com agentes biologicamente ativos que evitem também a formação de aglomerados e as tornem dispersas em meio biológico, contribuem positivamente para as aplicações como suporte de biomoléculas,<sup>88</sup> em hipertermia,<sup>89</sup> sistema de liberação controlada de drogas (*Drug Delivery Systems*)<sup>90</sup> e como agentes de contrastes por imageamento por ressonância magnética (IRM).

Dentre as NPMs mais utilizadas nestes tratamentos estão os óxidos de ferro, sendo a magnetita e a maghemita as mais utilizadas. Isso se deve ao fato de combinarem a não toxicidade com a excelente magnetização. Além disso, cabe ressaltar que no corpo humano tem-se ferro e que as NPs formadas por óxido de ferro podem ser utilizadas após a sua quebra para formar a hemoglobina sanguínea.<sup>91</sup>

A hipertermia envolve o processo de destruição de células doentes por meio de um aumento na temperatura.<sup>92</sup> A utilização de NPMs na hipertermia é denominada magneto-hipertermia e pode ocorrer da seguinte forma: a incidência de campo magnético na NPMs causa a oscilação do momento magnético, seja devido tanto à relaxação de Neel (quando a NPM rotaciona ao redor do núcleo magnético) quanto pela relaxação browniana (rotação magnética ao redor da vizinhança), o que ocasiona o aumento da temperatura

---

<sup>88</sup> Arruebo, M.; Fernandez-Pacheco, R.; Ibarra, M. R.; Santamaria, J. *Nano Today* **2007**, *3*, 22.

<sup>89</sup> Huff, T. B.; Tong, L.; Zhao, Y.; Hansen, M. N.; Cheng, J. X.; Wei, A. *Nanomedicine-UK*, **2007**, *1*, 125.

<sup>90</sup> Lee, S. J.; Park, K.; Oh, Y.; Kwon, S.; Her, S.; Kim, I.; Choi, K.; Lee, S. J.; Kim, H.; Lee, S. G.; Kim, K.; Kwon, I. C. *Biomaterials* **2009**, *30*, 2929.

<sup>91</sup> Weissleder, R. ; Stark, D. D.; Engelstad, B. L.; Bacon, B. R.; Compton, C. C. ; White, D. L.; Jacobs, P. ; Lewis, J. *Am. J. Roentgenol.* **1989** , *52*, 167.

<sup>92</sup> Jain, K. K. Handbook of Nanomedicine. In :**Nanomolar Diagnostic and Nano-Oncology**. Ed. Humana Press. Estados Unidos, **2008**. (b) Kim, D. H.; Nikles, D. E.; Jonhson, D. T.; Brazel, C. S. *J. Magn. Magn. Mater.* **320**, **2008**, 2390.



e a morte de células doentes.<sup>93</sup> Esta técnica é interessante, pois geralmente as células mais sensíveis a temperatura são as células doentes, como as cancerosas, que sofrem destruição a partir de 42 °C. Dessa forma, as células saudáveis são preservadas. Esta preservação pode ainda ser aumentada quando a NPM possuir em sua superfície moléculas que sejam específicas em relação às células doentes, evitando assim eventos nocivos às células saudáveis adjacentes.

Outra técnica bastante utilizada, principalmente em relação ao câncer, é o sistema de liberação controlada de fármacos, que ocorre mediante estímulos.<sup>94</sup> Neste sistema, podem ser utilizadas tanto partículas que possuem as drogas em sua superfície, quanto encapsuladas. As NPMs recobertas por fármacos são levadas por meio de um campo magnético até o local específico e sofrem um estímulo para a liberação do fármaco. Este estímulo pode ser por meio de variação de temperatura (hipertermia), variação do pH (visto que a doença afeta o pH do sistema biológico, o tumor sólido apresenta pH em torno de 6,5 enquanto que o pH sanguíneo é de 7,2); sonicação (ocorre em sistemas envolvendo fármacos encapsulados), dentre outros. Cabe ressaltar, que o estímulo aplicado é de extrema importância

A utilização de NPMs como agente de contraste é muito importante, visto que estas ao se ligarem a células patológicas emitem luz.<sup>95</sup> Em outros casos, isso só ocorre mediante irradiação. É importante ressaltar que no caso do câncer, essa técnica permite identificar a ocorrência de metástase.

Quanto a utilização das NPMs na biomedicina, a maior vantagem que se verifica é a possibilidade de proporcionar um maior conforto ao paciente durante o tratamento. Por permitirem atuação diretamente nas células

---

<sup>93</sup> Ciofani, G.; Riggio, C.; Raffa, V.; Menciassi, A.; Cuschieri, A.; *Med. Hypotheses*. **2009**, *73*, 80.

<sup>94</sup> (a) Faraj, A. H.; Wipf, P. *Bioorgan. Med. Chem.* **2009**, *17*, 2950. (b) Hamidi, M.; Azadi, A.; Rafiei, P.; *Adv. Drug Deliver. Rev.* **2008**, *60*, 1638. (c) Singh, R.; Lillard JR., J. W. *Exp. Mol. Pathol.* **2009**, *86*, 215. (d) Shekhar, C. *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 349. (e) Ganta, S.; Devalapally, H.; Shahiwala, A.; Amiji, M. *J. Control. Release.* **2008**, *126*, 187. (f) Hans, M. L.; Lowman, A. M. *Nanomaterials Handbook. In. Nanoparticles for Drug Delivery*. Ed. Taylor & Francis. Estados Unidos, **2006**.

<sup>95</sup> Huff, T. B.; Tong, L.; Zhao, Y.; Hansen, M. N.; Cheng, J. X.; We, A. *Nanomedicine-UK*, **2007**, *1*, 125.

patológicas, ocorre a diminuição dos efeitos colaterais e a potencialização do princípio ativo, levando à administração de medicamentos de doses mais espaçadas e com baixa concentração de fármacos. Além disso, a possibilidade de encapsulamento e de funcionalização da nanopartícula pode levar à utilização de fármacos que anteriormente eram descartados por sua toxicidade, já que o contato com partes saudáveis do organismo passa a ser pequena ou até mesmo nenhuma.

Vale ressaltar também, que ainda existe um impasse quanto ao tamanho das NPs na utilização em biomedicina: alguns estudiosos acreditam que um menor tamanho das partículas pode vir driblar a fagocitose, permitindo a difusão das partículas entre os espaços intracelulares dos tecidos e aumentando o tempo de circulação no sangue;<sup>96</sup> Outros, acreditam que as NPs devem possuir um tamanho entre 5-100 nm para aplicações biomédicas, isto por que acredita-se que sendo inferiores a este tamanho as partículas podem ultrapassar a via sanguínea e chegar ao sistema nervoso central causando danos.<sup>35</sup> Neste sentido, deve haver cautela na utilização de NPs em aplicações biomédicas e ao mesmo tempo deve-se aprofundar os estudos relacionados aos processos que acontecem após a sua utilização.

## 3.2 Objetivo

Obtenção de NPMs funcionalizadas com aminoácidos, em uma só etapa, pelo método de decomposição térmica em meio ecologicamente amigável (LI), tendo em vista a formação de dispersões estáveis em meio biológico.

### 3.2.1 Metas

- Sintetizar o Líquido Iônico;
- Sintetizar NPMs funcionalizadas com aminoácidos por meio do método de decomposição térmica;

---

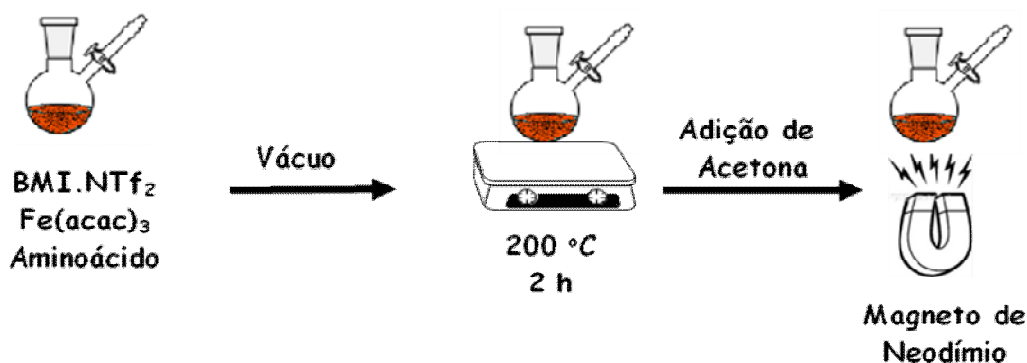
<sup>96</sup> (a) Berry, C. C.; Curtis, A. S. G. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2003**, 33, 198. (b) Gupta, A. K.; Gupta, M. *Biomaterials* **2005**, 26, 3995.

- Caracterizar as NPMs por meio de análises de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), difração de Raio-X (DRX), espectroscopia de absorção no infravermelho (FTIR), espectroscopia RAMAN, análise termogravimétrica (TGA), dentre outras;
- Dispersar as NPs em meio fisiológico pH 7,2 e água.

### 3.3 Resultados e Discussão

Primeiramente, é importante ressaltar que a escolha por sintetizar NPMs do tipo  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (magnetita) funcionalizadas por aminoácidos se deu pelo fato de se buscar a obtenção de uma dispersão estável em meio biológico e/ou meio aquoso. Levando-se em consideração que tanto o ferro quanto os aminoácidos estão presentes no organismo humano, a presença do ferro e dos aminoácidos pode indicar uma biocompatibilidade das NPMs formadas para com o organismo, de forma a não causar danos e minimizar possíveis rejeições, possibilitando a utilização das NPMs obtidas na liberação controlada de fármacos, como agentes de contraste e hipertermia, por exemplo.

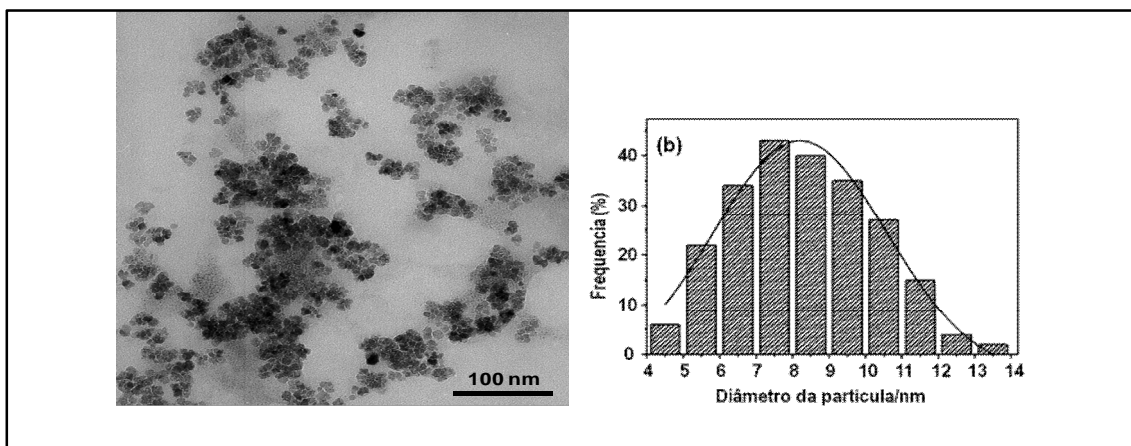
O estudo foi iniciado utilizando-se como aminoácido a *L*-arginina. A *L*-arginina foi escolhida para o passo inicial pelo fato de já existir trabalhos na literatura que possam servir como forma de comparação entre as técnicas de caracterização.<sup>13-15, 18, 23</sup> Para obtenção das NPMs funcionalizadas com *L*-arginina, inicialmente o LI ( $\text{BMI.NTf}_2$ ), o  $\text{Fe}(\text{acac})_3$  e o aminoácido foram adicionados a um Tubo tipo schlenk selado e o meio reacional foi mantido sob vácuo. Após 3h a 200 °C a reação foi encerrada pela adição de acetona e as NPMs foram separadas por meio de imantação (Figura 3.1). Em seguida, as NPMs foram lavadas com água para a retirada do excesso de aminoácido.



**Figura 3.1– Representação esquemática da síntese do tipo One Pot de NPMs funcionalizadas com aminoácidos.**

A síntese das NPMs funcionalizadas com *L*-Arginina ocorreu por uma síntese do tipo *one pot*, pelo método de decomposição térmica do Fe(acac)<sub>3</sub> e com o aminoácido atuando no meio como agente redutor. Após a síntese das NPMs funcionalizadas por *L*- Arginina partiu-se para as caracterizações.

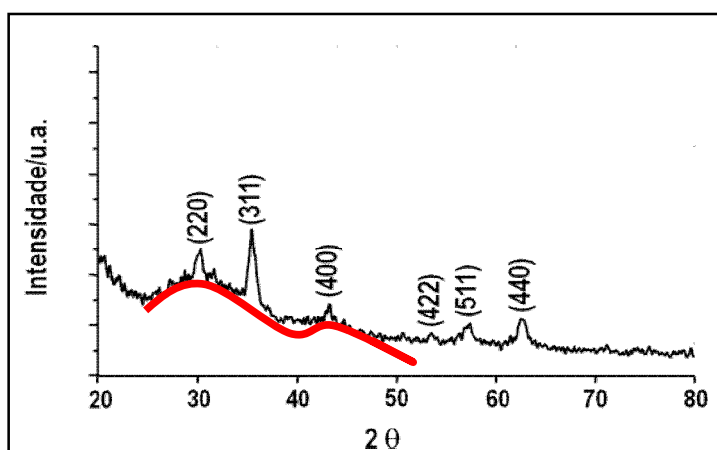
A primeira análise feita foi a de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) que permite a análise de defeitos e fases internas dos materiais, como discordâncias, defeitos de empilhamento e pequenas partículas de segunda fase. Essa microscopia é importante, pois o conhecimento detalhado da microestrutura dos materiais permite o entendimento e, em muitos casos, até a previsão das propriedades e do comportamento dos mesmos. A Figura 3.2(a) apresenta as imagens de MET das NPs de Magnetita funcionalizadas com aminoácido *L*-arginina e a Figura 3.2(b) apresenta um histograma da distribuição de tamanhos obtidos a partir da imagem de MET.



**Figura 3.2- (a) Imagem MET e (b) Histograma da distribuição de tamanho de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizadas com *L*- Arginina.**

A imagem de MET mostra uma morfologia esférica das nanopartículas e a distribuição do tamanho médio das partículas indica que as mesmas possuem diâmetro na faixa de 4 a 14 nm, possuindo um diâmetro médio de 8,9 nm.

Outra análise consistiu nas medidas de difração de Raios-X das NPMs utilizando um equipamento D8 Focus da Bruker AXS, com o gerador operando a 40 kV/30 mA e a radiação Cu-K $\alpha$  em 1.5406 Å selecionada por um monocromador de grafite. Essa técnica foi escolhida porque, na maior parte dos sólidos, os átomos se ordenam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X, o que permite a determinação das fases cristalinas e também do tamanho das partículas. O difratograma de Raio-X está apresentado na Figura 3.3.



*Figura 3.3- Difratograma de Raios-X (método do pó) para a NPM funcionalizada com L- Arginina.*

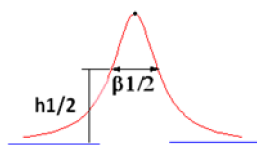
O espectro de Raios-X (Figura 3.3), medido na geometria de Bragg-Bentano, é composto por picos largos correspondentes às nanopartículas de magnetita de tamanhos reduzidos. Na Figura 3.3 são apresentados picos em 30.1°, 35.6°, 43.3°, 53.7°, 57.2° e 62.7°. Esses picos correspondem a difrações nos planos (220), (311), (400), (422), (511) e (440) respectivamente, para ferritas do tipo espinélio de simetria cúbica.<sup>97</sup> O tamanho médio das NPs foi

<sup>97</sup> Oliveira, F. C. C.; Rossi, L. M.; Jardim, R. F.; Rubim, J. C. *J. Phys. Chem.* **2009**, *113*, 8566.

calculado com base na equação de Scherrer que correlaciona o tamanho aparente do cristalito ( $L$ ) com a largura integral  $\beta_{1/2}$  na escala  $\theta$ .<sup>98</sup>

Assumindo que as partículas apresentam uma forma esférica e que os diâmetros médios podem ser obtidos através da equação de Scherrer,

$$L = \frac{\kappa\lambda}{\beta_{\frac{1}{2}} \cos \theta}, \text{ onde:}$$



$L$  é o diâmetro médio das nanopartículas;

$\beta_{1/2}$  é a largura da banda medida a meia altura do pico de difração de maior intensidade;

$\cos \theta$  é o ângulo de Bragg para um conjunto  $\{h k l\}$  de planos;

$\lambda$  é o comprimento de onda da radiação (1,5406 Å) e;

$K = 0,893$  para esferas.

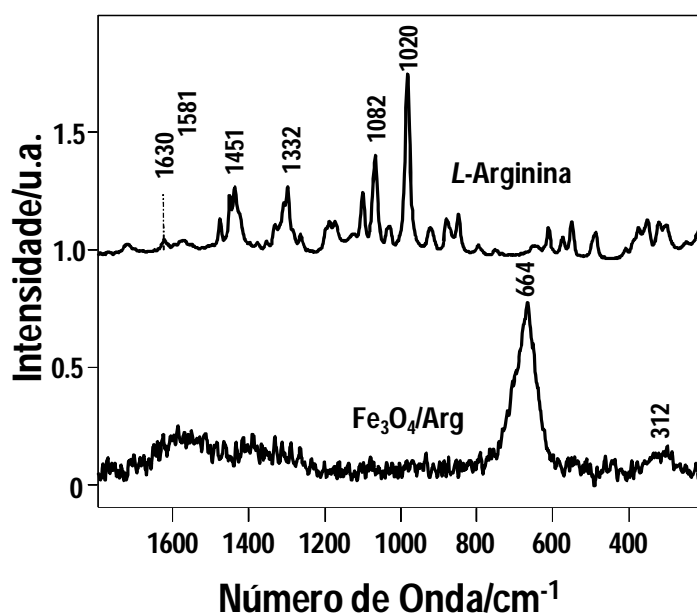
Com base na largura do pico (311), à meia altura, e aplicando a equação de Scherrer, obteve-se um diâmetro médio de 10,7 nm, ligeiramente superior ao obtido por MET. Essa diferença entre os diâmetros médios obtido pelas técnicas (MET e DRX) pode ser atribuída à leve deformação apresentada no difratograma (indicada em vermelho). Essa deformação pode ser devido à presença de componente amorfo no material, provavelmente resíduo de aminoácido.

Comparativamente, conforme citado anteriormente, existem trabalhos na literatura envolvendo a síntese de nanopartículas funcionalizadas com *L*-arginina. Em um deles,<sup>15</sup> foram obtidas partículas no tamanho médio de 13 nm. Em outro, partículas com tamanho médio de 2 a 12 nm, dependendo da proporção de  $\text{Fe}^{2+}$ /*L*-Arginina utilizada na síntese, e em alguns dos casos com forma irregular. Em um terceiro trabalho, obtiveram partículas com tamanho de 4 a 18 nm, com uma variação e tempo de 1 a 6h. Vale ressaltar que partículas com tamanho menores do que 5 nm não devem ser utilizadas em aplicações biomédicas, já que partículas muito pequenas podem migrar pelo organismo

<sup>98</sup> Scherrer, P. *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen*. **1918**, 98.

sem que haja barreira biológica ocasionando problemas toxicológicos. Desta forma, nosso trabalho permite obter nanopartículas com tamanho adequado e forma regular para aplicações biomédicas, o que em dois dos outros três trabalhos existentes na literatura, dependendo da condição reacional, isso não ocorreu.

Em seguida, decidiu-se investigar o tipo de NPM formada, utilizando a espectroscopia Raman. Apesar de muito útil este método, não é comum a utilização dele em artigos que tratam das caracterizações de NPMs funcionalizadas com aminoácidos. Os espectros Raman (Figura 3.4) foram obtidos num sistema InVia da Renishaw equipado com microscópio Leica. A radiação laser (785 nm) foi focada na amostra por meio de uma objetiva com aumento de 50x. Os espectros Raman apresentados na Figura 3.4 mostram as principais bandas da L-Arginina e da NPM funcionalizada.



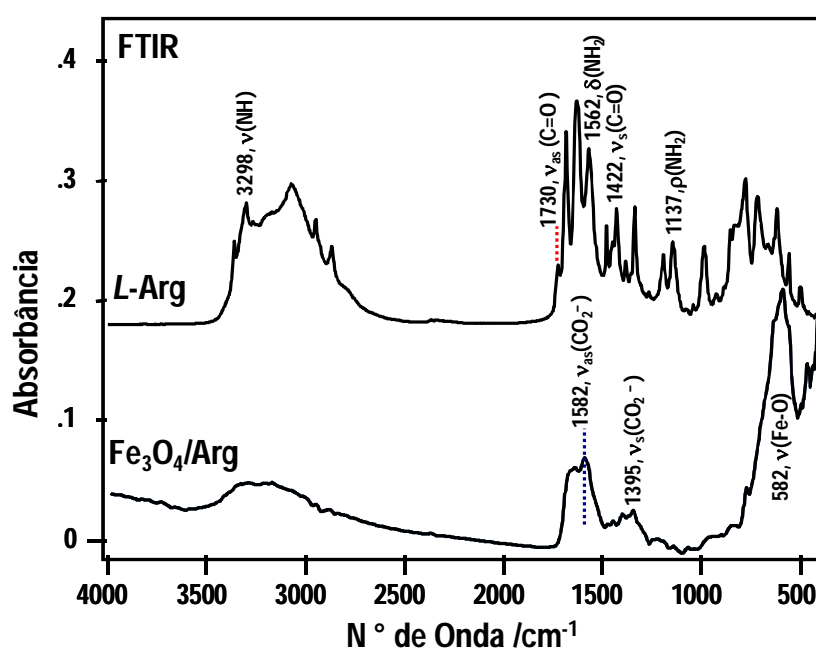
**Figura 3.4– Espectros Raman: (a) L- Arginina e (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada com L- Arginina.**

No Espectro Raman apresentado na Figura 3.4 observa-se uma banda em 664 cm<sup>-1</sup>, que é característica da ligação Fe-O presente na estrutura do óxido metálico de magnetita e pode ser atribuída aos fônons com simetria A1g.<sup>99</sup> Essa técnica é muito importante, sendo complementar a análise de difração de Raio-x, já que essa última não discrimina a qual o tipo de ferrita o

<sup>99</sup> Shebanova, O. N.; Lazor, P. *Solid State Chem.* **2003**, 174, 424.

material pertence. No caso da espectroscopia RAMAN isto já é possível, conforme observado nos espectros, as bandas apresentadas em 312 e 664 são característica de magnetita.

A Figura 3.5 apresenta os dados obtidos através da análise de DRIFT-IR, registrados em um espectrômetro Equinox 55 (Bruker) equipado com detector de Germânio. A partir desta análise, observa-se a formação do óxido de ferro, caracterizado como sendo magnetita, a partir da banda em 582  $\text{cm}^{-1}$  referente à ligação Fe-O presente na estrutura do óxido metálico.



**Figura 3.5– DRIFT-IR para (a) Arginina e (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada.**

As bandas em 1582 e 1395  $\text{cm}^{-1}$  caracterizam a presença do aminoácido na superfície da nanopartícula, indicando que o mesmo liga-se ao óxido metálico via interação pelo grupo  $\text{COO}^-$ . Isso é perceptível pelo deslocamento da banda referente ao grupo carboxilato. Na Tabela 3.1, estão dispostos os resultados obtidos por Yang e colaboradores a partir da espectroscopia de absorção no infravermelho comparativamente com os resultados obtidos na Figura 3.5.



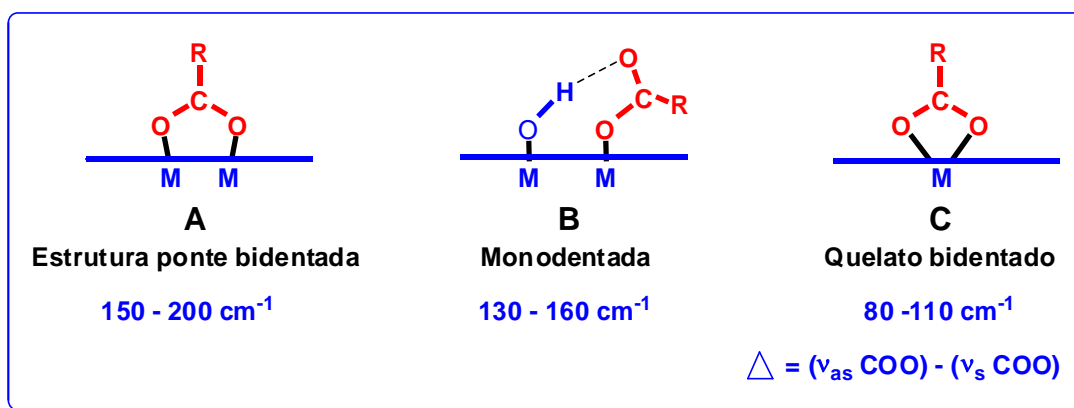
**Tabela 3.1– Bandas vibracionais dos espectros de absorção no infravermelho da magnetita funcionalizada com L-arginina descritas na literatura e obtidas neste trabalho.**

<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Arg<sup>81</sup></b>	<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Arg<sup>78</sup></b>	<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Arg</b>
—	3298 $\nu_{(N-H)}$	3329 $\nu_{(N-H)}$
1629 $\nu_{as(COO^-)}$	1630 $\nu_{as(COO^-)}$	1582 $\nu_{as(COO^-)}$
1416 $\nu_s(COO^-)$	1400 $\nu_s(COO^-)$	1395 $\nu_s(COO^-)$
587 $\nu_{(Fe-O)}$	580 $\nu_{(Fe-O)}$	582 $\nu_{(Fe-O)}$
$\nu_{as(COO^-)} - \nu_s(COO^-) = 213$	$\nu_{as(COO^-)} - \nu_s(COO^-) = 230$	$\nu_{as(COO^-)} - \nu_s(COO^-) = 187$

De acordo com a Tabela 3.1, os resultados obtidos mostram que a banda referente ao  $\nu_{as(COO^-)}$  encontra-se com deslocamento de  $48\text{ cm}^{-1}$ , com relação aos trabalhos já publicados que constam na Tabela 3.1, o que é considerado um valor distante do observado no espectro da Figura 3.5. Na coluna 2, os autores sugerem que o aminoácido está ligado a magnetita. Baseando-se no trabalho de Lee e colaboradores,<sup>100</sup> eles sugerem que o aminoácido está ligado pelo carboxilato de forma monodentada ao Fe. De acordo com propostas feitas por Nakamoto,<sup>101</sup> acredita-se que nos três casos, devido à diferença entre o estiramento antissimétrico e simétrico do grupo carboxilato a interação metal *L*-carboxilato ocorre na forma de estrutura de ponte bidentada (Figura 3.6).

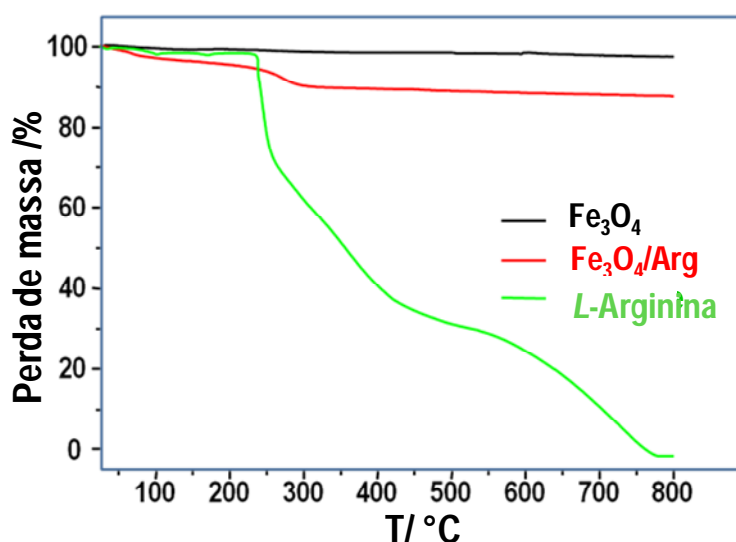
<sup>100</sup> Park, J. Y.; Choi, E. S.; Baek, M. J.; Lee, G. H.; *Mater. Lett* **2009**, 63, 379.

<sup>101</sup> Nakamoto, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*; Wiley: New York, **1986**.



*Figura 3.6– Estruturas propostas por Nakamoto para compostos metal carboxilato.*

Em seguida, foram feitas análises termogravimétricas (TG). Esta análise é interessante por permitir quantificar a presença de aminoácido adsorvido na superfície da nanopartícula (Figura 3.7).



*Figura 3.7- Termograma para a amostra de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada e o funcionalizador (L-Arginina).*

O termograma apresentado na Figura 3.7 apresenta a curva de perda de massa da magnetita não funcionalizada, da magnetita funcionalizada e do funcionalizador (L-Arginina). A quantidade de funcionalizador presente na superfície das NPMs foi determinada por TG. O termograma apresenta uma faixa de perda de massa de 240 a 550 °C referente decomposição da L-arginina, conforme a literatura.<sup>18</sup>A Tabela 3.2 apresenta os resultados de perda

de massa atribuídos à decomposição do funcionalizador, bem como as massas residuais das ferritas.

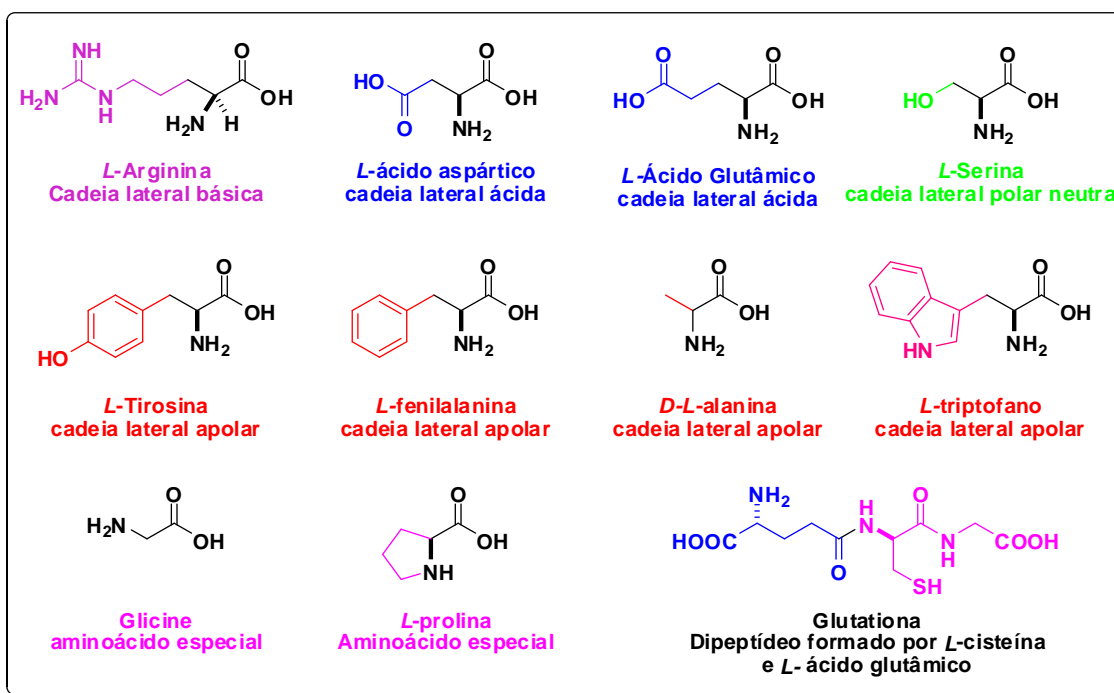
**Tabela 3.2– Dados obtidos com as análises de TGA das NPMs funcionalizadas.**

Amostra	d (g/cm <sup>3</sup> )	M <sub>o</sub> (mg)	M <sub>f</sub> (mg)	A <sub>func./</sub> A <sub>NPM</sub> *
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	5,15	6,7	0,4	1,6

d = densidade, M<sub>o</sub> = massa de ferrita funcionalizada, M<sub>f</sub> = massa do funcionalizador. \* Quantidade de monocamadas formadas calculada pela razão entre a área equivalente à quantidade de funcionalizador (A<sub>func.</sub>) e a área das NPMs (A<sub>NPM</sub>).

A Tabela 3.2 também apresenta as densidades das NPs, com os quais se calculou a quantidade de funcionalizador, em monocamadas, presente na superfície das NPs. Para a realização destes cálculos foi utilizada a massa molar do funcionalizador. Esses dados revelam que as NPs estão recobertas por mais de uma monocamada de funcionalizador, como sugerido pela análise dos espectros FTIR.

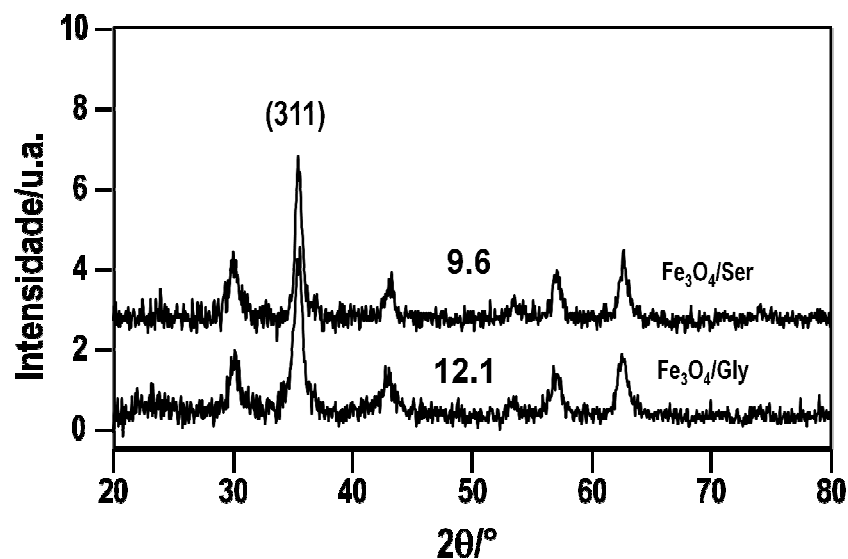
Após estas análises e mediante o sucesso da síntese, outras reações para síntese de NP funcionalizadas com aminoácidos foram executadas. Mediante já ter sido utilizado a *L*-arginina, que é um aminoácido com cadeia lateral básica, decidimos variar os aminoácidos de forma a abranger toda a diversidade de cadeias laterais existentes entre os aminoácidos. Dessa forma, escolhemos outros 9 aminoácidos e um dipeptídeo (Figura 3.8).



**Figura 3.8– Aminoácidos e dipeptídeo utilizados na síntese de NPMs.**

As reações para obtenção de NPMs funcionalizadas com os diferentes aminoácidos foram executadas da mesma forma quando utilizado o aminoácido *L*-arginina. Após serem encerradas, observou-se que todas as reações levaram a material particulado. No entanto, apenas a reação envolvendo o *L*-ácido glutâmico não levou a obtenção de material magnético. Este fato é bastante interessante, visto que a diferença entre a estrutura desse aminoácido e do *L*-ácido aspártico é apenas um  $\text{CH}_2$  na cadeia.

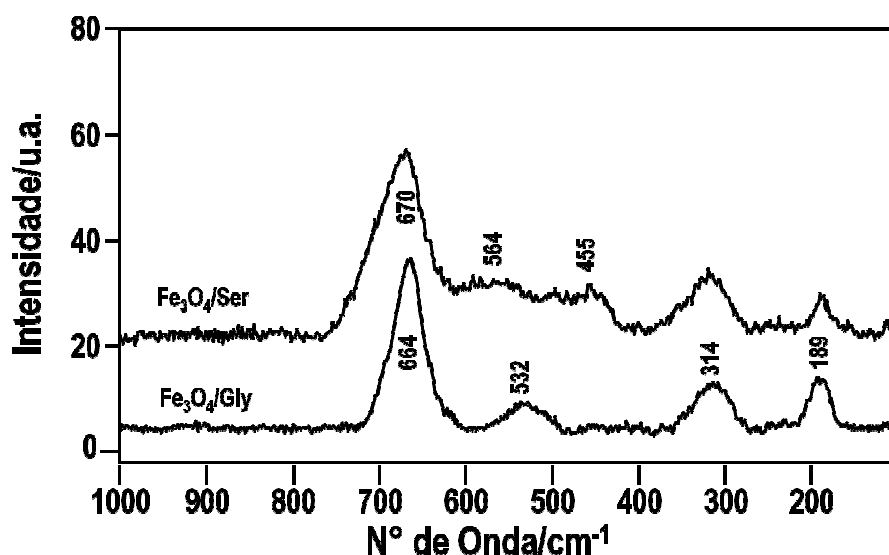
Em seguida, partiu-se para as caracterizações dos materiais obtidos. Primeiramente foram feitas análises de DRX de amostras de magnetitas funcionalizadas com dois aminoácidos diferentes (Glicina, *L*-serina). Estas ferritas foram escolhidas pelo fato de anteriormente ter sido feitas análises com a magnetita funcionalizada com o aminoácido *L*-arginina que possui cadeia lateral básica. Dessa forma, escolhamos a *L*-serina, que possui cadeia lateral polar neutra e a glicina, que se trata de um aminoácido especial por possuir apenas um H como cadeia lateral. A Figura 3.9 apresenta os difratogramas de Raios-x dos materiais obtidos.



*Figura 3.9- Difratoograma de Raios-X (método do pó) para a NPM funcionalizada com L-serina e glicina.*

Conforme os difratogramas apresentados na Figura 3.9, pode-se inferir que se trata de ferritas do tipo espinélio de simetria cúbica. Com base na largura do pico (311), à meia altura, e aplicando a equação de Scherrer, obteve-se um diâmetro médio de 9,6 e 12,1 nm para as ferritas funcionalizadas com L-serina e glicina, respectivamente. Vale ressaltar, que novamente estes tamanhos de partícula são adequados para aplicações biomédicas.

Para se comprovar que se trata de ferritas do tipo magnetita, foram feitas análises de RAMAN para identificar as bandas características. Dessa forma, foram analisadas as ferritas obtidas a partir dos aminoácidos L-serina e Glicina (Figura 3.10). Nesta etapa de análise, um cuidado especial foi tomado quanto a potência do laser utilizada. Quando utilizadas potência a partir de 0,5 % foi observada a transformação das ferritas magnetita para hematita. A magnetita possui propriedades ferrimagnéticas, quando submetidas a potências muito altas do laser elas passam para a fase  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, conhecida como hematita, que é estável e antiferromagnética, portanto sem as propriedades magnéticas desejadas. Por isso, a potência utilizada nestas análises foi de 0,1 %.



*Figura 3.10- Espectros Raman de magnetitas funcionalizadas com L-serina e Glicina.*

De acordo com os espectros Raman da Figura 3.10, foi possível verificar bandas características de ferritas do tipo magnetita que estão dispostas na Tabela 3.3 de forma comparativa com resultados reportados anteriormente.

*Tabela 3.3- Bandas de Raman de Magnetitas funcionalizadas com L- serina e Glicina.*

$\text{Fe}_3\text{O}_4^{102}$	$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Ser}$	$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{Gly}$
193	185	184
306	319	308
450-490	455	
538	545	532
668	670	664

Conforme a Tabela 3.3 e baseando-se em dados já existentes na literatura, a espectroscopia Raman nos possibilitou identificar o tipo de ferrita obtida, sendo elas do tipo magnetita. Em seguida, foram feitas análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (IV) para identificar se realmente ocorreu a funcionalização das partículas formadas com aminoácidos (Figuras 3.11 a 3.13).

<sup>102</sup> Chamritski, I.; Burn, G. J. *Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 4965.

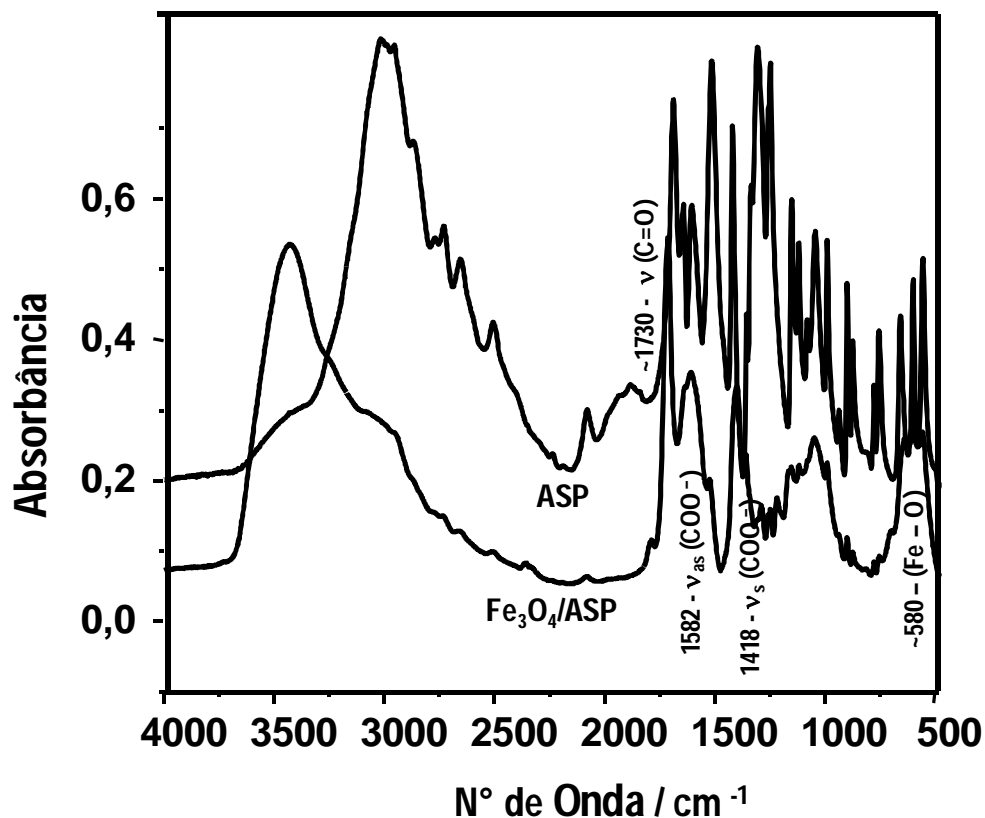


Figura 3.11- Espectros de absorção no Infravermelho para (a) L-ácido aspártico e (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada com L-ácido aspártico.

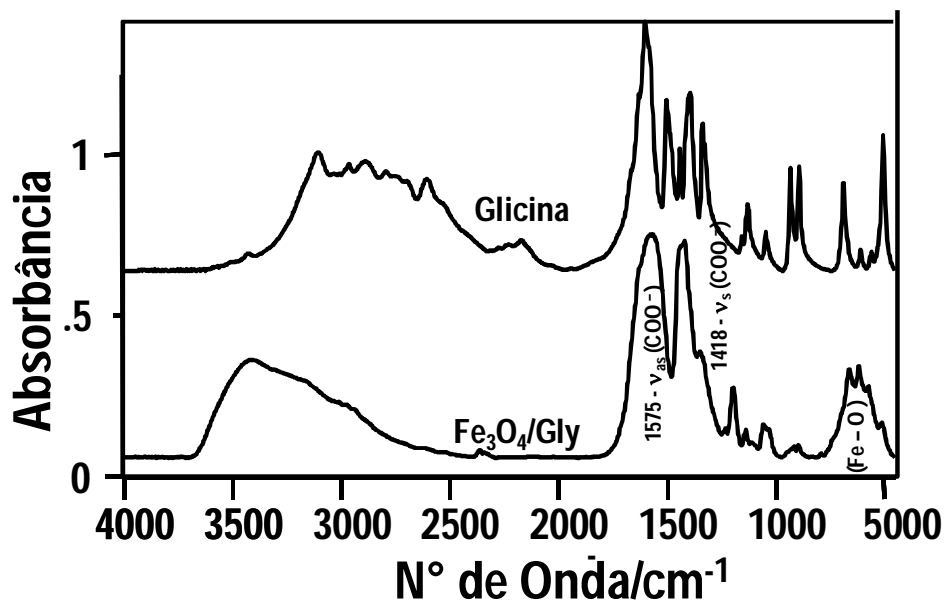
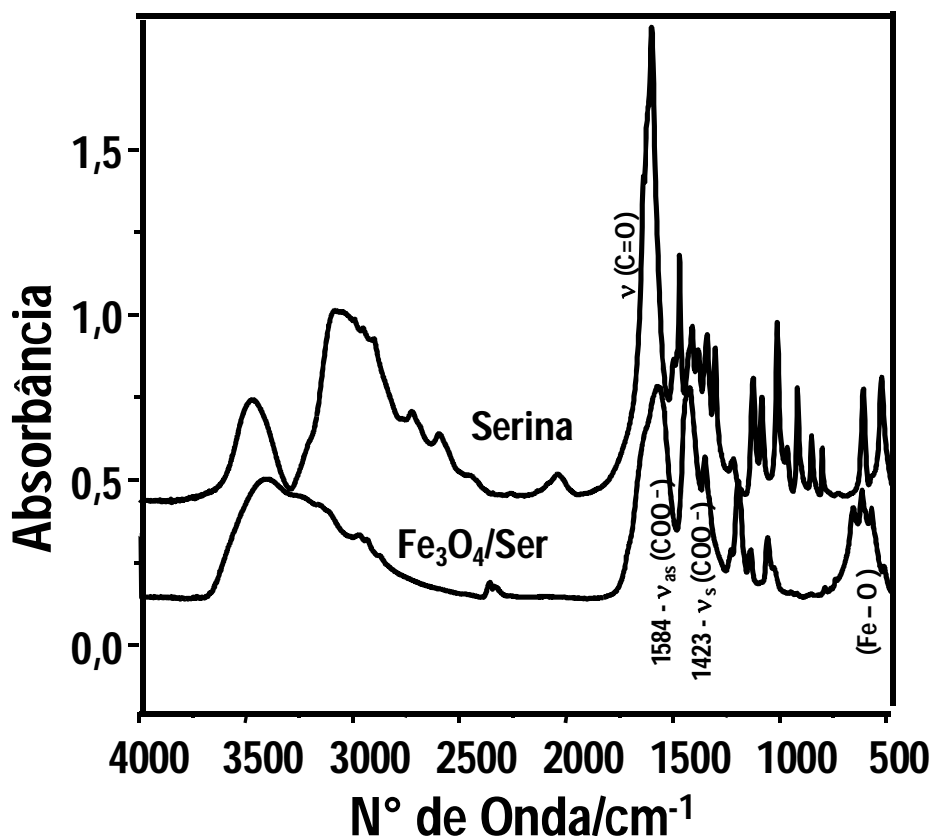


Figura 3.12- FT-IR para (a) Glicina e (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada com Glicina.



*Figura 3.13– FT-IR para (a) L-serina e (b) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada com L-serina.*

Os espectros de absorção no IV apresentados nas Figuras de 3.11 a 3.13 indicam que, após a reação, as bandas características dos aminoácidos permaneceram no material particulado obtido, indicando a funcionalização esperada. Na Figura 3.11, observamos um fato interessante: a banda de absorção referente à carbonila do ácido aspártico ainda permanece após a reação. Isso se deve ao fato de que por possuir em sua estrutura duas carboxilas, apenas uma foi utilizada na funcionalização, o que explica o fato da permanência da banda em  $1717\text{ cm}^{-1}$ .

Ao analisarmos as bandas referentes aos estiramentos simétricos e antissimétricos das magnetitas funcionalizadas é possível montar uma tabela, de forma a obter a diferenças entre os estiramentos e inferir a forma em que os aminoácidos estão ligados ao ferro (Tabela 3.4).

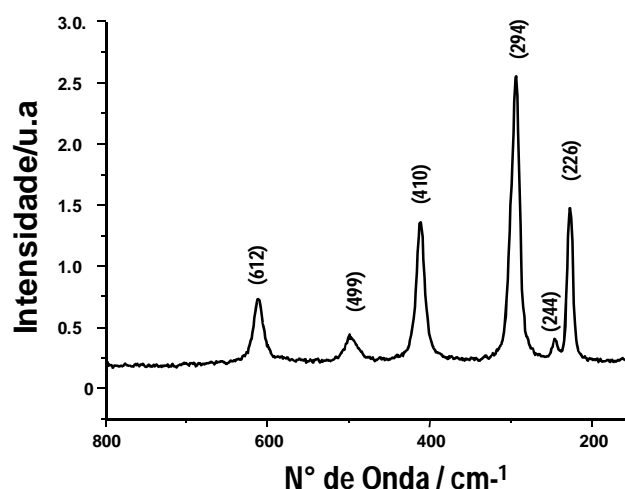


*Tabela 3.4– Números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) observados para os modos de estiramento simétrico e antissimétrico de magnetitas funcionalizadas com Glicina, L- serina e L-ácido aspártico em seus respectivos espectros de IV.*

	$\nu_{\text{as}}(\text{CO}_2^-)$	$\nu_{\text{s}}(\text{CO}_2^-)$	$\Delta$
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Gly</b>	1575	1418	157
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Ser</b>	1584	1423	161
<b>Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Asp</b>	1598	1406	192

De acordo com a Tabela 3.4 e com a proposta de Nakamoto, a diferença de estiramento de 157 a 192  $\text{cm}^{-1}$  indica uma funcionalização a partir do grupo carboxilato em forma de ponte bidentada (Figura 3.6).

Em virtude de algumas análises, tais como MET e DRX não serem de fácil acesso, as outras nanopartículas sintetizadas neste trabalho foram analisadas por espectroscopia Raman e por espectroscopia de absorção no infravermelho. No entanto, durante as análises por meio da espectroscopia Raman, obteve-se dificuldade experimental. Por a NPM estar recoberta por aminoácido a utilização de uma baixa frequência do laser não leva a obtenção de um perfil da fase óxido de ferro do tipo magnetita e sim de um fundo de fluorescência referente ao aminoácido. Para contornar isso, foi aumentada a frequência do laser e conseqüentemente, ocorreu à passagem do óxido de ferro para a fase de hematita (Figura 3.14).



**Figura 3.14– Espectro Raman obtido da amostra de  $Fe_3O_4$  funcionalizada com Glicina após o aumento da freqüência do laser.**

Pode-se verificar na Figura 3.14, que as bandas referentes a hematita possuem perfil diferente do observado para as NPMs do tipo magnetita. Com isso, devido ao fundo de fluorescência apresentado referente ao aminoácido e a utilização do aumento da freqüência do laser para contornar este problema, nem todas as amostras apresentaram o perfil de  $Fe_3O_4$ . Em virtude disso, análises de espectroscopia na região do infravermelho foram feitas para que fosse identificado a funcionalização das NPMs por aminoácidos, bem como o estiramento referente a ligação Fe-O (Figura 3.15).

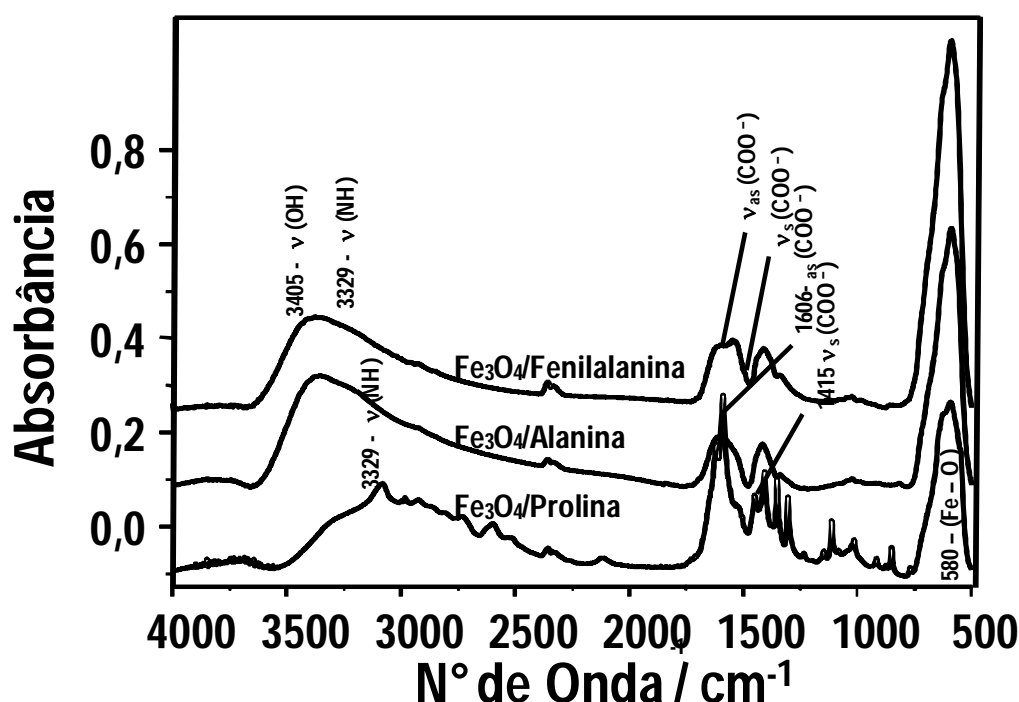
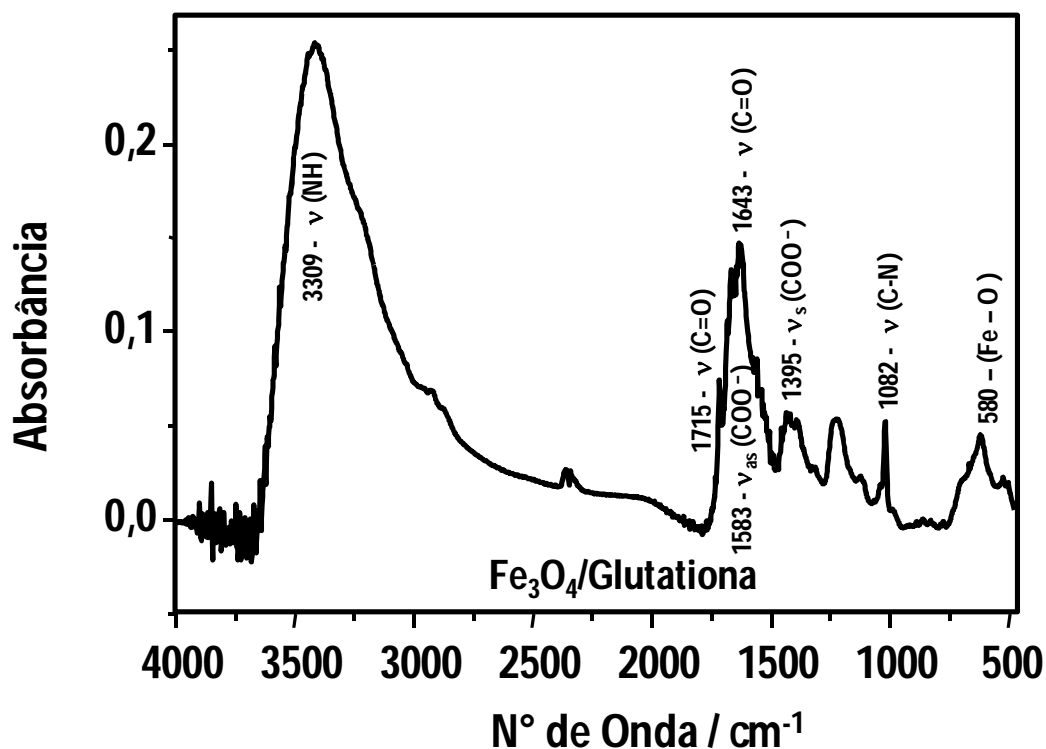


Figura 3.15- Espectro de FTIR (a) magnetita funcionalizada com D-L-alanina; (b) magnetita funcionalizada com L-fenilalanina (c) magnetita funcionalizada com L-prolina.

Por meio das análises dos espectros de IV apresentadas na Figura 3.15 é possível observar que as nanopartículas obtidas foram funcionalizadas com os respectivos aminoácidos. Isso é evidente pelo fato de serem visualizadas bandas na região dos compostos orgânicos correspondentes ( D-L-alanina, L-fenilalanina e L-prolina). Na região de 580 pode-se verificar a banda característica da ligação Fe-O o que juntamente com as outras bandas evidenciadas nos espectros indica a funcionalização das NPMs por aminoácidos.

Um resultado bastante significativo é o fato de se ter sintetizado nanopartículas funcionalizadas com um peptídeo (glutathione). A Figura 3.16 apresenta a formação da ligação Fe-O e as banda características ao peptídeo glutathione.

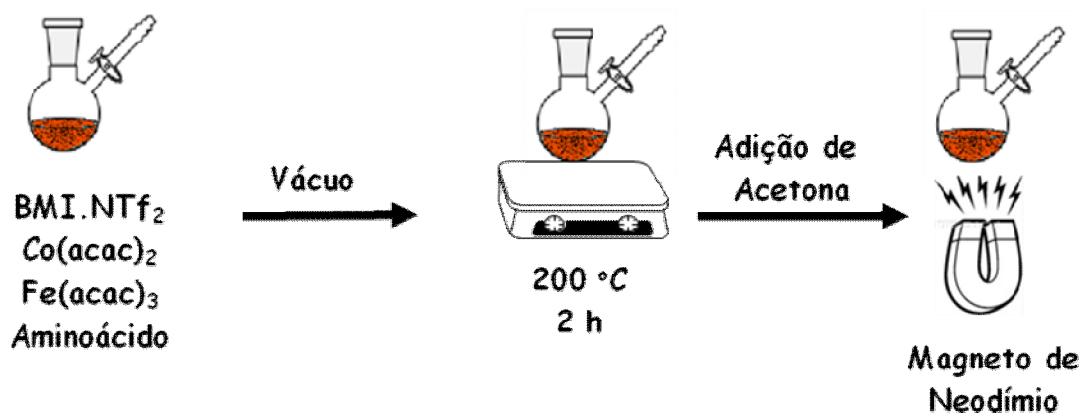


*Figura 3.16- Espectro de FTIR magnetita funcionalizada com glutatona.*

Com base nestes resultados, podemos inferir que a metodologia desenvolvida para obtenção de magnetitas ocorreu de forma satisfatória, permitindo a obtenção direta de partículas funcionalizadas com ligantes hidrofílicos.

### 3.3.1 Síntese de Ferritas de Cobalto (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) funcionalizadas com aminoácidos.

Após a síntese das magnetitas funcionalizadas com aminoácidos, resolvemos expandir a viabilidade da metodologia desenvolvida. Dessa forma, partiu-se para as reações de formação das Ferritas de Cobalto (CoF<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) funcionalizadas com aminoácidos (Figura 3.17).



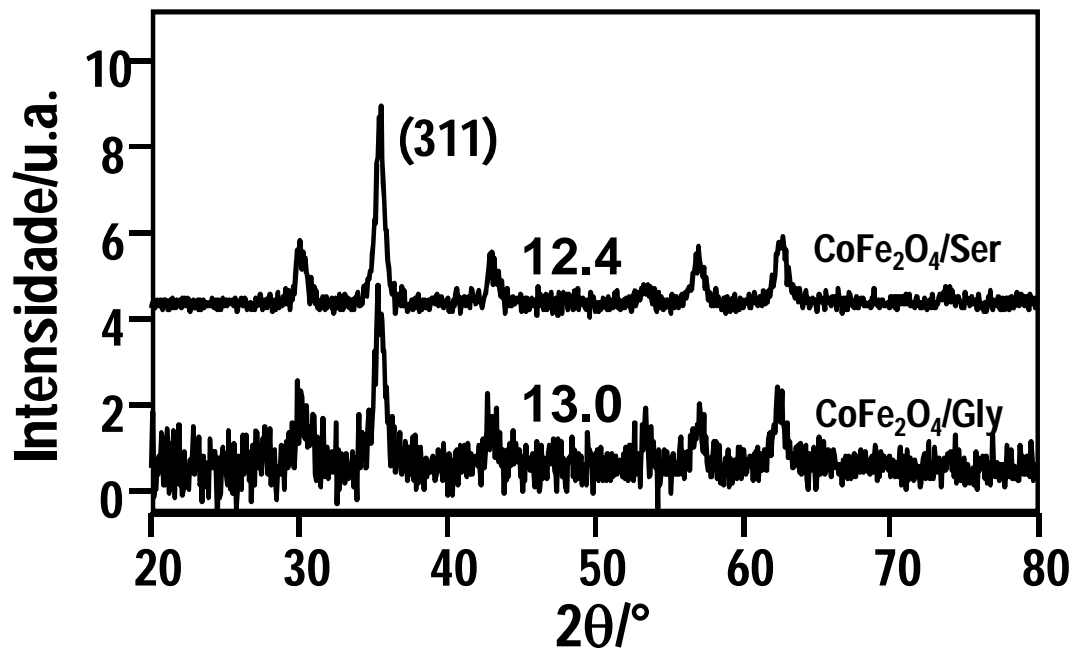
*Figura 3.17– Representação esquemática da síntese do tipo One Pot de NPMs do tipo  $CoFe_2O_4$  funcionalizadas com aminoácidos.*

Estas reações foram executadas com pequenas alterações quando comparadas as reações para formação de magnetita. No preparo das magnetitas utilizou-se uma proporção de 2:1 de aminoácido em relação ao Fe(acac)<sub>3</sub>. Para a formação de ferritas de cobalto utilizou-se uma proporção de aminoácido:Fe(acac)<sub>3</sub>:Co(acac)<sub>2</sub> de 2:1:0,5, respectivamente. Outros parâmetros como tempo reacional e temperatura permaneceram os mesmo.

Para estas reações foram utilizados quatros aminoácidos (Glicina, L-serina, L-ácido aspártico e L-ácido glutâmico). Os três primeiros aminoácidos foram utilizados por possuírem cadeias laterais com diferentes estruturas. Já o quarto aminoácido foi escolhido por não ter formado material magnético durante a síntese de magnetitas, de forma a estudarmos o porquê deste fato.

Após os experimentos, todas as reações deram origem a um material particulado. Porém, apenas a reação envolvendo o L-ácido glutâmico não forneceu material magnético. Vale ressaltar que este fato se repetiu também durante a preparação de magnetitas funcionalizadas, sendo um fato intrigante que merece investigação.

Após a obtenção das ferritas, partiu-se para as análises de DRX para identificar se realmente se trata de ferritas do tipo espinélio de simetria cúbica. Na Figura 3.18 estão dispostos os difratogramas de raio-x.



*Figura 3.18- Difratoograma de Raios-X (método do pó) para a NPM do tipo  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$  funcionalizada com L-ácido aspártico, L- serina e glicina.*

Conforme as difrações obtidas nos planos (220), (311), (400), (422), (511) e (440), conclui-se que as ferritas de cobalto obtidas são do tipo espinélio de simetria cúbica. Para confirmar o tipo de ferrita foram feitas análises de Raman (Figura 3.19).

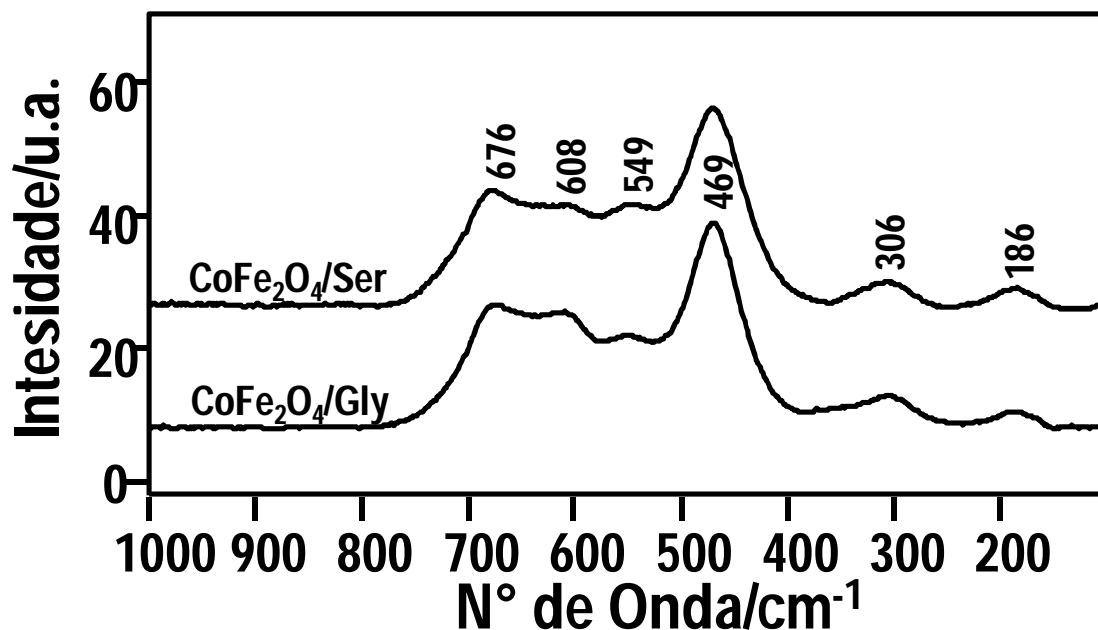


Figura 3.199- Espectro RAMAN: (a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ser}$  (b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Gly}$ .

Os deslocamentos das bandas obtidas a partir dos espectros de Raman presentes na Figura 3.18 estão dispostos na Tabela 3.5 comparativamente com resultados obtidos na literatura.

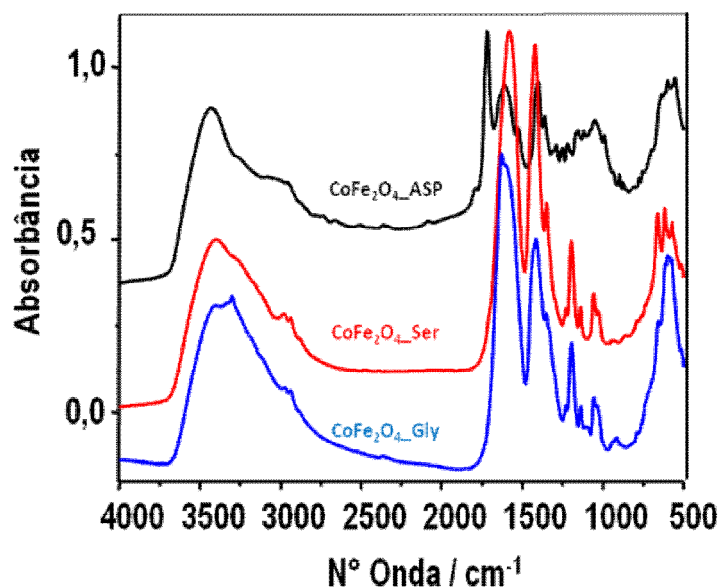
*Tabela 3.5– Números de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) observados para as bandas referentes a ferrita de cobalto e para as ferritas de cobalto funcionalizadas com L- serina e Glicina em seus respectivos espectros de absorção no IV.*

$\text{CoFe}_2\text{O}_4^{103}$	$\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ser}$	$\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Gly}$
188	186	189
300	306	304
471	469	469
563	549	548
617	608	612
683	676	672

De acordo com os valores de deslocamento apresentados para as bandas das ferritas na Figura 3.19 e na Tabela 3.5, é possível inferir que as NPMs formadas são do tipo ferritas de cobalto ( $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ ) e que os dados são

<sup>103</sup> Wang, Z.; Downs, R.T.; Pischedda, V.; Shetty, R.; Saxena, S. K.; Zha, C. S.; Zhao, Y. S.; Schiferl, D.; Waskowska, A. *Phys. Rev. B* **2003**, 68, 094.

condizentes com os da literatura. Para verificar se realmente ocorreu a funcionalização das partículas com aminoácidos, foram realizadas análises de espectroscopia de absorção no infravermelho (Figura 3.20).



**Figura 3.20-** Espectro de FTIR (a)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{ASP}$  (b)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Ser}$  (c)  $\text{CoFe}_2\text{O}_4/\text{Gly}$ .

A partir da Figura 3.20 é possível concluir com a presença das bandas características dos aminoácidos que ocorreu a funcionalização das ferritas. Com base nos estiramentos antissimétrico e simétrico do grupo carboxilato em cada ferrita é possível identificar a forma como ocorre a funcionalização. Analisando os dados da Tabela 3.6 é possível perceber que a variação entre os estiramentos antissimétrico e simétrico do  $\text{COO}^-$  está na faixa de 162 a  $200\text{ cm}^{-1}$ , que de acordo com a proposta de Nakamoto, como no caso das magnetitas funcionalizadas, os aminoácido estão ligados as ferritas pelo grupo carboxilato em forma de ponte bidentada.



*Tabela 3.6– Números de onda ( $cm^{-1}$ ) observados para os modos de estiramento simétrico e antissimétrico de ferritas de cobalto funcionalizadas com Glicina, L-serina e L-ácido aspártico em seus respectivos espectros de absorção no IV.*

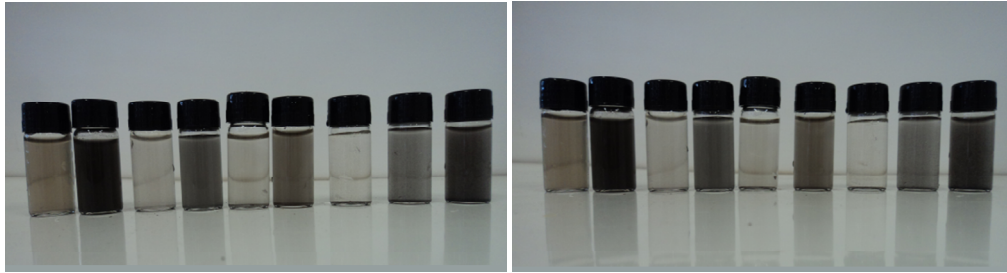
	$\nu_{as}(\text{CO}_2^-)$	$\nu_s(\text{CO}_2^-)$	$\Delta$
<b>CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Ser</b>	1580	1418	162
<b>CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Gly</b>	1602	1414	188
<b>CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Asp</b>	1602	1402	200

Após a obtenção das magnetitas e ferritas de cobalto funcionalizadas com aminoácidos, vale ressaltar que o LI foi recuperado e reutilizado em 6 sínteses subsequentes, o que mostra uma grande vantagem na síntese: a possibilidade de reciclo, que proporciona a economia e a conservação de recursos.

### **3.3.2 Dispersão de Nanopartículas funcionalizadas com aminoácidos.**

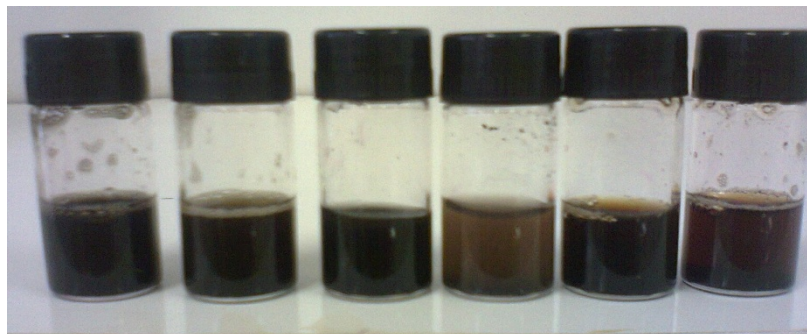
Para que as NPs sejam utilizadas em aplicações biomédicas é necessário que as partículas formem, com uma solução tampão em pH fisiológico e/ou água, uma dispersão coloidal. Dessa forma, as partículas dispersas não se sedimentam e podem ser levadas até ao local onde irão atuar.

Mediante o exposto, as partículas foram dispersas primeiramente em água (Figura 3.21). Para isto, foram pesados 1 mg de cada NPM (CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Glicina, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Glicina, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Ac. Aspártico, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Ac. Aspártico, CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/Serina, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Serina, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Tirosina, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Prolina e Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Fenilalanina, respectivamente) e dispersas em 5 mL de água. Em seguida, elas foram submetidas à sonicação por 15 min e transcorridos este tempo as dispersões foram deixadas em repouso Figura 3.21(a). Após uma hora as NPs ainda permaneciam dispersas (Figura 3.21(b)).



**Figura 3.21-** (a) Nanopartículas dispersas tempo zero. (b) Nanopartículas após uma hora.

Este resultado é bastante interessante, visto que as NPs precisam ficar dispersas em um tempo suficiente para que elas cheguem ao local de atuação. Em virtude o pH fisiológico ser de aproximadamente 7,2 foi preparada uma solução tampão com esse valor de pH. Em seguida, as nanopartículas foram dispersas nessa solução. Após mais de 1 h as NPs ainda estavam dispersas (Figura 3,22).



**Figura 3.22-** (1)  $Fe_3O_4/Ser$ ; (2)  $CoFe_2O_4/Ser$ ; (3)  $Fe_3O_4/Ac.Asp$ ; (4)  $CoFe_2O_4/Ac.Asp$ ; (5)  $Fe_3O_4/Gly$ ; (6)  $CoFe_2O_4/Gly$ .

Após a precipitação, as NP podem ser facilmente dispersas novamente por meio de agitação ou sonicação. Estes resultados são interessantes, visto que as NPs precisam estar dispersas no líquido carreador até chegarem ao local onde irão atuar. No entanto, vale ressaltar que para um melhor entendimento da dispersão dessas partículas, faz-se necessário o uso de uma técnica de espalhamento dinâmico de Luz (DLS).

### 3.4 Perspectivas

As sínteses das NPMs ocorreram de forma esperada, levando a partículas do tipo magnetita e ferrita de cobalto funcionalizadas com um aminoácido (ligante hidrofílico) por meio de decomposição térmica em apenas uma etapa. Estes resultados são bastante interessantes, visto que um dos grandes problemas das sínteses de NPMs para fins biomédicos é que geralmente ocorrem em quatro etapas: síntese da ferrita, funcionalização com ligante hidrofóbico, troca do ligante hidrofóbico pelo hidrofílico e ligação com moléculas bioativas.

Essa troca de ligante ocorre quando o ligante substituinte se liga facilmente a metais, como por exemplo, o ácido meso 2,3-dimercaptosuccínio (DMSA) que é utilizado como agente quelante em processos de desintoxicação de metais pesados.<sup>104</sup> Em seguida, os ligantes hidrofílicos (como por exemplo o DMSA) são utilizados para se fazer ligações com moléculas bioativas para serem então utilizados em biomedicina.

Mediante o exposto, acredita-se que com a síntese desenvolvida neste trabalho, em que é possível se obter NPMs funcionalizadas diretamente com moléculas hidrofílicas, seja possível dois novos tipos de variação dessa síntese: 1) síntese de NPMs funcionalizadas diretamente com moléculas bioativas, como por exemplo fármacos, escolhendo para isto, moléculas que se liguem ao ferro de forma que ainda possuam o grupo farmacofórico livre para atuar em aplicações biomédicas; 2) Síntese de NPMs funcionalizadas diretamente com o ligante hidrofílico e posterior ligação de moléculas bioativas.

Com estas variações, seria possível a diminuição de etapas nas sínteses de NPMs para aplicações em biomedicina, diminuindo custo e aumentando a eficiência.

---

<sup>104</sup> Jun, Y.; Hun, Y.; Choi, J.; Lee, J.; Song, H. Kim, S.; Yoon, S.; Kim, K.; Shim, J.; Sun, J.; Cheon, J. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5732.

### 3.5 Conclusões

O uso de LI mostrou-se eficiente como meio reacional na preparação de NPMs funcionalizadas com aminoácidos em uma única etapa. Tanto partículas do tipo magnetita, quanto ferritas de cobalto foram obtidas de forma eficiente. Além disso, o LI foi utilizado em reações de reciclo por pelo menos 6 vezes, as quais são de extrema importância devido à economia e à conservação de recurso.

De acordo com análises de DRX, foram obtidas partículas com estrutura espinélio cúbica. O tamanho das partículas foi caracterizado por meio de DRX e MET, com tamanho médio que variam de 10 a 13 nm.

As análises Raman foram eficientes, sendo uma análise complementar análise de DRX, pois com ela pode-se caracterizar o tipo de ferrita obtida: magnetita e ferrita de cobalto.

As análises de absorção no infravermelho mostraram que realmente houve funcionalização com aminoácidos, e a forma como ele está ligado ao ferro: pelo íon carboxilato e em forma de ponte bidentada.

As partículas foram dispersas tanto em água quanto em pH fisiológico indicando uma possível aplicação biomédica dos nanomateriais obtidos.

## 4. Parte Experimental

### 4.1 Reagentes utilizados

Os reagentes e solventes a seguir foram adquiridos a partir de fontes comerciais (Acros, Aldrich e Synth) e utilizados sem prévia purificação: hexano, éter etílico, acetato de etila, metanol, ácido fosfórico, LiNTf<sub>2</sub>, cloreto de sódio, ácido oleico, oleato de metila, salicilato e metila, benzoato de metila, acetilacetato de Ferro (III), acetilacetato de cobalto (II), acetona, L-arginina, L-serina, L-tryptofano, L-ácido aspártico, L-ácido Glutâmico, L-prolina, DL-alanina, L-fenilalanina, glicina, glutathione, hidróxido de sódio, CdO, CeNO<sub>3</sub>, SnCl<sub>2</sub>, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e InCl<sub>3</sub>.

Os reagentes, da marca Aldrich, a seguir passaram por prévia purificação do tipo destilação simples e a pressão reduzida: BF<sub>3</sub>.OEt<sub>2</sub>, clorobutano, N-metilimidazol, butilamina, anilina, dietilamina e pirrolidina. O óleo de soja foi submetido a vácuo para retirada de água.

### 4.2 Métodos cromatográficos

Para purificação dos intermediários e produtos obtidos foi utilizada cromatografia de adsorção em coluna (cromatografia *flash*), cuja fase estacionária foi sílica-gel Aldrich (230-400 mesh) e a fase móvel está descrita nos procedimentos experimentais. O método utilizado para o acompanhamento das reações foi cromatografia em camada delgada, utilizando placas obtidas a partir de cromatofolhas de alumínio impregnadas com sílica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck).

### 4.3 Métodos de análises

#### 4.3.1 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de <sup>1</sup>H) e de carbono (RMN de <sup>13</sup>C) foram obtidos no aparelho Varian Mercury 300 do Instituto de Química da Universidade de Brasília. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) tendo como referência interna o clorofórmio deuterado ou TMS (7,26 ou 0,00 ppm, respectivamente) para o RMN de <sup>1</sup>H e 77,0 ppm para RMN de <sup>13</sup>C utilizando o CDCl<sub>3</sub> como padrão. A multiplicidade das bandas de absorção dos hidrogênios nos espectros de RMN de <sup>1</sup>H foi indicada segundo a conversão: s (singleto), sl

(singleto largo), d (dubleto), dl (dubleto largo), apd (aparente dubleto), t (tripleto), tl (tripleto largo), apt (aparente tripleto), q (quarteto), dd (duplo dubleto), ddd (duplo duplo dubleto), dt (duplo tripleto), td (tripleto de dubletos), ddt (duplo duplo tripleto), dq (duplo quarteto), qd (quarteto de dubletos), qt (quinteto), st (sexteto), sp (septeto), dsp (duplo septeto) e m (multipletto). Os dados espectroscópicos referentes aos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  estão organizados segundo a convenção:  $\delta$  deslocamento químico (multiplicidade, número de hidrogênios, constante de acoplamento em Hz).

#### **4.3.2 Análise de HPLC**

A análise de HPLC foi realizada em um equipamento modelo CTO-20A da marca Shimadzu no Laboratório de Materiais e Combustíveis. Utilizando-se um detector de radiação ultravioleta (UV), fixado em 205 nm. Todas as amostras foram dissolvidas em acetonitrila para serem injetadas. O volume de injeção é de 10  $\mu\text{L}$  e a vazão do fluxo do solvente de 1 mL/min. Os cromatogramas foram gerados pelo software LabSolutions da Shimadzu. A corrida foi de 23 minutos utilizando-se metanol e isopropanol:hexano (5:4) como eluentes de forma gradiente, iniciando-se com o metanol, atingindo 50:50 de eluentes em 15 min. Em seguida, ocorreu um aumento da quantidade de metanol a 100% em 17 min.

#### **4.3.3 Análises de ICP-OES**

As análises de ICP-OES foram efetuadas em um aparelho iCAP 6000 Series ICP Spectrometers, no Laboratório de Materiais e Combustíveis, com fonte de Plasma de argônio indutivamente acoplado. O padrão utilizado nas análises foi S-21 + K500 ppm. A amostra foi preparada da seguinte forma: 0,2 g da amostra para 3,8 g de Querosene.

#### **4.3.4 Difração de Raios-X**

Os difratogramas de Raio-x foram obtidos das amostras em pó no aparelho da Bruker, modelo D8-Focus Discover, do Instituto de Química da UnB (IQ-UnB), com o gerador operando a 40 kV/30 mA. O comprimento de

onda de excitação selecionado foi de 1,540562, com um incremento de 0,05 e uma velocidade de 0,25°/min.

#### **4.3.5 Espectroscopia Raman**

Os espectros Raman foram obtidos em um aparelho Renishaw Raman System 3000 equipado com um microscópio Leica, empregando-se uma objetiva 50x, do Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC). Os espectros foram excitados pela linha 785 nm de um laser de He/Ne resfriado a ar (Spectra Physics). A potência do laser foi ajustada de modo a garantir a não oxidação térmica da amostra. A resolução espectral utilizada foi de 6 cm<sup>-1</sup>. O tempo de exposição ao laser utilizado foi de 6 segundo e foram feitas 200 acumulações de cada espectro.

#### **4.3.6 Espectroscopia de Absorção no Infravermelho (FTIR)**

Os espectros de FTIR foram obtidos no aparelho IR PRESTIGE-21 da Shimadzu do Laboratório de Materiais e Combustíveis. Utilizou-se uma célula de ATR, (Reflectância Total Atenuada) cujo modelo é MIRACLE, com prisma de ZnSe, variando a faixa da análise de 450 a 4000 cm<sup>-1</sup>. O número de interferogramas acumulados foi 32.

#### **4.3.7 Análise Térmogravimétrica (TGA)**

As curvas de decomposição térmica foram obtidas no aparelho TG-60 da marca Shimadzu no Laboratório de Materiais e Combustíveis (LMC). O sistema foi purgado com gás nitrogênio a uma taxa de 50 mL/min. A rampa de aquecimento utilizada foi de 25 a 800 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C por minuto.

#### **4.3.8 Espectrometria de massas**

O aparelho utilizado foi um SynapthDMS Waters de alta resolução, da marca Manchester, UK) pertencente a Central Analítica do Instituto de Química da UNICAMP. As análises de espectrometria de massas com ionização por

*electrospray* (ESI-QTOF-MS(MS)) foram realizadas em modo positivo (utilizando um intervalo  $m/z$  de 50 a 2000). A reação foi monitorada em solução de metanol por linha direta de infusão ESI-QTOF-MS. Todas as amostras foram dissolvidas em acetonitrila ou metanol na concentração de 50 mM contendo 0,01 % de ácido fórmico. As amostras foram injetadas diretamente na fonte ESI em uma vazão de 5 mL por minuto. As condições da fonte ESI foram: tensão do capilar de 3,0 kV, cone de amostra 30 V e cone extrator 3 V.

#### **4.3.9 Análise de densidade de acordo com a norma NBR 7148**

Primeiramente o tubo enchimento do densímetro digital da marca DMA 35n foi seco e limpo com ciclohexano. Em seguida a amostra foi levada a temperatura do ensaio. O tubo do densímetro foi inserido dentro do béquer contendo a amostra e o botão de sucção foi apertado. Depois que a parte interna ficou cheia de amostra aguardou-se a estabilização do sistema anotando os valores de densidade nas temperaturas de 15 e 20 °C. O densímetro possui uma incerteza na medida de densidade igual a  $\pm 0,01 \text{ g/cm}^3$  e temperatura igual a  $\pm 0,2 \text{ °C}$ . As medidas foram feitas em triplicata e o resultado uma média aritmética dos três valores.

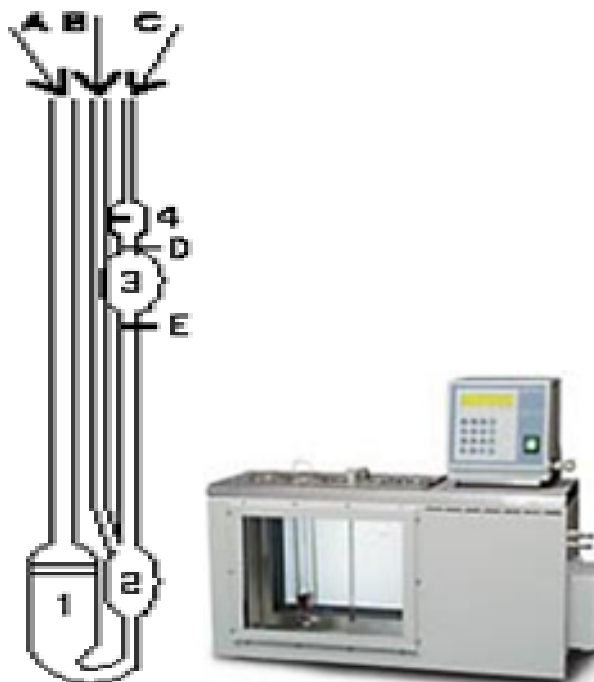
#### **4.3.10 Determinação do ponto de entupimento a frio ASTM D 6371**

Filtrou-se aproximadamente 50 mL da amostra a ser analisada a temperatura ambiente utilizando-se papel de filtro. Utilizando o equipamento descrito na norma da ASTM D 6371 (disponível no LMC-UnB), encheu-se o frasco de teste com amostra até a marca de 45 mL. O frasco de teste foi inserido na jaqueta do equipamento e a cada grau foi medido o ponto de entupimento a frio. A medida deste ponto consiste no resfriamento da mostra sob condições específicas e, em intervalos de 1 °C, seu derrame ocorre em uma pipeta sobre vácuo controlado. Esse procedimento se repete até que cristais (graxa) formados sejam suficientes para interromper ou atenuar a vazão, de modo que o tempo para encher a pipeta exceda 60 segundos ou que o combustível congele ao retornar a pipeta quando se diminui a temperatura em 1 °C.



### 4.3.11 Viscosidade ASTM D445

As análises de viscosidade dessa amostra foram feitas utilizando-se um viscosímetro de Ubbelohde (Figura 4.1) a temperatura de  $40,0 \pm 0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ , mantida constante por um banho termostático, conforme a norma ASTM D 445.



*Figura 4.1– Viscosímetro de Ubbelohde e banho termostático*

A viscosidade cinemática,  $\nu$  é igual a razão entre a força de cisalhamento aplicada e a taxa de cisalhamento do líquido. Para o cálculo de  $\nu$ , temos:

$$\nu = C \times t_{\text{fluxo}}, \quad (4.1)$$

Sendo:

C = constante de calibração do viscosímetro.

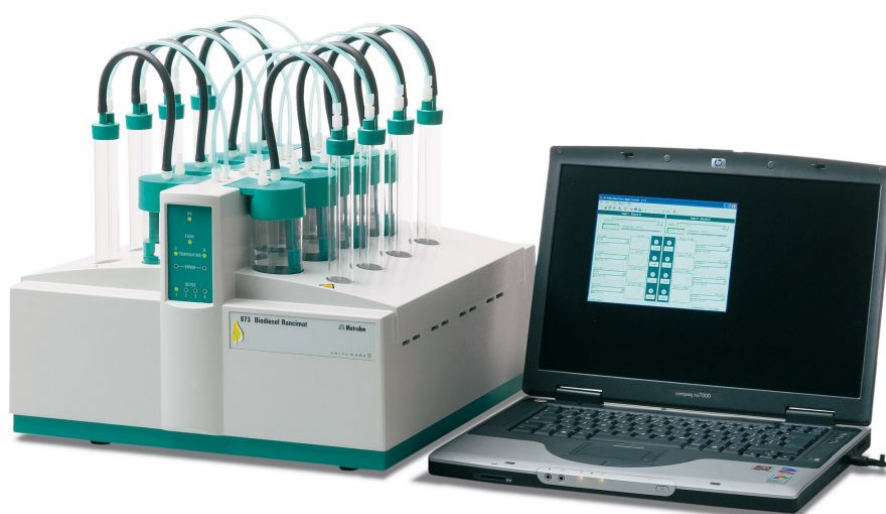
A unidade de  $\nu$  é  $\text{mm}^2/\text{s}$  (cSt).

Para esta análise, o banho foi estabilizado a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  e depois de colocados aproximadamente 25 mL do material no viscosímetro este foi inserido no banho. Após 30 minutos, foi feita uma sucção com uma pêra. Quando o material atingiu o bulbo mais alto, vedou-se o outro tubo com o dedo e em seguida a pêra foi desconectada. No instante em que se retirou o dedo, o material começou a descer, quando o material atingiu a marca D (Figura 4.1) o cronômetro foi acionado e ao atingir a marca E, verificou-se o tempo em que o

material gastou para atravessar todo o bulbo de D até E. Esse procedimento foi feito em triplicata e o valor médio adicionado na equação (1).

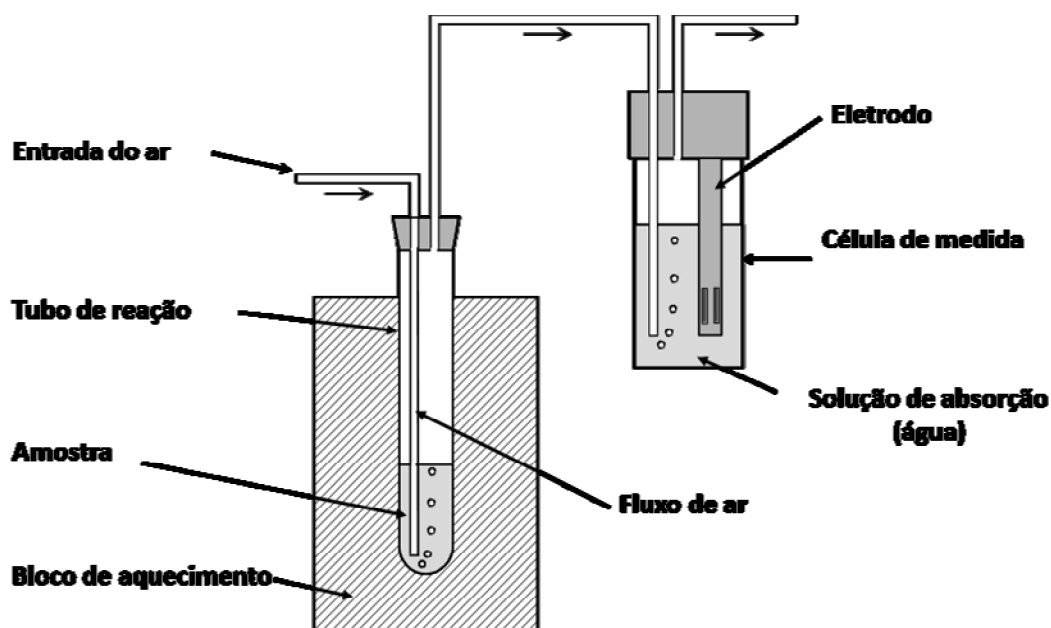
#### 4.3.12 Estabilidade oxidativa EN14112

Foram executadas análises de Rancimat para verificar a estabilidade oxidativa da amida graxa formada e de blends de biodiesel com adições crescentes da amida: 1%, 3%, 5%, 10 %, 25 %, 50 %, 100 % (amida graxa) em biodiesel de acordo com a norma EN 14112 utilizando o aparelho *Biodiesel Rancimat 873* (Figura 4.2).



*Figura 4.2- Aparelho 873 Biodiesel Rancimat*

Essa técnica consiste em uma oxidação acelerada em temperaturas elevadas com exposição a um fluxo de ar, utilizando o aparelho apresentado na Figura 4.2 que pode ser explicado pelo sistema apresentado na Figura 4.3.



*Figura 4.3– Esquema geral do sistema de oxidação acelerada do biodiesel*

De acordo com o esquema apresentado na Figura 4.3, no método Rancimat, a amostra é colocada em um tubo de reação que é inserido em um bloco de aquecimento. Nesse tubo de reação ocorre a entrada de ar a uma temperatura constante de 110 °C. À medida que ocorre a oxidação do material com a formação de produtos de oxidação, esses produtos voláteis vão sendo transferidos para o recipiente de medida por um fluxo de ar, onde são absorvidos na solução de medida (água destilada). Nesse recipiente a condutividade é continuamente monitorada por um condutímetro. A presença de ácidos orgânicos nesta solução promove um aumento da condutividade. O tempo até a ocorrência das reações secundárias da amostra é chamado de tempo de indução ou período de indução, que é um bom indicador da estabilidade à oxidação. A análise termina quando é atingida uma condutividade de  $200 \mu\text{S cm}^{-1}$ . O resultado de uma análise Rancimat é expresso em termos da variação da condutividade em função do tempo. Por meio das curvas obtidas com as análises pode ser observado o tempo de indução (momento em que o material em análise começa a oxidar) e o momento em que se atinge a condutância de  $200 \mu\text{S cm}^{-1}$  (que indica o término do experimento).

#### 4.3.13 Avaliação Biocida – Testes de Perfuração em Ágar.

Para as avaliações antimicrobianas foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC). As bactérias são mantidas em ágar BHI inclinado em geladeira a 4 °C. Os fungos são mantidos em ágar batata-dextrose.

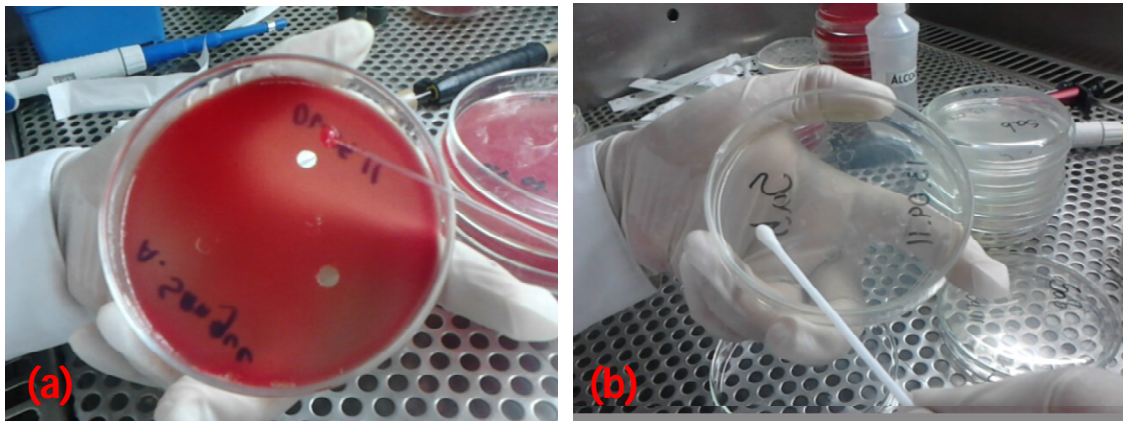
Para os ensaios foram utilizados microrganismos com crescimento de 24 horas. Os organismos utilizados nos testes foram escolhidos por serem comuns, no ar e no solo, e que podem contaminar o biodiesel. Os organismos utilizados foram:

- Bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae*, (ATCC 31488), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538).
- Fungos: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Microsporium canis* (ATCC 36299) e *Trichophyton rubrum* (ATCC 10218).

Para se obter colônias isoladas, cada cultura foi testada em meio não inibitório, como o ágar infusão cérebro-coração, para se obter colônias isoladas. As culturas de bactérias foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Em seguida, selecionou-se de 4 a 5 colônias bem isoladas com uma alça bacteriológica, e as transferiu para um tubo de ensaio contendo solução salina estéril 0,85 %. A suspensão bacteriana foi comparada com o padrão 0,5 da escala McFarland. O tubo foi agitado imediatamente antes do uso.

Para o inóculo de fungos uma subcultura/repique foi realizada 48 h antes do teste. No dia do teste, uma pequena alíquota da levedura foi transferida para um tubo de ensaio contendo solução salina estéril 0,85%, até atingir o grau de turbidez de 0,5 na escala de McFarland ( $10^6$  unidades formadoras de colônias, UFC/mL). A concentração de células variou de  $5,0 \times 10^2$  a  $2,5 \times 10^3$  células/mL.

Em seguida, para os testes de perfuração em ágar utilizou-se um orifício no ágar como reservatório. Esse orifício foi preparado com uma pipeta de Pasteur estéril (Figura 4.4 (a)).



**Figura 4.4– (a) Placa de Petri contendo ágar-sangue e preparo dos reservatórios. (b) Aplicação de cultura de fungo em placa de Petri contendo ágar Sabouraud-maltose**

Conforme a Figura 4.4, para cultura de fungos foi utilizado Agar Sabouraud maltose e para bactérias ágar-sangue de coelho. Os reservatórios preparados possuem capacidade para 10 microlitros da substância a ser testada (blendas de Biodiesel/mistura de amidas graxas). Com o auxílio de um *swab* as culturas de fungos e bactérias foram aplicadas ao ágar (Figura 4.4 (b)). Para as análises foram utilizadas as seguintes blendas de 1 %, 3 %, 5 %, 10 %, 25 %, 50 % e 100 % de amida. Estas foram colocadas no meio de cultura e as placas foram então incubadas a uma temperatura de 32 a 37 °C. (Figura 4.5).



**Figura 4.5– Etapa de incubação**

Durante a incubação, as substâncias difundem-se dos orifícios para o meio de cultura. Após 48 h foram medidas as zonas de inibição (onde não houve crescimento). Os halos de inibição foram medidos, incluindo o diâmetro da perfuração, com o auxílio de projetor ótico e um paquímetro. O cálculo foi feito a partir da média das leituras em triplicatas das amostras em teste.

## 4.4 Procedimentos Experimentais das Reações

### 4.4.1 Síntese do Líquido Iônico BMI.NTf<sub>2</sub><sup>105</sup>

#### Síntese do cloreto de 1-butil-N-metilimidazol

Em um balão de três bocas de fundo redondo de 500 mL foi acoplado um condensador de bolas. Sob atmosfera de nitrogênio foram adicionados 1,85 mol de N-metilimidazol e 2,5 mol de clorobutano previamente destilados. O sistema foi mantido a uma temperatura de 80 °C por 48 h. Transcorridos este tempo, a reação foi levada a temperatura ambiente e o excesso de clorobutano foi retirado em rotaevaporador. Em seguida, o óleo amarelado foi lavado com acetato de etila para formação de cristais. Os cristais formados são dissolvidos em acetona para recristalização. O produto foi obtido na forma de um sólido branco cristalino em 93 % de rendimento.

#### Síntese do bis-(trifluorometilsulfonil)imida de 1-butil-3-metilimidazólio

Em um béquer foi dissolvido 1,74 mol de trifluorometanosulfonilimidato de lítio em 25 mL de água. Em seguida, uma solução de 1,65 mol de cloreto de 1-butil-N-metilimidazol em 65 mL de água foi adicionada a solução contida no béquer. A reação permaneceu sob agitação vigorosa por 45 min. Após 45 min, ocorreu o aparecimento de duas fases. A fase superior foi separada e a inferior (fase aquosa) foi extraída com 3 porções de 50 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. As fases orgânicas foram reunidas a parte superior (LI) e em seguida filtrado em uma coluna contendo celite e alumina básica. O solvente foi evaporado e o LI

---

<sup>105</sup> (a) Cassol, C. C.; Ebeling, G. Ferrera, B.; Dupont, J. *Adv. Synth. Catal.* **2006**, *348*, 243. (b) Dupont, J.; Consorti, C. S.; Suarez, P. A. Z.; de Souza, R. F. *Organic Syntheses.Coll.***2004**, *10*, 184. **2002**, *79*, 236.

permaneceu sob vácuo por 12 h. O LI foi obtido como um líquido transparente viscoso em 89 % de rendimento.

#### **4.4.2 Reação geral de amidação catalítica**

Em um tubo tipo schlenk selado foram adicionados o LI (0,5 mL), o éster ou ácido carboxílico (1,0 mmol), a amina (2,0 mmol) e 0,05 mmol de catalisador. O sistema permaneceu de 3 a 23 h sob agitação a 135 °C dependendo do catalisador utilizado. Transcorrido o tempo reacional, a reação foi resfriada à temperatura ambiente e após separação das fases, a fase superior foi reservada. Em seguida, a fase do LI foi extraída 3 vezes com 4 mL de hexano ou acetato de etila, dependendo da polaridade do produto formado. Os produtos obtidos foram purificados por cromatografia em coluna do tipo gradiente.

#### **4.4.3 Síntese do Biodiesel**

Em um Becker, diluiu-se 1 g de hidróxido de potássio em 40 mL de álcool metílico com o auxílio de agitação magnética. A mistura obtida (metóxido de potássio em álcool) foi adicionada em um béquer contendo 80 g de óleo de soja previamente seco em bomba de vácuo. O sistema permaneceu sob agitação vigorosa por 2 horas. Em seguida, o sistema foi deixado em repouso, até a separação em duas fases. Com o auxílio de um funil de separação, a parte inferior, glicerina, foi retirada, e a fase superior, o biodiesel, foi levado ao rotaevaporador para a retirada do excesso de metanol. Em seguida, o biodiesel foi extraído com uma solução de ácido fosfórico 5%, para que fosse retirado o sabão produzido na reação, e posteriormente, três vezes com salmoura. O biodiesel foi obtido em 86 % de rendimento.

#### **4.4.4 Síntese de Nanopartículas na presença de aminoácidos.**

Síntese de Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> funcionalizada com aminoácidos

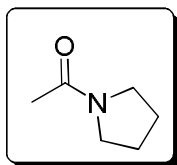
Em um tubo tipo schlenk selado foram adicionados 0,2 mmol de Fe(acac)<sub>3</sub>, 0,4 mmol de aminoácido e 2 mL de BMI.NTf<sub>2</sub>. Em seguida foi adicionado 1 mL de acetona para homogenização da mistura. O solvente (acetona) foi retirado em bomba de ultra vácuo. A reação permaneceu sob agitação por 3 h a uma temperatura de 200 °C. Transcorrido este período,

foram adicionados 5 mL de acetona e as partículas formadas foram separadas do meio por imantação e lavadas 3 vezes com água para a retirada completa de resíduo de aminoácido. O solvente foi evaporado e o LI foi reutilizado mais 10 vezes gerando NPs de magnetita funcionalizadas.

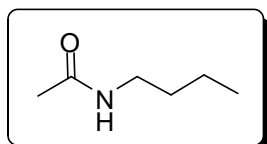
#### Síntese de $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ funcionalizada com aminoácidos

Em um tubo tipo schlenk selado foram adicionados 0,1 mmol de  $\text{Co}(\text{acac})_2$ , 0,2 mmol de  $\text{Fe}(\text{acac})_3$ , 0,4 mmol de aminoácido e 2 mL de  $\text{BMI.NTf}_2$ . Em seguida foi adicionado 1 mL de acetona para homogeneização da mistura. O solvente foi retirado em bomba de ultra vácuo. A reação permaneceu sob agitação por 3 h a uma temperatura de 200 °C. Após 3h, foram adicionados 5 mL de acetona e as partículas formadas foram separadas do meio por imantação e lavadas 3 vezes com água. O solvente foi evaporado e o LI foi reutilizado mais 10 vezes gerando NPs do tipo ferrita.

#### 4.5 Caracterização dos compostos obtidos nas reações de amidação catalítica.



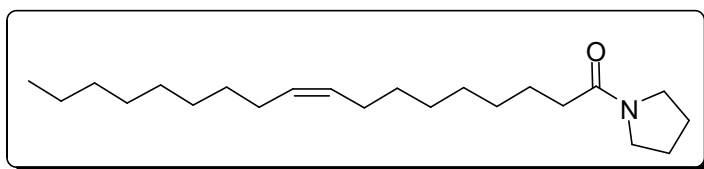
**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) 3,46 (t,  $J = 6,68$  Hz, 2H); 3,42 (t,  $J = 6,84$ , 2H); 2,06. **RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  (ppm) 168,6; 46,9; 45,0; 25,6; 24,1; 22,0. **IV-ATR:** ( $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ ) 3387, 2970, 2874, 1601, 1456, 1426, 1187, 989. (Produto descrito na literatura).<sup>106</sup>



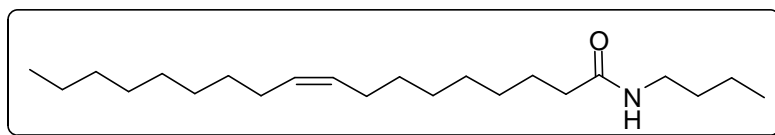
<sup>106</sup>Gnanaprakasam, B.; Milstein, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1682.



**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 3,47 (t, *J* = 6,9 Hz, 2H); 3,42 (t, *J* = 6,8 Hz, 2H); 2,18 (s, 1H); 2,06 (s, 3H); 1,91 (m, 6H), **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 169,0; 47,4; 45,5; 26,1; 24,6; 22,4. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 3420, 3154, 1630, 2882, 1596, 1353, 1199, 1138, 1063, 866. (Composto descrito na literatura)<sup>107</sup>



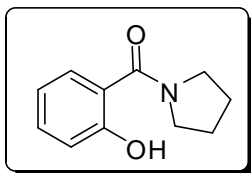
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 5,28 (dd, 1H, *J* = 1,4 Hz e 3,8 Hz); 5,26 (dd, 1H, *J* = 1,5 Hz e 3,8 Hz); 3,36 (m, 4H); 2,18 (t, 2H, *J* = 7,32 Hz); 1,86 (m, 4H); 1,57 (qt, 4H, *J* = 7,3 Hz); 1,23 (sl, 20H); 0,80 (m, 5H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 172,0; 129,8; 129,6; 46,5; 45,5; 34,7; 34,7; 31,8; 31,8; 29,6; 29,4; 29,3; 29,2; 29,2; 29,0; 27,0; 27,1; 26,0; 24,8; 24,3; 22,5; 14,0. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 2924, 2853, 1628, 1452, 1362, 1186, 1136, 1057, 724. (Composto descrito na literatura).<sup>108</sup>



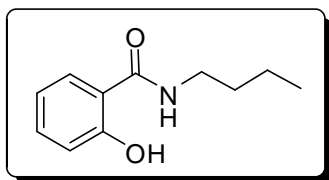
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 6,29 (sl, 1H); 5,35 (m, 2H); 3,28 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H); 2,17 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H); 2,02 (q, *J* = 6,2 Hz, 4H); 1,61 (m, 2H); 1,48 (m, 2H); 1,26 (sl, 23H); 0,89 (m, 5H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 173,4; 129,7; 129,5; 39,1; 36,6; 31,7; 31,5; 29,6; 29,5; 29,4; 29,4; 29,2; 29,1; 29,0; 27,0; 27,0; 25,8; 25,7; 22,5; 19,9; 13,9; 13,6. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 3292, 3005, 2967, 2922, 2853, 1645, 1544, 1458, 1362, 1194, 1138, 1068, 788.

<sup>107</sup> Steffel, L. R.; Cashman, T. J.; Reutershan, M. H.; Linton, B. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 12956.

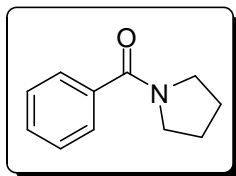
<sup>108</sup> D'Oca, C. D. M.; Coelho, T.; Marinho, T. G.; Hack, C. R. L.; da Duarte, R. C.; da Silva, P. A.; D'Oca, M. G. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 5255.



**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 11,22 (s, 1H); 7,46 (dd, *J* = 1,6 Hz e 7,9 Hz, 1H); 7,33 (dd, *J* = 1,6 Hz e 7,4 Hz, 1H); 6,99 (dd, *J* = 1,0 Hz e 7,4 Hz, 1H); 6,84 (dd, *J* = 1,2 Hz e 7,4 Hz, 1H); 3,71 (t, *J* = 6,4 Hz, 4H); 1,95 (t, *J* = 6,6 Hz, 4H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 170,0; 160,4; 132,8; 128,2; 118,0; 117,8; 117,2; 48,5; 29,5. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 3139, 2974, 2879, 1587, 1573, 1454, 1340, 1296, 1249, 1195, 1195, 850. (Composto descrito na literatura).<sup>109</sup>



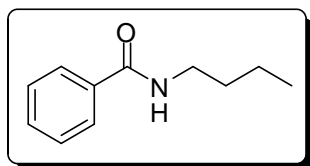
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 12,54 (s, 1H); 7,49 (m, 1H); 7,34 (m, 1H); 7,07 (sl, 1H); 6,96 (dd, *J* = 2,8 Hz e 8,52 Hz, 1H); 6,80 (m, 1H); 3,41 (m, 2H); 1,57 (qt, *J* = 7,3 Hz, 2H); 1,36 (qt, *J* = 7,3 Hz, 2H); 0,90 (t, *J* = 7,3 Hz, 3H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, APT, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 169,9; 160,9; 133,9; 125,8; 118,8; 118,0; 114,5; 39,3; 31,3; 19,9; 13,5. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 3371, 3018, 2960, 2933, 1639, 1593, 1491, 1454, 1362, 1215, 1147, 1060, 667.



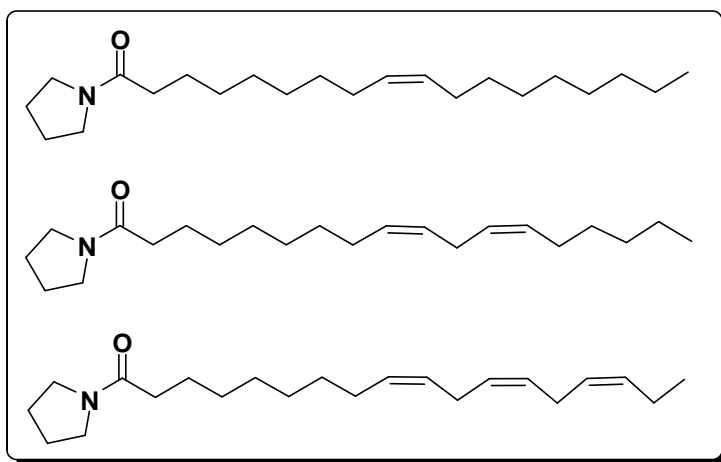
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 7,30 (m, 5H); 2,49 (t, *J* = 6,1 Hz, 4H); 1,75 (qt, *J* = 2,9 Hz, 4H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, APT, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 138,9; 128,8; 128,0; 126,7; 53,9; 23,2. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 2964, 2785,

<sup>109</sup> O'Mahony, G.; Pitts, A. K. *Org. Lett.*, **2010**, 12 ( 9), 2024.

1629, 1452, 1375, 1348, 1269, 1124, 1028, 906, 875, 736. (Composto descrito na literatura).<sup>110</sup>



**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 7,74 (m, 2H); 7,34 (m, 3H); 6,61 (s, 1H); 3,37 (m, 2H); 1,56 (m, 2H); 1,38 (m, 2 H); 0,92 (t, *J* = 7,4, 3H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, APT, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 168,3; 134,6; 131,2; 128,3; 126,8; 39,7; 31,5; 20,1; 13,7. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 3325, 3028, 2968, 2931, 2872, 1645, 1541, 1454, 1352, 1195, 1136, 1058, 736. (Composto descrito na literatura).<sup>5</sup>



Mistura e amidas derivadas de ácidos graxos e óleo de soja .

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 5,35 (m, 3H); 3,43 (t, *J* = 7,0 Hz, 4H); 2,77 (t, *J* = 6,0 Hz, 1H); 2,52 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H); 1,95 (m, 7H); 1,64 (qt, *J* = 7,2 Hz, 2H); 1,26 (s, 18H); 0,88 (m, 3H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, APT, CDCl<sub>3</sub>):** δ (ppm) 171,8; 171,7; 171,7; 130,0; 129,9; 129,8; 129,6; 127,8; 127,8; 46,5; 45,5; 34,7; 34,7; 31,8; 31,8; 31,4; 29,6; 29,6; 29,6; 29,6; 29,5; 29,5; 29,4; 29,4; 29,4; 29,4; 29,4; 29,2; 29,2; 29,2; 29,0; 27,1; 27,1; 26,0; 25,5; 24,8; 24,3; 22,6; 22,5; 14,0; 14,0. **IV-ATR:** (ν cm<sup>-1</sup>) 2906, 2854, 1635, 1458, 1354, 1192, 1060.

<sup>110</sup> Ren, W.; Yamane, M. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 8410.