



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

EDIPO SILVA DE OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS POROSOS
HIERÁRQUICOS VOLTADOS PARA APLICAÇÕES EM SISTEMAS EM FLUXO**

FORTALEZA

2021

EDIPO SILVA DE OLIVEIRA

ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS POROSOS
HIERÁRQUICOS VOLTADOS PARA APLICAÇÕES EM SISTEMAS EM FLUXO

Tese de doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Química. Área de concentração: Química.

Orientador: Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola.
Coorientador: Prof. Dr. José Marcos Sasaki.

FORTALEZA

2021

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

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

- O46e Oliveira, Edipo Silva de.
Estratégias para o desenvolvimento de materiais porosos hierárquicos voltados para aplicações em sistemas em fluxo. / Edipo Silva de Oliveira. – 2021.
119 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loliola.
Coorientação: Prof. Dr. José Marcos Sasaki.
1. Suportes hierárquicos. 2. Materiais mesoporosos. 3. Zeólitas. 4. Adsorção. 5. Catálise enzimática. I.
Título.

CDD 540

EDIPO SILVA DE OLIVEIRA

ESTRATÉGIAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE MATERIAIS POROSOS
HIERÁRQUICOS VOLTADOS PARA APLICAÇÕES EM SISTEMAS EM FLUXO

Tese de doutorado submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para a obtenção do título de doutor em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em: 01/10/2021.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. José Marcos Sasaki (Coorientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Ronaldo Ferreira do Nascimento
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^ª. Dr^ª. Sandra de Aguiar Soares
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Luelc Sousa da Costa
Universidade de São Paulo (USP)

Prof. Dr. Tiago Pinheiro Braga
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Adonay Rodrigues Loiola, pela oportunidade de trabalho, orientação e pelo incentivo a maximização do meu potencial em laboratório, durante todo o doutorado.

Ao professor Dr. José Marcos Sasaki, pela coorientação e pelo grande apoio à pesquisa.

A Central Analítica do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, pelos recursos cedidos e, em especial, a Nádia Aline que, além de dedicada profissional do setor, é uma grande amiga e mentora.

Aos meus colegas e amigos do grupo LMN (Diego, Natália, Conceição, Raquel, Nicholas e Lara) que compartilharam comigo grandes experiências acadêmicas e de vida, e com quem tive o privilégio de trabalhar e crescer, durante o período do doutorado.

Aos meus colegas e amigos do grupo LRX (Edilan, Gabriele, Anderson, Diego, Denilson, André, Tiago, Isabela e Thainara), que me ajudaram a superar as dificuldades durante todo o percurso da pós-graduação.

À equipe do grupo de Polímeros (Professora Dr^a Regina Célia Monteiro de Paula, Professora Dr^a Judith Pessoa de Andrade Feitosa, Rhamon, Irisvan, Maria, Aline e Everton) pelo apoio moral e pela disponibilidade de tempo e recursos.

Ao professor Dr. Ronaldo Nascimento, Iara, Mayza, Juliene e Hélio, do Laboratório de Análise de Traços, pela parceria, disponibilidade de tempo e recursos.

Ao professor Dr. Odair Pastor e a Dr^a Laís Gomes Fregolente, do LAMFA Laboratório de Materiais Funcionais Avançados (LAFMA), do Departamento de Física da Matéria Condensada – UFC, pelas análises de sortometria.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Um é tudo, tudo é um
O tudo é o mundo, o um sou eu!
Tudo é criado a partir de um
E tudo retorna a um
Tudo existe graças ao um
E tudo está contido no um!
Mas só com esses "uns" juntos, o "tudo" pode
existir.
(Fullmetal Alchemist).

RESUMO

A expressão “hierarquia”, em relação a materiais porosos, é frequentemente usada, em um sentido amplo, para sistemas contendo apenas um certo número de diferentes tipos de poros na forma de distribuições de tamanho de poro bi ou multimodal, independente se e como os dois ou mais sistemas de poros diferentes estão interligados. Vários métodos de hierarquização de estruturas porosas estão sendo desenvolvidos para melhorar o desempenho dos materiais finais em diferentes aplicações como, por exemplo, processos adsorptivos e catalíticos. Neste trabalho a zeólita do tipo NaA foi eficientemente sintetizada sobre a superfície de fibra de vidro previamente ativada por tratamento alcalino. Experimentos de abrandamento de água, realizados em sistema em fluxo, com coluna contendo o material hierárquico vidro-zeólita NaA, apresentaram alto desempenho na redução da concentração de íons Ca^{2+} , com a remoção completa alcançada para 100 mL de água dura simulada (Ca^{2+} 100,0 mg L⁻¹) usando 500 mg do material em coluna (10 mm de diâmetro × 300 mm de altura). O material apresentou uma regenerabilidade viável, sem redução em seu desempenho nos primeiros quatro ciclos de uso, atingindo 87,3% de eficiência, ao longo do décimo ciclo. A zeólita hierarquizada também mostrou seletividade a íons Ca^{2+} , na presença de íons Mg^{2+} , em soluções preparadas em laboratório e em amostras de água de poços profundos. Na segunda parte do trabalho, suportes hierárquicos constituídos por materiais mesoporosos aminofuncionalizados, agregados a cartuchos de celulose bacteriana, mostraram bom desempenho na imobilização de enzimas, derivados do extrato da casca de batata doce. Estes materiais, foram avaliados quanto ao seu potencial como suporte para imobilização enzimática, através da catálise enzimática do substrato catecol, em um sistema de injeção em fluxo previamente projetado para esse fim. Os dois materiais mesoporosos usados como imobilizadores enzimáticos, CBMPC-APTES e CBMPF-APTES, mostraram eficiência nos testes catalíticos em fluxo, com valores percentuais de retenção de enzima de 42,8%, e 21,8%, respectivamente.

Palavras-chave: suportes hierárquicos; materiais mesoporosos; zeólitas; adsorção; catálise enzimática.

ABSTRACT

The term "hierarchy" in relation to porous materials is often used, in a broad sense, for systems that contain only a certain number of different pore types in the form of independent bi- or multimodal pore size distributions, independent if and how the two or more different pore systems are interconnected. Many strategies for ranking porous structures have been and are being developed to improve the performance of final materials in different technical applications, such as adsorptive and catalytic processes. NaA-type zeolite was successfully synthesized on the surface of glass fiber previously activated by alkaline treatment. By varying the treatment time and the amount of silica and alumina precursors applied in the reaction mixture, a sample with higher zeolitic concentration was obtained. This material was evaluated for the water softening process, as an alternative substitute for the use of zeolite in powder form, in which several obstacles related to recovery and reuse limit its application. Water softening experiments, carried out in a continuous flow system, with a column containing the hierarchical material glass-zeolite NaA, showed high performance in reducing Ca^{2+} concentration, with complete removal achieved for 20 mL of simulated hard water (Ca^{2+} 100.0 mg L⁻¹) using 500 mg of the sample in column form (10 mm diameter × 300 mm height). The sample maintained this performance over a wide pH range (3.0 - 9.0), and also showed viable regenerability, without decreasing its performance during the first four cycles of use, reaching 87.3% efficiency, when throughout the tenth cycle. In the second part of the work, hierarchical supports of aminofunctionalized mesoporous materials, incorporated in bacterial cellulose cartridges, showed good performance in the immobilization of enzymes from sweet potato peel extract. These materials were evaluated for their potential as support for enzymatic immobilization, through the enzymatic catalysis of the catechol substrate, in a flow injection system, previously designed for this purpose. The two mesoporous materials used as enzymatic immobilizers (CBMPC-APTES and CBMPF-APTES) showed efficiency in catalytic flow tests, with percentage enzyme retention values of 42.8% for the support CBMPC-APTES and 21.8%, for CBMPF-APTES support.

Keywords: hierarchical supports; mesoporous materials; zeolites; adsorption; enzymatic catalysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Estrutura de uma sodalita (SOD), zeólita A (LTA) e de uma zeólita X (FAU).....	27
Figura 2	- Exemplos de estruturas hierárquicas naturais: a) raízes de uma árvore, b) afluentes de um rio, c) pulmões e, d) sistema circulatório sanguíneo...	29
Figura 3	- Representação simplificada dos procedimentos para a preparação das zeólitas hierárquicas.....	32
Figura 4	- Sistema de gotejamento usado durante o experimento de abrandamento de água. A solução contendo íons Ca^{2+} , foi adicionada no funil de separação (a), e gotejada pela coluna (b) contendo a zeólita hierárquica (c).....	34
Figura 5	- Difractogramas dos materiais de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.....	38
Figura 6	- Difractogramas dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A e ZH-24-B (a) ZH-72-A e ZH-72-B (b).....	39
Figura 7	- Micrografias das amostras de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.....	40
Figura 8	- Micrografias dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A (a), ZH-24-B (b), ZH-72-A (c) e ZH-72-B (d)	42
Figura 9	- Espectros de infravermelho das amostras de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.....	44
Figura 10	- Espectros de Infravermelho dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A e ZH-24-B (a) ZH-72-A e ZH-72-B (b).....	45
Figura 11	- Efeito da variação de massa da amostra ZH-72-A, nos ensaios de abrandamento.....	46
Figura 12	- Desempenho da zeólita hierárquica ZH-72-A no processo de abrandamento em sucessivos ciclos de regeneração.....	47
Figura 13	- Concentração de Ca^{2+} após passagem de solução de Ca^{2+} 100,0 mg L ⁻¹ por coluna de zeólita hierárquica.....	48

Figura 14	- Efeito do pH da solução no desempenho da amostra ZH-72-A no abrandamento.....	49
Figura 15	- Concentração de Ca^{2+} e de Mg^{2+} (a) em soluções com razões 1:3, 1:1 e 1:3.....	49
Figura 16	- Concentração de Ca^{2+} e de Mg^{2+} em amostras de poços artesianos antes e após passagem por coluna de zeólita hierárquica.....	50
Figura 17	- Raízes de batata doce (<i>Ipomoea batata</i>).....	59
Figura 18	- Grupo prostético heme na HRP e a posição dentro da enzima.	60
Figura 19	- Representação tridimensional da estrutura cristalina da enzima HRP.	61
Figura 20	- Mecanismo de ação da histidina, contida na peroxidase, na formação do Compostos I.....	62
Figura 21	- Imagem ilustrativa das estruturas dos compostos: (a) MCM-41, (b) MCM-48 e (c) MCM-50. A estrutura MCM-41 é formada por um arranjo hexagonal de mesoporos uniformes e unidimensionais, enquanto a MCM-48 possui um arranjo cúbico de mesoporos interconectados, resultando em um sistema de poros tridimensional. A estrutura MCM- 50 possui um arranjo lamelar constituído por uma camada dupla do surfactante alternada por camadas de sílica.....	64
Figura 22	- Faixa do tamanho (diâmetro) de poro do MCM-41.....	65
Figura 23	- Mecanismo de polimerização do TEOS. As nanopartículas são formadas por um processo sol-gel, catalisado por meio básico, de acordo com duas reações principais, hidrólise e condensação.....	65
Figura 24	- Esquema de formação da sílica mesoporosa da família MCM-41.....	66
Figura 25	- Estrutura em 3D do material mesoporoso SBA-16.....	67
Figura 26	- Representação do copolímero Pluronic F127, usado como agente direcionador de estrutura, na síntese do material mesoporoso SBA-16....	68
Figura 27	- Representação esquemática da síntese do material mesoporoso tipo SBA.....	69
Figura 28	- Representação da funcionalização pós-sintética para modificação orgânica de fases de sílica mesoporosa pura com organotrialkoxissilanos terminais do tipo $(\text{R}'\text{O})_3\text{Si-R}$ (R = grupo funcional orgânico).....	70

Figura 29	- Método de co-condensação (síntese direta) utilizando TEOS e um grupo $(R'O)3Si-R$ (a) ou TEOS e um grupo $(R'O)3Si-R-Si(R'O)3$ (b) como precursores mistos para a modificação orgânica de fases de sílica pura mesoporosa. R = grupo funcional orgânico.....	71
Figura 30	- Cartucho de celulose bacteriana e suportes hierárquicos de celulose bacteriana, contendo materiais mesoporosos (a) MPC-APTES (b) e MPF-APTES (c). Os cartuchos de celulose possuem um aspecto esponjoso e fibroso. A inserção de materiais a base de sílica, torna os cartuchos mais rígidos e fáceis de manusear.....	75
Figura 31	- Esquema das reações de escurecimento enzimático dos compostos fenólicos pelas enzimas peroxidase (POD).....	78
Figura 32	- Esquema de análise de injeção em fluxo para determinação de capacidade máxima de conversão. As setas indicam o sentido do fluxo das soluções usadas no sistema. A bomba peristáltica mantém o fluxo contínuo e as válvulas solenoides determinam qual o sentido das soluções durante o processo.....	80
Figura 33	- Sistema de comutação acoplado a bomba peristáltica. Em destaque, na cor verde, os frascos contendo a solução tampão e o substrato, as válvulas solenoides, a bomba peristáltica (responsável por manter o fluxo contínuo), o controlador, o bloco de convergência, reator contendo o suporte hierárquico de celulose bacteriana + material mesoporoso. Em destaque, na cor azul, a cubeta de fluxo onde serão feitas das análises de espectrometria na região do UV-Vis.....	82
Figura 34	- Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos materiais mesoporosos MPC-APTES (a, c e e) e dos materiais mesoporosos MPF-APTES (b, d e f).....	85
Figura 35	- Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos materiais mesoporosos. A esquerda, micrografias dos materiais MPC-APTES (a) e do suporte de celulose com o mesoporo incorporado (c). A direita, as micrografias dos materiais mesoporosos MPF-APTES (b), do suporte de celulose contendo o material mesoporoso (d). Abaixo, a micrografia do suporte de celulose sem material mesoporoso (e).....	86

Figura 36	- Espectros de absorção na região do infravermelho dos matérias mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.	88
Figura 37	- Espectros de absorção na região do infravermelho dos matérias mesoporosos a base de Pluronic F-127, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados	88
Figura 38	- Análise de TG e DTG dos matérias mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.....	90
Figura 39	- Análise de TG e DTG dos matérias mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.....	91
Figura 40	- Espectro de ressonância magnética (RMN) do ^{29}Si presente nos matérias mesoporosos. A Figura 40a contém os resultados RMN dos matérias mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados. Na Figura 40b, estão os espectros de RMN dos materiais mesoporosos a base de Pluronic F-127, dos mesoporos aminofuncionalizado e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados	93
Figura 41	- Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 , das amostras MPC-SD (a) e MPC-APTES (b).....	94
Figura 42	- Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 , das amostras MPF-SD (a) e MPFAPTES (b).....	96
Figura 43	- Determinação de atividade enzimática do extrato enzimática, do sobrenadante após a imobilização e da primeira lavagem dos suportes mesoporosos MPC-APTES (a) e MPF-APTES (b), contendo a enzima imobilizada.....	98
Figura 44	- Resultados dos experimentos de biocatálise, por injeção em fluxo, com os suportes CBMPC-APTES (a) e CBMPF-APTES (b), contendo a enzima imobilizada.....	100

Figura 45	-	Variação da absorvância em função da concentração de substrato, para os testes catalíticos com os suportes mesoporosos contendo a enzima imobilizada.....	101
Figura 46	-	Capacidade máxima de conversão dos suportes hierárquicos biocatalisadores, em diferentes concentrações, sob fluxo de 2 mL min ⁻¹ .	103
Figura 47	-	Influência da concentração do substrato sobre velocidade inicial da reação, nos experimentos envolvendo o biocatalisador CBMPC-APTES (a) e o biocatalisador CBMPF-APTES (b).....	105
Figura 48	-	Gráficos dos duplos recíprocos, dos experimentos envolvendo o biocatalisador CBMPC-APTES (a) e o biocatalisador CBMPF-APTES (b).....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Classificação das águas quanto à dureza.....	23
Tabela 2	- Composição química dos materiais, em porcentagem em massa, determinada por fluorescência de raios-X.....	36
Tabela 3	- Relação das vantagens e desvantagens dos cinco métodos básicos de imobilização enzimática.....	56
Tabela 4	- Parâmetros texturais obtidos por experimentos de adsorção/dessorção de N ₂ , dos materiais mesoporosos funcionalizados com APTES e os não funcionalizados.....	97

LISTA DE ABREVIATURAS

APTES	3-aminopropiltriétoxissilano
CBMPC-APTES	Suporte de celulose bacteriana com material mesoporoso a base de CTAB
CBMPF-APTES	Suporte de celulose bacteriana com material mesoporoso a base de Pluronic F127
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
FIA	Fistema de injeção em fluxo (flow injection system)
FV	Fibra de vidro
FVA-24	Fibra de vidro alcalinamente tratada por 24h
FVA-72	Fibra de vidro alcalinamente tratada por 72h
MPC	Material mesoporoso sintetizados usando CTAB como direcionador de poros
MPC-APTES	Material mesoporoso sintetizados usando CTAB como direcionador de poros e, funcionalizados com APTES
MPF	Material mesoporoso sintetizados usando Pluronic F127 como direcionador de poros
MPF-APTES	Material mesoporoso sintetizados usando Pluronic F127 como direcionador e, funcionalizados com APTES
POD	Enzima peroxidase
ZH-24-A	Zeólita hierárquica, sintetizada em fibra de vidro, alcalinamente tratada por 24h, com 100% de quantidade de solução precursora para síntese de zeólita NaA
ZH-24-B	Zeólita hierárquica, sintetizada em fibra de vidro, alcalinamente tratada por 24h, com 50% de quantidade de solução precursora para síntese de zeólita NaA
ZH-72-A	Zeólita hierárquica, sintetizada em fibra de vidro, alcalinamente tratada por 72h, com 100% de quantidade de solução precursora para síntese de zeólita NaA
ZH-72-B	Zeólita hierárquica, sintetizada em fibra de vidro, alcalinamente tratada por 72h, com 50% de quantidade de solução precursora para síntese de zeólita NaA

SUMÁRIO

1	PARTE I	18
2	INTRODUÇÃO	19
3	Revisão bibliográfica	21
3.1	A importância da água	21
3.2	Remoção da dureza da água	22
3.3	Zeólitas	25
3.4	Hierarquização de estruturas porosas	28
4	OBJETIVOS	30
4.1	Geral	30
4.2	Específico	30
5	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	31
5.1	Síntese da zeólita NaA suportada em fibra de vidro	31
5.2	Caracterização dos materiais	32
5.2.1	<i>Fluorescência de raios-X</i>	32
5.2.2	<i>Difração de raios-X</i>	33
5.2.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	33
5.2.4	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	33
5.3	Ensaio de abrandamento	33
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
6.1	Caracterização dos materiais	36
6.1.1	<i>Fluorescência de raios-X</i>	36
6.1.2	<i>Difração de raios-X</i>	37
6.1.3	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	39
6.1.4	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	43
6.2	Ensaio de abrandamento	45
7	PARTE II	51
8	INTRODUÇÃO	52
9	Revisão bibliográfica	54
9.1	Imobilização enzimática	54
9.2	Peroxidase e a batata doce	58
9.3	Materiais mesoporosos	62

9.3.1	<i>O Material mesoporoso MCM-41</i>	64
9.3.2	<i>O Material mesoporoso SBA-16</i>	67
9.3.3	<i>Funcionalização dos materiais mesoporosos</i>	69
10	OBJETIVOS	72
10.1	Geral	72
10.2	Específico	72
11	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	73
11.1	Síntese com APTES e CTAB	73
11.2	Síntese com APTES e com Pluronic F127	73
11.3	Produção das membranas de celulose bacteriana	74
11.3.1	<i>Oxidação da celulose bacteriana</i>	74
11.3.2	<i>Nanofibrilação da celulose bacteriana oxidada</i>	74
11.4	Formação dos Suportes de Celulose Bacteriana contendo os Materiais Mesoporosos	75
11.5	Caracterização dos materiais	75
11.5.1	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	75
11.5.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura</i>	76
11.5.3	<i>Microscopia eletrônica de transmissão</i>	76
11.5.4	<i>Ressonância magnética nuclear</i>	76
11.5.5	<i>Análises termogravimétricas</i>	76
11.5.6	<i>Isotermas de adsorção/dessorção de N₂</i>	77
11.5.7	<i>Imobilização enzimática</i>	77
11.5.8	<i>Testes catalíticos</i>	77
11.5.9	<i>Ensaio catalítico usando o sistema de injeção em fluxo</i>	79
11.5.10	<i>Sistema de comutação para testes catalíticos</i>	81
12	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
12.1	Caracterização dos materiais	84
12.1.1	<i>Microscopia eletrônica de varredura e transmissão</i>	84
12.1.2	<i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	87
12.1.3	<i>Análises termogravimétricas</i>	89
12.1.4	<i>Ressonância magnética nuclear</i>	92
12.1.5	<i>Isotermas de adsorção/dessorção de N₂ (Isotermas de BET)</i>	94
12.2	Ensaio catalítico	97

13	CONCLUSÃO	109
	REFERÊNCIAS	111

1 PARTE I

**(MATERIAIS HIERARQUICAMENTE ESTRUTURADOS POR ZEOLITIZAÇÃO
DE CARTUCHOS DE SÍLICA MACROPOROSOS APLICADOS EM
ABRANDAMENTO DE ÁGUAS DURAS.)**

2 INTRODUÇÃO

A água é um composto essencial para toda a vida na Terra e um recurso precioso para a civilização humana. O acesso a água limpa e portátil é considerado um dos objetivos humanitários mais básicos e continua sendo um grande desafio global para o século XXI.¹

Tanto nos países em desenvolvimento quanto nos industrializados, as atividades humanas desempenham um papel cada vez maior no agravamento da escassez de água pela contaminação das fontes naturais de água. Os padrões de qualidade da água cada vez mais rigorosos, bem como paradigmas envolvendo contaminantes emergentes, certamente têm fomentado novas pesquisas para os sistemas de tratamento e distribuição de água amplamente estabelecidos em países desenvolvidos.

O rápido crescimento populacional e a melhoria do padrão de vida, em todo globo, aumentam continuamente a demanda de água potável. Além disso, as mudanças climáticas globais acentuam a distribuição já desigual de água doce, desestabilizando o abastecimento. A pressão crescente sobre o abastecimento de água torna o uso de fontes de água não convencionais (água da chuva, água doce contaminada, água salobra, água residual e água do mar) uma opção viável, especialmente em regiões que historicamente sofrem com escassez de água.

A zeólita é um dos compostos mais utilizadas no tratamento de água potável. Há muito tempo sabe-se do seu potencial para remoção de ânions e compostos orgânicos dos sistemas de água subterrânea. Além disso, elas têm sido utilizadas para remoção de metais pesados devido ao baixo custo e disponibilidade a granel de matéria-prima.²

Zeólitas são aluminossilicatos cristalinos hidratados de estrutura aberta, constituída por tetraedros de SiO_4 e AlO_4^- ligados entre si por átomos de oxigênio³ e que apresentam sistemas de poros cujas dimensões permitem a adição e remoção de moléculas hospedeiras reversivelmente, tornando-as excelentes adsorventes.⁴ O mecanismo de funcionamento da zeólita baseia-se em um processo de peneiramento molecular (seletividade), que ocorre por causa da grande superfície interna relacionada à externa, possibilitando a passagem de massa entre o espaço cristalino e o meio externo, sendo, por sua vez, essa passagem limitada pelo diâmetro e uniformidade dos microporos da zeólita⁴.

Algumas características das zeólitas, entretanto, podem ser melhoradas por meio da hierarquização da sua estrutura. Por ser a zeólita um material em geral produzido na forma de pó, o acesso de moléculas de interesse aos seus microporos, principais sítios de adsorção, muitas vezes é limitado pela própria compactação do material. O processo de hierarquização funciona

dispondo a zeólita de tal forma que novos poros - mesoporos, macroporos ou ainda ambos - possam ser gerados. Deste modo, em seu sistema de poros há não somente um, mas vários tipos de poros que vão desde microporos (diâmetros de poros inferiores a 2 nm), passando por mesoporos (diâmetros de poros que compreendem tamanhos entre 2 e 50 nm), até macroporos (tamanhos de poros superiores a 50 nm).⁵ Microporos fornecem os sítios dominantes de adsorção e sítios catalíticos para espécies hospedeiras, os mesoporos contribuem para seletividade e os macroporos melhoraram o desempenho de difusão.

A preparação de materiais porosos com arquitetura hierárquica, apresentando características estruturais com dimensões nanométricas até micrométricas, e que apresentem funcionalidades atraentes, é certamente um dos novos grandes desafios na área de química de materiais.⁶

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A importância da água

A água é essencial para a existência de vida no planeta. É um recurso natural que está relacionado, em todos os aspectos, à civilização humana, contribuindo com o desenvolvimento agrícola e industrial e influenciando nos valores culturais e religiosos da sociedade. Faz parte de reações bioquímicas dos seres vivos, serve de habitat para várias espécies vegetais e animais, atua como elemento representativo de valores sociais, culturais e como fator de produção de vários bens de consumo intermediários e finais. Porém, existe uma ideia distorcida de que os recursos hídricos são infinitos. Realmente há muita água no planeta, porém menos de 3% dessa água é doce, sendo que aproximadamente 99% desta encontra-se congelada nas regiões polares ou em lagos subterrâneos, o que dificulta sua utilização pelos humanos.

A importância da água para a vida é inegável. Não há ser vivo sobre a face da Terra que possa abstrair de sua existência e sobreviver. Mas, assim como sua presença cria condições para a vida, a má qualidade da água também pode representar um sério risco à saúde. Se em outras épocas bastava procurar uma fonte ou um rio próximo para se abastecer, atualmente o consumo seguro da água depende da qualidade do tratamento pelo qual ela passa. A seguir são apresentados os principais processos de tratamento de água destinada ao consumo humano.⁷

- **Micropeneiramento:** técnica que consiste na retirada de partículas contidas na água através da passagem desta por peneiras compostas por malhas de pequena abertura.
- **Oxidação ou Aeração:** processo de remoção de matéria orgânica e inorgânica por meio da oxidação por aeração ou com oxidantes químicos.
- **Adsorção:** processo que consiste na adsorção de composto orgânicos e inorgânicos que atribuem odor, sabor e turbidez à água. Os principais adsorventes usados são o carvão ativado e a alumina.
- **Troca Iônica:** remoção de materiais inorgânicos presentes na água através de sua passagem por colunas de resinas catiônicas e aniônicas.
- **Coagulação:** processo no qual se adiciona um coagulante à água para facilitar a remoção de partículas dissolvidas no processo de floculação.
- **Floculação:** é aplicada após a coagulação e se baseia na agitação da água, promovendo a aglomeração das partículas, aumentando o seu tamanho e facilitando sua remoção pelos decantadores, flutadores ou filtros.

- **Decantação:** consiste na sedimentação de impurezas durante a passagem da água por grandes tanques onde as impurezas serão depositadas.
- **Flotação:** baseia-se na produção de bolhas que se agregam as partículas, arrastando-as para a superfície e possibilitando a sua retirada.
- **Filtração em meio granular:** realiza-se a passagem da água por filtros de areia para a remoção das impurezas.
- **Filtração em membrana:** processo que se baseia na remoção de materiais orgânicos e inorgânicos da água por meio de filtração em uma membrana porosa, cujo diâmetro dos poros é menor que 1 μm .
- **Desinfecção:** consiste na eliminação de organismos patogênicos na água pela ação de agentes oxidantes como cloro, bromo, ozônio, peróxido de hidrogênio, ou através de radiação ionizante.
- **Abrandamento:** processo de redução da dureza da água pela retirada dos íons cálcio e magnésio.
- **Fluoretação:** consiste na adição de flúor na água para evitar o processo de decomposição do esmalte dentário.
- **Estabilização Química:** controle do pH da água para minimizar a corrosão das tubulações de metal usadas na distribuição e as incrustações nessas tubulações.

É necessário selecionar o processo de tratamento de acordo com o tipo de água e as impurezas nela existentes, pois cada técnica possui limites de aplicação. O uso de diversas técnicas no processo de purificação da água, sem o conhecimento de seus limites implicará em erros, já que não haverá garantia de produção de água com a qualidade exigida pelos parâmetros da Portaria nº 518 de 25 de março de 2004, do Ministério da Saúde.⁸

3.2 Remoção da dureza da água

O termo “dureza” está associado à incapacidade de produzir espuma pelo sabão. A dureza da água é uma característica adquirida pela presença de íons metálicos, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Sr^{2+} , Mn^{2+} e Al^{3+} , dando-se mais importância aos íons Ca^{2+} e Mg^{2+} .⁹ Estes são encontrados em águas naturais contendo altas concentrações de CO_2 , que dissolvem minerais como o calcário (CaCO_3) e a dolomita ($\text{Ca Mg} (\text{CO}_3)_2$)¹⁰. As durezas podem ser classificadas como:

Dureza Temporária ou de Carbonatos: é a dureza proporcionada pelos bicarbonatos de cálcio e magnésio. São durezas que, além de resistir à ação do sabão, produzem também incrustações. Pela ação do calor, os bicarbonatos se decompõem em gás carbônico, água e carbonatos insolúveis que se precipitam.

Dureza Permanente ou de Não Carbonatos: é a dureza devida à presença de sulfatos, cloretos e nitratos de cálcio e magnésio dissolvidos na água. São durezas que também resistem à ação do sabão, mas não produzem incrustações por serem seus sais muito solúveis na água. Não se decompõem frente à ação do calor, daí a denominação de Dureza Permanente. A dureza é expressa em termos de CaCO_3 em mg L^{-1} (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação das águas quanto à dureza.

CaCO_3 (mg L^{-1})	Classificação
0 – 75	Branda
75 – 150	Moderadamente branda
150 - 300	Dura
> 300	Muito dura

Fonte: Ministério da Saúde de Brasília (2006)¹¹.

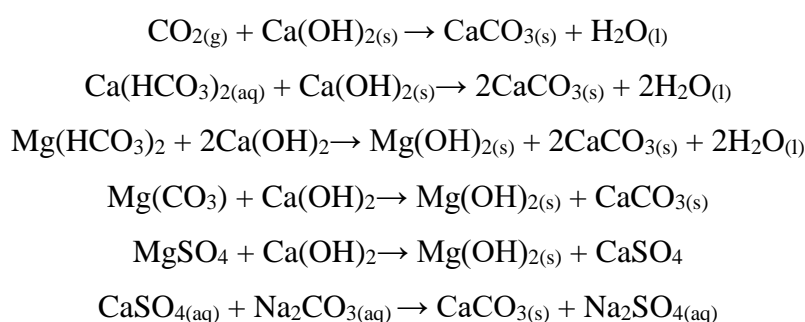
A dureza pode ser um indicador de contaminação das águas subterrâneas por aterros sanitários. A água das chuvas dissolve o CO_2 , originado pela decomposição de matéria orgânica, dissolvendo em seguida, os carbonatos de cálcio e magnésio causadores da dureza.¹²

É imprescindível que os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} não estejam em altas concentrações na água, pois estes participam de reações importantes no organismo. O cálcio está presente nos ossos e dentes, é fundamental no processo de coagulação sanguínea e contribui ainda nas contrações musculares e nos batimentos cardíacos. O magnésio forma íons complexos com as moléculas de ATP, estando presente nas enzimas que controlam a liberação de energia nas células.²

Um grande número de indústrias necessita de água branda, principalmente para o uso em caldeiras, pois do contrário crostas provenientes da precipitação dos íons presentes na água dura geram danos severos aos sistemas. O abrandamento (ou amolecimento) da água consiste na eliminação total ou parcial dos íons cálcio e magnésio existentes, geralmente na forma de sais como carbonatos, sulfatos, cloretos e bicarbonatos. Existem três processos básicos de abrandamento. O processo cal-sodada, o processo fosfato e o processo de troca-iônica.

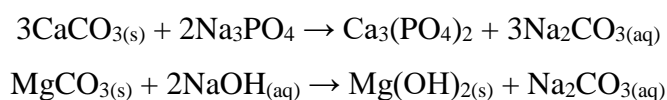
Processo da cal sodada: tem como objetivo promover a eliminação de cálcio e magnésio. O processo consiste em provocar a precipitação desses sais antes que cheguem à caldeira, para evitar as incrustações que podem ocorrer nas regiões com altas temperaturas.

Pode-se obter esse intento ajustando-se quimicamente a água de modo a favorecer a formação de sais insolúveis como CaCO_3 e $\text{Mg}(\text{OH})_2$, sendo esses facilmente separados através do uso de um filtro. Durante o processo, deve ser considerada uma propriedade incomum desses sais, que é uma diminuição de solubilidade, quando a temperatura da água aumenta. Daí a existência do processo de cal-sodada a frio e a quente. Assim, em temperaturas altas, o processo é mais eficiente. As águas naturais possuem a maior parte de CO_2 dissolvido na forma de bicarbonato (HCO_3^-). A adição de álcalis para elevar o pH acima de 10 converte o bicarbonato em carbonato, que reage com o íon cálcio formando CaCO_3 . O acréscimo de pH também fornece condições para a precipitação do Mg como $\text{Mg}(\text{OH})_2$, como mostram as reações abaixo:¹³



Esse método pode ser aplicado quando a dureza do cálcio é maior que 150 ppm em termos de CaCO_3 , provocando uma redução para 30 ppm a frio e 15 ppm a quente. O método, no entanto, pode não ser eficiente para grandes concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} , quando pode ser necessário se usar um coagulante. As quantidades de solução de hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) e carbonato de sódio (Na_2CO_3), para serem utilizadas, são obtidas através de cálculos estequiométricos utilizando-se as reações acima citadas. Devem ser observadas as seguintes recomendações: para a precipitação dos íons Ca^{2+} e Mg^{2+} , o pH ideal está entre 10 e 11 e, se uma água possui alcalinidade elevada devido à presença de bicarbonatos (HCO_3^-), deve-se usar apenas solução de hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$).

Processo envolvendo fosfato: ao adicionarmos fosfato à água, pode ser reduzida ainda mais a sua dureza total. Essa adição é feita em uma quantidade um pouco maior do que a dureza do cálcio e hidróxido de sódio (NaOH) suficiente para ajustar o pH para 10,5 a 11, de acordo com as reações abaixo:¹⁰



Processo de troca iônica: neste processo são utilizadas resinas que são materiais trocadores de íons. Essas são substâncias sólidas insolúveis que têm a propriedade de, em contato com soluções de eletrólitos, trocar íons de sua própria estrutura com os íons do meio, sem que ocorram mudanças na sua estrutura. Essas resinas, quando saturadas, podem ser

regeneradas e utilizadas novamente. Existem dois tipos de resinas trocadoras de íons: resinas catiônicas (trocadoras de cátions); resinas aniônicas (trocadoras de ânions).¹³

Como funciona o processo da troca iônica - Na troca de cátions durante o tratamento da água, íons carregados positivamente que entram em contato com a resina de troca iônica são trocados por íons carregados positivamente disponíveis na superfície da resina, geralmente o sódio. No processo de troca aniônica, íons carregados negativamente são trocados por íons carregados negativamente na superfície da resina, geralmente cloreto. Vários contaminantes (incluindo nitrato, fluoreto, sulfato e arsênico) podem ser removidos por troca aniônica.

Quando a capacidade de troca da resina se esgota, essa pode ser regenerada devolvendo-lhe os íons que cederam na troca. Isso é feito por meio da circulação de solução adequada que contenha o respectivo íon a ser devolvido. Esse processo pode ser repetido constantemente, quando necessário.¹³

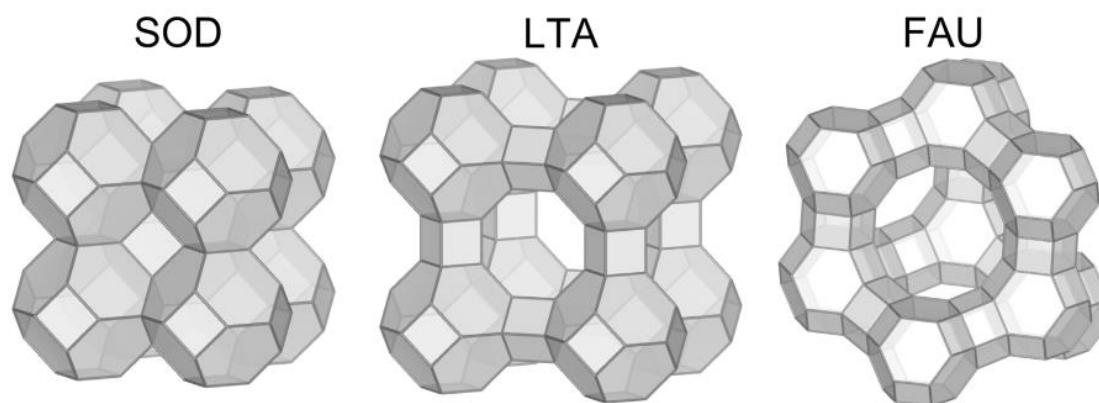
A troca iônica se mostra como um método especialmente atrativo e oferece muitas vantagens tais como baixo custo, elevada seletividade, alta eficiência, baixos teores de resíduos gerados e, principalmente, a possibilidade de regeneração do agente ativo. A escolha do material a ser utilizado no processo de abrandamento via troca iônica aparece como elemento central. Neste sentido, diversos materiais, como zeólitas, adsorventes à base de carbono (carvão ativado, nanotubos de carbono, grafeno), adsorventes magnéticos e outros materiais adsorventes de baixo custo (materiais naturais, resíduos agrícolas e industriais, bem como biopolímeros e hidrogéis), podem ser usados no processo de abrandamento de água dura, e se destacam por serem desenvolvidos com custos relativamente baixos, além de fornecer flexibilidade e simplicidade no projeto, operação e manutenção do processo.¹⁴

3.3 Zeólitas

As zeólitas são aluminossilicatos hidratados que aparecem como minerais na natureza e também como materiais artificiais sintetizados em laboratório (Figura 1). O termo “zeólitas” foi introduzido em 1756 pelo mineralogista sueco Axel Fredrik Crönsted, que descobriu a estilbita. Crönsted observou que, após aquecimento rápido, esse material produzia vapor a partir da água que havia sido adsorvida pelo material. Com base nisso, ele chamou o material de zeólita, do grego ζέω (zēō), que significa "ferver" e λίθος (lithos), que significa "pedra", ou seja, “pedra que ferve”.¹⁵

A formação dos cristais de zeólitas ocorre sob condições hidrotérmicas, em que as unidades de construção primárias são tetraedros TO_4 com um cátion Si^{4+} ou Al^{3+} (átomos T) no centro e quatro átomos de oxigênio nos vértices.¹⁶ Uma rede de compartilhamento de arestas denominados blocos de construção secundários, são formados através da ponte de átomos de oxigênio (O), constituídos por anéis e prismas de vários tamanhos. Essas unidades se combinam para gerar estruturas com uma distribuição regular de poros e cavidades de tamanho molecular com tamanhos de poros variando entre 4–12 Å (Figura 1).¹⁷ Esta porosidade definida pela estrutura cristalina rígida é aberta para o exterior do cristalito sólido permitindo a transferência de massa do exterior para o interior da partícula de zeólita e a difusão intracristalina de moléculas menores que as dimensões do microporo. As zeólitas podem ser classificadas em função do tamanho do poro como zeólitas de poros pequenos, médios e grandes quando as aberturas dos microporos são constituídas por anéis de oito, dez ou doze átomos de oxigênio.¹⁸ Mais de 40 estruturas de zeólita de ocorrência natural são conhecidas, e zeólitas sintéticas são conhecidos na forma de 229 estruturas zeolíticas exclusivas.¹⁹

Figura 1. Estrutura de uma sodalita (SOD), zeólita A (LTA) e de uma zeólita X (FAU).²⁰



Fonte: Rozek, P., Krol, M. Mozgawa, W. (2018).

Zeólitas do tipo A encontram inúmeras aplicações industriais devido às suas propriedades de peneira molecular, troca iônica e adsorção. A zeólita A é principalmente empregada como um aditivo para detergentes usados em limpeza de vestuários. As estimativas do valor de mercado de zeólitas na produção de detergentes, em 2018, foi de U\$ 1,4 bilhão, com previsão de aumento para U\$ 1,8 bilhão, em 2028.²¹

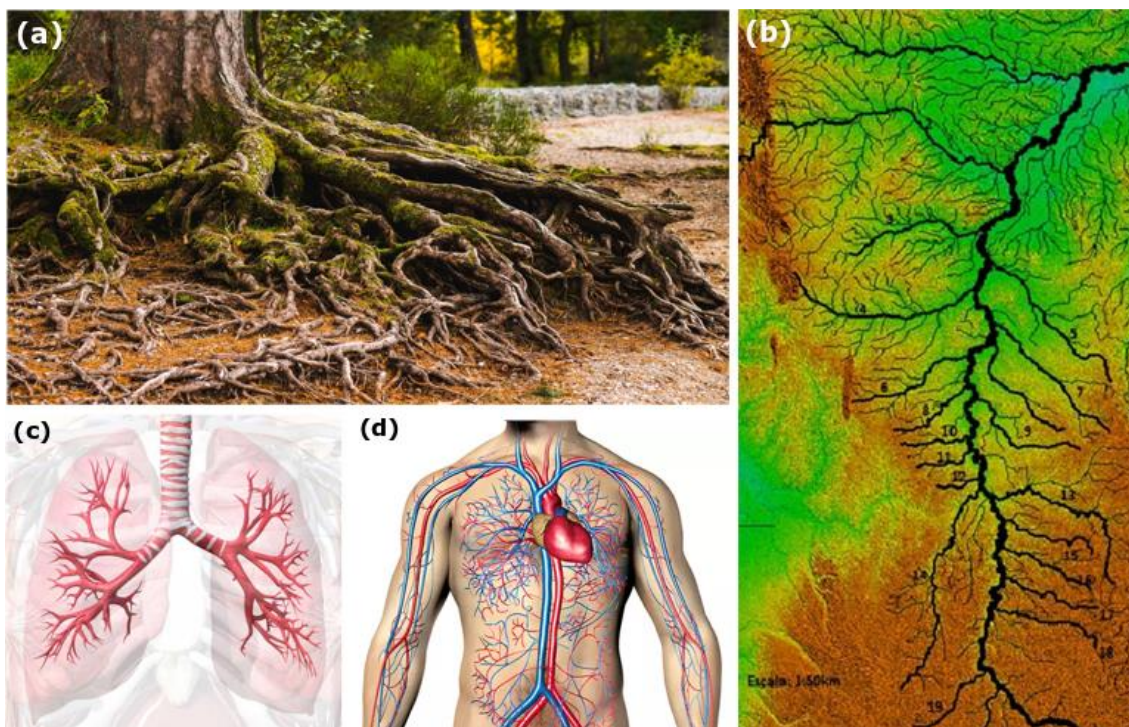
Devido à carga diferente de Al^{3+} e Si^{4+} , o tetraedro TO_4 pode ter uma carga líquida negativa (AlO_4^-) ou pode ser neutro (SiO_4). A consequência da presença de Al^{3+} nas posições da estrutura é o aparecimento de um número equivalente de cargas negativas na estrutura que requerem a presença de cátions de equilíbrio de carga para garantir a eletroneutralidade do sólido. Esses cátions de equilíbrio de carga estão ocupando o espaço do microporo e, como não são enxertados na estrutura e estão ligados à rede por forças Coulômbicas, podem ser total ou parcialmente trocados por cátions diferentes. Esse é, na verdade, o motivo pelo qual as zeólitas são empregadas na composição de detergentes, na função de “abrandadores” de água, para remover íons Ca^{2+} e Mg^{2+} de “águas duras”, por troca iônica com os íons Na^+ .¹⁸ Esses cátions compensadores são introduzidos principalmente durante a síntese das zeólitas e podem ser inorgânicos, tipicamente íons de metais alcalinos, ou orgânicos, como íons de amônio quaternário.

3.4 Hierarquização de estruturas porosas

Algumas características das zeólitas podem ser aprimoradas por meio da hierarquização da sua estrutura. Por ser a zeólita um material em geral produzido na forma de pó, o acesso de moléculas de interesse aos seus microporos, principais sítios de adsorção, muitas vezes é limitado pela própria compactação do material. O processo de hierarquização funciona dispondo a zeólita de tal forma que novos poros, mesoporos, macroporos ou ainda ambos, possam ser gerados. Deste modo, em seu sistema de poros há não somente um, mas vários tipos de poros que vão desde microporos (diâmetros de poros inferiores a 2 nm), passando por mesoporos (diâmetros de poros que compreendem tamanhos entre 2 e 50 nm), até macroporos (tamanhos de poros superiores a 50 nm). A preparação de materiais porosos com arquitetura hierárquica, apresentando características estruturais com dimensões nanométricas até micrométricas, e que apresentem funcionalidades atraentes é certamente um dos novos grandes desafios na área de química de materiais.⁵

O termo “Hierarquia” provém da palavra grega “εραρχα” (hierarchia), que significa “comando de um alto sacerdote” e é usado para descrever uma classificação de itens, ideias, valores, conceitos e organizações.²² A hierarquia está presente em todo o nosso mundo, da natureza à sociedade, como nos sistemas biológicos (de organismos unicelulares simples a órgãos mais complexos, como o pulmão, sistema circulatório sanguíneo, rins, árvores e diatomáceas), sistemas ecológicos (afluentes de rios), na sociedade e organização familiar. O arranjo dos afluentes em um rio evolui para assumir a forma de uma estrutura de árvore (Figuras 2a e 2b). O arranjo de afluentes segue uma hierarquia de primeira, segunda e ordens superiores, com o tributário de primeira ordem sendo tipicamente o menor em tamanho, para um fluxo de água otimizado. Outros exemplos de hierarquia são nossos pulmões e o sistema circulatório sanguíneo (Figuras 2c e 2d). A combinação da larga traqueia de canal único entre o nariz e o pulmão e a grande quantidade de alvéolos pulmonares, que causam um grande aumento da área de superfície do pulmão, é uma construção natural muito eficiente que permite a ambos, transporte rápido com um mínimo de resistência (queda de pressão de menos de 1 bar) e troca rápida e eficaz de oxigênio e CO₂ entre o ar e o sangue. Além disso, o sistema circulatório sanguíneo é um sistema fechado, portanto, exibe um fluxo semelhante no início e no final de cada região de divisão (distribuição hierárquica e coleta hierárquica). O sistema cardiovascular se divide e se funde dependendo da necessidade de transporte rápido do sangue pelo corpo ou da troca eficiente com o tecido. Em geral, os sistemas de organização aplicados ao mundo são organizados hierarquicamente.²³

Figura 2. Exemplos de estruturas hierárquicas naturais: a) raízes de uma árvore, b) afluentes de um rio, c) pulmões e, d) sistema circulatório sanguíneo.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Pesquisas importantes têm se concentrado no desenvolvimento de materiais hierárquicos e o conceito de hierarquia tem sido cada vez mais explorado no design, síntese e aplicações de materiais. A arquitetura porosa hierárquica com sistemas de poros bem organizados e interconectados em diferentes escalas de comprimento, isto é, tamanho de abertura de poros, torna-se relevante para oferecer transferência de massa eficiente e desempenho aprimorado em várias aplicações práticas.²³ Os microporos permitem a seletividade ou confinamento de tamanho/formato, os mesoporos melhoram a acessibilidade aos sítios ativos e transferência de massa e os macroporos promovem a otimização da difusão das moléculas de interesse.²⁴ Tem havido um rápido desenvolvimento de estratégias de síntese para adaptar a arquitetura porosa hierárquica em materiais, como zeólitas, carbonos, óxidos metálicos, polímeros e MOFs (estruturas metálicas-orgânicas), provendo-os de desempenhos significativamente melhorados em armazenamento e conversão de energia, catálise, fotocatalise, adsorção, separação, detecção de gases e biomedicina.²⁴

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Desenvolver materiais porosos hierarquicamente estruturados a partir do crescimento de cristais da zeólita NaA sobre a superfície de fibras de vidro, e realizar estudo da avaliação do seu potencial no processo de abrandamento de água.

4.2 Específicos

- ✓ Preparar e caracterizar suportes à base de sílica com estrutura macroporosa;
- ✓ Promover o tratamento alcalino das estruturas macroporosas, com o intuito de tornar os materiais mais interativos a outras estruturas a base de silício;
- ✓ Sintetizar cristais de zeólitas, incorporando suportes macroporosos a sua mistura reacional, obtendo materiais com estrutura hierarquizada;
- ✓ Aplicar os materiais hierarquizados à base de sílica, no abrandamento de águas duras.

5 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Os materiais hierarquicamente estruturados desenvolvidos neste trabalho baseiam-se na incorporação de cristais de zeólita do tipo NaA, por meio da síntese direta, na superfície de estruturas de vidro, na forma de fibra. Optou-se por vidro devido aos baixos custos associados e a proximidade em termos de composição química. Desse modo, materiais compósitos com um sistema de poros bimodal hierarquizados são gerados a partir da combinação entre os suportes com estruturas macroporosas e a zeólita (microporosa).

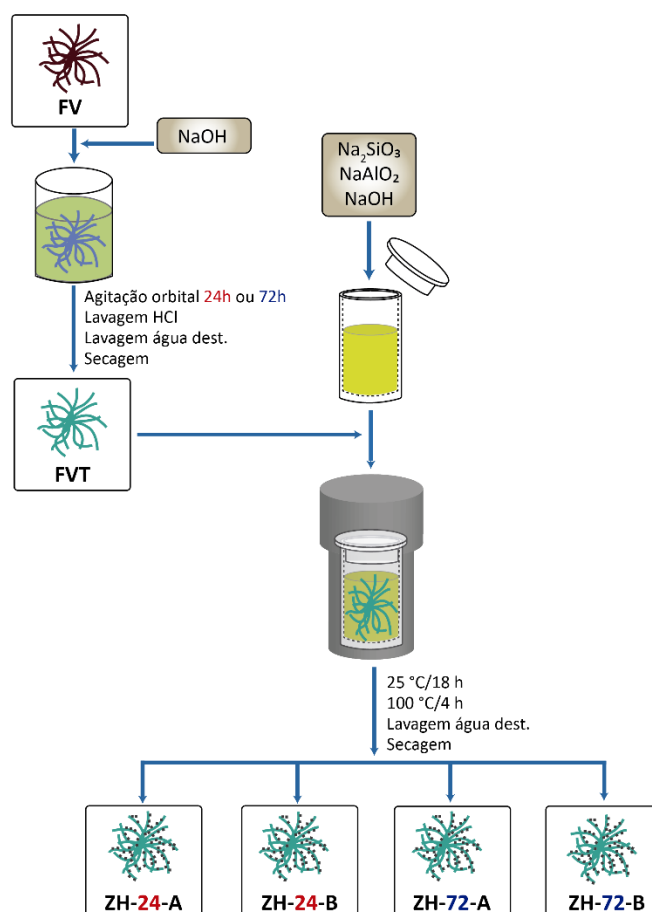
5.1 Síntese da zeólita NaA suportada em fibra de vidro

Fibra de vidro (FV) (Synth, 99,5 % de SiO₂) foi utilizada como suporte para síntese da zeólita NaA. A fibra foi inicialmente submetida a tratamento alcalino objetivando a geração de rugosidade para, assim, direcionar a nucleação de zeólita e seu subsequente crescimento sobre a superfície da primeira. O procedimento consistiu na imersão de 10,0 g do material FV em 100,0 mL de solução de NaOH 4,0 mol L⁻¹, utilizando frasco de polipropileno, e agitação orbital moderada (200 rpm) durante períodos de 24,0 h ou 72,0 h. Após o tratamento alcalino, os materiais ativados foram lavados primeiro com solução de HCl 1,0 mol L⁻¹ (2×), depois com água destilada (2×) e, em seguida, seco em estufa a 80,0° C por 24h. Os materiais obtidos, isto é, as fibras de vidro ativadas, foram identificados como FVA-24 e FVA-72, de acordo com os tempos utilizadas no tratamento de 24,0 h e 72,0 h, respectivamente.

Os materiais de fibras ativadas foram submetidos a tratamento hidrotérmico na presença de diferentes quantidades de uma solução precursora. Para a preparação da solução precursora, 7,16 g de Na₂SiO₃ (Sigma-Aldrich, 50-53% de SiO₂) foram dissolvidos em 35,0 mL de NaOH 0,21 mol L⁻¹, usando um béquer de polipropileno, e em outro béquer 5,00 g de NaAlO₂ (Sigma-Aldrich, 50-56% de Al₂O₃) foram dissolvidos em 35,0 mL de NaOH 0,21 mol L⁻¹. A mistura dessas duas soluções resultou na solução precursora. Em seguida, 8,0 g de fibra ativada (FVA-24 e FVA-72) foram acondicionadas em um reator de Teflon, com capacidade de 72,0 mL, juntamente com a solução precursora com o volume do reator completo (sistema A) ou pela metade (sistema B). Em ambos os casos, as fibras de vidro ficaram totalmente submersas na solução. O reator foi confinado em autoclave de aço inox, mantido em repouso a 25,0 °C por 18,0 h e, em seguida, aquecido a 100 °C por 4 h, em estufa. Após resfriamento, o material obtido foi removido do reator, lavado com água destilada e centrifugado a 4000 rpm (processo repetido 7 vezes, com intuito de reduzir a alcalinidade do meio). Cristais de zeólita que foram gerados sem estarem incorporados às fibras foram

removidos usando-se jatos de água sobre as amostras, dispostas em uma peneira que foi usada com anteparo. Os materiais obtidos foram denominados de ZH-24-A, ZH-24-B, ZH-72-A e ZH-72-B e uma representação esquemática do processo de síntese é apresentado na Figura 3.

Figura 3. Representação simplificada dos procedimentos para a preparação das zeólitas hierárquicas.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

5.2 Caracterização dos materiais

5.2.1 Fluorescência de raios-X

A análise por fluorescência de raios-X se baseia na medição das intensidades dos raios-X característicos emitidos pelos elementos que constituem a amostra, quando excitada por partículas como elétrons, prótons ou íons produzidos em aceleradores de partículas, por ondas eletromagnéticas, ou pelo processo mais utilizado, que é através de tubos de raios-X.²⁵

Para a determinação da composição química dos materiais deste estudo, foram realizadas medidas de fluorescência de raios-X, utilizando espectrômetro de raios-X de dispersão de comprimento de onda (WDX) sequencial da Rigaku, modelo ZSX mini II,

operando a 40 kV e 1,2 mA, com tubo de Pd, capaz de produzir análises semiquantitativas dos elementos de número atômico maior ou igual ao do elemento flúor, até o elemento urânio.

5.2.2 Difração de raios-X

As medidas de difração de raios-X foram conduzidas em difratômetro para amostras policristalinas modelo X-Pert PRO MPD-Panalytical, com radiação de Co-K α proveniente de tubo de cobalto operado com foco linear a 40,0 kV e 40,0 mA. Os difratogramas foram obtidos no intervalo de $2\theta = 5,0-50,0^\circ$ e tempo de contagem de 67,0 s. A identificação de fases cristalinas foi realizada com auxílio do software X-Pert HighScore Plus (Panalytical), e do banco de dados do ICSD, através do PDF2 2003.

5.2.3 Microscopia eletrônica de varredura

Análises de microscopia eletrônica de varredura foram realizados em microscópio Quanta FEG, modelo 450-FEI, utilizando feixe de elétrons com aceleração de 20,0 kV detectores de elétrons secundários e de energia dispersiva de raios X. As amostras foram preparadas em suportes de alumínio utilizando fita de carbono dupla-face e metalizadas com uma fina camada de ouro (aproximadamente 20 nm) em equipamento Quorum Q150T ES.

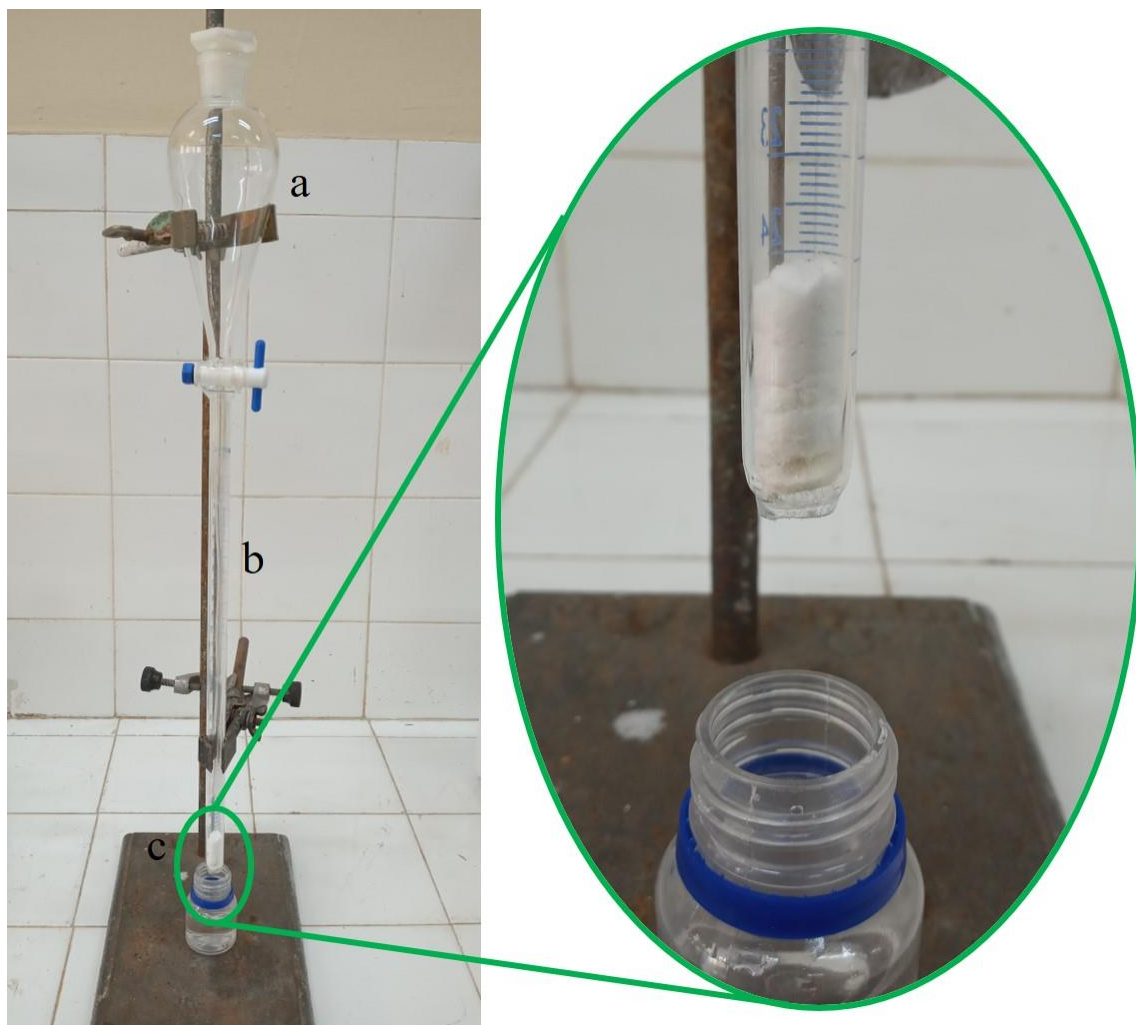
5.2.4 Espectroscopia na região do infravermelho

Análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho foram realizadas com todos materiais sintetizados, bem como com os suportes de vidro sem tratamento alcalino ou zeólita incorporada. As análises foram realizadas com os materiais dispersos em KBr, na forma de pastilhas, em equipamento Shimadzu, modelo IRTracer-100, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} .

5.3 Ensaios de abrandamento

Um sistema em coluna foi montado para a realização dos ensaios de abrandamento. A fibra de vidro recoberta com a zeólita NaA foi acondicionada em coluna de vidro de borossilicato (Figura 4) através da qual se passou solução de Ca^{2+} 100,0 mg L^{-1} .

Figura 4. Sistema de gotejamento usado durante o experimento de abrandamento de água. A solução contendo íons Ca^{2+} , foi adicionada no funil de separação (a), e gotejada pela coluna (b) contendo a zeólita hierárquica (c).



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Para determinar as concentrações de íons Ca^{2+} e Mg^{2+} , em solução, foi utilizado o método da volumetria de complexação, no qual é feita a titulação com EDTA, após a amostra ter sido tamponada em pH 10, usando um indicador adequado a cada método titulométrico (Eriocromo T para determinação de Dureza Total e Murexida para determinação de íons Ca^{2+}).

Para o estudo da influência da massa de zeólita hierárquica, foram utilizadas colunas (10 mm de diâmetro, 300 mm de altura) contendo 25,0; 50,0; 75,0; 100,0; 200,0; 300,0; 400,0 e 500,0 mg do material. A cada coluna passou-se alíquotas de 100,0 mL da solução de Ca^{2+} 100,0 mg L^{-1} , sob fluxo de 1,0 mL min^{-1} , em triplicata. O efeito do pH na adsorção de íons cálcio foi avaliado ajustando-se o pH para 3,0; 5,0; 7,0 ou 9,0. Nesses experimentos, foram eluídas alíquotas de 100 mL da solução de Ca^{2+} 100 mg L^{-1} , fazendo-se coletas de 5,0 mL após o fluxo.

Para o estudo da capacidade de regeneração do suporte, foi feita a passagem de alíquotas de 20,0 mL da solução de Ca^{2+} 100,0 mg L⁻¹ em 500,0 mg do material zeolítico. Ao término de cada fluxo, foi realizada regeneração por meio da passagem de 100,0 mL de uma solução de NaCl 1000,0 mg L⁻¹ e de e 50,0 mL de água bidestilada. Ao todo, foram feitas 9 regenerações, totalizando 10 ciclos de abrandamento.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização

Os resultados de caracterização dos materiais hierárquicos zeolíticos são apresentados e discutidos a seguir. Mais adiante serão discutidos os resultados obtidos durante a avaliação da aplicabilidade desses materiais no abrandamento de água por meio de processo em fluxo.

6.1.1 Fluorescência de raios-X

As composições dos materiais objeto desse estudo são mostradas na Tabela 2. Os resultados são apresentados na forma equivalente de óxidos.

Tabela 2. Composição química dos materiais, em porcentagem em massa, determinada por fluorescência de raios-X.

Óxido/Amostra	FV	ZH-24-A	ZH-24-B	ZH-72-A	ZH-72-B	Zeólita A
Al₂O₃	1,63	18,35	19,05	22,29	17,6	30,22
SiO₂	82,26	78,74	78,30	75,27	78,23	55,25
Na₂O	6,97	-	-	-	-	14,53
MgO	4,44	-	-	-	-	-
Cl	0,16	-	0,14	-	0,75	-
K₂O	2,63	1,65	1,83	1,82	2,07	-
Fe₂O₃	1,5	1,2	0,68	0,56	1,33	-

Fonte: elaborado pelo autor (2021)

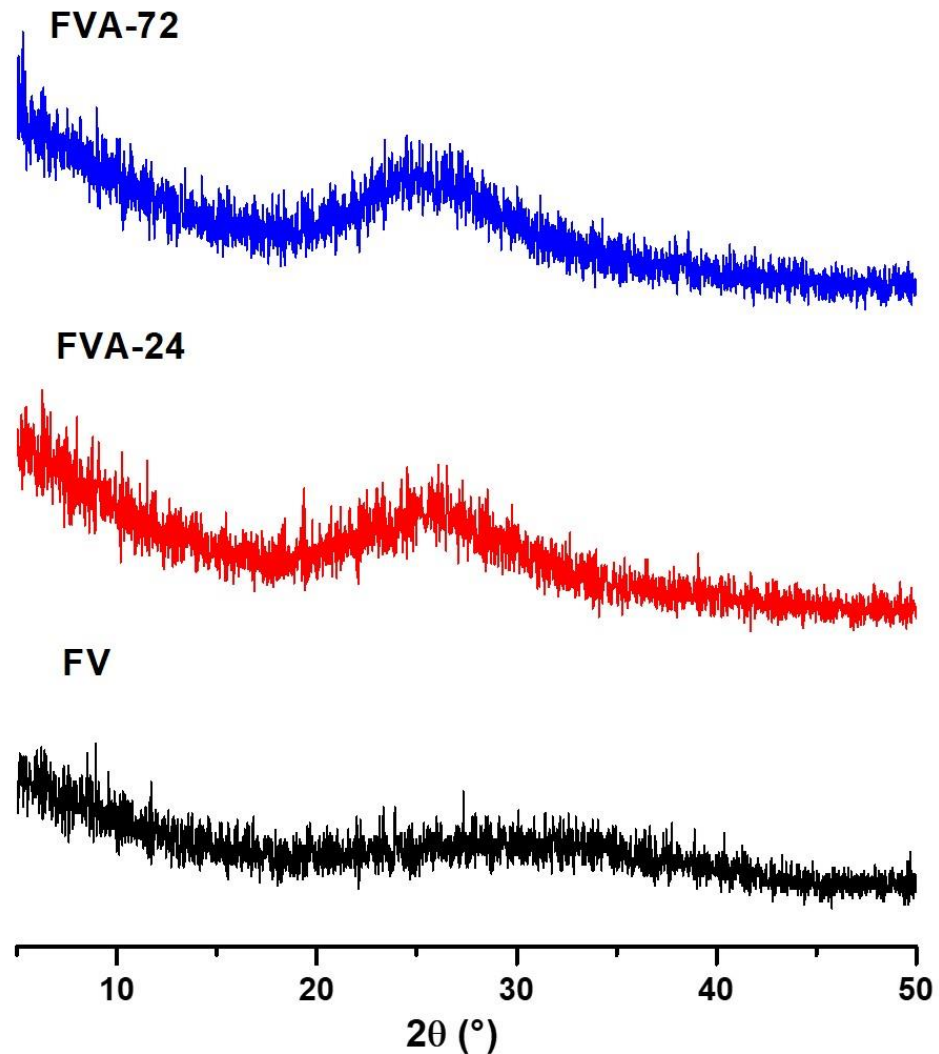
A fibra de vidro (FV) apresenta como componente majoritário o óxido de silício. Convém ressaltar que a conversão para a forma de óxido é uma prática comum em medidas de fluorescência de raios-X, não significando que seja essa a forma presente na amostra. Contudo, este formato permite avaliar mudanças composicionais relacionadas à formação (ou não) das fases de interesse. As amostras de materiais zeolíticos apresentam teores elevados de óxido de alumínio na sua composição, o que é um forte indicativo da formação de zeólita. Quando se compara a quantidade de alumínio e silício entre a amostra de zeólita pura e a amostra ZH-72-A, por exemplo, e admitindo-se que quase a totalidade do alumínio faz parte da estrutura da zeólita, é possível estimar que a quantidade de zeólita na amostra final, portanto, incorporada à superfície da fibra de vidro, aproxima-se de 50%, em massa. Além disso, observa-se a

inexistência de compostos que possam estar associados à formação de impurezas, exceto alguns elementos já presentes na fibra de vidro.

6.1.2 Difração de raios X

O tratamento alcalino da fibra de vidro teve por objetivo modificar sua superfície gerando rugosidade que pudesse favorecer a nucleação e subsequente crescimento da zeólita NaA, incorporando-a na superfície do suporte, composto essencialmente por sílica. Os difratogramas de raios-X dessas amostras (Figura 5) demonstram que o tratamento alcalino não promoveu alterações estruturais nas características já amorfas dos materiais, não havendo nesse processo, portanto, a formação de fases cristalinas.

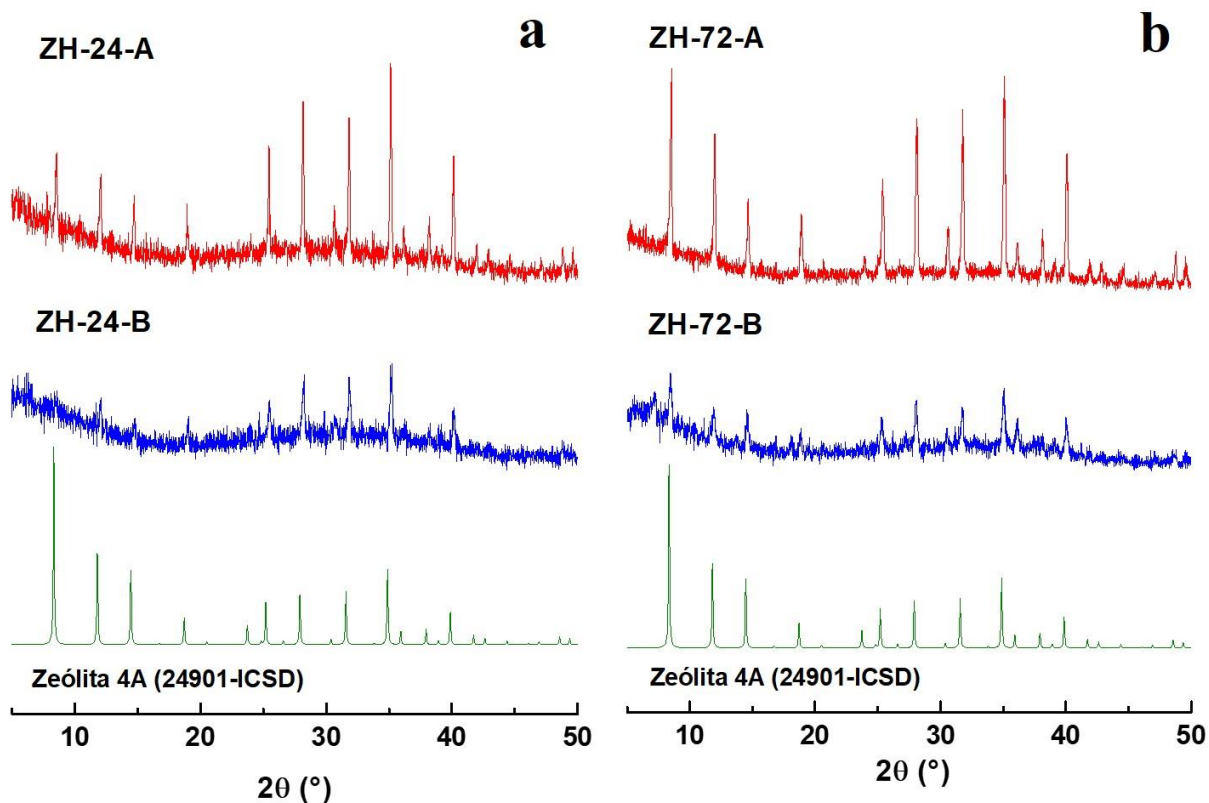
Figura 5. Difratogramas dos materiais de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Os difratogramas de raios-X das amostras ZH-24A e ZH-24B, obtidas a partir das fibras submetidas a tratamento alcalino de 24 h, são apresentados na Figura 6. Em ambas as amostras são observados picos condizentes com a zeólita NaA, identificadas pela microficha do banco de dados ICSD 24901, porém, a amostra preparada com menor quantidade de reação precursora (ZH-24B) apresenta picos menos intensos que o observado para a amostra sintetizada com maior volume da solução precursora (ZH-24A), o que sugere menor quantidade de cristais de zeólita sobre a superfície da sílica amorfa (fibra de vidro).

Figura 6. Difratogramas dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A e ZH-24-B (a) ZH-72-A e ZH-72-B (b).



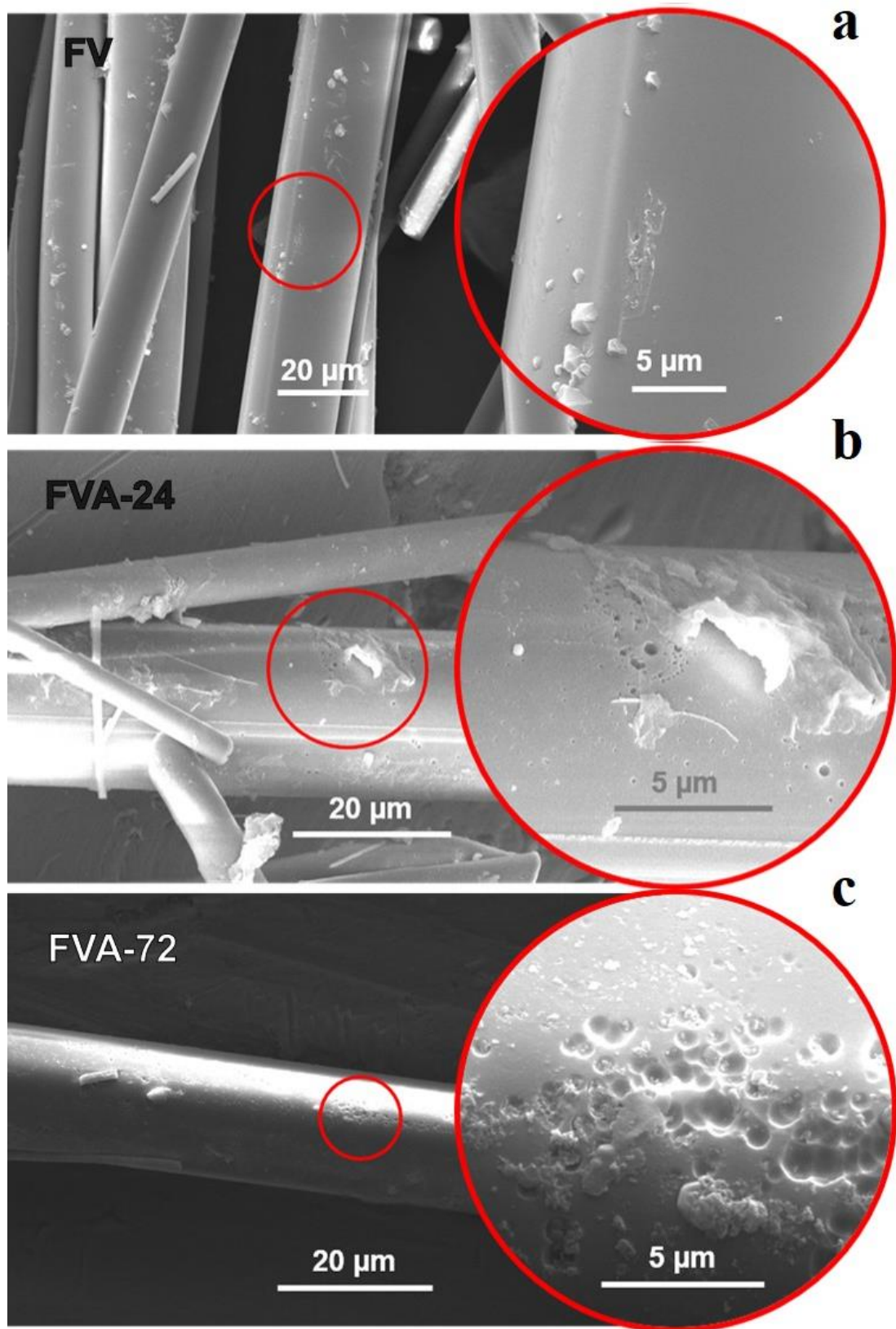
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Os difratogramas de raios X das amostras ZH-72-A e ZH-72-B (Figura 4a) apresentam picos característicos da zeólita NaA e mais intensos que os observados para as amostras preparadas a partir das fibras submetidos ao tratamento alcalino de 24 h. Além disso, é importante mencionar que não foram observados picos de difração relacionadas a outras cristalinas, um forte indicativo de eficiência das sínteses.

6.1.3 Microscopia eletrônica de varredura

As micrografias da fibra de vidro são mostradas na Figura 6. Por meio das micrografias das amostras de fibra de vidro (Figura 7a) é possível verificar que a fibra de vidro sem tratamento (amostra FV) apresenta uma superfície predominantemente lisa e com textura uniforme, enquanto a exposição ao meio básico dá origem a deformações superficiais, isto é, uma rugosidade discreta que é percebida na forma de pequenas crateras na amostra FVA-24 (Figura 7b) e que se torna mais evidente na amostra FVA-72 (Figura 7c), cujo tempo de contato com a solução de NaOH foi maior.

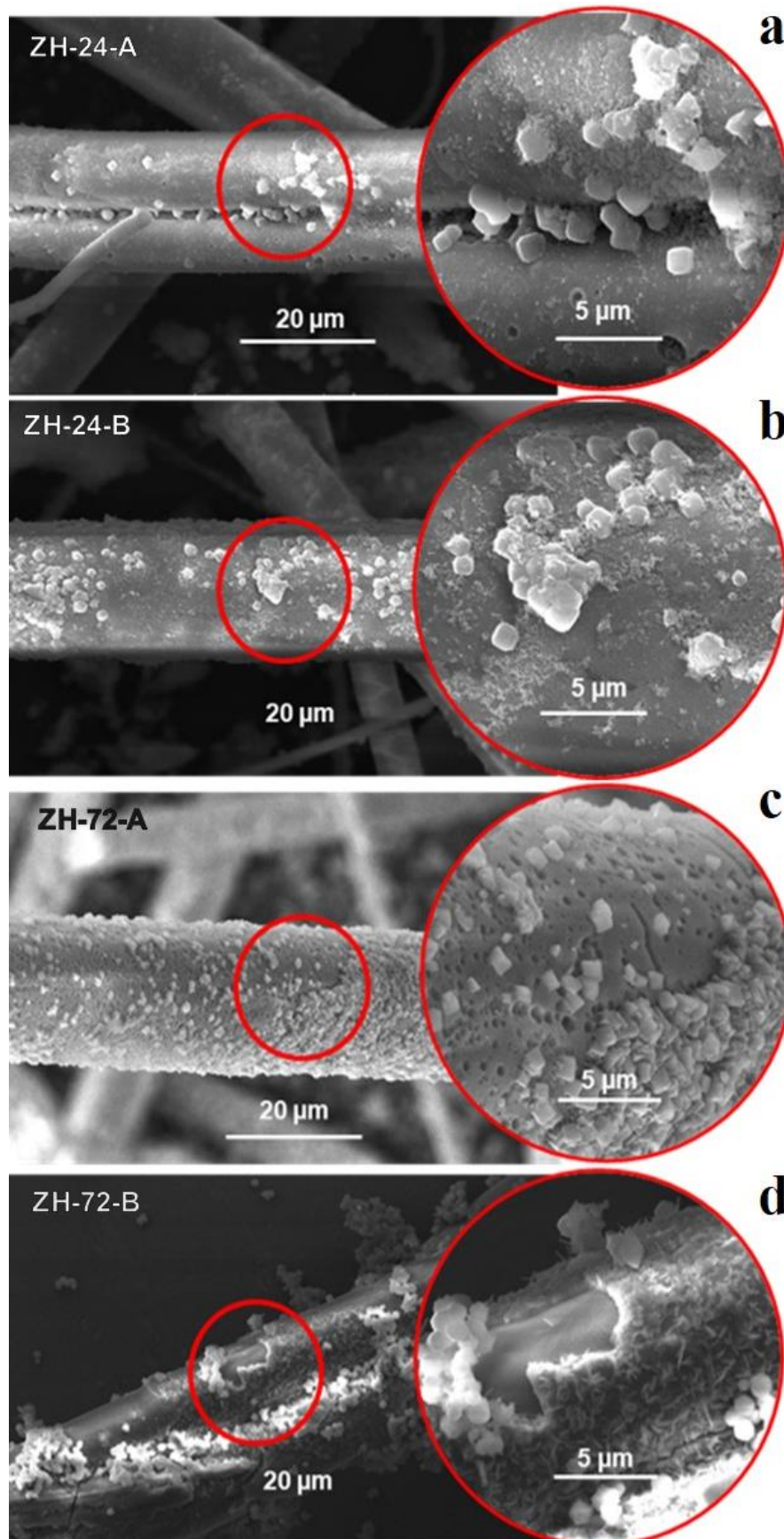
Figura 7. Micrografias das amostras de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

As micrografias para essas duas amostras são mostradas na Figura 8, na qual é possível observar facilmente a formação de cristais com hábito cúbico sobre a superfície da fibra de vidro, com prevalência em regiões com rugosidade ou com falhas aparentes. Para essas amostras, não é possível identificar diferença apreciável quanto a influência do meio reacional (A ou B) em relação a eficiência da síntese dos cristais zeolíticos uma vez que a formação desses se mostra muito semelhante nas duas amostras.

Figura 8. Micrografias dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A (a), ZH-24-B (b), ZH-72-A (c) e ZH-72-B (d).



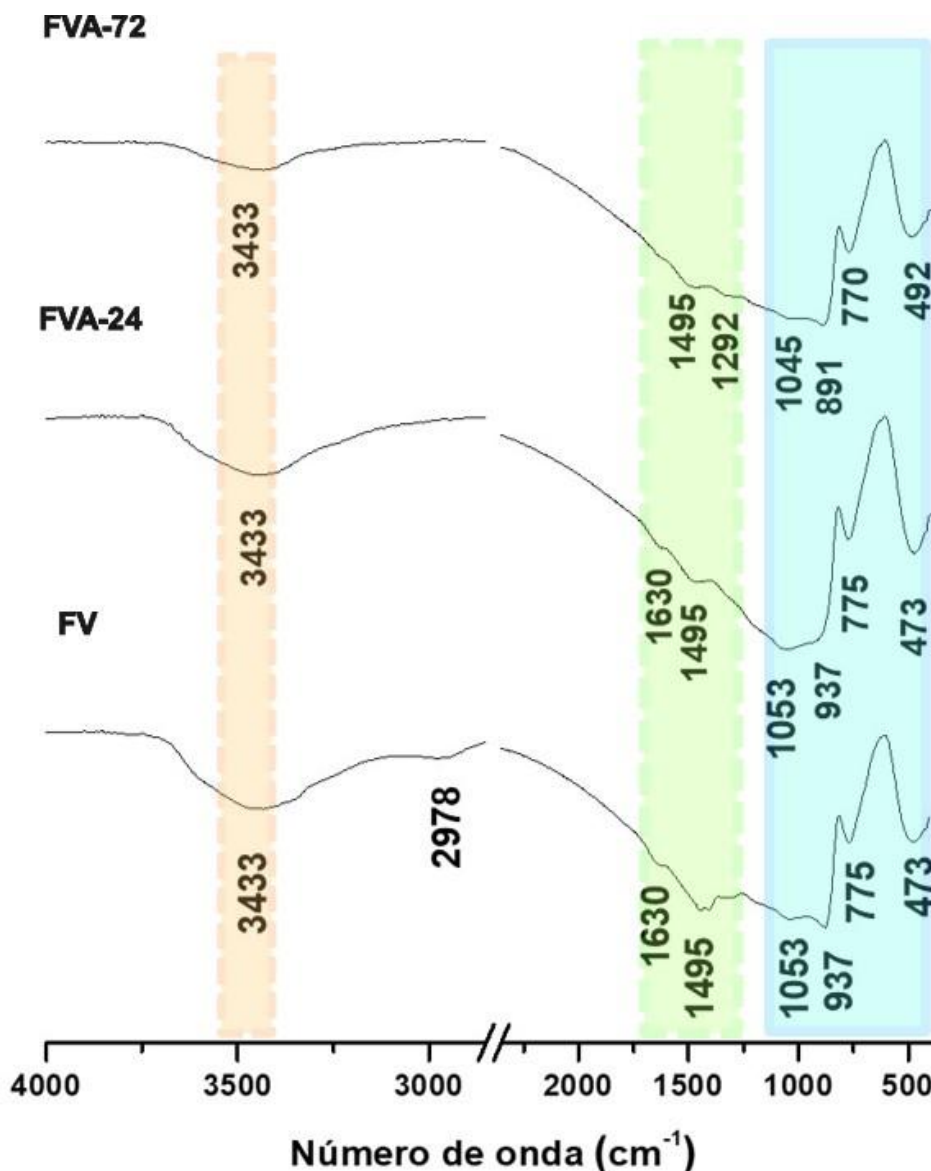
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

As micrografias das amostras ZH-72-A e ZH-72-B (Figuras 8c e 8d) permitem observar os cristais cúbicos da zeólita NaA, como apontado nos resultados de DRX, formando uma camada relativamente coesa sobre a superfície da fibra de vidro. Uma propriedade importante observada, e que é desejável, diz respeito ao favorecimento da cristalização da zeólita nas rugosidades da fibra de vidro, fazendo com que os cristais zeolíticos se mantenham ligados ao suporte e, ao mesmo tempo, não se distribuam de forma aglomerada. Essas características são especialmente relevantes para o processo de abrandamento da água, pois maximiza o contato entre os íons Ca^{2+} presentes na água dura a ser tratada e os cristais da zeólita.

6.1.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Nas análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho das amostras FVA-24 e FVA-72, cujos espectros são mostrados na Figura 9, destacam-se as bandas centradas em 1053, 775 e 473 cm^{-1} , para a amostra FVA-24, e as bandas 1045, 770 e 492 cm^{-1} , para a amostra FVA-72, as quais correspondem à ligação Si–O–Si dos silicatos que compõem a estrutura das fibras de vidro.

Figura 9. Espectros de infravermelho das amostras de fibra de vidro antes do tratamento alcalino (FV) e das amostras de fibra de vidro após tratamento alcalino de 24h e 72h.

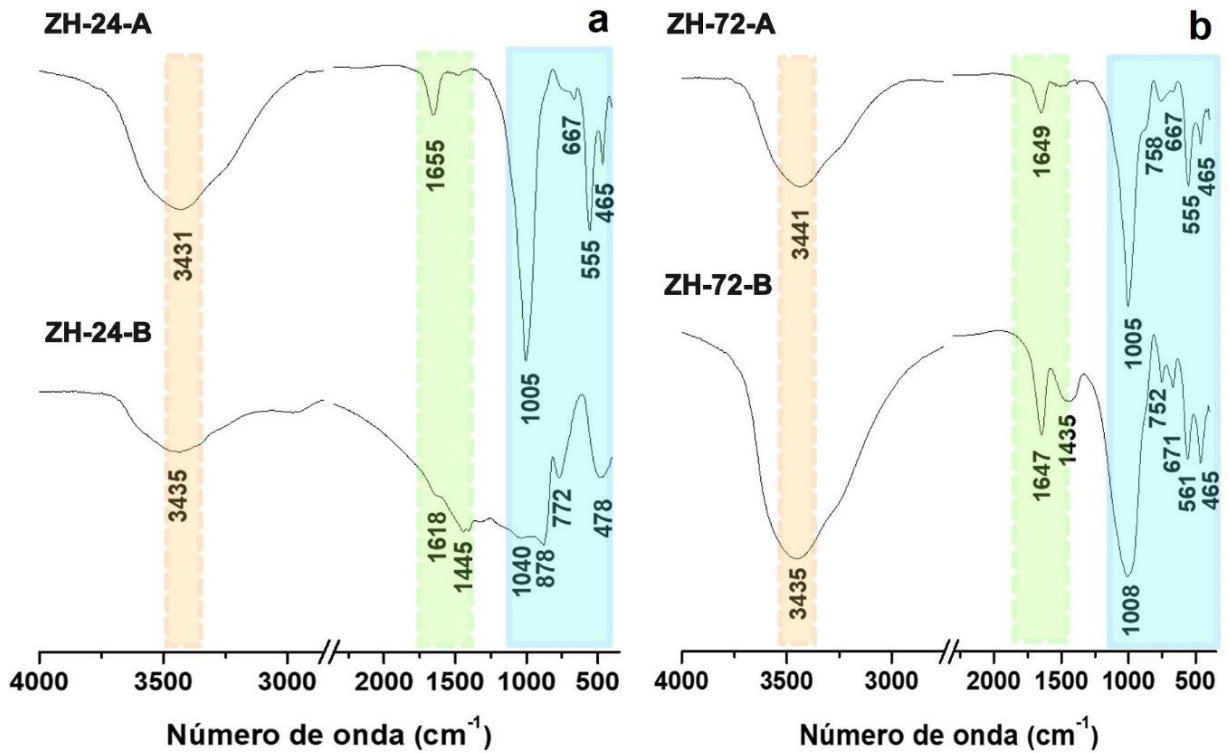


Fonte: elaborado pelo autor (2021).

As análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho fornecem informações que auxiliam na avaliação estrutural dos materiais obtidos, servindo como uma importante técnica complementar à difração de raios X. O espectro de infravermelho da amostra ZH-24-A (Figura 10a) apresenta um conjunto de sinais intensos característicos da zeólita NaA. As bandas em 3431 e 1655 cm^{-1} referem-se ao estiramento simétrico da ligação O–H de moléculas de água ou de grupos silanois.²⁶ A banda intensa em 1005 cm^{-1} é atribuída ao estiramento assimétrico da ligação (Si,Al)–O, enquanto a banda discreta em 667 cm^{-1} diz respeito ao estiramento simétrico da ligação (Si,Al)–O.^{27; 28; 29} A banda em 555 cm^{-1} é relacionada ao anel duplo de quatro membros (4DR) que conecta as unidades sodalita, e a banda em 465 cm^{-1} refere-se às ligações Si–O–Al.³⁰ Estes sinais mostram-se com uma forte evidência

da formação da zeólita A. Embora algumas dessas bandas sejam visíveis no espectro da amostra ZH-24-B, elas apresentam intensidades consideravelmente menores e, além disso, outras bandas estão presentes, apontando uma formação limitada da zeólita NaA nesta amostra.

Figura 10. Espectros de Infravermelho dos materiais hierárquicos zeolíticos ZH-24-A e ZH-24-B (a) ZH-72-A e ZH-72-B (b).



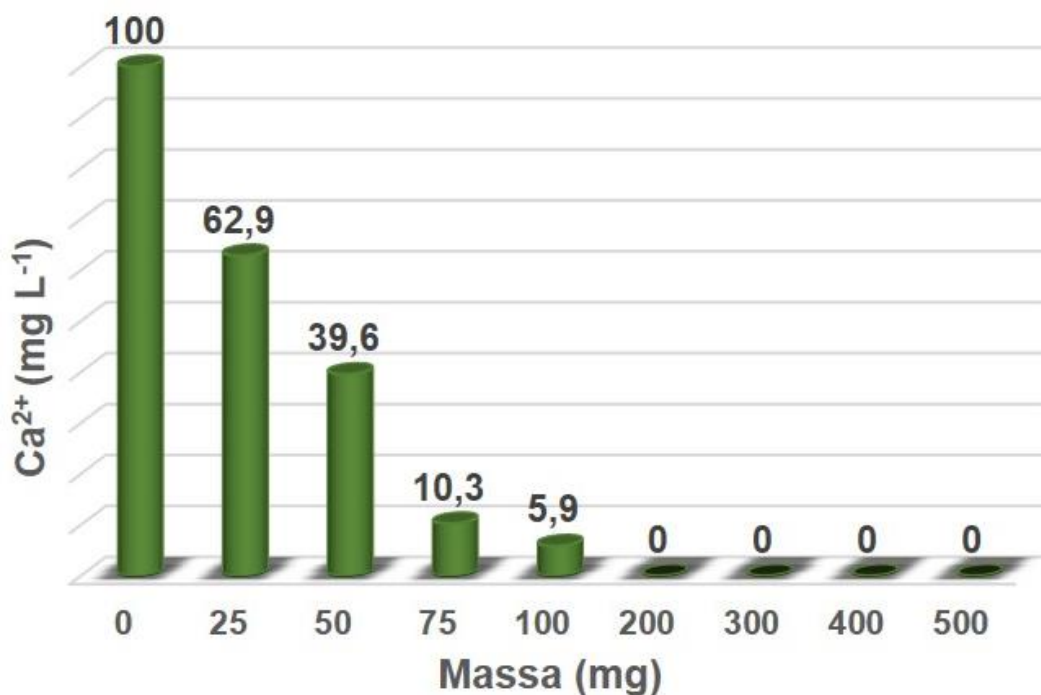
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Os espectros do IV, em particular da amostra ZH-72-A (Figura 10b), mostram sinais intensos e coerentes com a zeólita NaA, como já discutido para as outras amostras.

6.2 Ensaios de Abrandamento

Tendo em vista os resultados observados para a amostra ZH-72-A, com a zeólita A apresentando cristais com tamanhos regulares e recobrindo de forma razoavelmente satisfatória o suporte de vidro, esta amostra foi escolhida para os ensaios de abrandamento. Na Figura 11 são apresentados os resultados dos ensaios de abrandamento em função da massa do material hierárquico. O material mostrou-se eficiente no processo de abrandamento e, como esperado, apresentou aumento na eficiência de remoção de íons Ca²⁺ com o aumento da massa de material zeolítico utilizado, com abrandamento completo sendo atingido a partir de 200,0 mg.

Figura 11. Efeito da variação de massa da amostra ZH-72-A nos ensaios de abrandamento.

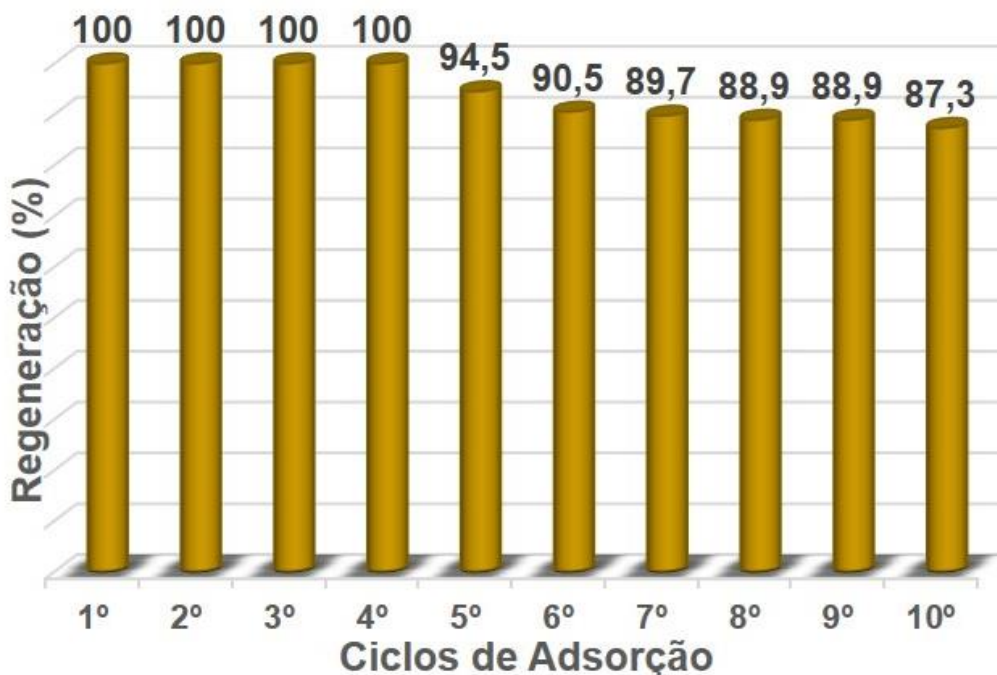


Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Considerando-se os resultados apresentados na Figura 11, a capacidade de remoção para íons Ca^{2+} é estimada em 10 mg por g de material zeolítico. Como aproximadamente metade da massa do material zeolítico é de fato a zeólita A, conforme previsto nas análises de fluorescência de raios X, a capacidade de remoção para íons Ca^{2+} se aproxima de 20 mg por g de zeólita. Esse valor é um pouco abaixo dos valores observados em outros trabalhos que fizeram uso da zeólita A na forma de pó,^{27; 31; 30; 32; 33} o que de certo modo é esperado já que os cristais zeolíticos dos materiais aqui apresentados se encontram integrados à superfície da fibra de vidro e, portanto, têm parte da sua superfície inacessível. Contudo, a praticidade advinda da possibilidade de se usar um sistema em fluxo pode compensar essa diferença.

Outra propriedade importante para um agente de abrandamento é sua capacidade de regeneração e reuso. Nesse sentido, foram realizados ensaios de regeneração percolando-se uma solução Na^+ ($1000,0 \text{ mg L}^{-1}$) através da coluna contendo o material zeolítico. É sabido que soluções com alta concentração deste íon (cerca de $10\times$ a concentração de Ca^{2+}) apresenta potencial para substituir os íons Ca^{2+} então retidos na estrutura da zeólita, reativando-a para o processo de abrandamento.³³ A Figura 12 mostra a eficiência de regeneração e reuso da coluna em alíquotas de $20,0 \text{ mL}$ da solução de Ca^{2+} $100,0 \text{ mg L}^{-1}$, usando $500,0 \text{ mg}$ do material zeolítico, em sucessivos ciclos.

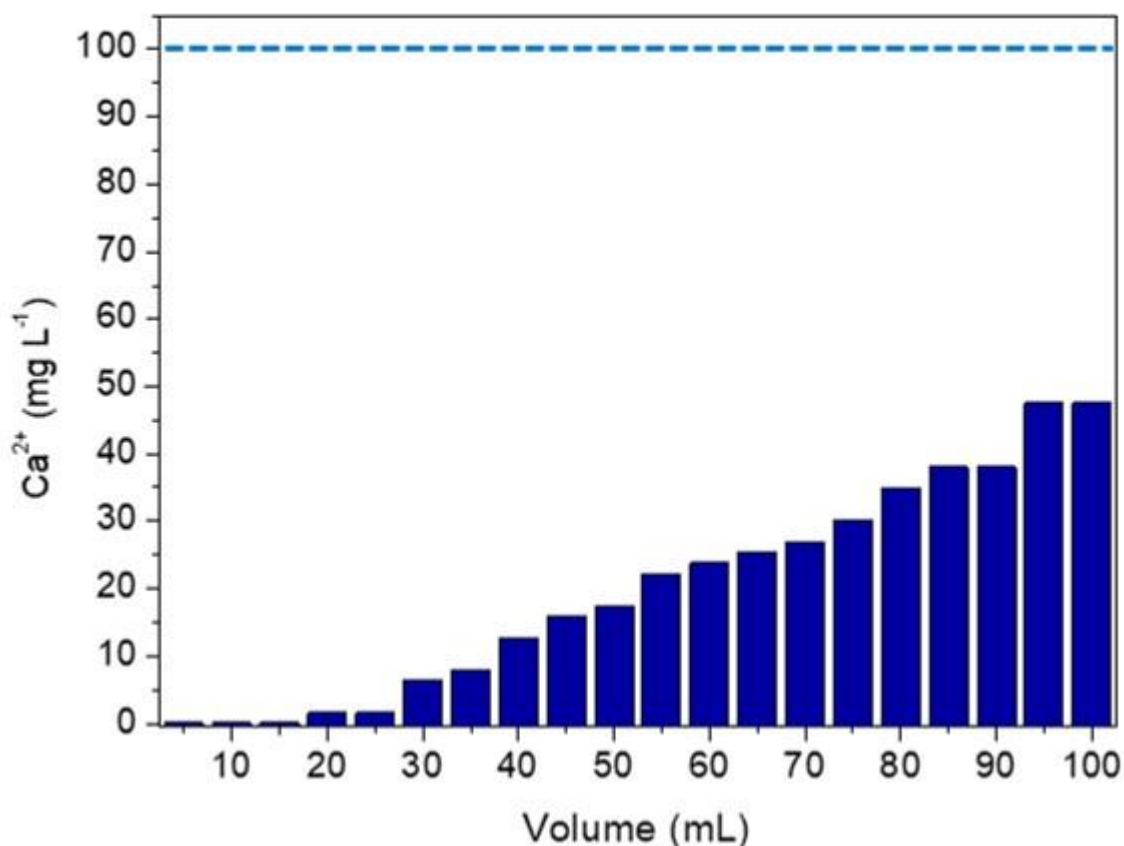
Figura 12. Desempenho dazeólita hierárquica ZH-72-A no processo de abrandamento em sucessivos ciclos de regeneração.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Nos primeiro quatro ciclos, os processos de regeneração levaram ao abrandamento total da água utilizada, apresentando uma ligeira queda a partir do quinto ciclo, com abrandamento de 94,5% da água. Observou-se uma queda contínua na eficiência, porém pequena, nos ciclos seguintes até o décimo ciclo, no qual a eficiência foi de 87,3%. Esse decréscimo na eficiência está possivelmente associado à lixiviação de cristais de zeólita provocada pela solução em fluxo. Entretanto, tal decréscimo pode ser considerado aceitável considerando-se a quantidade de ciclos avaliados. A Figura 13 mostra os resultados da concentração remanescente de Ca^{2+} após tratamento, sob fluxo contínuo, na coluna contendo a amostra ZH-72-A (500,0 mg), com a coleta de alíquotas de 5,0 mL. Observa-se que conforme a solução de Ca^{2+} passa através da coluna, o teor de Ca^{2+} remanescente aumenta, indicando a saturação crescente do material zeolítico. Com a passagem do volume total de 100,0 mL de solução de Ca^{2+} 100 mg L⁻¹, verificou-se uma concentração remanescente de 46 mg L⁻¹, o que corresponde, para esse volume, a uma capacidade de abrandamento de 54%.

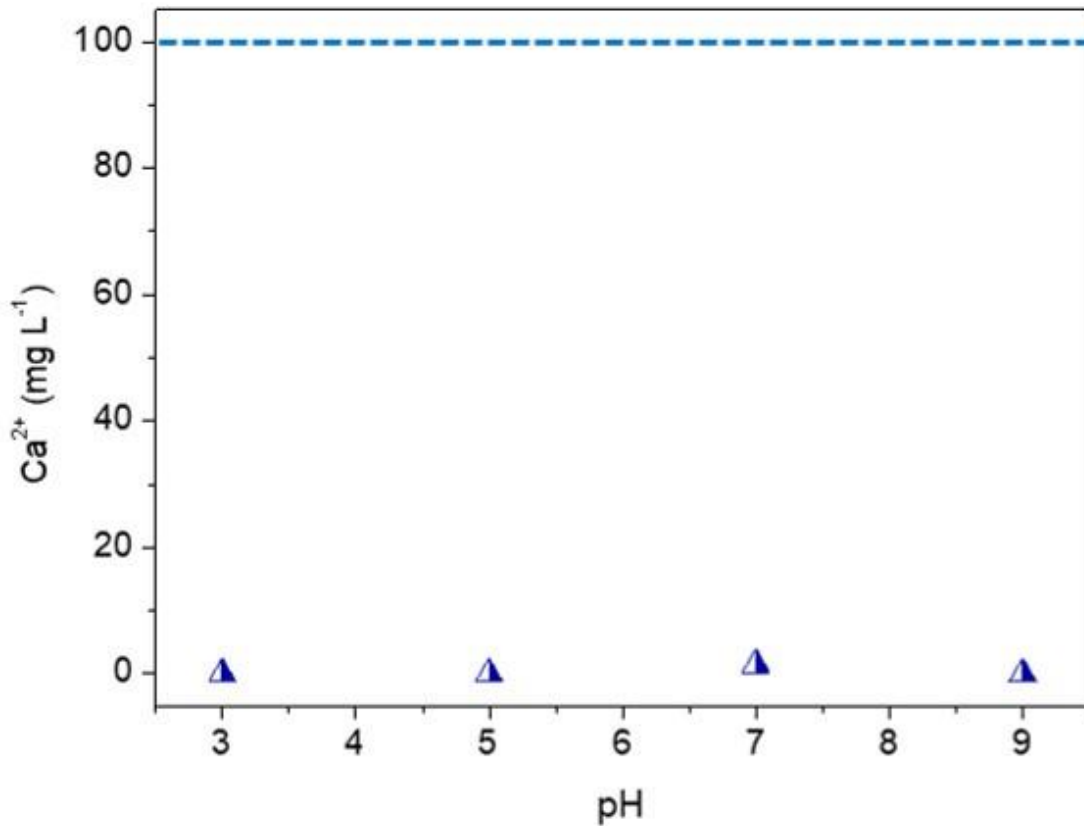
Figura 13. Concentração de Ca^{2+} após passagem de solução de Ca^{2+} $100,0 \text{ mg L}^{-1}$ por coluna de zeólita hierárquica.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

A avaliação do efeito do pH sobre a eficiência da amostra de zeólita hierárquica mostra-se relevante considerando as diferentes condições encontradas para amostras reais, notadamente águas de poço que se apresentam em uma faixa ampla de pH.³⁴ A influência do pH sobre a eficiência da amostra ZH-72-A como abrandador foi estudada em valores de pH de 3,0, 5,0, 7,0 e 9,0. As concentrações remanescentes de Ca^{2+} após a passagem das respectivas soluções pela coluna são apresentadas na Figura 14, para cada valor de pH. Observa-se uma completa remoção dos íons Ca^{2+} para o volume de solução tratado (20,0 mL) considerando-se os quatro valores de pH analisados, o que implica em não haver variação na eficiência do processo de abrandamento, com elevada eficiência do material zeolítico independentemente do pH estudado.

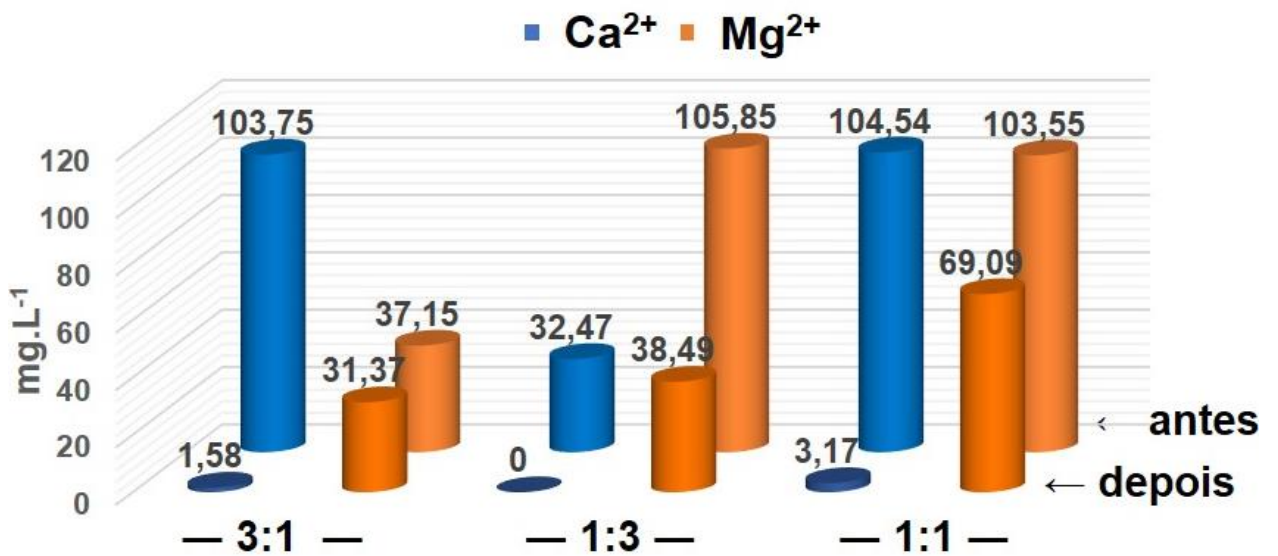
Figura 14. Efeito do pH da solução no desempenho da amostra ZH-72-A no abrandamento.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Os resultados de abrandamento utilizando soluções contendo Ca²⁺ e Mg²⁺, assim como das amostras de poço são apresentados na Figura 14.

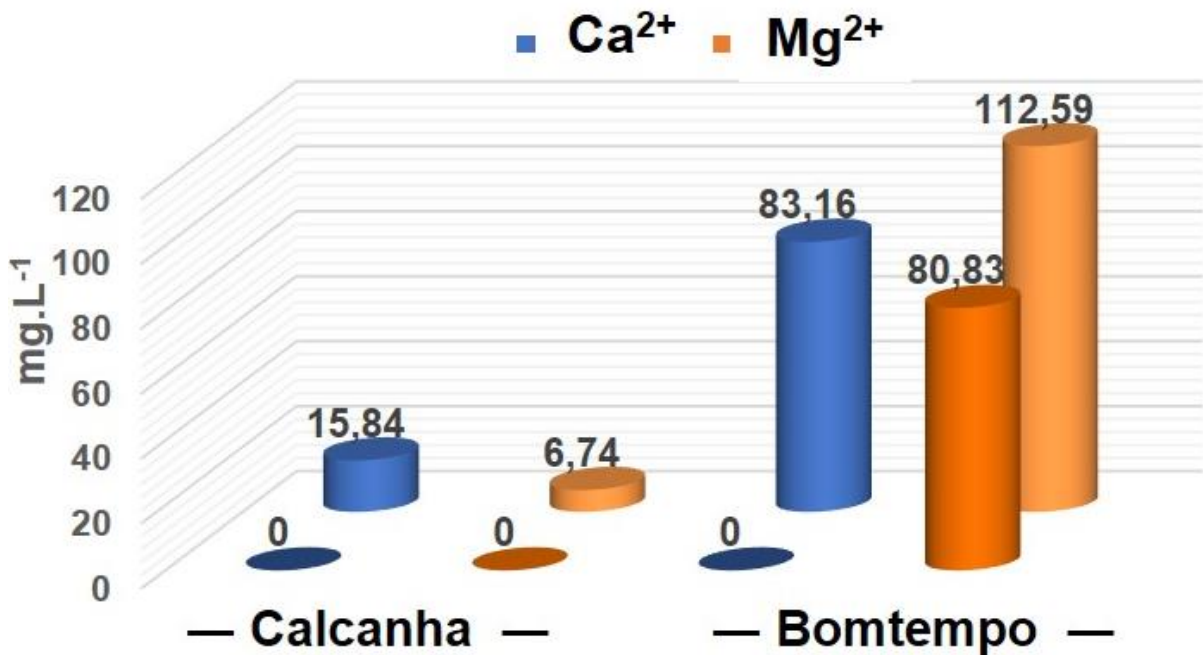
Figura 15. Concentração de Ca²⁺ e de Mg²⁺ (a) em soluções com razões 1:3, 1:1 e 1:3.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Conforme pode ser observado na Figura 15, o tratamento realizado para a solução na proporção 3:1 (Ca^{2+} e Mg^{2+}) fez com que as concentrações de Ca^{2+} e Mg^{2+} decrescessem de 103,75 e 37,15 mg L^{-1} para 1,58 e 41,38 mg L^{-1} , indicando que o material zeolítico mostra-se mais seletivo para o íon Ca^{2+} . O tratamento da solução com proporção invertida, isso é, 1:3, em que a concentração do íon Mg^{2+} é maior, deixa ainda mais claro o efeito da seletividade para o íon Ca^{2+} , e que é reforçado no tratamento da solução 1:1. Esses resultados estão de acordo com o reportado por Ghadamnan *et al.*,³⁵ e se justificam pela maior afinidade entre os íons Ca^{2+} e a estrutura da zeólita A, cuja abertura de poros apresenta-se mais próxima ao raio iônico hidratado do Ca^{2+} (0,412 nm) que o do Mg^{2+} (0,428 nm).^{36;37}

Figura 16. Concentração de Ca^{2+} e de Mg^{2+} em amostras de poços artesianos antes e após passagem por coluna de zeólita hierárquica.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Ao comparar as concentrações dos íons Ca^{2+} e Mg^{2+} nas duas amostras de água de poço (Figura 16), antes e após o tratamento com o material zeolítico, foi observado que na amostra 1 (poço Calcanha), os íons Ca^{2+} e Mg^{2+} foram totalmente removidos da amostra, o que era esperado considerando-se a baixa concentração desses íons em solução (15,84 mg L^{-1} para Ca^{2+} e 6,65 mg L^{-1} para Mg^{2+}). Para a amostra 2 (poço Bomtempo), com concentrações de íons Ca^{2+} e Mg^{2+} de 83,6 e 111,2 mg L^{-1} , respectivamente, os íons Ca^{2+} foram adsorvidos em sua totalidade e a concentração de íons Mg^{2+} em solução foi reduzida a 79,83 mg L^{-1} , resultados que estão de acordo com ensaios realizados nas amostras preparadas em laboratório.

7 PARTE II

**(MATERIAIS HIERARQUICAMENTE ESTRUTURADOS POR INSERÇÃO DE
MATERIAIS MESOPOROSOS, À BASE DE SÍLICA, EM MATRIZ DE CELULOSE
BACTERIANA, APLICADOS À IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA.)**

8 INTRODUÇÃO

Enzimas são proteínas com a função catalítica, ou seja, de acelerar reações químicas que ocorrem sob determinadas condições termodinâmicas, fornecendo um ambiente específico onde uma dada reação química é favorável. São catalisadores biológicos extremamente eficientes, com excelentes propriedades tais como elevadas seletividade e especificidade, que lhes permite realizar uma grande variedade de processos químicos sob diversas condições reacionais. Elas aceleram consideravelmente a velocidade das reações químicas em sistemas biológicos quando comparadas com as reações correspondentes não catalisada.³⁸

Embora catalisadores homogêneos, como as enzimas, ainda sejam bastante utilizados nas indústrias de alimentícios, de química fina, farmacêutica e de agroquímicos, há uma barreira na aceitação destes quando problemas tais como corrosão, toxicidade, dificuldade de manuseio nos sistemas de reação e separação, custos elevados e geração de resíduos sólidos vêm à tona. Conseqüentemente, tem-se investido na geração e utilização de catalisadores sólidos no sentido de substituir catalisadores homogêneos². Uma estratégia promissora consiste na imobilização de catalisadores homogêneos em um suporte insolúvel, isto é, na heterogeneização de catalisadores homogêneos. Esta estratégia pode ainda ser usada para imobilizar catalisadores especiais, as enzimas, para conduzir reações de biotransformações.³⁸

Biotransformações são reações químicas catalisadas por células, organismos ou enzimas. Elas são caracterizadas por propriedades únicas de estereo- e regioespecificidade e por suas habilidades de promover reações em condições de pH e temperatura amenas. Biotransformações podem ser usadas para promover conversões específicas de substratos complexos usando células de plantas, de animais ou microbianas ou ainda usando enzimas purificadas como catalisadores.³⁹

As enzimas apresentam propriedades fascinantes na catálise de reações que geram produtos específicos, cuja produção através de outros métodos é excessivamente laboriosa ou até mesmo improvável. Para serem usadas como biocatalisadores, no entanto, as enzimas devem ser estáveis nas condições severas em que grande parte das reações de interesse industrial se processa. Além disso, a possibilidade de reutilização das enzimas em processos catalíticos, sem que haja perda apreciável em sua atividade, pode proporcionar aumento significativo no rendimento das reações, além da redução dos custos envolvidos. Uma abordagem baseada na imobilização destas espécies tem mostrado resultados satisfatórios,^{40; 41} e o uso de materiais porosos nanoestruturados como suportes no processo de imobilização enzimática proporciona uma vasta gama de possibilidades a serem exploradas.

Desde o início da década de 1970, devido às suas ótimas propriedades mecânica, térmica e química e também às suas resistências quanto à biodegradação, diversos materiais inorgânicos, tais como os materiais mesoporosos, têm-se mostrados adequados para desempenhar a função de suportes na imobilização enzimática.³ Os processos de síntese, caracterização e das aplicações envolvidas nestes materiais, têm sido objeto de muita pesquisa nas últimas três décadas, consolidando-se como um campo sólido de pesquisa.

Este campo de pesquisa foi fortemente impulsionado no início da década de 1990, com a obtenção dos primeiros materiais mesoporosos.^{42; 43} Para aplicações como o caso da imobilização de enzimas, onde as moléculas de interesse necessitam acessar rapidamente a estrutura do interior dos poros, mas ao mesmo tempo a superfície interna deve ser maximizada, uma estrutura porosa ramificada com poros largos, os quais levam a poros cada vez menores, é certamente desejável.^{44; 45}

9 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

9.1 Imobilização enzimática

Enzimas são proteínas que agem como catalisadores em processos biológicos. Sem elas, a grande maioria das reações químicas executadas pelas células normalmente ocorreriam apenas em temperaturas muito mais altas do que a temperatura do interior das células. Cada enzima acelera (catalisa) apenas um dos muitos tipos possíveis de reações que uma determinada molécula pode sofrer. As enzimas têm a capacidade de catalisar reações sob condições muito amenas (temperatura ambiente, pressão atmosférica e pH fisiológico) com um alto grau de especificidade de substrato, diminuindo assim a formação de subprodutos.⁴⁶ Entre as reações catalisadas estão uma série de transformações químicas muito complexas envolvendo macromoléculas biológicas, que não são acessíveis aos métodos comuns da química orgânica.

A aplicabilidade de enzimas para a produção de diversos tipos de substâncias químicas e biológicas tornou-se uma tecnologia imprescindível nas indústrias química e farmacêutica, pois os processos baseados em enzimas geralmente levam a uma redução no tempo do processo, número de etapas de reação e quantidade de resíduos.⁴⁷

Embora catalisadores homogêneos, como as enzimas, ainda sejam bastante versáteis, podem apresentar desvantagens para uso em larga escala. Parte das limitações estão relacionadas ao uso de enzimas solúveis em processos industriais, como alto custo, baixa estabilidade operacional e dificuldade de recuperação. Mesmo com essas limitações, as enzimas têm a vantagem do reaproveitamento, sendo necessária a recuperação das enzimas do processo para posterior reaproveitamento e assim tornar o processo economicamente viável. Porém, a recuperação de enzimas livres no meio de reação é muito difícil, e uma das alternativas que facilitam a recuperação desses catalisadores é o uso de enzimas imobilizadas.^{48; 49}

A imobilização de enzimas tem se mostrado uma ferramenta poderosa para melhorar quase todas as propriedades enzimáticas, como a alta atividade e seletividade. O termo “imobilização” é comumente usado para descrever a retenção de uma biomolécula no interior de um reator ou de um sistema analítico. O processo de imobilização de enzimas em suportes inorgânicos apresenta diversas vantagens quando comparada à utilização de enzimas livres em solução, dentre as quais podem ser destacadas:⁵⁰

- A utilização de pequenos volumes de amostra (da ordem de 10^{-9} L);

- O aumento do tempo de vida e da estabilidade da enzima em relação à temperatura, aos solventes orgânicos e à variação de pH com redução considerável de perda da atividade catalítica;
- Reutilização;
- Menor manuseio da amostra, evitando contaminações;
- Fácil separação da enzima dos produtos da reação.

Nas últimas décadas, milhares de métodos de imobilização enzimática foram relatados na literatura. As enzimas podem ser anexadas ao suporte por interações que variam de adsorção física reversível a ligações covalentes estáveis. A seleção do método de imobilização deve ser baseada na atividade global do biocatalisador, características de regeneração e inativação, custo do procedimento de imobilização, toxicidade dos reagentes de imobilização, estabilidade operacional, entre outros fatores ⁵¹. Não existe um método ou suporte de imobilização único aplicável a todas as enzimas e suas várias aplicações. Isso se deve às diferentes características físico-químicas de cada enzima, às diferentes propriedades dos substratos e produtos e às diversificadas aplicações dos produtos obtidos. Nesse sentido, destaca-se a imobilização por adsorção, ligação covalente, encapsulamento, reticulação e aprisionamento. Na Tabela 3 são descritas vantagens e desvantagens dos principais métodos de imobilização enzimática.

Tabela 3. Relação das vantagens e desvantagens dos cinco métodos básicos de imobilização enzimática.

Método	Vantagens	Desvantagens
Adsorção	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Fácil de executar; ➤ Não são necessários reagentes; ➤ Sem limitações de difusão de poros; ➤ Passos mínimos de ativação envolvidos ; ➤ Método comparativamente barato de imobilização; ➤ Menos prejudicial às enzimas do que os métodos químicos Baixo tempo para a absorção física. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Eficiência mais baixa; ➤ Dessorção de enzimas do transportador; ➤ Distorção da cinética devido ao particionamento ou fenômenos de difusão e, posteriormente, alteração da estabilidade do pH ou pH ótimo da enzima.
Ligação Covalente	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Aplicabilidade mais ampla; ➤ Método comparativamente simples ; ➤ Sem vazamento ou dessorção; ➤ Variedade de suporte/transporte disponível; ➤ Forte ligação de enzimas a suportes; ➤ Grupo multifuncional disponível em suportes/carregadores. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Problema de inibição competitiva; ➤ Modificação química de enzimas; ➤ Perda de conformação funcional de enzimas.
Confinamento	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Condições suaves necessárias; ➤ Fácil de praticar em pequena escala; ➤ Método rápido de imobilização; ➤ Pode ser usado para aplicações de detecção; ➤ Barato (matrizes de baixo custo disponíveis); Menos chance de mudanças conformacionai 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Vazamento de enzima; ➤ Limitações de difusão de poros; ➤ Possibilidade de contaminação microbiana; ➤ Graus inferiores de implementação industrial e limitados a operações de pequena escala.
Encapsulação	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Método de baixo custo; 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Concentrações mais baixas de enzimas;

	<ul style="list-style-type: none">➤ As enzimas são estáveis a longo prazo;➤ Nenhuma etapa de extração /purificação necessária;➤ Imobilização "one-pot" de múltiplas enzimas;➤ A conformação nativa de enzimas é mais bem mantida;➤ Organelas celulares, por ex. mitocôndrias, pode ser imobilizadas.	<ul style="list-style-type: none">➤ Geração de produtos invencíveis;➤ Modificação de produtos finais por outras enzimas;➤ Limitação do tamanho dos poros.
Reticulação	<ul style="list-style-type: none">➤ Método comparativamente simples;➤ Amplamente utilizado em aplicações industriais;➤ Método rápido e barato;➤ Grande quantidade de enzima pode ser reticulada no momento.	<ul style="list-style-type: none">➤ São necessários reagentes polifuncionais (glutaraldeído);➤ Desnaturação ou modificação estrutural por reticulação.

Fonte: Sassolas, A., L.J. (2012)⁵²

9.2 Peroxidase e a batata doce

A peroxidase é uma enzima encontrada em várias espécies de vegetais, microrganismos e animais, no qual é responsável por catalisar a redução do peróxido de hidrogênio em água, tornando-o inofensivo. O acúmulo de espécies oxigenadas reativas (compreendendo O_2^- , H_2O_2 , O_2 , HO_2^- , $HO\cdot$, $ROOH$ e $RO\cdot$) como resultado de vários estresses ambientais é uma das principais causas de perda de produtividade das culturas em todo o mundo. As espécies oxigenadas reativas afetam muitas funções celulares danificando ácidos nucleicos, oxidando proteínas e causando peroxidação lipídica.⁵³ A enzima peroxidase está presente naturalmente em plantas como tubérculo de batata, rabanete, beterraba, soja, tomate, banana, mamão, cenoura, nabo, trigo, tâmaras e morango.⁵⁴

Atualmente a principal fonte de peroxidase comercialmente disponível são as raízes de raiz-forte (*Armoracia rusticana*). Por essa razão, é comumente chamada de enzima Peroxidase de Raiz Forte, ou apenas HPR (do inglês Horseradish Peroxidase). Porém, há estudos que demonstram que células extraídas de raízes cultivadas de batata-doce (*Ipomoea batata* - Figura 17) exibem maior atividade de peroxidase do que em raízes de raiz-forte (Leon, L. C. 2002).⁵⁵

Figura 17. Raízes de batata doce (*Ipomoea batata*).

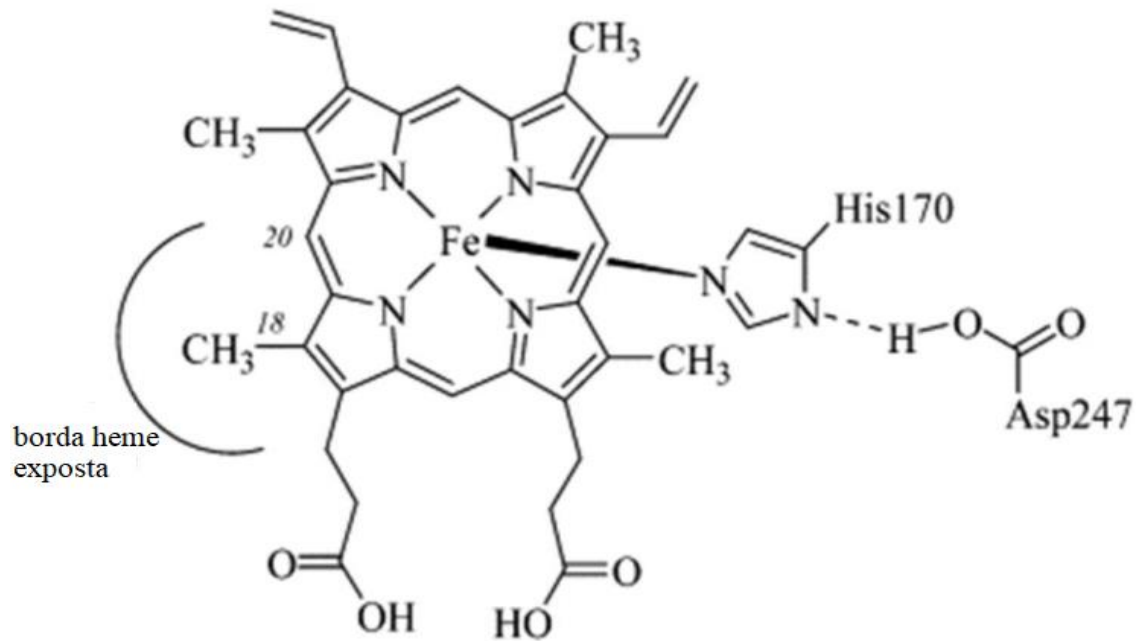


Fonte: elaborado pelo autor (2021).

De acordo com a Comissão Internacional de Enzimas, o número de classificação da HRP é 1.11.1.7. O primeiro dígito (1) refere-se a classe à qual a enzima pertence (oxiredutase); o segundo dígito (11), a subclasse (agindo em um peróxido como receptor); o terceiro dígito (1), indica se tratar de uma enzima do grupo das peroxidases; e o quarto dígito (7) a peroxidase específica.

A enzima HRP é composta por um grupo prostético de heme (Figura 18), com dois íons Ca^{2+} e 308 resíduos de aminoácidos, incluindo 4 pontes de dissulfeto em uma única cadeia polipeptídica.⁵⁶ As peroxidases têm peso molecular que varia de 30 a 150 kDa.⁵⁷

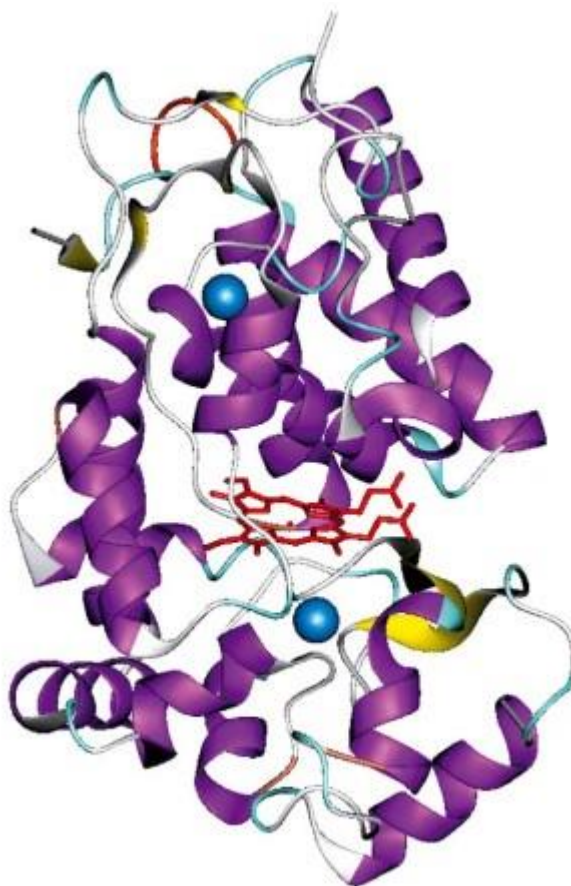
Figura 18. Grupo prostético heme na HRP e a posição dentro da enzima.



Fonte: Veitch, N. C. (2000).⁵⁸

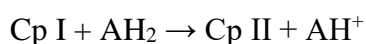
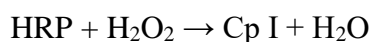
A estrutura tridimensional da forma cristalina da enzima HRP apresenta um domínio distal e um domínio proximal e entre os dois domínios está situado o grupo heme. A Figura 19 representa a estrutura tridimensional da HRP, onde o grupo heme (em destaque na cor vermelha) está localizado entre os domínios distal e proximal, cada um contendo um átomo de cálcio (representados por esferas azuis).⁵⁸

Figura 19. Representação tridimensional da estrutura cristalina da enzima HRP.



Fonte: Veitch, N. C. (2000).⁵⁸

A peroxidase catalisa a oxidação de vários substratos doadores de elétrons (por exemplo, fenóis, aminas aromáticas) por peróxido de hidrogênio⁵⁵:

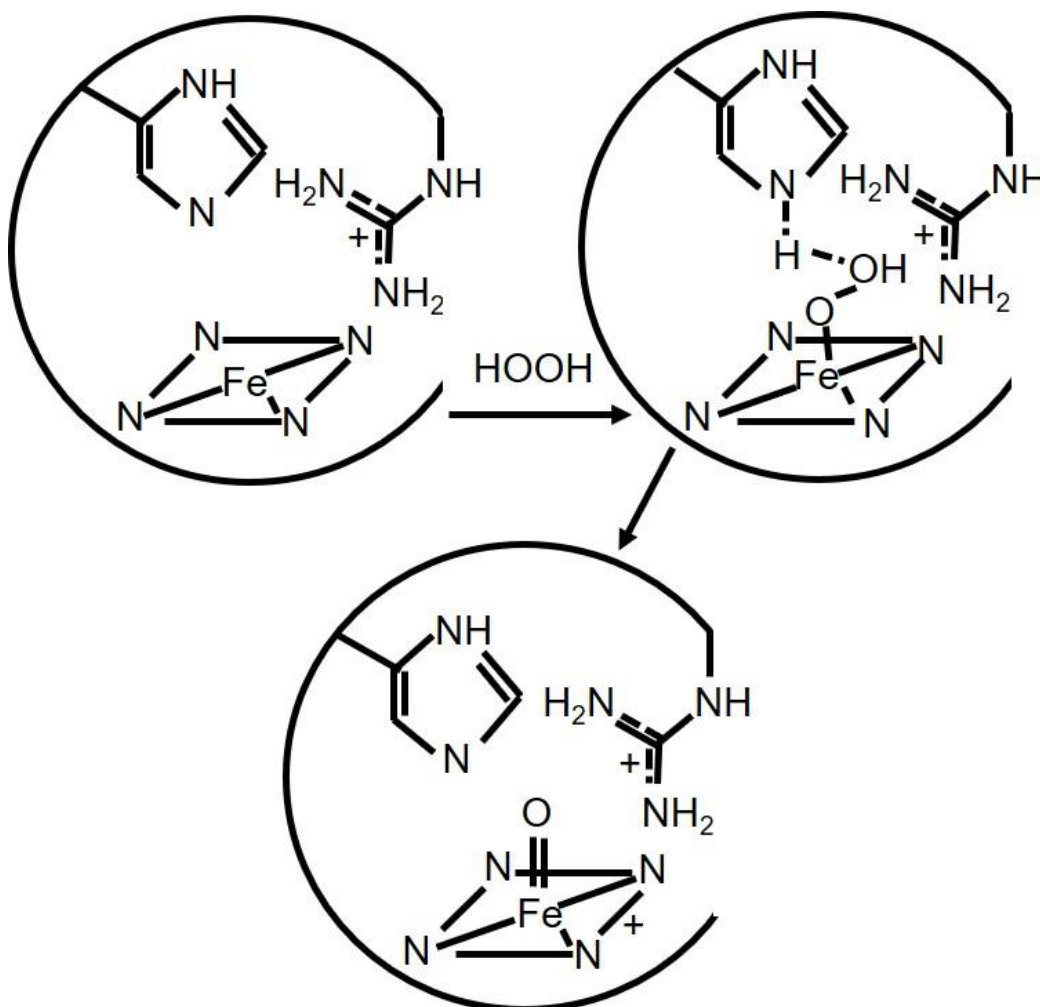


No qual, HRP é a enzima férrica, Cp I e Cp II são Composto I e Composto II, os intermediários oxidados da peroxidase; AH_2 é o substrato doador de elétrons e AH^+ , o produto radical de sua oxidação de um elétron.

A reação da enzima HRP com H_2O_2 produz uma espécie oxidada de dois elétrons conhecida como Composto I, em que o ferro (III) é oxidado a uma espécie de ferril ($\text{Fe}^{\text{IV}} = \text{O}$), e a porfirina a um cátion radical de porfirina. A redução gradual do Composto I por dois elétrons derivados do substrato produz o Composto II, no qual o cátion radical da porfirina foi extinto e, posteriormente, o estado férrico em repouso. A reação de HRP com H_2O_2 é catalisada por um sítio ativo de histidina que facilita a formação do complexo de peróxido férrico (Fe-OOH)

por desprotonar o peróxido, e promove a clivagem da ligação oxigênio-oxigênio, transferindo o próton para o oxigênio distal do complexo Fe-OOH (Figura 20).⁵⁹

Figura 20. Mecanismo de ação da histidina, contida na peroxidase, na formação do Compostos I.



Fonte: Savenkova, M. I. (1996).⁵⁹

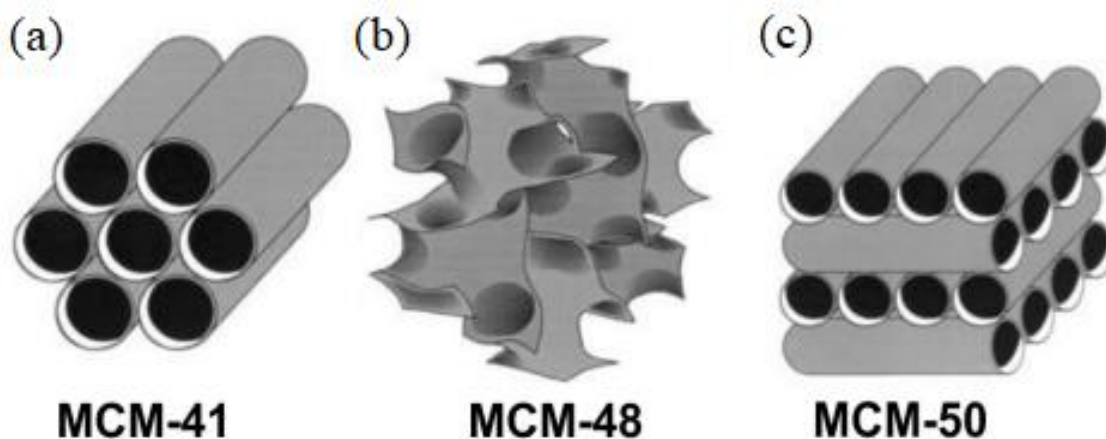
9.3 Materiais mesoporosos

Em 1990, cientistas japoneses relataram pela primeira vez a preparação de sílica mesoporosa, com distribuição de tamanho de poro uniforme, utilizando surfactante catiônico como suporte para camadas de canemita (filossilicato). Esse material foi chamado posteriormente de sílica mesoporosa FSM-16. Porém, devido a falta de informações referentes às caracterizações dos materiais (análises de difração de raios-X e microscopia eletrônica), esses materiais não receberam muita atenção.⁶⁰ No entanto, as pesquisas sobre materiais mesoporosos com arranjos de poros ordenados se tornaram promissoras em 1992, quando pesquisadores da Mobil Oil Corporation (Mobil) sinterizaram um conjunto de peneiras moleculares mesoporosas

de silicato/aluminossilicato com estruturas de poros uniformes excepcionalmente grandes, os quais foram denominados de família M41S (sigla para Mobil 41:Synthesis). Os pesquisadores da Mobil iniciaram uma nova área de pesquisa em química sintética inorgânica não só por desenvolver uma família de materiais mesoporosos com arranjos de poros ordenados, mas também por propor um mecanismo de síntese denominado de *liquid crystal templating* (LCT), posteriormente usado no preparo de diversos materiais mesoporosos.

A família de peneiras moleculares mesoporosas M41S possui estruturas de poros grandes (mesoporos) e uniformes, áreas de superfície específicas altas e volumes de poros elevados, sendo composta por três tipos de arranjos. O primeiro deles, o MCM-41 (Mobil Composition of Matter-41), têm mesoestruturas bidimensionais hexagonais (Figura 21a). O segundo é formado por poros, de natureza cilíndrica, organizados em uma mesoestrutura cúbica bicontínua (Figura 21b), nomeado com a sigla MCM-48 e, o terceiro, denominado MCM-50, é um sólido com mesoestrutura lamelar (Figura 21c).^{61; 62; 63}

Figura 21. Imagem ilustrativa das estruturas dos compostos: (a) MCM-41, (b) MCM-48 e (c) MCM-50. A estrutura MCM-41 é formada por um arranjo hexagonal de mesoporos uniformes e unidimensionais, enquanto a MCM-48 possui um arranjo cúbico de mesoporos interconectados, resultando em um sistema de poros tridimensional. A estrutura MCM-50 possui um arranjo lamelar constituído por uma camada dupla do surfactante alternada por camadas de sílica.



Fonte: Grecco, et al. (2013) ¹⁵

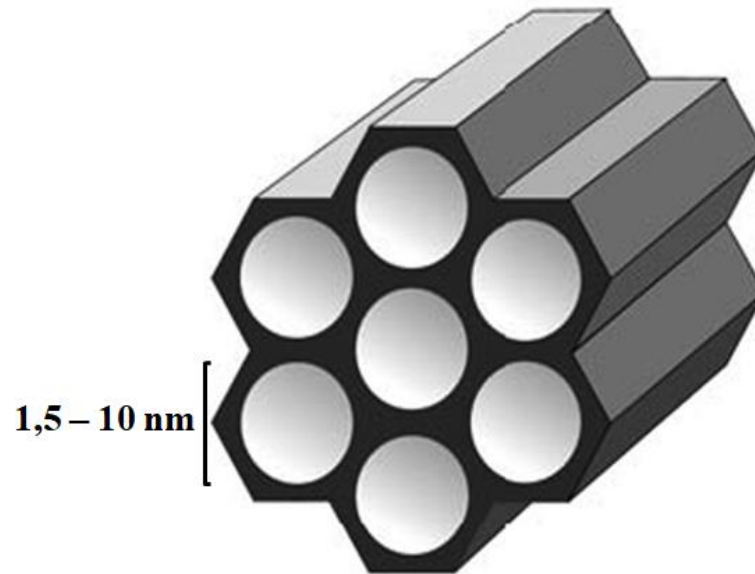
Esses trabalhos impulsionaram várias outras pesquisas e, em 1995, novas famílias de material de sílica mesoporosa, como SBA, MSU, e FSM, foram desenvolvidas com porosidades e formatos de partícula característicos. Em 1998, pesquisas proeminentes produziram outro tipo de matriz hexagonal de poros, ou seja, SBA-15 (Santa Barbara Amorfa nº 15). A SBA-15 mostrou tamanho de poros entre 4,6 e 30 nm, tornando a descoberta deste material uma grande jogada de pesquisa no campo do desenvolvimento de materiais mesoporosos. ⁶⁴

Devido à propriedade estrutural ímpar dos materiais mesoporosos, como a uniformidade de tamanho de poro e uma estrutura de poro ordenada de longo alcance, essas estruturas porosas têm sido empregadas e estudadas em uma ampla variedade de campos diferentes de catálise, adsorção, separação, acomodação de produtos químicos complexos, complexos moleculares e até mesmo materiais biomoleculares. ^{65; 66}

9.3.1 O material mesoporos MCM-41

Os primeiros relatos da síntese de MCM-41, feito pelos cientistas da Mobil Company, em 1992, tinham como objetivo encontrar materiais compostos de sílica, com diâmetro de poros maior do que poros das zeólitas. A faixa de diâmetro do poro para o MCM-41 está compreendida entre 1,5 nm e 10 nm, como é ilustrado na Figura 22. ⁴²

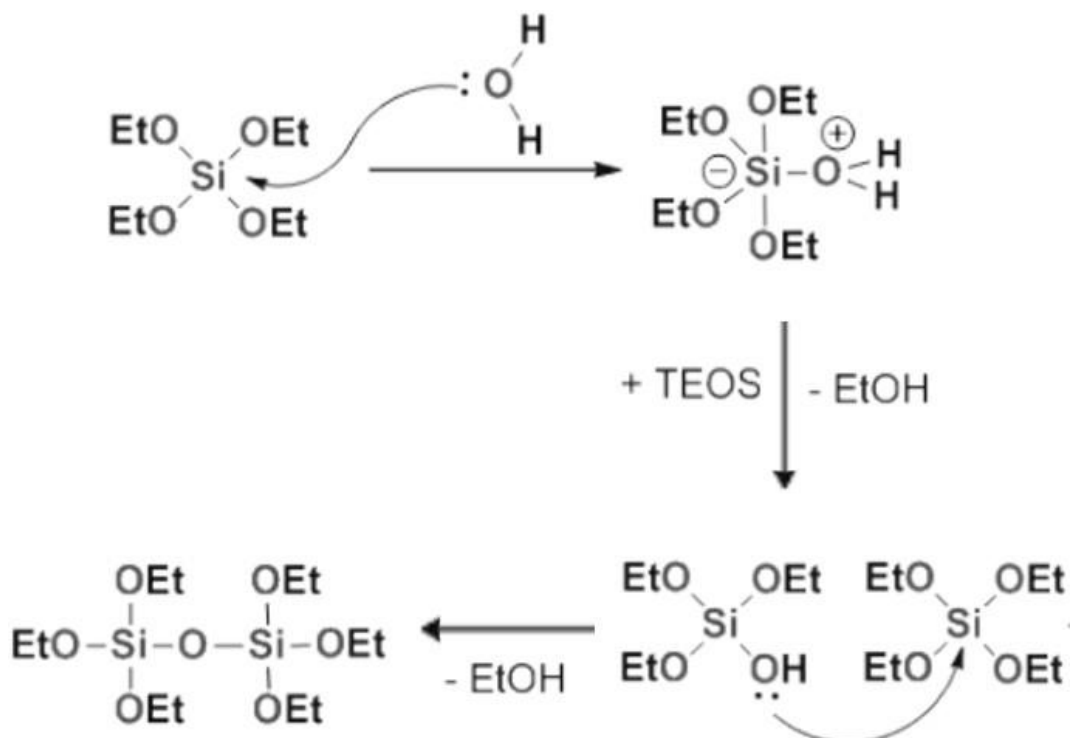
Figura 22. Faixa do tamanho (diâmetro) de poro do MCM-41.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

A metodologia empregada para produção desse material se baseia na condensação de precursores de sílica, tipicamente silicato de sódio ou tetraetilortosilicato (TEOS) (Figura 23), por meio de uma síntese hidrotérmica, na presença de tensoativos catiônicos em condições básicas.⁶⁷

Figura 23. Mecanismo de polimerização do TEOS. As nanopartículas são formadas por um processo sol-gel, catalisado por meio básico, de acordo com duas reações principais, hidrólise e condensação.

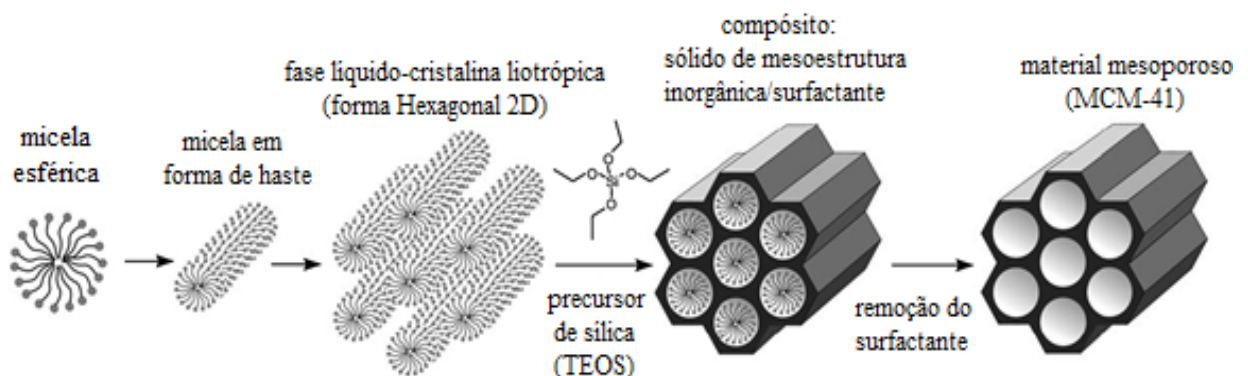


Fonte: Llinàs, M. C., Sanches.-Garcia, D. (2013).⁶⁸

A síntese de MCM-41 foi viabilizada pela montagem de surfactante catiônico de cadeia longa em micelas ou cristais líquidos liotrópicos (LCC) em uma concentração específica de surfactante em solução aquosa conhecida como concentração micelar crítica (CMC). Essas moléculas anfífilas montadas em solventes polares formam uma matriz hexagonal de micelas cilíndricas nas quais a cauda hidrofóbica apolar se reúnem no centro e a cabeça hidrofílica polar na superfície.

Essa estrutura micelar é usada como molde ou agente direcionador de formação de poros para a policondensação hidrolítica sol-gel subsequente do precursor de silicato inorgânico, um alcoxissilano (TEOS) sob condições hidrotérmicas em solução.⁶⁹ O surfactante catiônico atrai as cargas negativas das espécies de sílica, que se concentram e condensam ao redor das paredes das micelas formando uma estrutura tubular de sílica.⁷⁰ A nanopartícula aumenta de tamanho até que a carga negativa, introduzida pela espécie de sílica, seja tão alta que para de crescer. Vale ressaltar que o tamanho, a forma hexagonal e a regularidade das partículas dependem de várias variáveis como temperatura, taxa de adição, agitação e a quantidade de catalisador usado em relação ao de TEOS⁶⁸. Por fim, o agente direcionador (surfactante) é removido do interior dos poros restando apenas cilindros de sílica de forma hexagonal. Para esse processo, são recomendados três métodos: refluxo em álcool acidificado com ácido clorídrico, tratamento com nitrato de amônio ou por calcinação. Esses tratamentos permitem a rompimento de interações eletrostáticas existentes entre os grupos da cabeça do surfactante catiônico e os silicatos aniônicos, facilitando a eliminação do surfactante nos mesoporos e concluindo a formação das partículas (Figura 24)⁶⁸.

Figura 24. Esquema de formação da sílica mesoporosa da família MCM-41.



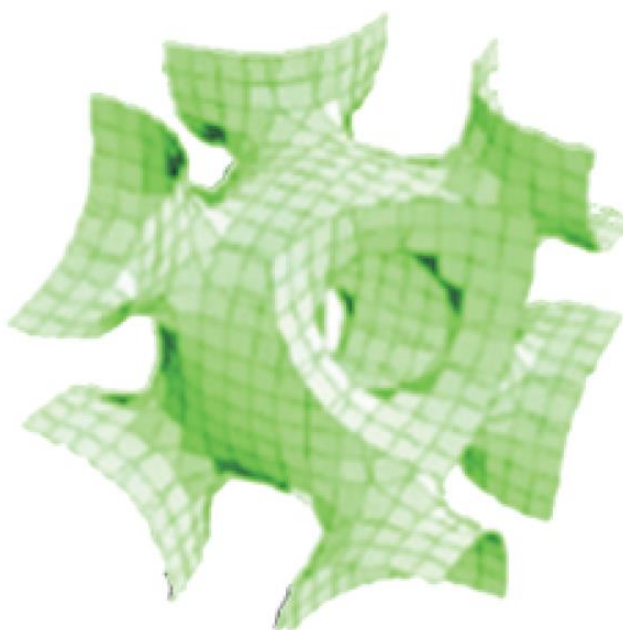
Fonte: Hoffmann, et al. (2006).⁷¹

9.3.2 O material mesoporos SBA-16

A síntese de materiais de sílica mesoporosa do tipo SBA (Santa Bárbara Amorfa), desenvolvida por Zhao e colaboradores⁷², utilizam como direcionadores de poros, surfactantes não iônicos (copolímeros tribloco). A aplicação desses surfactantes na produção desses materiais tornou-se interessante devido esses compostos serem atóxicos, biodegradáveis e de baixo custo.⁷³

Os materiais mesoporosos do tipo SBA exibem poros grandes (entre 2 e 30 nm) com paredes de poros espessas e elevada estabilidade estrutural. Dentre esses materiais, o SBA-16 (Santa Bárbara Amorfa nº 16) é considerado uma mesoestrutura com ampla aplicabilidade, com uma estrutura cúbica tridimensional (ordenamento cúbico de corpo centrado com 8 entradas de conexão, simetria Im3m), com poros multidirecionais e grande sistemas que permitem boa acessibilidade para funcionalização (Figura 25).⁷³

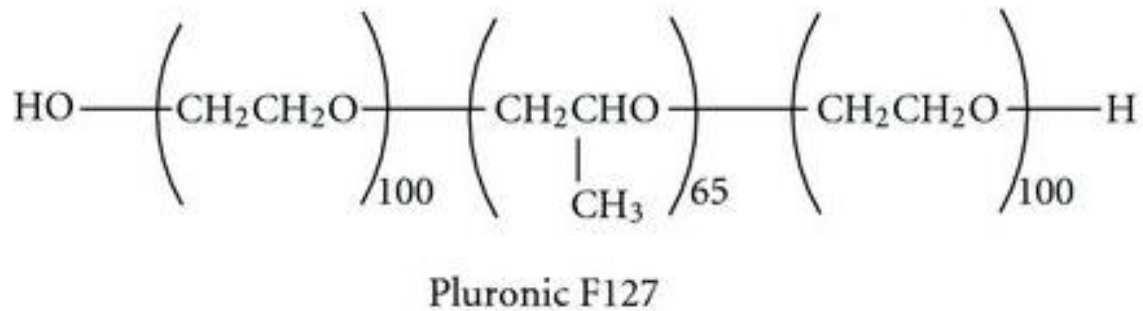
Figura 25. Estrutura em 3D do material mesoporoso SBA-16



Fonte: Narayan, R. (2018).⁷⁴

Este material é formado sob condições ácidas usando o copolímero tribloco Pluronic F127 (EO₁₀₆PO₇₀-EO₁₀₆) como um direcionador de estrutura (Figura 26) e do tetraetilortossilicato (TEOS) como fonte de sílica. O uso de um copolímeros tribloco, com uma porcentagem relativamente alta de óxido de etileno em uma molécula, fornece uma porosidade complementar comparável à porosidade da sílica mesoporosa SBA-15.⁷³

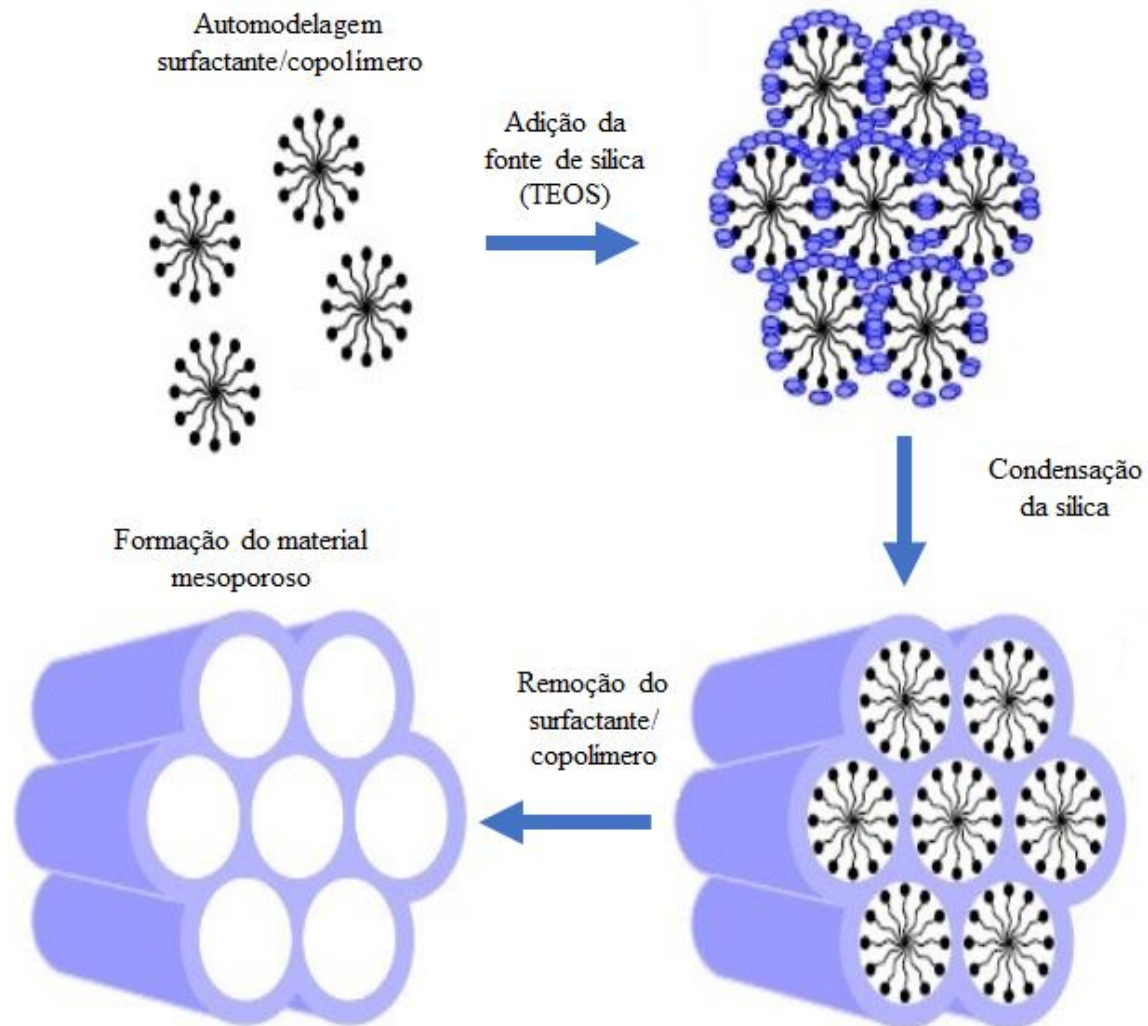
Figura 26. Representação do copolímero Pluronic F127, usado como agente direcionador de estrutura, na síntese do material mesoporoso SBA-16.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

A síntese do SBA-16 envolve a dissolução do direcionador de poros em solução ácida seguida pela adição da fonte de sílica, como é ilustrado na Figura 27. Os grupos óxido de etileno (On) formam a parte hidrofílica e os grupos óxido de propileno (POm) formam a parte hidrofóbica.⁷² De acordo com Chaudhary,⁷⁵ em meio ácido (pH < 1), ocorre a interação entre as espécies de silicato protonado positivamente carregadas com os grupos (On) mais hidrofílicos, induzindo a automontagem de uma mesofase rica em blocos de sílica-polímero. Na presença do copolímero em bloco, quanto maior a condensação das espécies de surfactantes e das espécies de sílica, maior a formação da mesofase de sílica.

Figura 27. Representação esquemática da síntese do material mesoporoso tipo SBA.



Fonte: Silva, C. R. P. (2017).⁷⁶

A porosidade dos materiais mesoporosos SBA-16 só pode ser obtida após a remoção do agente direcionador de estrutura-SDA do composto inorgânico sintetizado. O método mais comum para remoção do copolímero é a calcinação devido à fácil operação e eliminação completa. Os surfactantes orgânicos podem ser totalmente decompostos ou oxidados sob atmosfera de oxigênio ou ar.⁷⁷ Outros métodos podem ser usados, como por exemplo a extração por solvente, usando etanol ou tetraidrofurano (THF), sendo um método suave e eficiente para remoção do surfactantes.⁷⁸

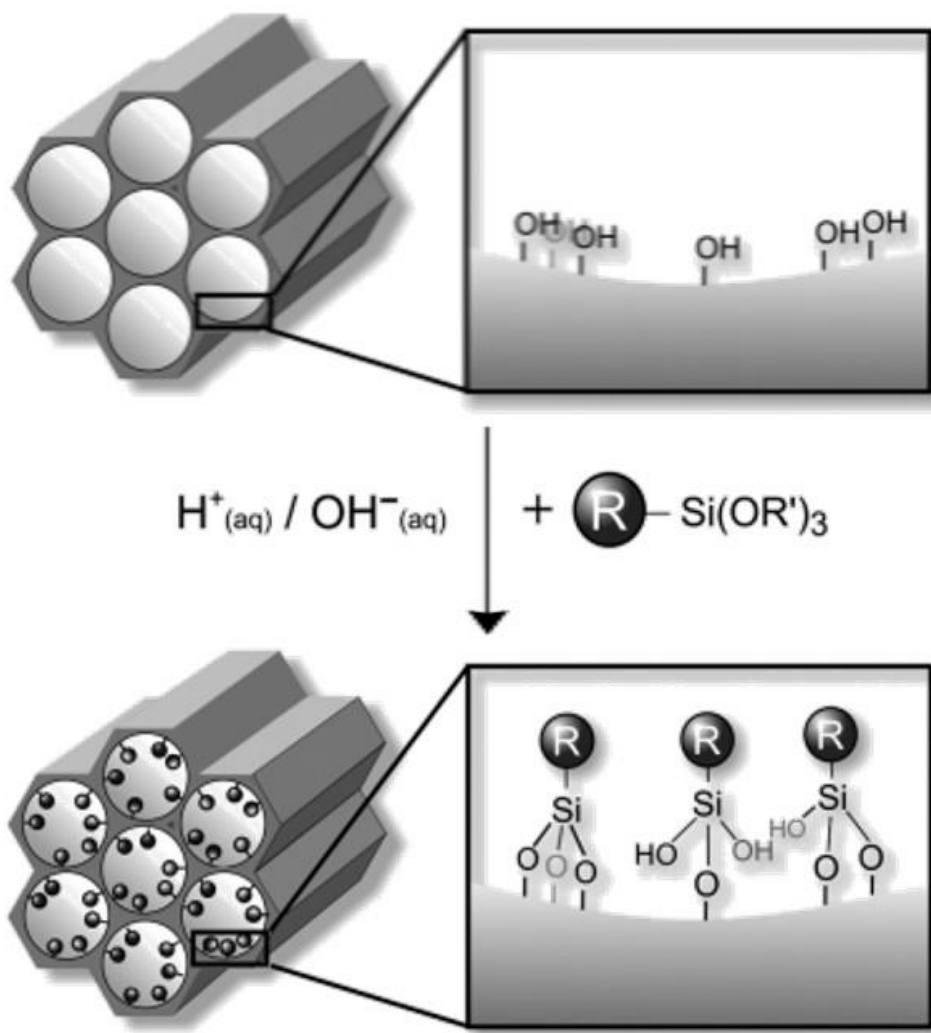
9.3.3 Funcionalização dos materiais mesoporosos

A funcionalização de materiais mesoporosos pode ser realizada por meio da ligação covalente entre grupos funcionais e a estrutura de sílica. A modificação química da superfície de sílica pode ser obtida a partir de dois métodos tradicionais: o método de pós-síntese e o método de co-condensação, também chamada de incorporação direta.

Pelo método pós-sintético (algumas vezes definido como método por enxerto) os grupos funcionais são introduzidos após a formação da sílica mesoporosa, antes ou depois da remoção do agente direcionador de estrutura (surfactante). Este método tem por objetivo a substituição dos grupos silanol presentes na superfície da sílica mesoporosa, por organossilanos, como os do tipo $(R'O)_3Si-R$ (Figura 28).⁷⁹

A retenção da mesoporosidade da sílica original após o enxerto dos grupos funcionais é a principal vantagem do método sintético descrito. Porém, a distribuição não uniforme dos grupos enxertados na superfície pode ser a desvantagem do método.⁸⁰

Figura 28. Representação da funcionalização pós-sintética para modificação orgânica de fases de sílica mesoporosa pura com organotrialcóxissilanos terminais do tipo $(R'O)_3Si-R$ (R = grupo funcional orgânico).

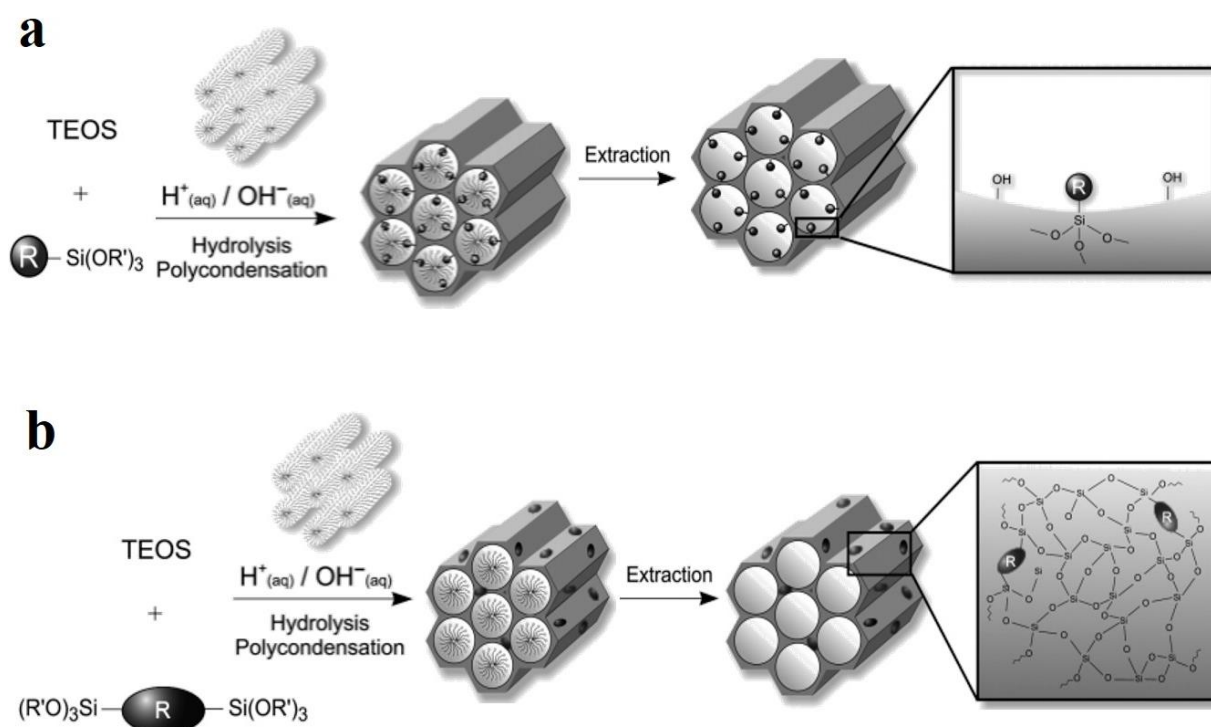


Fonte: Hoffmann, F. (2011).⁸⁰

A segunda estratégia principal para funcionalização de superfície é o método direto, que permite a preparação de materiais mesoporosos híbridos orgânico-inorgânicos em um tempo limitado. Em geral, este método envolve uma co-condensação de uma etapa entre

tetraalcoxissilanos (como tetrametoxissilano (TMOS) ou tetraetoxissilano (TEOS)) com um ou mais organossilanos, como os do tipo $(R'O)_3Si-R$, por meio do processo sol-gel, na presença de um agente direcionador de estruturas (surfactante).⁸¹ Como o organossilano é anfifílico, ele pode atuar como co-surfactante incorporado nas micelas do surfactante (Figura 29). Quando ocorre a condensação, as metades orgânicas são então agregadas às paredes dos poros.⁸² O agente direcionador de estrutura deve ser removido da estrutura de sílica através de extração por solvente (solução de nitrato de amônio ou HCl em etanol), pois a remoção por calcinação destruiria as frações orgânicas introduzidas.⁸³

Figura 29. Método de co-condensação (síntese direta) utilizando TEOS e um grupo $(R'O)_3Si-R$ (a) ou TEOS e um grupo $(R'O)_3Si-R-Si(R'O)_3$ (b) como precursores mistos para a modificação orgânica de fases de sílica pura mesoporosa. R = grupo funcional orgânico.



Fonte: Hoffmann, F. (2011).⁸⁰

A funcionalização de mesoporos pelo método da co-condensação traz benefícios, como distribuição uniforme dos grupos funcionais e uma rota de síntese mais rápida, além de ser muito eficiente na imobilização de grandes quantidades de grupos funcionais na superfície de sílica mesoporosa. Todavia, a adição simultânea de moléculas funcionais pode afetar as características estruturais dos materiais mesoporosos funcionalizados resultantes e, portanto, suas estruturas de poros.

10 OBJETIVOS

10.1 Geral

Desenvolver materiais com estruturas hierarquizadas, por meio da incorporação de materiais mesoporosos aminofuncionalizados, em suportes de celulose bacteriana, e avaliar o potencial dos materiais hierarquicamente estruturados obtidos para a imobilização enzimática, para fins catalíticos.

10.2 Específico

- ✓ Sintetizar materiais mesoporosos, incorporando suportes macroporosos a base celulose bacteriana, contendo estruturas hierarquizadas;
- ✓ Desenvolver um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) semi-automatizado para a realização dos testes catalíticos;
- ✓ Imobilizar enzimas contidas em extratos de batata doce (*Ipomoea batata*) nos suportes hierarquizados a base de celulose bacteriana e materiais mesoporosos;
- ✓ Avaliar o desempenho das enzimas imobilizadas nos suportes hierarquizados, através de testes catalíticos.

11 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

11.1 Sínteses com APTES e CTAB

A síntese do material mesoporoso denominado MPC-APTES foi realizada pelo método da co-condensação, a partir de tetraetilortosilicato (TEOS, Sigma-Aldrich, 98% de pureza) na presença de brometo de hexadeciltrimetilamônio (CTAB, Vetec, 99% de pureza), com adição de 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES, Sigma-Aldrich, 99% de pureza) como funcionalizante. Para este propósito, 1,275 g de CTAB foram dissolvidos em 600 mL de água destilada e 2,8 mL de NaOH 2 mol.L⁻¹. A solução foi transferida para um balão de fundo redondo de duas bocas, mantido sob sistema em refluxo, a 80 °C. Num balão separado, foram adicionados 6,03 mL de TEOS a 20 mL de etanol, mantido sob agitação magnética, à temperatura ambiente, durante 30 minutos. Em seguida, foram adicionados 0,71 mL de APTES, mantendo a agitação magnética durante 30 minutos. A segunda mistura foi adicionada gota a gota à solução contendo CTAB e agitada durante 2 h a 80 °C, em um sistema de refluxo. O material mesoporoso obtido (sólido branco) foi centrifugado a 5000 rpm, em temperatura de 5 °C. Em seguida, foi lavado e centrifugado com água deionizada e etanol, depois seco a 37 °C durante a noite. O agente tensoativo (CTAB) foi removido por aquecimento do sólido branco a 60 °C, sob refluxo, durante 2 h, usando 500 mL de uma solução de NH₄NO₃ (10 mg/mL) em etanol (95% v/v). Para otimizar a remoção do tensoativo, o ciclo de extração foi repetido três vezes. Depois disso, o produto foi centrifugado, lavado com água deionizada e etanol e seco, sob vácuo, à 40 °C durante a noite.

11.2 Síntese com APTES e Pluronic F127

A síntese do material mesoporoso denominado MPF-APTES, foi realizada dissolvendo 3,0 g de um copolímero chamado Pluronic F127, em 9,0 mL de ácido clorídrico e 144 mL de água destilada. A mistura foi posta sob agitação magnética a 35 °C, até à dissolução do polímero. Em seguida, foram adicionados 9,0 mL de 1-butanol e a agitação continuou durante a hora seguinte. Depois disso, foram adicionados 13,2 g de tetraetilortosilicato e 1,7 mL de 3-aminopropiltriétoxissilano, usado com amino funcionalizante. Em seguida a mistura foi mantida sob agitação magnética durante 24 horas a 35 °C, e depois mantida durante 24 horas, em um forno estufa a 100 °C. O produto foi centrifugado a quente, seco e triturado. O copolímero (Pluronic F-127) foi removido por aquecimento do sólido branco a 60 °C, sob refluxo, durante 2 h, usando 500 mL de uma solução de NH₄NO₃ (10 mg mL⁻¹) em etanol (95% v/v). Para otimizar a

remoção do tensoativo, o ciclo de extração foi repetido três vezes. Depois disso, o produto foi centrifugado, lavado com água deionizada e etanol e seco, sob vácuo, à 40 °C durante a noite.

11.3 Produção das membranas de celulose bacteriana

As frações de celulose bacteriana, utilizadas na confecção dos suportes macroporosos, foram fornecido pelo laboratório de Microbiologia de Alimentos, da Embrapa Agroindústria Tropical, obtidas a partir da cultura de bactéria da espécie *Komagataeibacter xylinus* ATCC 53582, em condições estáticas por fermentação de meio HS sintético, metodologia proposta por Schramm e Hestrin.⁸⁴

11.3.1 Oxidação da celulose bacteriana

A celulose bacteriana oxidada foi obtida utilizando o pó de celulose bacteriana, obtido após secagem e moagem das membranas produzidas e seguindo o método proposto por Saito et al.⁸⁵, com algumas modificações. O pó de CB foi suspenso em água destilada (100 mL por cada grama de CB) contendo reagente TEMPO e KBr (0,016 g e 0,1 g por grama de CB, respectivamente). A oxidação foi iniciada pela adição de uma solução de NaClO a 11% (numa quantidade suficiente para atingir uma concentração de NaClO de 5,0 mmol L⁻¹ em base CB seca) a 25 °C sob agitação magnética (750 rpm). Durante a reação, o pH da suspensão foi ajustado para 10,0 por adição de uma solução de NaOH 0,5 mol L⁻¹ e mantida sob agitação durante 2 h. Em seguida, a suspensão de CB oxidada foi filtrada com sucessivas lavagens até pH 7,0, sendo referida como celulose bacteriana oxidada (CBOx).

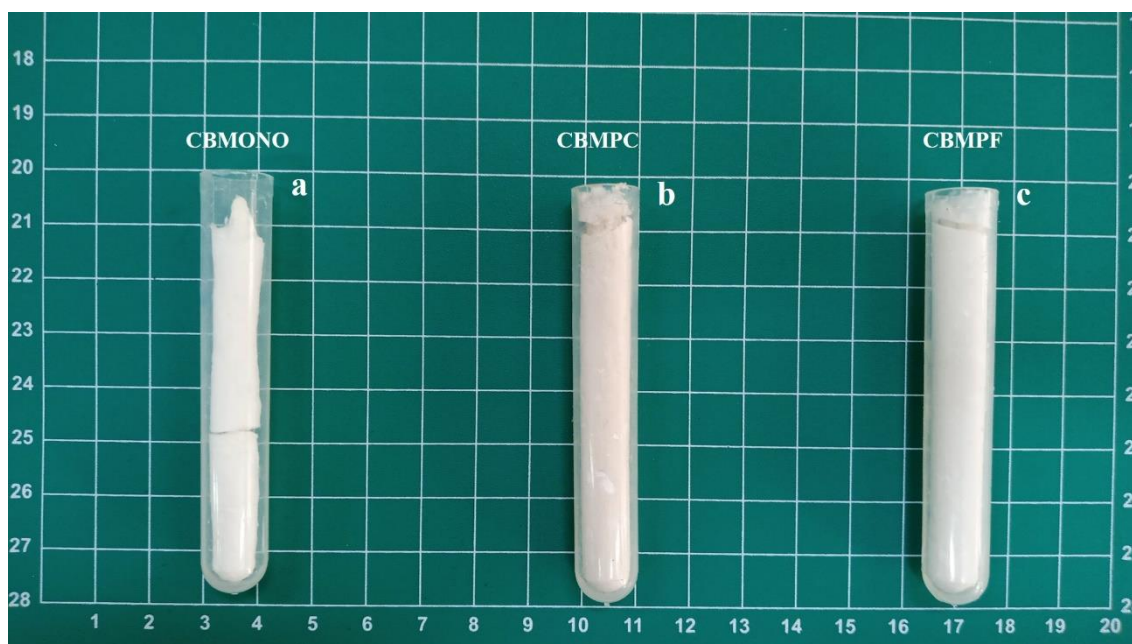
11.3.2 Nanofibrilação da Celulose Bacteriana Oxidada

Uma suspensão de celulose bacteriana oxidada, com 1% (m/v) foi processada em um homogeneizador de alta rotação (Vita-Prep 3, Vitamix Corp., Cleveland, OH, EUA) a 24.000 rpm durante 30 min, em 3 etapas de 10 minutos, com intervalos de 10 minutos entre essas etapas, produzindo a celulose bacteriana oxidada nanofibrilada (CBOXNF). A suspensão foi congelada a -80 °C, liofilizada em equipamento LP 510 (Liotop / Liobras, São Carlos, Brasil) e armazenada, sob refrigeração.

11.4 Formação dos Suportes de Celulose Bacteriana contendo os Materiais Mesoporosos.

Para produção do suporte de celulose bacteriana, contendo os materiais mesoporosos funcionalizados, foi usada uma suspensão de celulose bacteriana em concentração de 1% m/m, em água. 12,0 mL da suspensão de celulose ficou sob agitação magnética por 30 minutos. Em seguida 0,12 g do material mesoporoso aminofuncionalizado foi adicionado à suspensão contendo a CB. O material ficou sob agitação por 30 minutos. A suspensão de celulose foi transferida para tubos de 15,0 mL, onde foi congelada, em N₂ líquido e, em seguida, liofilizada. Para os suportes de celulose bacteriana contendo os materiais mesoporosos a base de CTAB, foi usada a nomenclatura CBMPC-APTES (Figura b) e, para os suportes de celulose contendo os materiais mesoporosos a base de Plurônic F-127, foi usada a nomenclatura CBMPF-APTES (Figura 30).

Figura 30. Cartucho de celulose bacteriana e suportes hierárquicos de celulose bacteriana, contendo materiais mesoporosos (a) MPC-APTES (b) e MPF-APTES (c). Os cartuchos de celulose possuem um aspecto esponjoso e fibroso. A inserção de materiais a base de sílica, torna os cartuchos mais rígidos e fáceis de manusear.



Fonte: elaborado pelo autor (2020).

11.5 Caracterização

11.5.1 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Análises de espectroscopia vibracional na região do infravermelho foram realizadas com todas as amostras sintetizadas, bem como com os suportes de vidro sem tratamento alcalino ou zeólita incorporada. As análises foram realizadas com as amostras dispersas em KBr, na

forma de pastilhas, em equipamento Shimadzu, modelo IRTracer-100, na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} , no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará (DQOI/UFC).

11.5.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

Ensaio de microscopia eletrônica de varredura foram realizados em microscópio Quanta FEG 450-FEI com magnificações de até 100.000 \times , utilizando feixe de elétrons com aceleração de 20,0 kV e detectores de elétrons secundários e de energia dispersiva de raios-X no Laboratório da Central Analítica da Universidade Federal do Ceará. As amostras foram preparadas em suportes de alumínio utilizando fita de carbono dupla-face e metalizadas com uma fina camada de ouro (aproximadamente 20 nm) em metalizadora Quorum Q150T ES.

11.5.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

Micrografias eletrônicas de transmissão foram obtidas em Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET), do fabricante Jeol, modelo JEM-2100, equipado com EDS, Thermo scientific, localizado no Laboratório Multiusuários de Microscopia de Alta Resolução, da Universidade Federal de Goiás.

11.5.4 Ressonância Magnética Nuclear

Análises de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram realizadas em Espectrômetro de RMN Avance 400 MHz, operando a 9,4 T, da fabricante Bruker, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná.

11.5.5 Análise termogravimétrica

Medidas de análise termogravimétrica foram feitas em equipamento (DSC/TG modelo STA 449 F3 Jupiter, NETZSCH) disponível no Laboratório de Materiais Avançados, do Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da UFC. As medidas foram realizadas usando-se taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em atmosfera de ar sintético, e em cadinho de alumina, até temperatura de 800 $^{\circ}\text{C}$.

11.5.6 Isotermas de Adsorção/dessorção de N₂.

As propriedades texturais foram analisadas a partir de isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio a -196 °C, usando um analisador de área de superfície Belsorp mini II da BEL JAPAN, INC, do LAMFA Laboratório de Materiais Funcionais Avançados (LAFMA), do Departamento de Física da Matéria Condensada - UFC. Antes das análises, as amostras foram tratadas a 120 °C por 12h sob fluxo de N₂. Área de superfície específica (S_{BET}) foi calculada utilizando o método Brunauer-Emmette-Teller (BET), a área superficial específica de microporos (S_{mic}) foi calculada pelo método t-plot, enquanto a curva de distribuição do tamanho dos poros foi obtida pelo método Barrett-Joyner-Halenda (BJH) e o volume de microporos calculado pelo método MP.

11.5.7 Imobilização enzimática

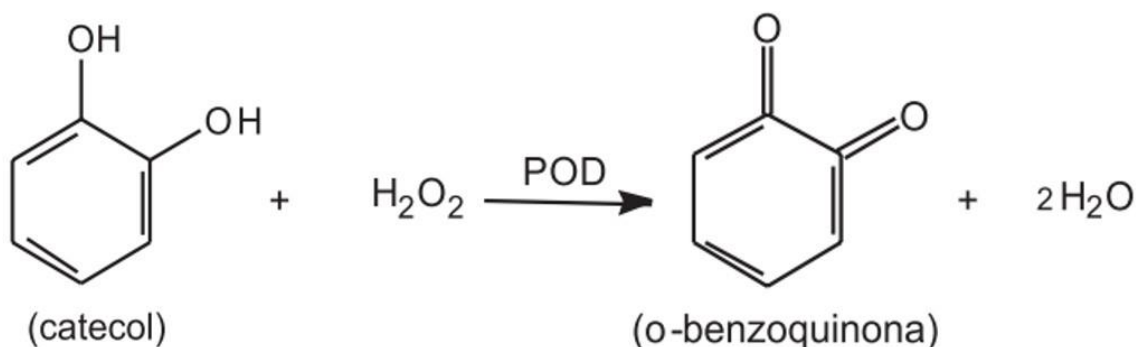
Foram preparados 3,0 L de solução tampão fosfato a partir de hidrogenofosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) e hidrogenofosfato dissódico (Na₂HPO₄). A solução enzimática foi preparada a partir do extrato da casca de batata doce (*Ipomoea batatas*), no qual, 100 g do material foram adicionados a 1 L de solução tampão fosfato e processados em liquidificador. O extrato foi filtrado em uma peneira com malha de 200 mesh e armazenado sob refrigeração.

Do extrato enzimático preparado anteriormente, foram transferidos 20 mL para um balão de fundo redondo de 25 mL onde foram adicionados 240 mg da amostra de materiais mesoporosos aminofuncionalizados (MPC-APTES e MPF-APTES). O recipiente foi fechado e colocado em banho de gelo, com temperatura média de 4 °C, sendo então submetido à agitação orbital durante 3 h. O material foi centrifugado a 4.000 rpm, a 4 °C, em seguida, lavado três vezes com solução tampão fosfato.

11.5.8 Testes catalíticos

A enzima peroxidase, assim com as polifenoloxidase, possuem atividade enzimática específicas na reação de oxidação de compostos fenólicos, em presença de peróxido de hidrogênio. Nessa reação, são obtidas quinonas (Figura 31) que, logo após a oxidação não enzimática, na presença de O₂, polimerizam, formando uma coloração escura no tecido vegetal⁸⁶.

Figura 31. Esquema das reações de escurecimento enzimático dos compostos fenólicos pela enzima peroxidase (POD).



Fonte: Moretti, C. L. (2007).⁸⁶

A determinação das atividades da solução enzimática, do sobrenadante e das lavagens do processo de imobilização foi realizada seguindo protocolo padrão da Sigma-Aldrich. Foram usadas duas cubetas de vidro com capacidade de 3,0 mL. A cada uma delas, adicionou-se 2,10 mL de água deionizada, 0,320 mL de solução tampão fosfato, 0,160 mL de H₂O₂ 0,5% p/p e 0,320 mL de catecol 5% m/m. Uma das cubetas foi usada no teste de branco onde se adicionou 0,100 mL de solução tampão fosfato. Outra cubeta foi usada para a determinação da atividade da solução enzimática, onde se adicionou 0,100 mL desta última. As misturas foram agitadas por imersão e tiveram a absorbância monitorada em 410 nm, usando um espectrofotômetro ultravioleta-visível, da marca Shimadzu, modelo UV-1800 (220V), com leituras feitas em intervalos de 1 s, até se verificar absorbância constante. Os cálculos das atividades das soluções enzimáticas tamponadas com fosfato foram realizados a partir do $\Delta A_{410\text{nm}}/20\text{ s}$ usando a região de coeficiente angular máximo, aplicando-se a equação a seguir⁸⁷:

$$\frac{((\Delta A_{410\text{nm}}/20\text{ s})_{\text{teste}} - (\Delta A_{410\text{nm}}/20\text{ s})_{\text{branco}}) \times 3 \times df \times 0,1}{12}$$

No qual:

3 é o volume, em mL, da solução de análise;

df é o fator de diluição;

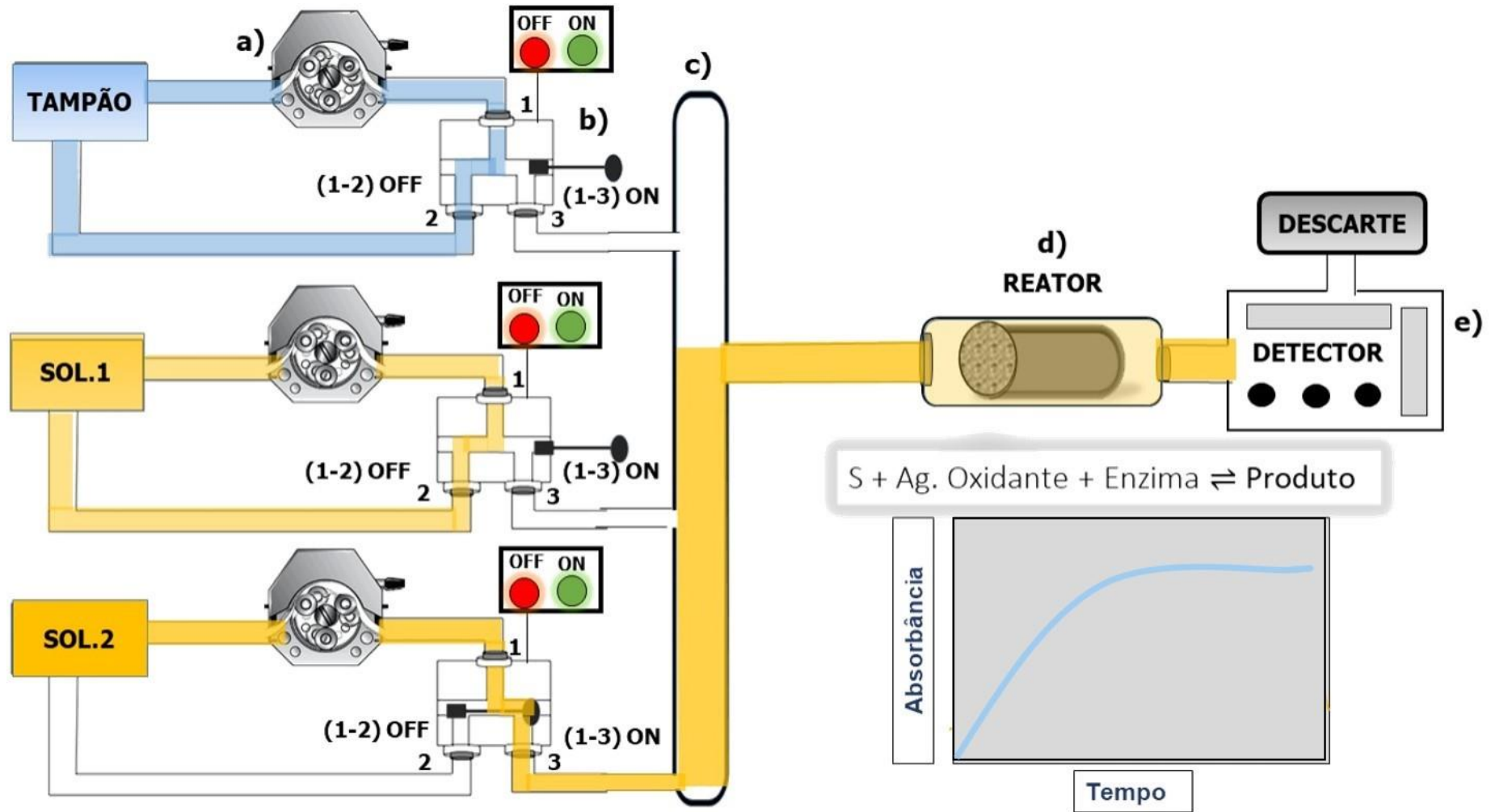
12 é o coeficiente de extinção aproximado de 1 mg mL⁻¹ de 1,2-benzoquinona em 410 nm;

0,1 é volume, em mL, da solução enzimática usada.

11.5.9 Ensaaios catalíticos usando sistema de injeção em fluxo

Para a execução dos testes catalíticos, a serem realizados com acompanhamento espectrofotométrico de reações modelos, fazendo uso dos materiais apresentados neste trabalho que servirão como suporte para a imobilização de enzimas, gerando assim um biocatalisador, foi projetado e montado um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA). O sistema FIA permite que diversas variáveis inerentes às propriedades do biocatalisador sejam estudadas (tais como capacidade máxima de conversão, efeito da concentração do substrato, efeito do fluxo etc.) uma vez que seus sistemas de comutação e conexões comportam várias configurações, o que confere maior praticidade aos procedimentos de análise e maior agilidade na obtenção e tratamento de dados. A capacidade máxima de conversão do biocatalisador é conduzida em sistema FIA com arranjo como mostrado na Figura 32, onde a enzima funcionalizada é introduzida em reator (tubo cilíndrico de vidro), por onde passará o substrato a ser catalisado.

Figura 32. Esquema de análise de injeção em fluxo para determinação de capacidade máxima de conversão. As setas indicam o sentido do fluxo das soluções usadas no sistema. A bomba peristáltica mantém o fluxo contínuo e as válvulas solenoides determinam qual o sentido das soluções durante o processo.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

O dispositivo desenvolvido é composto por um conjunto de válvulas solenoides de três vias, com uma conexão de entrada e duas de saída, capazes de alterar o fluxo de soluções usadas no sistema, através de um controle de comutação, onde são coordenadas as amostras que entrarão em refluxo (retorno da solução aos seus recipientes de origem) e as amostras que passam pelo reator contendo o suporte macro-mesoporoso com a enzima imobilizada, e em seguida, pelo detector (espectrofotômetro de UV- Vis).

11.5.10 Sistema de comutação para testes catalíticos

O protótipo do sistema de fluxo contínuo (FIA) desenvolvido com o intuito de monitorar testes catalíticos, envolvendo as enzimas imobilizadas nos suportes mesoporosos hierárquicos, é exibido na Figura 33. O controlador foi desenvolvido em colaboração com o departamento de computação da UFERSA, e tem como principal função, variar os parâmetros de fluxo em todas as válvulas solenoides usadas no sistema. Para manter o fluxo das soluções utilizadas nos experimentos com o sistema de comutação construído, foi conectada uma bomba peristáltica, modelo Minipuls 3, da marca GILSON, com capacidade para 4 mangueiras em fluxo. Para os monitoramentos dos testes catalíticos, foi utilizada uma cubeta de fluxo contínuo, acoplada a um espectrofotômetro ultravioleta-visível, da marca Shimadzu, modelo UV-1800 (220V), com tela de cristal líquido, controlado por PC e interface USB, para os monitoramentos dos testes catalíticos.

Figura 33. Sistema de comutação acoplado a bomba peristáltica. Em destaque, na cor verde, os frascos contendo a solução tampão e o substrato, as válvulas solenoides, a bomba peristáltica (responsável por manter o fluxo contínuo), o controlador, o bloco de convergência, reator contendo o suporte hierárquico de celulose bacteriana + material mesoporoso. Em destaque, na cor azul, a cubeta de fluxo onde serão feitas as análises de espectrometria na região do UV-Vis.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Nos frascos estão contidas a solução tampão (a) e a solução de catecol (b). As soluções são conduzidas por tubos tygon (c), com o auxílio de uma bomba peristáltica (d), até as válvulas solenóides (e), responsáveis por determinar quando a solução é encaminhada para o reator contendo suporte hierárquico mesoporoso (contendo a enzima imobilizada) (f), e quais soluções permanecem em refluxo. As funções desenvolvidas pelas válvulas, incluindo tempo de fluxo para cada solução, durante os experimentos, são determinados pelo controlador dos comutadores (g). Saindo das válvulas solenóides, as soluções passam pelo bloco de convergência (h), pelo reator, e são analisadas em um espectrofotômetro de UV-Vis (i), através de uma cubeta de fluxo (j) para, em seguida, serem descartadas (l).

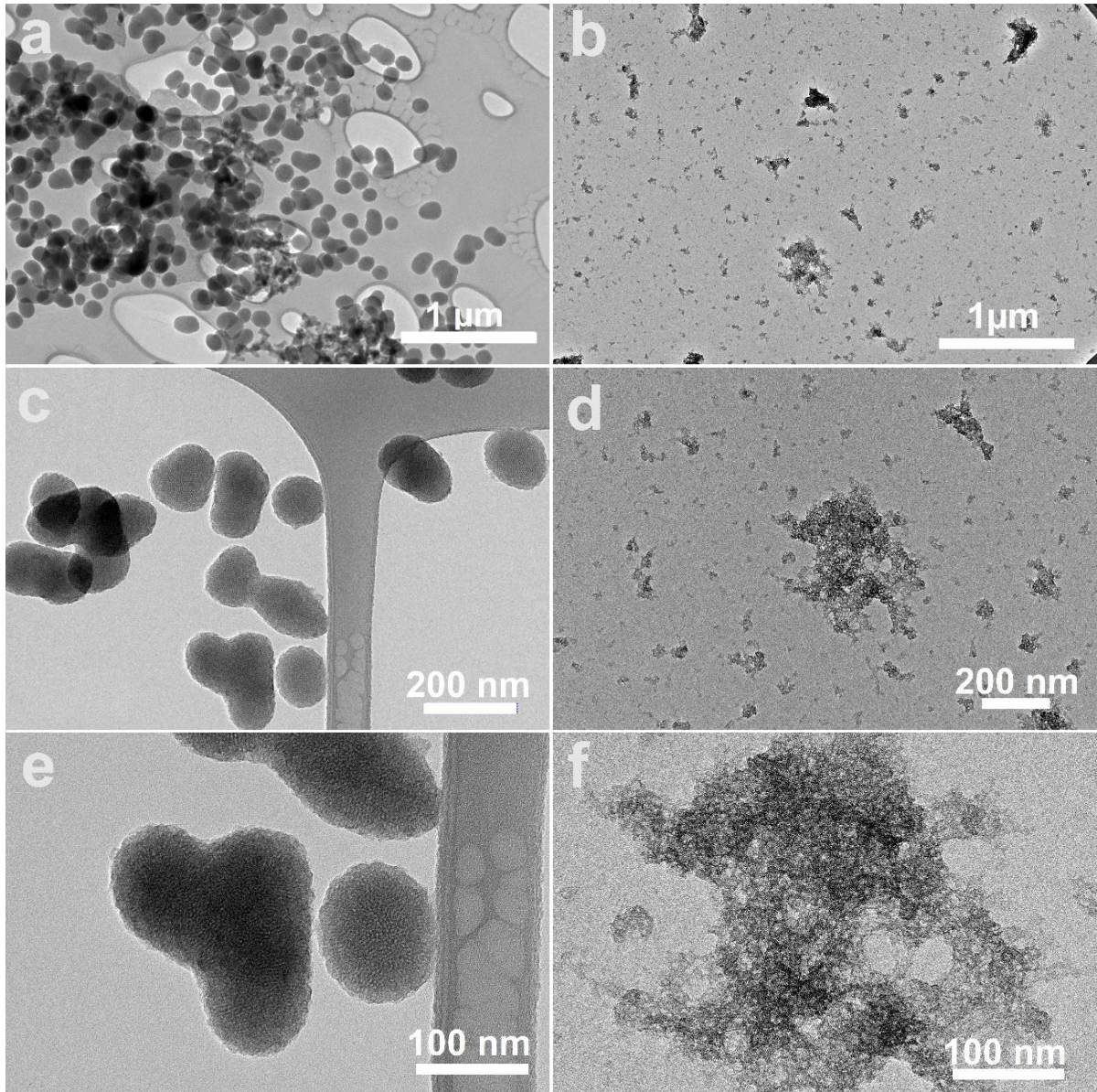
12 RESULTADOS E DISCUSSÃO

12.1 Caracterização

12.1.1 Microscopias Eletrônicas de Varredura e Transmissão

As micrografias eletrônicas de transmissão dos materiais mesoporosos sintetizados estão na Figura 34. As partículas de mesoporos MPC-APTES possuem uma conformação oval (Figuras 34a, 34c e 34e), com tamanhos de partículas variando entre 100 e 200 μm . As partículas de mesoporos a base de Pluronic F-127 não possuem uma configuração definida (Figuras 34b, 34d e 34f), com tamanhos de partículas bem variados (de 20 a 300 μm).

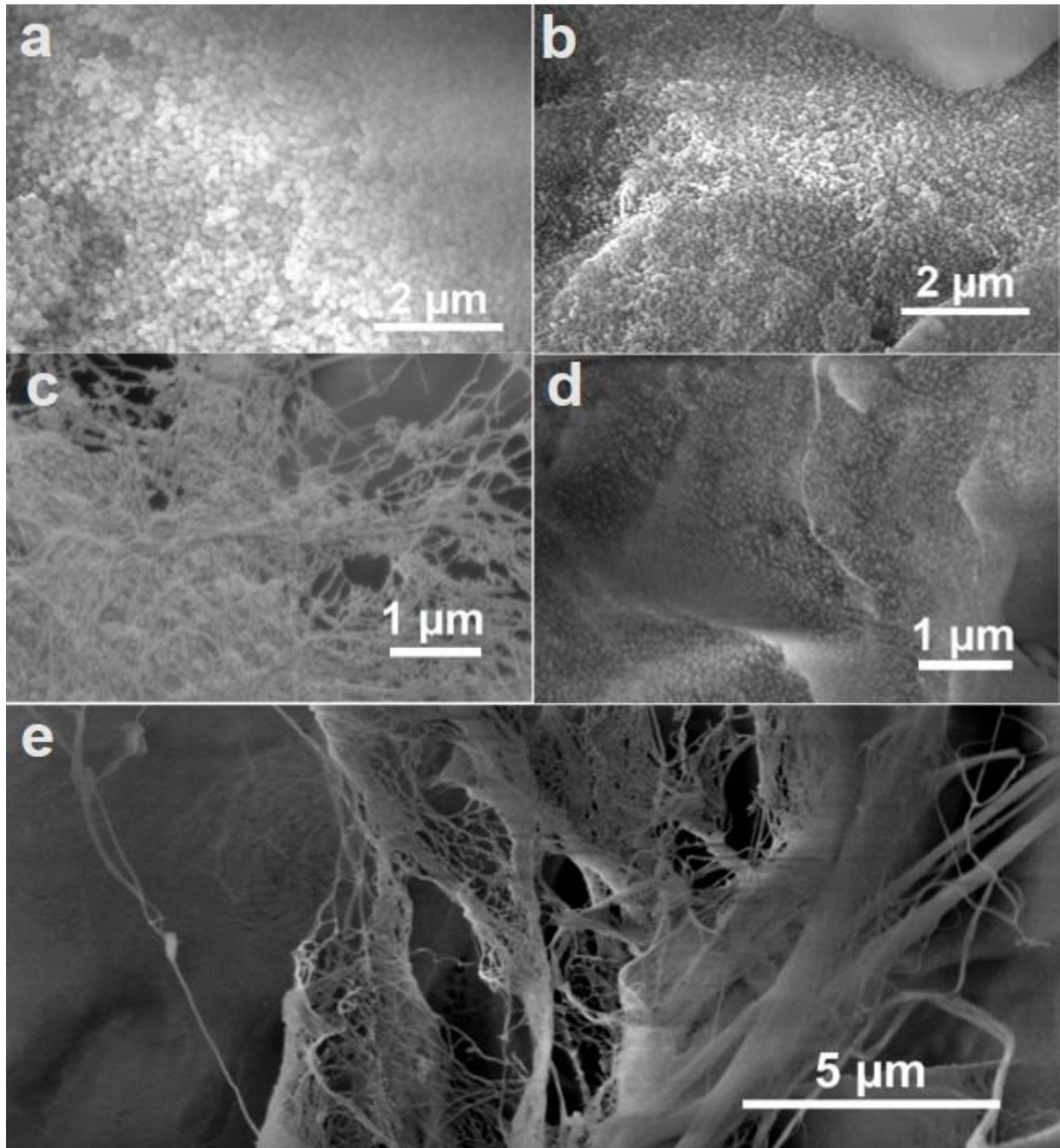
Figura 34. Imagens de microscopia eletrônica de transmissão dos materiais mesoporosos MPC-APTES (a, c e e) e dos materiais mesoporosos MPF-APTES (b, d e f).



Fonte: elaborado pelo autor (2019).

Na Figura 35, estão as micrografias obtidas nas análises de microscopia eletrônica de varredura dos materiais mesoporosos. Podem ser observadas partículas com aspecto oval dos materiais mesoporosos MPC-APTES na Figura 35a, e as partículas disformes dos materiais mesoporosos MPF-APTES. Nas Figuras 35c e 35d, são exibidas as partículas de mesoporos incorporadas nas matrizes de celulose bacteriana. É possível notar as partículas fixas na superfície das fibras de celulose, e, comparando com a Figura 35e, os materiais mesoporosos aderem de forma harmônica, nas estruturas de celulose bacteriana.

Figura 35. Imagens de microscopia eletrônica de varredura dos materiais mesoporosos. A esquerda, micrografias dos materiais MPC-APTES (a) e do suporte de celulose com o mesoporos incorporado (c). A direita, as micrografias dos materiais mesoporosos MPF-APTES (b), do suporte de celulose contendo o material mesoporo (d). Abaixo, a micrografia do suporte de celulose sem material mesoporoso (e).



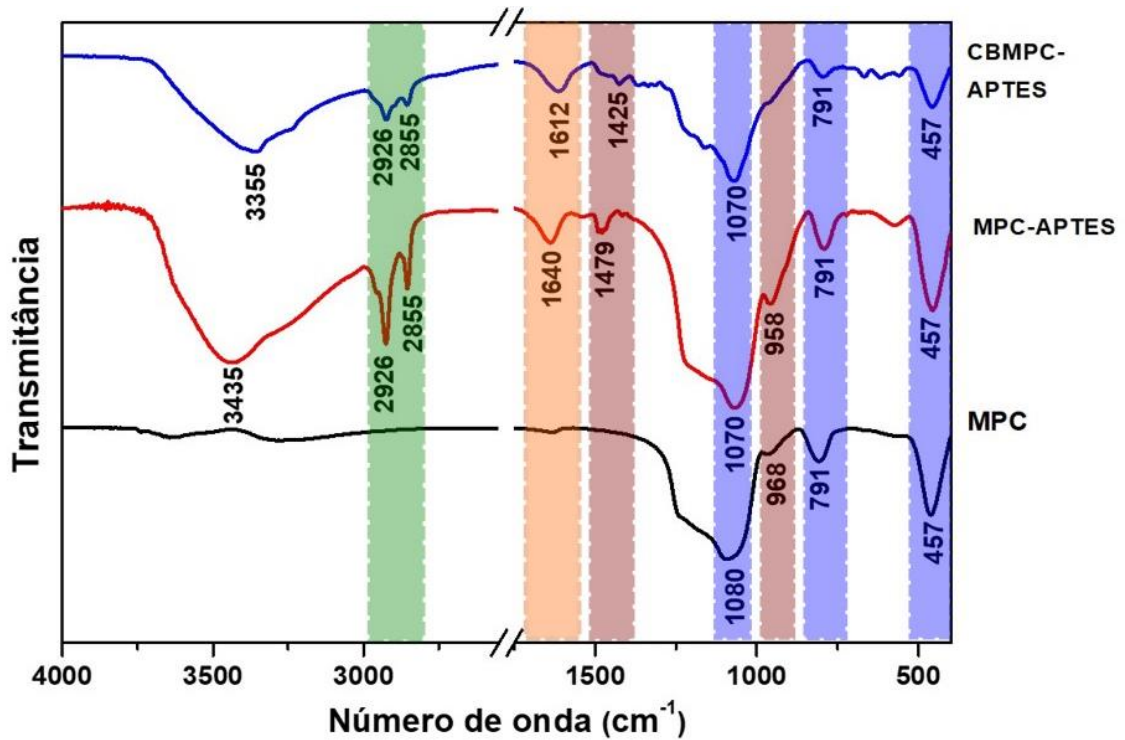
Fonte: elaborado pelo autor (2019).

12.1.2 Espectroscopia na Região do Infravermelho

Nas Figuras 36 e 37 são apresentados os resultados de espectroscopia de absorção na região do infravermelho para os materiais mesoporosos com e sem amino funcionalização, e para os suportes de celulose contendo os materiais mesoporosos amino funcionalizados. Nos espectros de infravermelho das amostras CBMPC-APTES são observadas bandas em torno de 470, 790 e 1070 cm^{-1} , em destaque com as faixas na cor azul, sendo essas bandas correspondentes às vibrações simétricas de estiramento das ligações Si-O-Si.^{88; 89; 90} A banda em torno de 1640 cm^{-1} , em destaque na cor laranja, é provavelmente atribuída à curvatura NH_2 , indicando a presença de amina primária na estrutura. Bandas em torno de 2900 cm^{-1} (faixas de cor verde), podem ser atribuídas às vibrações de estiramento C-H da cadeia alifática, que indicam a ligação das moléculas de APTES, na superfície da sílica mesoporosa.^{91; 92} Nas faixas de coloração vermelha, são observadas uma banda em torno de 1435 cm^{-1} , atribuída à vibração de flexão simétrica de CH_2 , e uma banda em torno de 902 cm^{-1} , que responde à mudança na conformação molecular devido à rotação em torno da ligação β -(1 \rightarrow 4)-D-glucosídica, comum na estrutura da celulose bacteriana.^{93; 94}

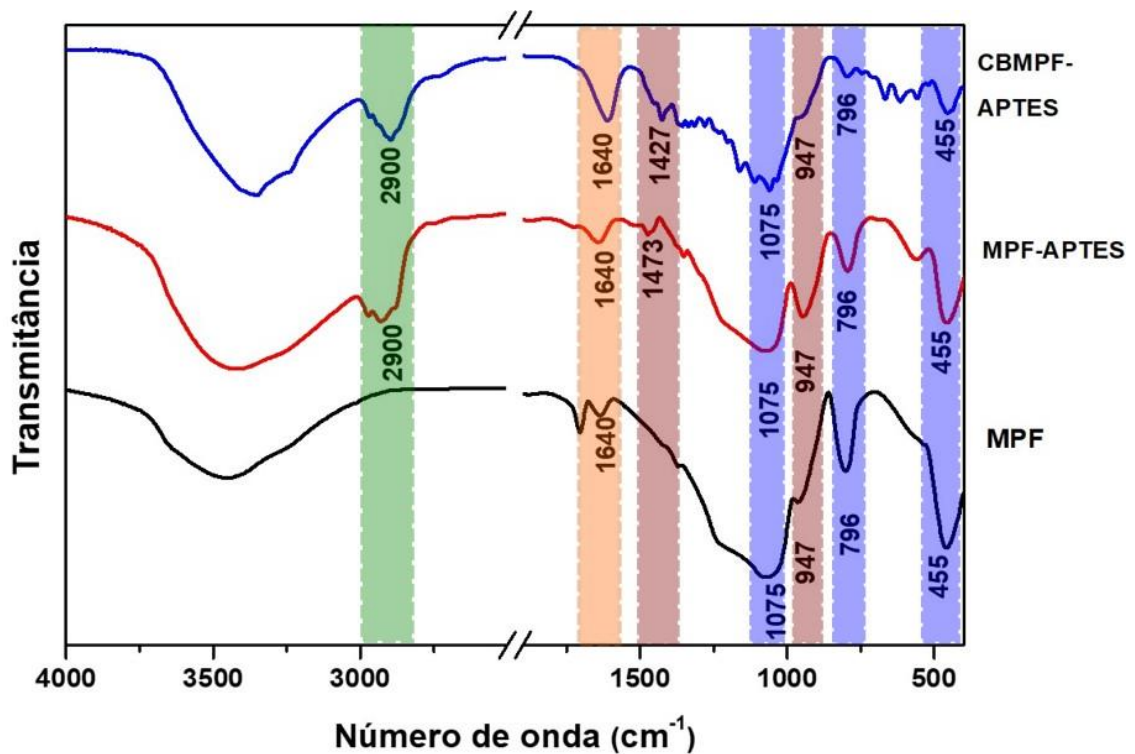
Nos espectros de infravermelho das amostras CBMPF-APTES, são observadas bandas em torno de 460, 790 e 1075 cm^{-1} , sendo essas bandas correspondentes às vibrações simétricas de estiramento das ligações Si-O-Si. A banda em torno de 1640 cm^{-1} , a atribuída à curvatura NH_2 , indicando a presença de amina primária na estrutura. Bandas em torno de 2900 cm^{-1} (faixas de cor verde), podem ser atribuídas às vibrações de estiramento C-H da cadeia alifática, que indicam a ligação das moléculas de APTES, na superfície da sílica mesoporosa. Também são observadas uma banda em torno de 1430 cm^{-1} , atribuída à vibração de flexão simétrica de CH_2 , e uma banda em torno de 950 cm^{-1} , que responde à mudança na conformação molecular devido à rotação em torno da ligação β -(1 \rightarrow 4)-D-glucosídica, comum na estrutura da celulose bacteriana.

Figura 36. Espectros de absorção na região do infravermelho dos materiais mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.



Fonte: elaborado pelo autor (2019).

Figura 37. Espectros de absorção na região do infravermelho dos materiais mesoporosos a base de Pluronic F-127, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.



Fonte: elaborado pelo autor (2019).

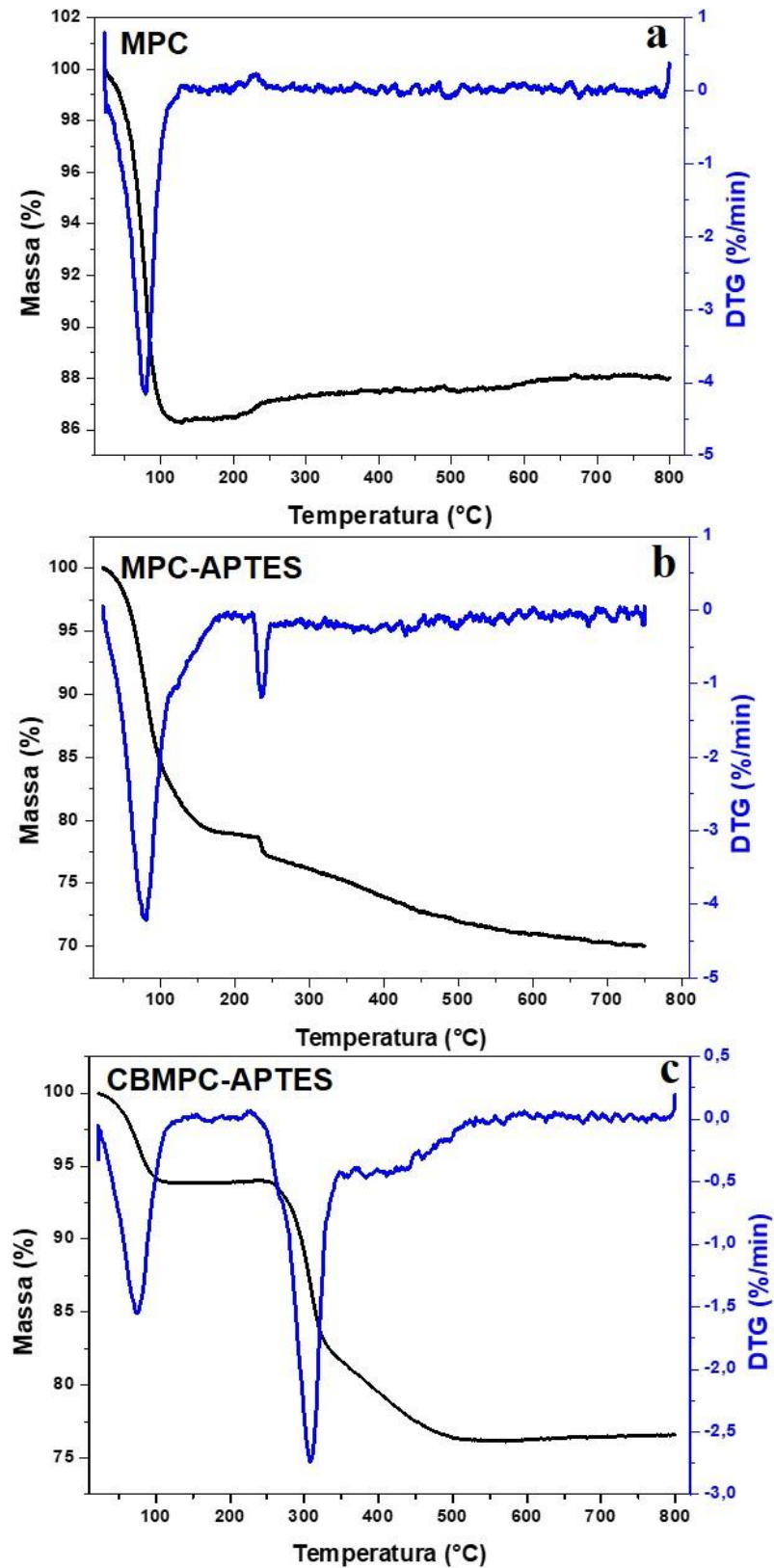
12.1.3 Análise Termogravimétrica

Nas Figuras 38 e 39 são apresentadas os termogramas dos materiais mesoporosos e dos suportes de celulose contendo os materiais mesoporosos. Nas análises de termogravimetria das amostras MPC e MPF (Figuras 38a e 39a), foram observadas perdas de massa faixa de 100 a 150 °C, correspondente as moléculas de água contidas nos materiais mesoporosos. Após a perda de massa correspondente a água (em torno de 13%), não houve redução na massa, com o aumento de temperatura. Esse resultado já era esperado, pois os materiais mesoporosos MPC e MPF, passaram por um processo de calcinação, para remoção dos direcionadores de poros.

Nos materiais MPC-APTES e MPF-APTES (Figuras 38b e 39b), foi observada perda de massa, em torno de 100 °C, correspondente as moléculas de água contidas nos materiais mesoporosos. A perda de massa na faixa de 220-250 °C em parte se deu em decorrência de resquícios dos direcionadores de poros, usados nas sínteses dos materiais e, em parte, pela decomposição do aminofuncionalizante.⁹⁵

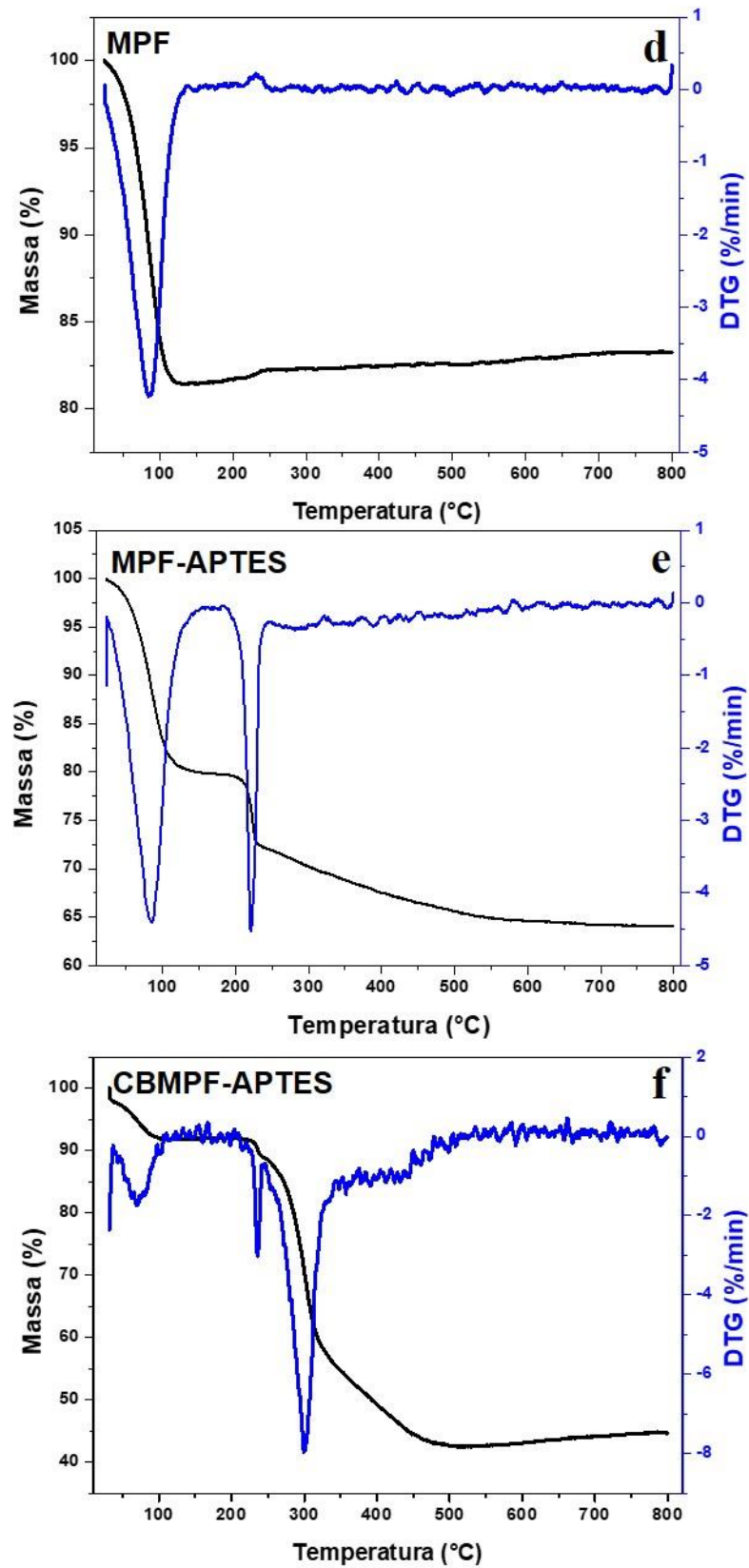
Para os suportes de celulose bacteriana, contendo materiais mesoporosos CBMPC-APTES e CBMPF-APTES (Figuras 38c e 39c), foi observada perda de massa, em torno de 100 °C, correspondente as moléculas de água. A perda de massa na faixa de 250-300 °C, pela decomposição, tanto dos vestígios dos direcionadores de poros e do aminofuncionalizante. As perdas de massa acima de 300 °C, ocorreram em decorrência da decomposição gradual da celulose bacteriana.^{96; 97}

Figura 38. Análise de TG e DTG dos materiais mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.



Fonte: elaborado pelo autor (2020).

Figura 39. Análise de TG e DTG dos materiais mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.

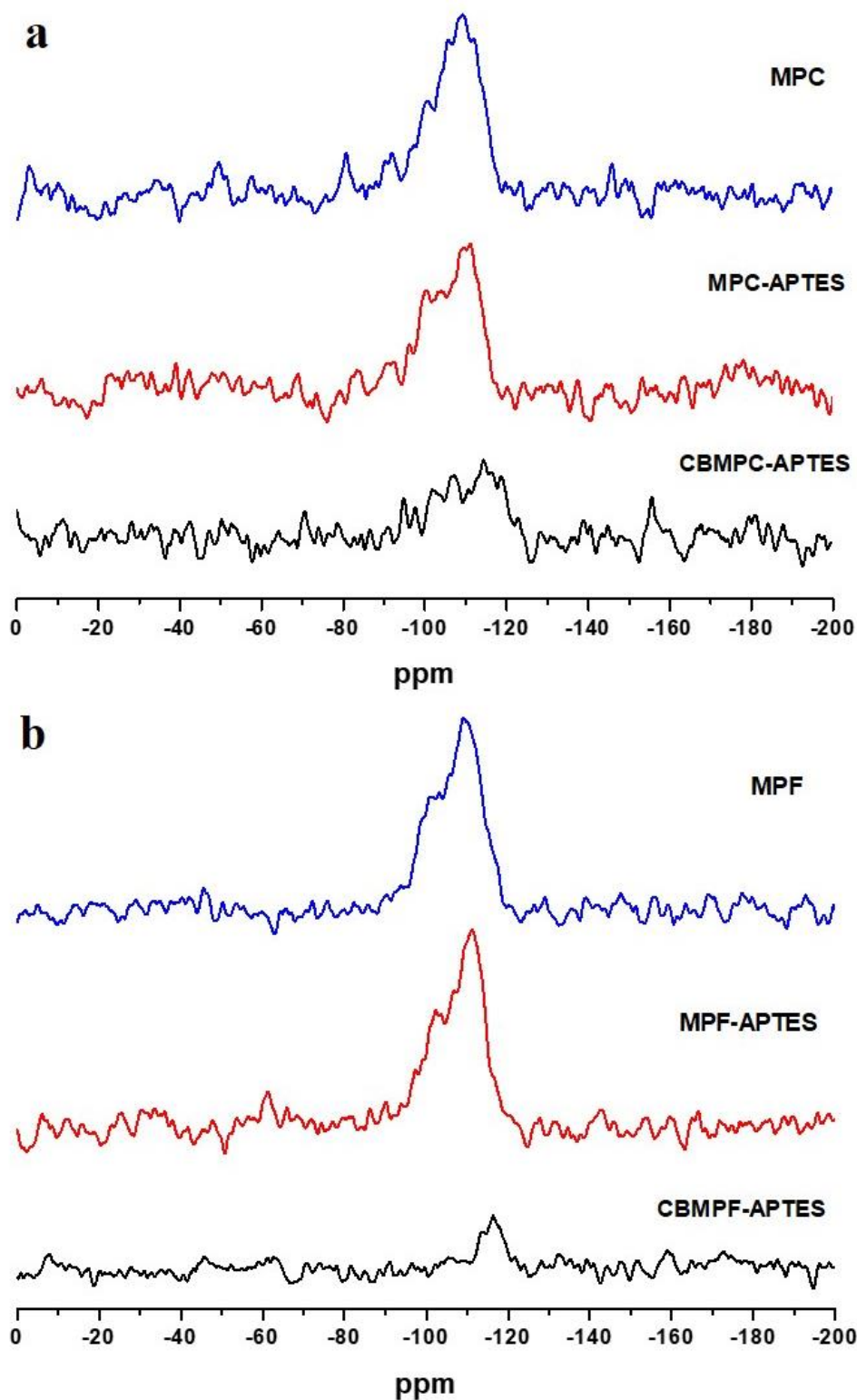


Fonte: elaborado pelo autor (2020).

12.1.4 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear do ^{29}Si dos materiais mesoporosos e dos suportes hierarquizados estão na Figura 40. Para os materiais mesoporosos MPC-SD e MPC-APTES, e para os suportes hierarquizados CAMPC-APTES, são observadas ressonâncias em torno de -111 ppm, correspondentes à presença de grupos denominados Q^4 (átomo de Si ligado a 4 átomos de O) e ressonância na faixa de 101 ppm, referentes a presença de grupos Q^3 (ligação Si – OH).^{98; 99} A redução de intensidade no sinal observado no espectro do suporte CAMPC-APTES, em comparação a amostra MPC-APTES, ocorreu devido a dispersão do material em meio a estrutura de celulose bacteriana. Para os materiais mesoporosos MPF-SD e MPF-APTES e o suporte hierarquizado CAMPF-APTES, foram observadas ressonâncias na faixa de 109 - 113 ppm, referentes a presença de grupos Q^4 . Nos materiais mesoporosos, ficaram mais evidentes as ressonâncias em 101 ppm, correspondentes à presença de grupos Q^3 .

Figura 40. Espectro de ressonância magnética (RMN) do ^{29}Si presente nos materiais mesoporosos. A Figura 40a contém os resultados RMN dos materiais mesoporosos a base de CTAB, dos mesoporos aminofuncionalizados e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados. Na Figura 40b, estão os espectros de RMN dos materiais mesoporosos a base de Plurônio F-127, dos mesoporos aminofuncionalizado e dos suportes de celulose contendo os mesoporos aminofuncionalizados.

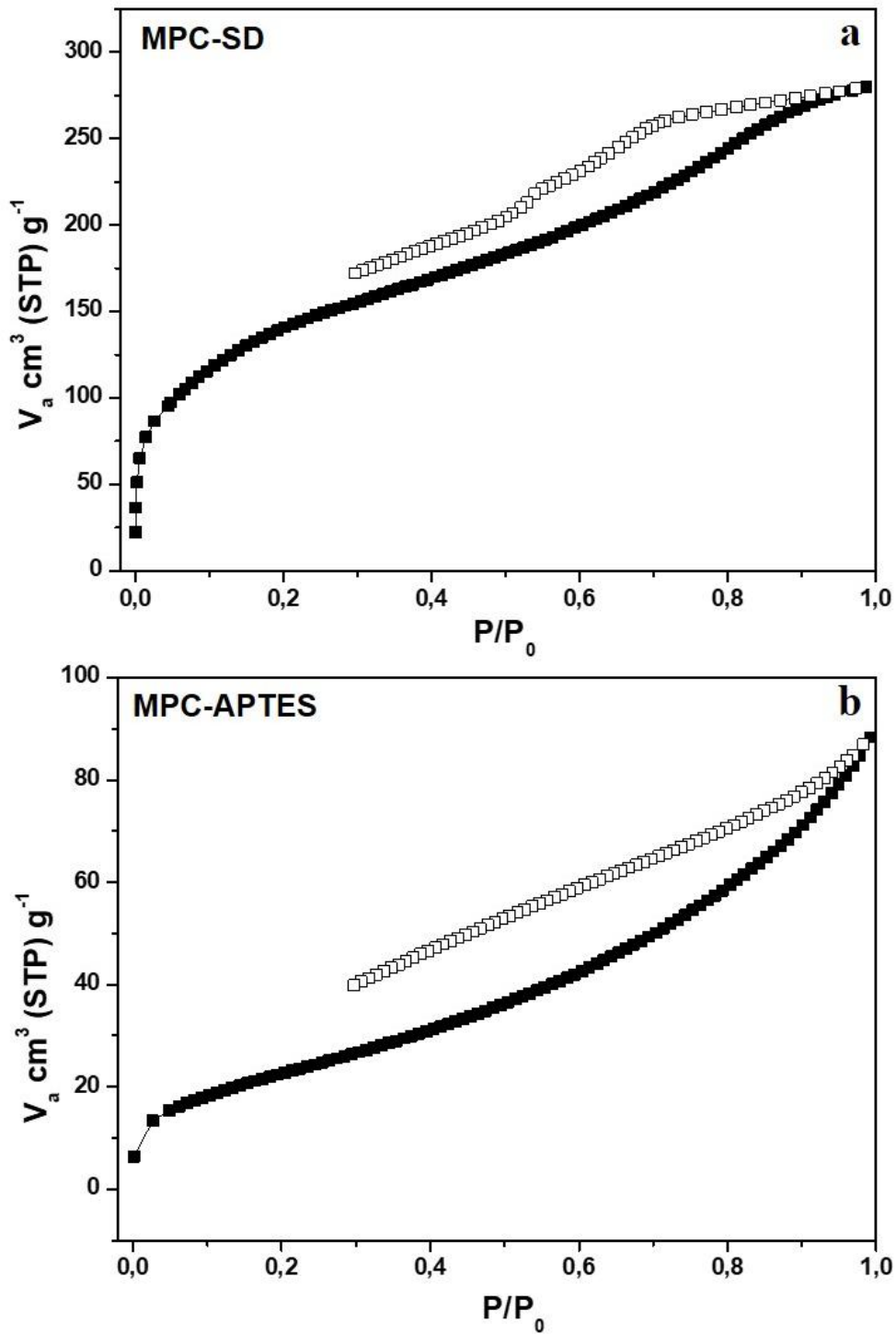


Fonte: elaborado pelo autor (2020).

12.1.5 Análise de Adsorção/Dessorção (Isotermas de BET)

Os resultados obtidos na análise de adsorção /dessorção de N_2 , para os materiais mesoporosos MPC e MPC-APTES estão na Figura 41.

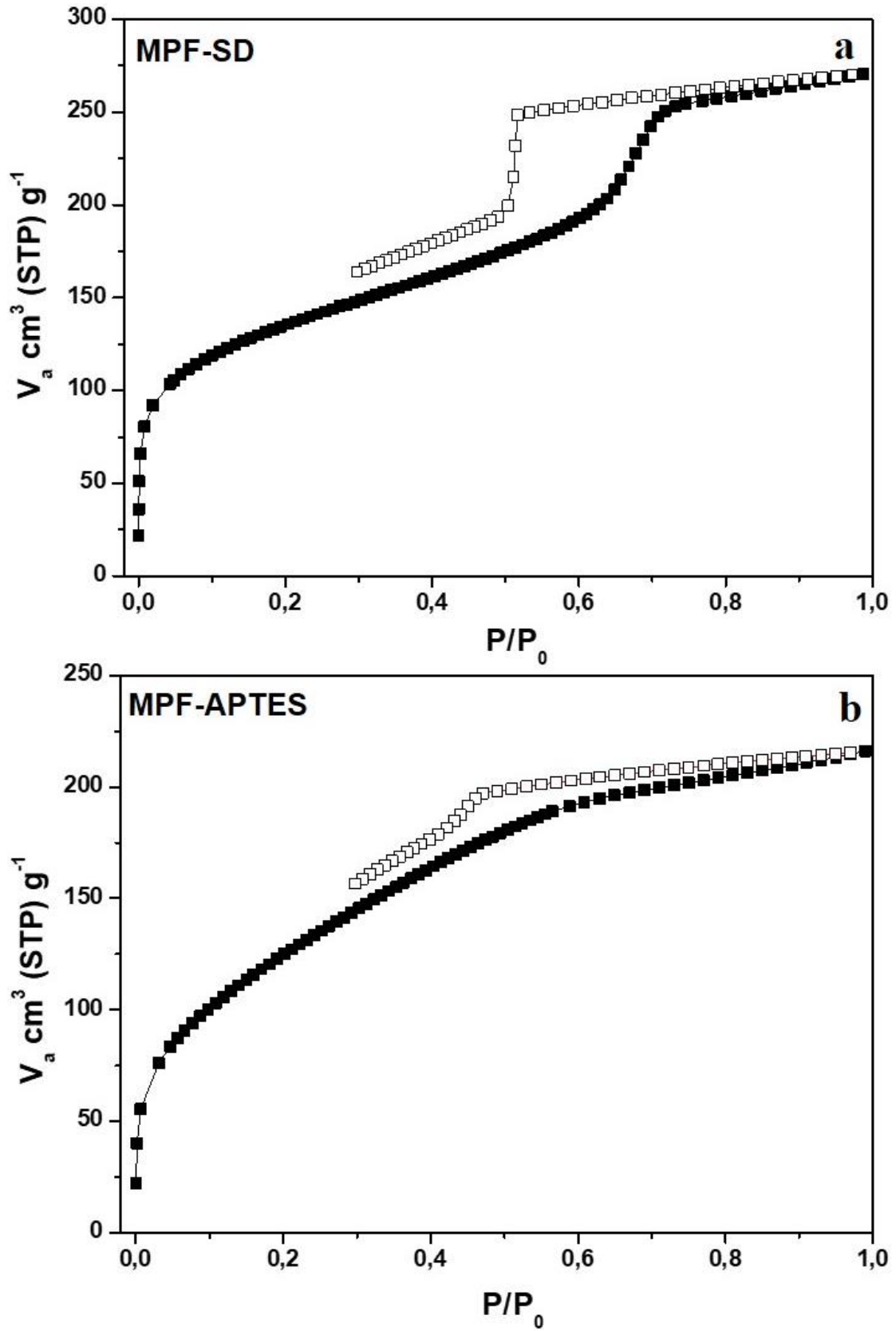
Figura 41. Isotermas de adsorção/dessorção de N_2 , das amostras MPC-SD (a) e MPC-APTES (b).



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

A isoterma de adsorção/dessorção de N₂ da amostra MPC assemelha-se ao perfil de isotermas de adsorção tipo IV que, segundo a classificação da IUPAC, característico de materiais adsorventes mesoporosos¹⁰⁰. Já a isoterma de adsorção/dessorção da amostra MPC-APTES não apresenta um perfil identificável quanto aos parâmetros previstos na literatura, o que pode indicar a formação de poros, com tamanhos irregulares.

Na isoterma de adsorção/dessorção das amostras MPF e MPF-APTES (Figura 42) foi identificado o perfil de isoterma tipo IV. A amostra MPF exibe um ciclo de histerese do tipo H2, observado em materiais mesoporosos da família SBA-16, com um ramo de adsorção de baixa inclinação e um ramo de dessorção íngreme.¹⁰¹ Já a amostra MPF-APTES apresenta um ciclo de histerese semelhante ao tipo H4, geralmente observados com materiais complexos contendo microporos e mesoporos. Uma possível justificativa para esse comportamento seria a existência de agregados não rígidos de partículas em forma de placa, ou conjuntos de poros em forma de fenda e, em princípio, o que pode acarretar em uma avaliação não confiável da distribuição do tamanho dos poros ou do volume total dos poros.¹⁰²

Figura 42. Isotermas de adsorção/dessorção de N₂, das amostras MPF-SD (a) e MPFAPTES (b).

Fonte: elaborado pelo autor (2020).

Os parâmetros texturais medidos pela adsorção de N₂ estão registrados na Tabela 4. Ao avaliar a área de superfície, o volume dos poros e o tamanho dos poros, foi observado que, para o material MPF-APTES, esses parâmetros diminuíram significativamente com o conteúdo de aminopropiltrióxissilano, como poderia ser esperado devido ao inserção de mesoporos com o funcionalizante APTES.

Tabela 4. Parâmetros texturais obtidos por experimentos de adsorção/dessorção de N₂, dos materiais mesoporosos funcionalizados com APTES e os não funcionalizados.

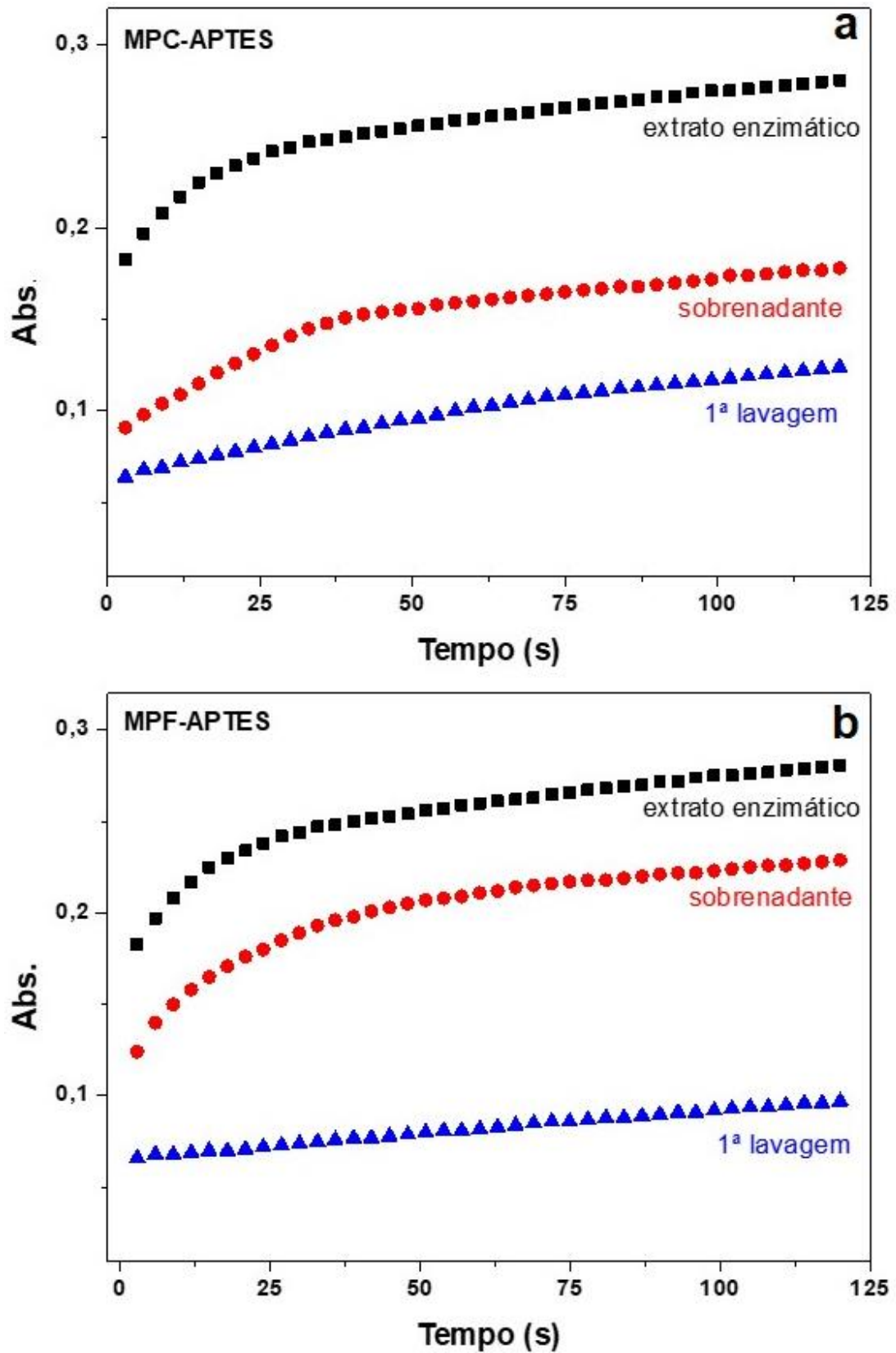
Amostra	Área da superfície total (m² g⁻¹)	Volume total do poro (cm³ g⁻¹)	Diâmetro médio do poro (nm)
MPC-SD	412,59	0,4329	4,1972
MPC-APTES	81,831	0,1358	6,3614
MPF-SD	389,73	0,4184	4,2945
MPF-APTES	413,68	0,3343	3,2322

Fonte: elaborado pelo autor (2021).

12.2 Ensaios catalíticos

Os resultados de variação da absorvância em função do tempo, obtidos nos ensaios de determinação de atividade catalítica do extrato enzimático para os testes de determinação da atividade das soluções enzimáticas, são exibidos na Figura 43.

Figura 43. Determinação de atividade enzimática do extrato enzimática, do sobrenadante após a imobilização e da primeira lavagem dos suporte mesoporosos MPC-APTES (a) e MPF-APTES (b), contendo a enzima imobilizada.

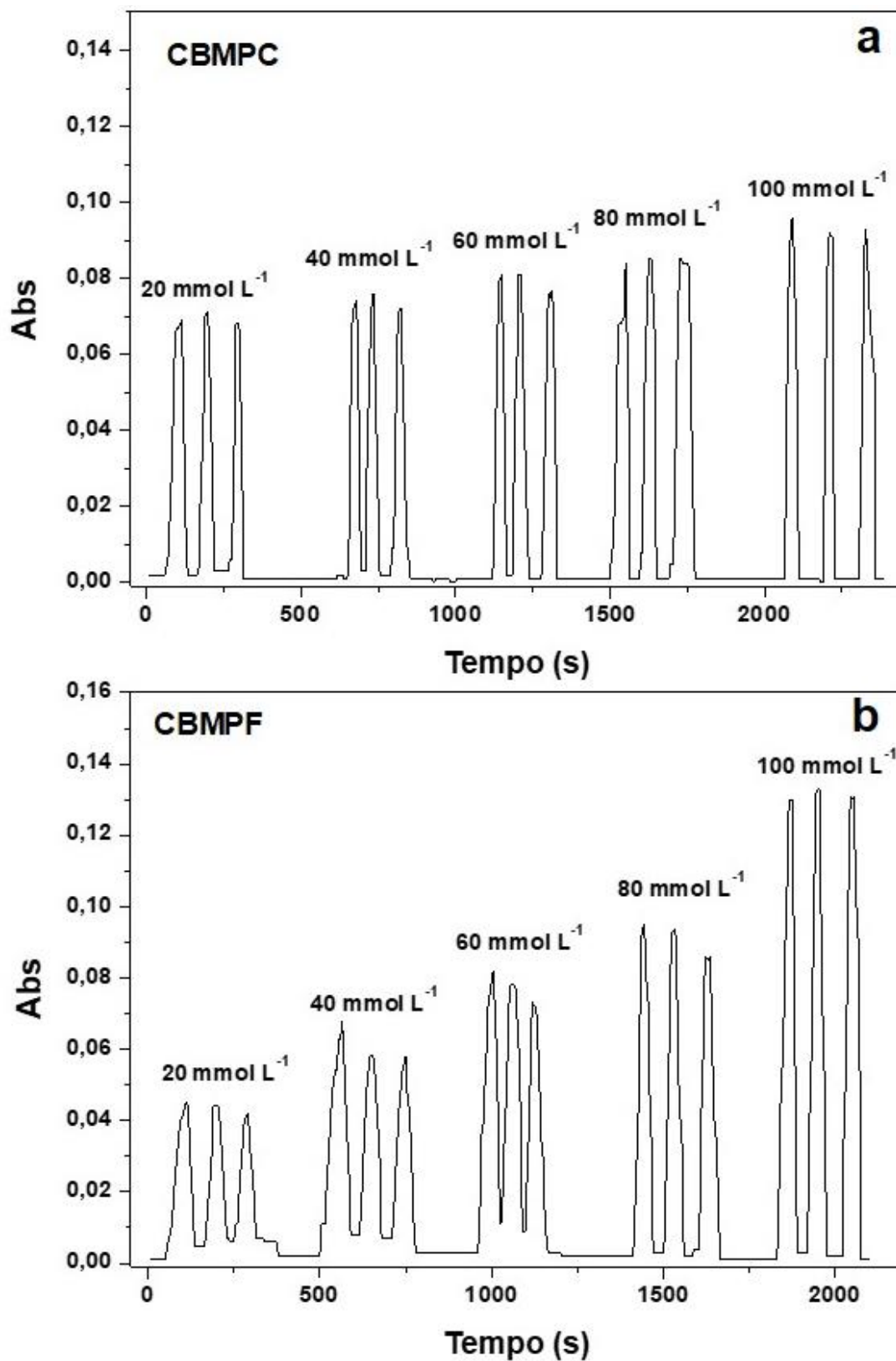


Fonte: elaborado pelo autor (2021).

O extrato enzimático, preparado a partir do processamento da casca de batata doce, apresentou atividade enzimática de 0,0585 unidade mL⁻¹ enzima. Uma unidade significa que 1 mL do extrato enzimático produzirá 1,0 mg de 1,2-benzoquinona a partir do catecol em 20 s de reação em pH 6,00 e a 20 °C. O somatório dos resultados de atividade catalítica do sobrenadante após o processo de imobilização e do sobrenadante após a 1ª lavagem, para o material mesoporoso MPC-APTES, foi de 0,03345 unidade mL⁻¹ enzima e, para o material mesoporoso MPF-APTES, foi de 0,04576 unidade mL⁻¹ enzima. Calculando a diferença entre a atividade enzimática da solução enzimática usada para a imobilização e o somatório das atividades das soluções sobrenadantes, foi estimado um valor de atividade máxima que o biocatalisador produzido pode apresentar. Os valores obtidos correspondem a 0,02505 e 0,01273 unidade mL⁻¹ enzima, para as amostras de MPC-APTES e MPF-APTES, respectivamente. Em valores percentuais, a quantidade de enzima retida no material MPC-APTES foi de 42,8% e, para o material MPF-APTES, foi de 21,8%. Levando em conta que a forma como as enzimas se encontram agregadas à superfície porosa dos suportes pode não favorecer o acesso do substrato ao centro catalítico da enzima, é esperado que a atividade do biocatalisador seja menor que o valor calculado para o extrato enzimático.

O processo de análise química por injeção em fluxo tem como conceito básico a inserção da amostra em um fluido transportador, sob condições hidrotermicamente controladas, que carrega essa amostra para o detector¹⁰³. Nos experimentos realizados nesse trabalho, as análises químicas por injeção em fluxo são empregadas para adicionar um volume fixo de substrato, eluído através de um fluxo constante, até um reator, contendo o biocatalisador sintetizado e este converterá o substrato a um produto, cuja detecção é feita por método espectrofotométrico. Os resultados obtidos durante dos ensaios de conversão do substrato de catecol em 1,2-benzoquinona, por meio da biocatálise em um sistema de injeção em fluxo, em triplicata, são apresentados na Figura 44.

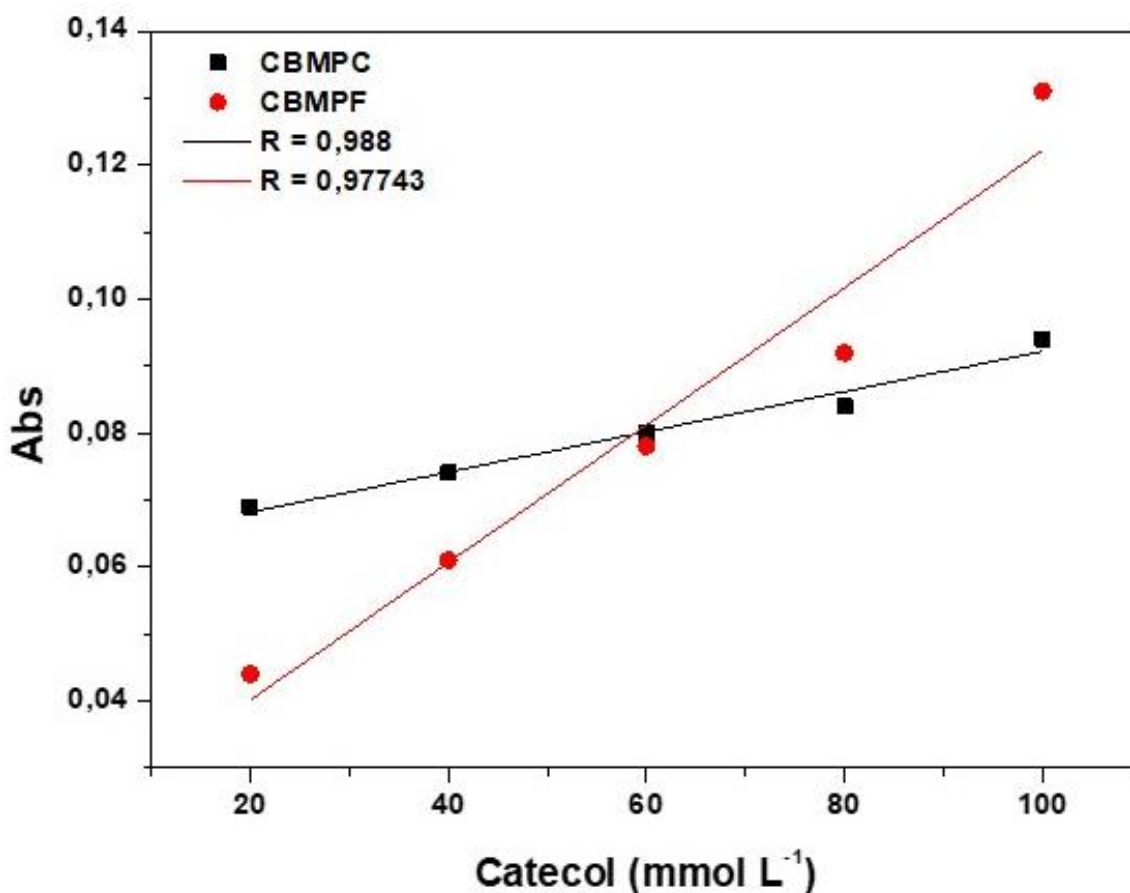
Figura 44. Resultados dos experimentos de biocatálise, por injeção em fluxo, com os suportes CBMPC-APTES (a) e CBMPF-APTES (b), contendo a enzima imobilizada.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Nos resultados dos experimentos de biocatálise com o suporte CBMPC-APTES (Figura 44a), observou-se que os valores das replicatas são semelhantes e esse padrão se mantém com o aumento da concentração de substrato. Ao comparar os sinais obtidos em diferentes concentrações, notou-se apenas um pequeno acréscimo na intensidade das bandas. Para as replicatas dos experimentos de biocatálise com o suporte CBMPC-APTES (Figura 44b), observou-se uma leve alteração nas intensidades de sinal, a medida que a concentração do substrato aumenta. Comparando os testes em diferentes concentrações, houve uma mudança de intensidade de bandas bem maior, em relação aos testes feitos com o suporte CBMPC-APTES. Na faixa de concentrações de substrato, é esperado que haja um comportamento linear entre a resposta do detector e a concentração do substrato. Excetuando situações em que ocorram problemas envolvendo desnaturação ou desprendimentos de enzimas, espera-se que a capacidade do biocatalisador seja constante. Esses resultados são melhor visualizados através da Figura 45.

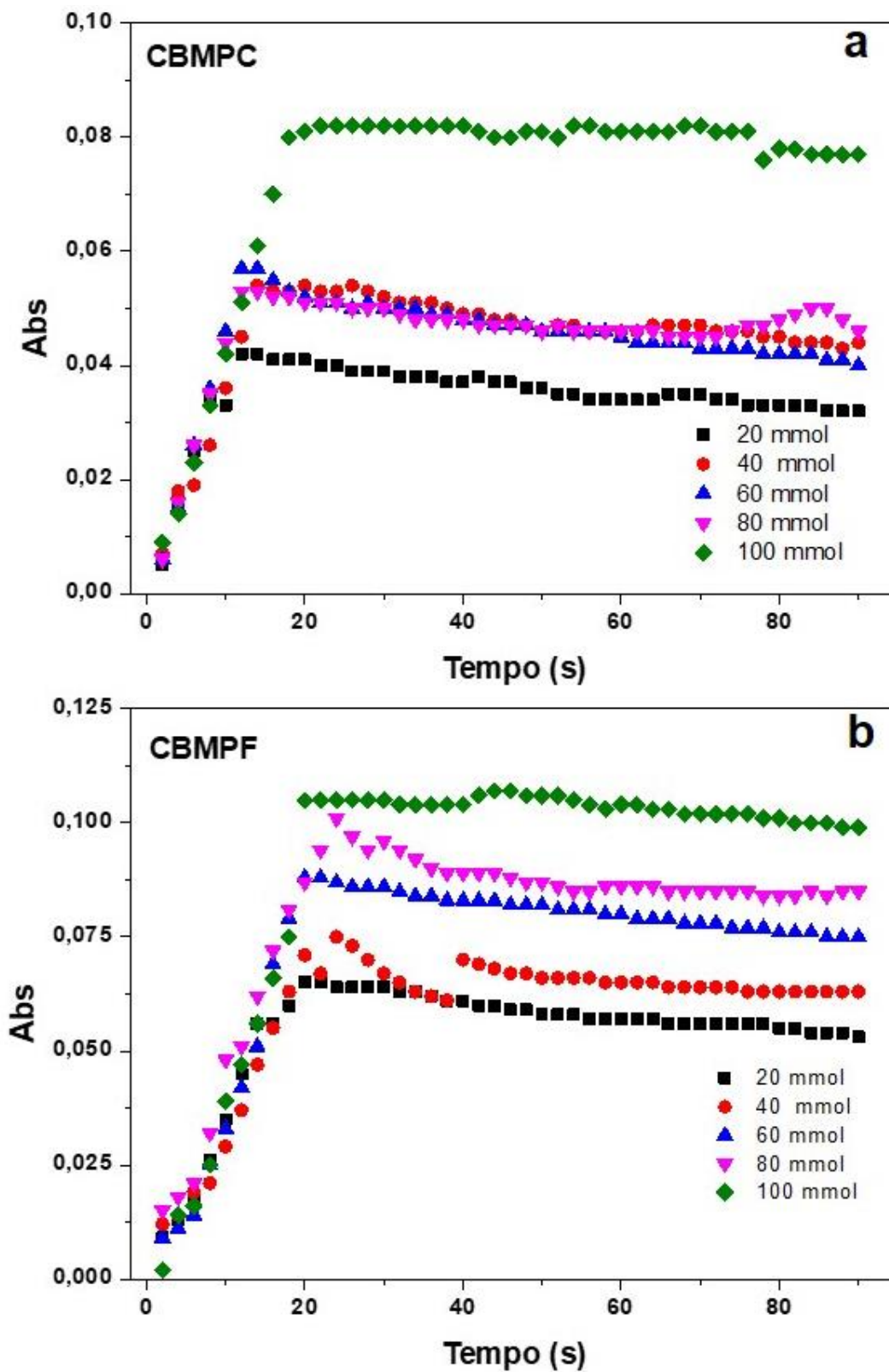
Figura 45. Variação da absorbância em função da concentração de substrato, para os testes catalíticos com os suportes mesoporosos contendo a enzima imobilizada.



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Para a determinação das velocidades iniciais (V_0), foram realizados testes de injeção, a fluxo constante de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$, usando soluções de catecol com diferentes concentrações (20, 40, 60, 80 e 100 mmol L^{-1}). Os resultados destas análises são mostrados na (Figura 46).

Figura 46. Capacidade máxima de conversão do suporte hierárquicos biocatalisadores, em diferentes concentrações, sob fluxo de $2,0 \text{ mL min}^{-1}$.



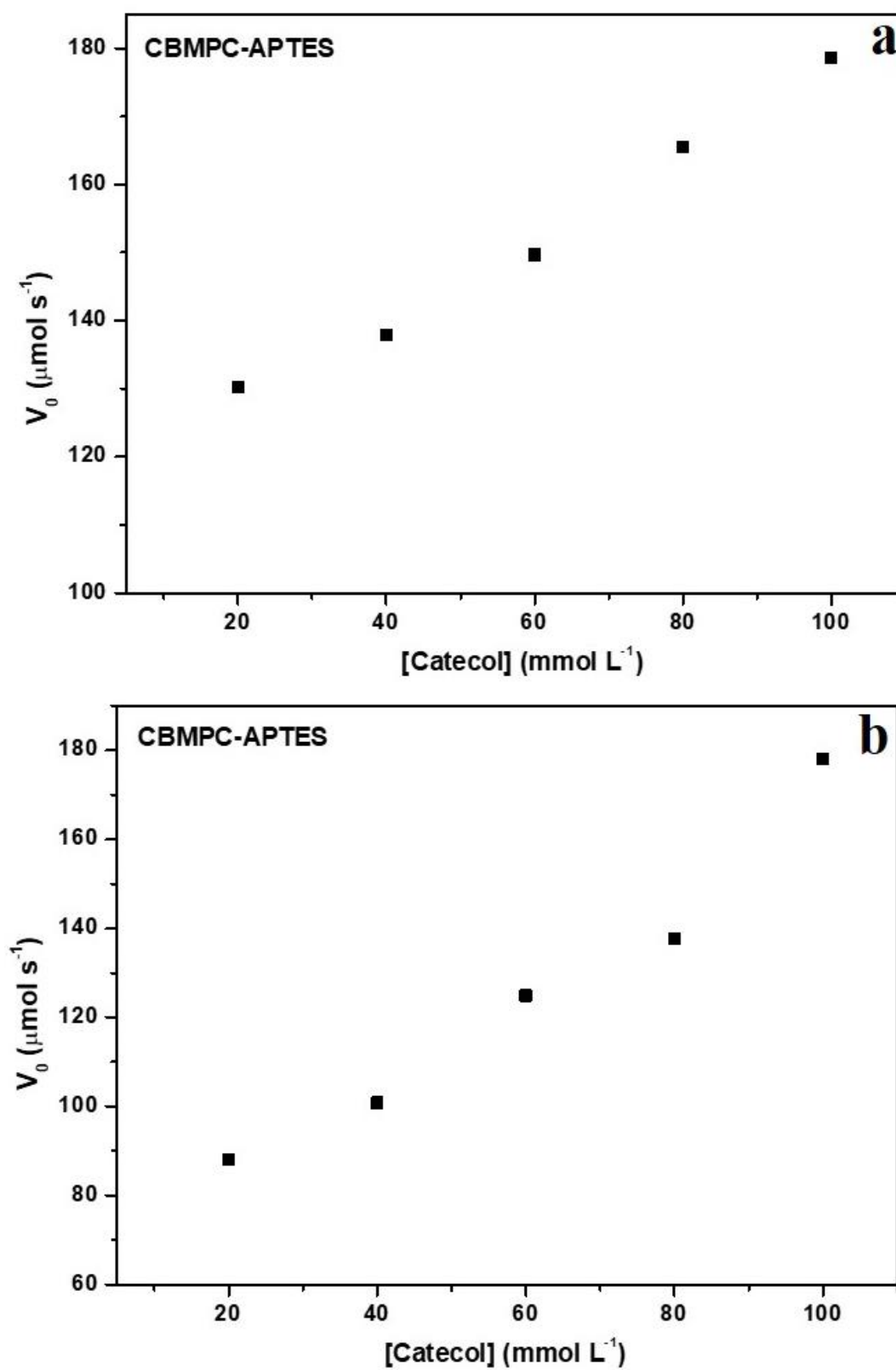
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Em uma reação catalítica, a medida em que a enzima age, a concentração o substrato em solução, diminui em relação ao tempo. Conseqüentemente há formação do produto e a sua concentração aumenta em relação ao tempo. Porém, é possível observar que em ambos suportes hierárquicos contendo a enzima imobilizada, a formação do produto (benzoquinona) é diretamente proporcional ao tempo, apenas nos primeiros segundos de reação. Em determinados pontos dos gráficos, nota-se que os valores de absorbância não aumentam, com o aumento do tempo. Esse fenômeno ocorre, mesmo com o aumento da concentração de substrato. Apesar da concentração elevada de catecol no sistema catalítico, as moléculas de enzimas imobilizadas nos suportes hierárquicos necessitam de tempo para formar o produto. Esse efeito é chamado de Saturação, momento da reação de catálise em que a enzima atinge sua velocidade máxima¹⁰⁴. Comparando-se os resultados de absorbância obtidos nos testes de catálise, envolvendo os dois suportes hierárquicos (CBMPC e CBMPF), a saturação da enzima é atingida nos primeiros 15 segundos de reação, no suporte CBMPC, em concentrações mais baixas. Apenas no experimento com solução de catecol 100 mmol L^{-1} , a saturação foi atingida após 20 segundos de reação. Para o suporte CBMPF, a saturação enzimática ocorreu nos primeiros 25 segundos de reação. Em ambos experimentos de imobilização enzimática, foram observadas respostas rápidas quanto às reações de catálise, o que demonstra eficiência na imobilização de enzimas, nos suportes hierárquicos a base de sílica aminofuncionalizada e celulose bacteriana.

É possível estimar as velocidades máximas, para cada concentração, levando em consideração um comportamento linear nos primeiros segundos em que a reação se processa, isto é, a velocidade inicial equivale a tangente nesta região. Baseado no modelo de Michaelis-Menten¹⁰⁵, a velocidade inicial, de uma reação catalisada por enzimas, deve aumentar logaritmicamente em proporção ao aumento da concentração do substrato.

Ao utilizar os dados extraídos do gráfico mostrado na Figura 47, efetuando as devidas considerações, foi obtido o gráfico da velocidade inicial da reação de conversão do catecol, catalisada pelos suportes hierárquicos biocatalisadores gerados, em função da concentração do substrato.

Figura 47. Influência da concentração do substrato sobre velocidade inicial da reação, nos experimentos envolvendo o biocatalisador CBMPC-APTES (a) e o biocatalisador CBMPF-APTES (b).



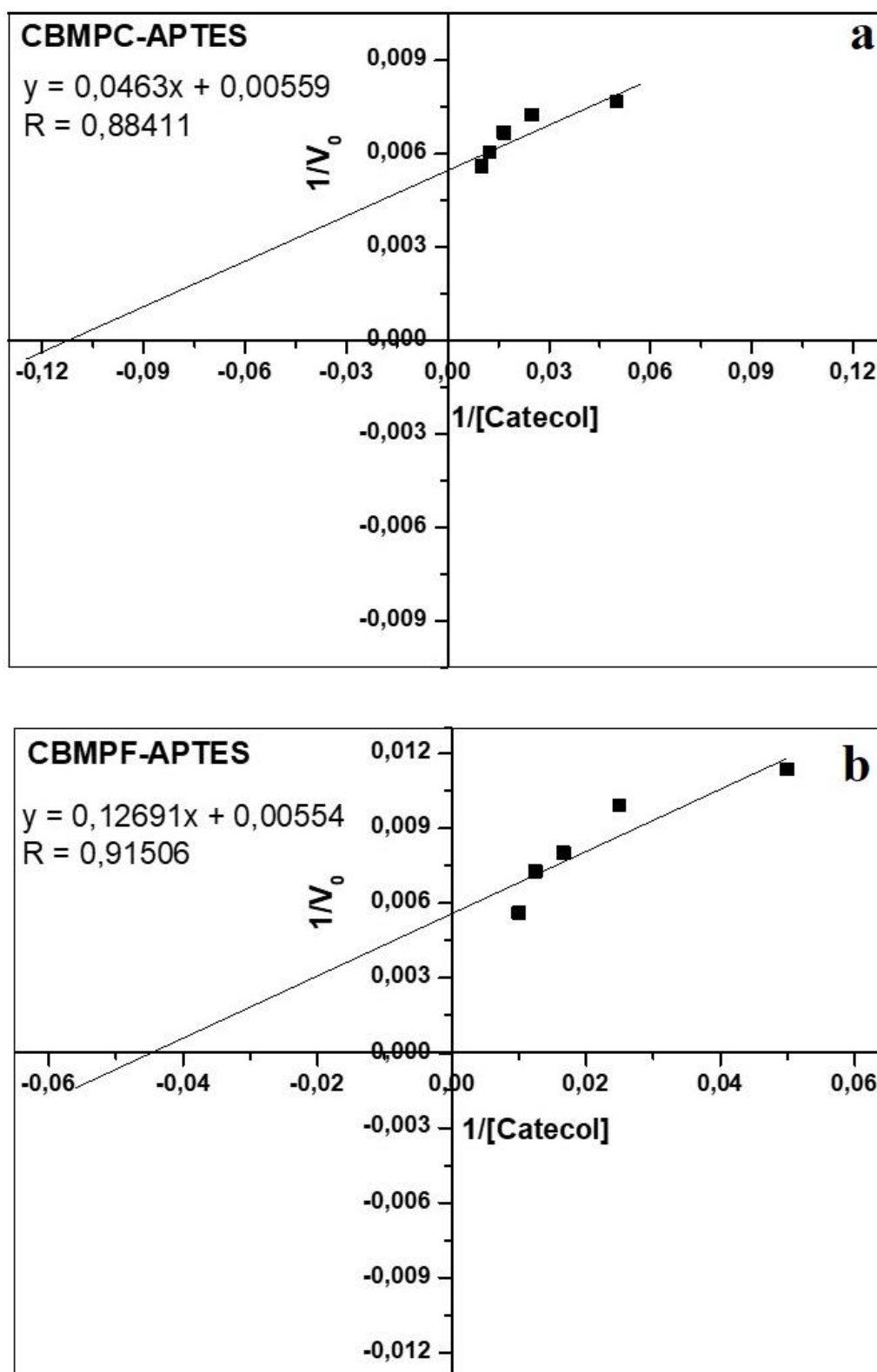
Fonte: elaborado pelo autor (2021).

Em ambos os gráficos, não foi observado especificamente o comportamento logarítmico esperado. Porém, os parâmetros cinéticos foram obtidos a partir da transformação algébrica da equação de Michaelis-Menten, obtendo-se a forma conhecida como a equação de Lineweaver-Burk¹⁰⁶:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

Assumindo que os suportes hierárquicos biocatalisadores gerados obedecem à equação de Michaelis-Menten, o gráfico de $1/V_0$ em função de $1/[S]$ (denominado gráfico dos duplos recíprocos) deve ter um comportamento linear, com inclinação de K_m/V_{\max} , interceptando o eixo de $1/V_0$ em $1/V_{\max}$ e no eixo de $1/[S]$ em $1/K_m$. Os gráficos dos duplos recíprocos, para ambos suportes hierárquicos biocatalisadores, são apresentados na Figura 48.

Figura 48. Gráficos dos duplos recíprocos, dos experimentos envolvendo o biocatalisador CBMPC-APTES (a) e o biocatalisador CBMPF-APTES (b).



Fonte: elaborado pelo autor (2021).

A partir dos gráficos exibidos na Figura 48, foram determinadas as constantes cinéticas, para ambos biocatalizadores. Para os testes envolvendo o suporte hierárquico CBMPC-APTES, foram obtidos $K_m = 8,28 \text{ mmol L}^{-1}$ e $V_{\max} = 178,9 \text{ } \mu\text{mol s}^{-1}$. Para os testes envolvendo o suporte hierárquico CBMPF-APTES, foram obtidos $K_m = 22,91 \text{ mmol L}^{-1}$ e $V_{\max} = 180,5 \text{ } \mu\text{mol s}^{-1}$. A constante de Michaelis-Menten, (K_m) corresponde à concentração do substrato na qual a velocidade da reação é metade da velocidade máxima (V_{\max}). Esta constante é um importante parâmetro da reação enzimática e fornece uma medida da concentração do substrato para que ocorra uma catálise significativa¹⁰⁴. Os valores de V_{\max} , obtidos para os dois suportes biocatalisadores, foram muito próximos, mostrando que os materiais hierárquicos não se diferem, no que diz respeito a influência na velocidade de reação da enzima com o substrato. Quanto maior for K_m , menor é a afinidade da enzima pelo substrato, pois uma maior concentração de substrato é requerida para que se alcance a metade de V_{\max} . Baseado nessa informação, foram comparados os valores de K_m , determinados nos experimentos de velocidade reacional e, foi verificado que, a afinidade das enzimas imobilizadas com o substrato catecol, é menor, para os experimentos com o suporte CBMPF-APTES, com valores da constante K_m , quase 3 vezes maior que o valor obtido nos experimentos envolvendo o suporte CBMPC-APTES.

13 CONCLUSÃO

A síntese da zeólita NaA sobre filamentos de vidro aglomerados, se mostrou eficiente, com cristais zeolíticos crescidos presos à superfície do vidro. O tratamento alcalino, com o tempo de 72 h, mostrou-se mais adequado para o acondicionamento do material vítreo, no qual obteve-se uma rugosidade apreciável em sua superfície, porém, sem comprometer sua estrutura. Esse tipo de material zeolítico permitiu o uso de colunas para processo de abrandamento de água dura, realizado sob fluxo, tomando-se como referência uma solução de Ca^{2+} com concentração proporcional à água muito dura. O material apresentou elevada seletividade para Ca^{2+} na presença de íon Mg^{2+} , assim como se mostrou adequado para o abrandamento de amostras de água de poços artesianos, apresentado resultados promissores e com potencial de regeneração. Ressalta-se que o processo conhecido como zeolitização pode ganhar forma em materiais com formato e dimensões específicas, como o caso de cartuchos ou colunas, o que amplia ainda mais a variedade de possíveis aplicações uma vez que sistemas em fluxo podem ser facilmente trabalhados.

A síntese de materiais hierarquicamente estruturados, em uma combinação de estruturas mesoporosas, composta de SiO_2 , previamente aminofuncionalizado, e um envólucro de matriz orgânica (celulose bacteriana), foi eficientemente realizada dando origem a um sistema macro-mesoporo. As micrografias, em particular, mostram os materiais mesoporosos fixos entre as redes formadas pelas fibras de celulose, após o processo de liofilização. As análises de isotermas de adsorção/dessorção mostram a formação de poros, com dimensões semelhantes aos materiais mesoporosos, pertencentes as famílias MCM-41 e SBA-16. Os materiais hierárquicos CBMPC-APTES e CBMPF-APTES mostraram-se eficientes como suporte para imobilização enzimática, com taxa de retenção enzimática de 42,8 % para o material hierarquizado MPC-APTES e de 21,8 % para o material hierarquizado MPF-APTES.

Tendo em vista que os processos de síntese de materiais de natureza hierárquica, que apresentam uma distribuição de poros em dimensões nanométricas, podem levar a obtenção de novos materiais com características voltadas para aplicações específicas, e que enzimas imobilizadas em ambientes como este podem promover ganhos de eficiência em processos onde há a necessidade de catalisadores altamente específicos, este trabalho resultou no desenvolvimento de novos biocatalizadores, além de permitir uma melhor compreensão dos

mecanismos envolvidos em enzimas imobilizadas, contribuindo assim de forma ativa neste campo de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- 1 QU, X.; ALVAREZ, P. J.; LI, Q. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. **Water research**, 47, n. 12, p. 3931-3946, 2013.
- 2 ABD AZIZ, N. I. Optimization of pH and Contact Time of Media in Removing Calcium and Magnesium from Groundwater. **International Journal of Integrated Engineering**, 11, n. 9, p. 063-072, 2019.
- 3 LUNA, F. J.; SCHUCHARDT, U. Modificação de zeólitas para uso em catálise. **Química nova**, 24, p. 885-892, 2001.
- 4 BARRER, R. M. Zeolites and their synthesis. **Zeolites**, 1, n. 3, p. 130-140, 1981.
- 5 HARTMANN, S.; BRANDHUBER, D.; HÜSING, N. Glycol-modified silanes: novel possibilities for the synthesis of hierarchically organized (hybrid) porous materials. **Accounts of chemical research**, 40, n. 9, p. 885-894, 2007.
- 6 SUN, M.; CHEN, C.; CHEN, L.; SU, B. Hierarchically porous materials: synthesis strategies and emerging applications. **Frontiers of Chemical Science and Engineering**, 10, n. 3, p. 301-347, 2016.
- 7 HELLER, L.; PÁDUA, V. d. Abastecimento de água para consumo humano. rev. e atual. **Belo Horizonte: Editora UFMG**, 1, 2010.
- 8 PORTARIA, M. n. ° 518/2004. **Série E. Legislação Saúde, Ministério da Saúde, Brasília**, 2005.
- 9 SAÚDE, F. N. d. Manual de Controle da Qualidade da Água para Técnicos que Trabalham em ETAS. : Ministério da Saúde Brasília, Brasil 2014.
- 10 LEE, J. Química Inorgânica não tão concisa. 5^a. **São Paulo: Edgard**, 2003.
- 11 BRASIL. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano. : Ministério da Saúde Brasília 2006.
- 12 POHLING, R. **Reações químicas na análise de água**. Arte Visual, 2009.
- 13 MANAHAN, S. **Environmental chemistry**. CRC press, 2017. 1315160471.

- 14 SHAHMIRZADI, M. A. A.; HOSSEINI, S. S.; LUO, J.; ORTIZ, I. Significance, evolution and recent advances in adsorption technology, materials and processes for desalination, water softening and salt removal. **Journal of environmental management**, 215, p. 324-344, 2018.
- 15 GRECCO, S. d. T. F.; RANGEL, M. d. C.; URQUIETA-GONZÁLEZ, E. A. Zeólitas hierarquicamente estruturadas. **Química Nova**, 36, p. 131-142, 2013.
- 16 BACAKOVA, L.; VANDROVCOVA, M.; KOPOVA, I.; JIRKA, I. Applications of zeolites in biotechnology and medicine—a review. **Biomaterials science**, 6, n. 5, p. 974-989, 2018.
- 17 BARRER, R. M. **Zeolites and clay minerals as sorbents and molecular sieves**. 1978. 0120793504.
- 18 MINTOVA, S.; GILSON, J.-P.; VALTCHEV, V. Advances in nanosized zeolites. **Nanoscale**, 5, n. 15, p. 6693-6703, 2013.
- 19 ASSOCIATION, S. C. o. t. I. Z. Database of zeolite structures. <http://www.iza-structure.org/databases/>, 2017.
- 20 ROŽEK, P.; KRÓL, M.; MOZGAWA, W. Geopolymer-zeolite composites: A review. **Journal of Cleaner Production**, 230, p. 557-579, 2019.
- 21 COLLINS, F.; ROZHKOVSAYA, A.; OUTRAM, J. G.; MILLAR, G. J. A critical review of waste resources, synthesis, and applications for Zeolite LTA. **Microporous and mesoporous Materials**, 291, p. 109667, 2020.
- 22 SCHWIEGER, W.; MACHOKE, A. G.; WEISSENBERGER, T.; INAYAT, A. *et al.* Hierarchy concepts: classification and preparation strategies for zeolite containing materials with hierarchical porosity. **Chemical society reviews**, 45, n. 12, p. 3353-3376, 2016.
- 23 CHEN, L.-H.; LI, Y.; SU, B.-L. Hierarchy in materials for maximized efficiency. **National Science Review**, 7, n. 11, p. 1626-1630, 2020.
- 24 SU, B.-L.; SANCHEZ, C.; YANG, X.-Y. **Hierarchically structured porous materials: from nanoscience to catalysis, separation, optics, energy, and life science**. John Wiley & Sons, 2012. 3527639594.

- 25 NASCIMENTO FILHO, V. F. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF). **Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, 1999.
- 26 WU, Z.; XIE, J.; LIU, H.; CHEN, T. *et al.* Preparation, characterization, and performance of 4A zeolite based on opal waste rock for removal of ammonium ion. **Adsorption Science & Technology**, 36, n. 9-10, p. 1700-1715, 2018.
- 27 DE ANDRADE BESSA, R.; DE SOUSA COSTA, L.; OLIVEIRA, C. P.; BOHN, F. *et al.* Kaolin-based magnetic zeolites A and P as water softeners. **Microporous and Mesoporous materials**, 245, p. 64-72, 2017.
- 28 FAGHIHIAN, H.; MOAYED, M.; FIROOZ, A.; IRAVANI, M. Synthesis of a novel magnetic zeolite nanocomposite for removal of Cs⁺ and Sr²⁺ from aqueous solution: Kinetic, equilibrium, and thermodynamic studies. **Journal of colloid and interface science**, 393, p. 445-451, 2013.
- 29 TABI, R. N.; AGYEMANG, F. O.; MENSAH-DARKWA, K.; ARTHUR, E. K. *et al.* Zeolite synthesis and its application in water defluorination. **Materials Chemistry and Physics**, 261, p. 124229, 2021.
- 30 LOIOLA, A.; ANDRADE, J.; SASAKI, J.; DA SILVA, L. Structural analysis of zeolite NaA synthesized by a cost-effective hydrothermal method using kaolin and its use as water softener. **Journal of colloid and interface science**, 367, n. 1, p. 34-39, 2012.
- 31 EL-NAHAS, S.; OSMAN, A. I.; ARAFAT, A. S.; ALA'A, H. *et al.* Facile and affordable synthetic route of nano powder zeolite and its application in fast softening of water hardness. **Journal of Water Process Engineering**, 33, p. 101104, 2020.
- 32 RAHMAN, A. U.; KHAN, F. U.; REHMAN, W. U.; SALEEM, S. Synthesis and characterization of zeolite 4A using swat kaolin. **Journal of Chemical Technology and Metallurgy**, 53, n. 5, p. 825-829, 2018.
- 33 SONG, J.; LIU, M.; ZHANG, Y. Ion - exchange adsorption of calcium ions from water and geothermal water with modified zeolite A. **AIChE Journal**, 61, n. 2, p. 640-654, 2015.
- 34 FEITOSA, F. A. C.; MANOEL FILHO, J.; FEITOSA, E. C.; DEMETRIO, J. G. A. **Hidrogeologia: conceitos e aplicações**. CPRM, 2008. 8574990612.

- 35 GHADAMNAN, E.; NABAVI, S. R.; ABBASI, M. Nano LTA zeolite in water softening process: synthesis, characterization, kinetic studies and process optimization by response surface methodology (RSM). **Journal of Water and Environmental Nanotechnology**, 4, n. 2, p. 119-138, 2019.
- 36 NASIEF, F. M.; SHABAN, M.; ALAMRY, K. A.; KHADRA, M. R. A. *et al.* Hydrothermal synthesis and mechanically activated zeolite material for utilizing the removal of Ca/Mg from aqueous and raw groundwater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 105834, 2021.
- 37 NIGHTINGALE JR, E. Phenomenological theory of ion solvation. Effective radii of hydrated ions. **The Journal of Physical Chemistry**, 63, n. 9, p. 1381-1387, 1959.
- 38 MOTTA, V. T. Bioquímica básica. **Medbook: Rio de Janeiro, Brasil**, 2011.
- 39 GIRI, A.; DHINGRA, V.; GIRI, C.; SINGH, A. *et al.* Biotransformations using plant cells, organ cultures and enzyme systems: current trends and future prospects. **Biotechnology advances**, 19, n. 3, p. 175-199, 2001.
- 40 ABURTO, J.; AYALA, M.; BUSTOS-JAIMES, I.; MONTIEL, C. *et al.* Stability and catalytic properties of chloroperoxidase immobilized on SBA-16 mesoporous materials. **Microporous and Mesoporous Materials**, 83, n. 1-3, p. 193-200, 2005.
- 41 DAVID, A. E.; WANG, N. S.; YANG, V. C.; YANG, A. J. Chemically surface modified gel (CSMG): an excellent enzyme-immobilization matrix for industrial processes. **Journal of biotechnology**, 125, n. 3, p. 395-407, 2006.
- 42 BECK, J. S.; VARTULI, J. C.; ROTH, W. J.; LEONOWICZ, M. E. *et al.* A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. **Journal of the American Chemical Society**, 114, n. 27, p. 10834-10843, 1992.
- 43 YANAGISAWA, T.; SHIMIZU, T.; KURODA, K.; KATO, C. The preparation of alkyltrimethylammonium-kanemite complexes and their conversion to microporous materials. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 63, n. 4, p. 988-992, 1990.
- 44 SEN, T.; TIDDY, G.; CASCI, J.; ANDERSON, M. Synthesis and characterization of hierarchically ordered porous silica materials. **Chemistry of materials**, 16, n. 11, p. 2044-2054, 2004.

- 45 SEN, T.; TIDDY, G.; CASCI, J.; ANDERSON, M. Meso-cellular silica foams, macro-cellular silica foams and mesoporous solids: a study of emulsion-mediated synthesis. **Microporous and mesoporous materials**, 78, n. 2-3, p. 255-263, 2005.
- 46 CIRILLO, G.; NICOLETTA, F. P.; CURCIO, M.; SPIZZIRRI, U. G. *et al.* Enzyme immobilization on smart polymers: Catalysis on demand. **Reactive and Functional Polymers**, 83, p. 62-69, 2014.
- 47 CHOI, J.-M.; HAN, S.-S.; KIM, H.-S. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. **Biotechnology advances**, 33, n. 7, p. 1443-1454, 2015.
- 48 GONÇALVES FILHO, D.; SILVA, A. G.; GUIDINI, C. Z. Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. **Applied microbiology and biotechnology**, 103, n. 18, p. 7399-7423, 2019.
- 49 LIU, D.-M.; CHEN, J.; SHI, Y.-P. Advances on methods and easy separated support materials for enzymes immobilization. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 102, p. 332-342, 2018.
- 50 CARDOSO, C. L.; MORAES, M. C. d.; CASS, Q. B. Imobilização de enzimas em suportes cromatográficos: uma ferramenta na busca por substâncias bioativas. **Química Nova**, 32, p. 175-187, 2009.
- 51 PERA, L. M.; BAIGORI, M. D.; PANDEY, A.; CASTRO, G. R. Biocatalysis. *In*: **Industrial Biorefineries & White Biotechnology**: Elsevier, 2015. p. 391-408.
- 52 SASSOLAS, A.; BLUM, L. J.; LECA-BOUVIER, B. D. Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors. **Biotechnology advances**, 30, n. 3, p. 489-511, 2012.
- 53 GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant physiology and biochemistry**, 48, n. 12, p. 909-930, 2010.
- 54 BHARADWAJ, P. S.; UDUPA, P. M. Isolation, purification and characterization of pectinase enzyme from *Streptomyces thermocarboxydus*. **Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology**, 5, n. 1, p. 001-006, 2019.
- 55 LEON, J. C.; ALPEEVA, I.; CHUBAR, T.; GALAEV, I. Y. *et al.* Purification and substrate specificity of peroxidase from sweet potato tubers. **Plant science**, 163, n. 5, p. 1011-1019, 2002.

- 56 GUNDINGER, T.; SPADIUT, O. A comparative approach to recombinantly produce the plant enzyme horseradish peroxidase in *Escherichia coli*. **Journal of biotechnology**, 248, p. 15-24, 2017.
- 57 BANSAL, N.; KANWAR, S. S. Peroxidase (s) in environment protection. **The Scientific World Journal**, 2013, 2013.
- 58 VEITCH, N. C. Horseradish peroxidase: a modern view of a classic enzyme. **Phytochemistry**, 65, n. 3, p. 249-259, 2004.
- 59 SAVENKOVA, M. I.; NEWMYER, S. L.; DE MONTELLANO, P. R. O. Rescue of His-42→ Ala horseradish peroxidase by a Phe-41→ His mutation: engineering of a surrogate catalytic histidine. **Journal of Biological Chemistry**, 271, n. 40, p. 24598-24603, 1996.
- 60 ZHAO, D.; WAN, Y.; ZHOU, W. **Ordered mesoporous materials**. John Wiley & Sons, 2012. 3527647880.
- 61 ALOTHMAN, Z. A. A review: fundamental aspects of silicate mesoporous materials. **Materials**, 5, n. 12, p. 2874-2902, 2012.
- 62 TAGUCHI, A.; SCHÜTH, F. Ordered mesoporous materials in catalysis. **Microporous and mesoporous materials**, 77, n. 1, p. 1-45, 2005.
- 63 VINU, A.; MORI, T.; ARIGA, K. New families of mesoporous materials. **Science and Technology of Advanced Materials**, 7, n. 8, p. 753-771, 2006.
- 64 KUMAR, S.; MALIK, M.; PUROHIT, R. Synthesis methods of mesoporous silica materials. **Materials Today: Proceedings**, 4, n. 2, p. 350-357, 2017.
- 65 ARIGA, K.; VINU, A.; YAMAUCHI, Y.; JI, Q. *et al.* Nanoarchitectonics for mesoporous materials. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 85, n. 1, p. 1-32, 2012.
- 66 JAFARI, S.; DERAKHSHANKHAH, H.; ALAEI, L.; FATTAHI, A. *et al.* Mesoporous silica nanoparticles for therapeutic/diagnostic applications. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 109, p. 1100-1111, 2019.
- 67 SUN, X. Mesoporous silica nanoparticles for applications in drug delivery and catalysis. 2012.

- 68 LLINÀS, M. C.; SÁNCHEZ-GARCÍA, D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. **Afinidad**, 71, n. 565, 2014.
- 69 TAN, B.; LEHMLER, H.-J.; VYAS, S. M.; KNUTSON, B. L. *et al.* Controlling nanopore size and shape by fluorosurfactant templating of silica. **Chemistry of materials**, 17, n. 4, p. 916-925, 2005.
- 70 DARIANI, R. S. **Microporous and Mesoporous Materials**. 2016. 172 p. 978-953-51-2583-9.
- 71 HOFFMANN, F.; CORNELIUS, M.; MORELL, J.; FRÖBA, M. Silica - based mesoporous organic - inorganic hybrid materials. **Angewandte Chemie International Edition**, 45, n. 20, p. 3216-3251, 2006.
- 72 ZHAO, D.; FENG, J.; HUO, Q.; MELOSH, N. *et al.* Triblock copolymer syntheses of mesoporous silica with periodic 50 to 300 angstrom pores. **science**, 279, n. 5350, p. 548-552, 1998.
- 73 FELICZAK-GUZIŁ, A.; JADACH, B.; PIOTROWSKA, H.; MURIAS, M. *et al.* Synthesis and characterization of SBA-16 type mesoporous materials containing amine groups. **Microporous and Mesoporous Materials**, 220, p. 231-238, 2016.
- 74 NARAYAN, R.; NAYAK, U. Y.; RAICHUR, A. M.; GARG, S. Mesoporous silica nanoparticles: A comprehensive review on synthesis and recent advances. **Pharmaceutics**, 10, n. 3, p. 118, 2018.
- 75 CHAUDHARY, V.; SHARMA, S. An overview of ordered mesoporous material SBA-15: synthesis, functionalization and application in oxidation reactions. **Journal of Porous Materials**, 24, n. 3, p. 741-749, 2017.
- 76 SILVA, C. R. P. Encapsulamento da mangiferina em sílica mesoporosa: síntese e caracterização. 2017.
- 77 RIVERA-MUÑOZ, E. M.; HUIRACHE-ACUÑA, R. Sol gel-derived SBA-16 mesoporous material. **International journal of molecular sciences**, 11, n. 9, p. 3069-3086, 2010.
- 78 WAN, Y.; ZHAO, D. On the controllable soft-templating approach to mesoporous silicates. **Chemical reviews**, 107, n. 7, p. 2821-2860, 2007.

- 79 MALEKI, A.; KETTIGER, H.; SCHOUBBEN, A.; ROSENHOLM, J. M. *et al.* Mesoporous silica materials: From physico-chemical properties to enhanced dissolution of poorly water-soluble drugs. **Journal of Controlled Release**, 262, p. 329-347, 2017.
- 80 HOFFMANN, F.; FRÖBA, M. Vitalising porous inorganic silica networks with organic functions—PMOs and related hybrid materials. **Chemical Society Reviews**, 40, n. 2, p. 608-620, 2011.
- 81 SHYLESH, S.; SAMUEL, P. P.; SISODIYA, S.; SINGH, A. Periodic mesoporous silicas and organosilicas: An overview towards catalysis. **Catalysis surveys from Asia**, 12, n. 4, p. 266-282, 2008.
- 82 GIRET, S.; WONG CHI MAN, M.; CARCEL, C. Mesoporous - Silica - Functionalized Nanoparticles for Drug Delivery. **Chemistry - A European Journal**, 21, n. 40, p. 13850-13865, 2015.
- 83 BRÜHWILER, D. Postsynthetic functionalization of mesoporous silica. **Nanoscale**, 2, n. 6, p. 887-892, 2010.
- 84 SCHRAMM, M.; HESTRIN, S. Factors affecting production of cellulose at the air/liquid interface of a culture of *Acetobacter xylinum*. **Microbiology**, 11, n. 1, p. 123-129, 1954.
- 85 SAITO, T.; KIMURA, S.; NISHIYAMA, Y.; ISOGAI, A. Cellulose nanofibers prepared by TEMPO-mediated oxidation of native cellulose. **Biomacromolecules**, 8, n. 8, p. 2485-2491, 2007.
- 86 MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Embrapa Hortaliças Brasília, 2007. 8573334312.
- 87 CHANCE, B.; MAEHLY, A. Assay of catalases and peroxidases in *Method in Enzymology* (Colowick, SP and Kaplan, NO, eds.) Vol. 2. : Academic Press, New York 1955.
- 88 AZIMOV, F.; MARKOVA, I.; STEFANOVA, V.; SHARIPOV, K. Synthesis and characterization of SBA-15 and Ti-SBA-15 nanoporous materials for DME catalysts. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, 47, n. 3, p. 333-340, 2012.

- 89 SANTOS, E. C.; COSTA, L. S.; OLIVEIRA, E. S.; RAQUEL A. BESSA, a. *et al.* Al-MCM-41 Synthesized from Kaolin via Hydrothermal Route: Structural Characterization and Use as an Efficient Adsorbent of Methylene Blue. **J. Braz. Chem. Soc.**, 29 n. 11, p. 2378-2386, 2018.
- 90 SCHWANKE, A. J.; PERGHER, S. B. C.; PROBST, L. F. D.; BALZER, R. Gallium-Containing Mesoporous Silica: Supported Catalysts with High Catalytic Activity for Oxidation of Benzene, Toluene and o-Xylene. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2016.
- 91 GOSCIANSKA, J.; OLEJNIK, A.; NOWAK, I. APTES-functionalized mesoporous silica as a vehicle for antipyrine –adsorption and release studies. **Colloids and Surfaces A**, 533, p. 187–196, 2017.
- 92 SHAHBAZI, A.; YOUNESI, H.; BADI EI, A. Functionalized SBA-15 mesoporous silica by melamine-based dendrimer amines for adsorptive characteristics of Pb (II), Cu (II) and Cd (II) heavy metal ions in batch and fixed bed column. **Chemical Engineering Journal**, 168, n. 2, p. 505-518, 2011.
- 93 LEÓN, G. C.-d.; PERERA-MERCADO, Y. A.; GARCÍA-CERDA, L. A.; MERCADO-SILVA, J. A. *et al.* Synthesis of amino-functionalized MCM-48 silica via direct co-condensation at room temperature. **Microporous and Mesoporous Materials** 204 p. 156–162, 2015.
- 94 SAHOO, D. P.; PATNAIK, S.; RATH, D.; MOHAPATRA, P. *et al.* Influence of Au/Pd alloy on an amine functionalised ZnCr LDH–MCM-41 nanocomposite: A visible light sensitive photocatalyst towards one-pot imine synthesis. **Catalysis Science & Technology**, 9, p. 2493–2513, 2019.
- 95 SACRAMENTO, R. A.; CYSNEIROS, O. M. S.; SILVA, B. J. B.; SILVA, A. O. S. Synthesis and characterization of mesoporous materials with SBA and MCM structure types. **Cerâmica**, 65, n. 376, p. 585-591, 2019.
- 96 DO NASCIMENTO, E. S.; PEREIRA, A. L. S.; BARROS, M. d. O.; BARROSO, M. K. d. A. *et al.* TEMPO oxidation and high-speed blending as a combined approach to disassemble bacterial cellulose. **Cellulose**, 26, n. 4, p. 2291-2302, 2019.
- 97 FORESTI, M. L.; VÁZQUEZ, A.; BOURY, B. Applications of bacterial cellulose as precursor of carbon and composites with metal oxide, metal sulfide and metal nanoparticles: A review of recent advances. **Carbohydrate Polymers**, 157, p. 447-467, 2017.

- 98 BABONNEAU, F.; BACCILE, N.; LAURENT, G.; MAQUET, J. *et al.* Solid-state nuclear magnetic resonance: A valuable tool to explore organic-inorganic interfaces in silica-based hybrid materials. **Comptes Rendus Chimie**, 13, n. 1-2, p. 58-68, 2010.
- 99 CABAÑAS, M. V.; LOZANO, D.; TORRES-PARDO, A.; SOBRINO, C. *et al.* Features of aminopropyl modified mesoporous silica nanoparticles. Implications on the active targeting capability. **Materials Chemistry and Physics**, 220, p. 260-269, 2018.
- 100 CYCHOSZ, K. A.; GUILLET-NICOLAS, R.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.; THOMMES, M. Recent advances in the textural characterization of hierarchically structured nanoporous materials. **Chemical Society Reviews**, 46, n. 2, p. 389-414, 2017.
- 101 GOSCIANSKA, J.; OLEJNIK, A.; PIETRZAK, R. Adsorption of L-phenylalanine onto mesoporous silica. **Materials Chemistry and Physics**, 142, n. 2-3, p. 586-593, 2013.
- 102 THOMMES, M. Physical adsorption characterization of nanoporous materials. **Chemie Ingenieur Technik**, 82, n. 7, p. 1059-1073, 2010.
- 103 DOS REIS, B. F. Análise química por injeção em fluxo: vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, 19, n. 1, p. 51-58, 1996.
- 104 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018. 858271534X.
- 105 MARZZOCO, A.; TORRES, B. **Bioquímica Básica**. Ed. : Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 1999.
- 106 CHORKENDORFF, I.; NIEMANTSVERDIET, J. W. **Concepts of modern catalysis and kinetics**. John Wiley & Sons, 2017. 3527691286.