



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ADONAY RODRIGUES LOIOLA

**MATERIAIS HIERARQUICAMENTE ESTRUTURADOS
COM FASE CÚBICA MESOPOROSA: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO E USO COMO SUPORTE NA
IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA HRP**

LaFQMinc

Fortaleza

2009

ADONAY RODRIGUES LOIOLA

**MATERIAIS HIERARQUICAMENTE ESTRUTURADOS
COM FASE CÚBICA MESOPOROSA: SÍNTESE,
CARACTERIZAÇÃO E USO COMO SUPORTE NA
IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA HRP**

Tese submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Lindomar Roberto Damasceno da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Michael William Anderson

Fortaleza

2009

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Inorgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

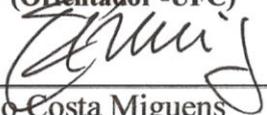


Adonay Rodrigues Loiola

Tese aprovada em: 13/11/2009



Dr. Lindomar Roberto Damasceno da Silva
(Orientador -UFC)



Dr. Flávio Costa Miguens
(UENF)



Dra. Luciana Rocha Barros Gonçalves
(UFC)



Dra. Elisane Longhinotti
(UFC)



Dr. Luiz Constantino Grombone Vasconcelos
(UFC)

À Emilly

AGRADECIMENTOS

Uma tese de doutorado não é apenas a culminância de um árduo trabalho desenvolvido no curso de alguns anos. Ela, embora assinada por um autor, é fruto do trabalho de várias pessoas cujos auxílios, discussões etc. conferem-na o caráter científico onde as idéias são aprimoradas e transmitidas. Grande parte deste trabalho deveu-se à orientação do professor Lindomar Roberto Damasceno da Silva, que ao longo destes últimos sete anos transcendeu o papel de educador e pesquisador, mostrando-se também um grande amigo, e não limitando minha liberdade em questionar e muito menos em descobrir novos caminhos para que eu me tornasse maduro para desenvolver um trabalho científico sem se descuidar do seu objetivo final e de seu papel como parte de um conjunto de ferramentas catalisadoras para um mundo melhor. Ao mesmo tempo, não poderia deixar de expressar minha gratidão ao professor Michael William Anderson (Mike) pela forma como me recebeu em seu grupo de pesquisa na Universidade de Manchester, e pela maneira como permitiu a condução dos trabalhos, mostrando-se ser mais que um grande químico, mas uma grande pessoa. Meus agradecimentos especiais também aos professores Flávio Miguens, Luiz Grombone (Luizão), Luciana Gonçalves e Elisane Longhinotti, que gentilmente aceitaram o convite para participarem da banca examinadora e contribuíram com suas observações atentas e sugestões. Os colegas do Lafqminc: Jardel, Cícero, Marcus, Gerson, Wellington, Daniel, Luelc, Jeann, Elaine, Alice, Elayne e Flávia, muitos dos quais são hoje grandes amigos, têm o crédito como parceiros no desenvolvimento deste trabalho nas mais variadas etapas, desde os momentos descontraídos até as exaustivas reações em que precisei de ajuda. Meus agradecimentos especiais aos amigos que fiz durante o período sanduíche na Inglaterra, no Centre for Nanoporous Materials: Pablo, Ayako, Mohamad, Maryiam, Rhea, David, Keetan, Claudio, Itzel, Neena, Sam, Amina, Youssef, Oscar, Chaiwat, Beatriz, Faisal, Bahij, Martin e John, além do Florian, parceiro de residência. Meu muito obrigado também aos amigos do laboratório de polímeros: Neto, Júnior, Dráulio, Célio, Paulinha, Leônia, Durcilene, Ana Ellen e Guilherme; amigos do Laboratório de Bioinorgânica, Serginho, Solange, Adilson, Socorro, Elis, Marquinho, Arão e Tércio; amigos “orgânicos”, Andressa, Biel, Jeferson, Jackson, Bartolomeu e Arthur. Obrigado também ao Orlando, Célia e Tereza, pela presteza e pelo tratamento profissional e amigável. Vários mestres também deram contribuições preciosas nessa trajetória, dentre os quais gostaria de agradecer aos professores Dias, Sasaki, Hélio, Luizão, Luzinho, Judith, Nágila, Nadja, Sandra, Jeanny, Mozarina e Ícaro (*in memoriam*). Nada disso faria sentindo sem minha família: meu pai Amorim, minha mãe Iraci, meu irmão Hélder, minhas irmãs Valéria e Olga, minha tia Lusía, meus sogros Arnor e Aparecida. Muito obrigado por sempre me apoiarem nos momentos difíceis e por estarmos unidos nos momentos de alegria. Meus agradecimentos também à CAPES pelo auxílio financeiro com a manutenção das bolsas de auxílio.

Por fim, não tenho como expressar por meio de palavras meus agradecimentos à minha esposa Cíntia e à minha filha Emilly, minhas mulheres e parte da minha vida, que compreenderam meus anseios e minha paixão pela química, abrindo mão de muitas coisas, além de suportarem a distância por tanto tempo.

"Tudo isso, na complexa beleza do mundo real, totalmente resistente às categorizações simplistas em termos do bem e do mal, assim como são a personalidade humana e a arte - tudo isso é química."

Roald Hoffman

RESUMO

Materiais porosos hierarquicamente estruturados foram eficientemente sintetizados usando nanoesferas de poliestireno como direcionadores de macroporos, copolímero em tribloco plurônico F127 como direcionador de mesoporos, tetrametilortossilicato como fonte de sílica e etanol como cosurfactante. Os materiais obtidos foram caracterizados através de difração de raios-X a baixo ângulo, análise térmica, adsorção de N₂, porosimetria de mercúrio, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de varredura de alta resolução, microscopia eletrônica de transmissão e microscopia de força atômica. Estes materiais consistem de um sistema de macroporos com diâmetro de aproximadamente 300 nm com paredes preenchidas por mesoporos cujos diâmetros médios são da ordem de 5 nm. Os materiais também apresentam microporosidade, mas de forma não-cristalina. Os materiais hierárquicos sintetizados foram obtidos na forma de pó e ainda sob a forma de monolitos, mostrando ser possível gerá-los de acordo com necessidades específicas. Os difratogramas de raios-X indicam que pelo menos uma amostra apresenta estrutura Fm $\bar{3}$ m, a qual consiste de mesoporos organizados em um arranjo cúbico de face centrada. As análises de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução revelam que a sílica forma uma estrutura em espécie de envelope em torno das nanoesferas de poliestireno, dando origem a outros sítios macroporosos. Isto implica na formação de sistemas de canais possuidores de dois tipos de macroporosidade. Os materiais hierarquicamente estruturados apresentaram áreas superficiais, calculadas pelo método de BET, de até 469 m².g⁻¹, e área superficial de macroporos de 55 m².g⁻¹. Os materiais mostram-se ainda úteis na imobilização enzimática (HRP – peroxidase de raiz forte), mas problemas possivelmente relacionados à complexidade do material afetaram a atividade do biocatalisador.

Palavras-chave: Materiais hierarquicamente estruturados. Materiais porosos. Mesoporosidade. Macroporosidade. Imobilização enzimática. Peroxidase.

ABSTRACT

Hierarchical silica porous materials have been successfully synthesized using polystyrene nanospheres as macropore template, triblock copolymer Pluronic F127 as mesopore template, tetramethyl orthosilicate as silica source and ethanol as cosurfactant. The obtained materials were characterized by XRD, TG-DTA, N₂ adsorption, Hg porosimetry, SEM, HRSEM, TEM and AFM. These materials consist of a system of macropores with diameters of ca. 300 nm whose walls are filled with mesoporous material with an average pore of diameter 10 nm. The materials are also integrated with non-crystalline micropores. The synthesized hierarchical materials have been obtained both as powder and as monoliths, which shows that this material can be generated according to specific necessities. The XRD pattern indicates one sample with structure Fm $\bar{3}$ m, which consists of the mesopores organized in a face-centred cubic arrangement. High-resolution scanning electron microscopic analyses revealed silica forming envelope-like structure around the polystyrene nanospheres, giving rise to other macroporous sites. This fact implies the formation of channel systems in which two macropores types co-exist. The hierarchical porous materials exhibited a BET surface area up to 469 m² g⁻¹, and macroporous area of 55 m² g⁻¹. The synthesized materials have also been suitable as support for enzyme immobilization (HRP – horseradish peroxidase). However, problems possibly related to the high complexity within the materials affected the biocatalyst activity.

Keywords: Hierarchical porous materials. Porous silica materials. Mesoporosity. Macroporosity. Enzyme immobilization. Peroxidase.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplos de estruturas hierárquicas encontradas no dia-a-dia: a) folha, b) rio (foto de satélite), c) ruas de uma cidade, d) raízes, e) pulmão e f) sistema nervoso.....	18
Figura 2. Processo de manufatura de sinos: exemplo clássico de agentes direcionadores de estrutura.....	23
Figura 3. a) Materiais porosos com b) os respectivos SDA comumente usados, ordenados de acordo com seus tamanhos e c) um exemplo biológico.	24
Figura 4. Representação esquemática de diferentes fases de auto-organização de copolímeros em bloco em meio aquoso na presença de solventes orgânicos, formando fases líquidas cristalinas liotrópicas (LLCP) : a) representação geral de um copolímero em tribloco em solução, b) solução micelar normal, c) LLCP cúbica micelar normal (L1), d) LLCP hexagonal normal (H1), e) LLCP cúbica bicontínua normal (V1), f) LLCP lamelar (La), g) LLCP cúbica bicontínua reversa (V2), h) LLCP hexagonal reversa (H2), i) LLCP cúbica micelar reversa e j) solução micelar reversa.	26
Figura 5. Principais métodos para gerar direcionadores de estruturas macroporosas: a) sedimentação, b) centrifugação, c) filtração, d) deposição em 2D, e) preenchimento e f) aplicação de pressão.....	28
Figura 6. Esquema mostrando o procedimento geral para replicação de estrutura. .	28
Figura 7. Esquema para a obtenção de um biocatalizador produzido pela imobilização de enzimas.	32
Figura 8. Principais métodos de imobilização enzimática: oclusão, adsorção e ligações covalentes.	33
Figura 9. Raiz forte (<i>Armoracia rusticana</i>).....	35
Figura 10. Grupo prostético (heme) da HRP.	36
Figura 11. Horseradish peroxidase ou peroxidase de raiz forte (HRP).	36
Figura 12. a) Cavidade na estrutura protéica da peroxidase de raiz forte mostrando a histidina-42 e b) mecanismo de ação da peroxidase na formação dos compostos I e II.	37
Figura 13. Mecanismo de transferência de elétrons no processo catalítico da peroxidase.....	38
Figura 14. Mecanismo de oxidação do pirogalol a purpurogalina.	39
Figura 15. Aparato para síntese das nanoesferas de poliestireno: a) condensador acoplado a uma fonte de nitrogênio, b) agitador de TEFLON conectado a um bastão de vidro (ligado ao motor), c) septo e d) termostato.....	41

Figura 16. Estrutura molecular do tetrametilortosilicato.	43
Figura 17. Diagrama de fases do copolímero F127 mostrando a região cúbica (I1).	44
Figura 18. Representação do processo de síntese de uma das amostras.	45
Figura 19. Cosurfactantes: a) etanol, b) n-butanol, c) n-propanol, d) n-acetato de butila e e) p-xileno.	46
Figura 20. Computador usado nas análises por injeção em fluxo (FIA).	54
Figura 21. Reação de oxidação do catecol à 1,2-benzoquinolina.	55
Figura 22. Computador montado para determinação da capacidade máxima de conversão do biocatalisador.	56
Figura 23. Representação do processo de polimerização do estireno.	57
Figura 24. SEM das nanoesferas de poliestireno na forma de monólitos com diferentes aumentos.	58
Figura 25. SEM das nanoesferas de poliestireno na forma de pó com diferentes aumentos.	59
Figura 26. Amostra PS-F4c a) antes e b) após a calcinação.	60
Figura 27. a) monolito de nanoesferas de poliestireno, b) composto formado pelo monolito de nanoesferas de poliestireno e da sílica condensada nos interstícios destas e c) material hierarquicamente estruturado na forma de monolito após a extração dos direcionadores de estrutura.	61
Figura 28. Reação de polimerização da solução fonte de sílica em meio ácido.	61
Figura 29. Difrátogramas 2D das amostras calcinadas e extraídas.	62
Figura 30. Difrátogramas das amostras a) calcinadas e b) extraídas com solvente.	63
Figura 31. Difrátograma da amostra PS-F2e.	64
Figura 32. Representação em 3D do arranjo dos poros no grupo espacial Fm3m.	65
Figura 33. Termogramas obtidos em atmosfera de ar dos polímeros a) nanoesferas de poliestireno, b) F127, c) mistura 1:1 de nanoesferas de poliestireno + F127 e d) todos os gráficos juntos.	67
Figura 34. a) Termogramas das amostras recém-sintetizadas e b) suas respectivas DTGs.	68
Figura 35. Termogramas e gráficos de análise térmica diferencial das amostras a) PS-F2e e b) PS-F2c.	70
Figura 36. SEM da amostra PS-F2e com diferentes aumentos.	72

Figura 37. Tamanhos de macroporos e janelas.	73
Figura 38. SEM da amostra PS3-F2c mostrando a) a presença de macroporos em todo o monolito e b) os macroporos com organização uniforme.	74
Figura 39. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando mesoporos.	75
Figura 40. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando detalhes.	76
Figura 41. HRSEM da amostra PS3-F2c detalhando o processo de formação do macroporos.	77
Figura 42. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando formato da janela de interconexão.....	78
Figura 43. Formação das janelas de interconexão.....	79
Figura 44. Representação do processo de formação das janelas de interconexão mostrando detalhes sobre a mesoporosidade.....	80
Figura 45. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando a) mesoporos em interstícios tetraédricos (circunferências verdes) e macroporos no centro dos interstícios (circunferências laranjas) e b) macroporos nos interstícios tetraédricos (circunferências laranjas) e macroporos que podem estar associados a interstícios octaédricos ou tetraédricos (circunferências verdes).	82
Figura 46. Formação de macroporos em espaços intersticiais: a) condensação da sílica em torno das nanoesferas de poliestireno e b) detalhes de formação de um interstício tetraédrico (macroporo).....	83
Figura 47. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando regiões com a) (I) superfície de mesoporos e (II) macroporos e b) ampliação de (I), onde são visualizados apenas mesoporos.....	84
Figura 48. Isotermas de adsorção das amostras PS-F2c e PS-F2e (a e c) junto com a distribuição de poros (b e d).	85
Figura 49. a) Isotermas de adsorção-desorção de nitrogênio da amostra PS3-F2c e b) distribuição dos tamanhos de poro.....	88
Figura 50. Análise t-plot da amostra PS3-F2c.....	89
Figura 51. Resultados de porosimetria de mercúrio da amostra PS3-F2c.	90
Figura 52. TEM da amostra PS-F2e.....	92
Figura 53. TEM da amostra PS3-F2c a) mostrando a distribuição dos macroporos e b) com maior resolução mostrando a organização dos mesoporos.	93
Figura 54. TEM da amostra PS-F2e com detalhes.....	94
Figura 55. Imagem obtida por AFM da amostra PS-F2e.....	95

Figura 56. Projeção em 3D de imagem obtida por AFM da amostra PS3-F2c.....	96
Figura 57. Imagem obtida por AFM em modo de deflexão mostrando ranhuras no interior da parede macroscópica consistente com os sistemas de canais mesoporosos interconectados com o sistema macroporoso.....	97
Figura 58. Mecanismo de formação dos materiais hierarquicamente estruturados: a) preenchimento, com a solução precursora de sílica, dos interstícios entre as nanoesferas de poliestireno, b) formação dos macroporos após a remoção das nanoesferas, c) organização das micelas formadas pelo copolímero F127 (inserida na solução precursora) em torno das nanoesferas e d) arranjo ordenado dos macro-, meso- e microporos.....	99
Figura 59. Difratoograma de raios-X da amostra PS-DYc com os padrões de duas fases identificadas.....	100
Figura 60. SEM da amostra PS-DYc mostrando estruturas macroporosas.....	101
Figura 61. SEM da amostra PS-DYc mostrando diferentes morfologias zeolíticas.....	102
Figura 62. Espectros de absorção na região do infravermelho para o processo de funcionalização da amostra MHE com GA.....	102
Figura 63. Rota homogênea de funcionalização com MBT.....	103
Figura 64. Espectros de absorção na região do infravermelho para o processo de funcionalização da amostra MHE com MBT.....	104
Figura 65. Determinação de atividade enzimática a) da solução enzimática, b) do sobrenadante após a imobilização e c) da primeira lavagem do suporte contendo a enzima imobilizada.....	105
Figura 66. Análise de injeção em fluxo do catecol.....	106
Figura 67. Variação da absorbância em função da concentração de substrato.....	107
Figura 68. Capacidade máxima de conversão do biocatalisador em diferentes concentrações (fluxo de 1,8 ml.min ⁻¹).....	109
Figura 69. Influência da concentração do substrato sobre velocidade inicial da reação.....	110
Figura 70. Gráfico dos duplos recíprocos.....	111
Figura 71. Capacidade máxima de conversão: replicatas usando catecol 50 mM com fluxo de 6 mL.min ⁻¹	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação internacional das enzimas.	30
Tabela 2. Misturas reacionais usadas nas sínteses.	47
Tabela 3. Resumo análise térmica.	69
Tabela 4. Resumo das análises de adsorção/desorção de nitrogênio.	86
Tabela 5. Resumo das propriedades texturais da amostra PS3-F2c.	91

LISTA DE SIGLAS E DE ABRVIATURAS

AFM	Microscopia de força atômica
BET	Método utilizado para determinar a área superficial de um material a partir da adsorção gasosa
CPTS	3-cloropropiltriétoxisilano
DTA	Análise térmica diferencial
F127	Compolímero em tri-blocos
FIA	Análise de injeção de fluxo
Fm $\bar{3}$ m	Grupo espacial em que os mesoporos estão organizados
HRP	Peroxidase de raiz forte
HRSEM	Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução
M41S	Família de materiais mesoporosos
MBT	2-mercaptobenzotiazol
MHE	Material hierarquicamente estruturado
MHE-GA	Amostra PS3-F2c funcionalizada com glutaraldeído
MHE-MBT	Amostra PS3-F2c funcionalizada com 2-mercaptobenzotiazol
PIPES	1,4-piperazinabis(ácido etanosulfônico)
PS	Poliestireno
SDA	Agentes direcionadores de estrutura
SEM	Microscopia eletrônica de varredura
TEM	Microscopia eletrônica de transmissão
TEOS	Tetraetilortosilicato
TG	Análise termogravimétrica
THF	Tetrahidrofurano
TMOS	Tetrametilortosilicato
XRD	Difração de raios-X

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE SIGLAS E DE ABREVIATURAS

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 Um mundo hierarquicamente estruturado	17
1.2 Materiais hierarquicamente estruturados	18
1.2.1 Métodos de síntese	21
1.2.2 Aplicações	22
1.3 Agentes direcionadores de estrutura	22
1.3.1 Copolímeros em blocos	25
1.3.2 Agentes direcionadores de estruturas macroporosas	27
1.4 Imobilização enzimática	29
1.4.1 HRP e a conversão do catecol	35
2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS	40
3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	41
3.1 Síntese de nanoesferas de poliestireno	41
3.2 Síntese de materiais hierarquicamente estruturados	42
3.3 Síntese de zeólitas com arquitetura macroporosa	47
3.4 Caracterização	48
3.4.1 Difração de raios-X (XRD)	48
3.4.2 Análise térmica	48
3.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	49
3.4.4 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (HRSEM)	49
3.4.5 Adsorção-desorção de nitrogênio	49
3.4.6 Porosimetria de mercúrio	51
3.4.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)	51
3.4.8 Microscopia de força atômica (AFM)	51
3.5 Funcionalização do suporte	51
3.6 Imobilização enzimática	52
3.7 Testes catalíticos	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1 Nanoesferas de poliestireno	57
4.2 Materiais hierarquicamente estruturados	59
4.2.1 Difração de raios-X	62
4.2.2 Análise térmica	65
4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	71
4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (HRSEM)	74
4.2.5 Adsorção-desorção de N ₂	85
4.2.6 Porosimetria de mercúrio	90

4.2.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	91
4.2.8 Microscopia de força atômica (AFM)	94
4.2.9 Mecanismo de formação	98
4.3 Zeólitas com arquitetura macroporosa	100
4.3.1 Difração de raios-X.....	100
4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura.....	101
4.4 Funcionalização do suporte	102
4.5 Testes catalíticos.....	105
5 CONCLUSÕES	114
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO

Em sua famosa palestra proferida para Sociedade Americana de Física em dezembro de 1959, Richard Feynman, um dos precursores da nanotecnologia, expôs, décadas a frente de seu tempo, o futuro da miniaturização. Fazendo a indagação: “Por que não podemos escrever os 24 volumes da enciclopédia britânica na cabeça de um alfinete?”[1], ele desafiou os novos cientistas de então a navegarem no pouco conhecido mundo da nanoescala. A Nanotecnologia é hoje um dos principais focos das atividades de pesquisa, desenvolvimento e inovação em todos os países industrializados. Os investimentos na área têm sido crescentes e atingiram, mundialmente, um valor de 5 bilhões de dólares em 2002. Já há alguns produtos industriais nanotecnológicos e o seu número aumenta rapidamente. Estima-se que, de 2010 a 2015, o mercado mundial para materiais, produtos e processos industriais baseados em nanotecnologia será de 1 trilhão de dólares [2]. A nanotecnologia tem atraído a atenção da comunidade científica não apenas pelo fascínio que o tema exerce, mas principalmente pela ampla janela de propriedades que determinados materiais podem apresentar a partir de uma organização em escala nanométrica. Esta mesma abordagem encontra espaço para arranjos de poros cujos diâmetros apresentam-se dentro de uma faixa compatível com a de nanomateriais e, portanto, pode-se esperar que materiais porosos desta natureza apresentem propriedades únicas, de modo que a geração de materiais que possuam diferentes sistemas de porosidade, ou seja, arquiteturas e/ou dimensões diferentes podem fazer com que novas e intrigantes propriedades sejam geradas.

1.1 Um mundo hierarquicamente estruturado

O termo “hierárquico” origina-se das palavras gregas *ιερός*–*hieros* = sagrado e *αρχή*–*arkho* = regra, ou seja, “regra sagrada” [3]. Estruturas hierárquicas podem ser encontradas em muitas áreas e, em especial, no mundo biológico exibindo propriedades fascinantes. Em geral, esses tipos de estruturas estão conectados em diferentes escalas de comprimento, caracterizando um sistema. Os diferentes níveis hierárquicos aliados às interconexões desempenham um papel crucial nas funções que esses materiais possam vir a desempenhar. A natureza mostra que as propriedades químicas e mecânicas podem ser moduladas por um

arranjo adequado da matéria, e essa organização faz com que as atividades desempenhadas por tais sistemas sejam maximizadas.

Diversos exemplos de estruturas hierárquicas podem ser encontrados na natureza. De fato, um olhar minucioso na forma em que sistemas completamente diferentes funcionam, como por exemplo, uma folha (Figura 1a) e o rio Amazonas (Figura 1b), revela comportamentos que seguem um mecanismo hierárquico. A mesma lógica é adotada pelo homem na construção de cidades (Figura 1c), e também pode ser observado em outros exemplos como raízes, pulmões, células nervosas (Figura 1d-f) etc.

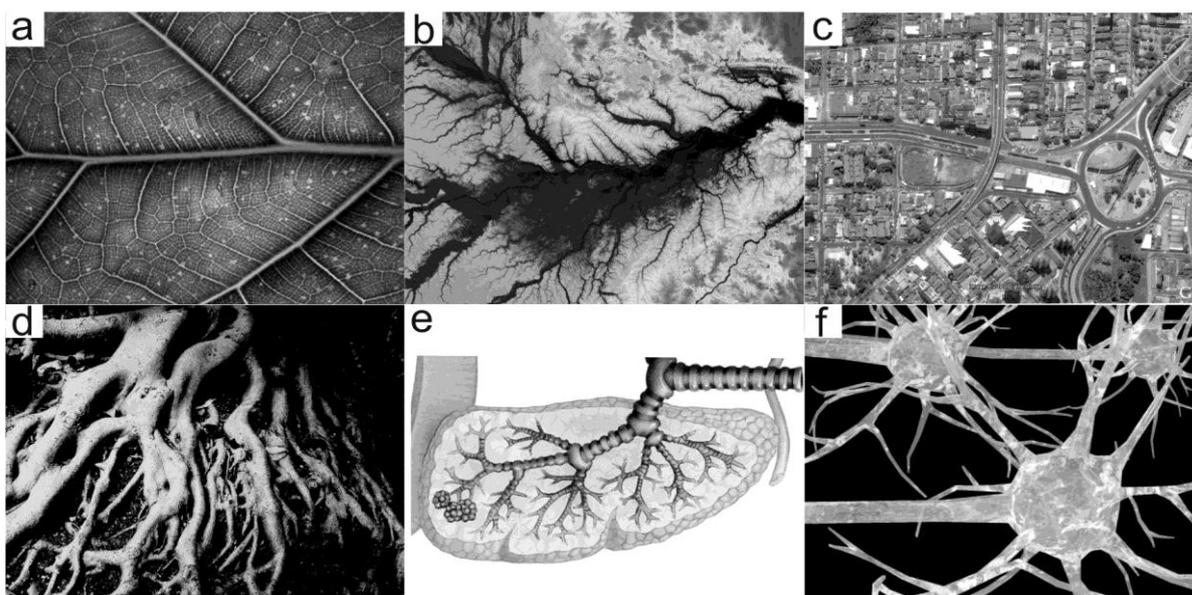


Figura 1. Exemplos de estruturas hierárquicas encontradas no dia-a-dia: a) folha, b) rio (foto de satélite), c) ruas de uma cidade, d) raízes, e) pulmão e f) sistema nervoso.

1.2 Materiais hierarquicamente estruturados

Um tipo de estrutura hierárquica que apresenta destaque em virtude de suas propriedades são os materiais hierárquicos com estrutura porosa.

Materiais porosos são úteis para uma grande variedade de aplicações, tais como catálise heterogênea, adsorção e separação molecular. A síntese, caracterização e aplicações de materiais porosos microcristalinos na faixa de microporos (< 2 nm) são bastante desenvolvidos e têm sido objeto de muita pesquisa ao longo das últimas três décadas [4].

Em 1992, cientistas do centro de pesquisas *Mobil Oil*, liderados por Beck [5], relataram a síntese de uma nova família de peneiras moleculares mesoporosas:

M41S – materiais mesoporosos MCM (*Mobil Crystalline Materials* [6]) altamente ordenados, silicatos mesoporos com tamanhos de poros maiores que 2 nm, com sistemas de canais regulares e bem definidos, obtidos por meio da cristalização de géis de aluminossilicatos ou silicatos em uma solução concentrada de íons alquiltrimetilamônio. Independentemente dos pesquisadores da Mobil, Yanagisawa et al. [7] descobriram uma maneira de sintetizar sílica mesoporosa, os chamados materiais FSM. No entanto, o processo de síntese destes não envolvia o mecanismo de replicação, ou seja, as estruturas formadas não eram decorrentes do direcionamento de “moldes” moleculares. Muitos resultados na área de materiais mesoporosos têm sido publicados, em especial os que tratam da síntese e dos mecanismos de formação dos materiais da família M41S (MCM-41, MCM-48 e MCM-50) [8], bem como materiais SBA e MSU [6]. Desde então, um vasto volume de pesquisa têm sido acumulado.

Embora não haja um completo entendimento dos mecanismos de formação, a estrutura e a forma destes materiais baseiam-se na interface orgânica-inorgânica [8]. Uma rota baseada em surfactantes agindo como agentes direcionadores de estrutura (SDA) produz materiais mesoporosos com limitação dos tamanhos de poros de até 30 nm [4, 9, 10]. O desenvolvimento de materiais porosos ordenados com tamanhos de poros acima de 50 nm (macroporos) foi relatado pela primeira vez usando SDA coloidais, por exemplo, esferas de poliestireno em solução coloidal [11, 12] e gotas de óleo em emulsão “óleo em água” [13]. Em seguida, vários autores reportaram a síntese de materiais macroporosos usando géis poliméricos, vesículas, espumas, bactérias e até cristais de gelo como SDA [12-15]. Estes trabalhos demonstraram a síntese de materiais macroporosos ordenados com tamanhos de poros em uma única escala. Esses materiais são produzidos a partir de sistemas auto-organizados, tais como surfactantes e sistemas biológicos como moldes para a deposição dos materiais inorgânicos. Esses materiais, no entanto, são inadequados para agirem como suportes para catálise heterogênea devido às suas baixas áreas superficiais.

A introdução de uma faixa de poros partindo da macroescala (> 50 nm), passando pela mesoescala (2-50 nm) até a microescala (<0,2 nm)* de forma

* De acordo com a definição da IUPAC, materiais porosos são divididos em três diferentes classes, dependendo dos seus tamanhos de poros. Materiais mesoporos são descritos como aqueles cujos diâmetros de poros encontram-se na faixa entre 2 e 50 nm. Sólidos com um diâmetros de poro

ordenada é importante para aplicações específicas como, por exemplo, catálise seletiva de forma e peneiras bio-moleculares [16]. Desta forma, poderia ser formado um sistema poroso em duas ou três diferentes escalas com estrutura ordenada e interconectividade entre poros em uma arquitetura hierárquica. Para se ter uma idéia da importância tecnológica destes tipos de materiais, a eletrônica quântica e sistemas de comunicações ópticos, por exemplo, requerem microcavidades construídas de materiais dielétricos com composição ajustável e periodicidade de diferentes magnitudes. No entanto, a fabricação de tais estruturas com periodicidade em três dimensões e tamanhos característicos abaixo de 1 mm permanecem um desafio experimental [12, 17].

Para aplicações catalíticas, onde as moléculas dos reagentes necessitam acessar prontamente o interior dos poros, onde a área interna deve ser maximizada, uma estrutura de poros ramificados com tamanhos elevados levando a tamanhos cada vez menores é desejado [4]. Esse tipo de material apresenta uma estrutura hierárquica. Muitos métodos de síntese para produzir este tipo de estrutura são trabalhosos [18] e apresentam-se em processos que envolvem várias etapas e, conseqüentemente há um ímpeto para o desenvolvimento de rotas sintéticas economicamente mais acessíveis, isto é, envolvendo poucas etapas e em baixas temperaturas [16].

A maioria dos métodos empregados para produzir materiais hierárquicos dá origem a sólidos macroporos ordenados, mas sem meso- ou microporosidade. A introdução de meso- e microporosidade (ou ambas) em uma estrutura macroporosa foi reportada há poucos anos onde se fez uso de uma combinação de amina quaternária orgânica (surfactante) e esferas de poliestireno como SDA em processo de síntese com poucas etapas [16]. A formação destes materiais segue um mecanismo de interações de cooperação entre SDAs orgânicos, iônicos ou não, e precursores inorgânicos em solução aquosa [4]. Há parâmetros muito importantes que devem ser controlados, por exemplo, os tamanhos de poro, tamanhos das janelas de interconexão, o ordenamento dos macro- e mesoporos (hexagonal, cúbico, lamelar), e dos microporos (zeolítico, óxidos densos), e área superficial. Holland et al. [19] publicaram um trabalho demonstrando a síntese de um material que apresenta macroporosidade e parede zeolítica usando esferas de poliestireno e

inferiores a 2 nm ou maiores que 50 nm pertencem às classes de materiais micro- e macroporosos, respectivamente.

aminas orgânicas como SDA. De modo semelhante, Danumah et al. [20] relataram a produção de materiais macroporosos com paredes mesoporosas (MCM-48). Estes materiais exibiram elevadas áreas superficiais devido à mesoporosidade, mas nenhuma interconexão entre os macroporos, cuja ordenação também se mostrou limitada. Yang et al. [21] obtiveram sucesso ao introduzir porosidade em três diferentes escalas de comprimento partindo de macro escala, via meso- até micro-, usando filmes de sílica obtidos por processo sol-gel. Esse processo mostrou-se eficiente para produção de filmes com aplicações no campo da optoeletrônica, mas não é adequado para aplicações químicas em grandes escalas. Sen et al. [4, 9], demonstraram a produção de materiais hierarquicamente estruturados usando esferas sintéticas de poliestireno para produzir macroporosidade controlada, tridimensionalmente conectada (300 nm – 1 µm), macromoléculas de copolímeros em bloco não-iônicas para produzir porosidade nanoescala (aproximadamente 10 nm), e direcionamento de estrutura individual de polímeros para originar microporos (< 1 nm) em um processo de síntese relativamente simples.

Novas aplicações de materiais mesoporos e a síntese de novos materiais com meso-estrutura, assim como micro-estrutura, requerem um amplo entendimento dos mecanismos de formação. Além disso, uma investigação dos efeitos produzidos pelos surfactantes e polímeros é importante tanto do ponto de vista teórico como prático [15, 22, 23].

1.2.1 Métodos de síntese

Dentre os vários métodos desenvolvidos para a produção de materiais porosos, a estratégia que adota a fabricação por moldes pode proporcionar geração de uma vasta variedade de sistemas porosos com ampla faixa de tamanhos, morfologias bem definidas em escalas de comprimento controláveis e várias funcionalidades químicas que se encaixam nas necessidades de diferentes tipos de aplicações [24, 25].

A síntese de estruturas mesoporosas de sílica consiste da condensação e polimerização de fontes de sílica (orgânica e inorgânica) em torno das micelas dos surfactantes. Se as interações entre o surfactante e o precursor inorgânico não afetarem consideravelmente a organização das micelas em solução, pode-se esperar que esta organização venha a determinar a estrutura dos compostos finais [6].

Um pré-requisito para se obter uma réplica de sílica inversa satisfatória é que a fase sólida formada após o processamento do precursor deve ocupar o máximo de volume do espaço intersticial no SDA [26, 27]. Em uma síntese hidrotérmica típica de materiais da família M41S, a sílica mesoestruturada é precipitada de uma solução muito diluída [5] de modo que a fase do silicato sólido produzido não é suficiente para ocupar todo o espaço intersticial. Como resultado, a integridade da estrutura porosa ordenada é reduzida. Isso também limita a habilidade de se prever a topologia das mesofases [28].

Em geral, longos tempos de agitação e temperaturas relativamente elevadas são requeridos durante os processos de síntese, embora acima de 130 °C mudanças estruturais relacionadas com a abertura de poros pode ser observada [29].

1.2.2 Aplicações

Materiais com sistema de poros hierárquicos podem favorecer aplicações que se baseiam na rápida distribuição de moléculas para uma ampla área superficial com o mínimo de pressão aplicada, como a catálise heterogênea [30]. A arquitetura específica de sólidos porosos, as faixas de poros e suas distribuições, a orientação dos poros, assim como as suas interconectividades, podem influenciar significativamente na difusão e na reatividade dos substratos. Moléculas relativamente grandes passam rapidamente através do sistema de macroporos conectados, enquanto moléculas menores podem ser diferenciadas pela seletividade de tamanho e/ou de forma por meio dos micro- e mesoporos. Para processos de transporte eficientes, os poros devem ser bem conectados em cada escala de comprimento. Embora os poros menores forneçam as maiores frações de área superficial, são eles também que impõem as maiores resistências difusionais. Tais limitações podem ser reduzidas com a produção de micro- e mesoporos mais acessíveis e mantendo os caminhos de difusão curtos no interior destes poros [26].

1.3 Agentes direcionadores de estrutura

Quando precisão e velocidade são requeridas na geração de estruturas moleculares altamente organizadas, pode-se recorrer às propriedades de auto-organização que algumas moléculas apresentam [31]. Métodos para moldar e estruturar sólidos em objetos funcionais têm sido desenvolvidos e aperfeiçoados, com o objetivo de se criar características sucessivamente mais complexas [32].

A modelagem (da palavra inglesa *templating*), ou o direcionamento de estruturas, pode ser definida como a imposição de limitações geométricas, ou a introdução da perda de conexões entre os componentes, de maneira a limitar os tipos de estruturas que um sistema pode formar [33]. Muitos conceitos de modelagem podem ser melhor compreendidos através de uma analogia com o processo centenário de manufatura de sinos. A produção de sinos consiste em processos de moldagem (Figura 2) [34]: i) um corpo sólido é recoberto com argila para dar origem ao sino “falso”. Nesta etapa, o corpo sólido age como um *exo-template*; ii) o sino “falso” é usado novamente como um *exo-template* – ele é recoberto com argila para dar forma à base. Tanto o sino “falso” quanto a base são então solidificadas por aquecimento. O sino “falso” é então extraído para formar o molde; iii) O molde representa o *endo-template*, ou seja, ele é preenchido com o metal fundido (geralmente bronze, uma liga metálica), o qual se solidifica após resfriamento. Após a remoção do molde o sino final é obtido. A manufatura de sinos é um processo de moldagens consecutivas, onde o produto obtido em uma etapa é utilizado como molde em etapas subseqüentes e faz uso, portanto de *exo- e endo-templates*.

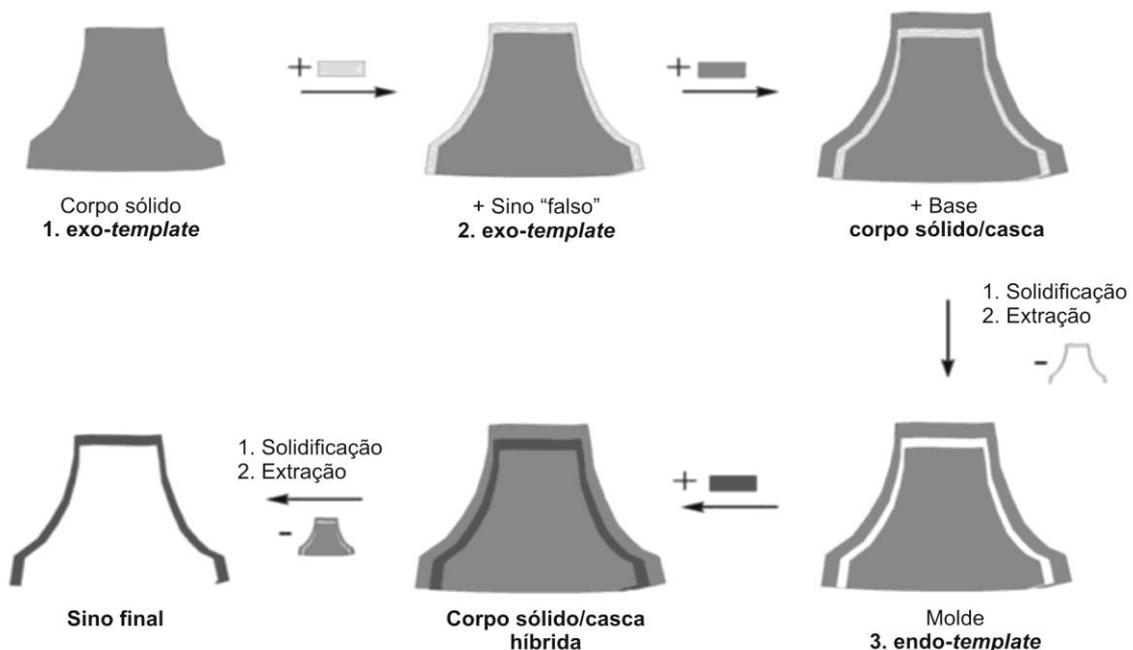


Figura 2. Processo de manufatura de sinos: exemplo clássico de agentes direcionadores de estrutura.

Os conceitos de *exo-* e *endo-templates*, aplicados a materiais com dimensões nanoporosas, foram introduzidos por Antonietti et al. [35]. *Endo-templates* são preenchidos, enquanto *exo-templates* são recobertos para produzir a forma desejada. No caso de SDA bicontínuos esta distinção não é possível. Para a preparação de nano- e micro-estruturas, há vários exemplos de *exo* e *endo-templates* que têm sido utilizados para a síntese de partículas e estruturas porosas desde a escala nanométrica até a micrométrica [36].

A Figura 3 apresenta exemplos de SDA comumente usados, organizados de acordo com seus tamanhos. Eles cobrem escalas de comprimento desde alguns Angstroms até dezenas de micrômetros. Muitos desses SDA são formados por auto-organização ou pelo controle específico da cinética de crescimento das partículas. Isto se aplica tanto para nanotubos como para micelas, microemulsões, ou partículas de látex [36].

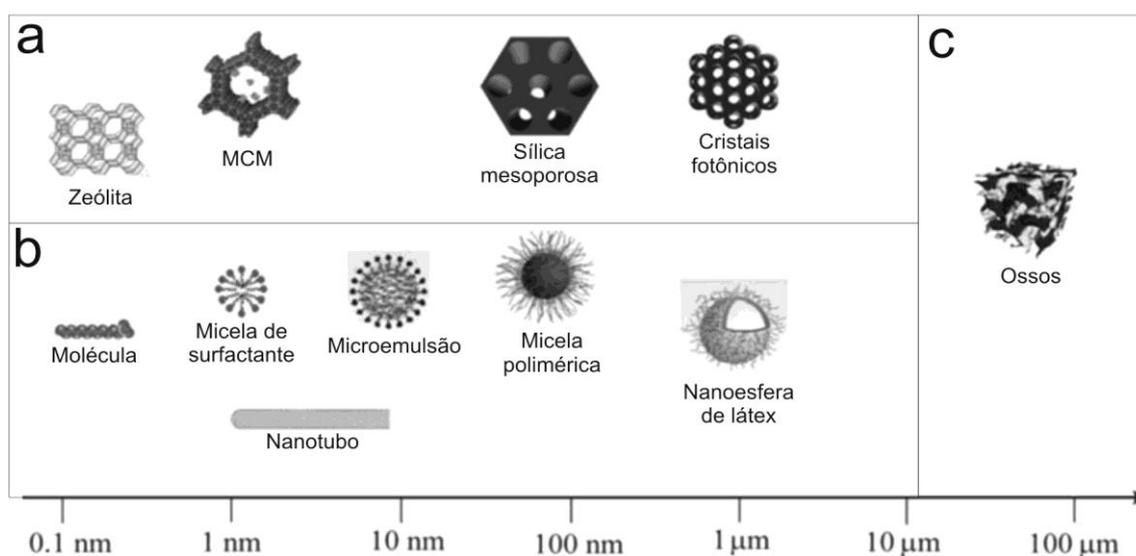


Figura 3. a) Materiais porosos com b) os respectivos SDA comumente usados, ordenados de acordo com seus tamanhos e c) um exemplo biológico. .

O direcionamento de estruturas em todas as escalas pode ser acompanhado pela conexão dos componentes de modo a limitar as formas que eles se auto-organizam, ou ainda pela adição de “guias” estruturais para controlar esta auto-organização [33]. Auto-organização pode ser definida em sistemas moleculares como um processo em que moléculas ou partes de moléculas espontaneamente formam agregados ordenados, geralmente por interações não covalentes [37-39].

1.3.1 Copolímeros em blocos

Moléculas anfifílicas desempenham um papel fundamental na biologia e encontram amplo emprego em aplicações tecnológicas devido às suas habilidades ímpares de se auto-organizarem em interfaces e soluções e, portanto de modificar as propriedades interfaciais e melhorar a compatibilidade ou partição [40]. Copolímeros em blocos são exemplos de moléculas anfifílicas, e consistem de um polímero hidrofóbico que é covalentemente ligado a um polímero hidrofílico. Eles possuem as mesmas características das fases liotrópicas de surfactantes e lipídios de baixo peso molecular. Em meio aquoso, eles se auto-organizam em estruturas micelares e fases liotrópicas [34].

Polímeros anfifílicos, em particular aqueles que consistem de um bloco central de poli(óxido de propileno) (PO) e blocos terminais de poli(óxido de etileno) (EO) (comercialmente conhecidos como Plurônicos e Superplurônicos), exibem um comportamento muito interessante em solução e têm sido objeto de diversos estudos [34, 41-43].

Uma grande vantagem do uso dessa classe de surfactantes como agentes direcionares de estrutura de sólidos porosos, quando comparado com surfactantes não-iônicos típicos, é o elevado controle sobre as propriedades anfifílicas que pode ser feito a partir da variação (durante a síntese destes) do tamanho e da razão entre os blocos hidrofóbicos e hidrofílicos. Além disso, estes compostos apresentam baixa toxicidade sendo usados inclusive em produtos farmacêuticos [43]. Os nomes comerciais dos principais copolímeros em blocos utilizados como SDA são: F127 [44-46], P123 [45-47], Brij 76 [28] e Brij 56 [26].

A baixas concentrações, moléculas de surfactantes tendem a existir em forma micelar, não havendo, portanto estruturas organizadas [45]. Para um copolímero com uma dada composição de blocos e de peso molecular, o tipo de estrutura obtida depende do diagrama ternário copolímero-água-óleo.

Para efeito de utilização destes compostos como SDA na síntese de estruturas porosas, é possível controlar a morfologia e a periodicidade dos tamanhos de poros através dos comprimentos dos blocos poliméricos e da concentração de polímero [36]. As fases liotrópicas são conservadas durante o processo de síntese de estruturas inorgânicas mesoporosas quando copolímeros em blocos são utilizados como SDA. Essa propriedade permite que se utilizem quantidades específicas de reagentes, baseado na análise de seus diagramas de fase para se

obter materiais porosos com determinadas fases cristalográficas. Uma vez que uma rica literatura de diagrama de fases de copolímeros em bloco pode ser encontrada, esta abordagem pode permitir síntese de compostos inorgânicos que apresentem mesofases, através do controle antecipado da estrutura das fases liotrópicas [45, 48].

A Figura 4 mostra a progressão geral de fases em sistemas liotrópicos:

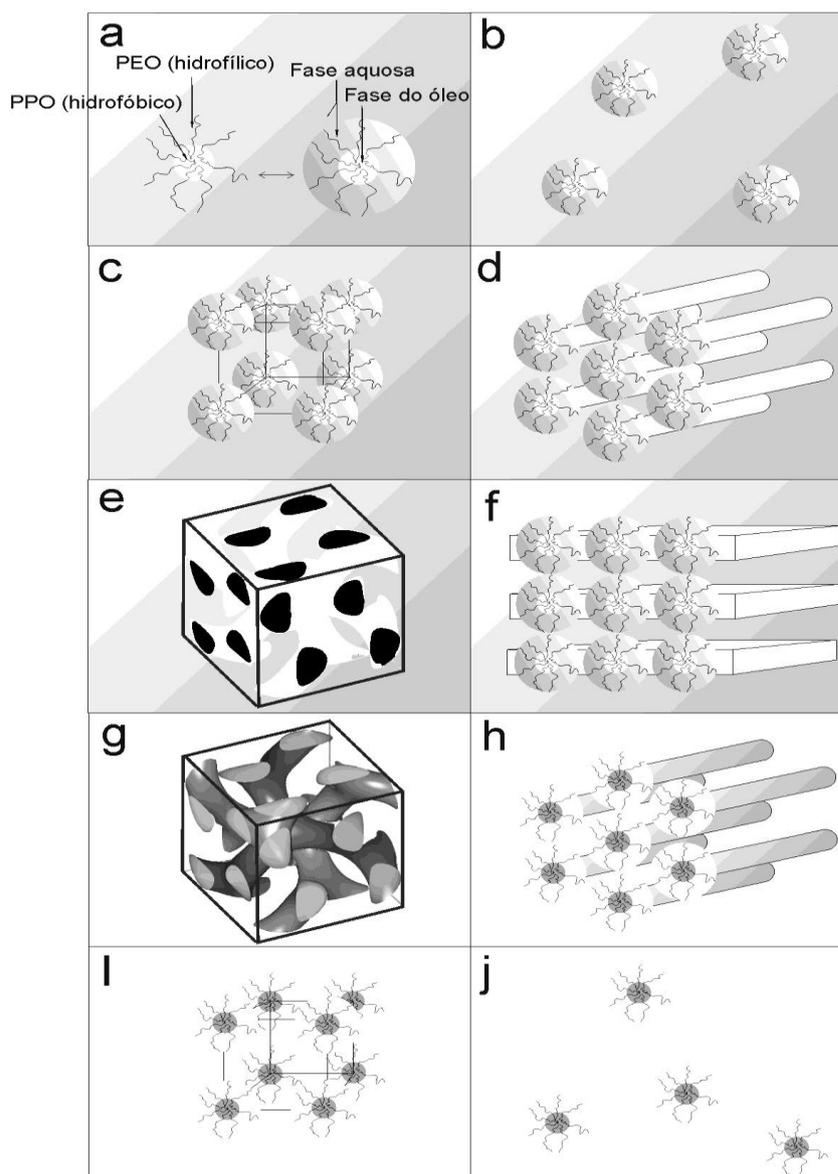


Figura 4. Representação esquemática de diferentes fases de auto-organização de copolímeros em bloco em meio aquoso na presença de solventes orgânicos, formando fases líquidas cristalinas liotrópicas (LLCP) : a) representação geral de um copolímero em tribloco em solução, b) solução micelar normal, c) LLCPCúbica micelar normal (L1), d) LLCPCúbica hexagonal normal (H1), e) LLCPCúbica bicontínua normal (V1), f) LLCPLamelar (La), g) LLCPCúbica bicontínua reversa (V2), h) LLCPCúbica hexagonal reversa (H2), i) LLCPCúbica micelar reversa e j) solução micelar reversa.

1.3.2 Agentes direcionadores de estruturas macroporosas

Diversos materiais são usados como blocos de unidades básicas para a organização de sistemas ordenados, o que inclui materiais inorgânicos (sílica e titania, por exemplo) e materiais orgânicos (poliestireno e poliacrilato, por exemplo). Esses últimos têm a vantagem da flexibilidade quanto às rotas sintéticas, além de poderem ser sintetizados na forma de nanoesferas [49]. Eles são comumente preparados através de polimerização em emulsões [50, 51]. A habilidade de partículas de látex monodispersas de se empacotar regularmente vem sendo estudada e, portanto não surpreende o fato de a uniformidade de tamanho e de forma desses materiais terem, recentemente, atraído a atenção de diversos químicos da área de materiais interessados em explorar suas propriedades na geração de novas estruturas altamente ordenadas [52]. Há inúmeras razões para a escolha de esferas coloidais monodispersas como alvo primário na obtenção de estruturas macroporosas. Em princípio, as propriedades intrínsecas deste tipo de nanoesferas podem ser estritamente controladas por meio da mudança de alguns parâmetros tais como: o diâmetro, a composição química, a subestrutura do meio, a cristalinidade (policristalino, monocristalino ou amorfo) e o grupo funcional superficial (portanto a energia livre interfacial e a densidade de carga da superfície) [53].

A primeira etapa do processo de geração de SDA para materiais macroporosos consiste do processo de aglomeração das partículas em uma matriz cristalina coloidal 3D que irá servir como molde para a replicação de suas estruturas ordenadas produzindo assim os materiais porosos. A formação da matriz cristalina a partir de partículas monodispersas pode ser induzida pelo aumento da concentração na vizinhança de uma superfície plana, através de métodos de agregação, como os mostrados na Figura 5.

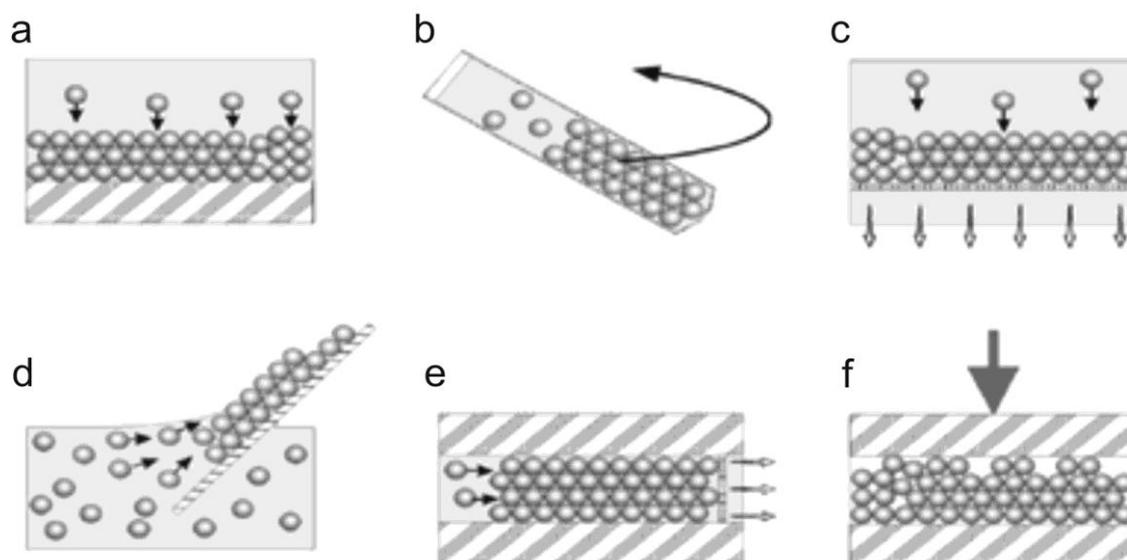


Figura 5. Principais métodos para gerar direcionadores de estruturas macroporosas: a) sedimentação, b) centrifugação, c) filtração, d) deposição em 2D, e) preenchimento e f) aplicação de pressão.

Os procedimentos envolvidos neste método para obtenção de estruturas macroporosas podem ser sumarizados em 4 etapas, como mostrado na Figura 6.

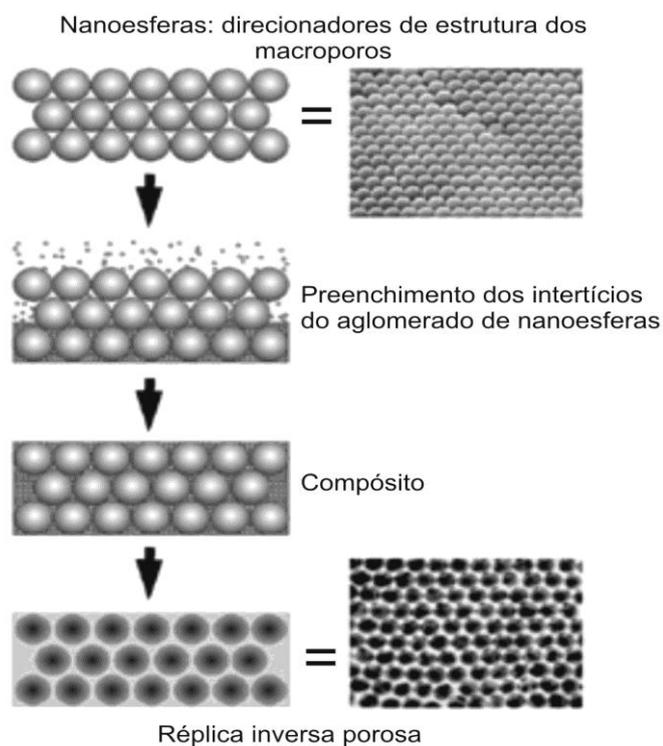


Figura 6. Esquema mostrando o procedimento geral para replicação de estrutura.

Inicialmente, há a infusão do material nas cavidades da estrutura ordenada dos SDA. Os interstícios do SDA são infiltrados pelo material que irá originar a estrutura porosa em forma de fluido ou partícula. Em seguida, ocorre a solidificação do material. Este processo de solidificação pode ser obtido através de diferentes estratégias como, por exemplo, indução da polimerização das espécies por aquecimento, hidrólise sol-gel do líquido precursor e precipitação salina. As partículas do SDA são removidas do compósito por extração com solvente (dissolução química) ou por calcinação (termodecomposição), deixando um esqueleto sólido que deve conter um arranjo de poros ordenados em três dimensões. Normalmente, esferas de poliestireno podem ser removidas por meio de calcinação em ar ou por dissolução em tolueno ou outros solventes orgânicos, enquanto partículas de sílica são removidas por digestão em solução de ácido fluorídrico. O produto final é, portanto uma estrutura porosa em três dimensões contendo arranjos de cavidades esféricas que representam a réplica negativa do sistema de SDA originalmente ordenados. A principal característica desse método é que o produto final preserva a estrutura periodicamente ordenada do sistema inicial [54].

1.4 Imobilização enzimática

Embora catalisadores homogêneos ainda sejam bastante utilizados nas indústrias alimentícia, 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 a tona. Consequentemente tem-se investido na geração e utilização de catalisadores sólidos no sentido de substituir catalisadores homogêneos [55]. Uma estratégia promissora consiste na imobilização de catalisadores homogêneos em um suporte insolúvel, isto é, na heterogeneização de catalisadores homogêneos.

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 valores de pH e temperatura amenos. 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 [56]. Todas as enzimas, com exceção de um pequeno grupo de moléculas de RNA que apresentam propriedades catalíticas, são proteínas. A atividade catalítica das enzimas depende da integridade de sua conformação protéica nativa. Seus pesos moleculares podem variar, assim como outras proteínas, de 12×10^3 até 10^6 [57]. As enzimas, catalisadores biológicos com elevadas seletividades, têm sido usadas na indústria de alimentos por séculos [58]. Atualmente, as enzimas têm adquirido importância crescente em tecnologias sustentáveis e na chamada química verde [55], além de terem sua utilização em processos industriais em plena expansão em campos como química fina, produtos farmacêuticos, biosensores, células a combustível etc. [59]. As enzimas são classificadas pelas reações que catalisam. O sistema de classificação das enzimas divide-as em seis grandes classes, cada uma com subclasses, conforme o tipo de reação catalisada (Tabela 1).

Tabela 1. Classificação internacional das enzimas.

Nº	Classe	Tipo de reação catalisada
1	Oxiredutases	Transferência de elétrons (íons hidretos ou átomos de H)
2	Transferases	Reações de transferência de grupos
3	Hidrolases	Reações de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água)
4	Liasas	Adição de grupos às duplas ligações ou formação de duplas ligações por meio de remoção de grupos
5	Isomerases	Transferência de grupo dentro da mesma molécula para formar isômeros
6	Ligases	Formação de ligações do tipo C—C, C—S, C—O e C—N por meio de reações de condensação acopladas à quebra do ATP

A cada enzima é atribuído um número classificatório de quatro dígitos e um nome sistemático, que identifica a reação que ela catalisa. Como exemplo, a reação a seguir:



O nome sistemático da enzima que catalisa esta reação é ATP-glicose fosfotransferase, indicando que ela catalisa a transferência de um grupo fosfato do ATP para a glicose.

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 biocatalizadores, 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 um aumento significativo no rendimento das reações, além da redução dos custos envolvidos.

Na sua forma livre, as enzimas não resistem a condições extremas de temperatura e pH. Uma abordagem baseada na imobilização destas espécies tem mostrado resultados satisfatórios [60, 61], 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 suas resistências quanto à biodegradação, diversos materiais inorgânicos, tais como zeólitas, têm-se mostrados adequados para desempenhar a função de suportes na imobilização enzimática.

Para a geração de um biocatalizador formado a partir da imobilização de uma espécie biologicamente ativa são necessárias algumas considerações (Figura 7) [62].

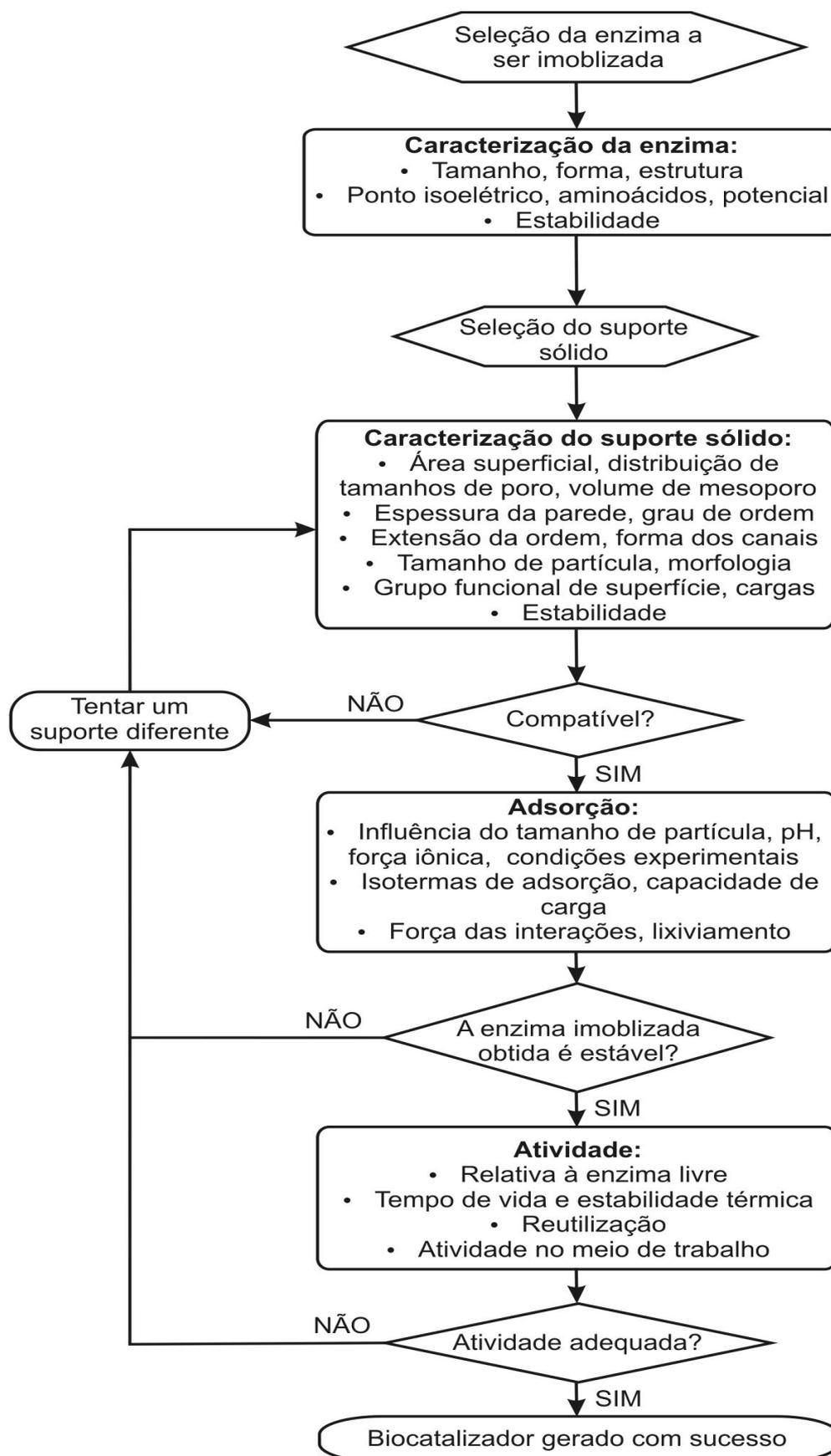


Figura 7. Esquema para a obtenção de um biocatalizador produzido pela imobilização de enzimas.

De uma maneira geral, é preciso conhecer bem o material a ser utilizado como suporte. Assim, parâmetros como estabilidade mecânica, áreas superficiais, arranjo do sistema de poros, disponibilidade de grupos funcionais etc. devem ser determinados, pois são características fundamentais que o material deve apresentar para que possa desempenhar o papel de suporte.

A eficiência de um biocatalisador é determinada principalmente pela atividade que a enzima apresenta após ser imobilizada, ou seja, sua capacidade de promover a catálise de uma dada reação quando comparada com a enzima na forma livre. Assim, um suporte sólido adequado para o processo de imobilização enzimática seria aquele que permite uma grande quantidade de enzima ser imobilizada e, ao mesmo tempo, que não exerce influência significativa na sua atividade.

No processo de imobilização, as enzimas são geralmente presas a um sólido, preferencialmente materiais porosos, por meio de ligação covalente, adsorção ou por oclusão [59, 63]. A Figura 8 ilustra os principais métodos de imobilização enzimática.

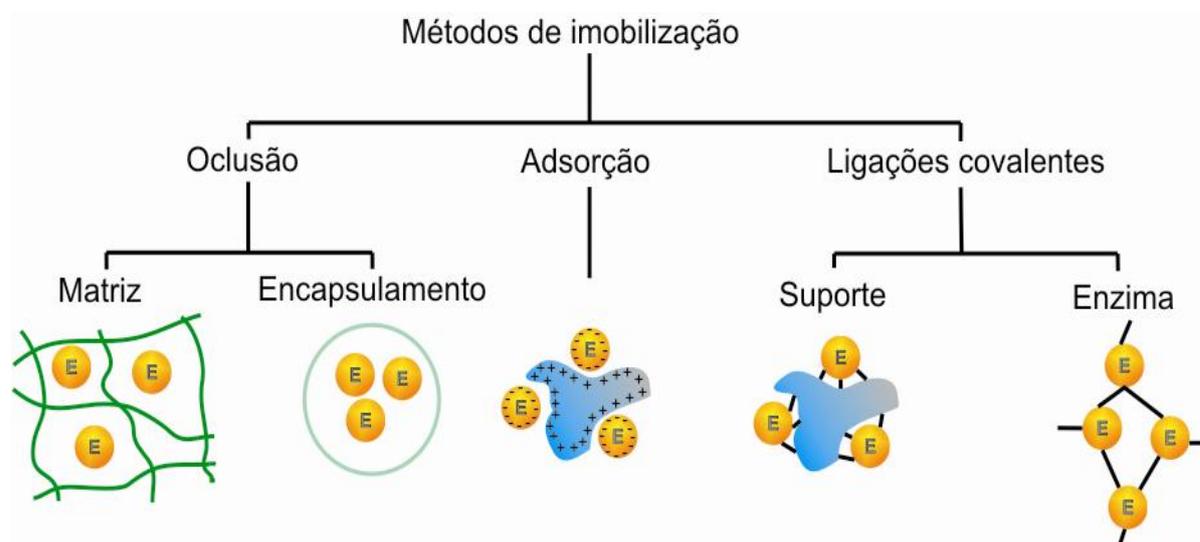


Figura 8. Principais métodos de imobilização enzimática: oclusão, adsorção e ligações covalentes.

O primeiro uso de materiais mesoporosos como suportes na imobilização de espécies biologicamente ativas foi relatado em 1996 [64]. A partir de então o desempenho de processos de imobilização de diferentes enzimas imobilizadas em diferentes tipos de materiais mesoporosos tem sido largamente investigado [65-69].

Recentemente, vários esforços têm sido voltados para a síntese de materiais com dimensões dos poros que sejam compatíveis com o tamanho cinético das espécies a serem immobilizadas [55, 70]. Esta abordagem reforça a necessidade de materiais que apresentem uma combinação de elevadas áreas superficiais e cavidades com tamanhos adequados de maneira a permitir que a enzima seja ancorada e que, ao mesmo tempo, disponham de uma estrutura moldada de tal forma que os substratos da reação de interesse atinjam prontamente o maior número possível de sítios ativos, isto é, enzimas immobilizadas e aptas a promover a catálise. Materiais hierarquicamente estruturados apresentam-se como candidatos promissores para esta aplicação específica. Em seu sistema de poros, há não somente um, mas vários tipos de poros os quais apresentam magnitudes, desde microporos, passando por mesoporos, até macroporos. A preparação de materiais porosos com arquitetura hierárquica, apresentando características estruturais com dimensões nanométricas até micrométricas, e que apresentem certas funcionalidades é certamente um dos novos grandes desafios na área de química de materiais [70].

Para aplicações deste tipo, onde as moléculas dos reagentes 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 extremamente desejável [4, 16]. Neste caso, a presença de mesoporos uniformes confere ao material seletividade de forma e altas áreas superficiais [70], enquanto macroporos levam a processos eficientes de transferência de massa [71].

A metodologia desenvolvida em virtude deste trabalho [72] permite a síntese de materiais hierarquicamente estruturados que incorpora três tipos de porosidade (micro-, meso- e macro-), organizados de forma integrada. As paredes dos macroporos são preenchidas com poros de diâmetro médio de 8 nm (mesoporos). Estes se caracterizam por apresentarem uma estrutura cristalina uniforme do tipo cúbica, classe $Fm\bar{3}m$, a qual consiste de mesoporos organizados em um arranjo cúbico de face centrada. As paredes destes mesoporos, por sua vez, apresentam poros em microescala

1.4.1 HRP e a conversão do catecol

A enzima Peroxidase de Raiz Forte, ou apenas HRP (do inglês *Horseradish Peroxidase*) pode ser extraída, com relativa facilidade, da planta “raiz forte ou rábano silvestre – *Armoracia rusticana*” (Figura 9), da qual provém seu nome.



Figura 9. Raiz forte (*Armoracia rusticana*).

O número de classificação da HRP na Comissão Internacional de Enzimas é 1.11.1.7. O primeiro dígito (1) denota o nome da classe (oxireductase); 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 HRP consiste de um grupo prostético de heme (Figura 10), dois íons Ca^{2+} e 308 resíduos de aminoácidos, incluindo 4 pontes de dissulfeto em uma única cadeia polipeptídica. Apresenta 8 cadeias laterais de carboidrato e peso molecular de 44 kDa [73].

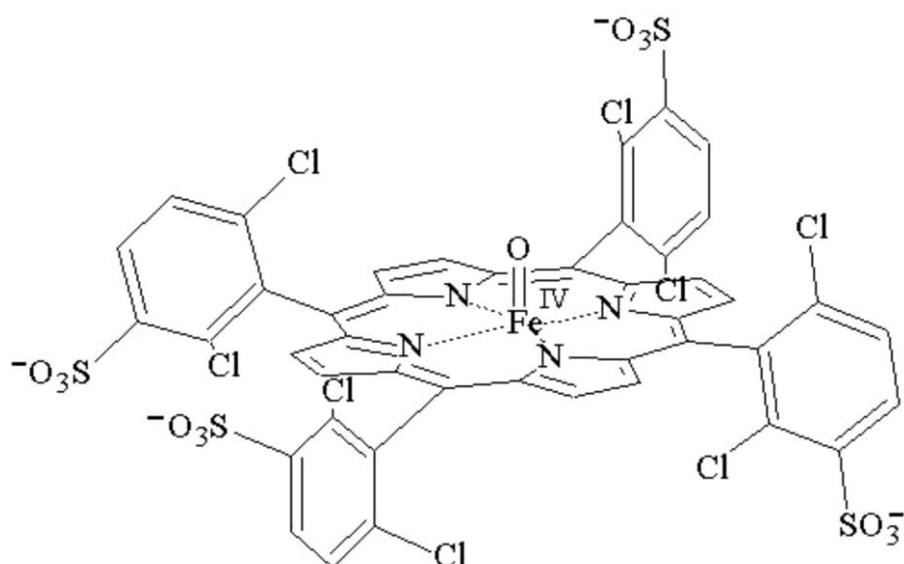


Figura 10. Grupo prostético (heme) da HRP.

A HRP apresenta dimensões aproximadas de. 64 Å e 43 Å. A representação de sua estrutura é mostrada na Figura 11 [74].

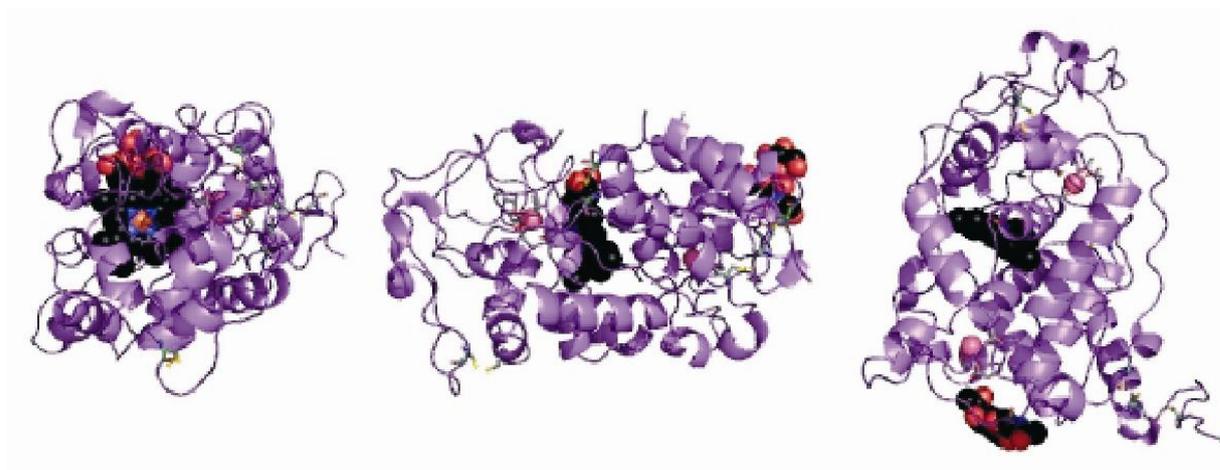


Figura 11. Horseradish peroxidase ou peroxidase de raiz forte (HRP).

A HRP é um exemplo de peroxidase que apresenta aminoácidos estruturais igualmente importantes, pois participam do mecanismo de ação desta enzima. Um desses resíduos é a histidina (His-42) (Figura 12) presa à hélice da cadeia de proteína responsável pela formação da estrutura terciária.

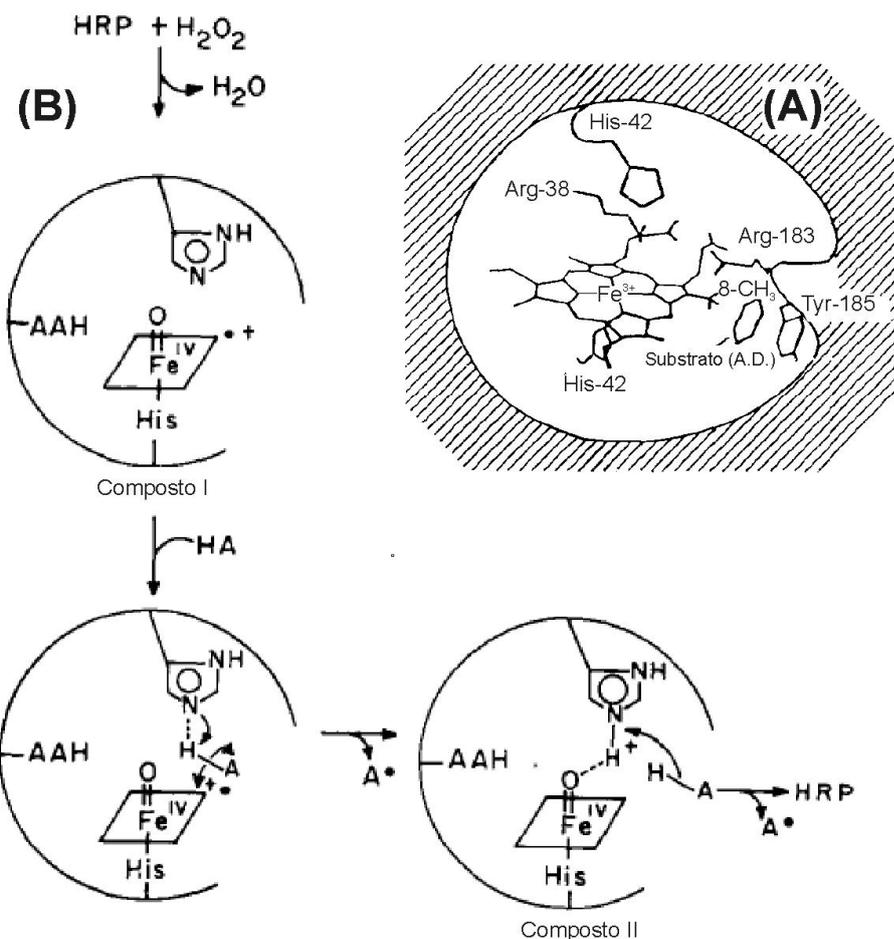


Figura 12. a) Cavidade na estrutura protéica da peroxidase de raiz forte mostrando a histidina-42 e b) mecanismo de ação da peroxidase na formação dos compostos I e II.

Este aminoácido encontra-se estrategicamente posicionado próximo à ferriportoporfirina IX dentro da cavidade catalítica mostrada na Figura 12 [75].

Outro aspecto relativo a este aminoácido, é que ele pode controlar a ligação do doador aromático (fenóis) com a coenzima dentro da cavidade, além de estar envolvido na formação dos compostos I e II, e de regular o fluxo de elétrons da ligação doadora dos intermediários catalíticos durante a oxidação do substrato, como mostra a Figura 12b.

Como a HRP apresenta atividade catalítica na presença de peróxido de hidrogênio, a reação de oxidação de pirogalol a purpurogalina tem sido usada na determinação dos parâmetros cinéticos desta enzima. Segundo McCarthy e White [76] a formação de purpurogalina a partir do pirogalol requer a participação de três pares de elétrons, que no processo catalítico são transferidos como mostrado no mecanismo da (Figura 13).

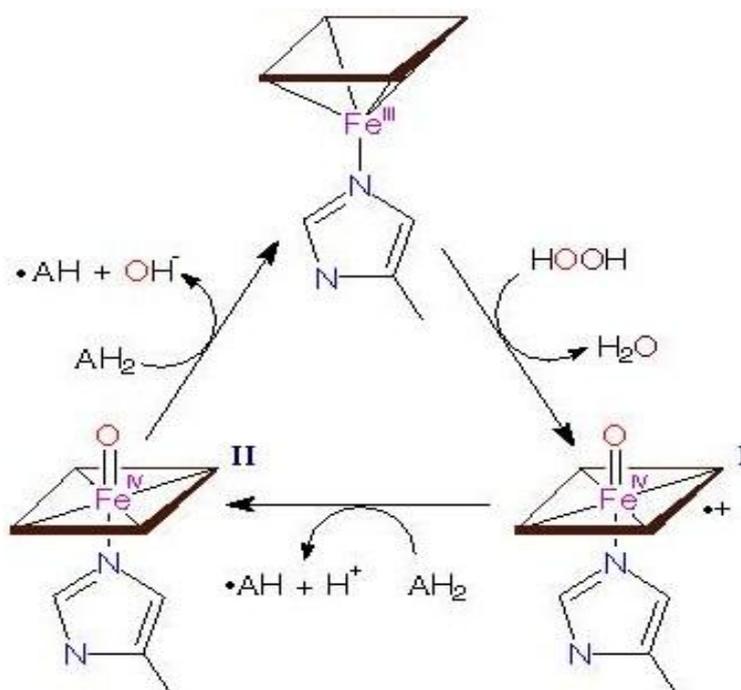


Figura 13. Mecanismo de transferência de elétrons no processo catalítico da peroxidase.

Não menos importante é a participação do peróxido de hidrogênio neste processo, uma vez que sua concentração regula a velocidade da reação, que é de pseudo primeira ordem [77].

A oxidação do pirogalol por meio da catálise promovida pela peroxidase teve seu mecanismo proposto por Mahandi [78], e é mostrado na Figura 14.

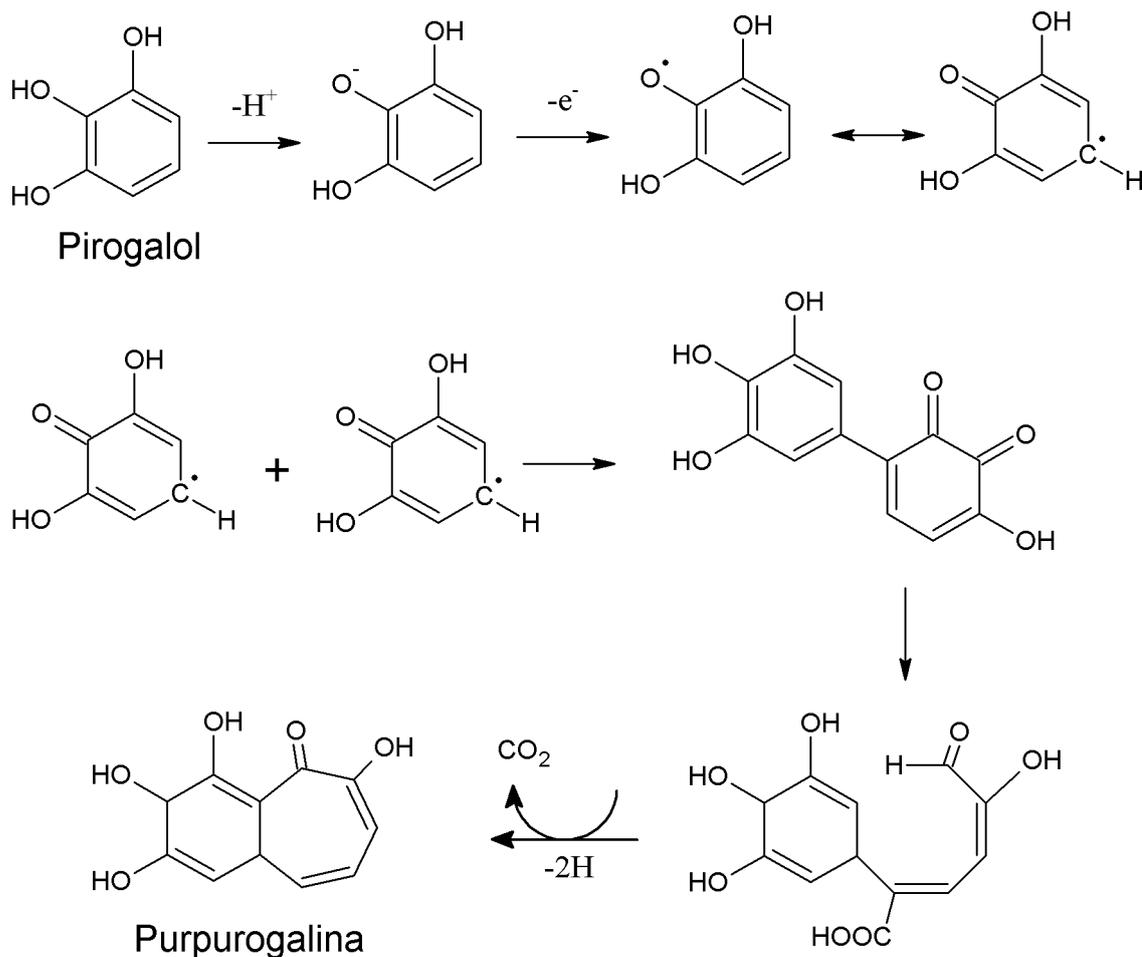


Figura 14. Mecanismo de oxidação do pirogalol a purpurogalina.

Como pode ser observado neste mecanismo, há inicialmente a formação de um radical livre fenóxi como o primeiro intermediário comum em reações nas quais existem acoplamentos de fenóis. Um radical deste tipo, obtido a partir do pirogalol, apresenta reatividade nos oxigênios das posições 1 e 5. De acordo com o esquema da Figura 14, o pirogalol pode ser oxidado para formar um par radicalar em equilíbrio. A ligação entre dois radicais resulta na formação de um dímero que sofre rápida tautomerização na posição meta, sendo, em seguida, oxidado para formar o produto final, a purpurogalina [78].

Apesar do pirogalol ser o reagente mais utilizado para padronização de reações catalisadas pela enzima HRP, outras substâncias como o catecol também podem ser utilizadas como substratos para reações deste tipo [79].

2 JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

As diversas aplicações de materiais porosos cristalinos com estruturas bem definidas, como zeólitas e silicatos mesoporosos, decorrentes de algumas propriedades não encontradas em outros materiais são fatores que instigam cientistas de várias áreas a pesquisar e a desenvolver novos materiais. Os recentes avanços observados nos processos de síntese de materiais com vários níveis de porosidade têm sido a base para produção de materiais com estrutura hierarquizada, ou seja, materiais que apresentam sistemas de poros em várias escalas, com interconectividade entre eles. Estes processos de síntese, no entanto apresentam-se como verdadeiros desafios experimentais.

A combinação de agentes direcionadores de estruturas, como copolímeros em bloco e nanoesferas poliméricas, mostra-se especialmente útil na síntese de silicatos e aluminossilicatos cristalinos a partir de matérias-primas orgânicas que contenham silício e/ou alumínio. Deste modo, há a possibilidade de se produzir materiais com sistemas de poros, em várias escalas (de micro até macro) em função dos tipos de agentes direcionadores de estrutura, de tal forma a originar estruturas complexas e propícias a serem utilizadas em diversas aplicações como: catálise, adsorção, processos de separação etc.

O presente trabalho tem por objetivo a síntese de materiais possuidores de micro, meso e macroporosidade com elevado nível de conectividade de modo a constituir estruturas hierarquizadas que apresentem também elevadas áreas superficiais e elevadas estabilidades térmica e química. Tem-se ainda como finalidade a avaliação da capacidade destes materiais como suportes na imobilização de espécies biologicamente ativas (enzimas).

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

3.1 Síntese de nanoesferas de poliestireno

Nanoesferas monodispersas de poliestireno foram sintetizadas usando um método de polimerização sem emulsificante, descrito na literatura [4, 51, 80]. Assim, 210 mL de estireno (Sigma-Aldrich, 99%) foi lavado cinco vezes em funil de separação com 200 mL de NaOH 0,1 M (Fisher Scientific) e outras cinco vezes com 200 mL de água deionizada, objetivando remover o inibidor 4-*tert*-butilcatecol (10 -15 ppm). 1700 mL de água deionizada foram adicionados a um balão de três bocas. Em uma das bocas do frasco foi introduzido um agitador de Teflon, conectado a um motor (Eurostar basic, IKA Labortechnik) através de um bastão de vidro. Outra boca foi conectada a um condensador, onde também estava acoplada uma fonte de nitrogênio por meio de pipeta de Pasteur. A última boca foi ligada a um septo. O balão foi então posto em banho de óleo, termostaticado, como mostrado na Figura 15.

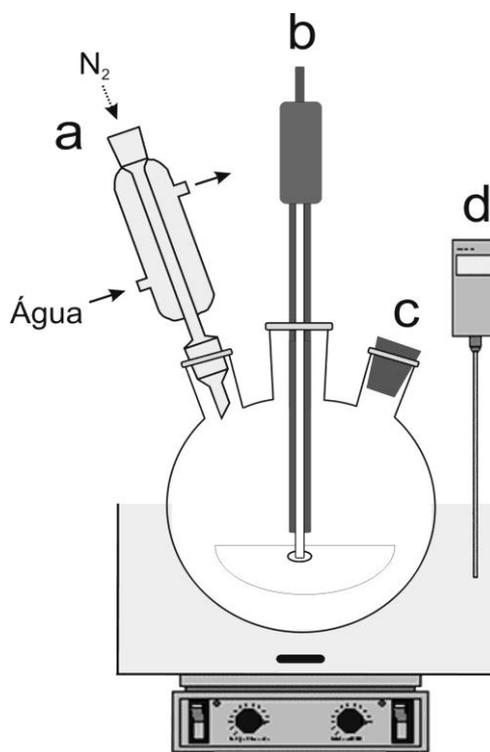


Figura 15. Aparato para síntese das nanoesferas de poliestireno: a) condensador acoplado a uma fonte de nitrogênio, b) agitador de TEFLON conectado a um bastão de vidro (ligado ao motor), c) septo e d) termostato.

O sistema foi saturado com nitrogênio durante aproximadamente 2 h. Esta etapa teve como objetivo eliminar radicais (oxigênio) do reator, os quais poderiam vir a interferir no processo de polimerização [81]. Os 200 mL do estireno lavado foram adicionados ao balão e o sistema foi aquecido até 80 °C. Todo o sistema foi revestido com papel alumínio a fim de evitar variações na temperatura, e permaneceu sob aquecimento por aproximadamente 2 h até que atingir equilíbrio térmico. Em um béquer de polipropileno (250 mL), 0,6630 g do iniciador persulfato de potássio (Sigma-Aldrich, 99 %) foi dissolvido em 100 mL de água deionizada e aquecido a 80 °C. Esta solução foi adicionada lentamente ao balão contendo a água e o estireno. Para facilitar a remoção das esferas de poliestireno dos materiais macroporosos, nenhum reagente de ligação cruzada foi utilizado [80]. O sistema foi submetido à agitação a 300 rpm durante 24 h. A temperatura foi mantida a 80 °C durante a reação. O produto final apresentou-se em única fase com aspecto leitoso. As nanoesferas de poliestireno (parte sólida) foram separadas da solução através de centrifugação a 2.000 rpm por 2 h. Os aglomerados sólidos obtidos foram denominados de monolitos, e parte deste material foi convertida a pó através de maceração.

O tamanho de partícula e a morfologia das nanoesferas de poliestireno foram caracterizados através de microscopia eletrônica de varredura.

3.2 Síntese de materiais hierarquicamente estruturados

Um dos principais fatores que determinam a estrutura cristalina de um copolímero em fases liotrópicas é sua habilidade em formar diferentes fases cristalinas dependendo de sua quantidade, e as quantidades de água e surfactante utilizadas. Estas diferentes fases cristalinas são relatadas em vários trabalhos [42, 48, 82]. Supondo que a fase cristalográfica do copolímero não mude apreciavelmente quando uma solução contendo fonte de sílica é inserida no sistema, pode-se direcionar a geração de uma fase cristalográfica específica. De fato, mesmo se modificações suaves de concentração forem realizadas, há uma ampla faixa em que a fase cristalográfica do copolímero permanecerá inalterada. Essa propriedade permite-nos prever a geração de mesofases específicas de sílica e adicionar fonte de sílica na mistura reacional sem a perda da estrutura cristalina do copolímero. Dentre as várias estruturas possíveis que copolímeros podem formar, a estrutura cúbica parece ser a mais conveniente para a síntese de materiais mesoporosos,

uma vez que os primeiros permitem a geração de um sistema de poros onde o processo de difusão pode ser maximizado, e esta propriedade é extremamente desejada na maioria dos processos catalíticos. A escolha correta da quantidade de reagente é fundamental para se atingir a fase cristalina que se pretende.

Materiais hierarquicamente estruturados foram sintetizados usando tetrametilortosilicato (TMOS) (Figura 16) como fonte de sílica, nanoesferas de poliestireno (PS) como direcionadores de estrutura para geração de macroporos e copolímeros triblocos e cosurfactantes como direcionadores de estrutura de meso- e microporos. Várias amostras foram preparadas variando as quantidades de surfactantes e cosurfactantes, as quais foram determinadas de acordo com os diagramas ternários de água/surfactante/cosurfactante.

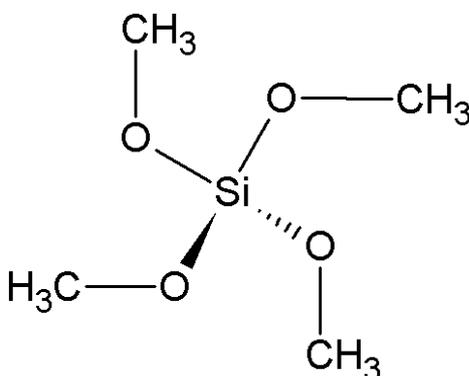


Figura 16. Estrutura molecular do tetrametilortosilicato.

Os diagramas ternários mostrados na Figura 17 foram extraídos da literatura [42, 48, 82] e mostram as diferentes fases originadas quando compostos orgânicos são adicionados a uma solução de copolímero tribloco plurônico F127 (fórmula química média: $EO_{107}PO_{70}EO_{107}$, onde EO é grupo óxido de etila, OCH_2CH_2 , e PO é o grupo óxido de propila, $OCH_2CH(CH_3)$). Esses diagramas foram utilizados para se estimar a quantidade de reagentes para as sínteses realizadas neste trabalho. O objetivo aqui é conseguir materiais mesoporosos de estrutura cúbica. Deste modo, um ponto médio na região (I_1) nos diagramas ternários indica a concentração, em massa, requerida dos reagentes para que estrutura cúbica possa ser atingida.

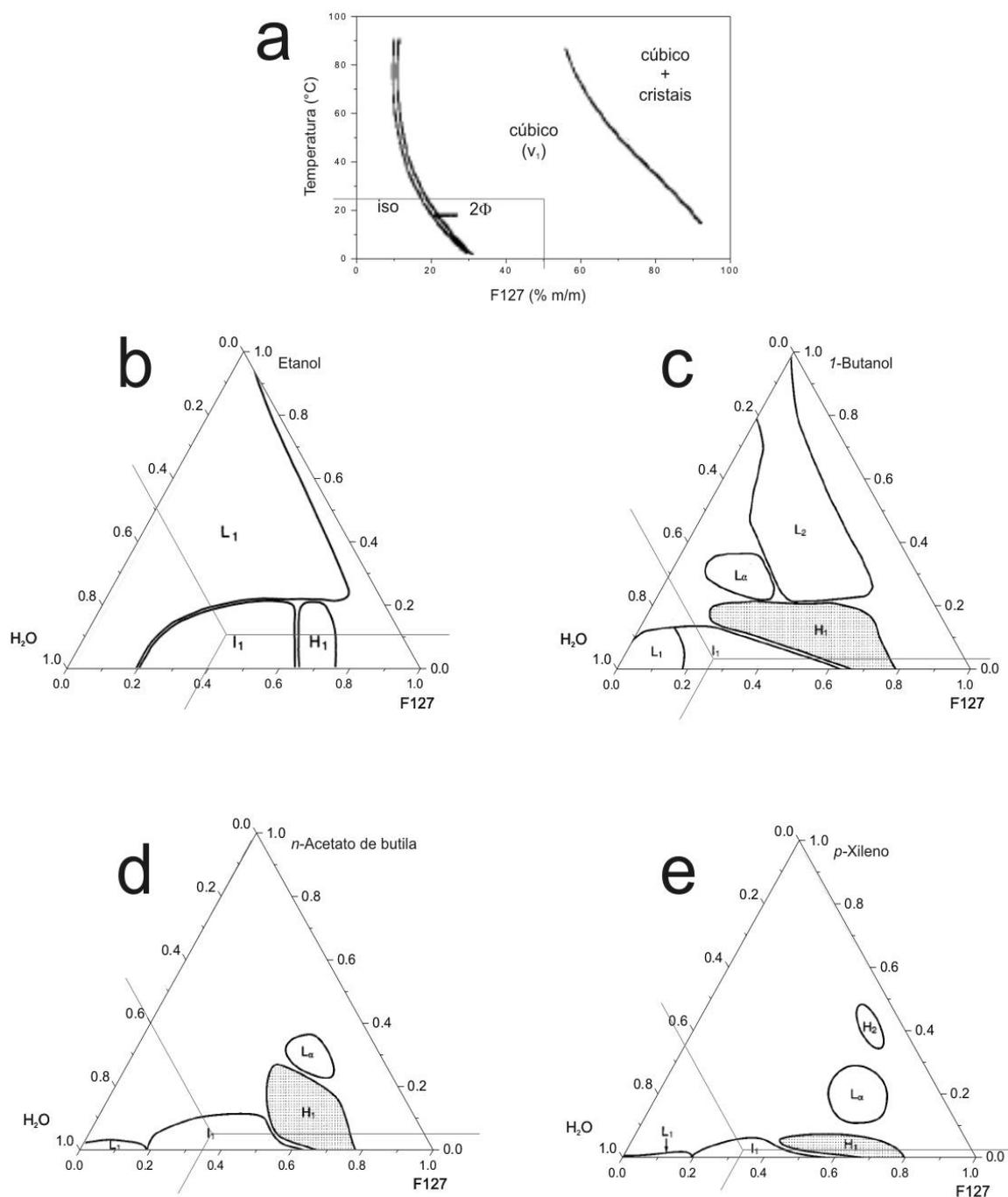


Figura 17. Diagrama de fases do copolímero F127 mostrando a região cúbica (I1).

A síntese das amostras foi realizada diluindo-se 4,06 g de HCl 0,475 M em 9,71 g de água deionizada e misturando com 18,16 g de TMOS. A temperatura da solução aumentou para aproximadamente 60 °C. Esses reagentes foram misturados com agitação magnética por 15 min, até que a temperatura se estabilizasse (25 °C). As quantidades adequadas de surfactante e cosurfactante

foram colocadas em separado em um béquer de polipropileno de 200 mL, no qual a fonte de sílica foi adicionada. A mistura foi agitada por mais 15 min antes da adição de 4 g de nanoesferas de poliestireno. A solução final foi agitada por 30 min e então deixada em repouso em capela durante 24 h. Após este período o material apresentou-se solidificado, com aparência de resina. A amostra foi dividida em duas partes. A primeira foi submetida à calcinação em mufla, a 550 °C por 6 h com razão de aquecimento de 1 °C.min⁻¹, na presença de ar. Cerca de 5 g da segunda parte foi tratada com 30 mL de tetrafluoroetano (THF) sob agitação magnética e sob refluxo, por 30 min a temperatura ambiente, e calcinada por 550 °C durante 6 h com razão de aquecimento de 1°C.min⁻¹. O esquema mostrado na Figura 18 sumariza os processos de síntese, assim como a denominação das amostras obtidas, de modo a descrever o polímero usado para gerar os macroporos, e os tipos de surfactante e cosurfactante utilizados.

Amostra: PS-F2

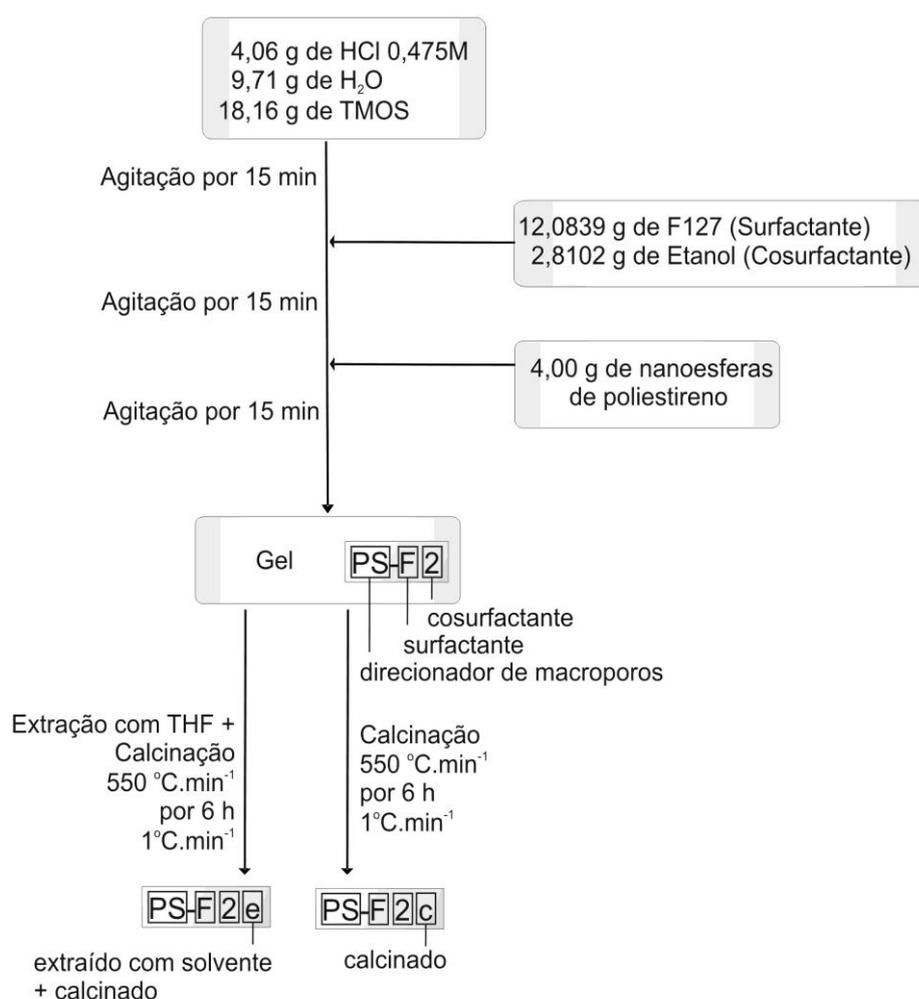


Figura 18. Representação do processo de síntese de uma das amostras.

O copolímero em tribloco plurônico F127 ($\text{EO}_{107}\text{PO}_{70}\text{EO}_{107}$) foi usado como surfactante, enquanto etanol (99 %, Sigma-Aldrich), 1-propanol (99,7 %, Sigma-Aldrich), 1-butanol (99,8 %, Sigma-Aldrich), 1-pentanol (99 %, Sigma-Aldrich), n-acetato de butila (99 %, Sigma-Aldrich) e p-xileno (99 %, Sigma-Aldrich) foram usados como cosurfactantes (Figura 19).

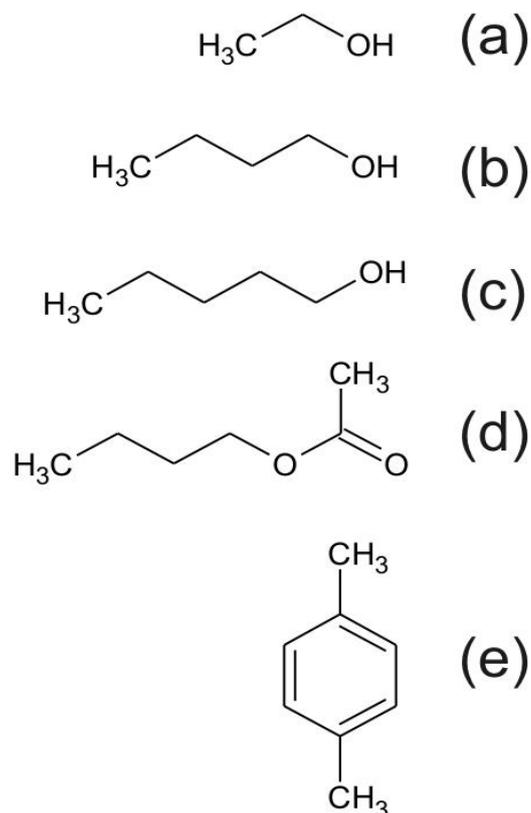


Figura 19. Cosurfactantes: a) etanol, b) n-butanol, c) n-propanol, d) n-acetato de butila e e) p-xileno.

A Tabela 2 mostra os detalhes das misturas reacionais.

Tabela 2. Misturas reacionais usadas nas sínteses.

Amostra	F127 (g)	Cosurfactante (g)	Razão Molar
			H ₂ O : F127 : TMOS : HCl : cosurfactante
F1	9,1800	-	6,46732 : 0,00322 : 1,00000 : 0,01617 : 0,00000
PS-F1	9,1800	-	6,46732 : 0,00322 : 1,00000 : 0,01617 : 0,00000
PS-F2	12,0839	Etanol = 2,8102	6,46726 : 0,00313 : 1,00000 : 0,01613 : 0,53917
PS-F4	5,6700	1-Butanol = 0,8100	6,46707 : 0,00379 : 1,00000 : 0,01614 : 0,09163
PS-F5	4,7413	1-Pentanol = 3,5060	6,46716 : 0,00313 : 1,00000 : 0,01619 : 0,33336
PS-F6	8,0325	<i>n</i> -Acetato de butila = 1,1475	6,46691 : 0,00538 : 1,00000 : 0,01620 : 0,08283
PS-F7	6,9909	<i>p</i> -Xileno = 0,4237	6,46724 : 0,00466 : 1,00000 : 0,01617 : 0,03347

Todas as amostras: H₂O = 9,71 g; HCl = 4,06 g; TMOS = 18,16 g; Nanoesferas de PS = 4,00 g.

Com o intuito de se obter uma amostra com concentração máxima de macroporos, outra síntese foi realizada usando condições idênticas às usadas na amostra PS-F2, exceto pela utilização das nanoesferas de poliestireno na forma de um monolito, e não como pó. A eliminação dos agentes direcionadores de estruturas deu-se somente através do processo de calcinação, como descrito anteriormente. A esta amostra deu-se a denominação de PS3-F2c.

3.3 Síntese de zeólitas com arquitetura macroporosa

A zeólita Y na forma de cristalitos coloidais foi sintetizada de acordo com o método descrito por Hernandez-Ramirez et al. [83]. O primeiro precursor foi preparado dissolvendo-se 0,128 g de hidróxido de sódio (NaOH) em 44,85 g de uma solução de hidróxido de tetrametilamônio (25% m/m em água) juntamente com 263 mL de água deionizada e 20,4 g de isopropóxido de alumínio (Al[OCH(CH₃)₂]₂). O segundo precursor foi preparado a partir da dissolução de 35,4 g de tetrametiloro-silicato em 44,85 g da solução de hidróxido de tetrametilamônio (25% p/p em água). As duas soluções resultantes foram misturadas e submetidas à agitação magnética durante 24h, com o intuito de se obter uma solução homogênea

e livre de partículas de gel. A mistura reacional foi colocada em um cadinho de teflon, e este inserido em um autoclave de aço inoxidável, sendo então aquecido por 6 dias. A solução resultante foi dializada e a ela foi adicionado pequenos monolitos de nanoesferas de poliestireno. Esta mistura foi sonificada durante 6 h, filtrada e seca durante 12 h à temperatura ambiente. O material resultante deve consistir, portanto de agregados de nanoesferas de poliestireno os quais devem ter cristalitos da zeólita Y impregnados em sua superfície.

A mistura reacional utilizada para o processo de crescimento dos cristalitos dispersos sobre a superfície dos agentes direcionadores de macroporos foi preparada da seguinte forma: 2,77 g de sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) foram dissolvidos em 27,95 g de água deionizada juntamente com 5,0 g de NaOH. Em um recipiente separado, 2,95 g de metassilicato de sódio (Na_2SiO_3) em 27,95 g de água deionizada. Ambas as soluções foram submetidas à agitação e, em seguida, misturadas e agitadas por 2h.

Os monolitos impregnados com cristalitos da zeólita Y preparados na etapa anterior foram imersos na mistura reacional de crescimento e colocados em cadinho de teflon, o qual foi inserido em autoclave de aço inoxidável e submetido a aquecimento de 100 °C durante 2h. O material resultante foi filtrado, denominado PS-DYc, lavado, seco à temperatura ambiente por 12 h e calcinado a 550 °C com razão de aquecimento de 1 °C.min⁻¹.

3.4 Caracterização

3.4.1 Difração de raios-X (XRD)

Difratogramas de raios-X foram obtidos em difratômetro de alta resolução do laboratório de luz síncrotron de Daresbury (Grã-Bretanha). As medidas feitas na amostra PS3-F2c (sintetizada posteriormente) foram feitas em equipamento Bruker, modelo D8discovery, com tubo de Cu $k\alpha$ operando a 50 kV e 40 mA, velocidade de varredura de 0,5 graus por minutos, usando fendas de 0,2 mm. As zeólitas com arquitetura macroporosa foram analisadas em equipamento Philips, com tubo de Cu $k\alpha$ operando a 40 kV e 40 mA e velocidade de varredura de 0,5 graus por minutos.

3.4.2 Análise térmica

Os polímeros usados como SDA, assim como as amostras recém-sintetizadas, foram submetidas à análise termogravimétrica (TG) em equipamento modelo TGA Q5000IR da TA instruments. A faixa de temperatura usada foi de 30 a 550 °C, com razão de aquecimento de 1 °C.min⁻¹ em atmosfera de ar sintético com razão de fluxo de 25 mL.min⁻¹.

Análises simultâneas TG-DTA (termogravimetria diferencial) das amostras calcinadas e extraídas com solvente foram realizadas em temperaturas entre 30 e 1000 °C, com razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.

3.4.3 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

O tamanho de partícula, morfologia e a estrutura dos macroporos foram caracterizados através de SEM. As micrografias foram obtidas em equipamento SEI modelo Quanta 200. As amostras foram preparadas em fita de carbono de dupla-face, sobre suporte de alumínio e cobertas com uma fina camada de ouro.

3.4.4 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (HRSEM)

As análises de HRSEM foram realizadas para a amostra PS3-F2c em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (FE SEM) JEOL modelo JSM-741F operado a 3 kV, com aceleração de voltagem resultante de 1 kV após a retardação do feixe de elétrons usando o modo *gentle beam*. A amostra partida em secções transversais foi preparada inicialmente com a quebra do monolito em pequenas partículas por meio de maceração. As partículas resultantes foram então submetida a um meio condutivo e polidas com um feixe de íons Ar⁺ a 4 kV com corrente de 80 mA por 8 h usando equipamento JEOL modelo SM-09010.

3.4.5 Adsorção-desorção de nitrogênio

Isotermas de adsorção-desorção de nitrogênio foram obtidas a -196 °C sobre uma ampla faixa de pressão relativa, de 0,001 a 0,995 em equipamento modelo ASAP 2010 Micromeritics. Todas as amostras foram degasadas a 300 °C por 12 h antes das medidas. A amostra PS3-F2c foi analisada em equipamento ASAP-2020, usando as mesmas condições das demais amostras.

As áreas superficiais foram determinadas usando-se o método BET. A teoria envolvida nesse método segue um conjunto de regras bastante conhecido da adsorção física de moléculas de gases sobre a superfície de um sólido. Os conceitos desta teoria são uma extensão da teoria de Langmuir, aplicada a uma monocamada

molecular de adsorção, partindo para adsorção em multicamadas admitindo as seguintes hipóteses: (a) moléculas de gases são fisicamente adsorvidas no sólido em camadas infinitas; (b) as interações entre as camadas adsorvidas são desprezíveis e (c) a teoria de Langmuir pode ser aplicada para todas as camadas. A equação de BET resultante é expressa por [84]:

$$\frac{1}{V \left[\left(\frac{P_0}{P} \right) - 1 \right]} = \frac{C - 1}{V_m C} \left(\frac{P}{P_0} \right) + \frac{1}{V_m C} \quad (1)$$

Onde,

P e P_0 são as pressões de equilíbrio e de saturação dos adsorbatos nas temperaturas de adsorções;

V é a quantidade de gás adsorvido;

V_m é a quantidade de gás adsorvido na monocamada e

C é constante de BET, expressa por:

$$C = e^{\left(\frac{E_1 - E_L}{RT} \right)} \quad (2)$$

Onde E_1 é o calor de adsorção para a primeira camada, e E_L é o calor de adsorção das demais camadas (calor de liquefação).

Um gráfico de $\frac{1}{V \left[\left(\frac{P_0}{P} \right) - 1 \right]}$ versus $\frac{P}{P_0}$ fornece uma relação linear na região que compreende $0.05 < P/P_0 < 0.35$. Os valores do coeficiente angular (s) e do coeficiente linear (i) da reta obtida são utilizados para calcular a quantidade de gás adsorvida na monocamada, V_m , que é expressa por:

$$V_m = \frac{1}{s + i} \quad (3)$$

E a constante do BET, dada por:

$$C = 1 + \frac{s}{i} \quad (4)$$

$$S_{BET} = \frac{V_m N s}{V_{gas}} \quad (5)$$

Onde,

N é o número de Avogrado,

s é a área da molécula adsorvida e

V_{gas} é o volume molar do gás usado como sonda.

3.4.6 Porosimetria de mercúrio

Análise de porosimetria de mercúrio foi feita na amostra PS3-F2c, com o objetivo de obter maiores informações a respeito das propriedades macroporosas. Os experimentos foram realizados em equipamento Micromeritics modelo Autopore IV.

3.4.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

As amostras usadas nas análises de TEM foram preparadas usando alguns miligramas do pó disperso em acetona e tratado em banho de ultra-som por 15 min. Duas gotas da dispersão foram colocadas sobre o suporte de cobre (300 mesh) recoberto com filme de carbono microporoso. As amostras foram analisadas em equipamento Philips modelo CM-20 operando a 200 kV.

3.4.8 Microscopia de força atômica (AFM)

Micrografias de força atômica foram obtidas em instrumentos Digital Instruments MultiModet com controladores Nanoscope III usando modo de semicontato com pontas de silício com força constante de $0,58 \text{ N.m}^{-1}$, e razões de varredura de 3 Hz.

3.5 Funcionalização do suporte

A imobilização de enzimas em um sólido poroso pode se dá por meio da oclusão de enzimas dentro dos poros do material desde que seu sistema de porosidade apresente dimensões compatíveis com o diâmetro cinético da enzima trabalhada. Entretanto, uma interação que permita o ancoramento da enzima sobre uma superfície de forma mais efetiva requer que esta última apresente algum tipo de afinidade com a enzima. Ligações covalentes entre a enzima e a superfície do suporte estão entre as formas de interação que provêm maior eficiência no processo de imobilização.

A funcionalização da amostra PS3-F2c (doravante denominada de MHE, em referência ao material hierarquicamente estruturado sintetizado e cujas propriedades se mostraram as mais adequadas para este propósito) foi inicialmente feita com glutaraldeído. 250 mg da amostra MHE foram misturados, em um

erlenmeyer, com 10 mL de glutaraldeído 25 % p/p e submetido à agitação orbital a temperatura ambiente durante 4 h. O material resultante foi lavado com água deionizada (5 x 15 mL), filtrada e seco à vácuo. A eficiência do método foi avaliada através de análise de absorção na região do infravermelho, usando pastilhas de KBr 5 % p/p.

O segundo método de funcionalização foi feito usando-se 2-mercaptobenzotiazol (MBT) de acordo com a rota homogênea descrito no procedimento proposto por Pérez-Quitaniilla [85]. Este procedimento requer a reação prévia entre o MBT e o 3-cloropropiltrietoxisilano (CPTS). 5,0000 g de MBT foram imersas em 50 mL de dimetilformamida (previamente seca em zeólita A granulada) em um balão de 250 mL sob atmosfera de argônio. Em seguida foram adicionados 14,4000 g de CPTS e 3,0250 g de trietilenoamina. A mistura foi submetida a aquecimento a 110 °C, sob agitação magnética e atmosfera de argônio e sob refluxo, por 48 h. Em seguida o solvente foi evaporado usando uma bomba de vácuo acoplado a dois traps ligados em séries e submersos em nitrogênio líquido. O material resultante foi extraído com hexano seco (2 x 30 mL) e, em seguida, destilado, sob vácuo, para remover excesso de CPTS. O material obtido foi chamado de MBT/CPTS.

A funcionalização foi feita com por meio da reação de 5,00 g do composto MBT/CPTS com 5,00 g da amostra MHE (previamente seco a 160 °C sob vácuo por 4h). Estes compostos foram dispersos em 50 mL de tolueno seco e submetidos à agitação mecânica, sob refluxo e em atmosfera de argônio, durante 48 h. O material resultante, chamado de MHE-MBT, foi então lavado com tolueno (2 x 30 mL), etanol (2 x 30 mL) e dietil éter (2 x 30 mL) e seco a 110 °C sob vácuo por 4 h.

3.6 Imobilização enzimática

Foram preparados 2 L de solução tampão fosfato a partir de potássio monobásico (KH_2PO_4) 0,1 M com o pH ajustado com solução de hidróxido de potássio 0,1 M.

A solução enzimática foi prepara dissolvendo-se 3,2 mg da enzima HRP liofilizada (Sigma, tipo VI, 254 U purpurogalina/mg do sólido) em 10 mL de solução

tampão fosfato. Retirou-se 2 mL desta solução para análises posteriores. Os 8 mL restantes foram transferidos para um balão de fundo redondo de 25 mL onde foram adicionados 100 mg da amostra MHE-MBT. O recipiente foi fechado e colocado em um banho de gelo, sendo então submetido à agitação orbital durante 3 h. O material foi centrifugado a 4.000 rpm e lavado três vezes com solução tampão fosfato. Todas as amostras foram armazenadas sob refrigeração para evitar desnaturação da enzima.

3.7 Testes catalíticos

A determinação das atividades da solução enzimática, do sobrenadante e das lavagens do processo de imobilização foi realizada seguindo instruções do folheto da companhia Sigma-Aldrich, fornecedora da enzima. 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 % p/p. 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 absorvância monitorada em 410 nm, usando espectrofotômetro Genesys 10 uV scanning da Thermo Scientific com leituras feitas em intervalos de 1 s, até se verificar absorvância constante.

Os cálculos das atividades das soluções enzimáticas tamponadas com fosfato foram realizados a partir do $\Delta A_{410nm}/20$ s usando a região de coeficiente angular máximo, aplicando-se a equação a seguir [86]:

$$Unid./mL\ enzima = \frac{(\Delta A_{410nm} / 20\ s)_{teste} - (\Delta A_{410nm} / 20\ s)_{branco} \times 3 \times df \times 0,1}{12} \quad (6)$$

Onde, **3** é o volume, em mL, do teste;

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.

A eficiência do biocatalizador produzido pela imobilização da enzima HRP no material hierarquicamente estruturado foi avaliada por meio de análise por injeção em fluxo, cujo mecanismo principal é mostrado na Figura 20. Para esta etapa foram preparadas soluções de catecol com concentrações variando de 10 a 50 mM, na presença de H_2O_2 15 mM e tamponadas com solução fosfato pH 6,00. O fluxo de trabalho foi de $1,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Utilizou-se cubeta de quartzo adaptada para fluxo, com caminho óptico de 1 cm.

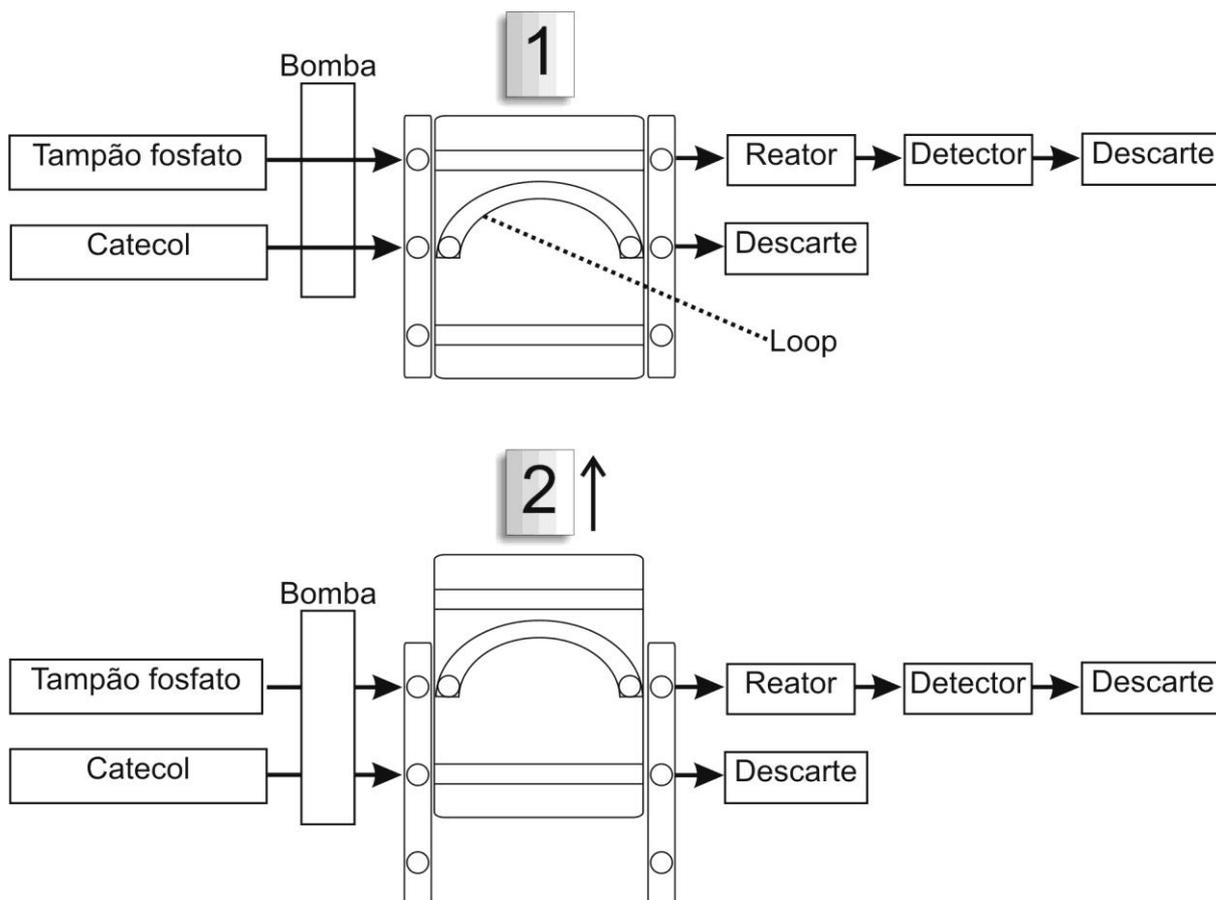


Figura 20. Comutador usado nas análises por injeção em fluxo (FIA).

Na posição 1, a solução tampão fosfato é bombeada para o reator (de leito fixo), passando pelo detector e, em seguida, para o descarte. Ainda nesta posição, outra conexão é continuamente alimentada com a solução de catecol e peróxido de hidrogênio, mantendo, portanto o loop que apresenta volume fixo de $60 \mu\text{L}$ sempre cheio com a solução. Quando o comutador passa para a posição 2, a solução de catecol que estava dentro do loop é carregada pelo tampão fosfato para o reator, onde a reação de conversão do catecol à 1,2-benzoquinona (ou o-benzoquinona) (Figura 21), deve se processar [78].

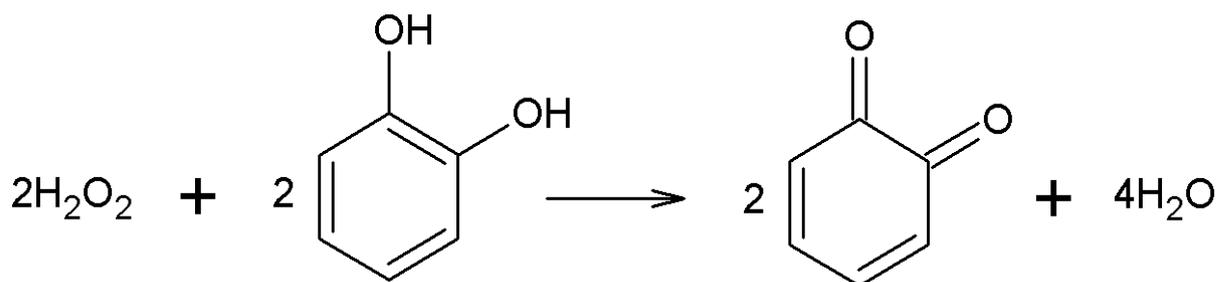


Figura 21. Reação de oxidação do catecol à 1,2-benzoquinolina.

Após se verificar o aparecimento de um pico de absorção e se atingir a linha de base, o comutador é movido para o posição 1, repetindo este processo em triplicada para cada concentração de substrato. Os resultados obtidos foram expressos como a resposta do detector (absorbância) em função da concentração do substrato, ou seja, como a curva de calibração para determinação de catecol.

Além disso, a capacidade máxima de conversão foi feita injetando-se solução do substrato com fluxo contínuo com o auxílio de comutador montado como mostrado na Figura 22:

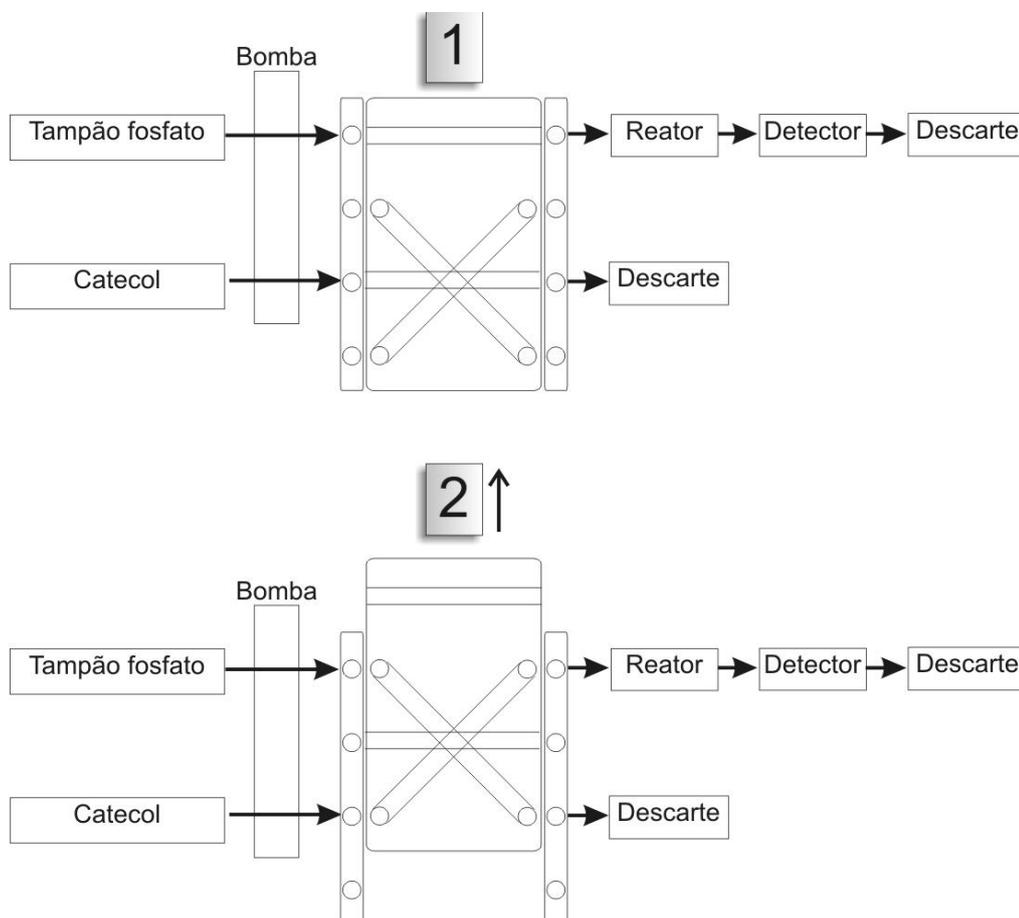


Figura 22. Comutador montado para determinação da capacidade máxima de conversão do biocatalisador.

A posição 1 do comutador permite que o tampão acesse o reator enquanto a solução de catecol é transportada diretamente para o descarte. Quando a posição 2 é acionada, a solução de catecol é injetada no reator com fluxo constante, permitindo se verificar o máximo de substrato que pode ser convertido nestas condições. A partir dos resultados deste procedimento e com o auxílio dos dados da curva de calibração, foram determinadas as velocidades iniciais de reação e construído um gráfico da velocidade de reação em função da concentração do substrato para, em seguida, se obter o gráfico dos duplos recíprocos [87] e determinar a constante de Michaelis-Menten e a velocidade máxima de reação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Nanoesferas de poliestireno

Em geral, o uso de agentes emulsificantes é requerido para agir como uma camada hidrofóbica para reduzir o potencial energético da interface, promovendo a estabilização da emulsão e, portanto a regularidade no tamanho das partículas [49]. Como mencionado nos procedimentos, optou-se por não se utilizar agentes emulsificantes a fim de permitir que a eliminação nas nanoesferas pudesse ser feita com facilidade durante a etapa de calcinação na obtenção dos materiais hierarquicamente estruturados.

O processo de polimerização do estireno encontra-se representado na Figura 23.

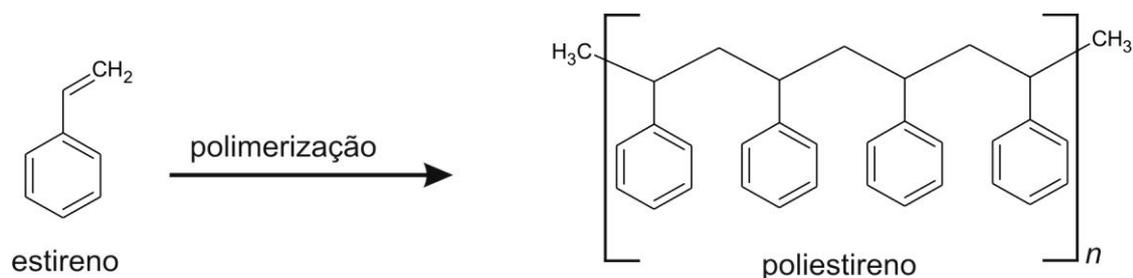


Figura 23. Representação do processo de polimerização do estireno.

A Figura 24 mostra micrografias das nanoesferas de poliestireno na forma de monolitos. É possível observar as camadas empacotadas postas umas sobre as outras sistematicamente. Durante o processo de centrifugação as esferas poliméricas tendem a se agrupar em estruturas empacotadas, o que é extremamente desejável quando se pretende que estes atuem como direcionadores na formação de macroporos em materiais hierarquicamente estruturados. Cada camada (Figura 24c) é constituída por esferas organizadas em geometria hexagonal, isto é, cada esfera é cercada por outras seis, em um mesmo plano. As camadas inferiores são dispostas de modo a preencher, de forma alternada, os espaços existentes entre cada três esferas. A camada superior, denominada de camada A, dispõe-se sobre uma camada B. Esta, por sua vez, pode estar disposta sobre duas diferentes camadas: uma camada onde as esferas aparecem na posição A, originando uma seqüência do tipo ABABAB... ou uma camada diferente de A e B,

denominada de camada C, dando origem à seqüência ABCABCABC.... A célula unitária do primeiro caso é do tipo hexagonal empacotada (ehc), enquanto no segundo caso, a célula unitária é do tipo cúbica empacotada (cfc). Na prática, o que se observa é que estruturas construídas dessa maneira são na verdade uma mistura de geometrias ehc e cfc.

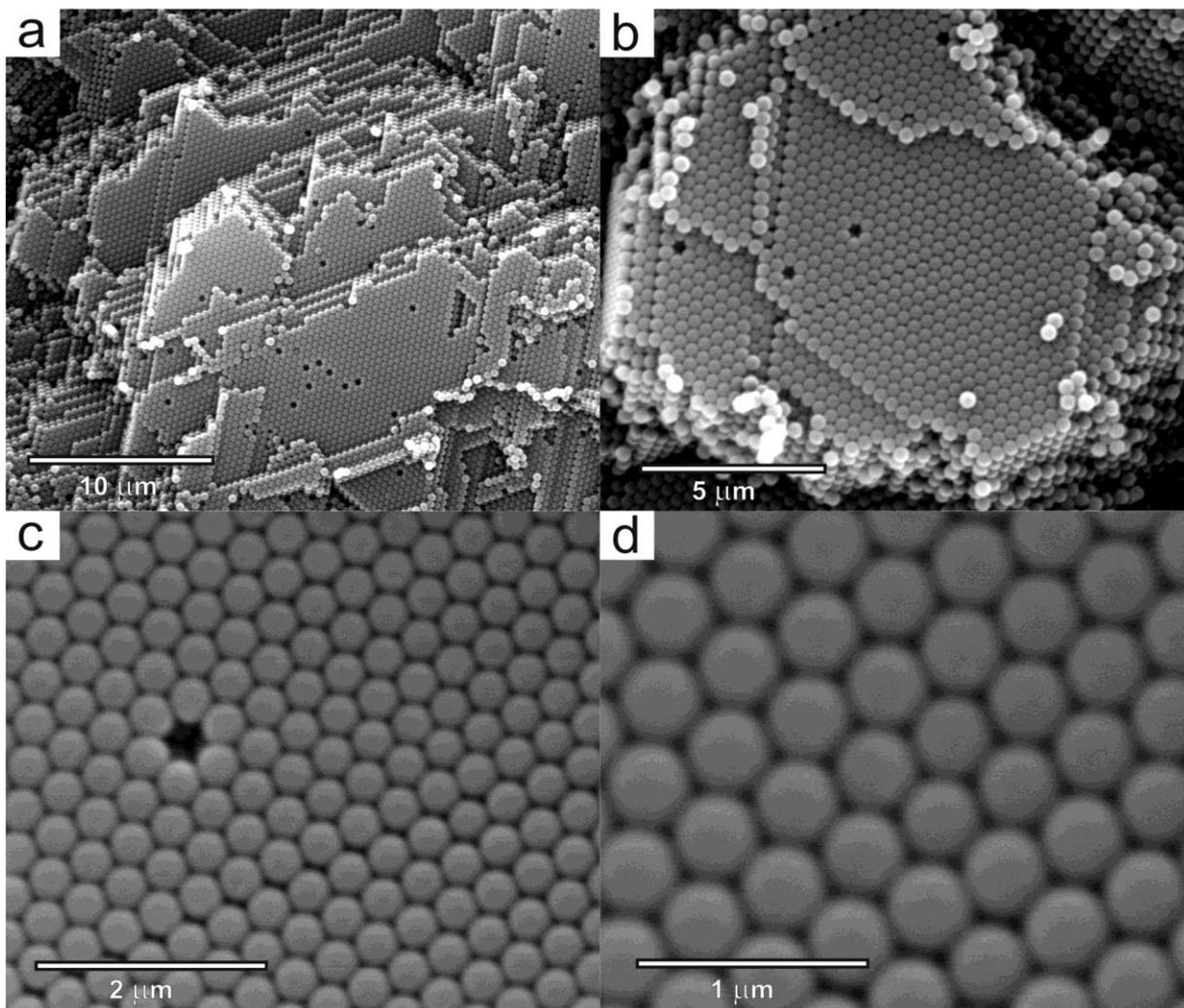


Figura 24. SEM das nanoesferas de poliestireno na forma de monólitos com diferentes aumentos.

Outra informação importante que pode ser extraída das imagens de SEM é que o material sintetizado apresenta elevada monodispersividade e tamanhos de partícula regulares, e mesmo a ausência de algumas esferas nas camadas não compromete o arranjo como um todo.

As micrografias apresentadas na Figura 25 mostram as nanoesferas após os monólitos terem sido convertidos em pós. Neste caso, a regularidade observada

na imagem anterior é, em grande parte, perdida. Não obstante, quando estes compostos são postos em solução aquosa, espera-se que os mesmos apresentem algum tipo de organização o qual pode ser útil no processo de direcionamento das estruturas macroporosas.

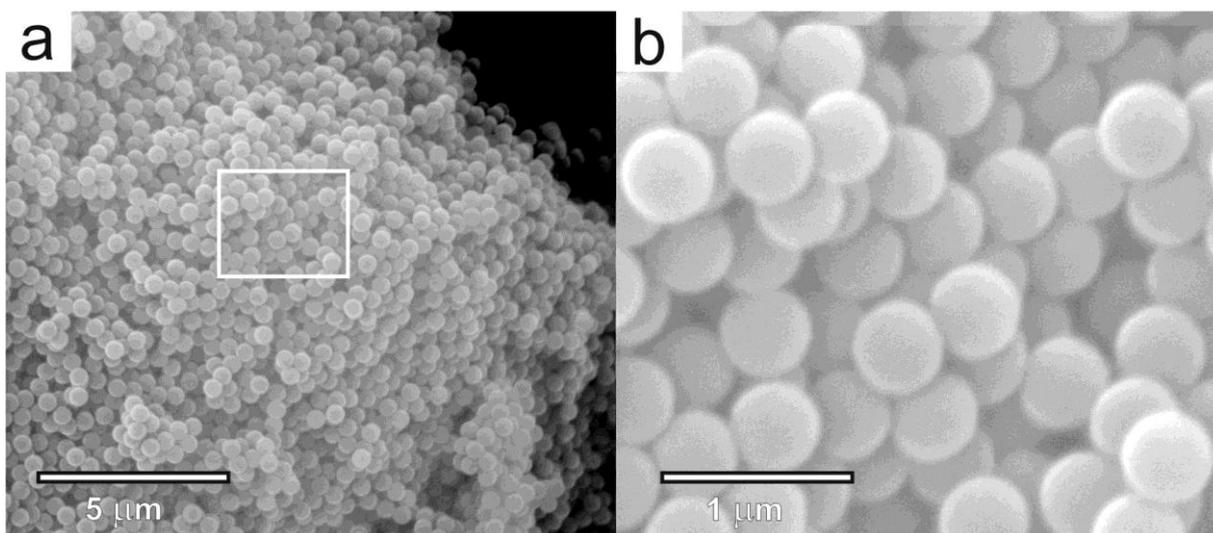


Figura 25. SEM das nanoesferas de poliestireno na forma de pó com diferentes aumentos.

4.2 Materiais hierarquicamente estruturados

Um sólido não-rígido foi obtido em poucas horas após os reagentes terem sido misturados. Este gel será chamado de amostra recém sintetizada. Por exemplo, a amostra recém sintetizada PS-F4 é mostrada na Figura 26a, e a amostra calcinada PS-F4c na Figura 26b. Verifica-se que o volume diminui dramaticamente após o processo de calcinação. Aproximadamente 75% da massa da amostra é perdida. Isto se deve à eliminação tanto do copolímero tribloco como das nanoesferas de poliestireno usadas como direcionadores de estrutura.



Figura 26. Amostra PS-F4c a) antes e b) após a calcinação.

Em uma outra metodologia, optou-se por preparar um material hierarquicamente estruturado na forma de monólito. Para este procedimento utilizou-se pequenos pedaços das nanoesferas de poliestireno na forma de monolitos. Estes monolitos foram obtidos no processo de centrifugação, onde as nanoesferas presentes na forma de colóide são forçadas a se sedimentar no fundo do tubo de centrifuga. Na Figura 27 são mostrados o monolito composto por nanoesferas de poliestireno, o compósito constituído pelas nanoesferas direcionadoras das estruturas macroporosas e o material hierarquicamente estruturado, cujo formato corresponde à replica inversa do monolito formado pelas nanoesferas de poliestireno. Este procedimento mostrou ser possível obter o material final em praticamente qualquer formato a depender da forma em que os agentes direcionadores de estrutura se encontram e, é claro, resguardado o tamanho máximo em que monolitos desta natureza podem ser produzidos.

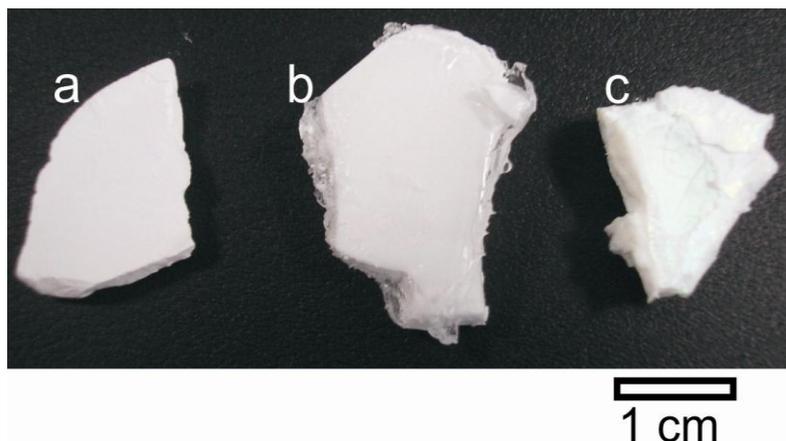


Figura 27. a) monolito de nanoesferas de poliestireno, b) compósito formado pelo monolito de nanoesferas de poliestireno e da sílica condensada nos interstícios destas e c) material hierarquicamente estruturado na forma de monolito após a extração dos direcionadores de estrutura.

Uma vez que as amostras foram sintetizadas em meio ácido, o processo de polimerização da sílica deve então ocorrer de acordo com o mecanismo mostrado na Figura 28 [88].

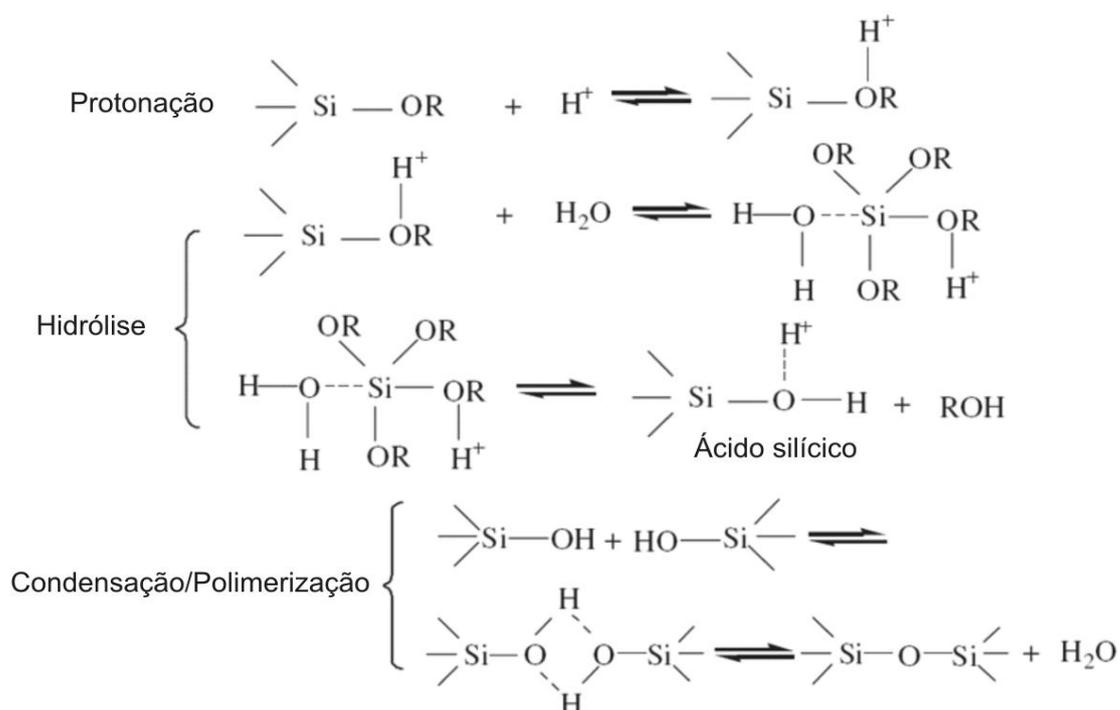


Figura 28. Reação de polimerização da solução fonte de sílica em meio ácido.

TMOS e TEOS são largamente utilizados como fontes de sílica na síntese de materiais nanoporosos [89]. De acordo como Brinker [90], as razões de hidrólise e condensação determinados para TMOS são significativamente maiores que

aqueles para TEOS. Isto se deve ao aumento de densidade eletrônica pelos substituintes alcóxidos (OEt *versus* OMe), pois se esperaria um aumento nas razões de hidrólise e condensação. Este efeito oposto sugere que fatores estéricos são mais importantes que efeitos indutivos na determinação da cinética sol-gel [90].

4.2.1 Difração de raios-X

Os difratogramas 2D para as amostras calcinadas e extraídas/calcinadas são mostradas na Figura 29:

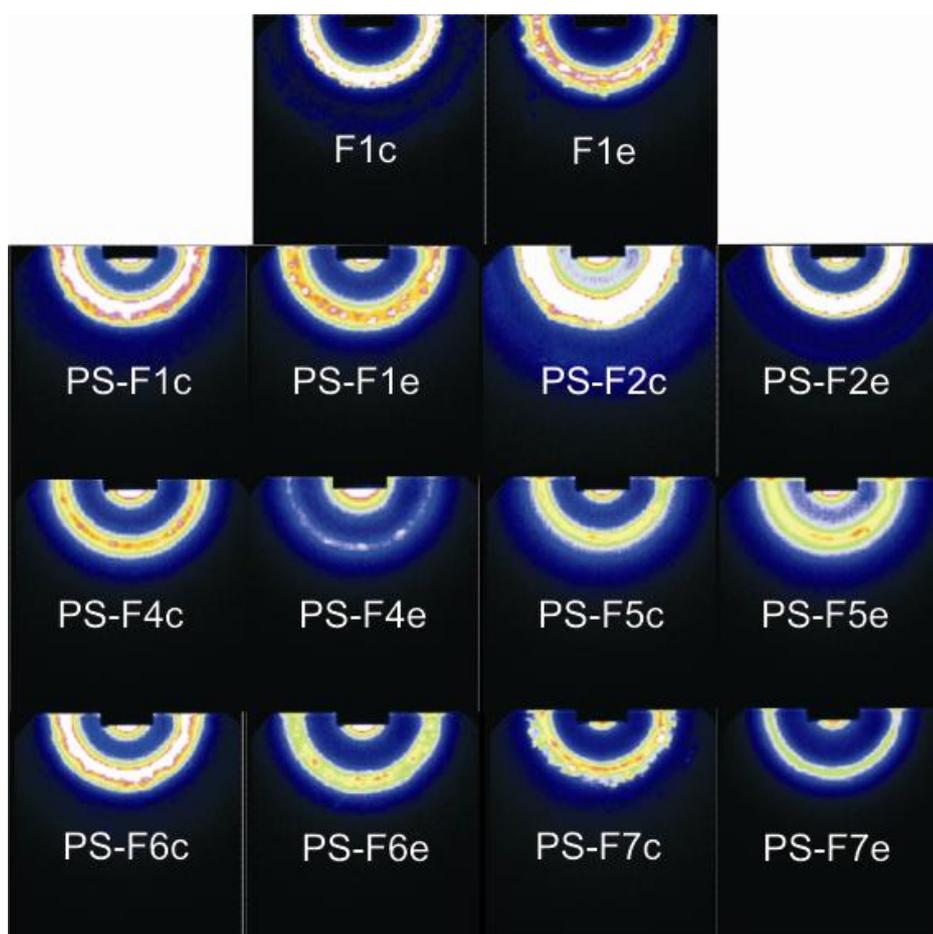


Figura 29. Difratogramas 2D das amostras calcinadas e extraídas.

A intensidade dos raios-X difratados é calculada baseando-se em coordenadas cíclicas. Admite-se que o meio-círculo mostrado na figura é simétrico, e então o centro do feixe é encontrado. Desse modo, os difratogramas 1D foram obtidos (Figura 30).

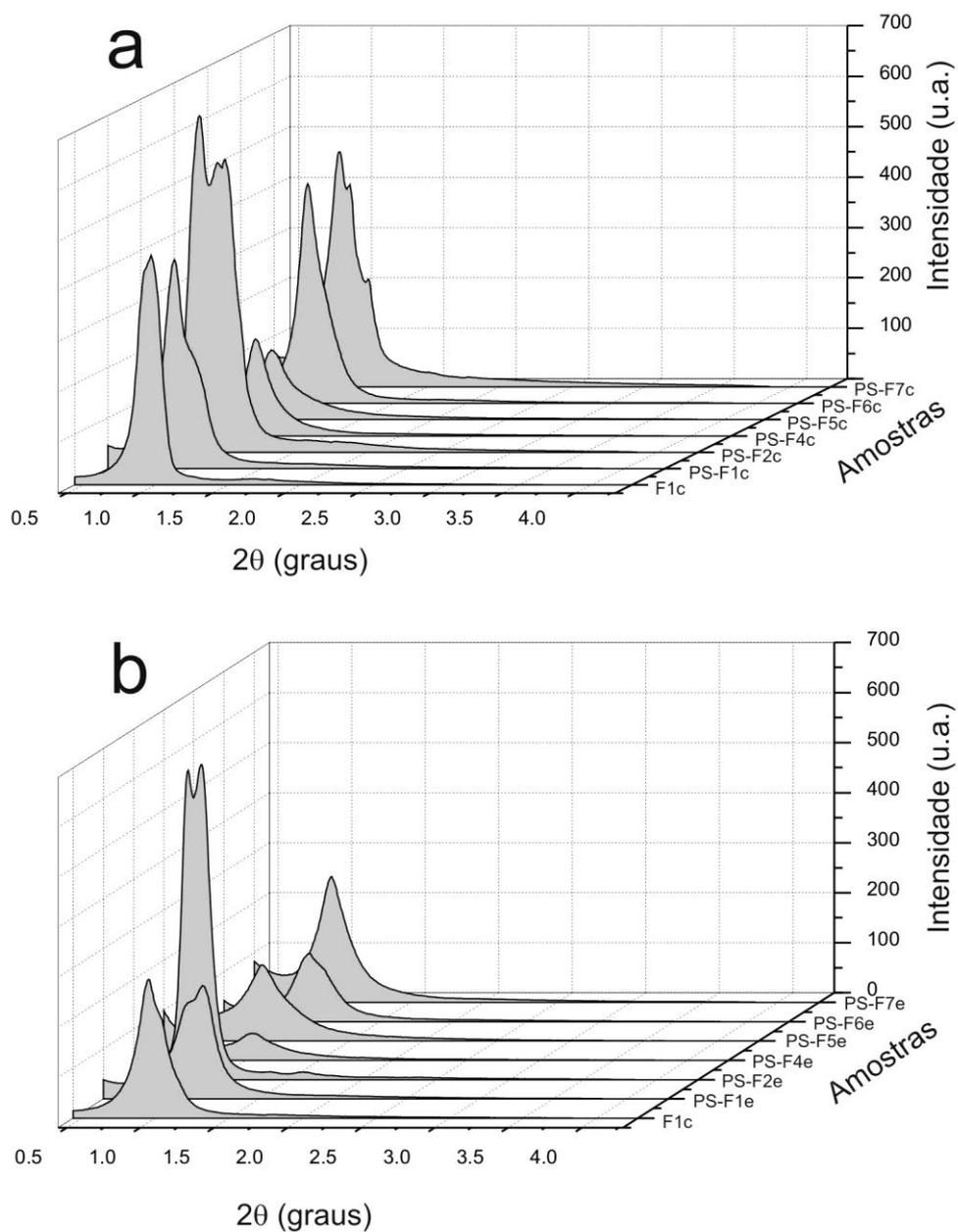


Figura 30. Difractogramas das amostras a) calcinadas e b) extraídas com solvente.

Os difratogramas mostram pelo menos um pico intenso em baixo ângulo, com outros picos com intensidades menores a ângulos ligeiramente maiores. O pico intenso observado em todas as amostras é um bom indicativo da presença de mesoporosidade nos materiais. O fato de a amostra PS-F5c e PS-F5e mostrar

apenas um pico sugere que estas possuem mesoporosidade, mas com uma estrutura desordenada.

Para materiais cristalinos, a difração de raios-X fornece informações estruturais detalhadas, o que faz sua utilização extremamente valiosa e efetiva. No entanto, o poder desta técnica experimental é limitado ao estudo estrutural de sílicas mesoporosas 3D, uma vez que células unitárias grandes resultam em um pequeno número de reflexões no difratograma e, deste modo, a determinação do grupo espacial e mesmo do sistema cristalino tornam-se difíceis de serem feitas [91]. Este princípio pode ser aplicado à maioria das amostras obtidas neste trabalho, onde um pico intenso junto a alguns poucos com baixa intensidade puderam ser identificados.

Não obstante, a amostra PS-F2e (Figura 31) apresenta mais picos que as outras amostras, o que permitiu que sua estrutura pudesse ser determinada. Pelo menos 9 picos foram identificados.

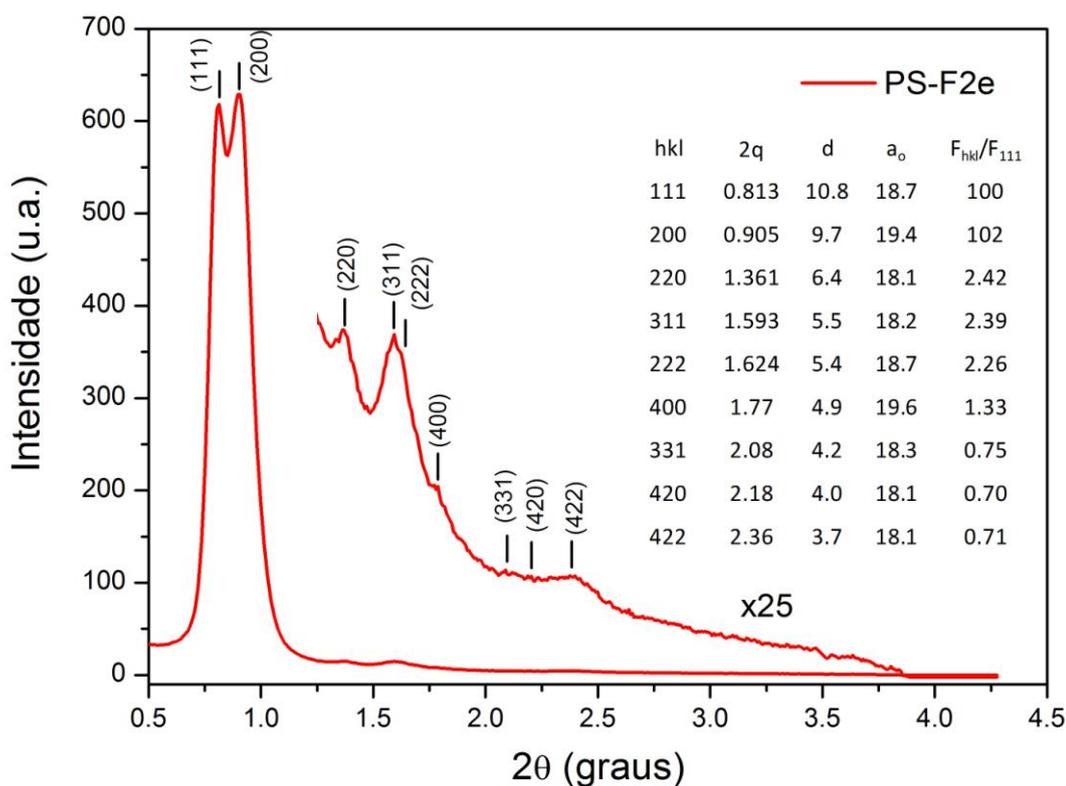


Figura 31. Difratoograma da amostra PS-F2e.

As condições das reflexões observadas são as seguintes: $\{hkl: h + k, h + l, k + l = 2n\}$, $\{0kl: k, l = 2n\}$, $\{hhl: h + l = 2n\}$ e $\{h00: h = 2n\}$. Conseqüentemente, F23, $Fm\bar{3}$, F432, $F\bar{3}3m$, e $Fm\bar{3}m$ são os possíveis grupos especiais. $Fm\bar{3}m$ foi escolhido por ser o grupo espacial de maior simetria [92, 93].

Com o grupo espacial $Fm\bar{3}m$, a organização dos mesoporos pode ser entendida como sendo o arranjo de cavidades esféricas cfc (cúbico de face centrada), com cada cavidade conectada às suas doze cavidades vizinhas através da abertura paralela à direção $\langle 110 \rangle$ como mostrado na ilustração a seguir (Figura 32):

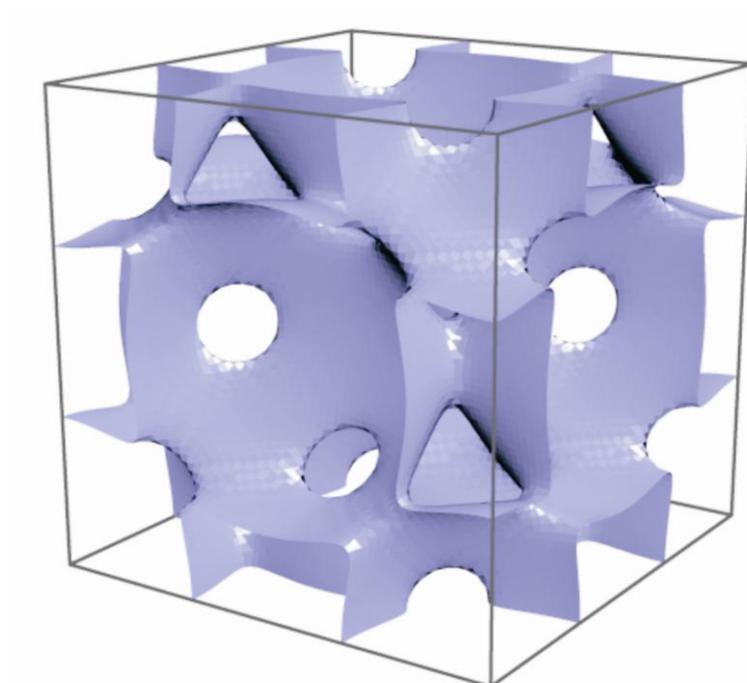


Figura 32. Representação em 3D do arranjo dos poros no grupo espacial $Fm\bar{3}m$.

Esta estrutura é também encontrada em alguns materiais mesoporosos [29, 94, 95], porém apresentando tamanhos de poros menores. É a primeira vez que este tipo de estrutura é obtida junto a um material hierárquico. Como a amostra PS-F2e foi aquela que apresentou resultados que permitiram uma ampla caracterização, optou-se por se realizar novas sínteses utilizando condições idênticas àsquelas usadas na obtenção desta amostra, mas fazendo uso de arranjos diferentes das nanoesferas de poliestireno, objetivando melhorar as propriedades relativas à macroporosidade. A amostra que se mostrou mais eficiente foi a PS3-F2c.

4.2.2 Análise térmica

Análises térmicas foram realizadas para possibilitar o entendimento dos processos que ocorrem durante a calcinação, e avaliar a estabilidade térmica dos materiais sintetizados. As primeiras análises levam em consideração o papel desempenhado pelos surfactantes e pelas nanoesferas de poliestireno.

A Figura 33 mostra os resultados obtidos na termogravimetria para as nanoesferas de poliestireno (PS), os copolímeros triblocos F127 e a mistura 1:1 PS/F127, esta última representando uma composição aproximada dos materiais recém sintetizados. Três principais eventos são observados na curva termogravimétrica das nanoesferas de poliestireno (Figura 33a). O principal evento, que ocorre entre 230 e 346 °C é atribuído à decomposição das nanoesferas e é equivalente a 87 % da massa total. A perda de massa para F127 (Figura 33b) apresenta dois eventos próximos, entre 117 e 319 °C e estes correspondem a 99,49 % da massa total. Na Figura 33c onde o resultado para a mistura PS-F127 é mostrada, dois eventos principais aparecem e estes correspondem aos eventos observados nas curvas termogravimétricas de PS e F127. Isto pode ser mais facilmente visualizado através da Figura 33d, onde os três gráficos são postos juntos, assim como suas derivadas. A temperatura onde o PS é degradado parece não mudar quando o F127 é adicionado. Por outro lado, a temperatura de degradação do F127 é menor na mistura, o que se deve provavelmente a interação entre os dois polímeros. Nenhuma perda de massa é verificada após 484 °C, o que significa que em um cenário onde esses polímeros seriam usados como direcionadores de estrutura, e dependendo das interações entre eles e os materiais silicosos, nenhum polímero deverá permanecer na estrutura desses materiais em temperaturas elevadas. Baseado nesses resultados, acredita-se que uma temperatura de 550 °C é adequada para ser usada na calcinação dos materiais recém sintetizados para a eliminação dos direcionadores de estrutura e, conseqüentemente, para a obtenção dos materiais hierárquicos.

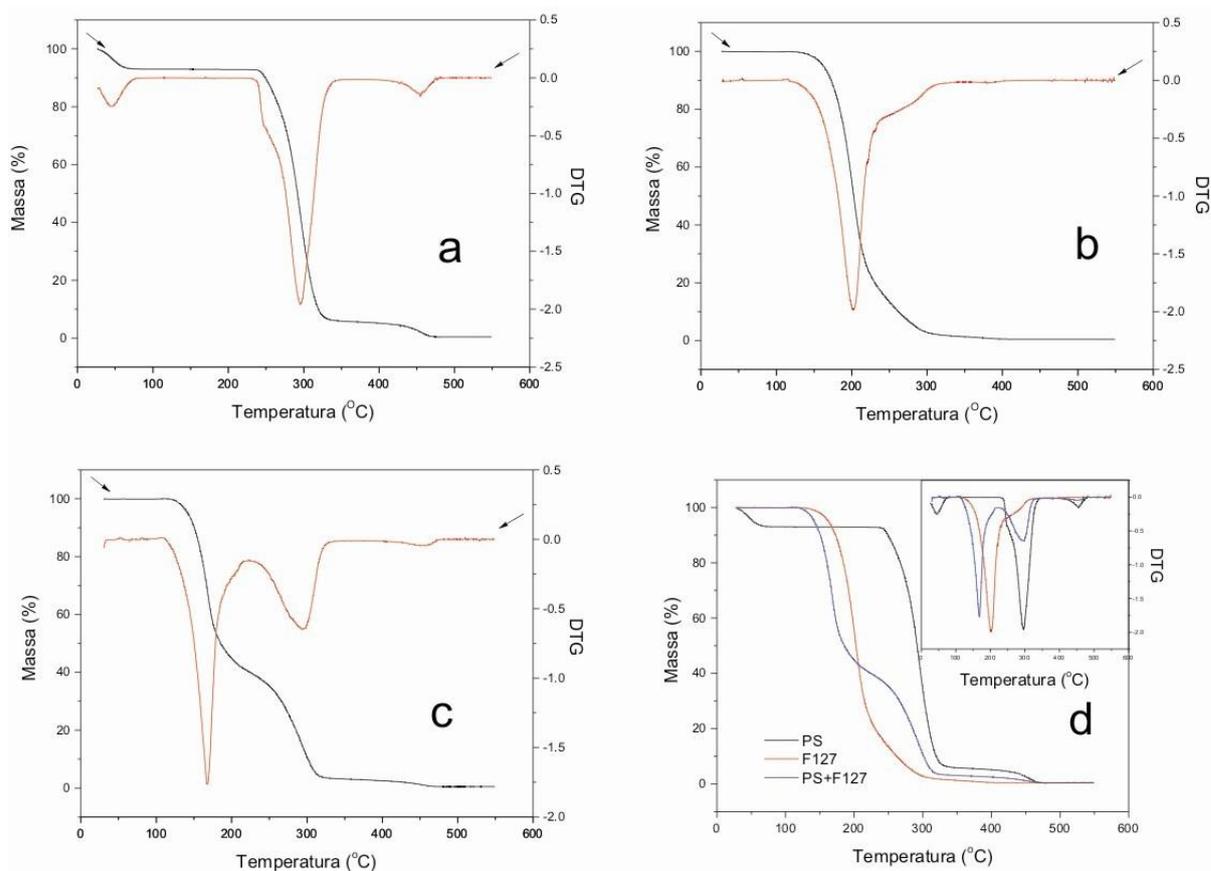


Figura 33. Termogramas obtidos em atmosfera de ar dos polímeros a) nanoesferas de poliestireno, b) F127, c) mistura 1:1 de nanoesferas de poliestireno + F127 e d) todos os gráficos juntos.

Os termogramas das amostras recém-sintetizadas são apresentados na Figura 34, onde os eventos de termodecomposição são, em sua grande maioria, facilmente observáveis.

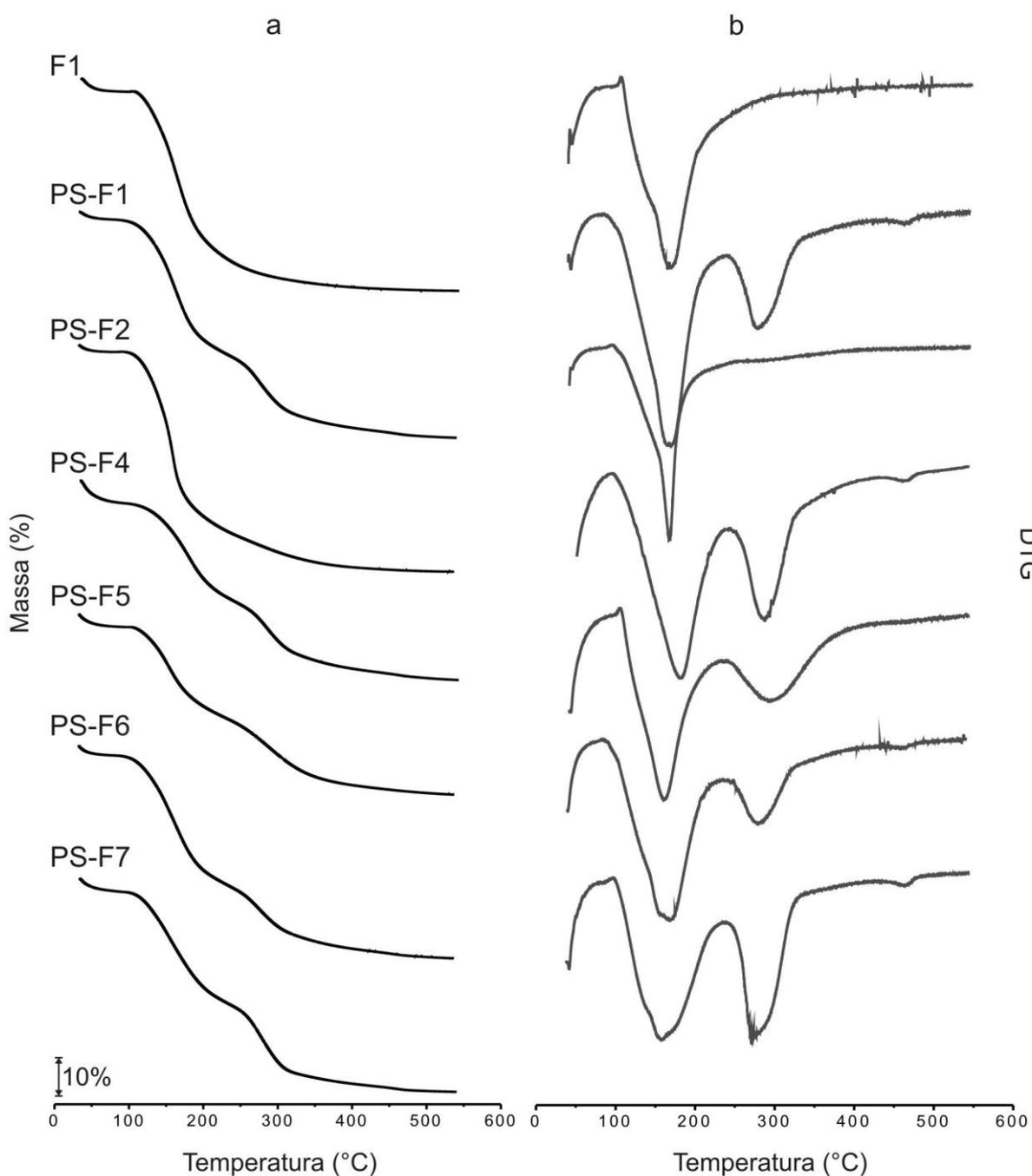


Figura 34. a) Termogramas das amostras recém-sintetizadas e b) suas respectivas DTGs.

Os dados relativos às análises termogravimétricas dos materiais recém-sintetizados encontram-se melhor esquematizados na Tabela 3. Para se estabelecer a localização de cada evento, considerou-se os máximos das DTGs, já que estes são facilmente visualizados. Um melhor entendimento dos resultados apresentados pode ser obtido se considerarmos a existência de quatro eventos térmicos principais, os quais serão aqui designados como A, B, C e D. O evento A está relacionado com

a primeira perda de massa que acontece durante o aquecimento inicial, devendo-se tratar da eliminação de água; o evento B refere-se à degradação do F127; enquanto os eventos C e D estão associados à degradação das nanoesferas de PS.

Tabela 3. Resumo análise térmica.

Amostra	A		B		C		D		Resíduo (%)
	°C	%	°C	%	°C	%	°C	%	
PS	início	6,97	-	-	295	87,46	454	0,41	0,42
F127	-	-	201	99,49	-	-	-	-	0,48
PS:F127	-	-	168	59,79	294	37,48	458	2,43	0,46
F1	início	3,54	158	46,70	-	-	-	-	42,31
PS-F1	início	2,18	160	39,32	275	21,93	467	2,08	34,57
PS-F2	início	2,03	159	65,52	-	-	-	-	34,33
PS-F4	início	6,70	176	28,41	284	19,76	467	1,58	41,98
PS-F5	início	3,67	155	26,46	294	20,58	469	1,63	47,66
PS-F6	início	2,83	165	37,49	280	19,13	467	2,16	38,34
PS-F7	início	3,91	151	32,43	278	23,85	466	1,78	38,08

A primeira consideração a ser feita diz respeito às temperaturas de degradação de PS e F127 quando esses polímeros são analisados sozinhos e quando a mistura dos dois é analisada. O evento B, referente à principal degradação, apresenta um máximo na DTG em 201,64 °C. Este valor muda para 167,90 °C quando F127 é misturado com PS. Nos materiais recém sintetizados este evento tende a aparecer em temperaturas ainda menores. Quando o F127 encontra-se junto aos materiais silicosos (materiais recém sintetizados), dois principais fatores devem ser levados em consideração. O primeiro é que esse surfactante encontra-se preso no interior das paredes de sílica, o que pode significar que uma maior quantidade de energia deve ser adicionada ao sistema de modo que a eliminação dos polímeros poderia se realizar em temperaturas maiores. Ao mesmo tempo, a pulverização do surfactante sobre a superfície dos materiais acarrete na diminuição de forças inter e intramoleculares como forças de dipolo induzida ou dipolo permanente fazendo com que eles sejam eliminados em temperaturas ainda menores, como é demonstrado pelos resultados obtidos. A quantidade de surfactante usada para cada amostra é diferente, uma vez que esta foi determinada de acordo com o diagrama de fase correspondente, permitindo-nos obter uma

simetria cristalina específica. Deste modo, torna-se difícil avaliar precisamente o que de fato é responsável pelo comportamento observado. Não obstante, uma tendência apontando para menores temperaturas nos eventos B para as amostras recém sintetizadas não pode ser negada.

O evento C, que está relacionado à degradação do poliestireno, é observado em todas as amostras onde estes polímeros foram usados, exceto na amostra PS-F2. De fato, esta amostra continha uma quantidade de surfactante muito maior que a usada nas demais amostras e, além disso, o cosurfactante etanol poderia dissolver as nanoesferas lentamente. As outras amostras mostraram um leve decréscimo em suas temperaturas e isto pode ser explicado de maneira similar para o evento B.

Os ensaios de análise térmica diferencial, tanto das amostras obtidas através de calcinação como por extração com solvente seguida por calcinação, apresentaram resultados semelhantes, ou seja, sem nenhuma variação energética significativa envolvendo os processos de termodecomposição. Deste modo, optou-se por mostrar aqui somente os resultados de duas das amostras. A Figura 35 mostra os gráficos de termogravimetria e de análise térmica diferencial para as amostras PS-F2e e PS-F2c (livres de compostos orgânicos).

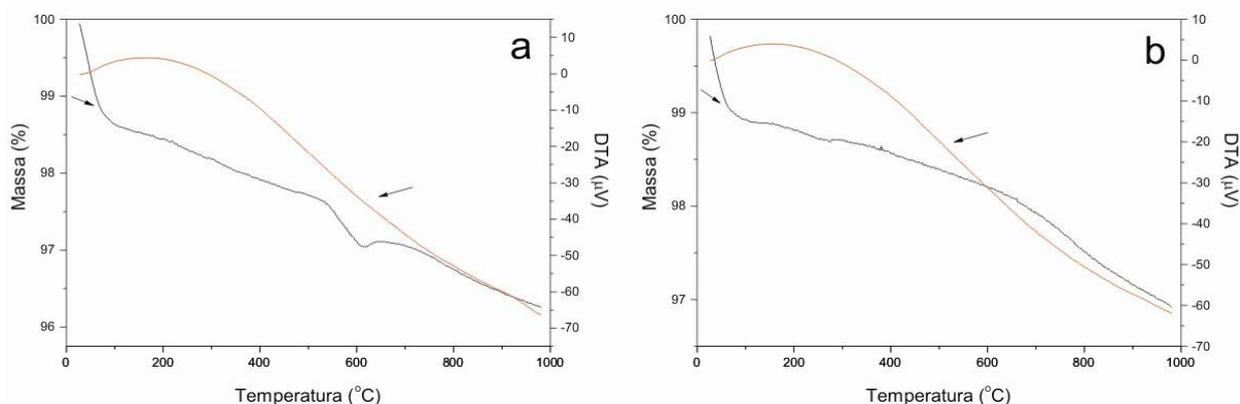


Figura 35. Termogramas e gráficos de análise térmica diferencial das amostras a) PS-F2e e b) PS-F2c.

Em ambos os casos, um primeiro evento é verificado antes de 200 °C, e aproximadamente 2% de massa total é perdida. Essa massa é atribuída à água, tanto fisicamente adsorvida quanto formando ligações de hidrogênio. Embora a curva de DTA não mostre picos evidentes, é possível visualizar uma tendência no

início do processo de aquecimento que pode ser associada a um evento endotérmico: eliminação da água retida na estrutura do material.

Para silicatos porosos, em geral, acima desta temperatura (200 °C) começa a deshidroxilação dos grupos silanóis [96]. Como diferentes curvaturas dos mesoporos podem promover a adsorção de diferentes quantidades de água, os eventos termogravimétricos devem aparecer em temperaturas diferentes dependendo do sistema de poros.

Uma pequena perda de massa ocorre acima de 200 °C, mas em torno de 600 °C a velocidade de termodecomposição aumenta, indicando alguma modificação química. De acordo com Selvaraj et al [97], perdas de massa em MCMs que ocorrem em temperaturas acima de 350 °C estão relacionados com a condensação de grupos silanol adjacentes para formar ligações siloxano. Nas nossas amostras, esse efeito parece ocorrer em temperaturas maiores sugerindo uma estabilidade térmica consideravelmente maior.

4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

As análises de SEM, exemplificada pela amostra PS-F2e (Figura 36) revelam a presença de macroporos em todas as amostras, constituindo uma estrutura similar a uma colméia. Estes poros são cavidades esféricas ordenadas tridimensionalmente em camadas, ligados por janelas de interconexão. Os poros aparecem em uma vasta área da amostra, e há indícios que a organização do sistema de poros se dá ao longo das camadas internas das amostras.

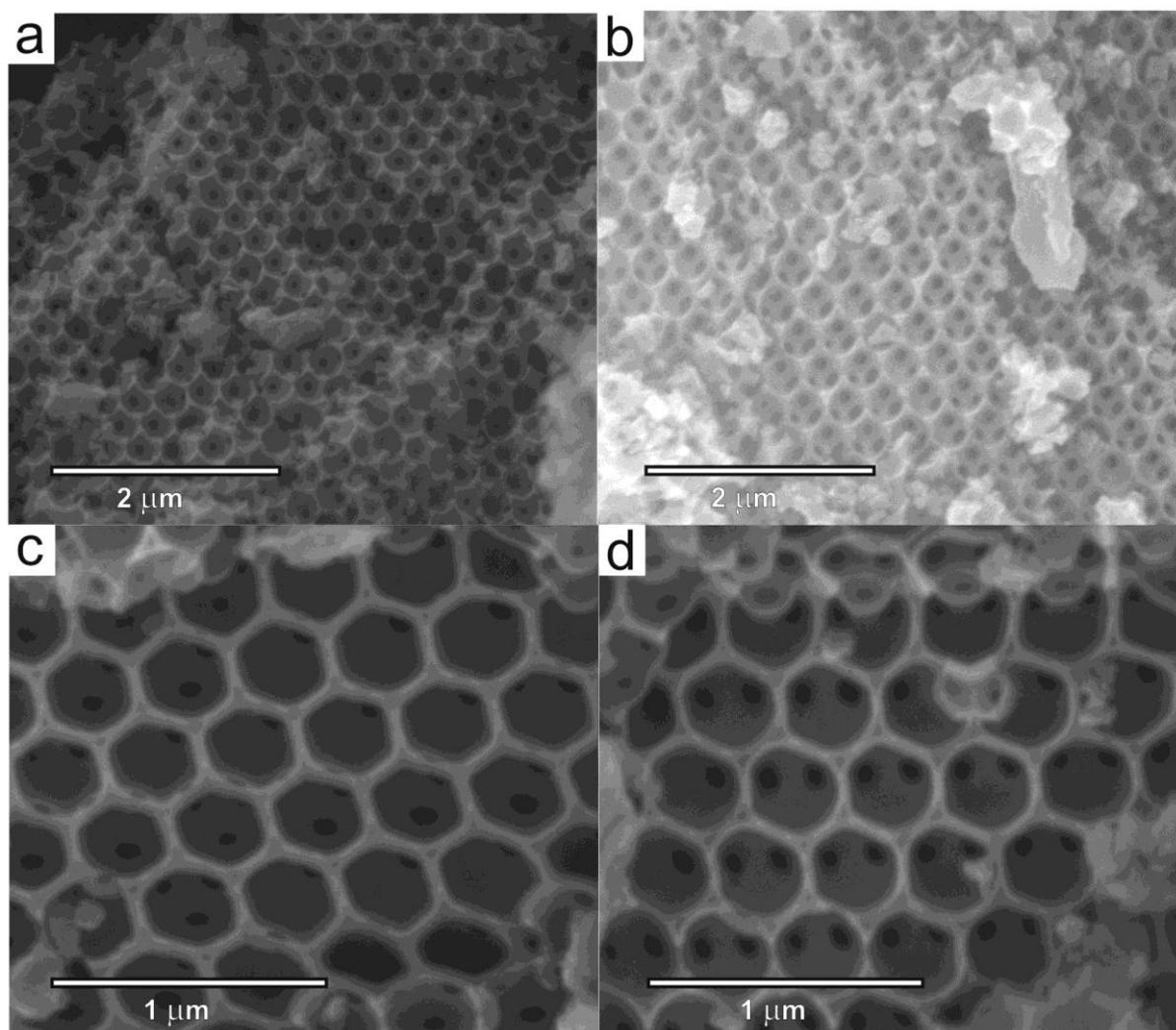


Figura 36. SEM da amostra PS-F2e com diferentes aumentos.

A formação dos macroporos segue um mecanismo de réplica reversa. A produção de materiais baseadas nessa abordagem é marcante por sua simplicidade, e também pela fidelidade em transferir a estrutura do molde para a réplica [53]. As nanoesferas de poliestireno obtidas estão organizadas em geometria compactada, sendo usadas como direcionadores de estrutura, com a solução precursora de sílica sendo adicionada a este monolito de esferas. Os espaços existentes entre elas são então preenchidos e, após algumas horas, a sílica condensa. Uma vez que estes materiais são submetidos à calcinação, os polímeros (incluindo os direcionadores de estruturas dos micro e mesoporos) são removidos e as posições inicialmente por eles ocupadas dão lugar aos poros. As janelas são formadas como resultado do contato existente entre as nanoesferas antes da infiltração da solução precursora.

Obviamente, a formação dos macroporos em temperaturas maiores que a do ponto de fusão do látex não é tão simples, já que diversos processos ocorrem simultaneamente durante a calcinação: fusão do látex, queima do surfactante, queima do látex etc. [9]. A primeira camada visível inclui milhares de poros dispostos em um arranjo hexagonal. Uma abordagem mais aprofundada sobre as camadas inferiores é discutida junto com os resultados de HRSEM.

Os diâmetros médios dos macroporos e das janelas de interconexão são esquematicamente apresentados na Figura 37. Os diâmetros dos macroporos variam de 272 nm a 350 nm para as amostras calcinadas e de 225 nm para 341 nm para as amostras extraídas com solvente. Os tamanhos das janelas de interconexão vão de 62 nm a 117 nm nas amostras calcinadas e de 56 nm a 76 nm nas amostras extraídas com solvente/calcinadas.

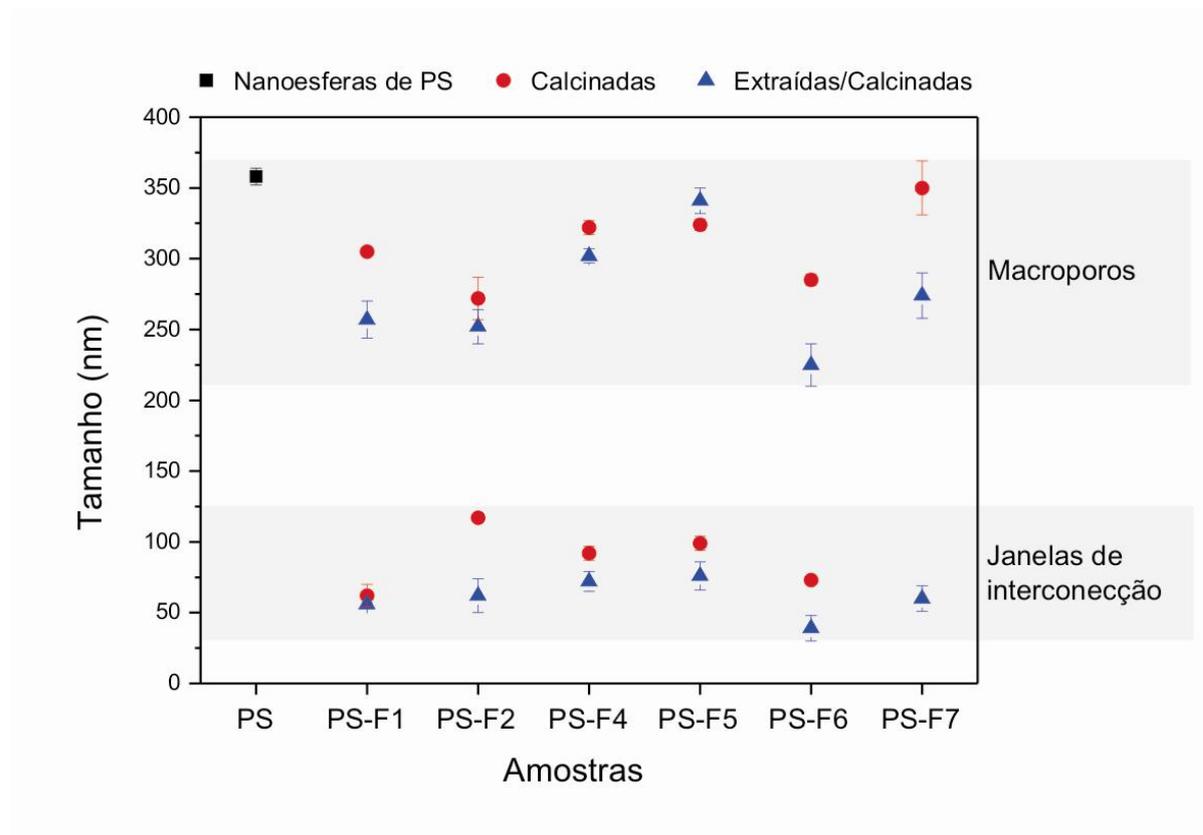


Figura 37. Tamanhos de macroporos e janelas.

Uma vez que a superfície dos poros é moldada pelas nanoesferas de poliestireno, espera-se que o diâmetro desses poros não exceda o de uma nanoesfera. O tamanho médio nas nanoesferas de poliestireno (determinado por esta técnica) é de 358 nm, e este valor é de fato maior que o diâmetro de todos os

macroporos medidos. Após a condensação da solução precursora de sílica, durante o processo de síntese, o material resultante deste processo impõe uma certa pressão sobre as esferas direcionadoras de estrutura. Na etapa de calcinação, quando ocorre a degradação dos agentes direcionadores de estrutura, o polímero começa a ser liberado, deixando espaço para a sílica que acaba por retrair. Como resultados destes processos, os macroporos tendem a adquirir dimensões menores.

O material sintetizado na forma de monolito apresentou macroporosidade ao longo de toda a estrutura. A Figura 38 mostra as micrografias para a amostra PS3-F2C, onde é possível visualizar facilmente a presença de macroporosidade em todo o material.

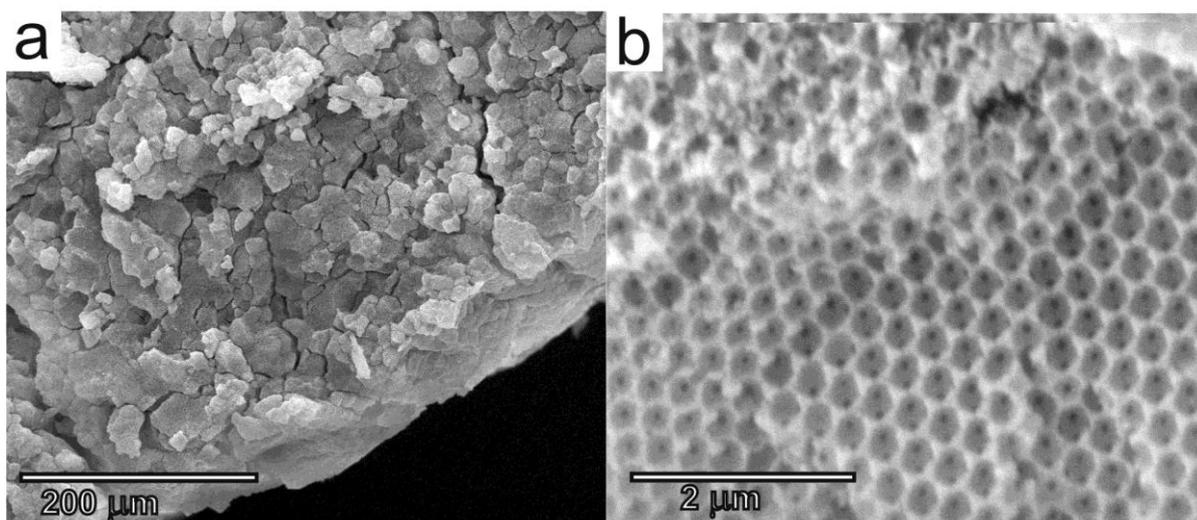


Figura 38. SEM da amostra PS3-F2c mostrando a) a presença de macroporos em todo o monolito e b) os macroporos com organização uniforme.

Diferentemente do que foi observado nas amostras cuja síntese baseou-se no uso de nanoesferas de poliestireno na forma de pó, o material hierarquicamente estruturado obtido na forma de monolito mostrou ser possível obter a máxima quantidade de macroporosidade que os *templates* podem gerar. Isto é sem dúvida alguma uma propriedade desejável, pois confere ao material homogeneidade em relação a este tipo específico de sistema de poros, além de permitir que aplicações específicas em que se faz necessário o uso do material com um formato particular possam ser executadas sem que seja imperativo etapas adicionais.

4.2.4 Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução (HRSEM)

Estudos estruturais feitos em superfícies externas por meio de SEM são limitados devido ao problema gerado pelo efeito de acúmulo de carga em estruturas de sílica não-condutoras. HRSEM, no entanto, que pode auxiliar na determinação do arranjo dos mesoporos, tem sido desenvolvida e utilizada para se visualizar diretamente a configuração de poros na superfície externa de silicatos mesoporosos, mesmo sem o revestimento com metais ou carbono [98].

A amostra PS3-F2c foi escolhida para as análises de HRSEM, por se tratar do material em que a concentração dos macroporos foi maximizada. Na Figura 39a, observa-se uma superfície originada do processo de polimento com feixe de Ar^+ . Nesta imagem é possível verificar a existência de macroporos. Estes, no entanto apresentam-se com a superfície fragmentada, possivelmente devido ao polimento. Por outro lado, uma ampliação desta imagem (Figura 39b) permite identificar mesoporos distribuídos ao longo das paredes que separam os macroporos. A organização do sistema de poros na mesoescala deve seguir a geometria determinada através de DRX, ou seja, grupo espacial $\text{Fm}\bar{3}\text{m}$. Obviamente, não é possível inferir estas informações apenas a partir das micrografias obtidas nas análises de HRSEM, mas estas imagens mostram de maneira clara a existência de diferentes níveis de porosidade na arquitetura dos materiais sintetizados. Em outras palavras, os resultados de DRX e HRSEM demonstram o caráter hierárquico dos silicatos produzidos.

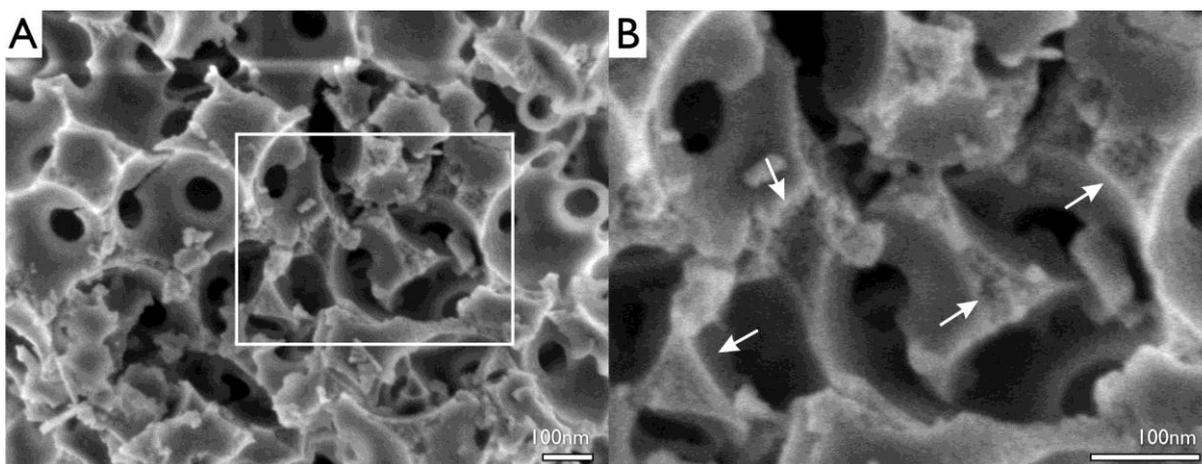


Figura 39. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando mesoporos.

A mesoporosidade é originada da organização de copolímeros em bloco Plurônico F127 presentes em alta concentração na solução inicial. O mecanismo pelo qual este surfactante dá origem a um sistema de poros é similar àquele da

macroporosidade, mas em escala muito menor. Além disso, como esses surfactantes são constituídos por cadeias hidrofóbicas e hidrofílicas, elas atuam produzindo meso- e microporos, respectivamente. Embora a mesoporosidade seja bastante ordenada, os microporos formados devem ser ordenados de acordo com as cadeias hidrofílicas, as quais não são esperadas apresentar estrutura cristalina.

Outra micrografia da amostra PS3-F2c mostra que as secções transversais polidas com feixe de Ar^+ produziram uma superfície plana onde alguns defeitos são claramente visíveis. Na Figura 40a pode-se observar que pequenas partes do material, fragmentadas durante o processo de polimento, encontram-se dentro dos macroporos. A Figura 40b mostra que, mesmo assim, a estrutura interna destes poros é claramente preservada. Além disso, as janelas de interconexão entre os macroporos apresentam-se bem definidas. Após o processo de calcinação realizado com razão de aquecimento muito baixa, as espécies poliméricas são removidas e a estrutura remanescente é formada por sílica, organizando-se como uma réplica inversa do arranjo original das nanoesferas de poliestireno. Após a remoção dos agentes direcionadores de estrutura, há o encolhimento da estrutura como ilustrado na Figura 40b, onde os círculos tracejados representam os tamanhos originais das nanoesferas. Este encolhimento deve ser altamente uniforme uma vez que a estrutura retém um alto nível de simetria.

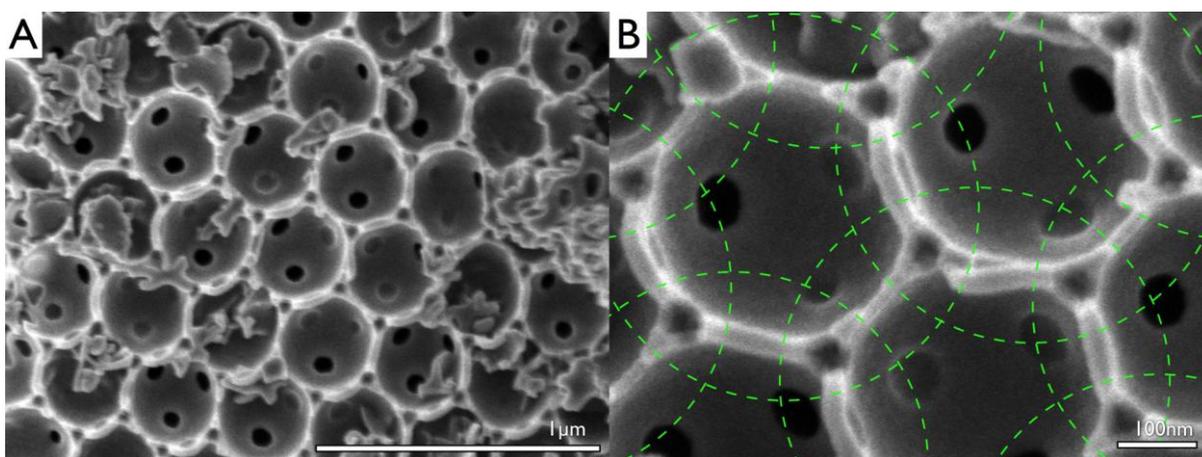


Figura 40. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando detalhes.

Na Figura 41 estão representados maiores detalhes referentes ao processo de formação dos macroporos. Uma camada de estrutura compactada pode ser vista inteiramente ao longo da camada A (Figura 41b), a qual se superpõe sobre uma camada B (Figura 41d), enquanto as janelas de interconexão entre as camadas

A e B podem ser vistas entrando no plano da imagem (Figura 41c). A amostra é cortada de tal forma que os sítios intersticiais, tetraédricos, são expostos (Figura 41^a). Como estes sítios intersticiais são menores em relação às cavidades esféricas torna-se evidente que tanto o polimento de seção transversal é plano como a estrutura mantém a geometria de empacotamento sem distorção, apesar da calcinação e do polimento com feixes de Ar^+ . Estes sítios (poros) tetraédricos sugerem que a solução precursora de sílica condensa em torno das esferas de poliestireno, dando origem a uma espécie de envelope de sílica deixando os espaços tetragonais sem preenchimento, isto é, originando um novo sistema de poros.

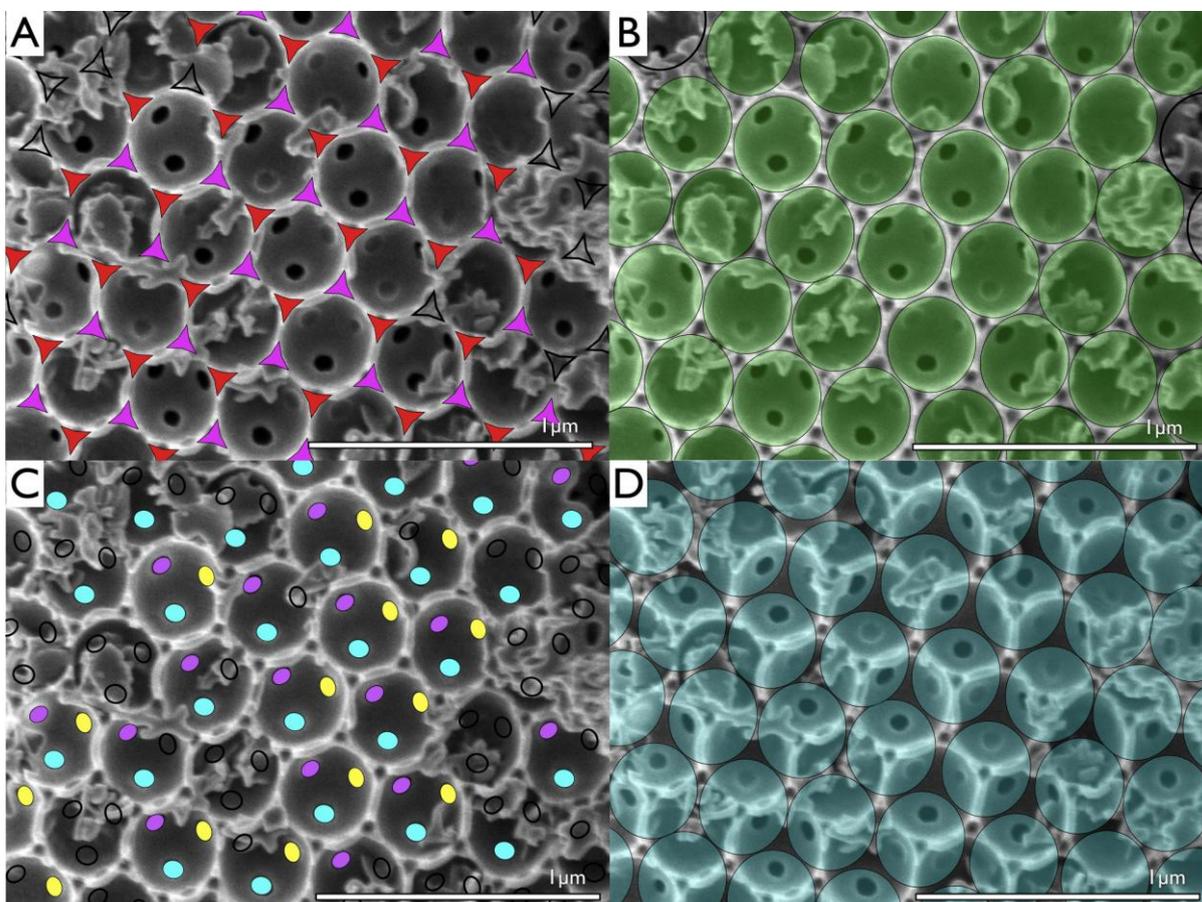


Figura 41. HRSEM da amostra PS3-F2c detalhando o processo de formação do macroporos.

A solução inicial de sílica não penetra no espaço onde as nanoesferas se tocam fazendo com que, após a calcinação, as janelas de interconexão sejam geradas. Como as esferas de poliestireno são organizadas em estruturas compactas (possivelmente uma mistura de hcp e ccp), cada esfera toca outras 6 no mesmo

plano e outras 6 em diferentes planos (3 no plano superior e 3 no plano inferior). Deste modo, deverá haver 12 janelas de interconexão no interior de cada macroporo, conferindo elevada conectividade entre os macroporos gerados.

A formação de uma janela de interconexão entre macroporos, embora pareça seguir um mecanismo simples, apresenta algumas peculiaridades. Estas podem ser observadas com maior clareza na micrografia mostrada na Figura 42.

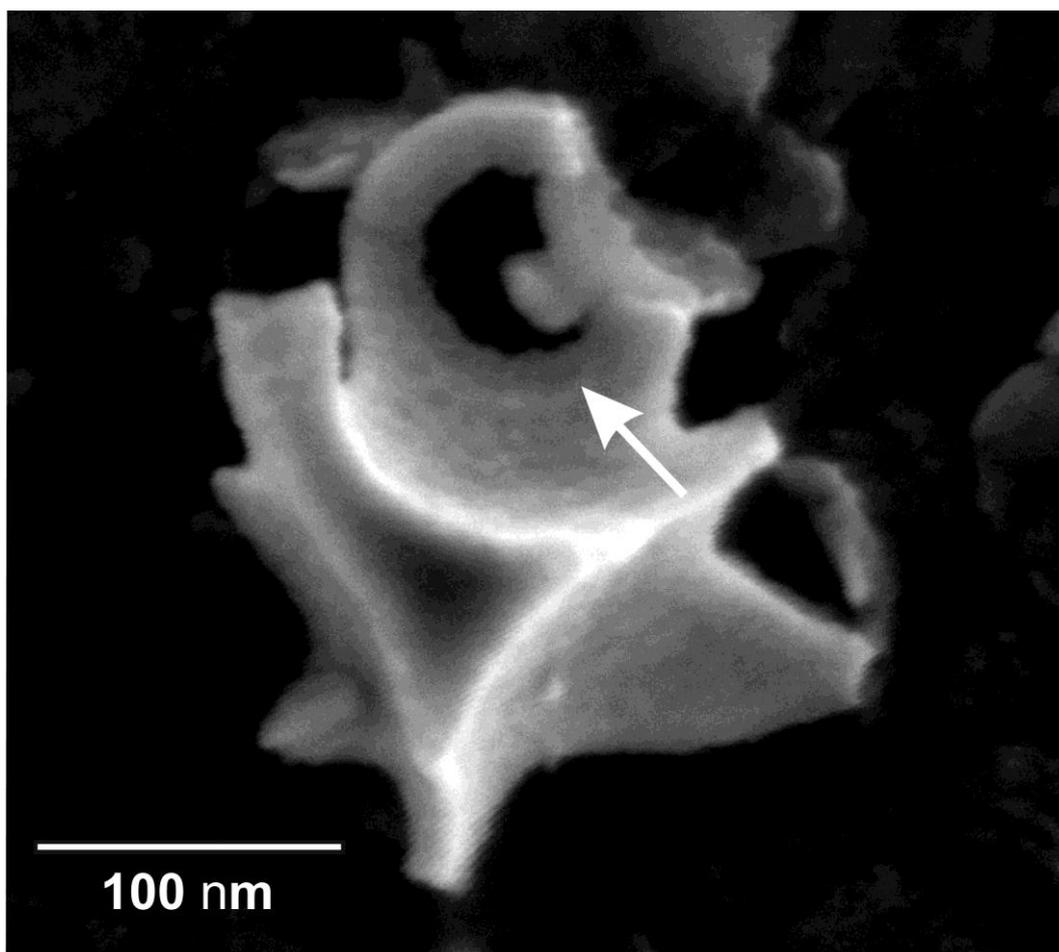


Figura 42. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando formato da janela de interconexão

Nesta imagem, é possível visualizar que as bordas (interiores) das janelas, isto é, as regiões de fronteira entre dois macroporos, apresentam um formato curvo, o qual deve ter alguma relação com as diversas interações existentes entre os constituintes da solução precursora e os agentes direcionadores de estrutura, durante o processo de síntese.

Uma abordagem mais concisa a este respeito leva em consideração a influência exercida pela presença dos agentes direcionadores de estrutura

mesoporosa sobre a distribuição da solução fonte de sílica na região onde há o contato entre as nanoesferas de poliestireno. Neste sentido, o comportamento observado pode ser explicado a partir das considerações feitas sobre a ilustração a seguir (Figura 43):

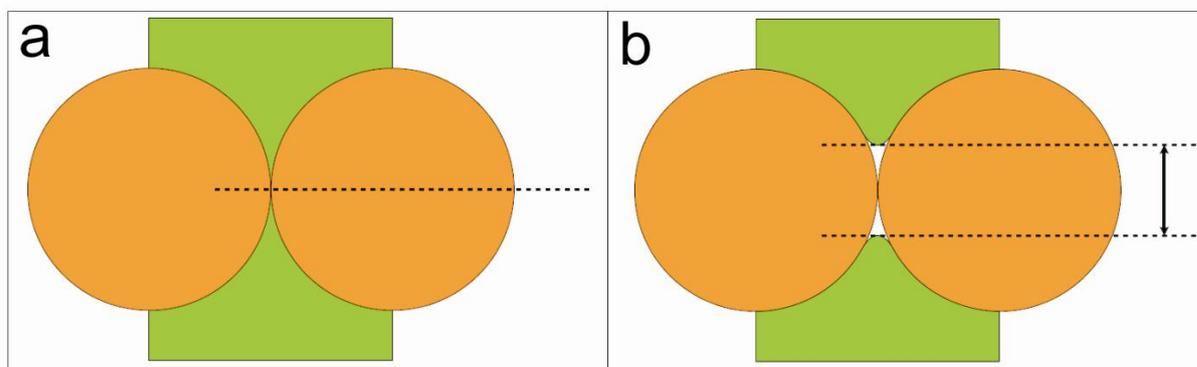


Figura 43. Formação das janelas de interconexão

Nesta figura, são mostradas duas nanoesferas de poliestireno, em um plano, que se tocam em um ponto. Na Figura 43a, a região verde representa a solução precursora de sílica que preenche o espaço entre as nanoesferas exceto, é claro, o ponto em que elas se tocam. Neste caso, é esperado que as janelas de conexão tenham diâmetros muito pequenos, inferiores aos observados por meio da HRSEM. Na Figura 43b por outro lado, é mostrada uma situação onde há uma limitação que restringe o acesso da solução precursora de sílica próxima à região onde os direcionadores de macroestrutura se tocam, o que originaria janelas com diâmetros maiores e condizentes com as observações experimentais.

Estes argumentos são melhor fundamentados a partir da ilustração a seguir (Figura 44):

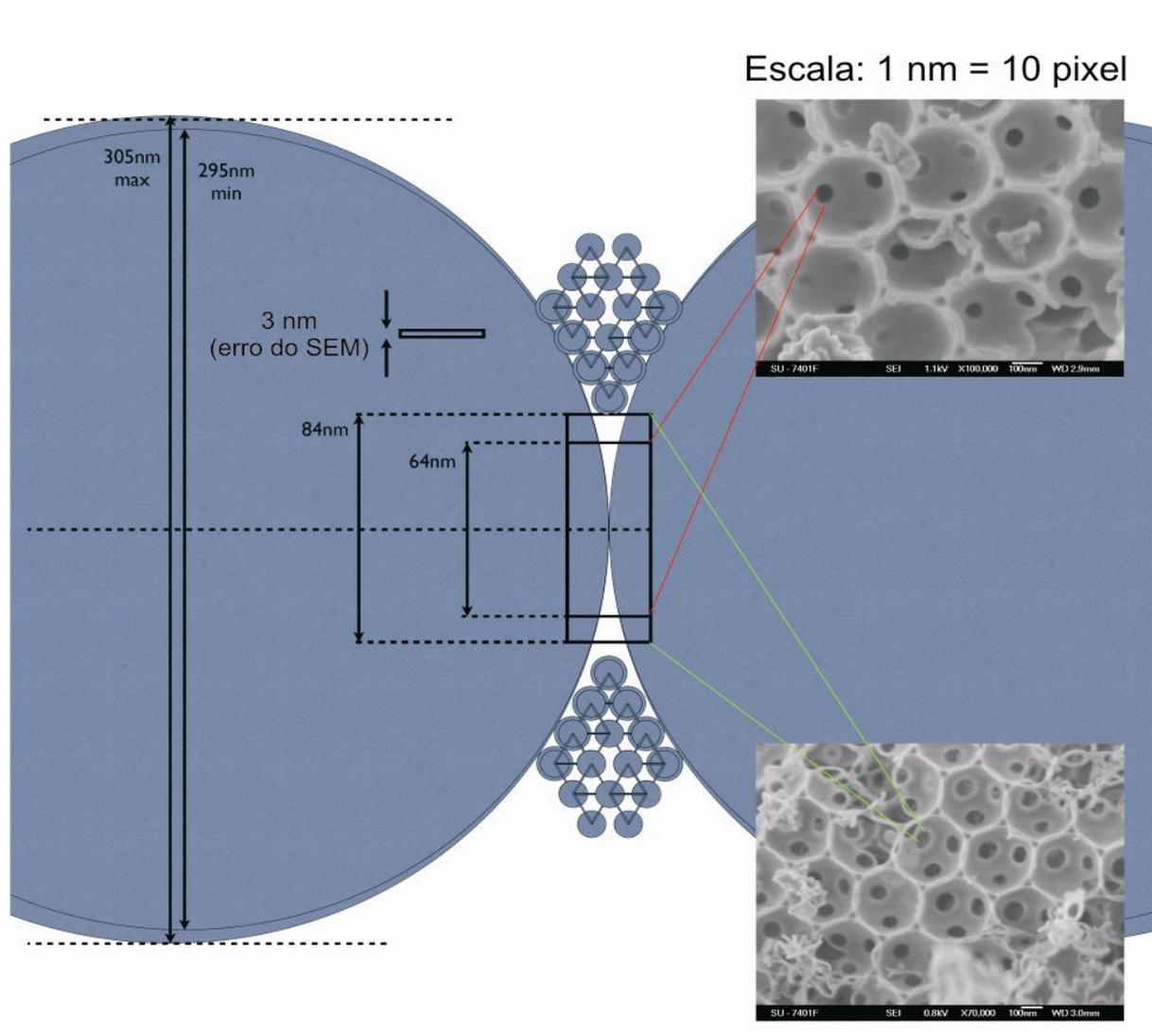


Figura 44. Representação do processo de formação das janelas de interconexão mostrando detalhes sobre a mesoporosidade

As esferas menores representam as micelas de F127 em um arranjo cúbico visto na direção (111), ocupando os espaços intersticiais entre as nanoesferas de poliestireno (esferas maiores). A porção hidrofóbica (central) das micelas, não apresenta afinidade com a superfície das nanoesferas, já que estas últimas devem apresentar caráter aniônico, devendo assim ocorrer repulsão entre as nanoesferas e a região hidrofóbica das micelas de F127. Espera-se que esta repulsão, no entanto, seja contrabalanceada pela afinidade que deve existir entre a porção hidrofílica das micelas (região externa), a solução precursora de sílica e as nanoesferas. Como conseqüência, uma camada de sílica deve vir a separar os mesoporos da superfície dos macroporos, comprometendo a interconectividade entre estes tipos de poros.

Alguns detalhes interessantes que dizem respeito aos macroporos originados nos interstícios das nanoesferas de poliestireno, assim como informações adicionais sobre a conectividade do mesoporos com macroporos estão disponíveis na (Figura 45). Além dos macroporos gerados pelos espaços originalmente ocupados pelas nanoesferas de poliestireno, um segundo tipo de macroporosidade também foi observado. Esta imagem mostra uma secção transversal obtida pelo polimento feito com feixe de íons argônio. Possivelmente trata-se de um plano (111) levemente inclinado. É possível observar sítios tetraédricos com aberturas no centro, compatíveis com um tipo de macroporos com dimensões reduzidas (circunferências laranja) e regiões onde se visualiza apenas mesoporos (circunferências verdes), mas onde se espera haver macroporos da mesma natureza no seu interior.

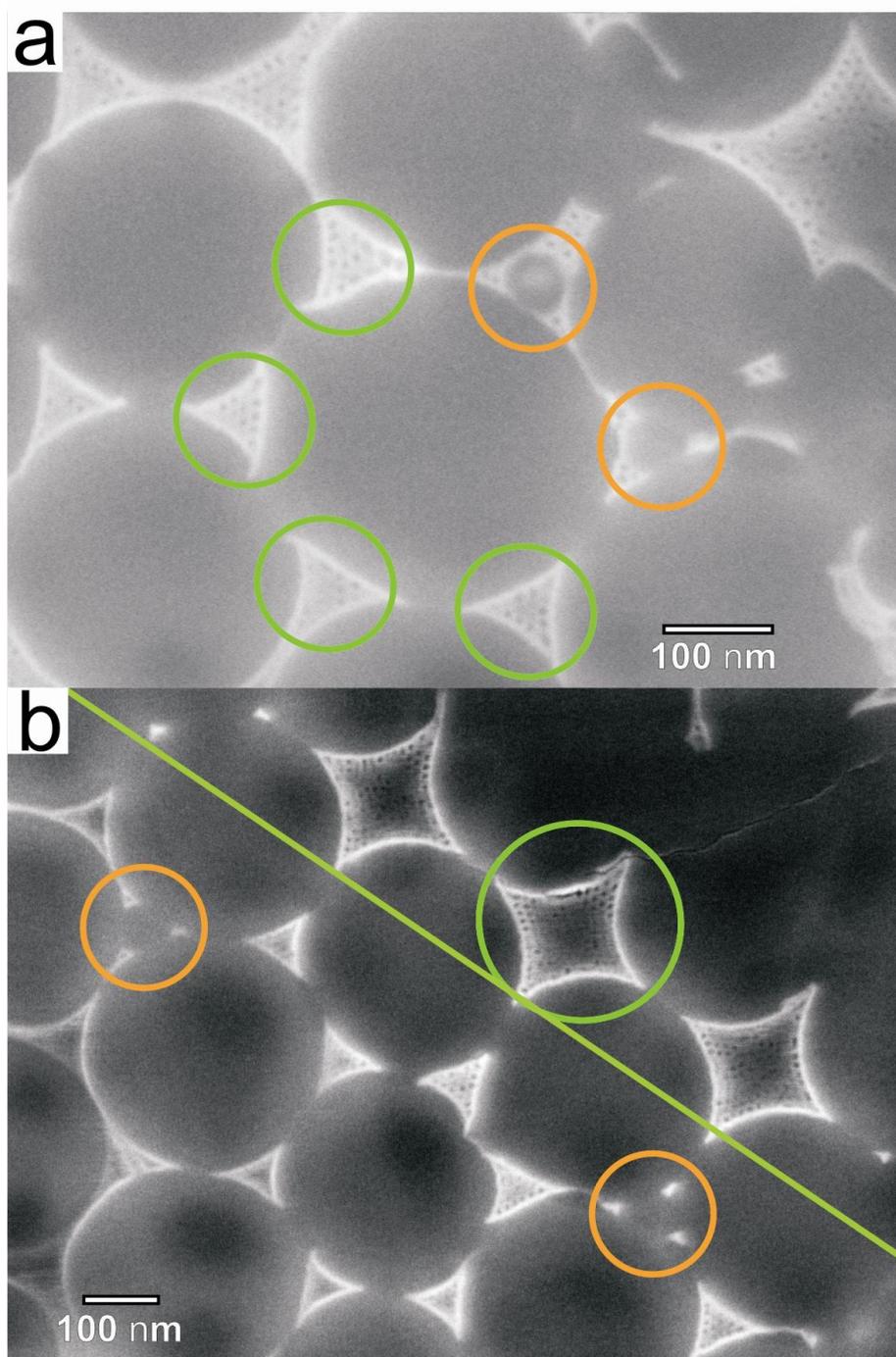


Figura 45. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando a) mesoporos em interstícios tetraédricos (circunferências verdes) e macroporos no centro dos interstícios (circunferências laranjas) e b) macroporos nos interstícios tetraédricos (circunferências laranjas) e macroporos que podem estar associados a interstícios octaédricos ou tetraédricos (circunferências verdes).

Estes macroporos são formados nos interstícios oriundos da compactação das nanoesferas. Estes espaços intersticiais, tetraédricos, sugerem que a solução de sílica condensa em torno das nanoesferas de poliestireno originando uma

espécie de envelope de sílica, o qual resulta em uma área não preenchida neste espaço tetraédrico (Figura 46).

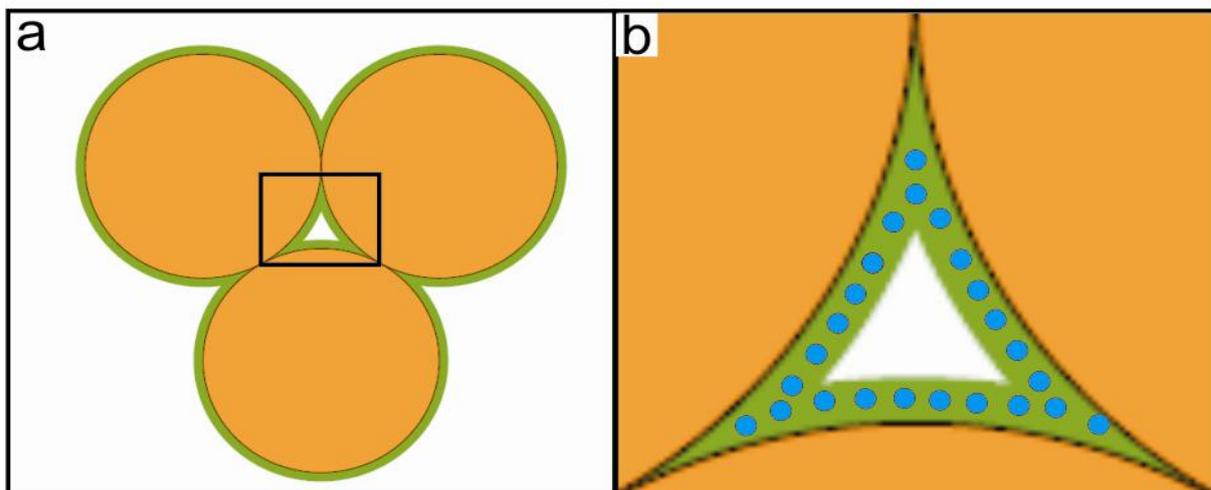


Figura 46. Formação de macroporos em espaços intersticiais: a) condensação da sílica em torno das nanoesferas de poliestireno e b) detalhes de formação de um interstício tetraédrico (macroporo).

De acordo com resultados de análises de HRSEM feitas em monolitos de nanoesferas de poliestireno, tais interstícios são sítios tetraédricos, o que indica um empacotamento das nanoesferas em arranjo cúbico de face centrada.

A micrografia mostrada na Figura 47 aponta para a inexistência de macroporos em uma das superfícies. Como a amostra PS3-F2c foi sintetizada utilizando monolitos de nanoesferas de poliestireno, é esperado que sobre a superfície destes monolitos seja formada uma camada da solução precursora (como pode ser observado na Figura 27b), que após a condensação e subsequente eliminação dos direcionadores de estruturas, originará uma camada de silicato mesoporoso, mas sem macroporosidade, uma vez que esta camada não tem em seu interior nanoesferas de poliestireno, ou seja, agentes direcionadores de estrutura macroporosa.

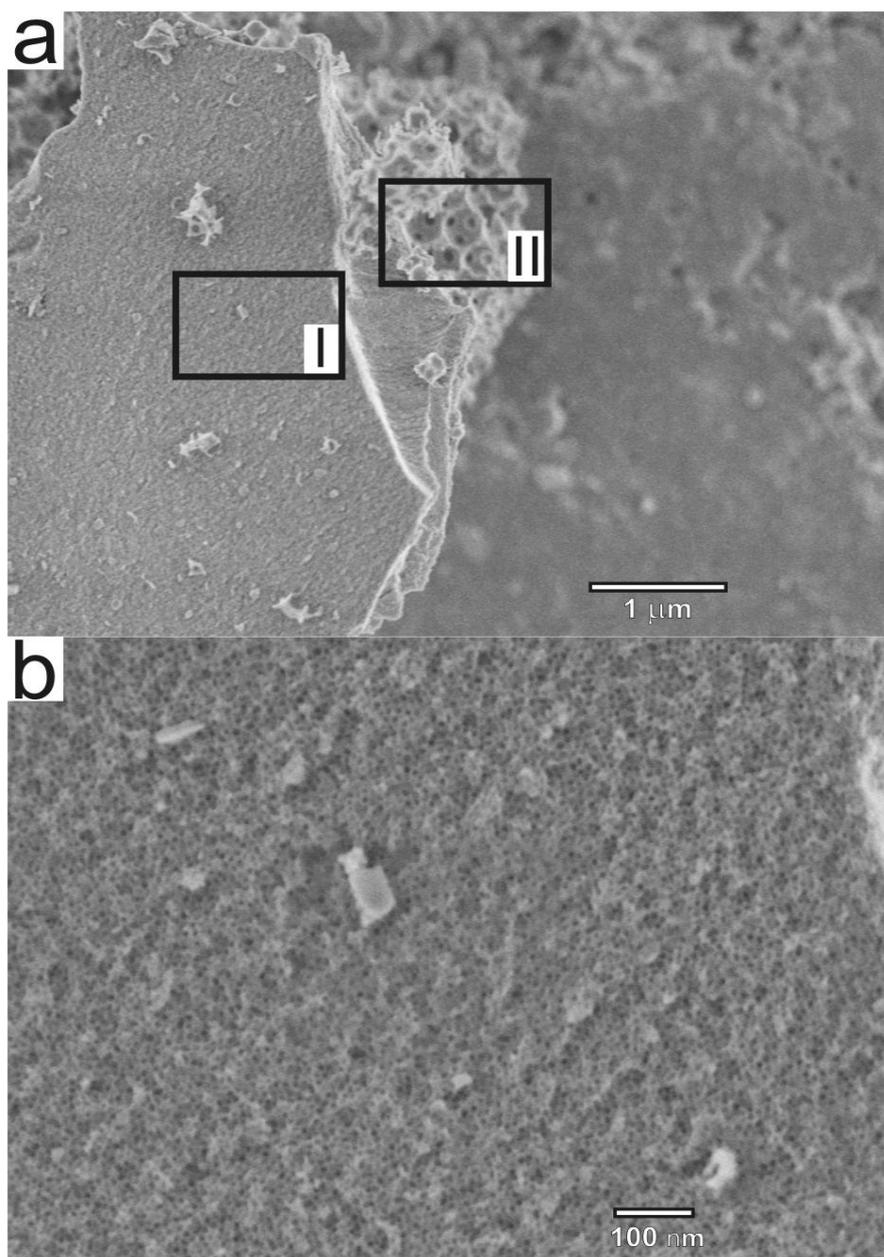


Figura 47. HRSEM da amostra PS3-F2c mostrando regiões com a) (I) superfície de mesoporos e (II) macroporos e b) ampliação de (I), onde são visualizados apenas mesoporos.

A formação desta camada do material sem a presença de macroporos, entretanto, deve se limitar apenas às camadas mais externas do material, não comprometendo a arquitetura do material como um todo.

4.2.5 Adsorção-desorção de N₂

O gráfico com as isotermas de adsorção/desorção de N₂, assim como a distribuição de tamanhos de poro, para as amostras PS-F2c e PS-F2e são mostrados na Figura 48:

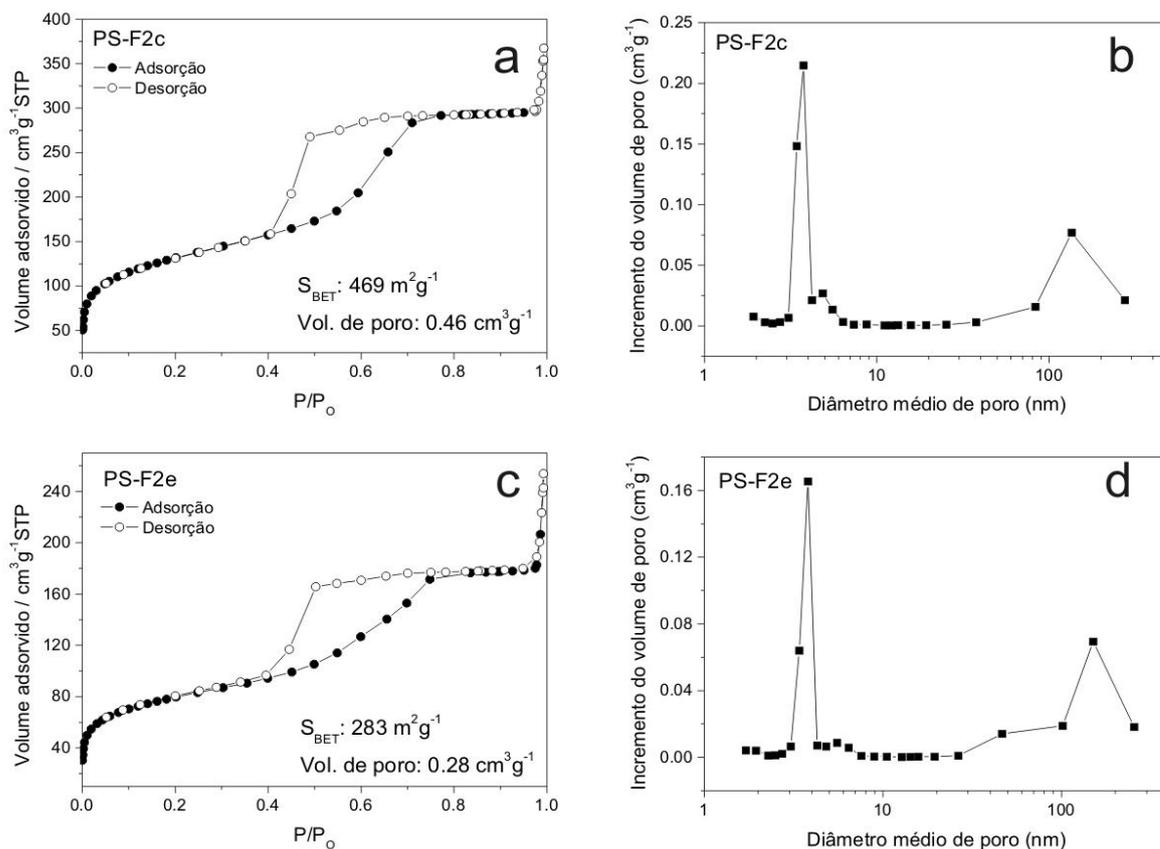


Figura 48. Isotermas de adsorção das amostras PS-F2c e PS-F2e (a e c) junto com a distribuição de poros (b e d).

A área superficial calculada através do método BET, é de $469 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ para a amostra PS-F2c e de $283 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ para a amostra PS-F2e, valores considerados elevados em se tratando de materiais que apresentam mais de um sistema de porosidade. Aqui, é possível observar a presença de histerese, em ambas as isotermas, que ocorre devido à condensação capilar do adsorbato (nitrogênio) no interior de mesoporos. Esta informação é especialmente útil, pois é uma indicação clara da presença de mesoporosidade na estrutura dos materiais, além de reforçar os resultados de difração de raios-X no que diz respeito a tais propriedades.

Os gráficos que apresentam a distribuição de poros (Figura 48direita) mostram uma faixa de tamanhos relativamente estreita, o que é um bom indicativo de que as dimensões dos mesoporos são bastante homogêneas.

Os valores das áreas superficiais, volumes de poros e diâmetros médios de poros das demais amostras encontram-se sumarizados na Tabela 4[†].

Tabela 4. Resumo das análises de adsorção/desorção de nitrogênio.

Amostra	S_{BET}¹ (m²g⁻¹)	V_P² (cm³g⁻¹)	D_P³ (nm)
F1c	325	0,28	3,4
PS-F1c	*	*	*
PS-F2c	469	0,46	3,9
PS-F4c	132	0,09	2,6
PS-F5c	345	0,23	2,7
PS-F6c	228	0,18	3,2
PS-F7c	381	0,27	2,9
F1e	245	0,19	3,2
PS-F1e	*	*	*
PS-F2e	283	0,28	3,9
PS-F4e	119	0,07	2,4
PS-F5e	225	0,17	2,7
PS-F6e	*	*	*
PS-F7e	*	*	*
PS3-F2c	377	0,30	4,0

¹Área superficial, ²Volume de poro, ³Diâmetro médio de poro.

Todas as amostras apresentaram isotermas do tipo IV[‡] [99], assim como apresentam histerese, característica típica de materiais que apresentam mesoporosidade.

[†] Alguns valores não foram disponibilizados em virtude de problemas técnicos.

[‡] Existe uma série de cinco isotermas típicas que representam a maioria das curvas encontradas na prática. Isotermas do tipo I indicam que o material apresenta somente microporosidade; as do tipo II

Observa-se claramente que as áreas superficiais são maiores para as amostras calcinadas do que para aquelas que foram submetidas à extração com solvente antes da calcinação. Essa característica pode ser explicada da seguinte forma: após a condensação da solução de sílica precursora, durante o processo de síntese, o material formado deve impor uma certa pressão sobre os polímeros que irão dar origem ao sistema de poros. Esta pressão começa a ser anulada a partir do momento em que o material é aquecido a temperaturas onde a degradação dos agentes direcionadores de estrutura se inicia, já que os polímeros começam a ser liberados e passam a dar espaço a uma pequena parcela das paredes de sílica. Como resultado deste processo, os poros adquirem menores dimensões, assim como previsto no trabalho de Sen et al. [4]. Como a grande maioria da área disponível deve-se à presença de mesoporos, durante o processo de extração dos direcionadores de estrutura, as amostras tendem a encolher, mas esse efeito é mais pronunciado para as amostras tratadas com solvente uma vez que a eliminação dos polímeros ocorre através de duas etapas principais: a dissolução dos polímeros com THF e por aquecimento.

Embora haja razões para se acreditar que os cosurfactantes exercem influência sobre as áreas superficiais dos materiais hierárquicos, não é possível tirar conclusões sobre estas possíveis influências, uma vez que as massas dos surfactantes e cosurfactantes, que são determinadas a partir dos seus correspondentes diagramas ternários de fases, são diferentes para cada amostra. É importante salientar que a escolha foi feita com objetivo de se obter fases mesoporosas com estrutura cúbica. Para avaliar o papel que os cosurfactantes desempenham na obtenção de elevadas áreas superficiais, seria necessário a realização de novas sínteses utilizando misturas reacionais idênticas e variando o tipo de cosurfactante.

Analises posteriores foram realizadas com o objetivo de avaliar as propriedades texturais da amostra PS3-F2c, a qual consiste de um material hierarquicamente estruturado obtido na forma de monolito. As isotermas correspondentes a esta amostra são mostradas na Figura 49.

são obtidas quando a saturação ocorre em pós não porosos; isotermas do tipo III são caracterizadas por calores de adsorção inferiores ao calor de liquefação do adsorbato; isotermas do tipo IV ocorrem com adsorventes porosos com diâmetros de poros entre 15 e 100 \AA e isotermas do tipo V resultam quando existe pouca interação entre o adsorvente e o adsorbato.

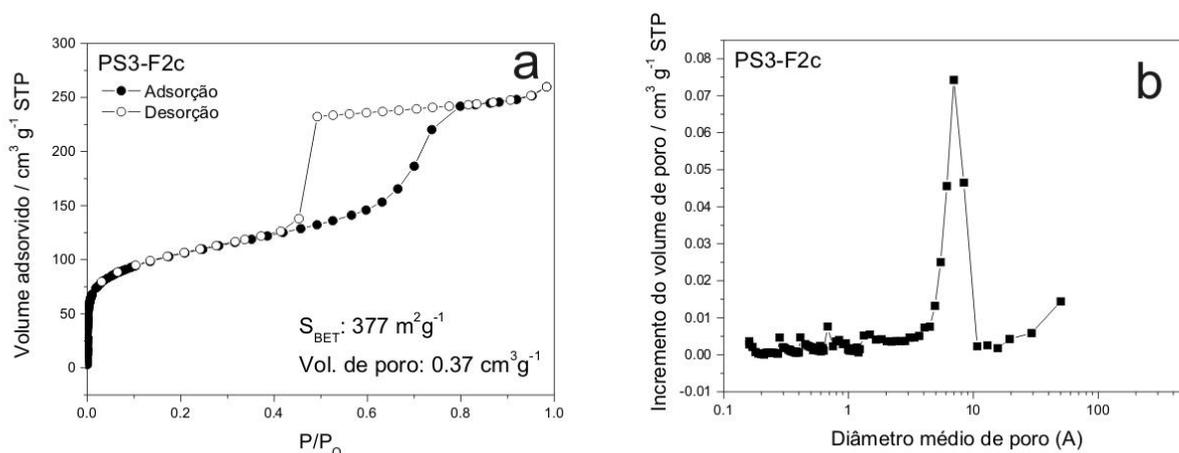


Figura 49. a) Isotermas de adsorção-desorção de nitrogênio da amostra PS3-F2c e b) distribuição dos tamanhos de poro.

Esta amostra apresentou uma área de 377 m²g⁻¹, o que é um valor abaixo do observado para a amostra PS-F2c cuja composição da mistura reacional é idêntica e que difere apenas no uso do agente direcionador de estrutura de macroporos na forma de pó e não de monolito.

É possível observar nas isotermas de todas as amostras um incremento bastante acentuado de volume adsorvido em baixos valores de pressões relativas, o que pode ser atribuído a presença de microporosidade. A partir das isotermas da amostra PS3-F2c, mostradas na Figura 49, foi feito o tratamento *t-plot* para a determinação da área superficial proveniente de microporos, tendo em vista que esta amostra se apresenta na forma de monolito e é, portanto a mais conveniente para as finalidades desejadas neste trabalho. O gráfico *t-plot* é mostrado na Figura 50.

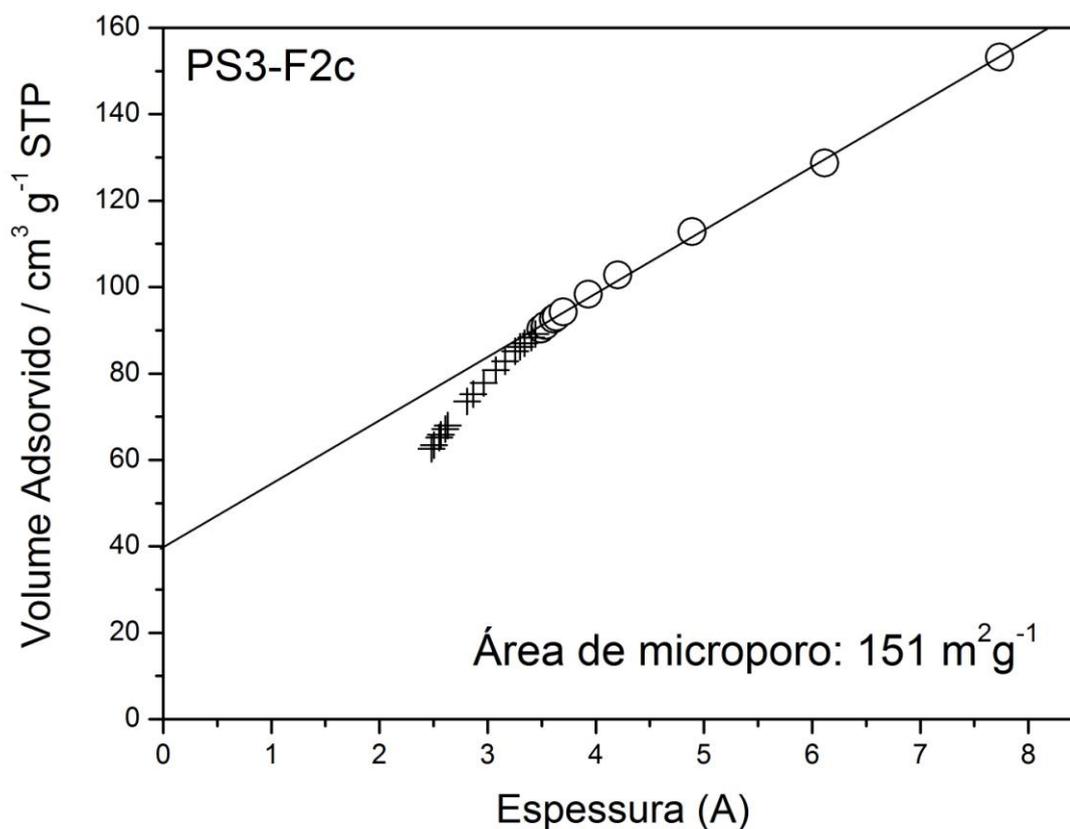


Figura 50. Análise t-plot da amostra PS3-F2c.

Este tratamento, que é feito levando-se em consideração volumes de adsorção obtidos a baixos valores de pressões relativas, mostrou que a área superficial proveniente de microporos corresponde a $151 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$. Este valor indica haver uma população elevada de cavidades com diâmetros inferiores a 2 nm. Por outro lado, como sugerem os resultados de difração de raios-x, estes poros não devem estar dispostos de forma ordenada, diferentemente do que é observado nas estruturas meso- e macroporosas. O mecanismo mais provável para explicar a presença de microporosidade não cristalina, isto é, de forma desordena baseia-se no espaço ocupado pelas cadeias hidrofílicas (ver Figura 4a) dos copolímeros em bloco durante o processo de síntese. A mistura reacional contendo a fonte de sílica interage com a porção hidrofílica dos copolímeros em bloco (F127), onde é em seguida condensada em virtude das condições de síntese. Quando os agentes direcionadores de estrutura são removidos, o espaço não ocupado pela sílica dá lugar às cavidades de microporos. Tendo em vista que a distribuição das cadeias

poliméricas no espaço não origina estruturas organizadas, as cavidades correspondentes que são formadas após a remoção dos compostos poliméricos também não devem se dispor de forma organizada.

4.2.6 Porosimetria de mercúrio

Os resultados provenientes das análises de porosimetria com mercúrio tratam das propriedades texturais dos macroporos. Esta técnica pode, portanto ser tratada como uma ferramenta complementar da adsorção/desorção de nitrogênio, uma vez que esta última fornece dados de suma importância sobre as propriedades superficiais dos materiais porosos, mas é limitada a escalas macrométricas. Os gráficos de intrusão/extrusão de mercúrio, e da distribuição de poros são apresentados na Figura 51.

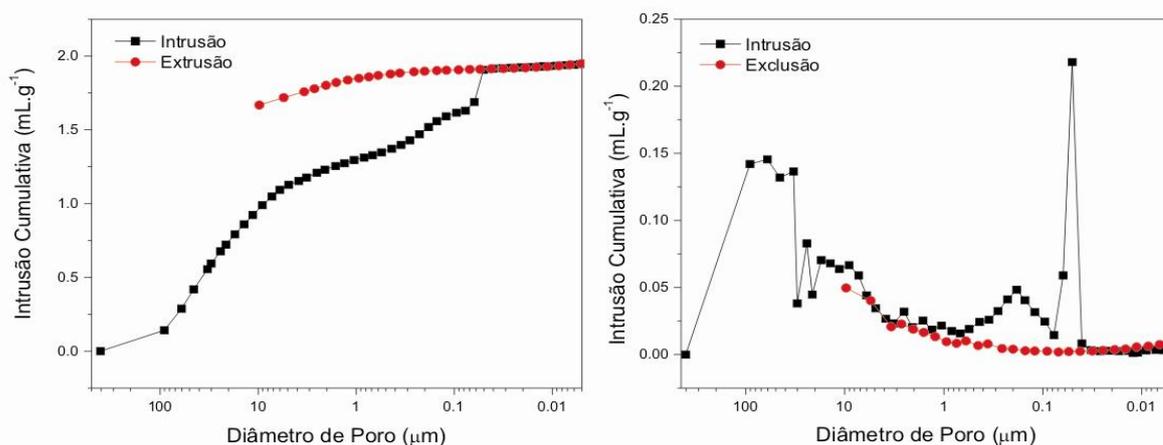


Figura 51. Resultados de porosimetria de mercúrio da amostra PS3-F2c.

A área superficial referente à presença de macroporos, determinada a partir do tratamento destes gráficos, é de $55 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, valor considerado elevado em se tratando de poros com tamanhos elevados. Além disso, a densidade aparente (esqueleto) é de $0,664 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. No gráfico que mostra a distribuição de poros, verifica-se a existência de dois picos, com máximos em 200 nm e 60 nm. Estes diâmetros correspondem ao sistema duplo de macroporosidade previamente discutido nas análises microscópicas.

As propriedades texturais dos materiais hierarquicamente estruturados apresentados neste trabalho devem considerar os aspectos relacionados com os

três tipos de porosidade, ou seja, micro, meso e macro. Os dados de tais propriedades são obtidos utilizando tanto a porosimetria de mercúrio quanto as análises de adsorção de N₂. No primeiro caso, como mostrado, avalia-se as características relacionadas à macroporosidade. Já nas análises de adsorção de N₂ o tratamento de BET fornece informações inerentes às estruturas micro- e mesoporosas, enquanto o tratamento do *t-plot* permite a determinação da área superficial de microporos. Todas estas informações, para a amostra PS3-F2c, encontram-se dispostas na Tabela 5.

Tabela 5. Resumo das propriedades texturais da amostra PS3-F2c.

	Área superficial BET	377 m ² g ⁻¹
	Área de microporo t-plot	151 m ² g ⁻¹
Adsorção de N ₂	Área de mesoporo (BET - t-plot)	226 m ² g ⁻¹
	Volume de poro total	0,37 cm ³ g ⁻¹
	Volume de microporo t-plot	0,06 cm ³ g ⁻¹
Porosimetria de mercúrio	Área de macroporo total	55 m ² g ⁻¹
	Volume de intrusão total	1,96 cm ³ g ⁻¹

A área total desta amostra é, portando a soma das áreas dos micro-, meso- e macroporos, o que resulta em um valor de 432 m².g⁻¹.

4.2.7 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

Embora as análises de microscopia eletrônica de varredura em alta resolução tenham fornecido valiosas informações a respeito do sistema macroporoso, elas não permitem análises consistentes no que diz respeito ao sistema mesoporos, apesar de poderem indicar sua existência. Deste modo, as análises de TEM foram realizadas no sentido de permitir uma avaliação mais criteriosa do sistema de mesoporos, uma vez que esta técnica permite a visualização deste tipo de poros.

A imagem de TEM obtida para as amostra PS-F2e é mostrada na Figura 52. Conforme evidenciado pelas análises de SEM, a macroporosidade é observada em uma ampla área das amostras analisadas. Por outro lado, os dados que

forneem informações detalhadas sobre a organização dos mesoporos e sua disposição em relação aos macroporos são obtidos através de TEM.

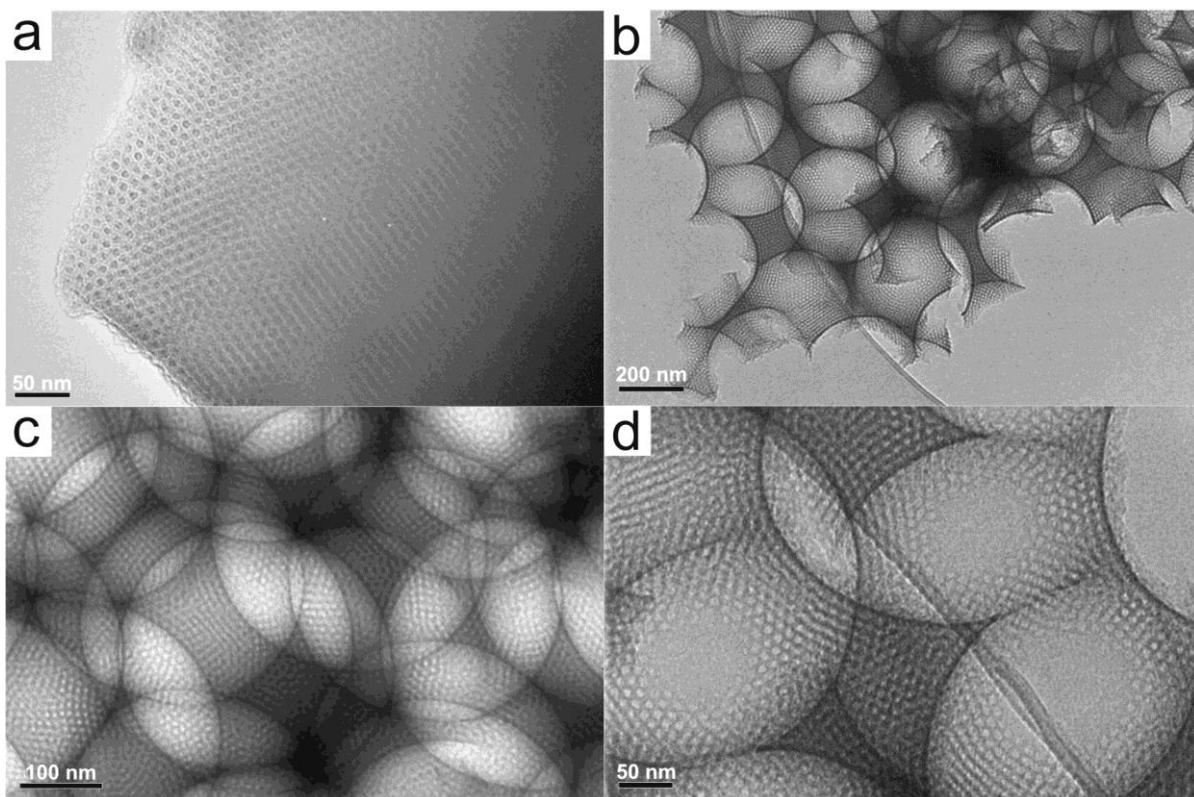


Figura 52. TEM da amostra PS-F2e.

Verifica-se a existência de mesoporos nas paredes dos macroporos. Esses mesoporos são bem organizados, como foi anteriormente mostrado nas análises de difração de raios-X. De acordo com o que é observado nas imagens de TEM, a forma pelo qual o sistema de poros se organiza indica uma seqüência hierárquica, isto é, o sistema poroso na mesoescala encontra-se integrado junto ao sistema de poros maior (macroporoso).

A amostra PS3-F2c, por ter sido sintetizada fazendo-se uso de monolitos de nanoesferas de poliestireno, apresenta uma ampla concentração destes tipos de poros como mostra a Figura 53. Nesta imagem, verifica-se também a presença de mesoporos com estrutura bem definida, distribuídos ao longo das paredes dos macroporos.

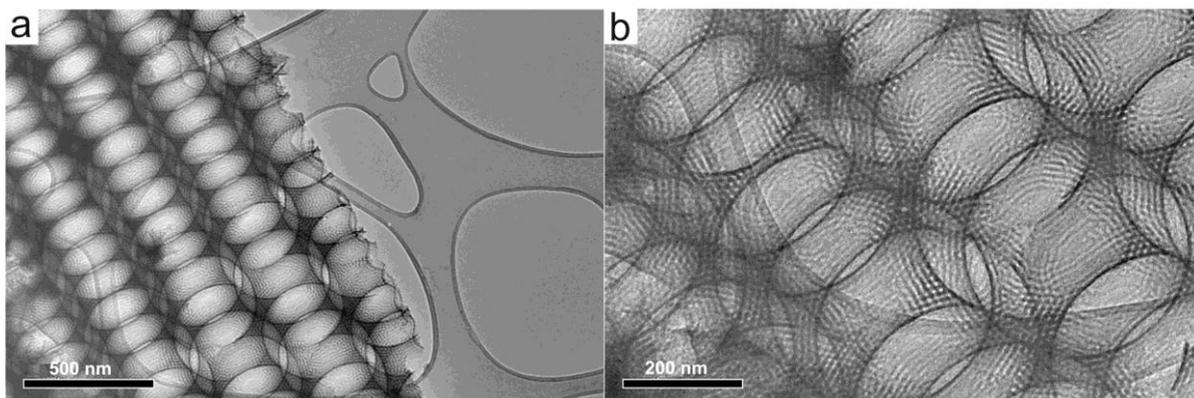


Figura 53. TEM da amostra PS3-F2c a) mostrando a distribuição dos macroporos e b) com maior resolução mostrando a organização dos mesoporos.

A Figura 54 mostra maiores detalhes sobre a organização do sistema poroso. Dentre as propriedades deste material, a conectividade entre os macroporos é facilmente observada. Tal conectividade é oriunda por janelas cuja formação origina-se do contato entre as nanoesferas de poliestireno antes da etapa de calcinação. A existência dessas janelas permite que o fluxo de reagentes ou outras moléculas de interesse, para as partes mais internas do material poroso, seja maximizado e deste modo atinjam prontamente a superfície dos poros menores. Uma vez que os mesoporos encontram-se em um arranjo cúbico, a eficiência de processos onde os poros devem ser acessados por moléculas reagentes deve ser maximizada. Além do mais, todas as paredes que interpõe os macroporos são preenchidas por mesoporos, fazendo com que este material possua elevado potencial em aplicações tecnológicas tais como: adsorção, catálise, filtração entre outros.

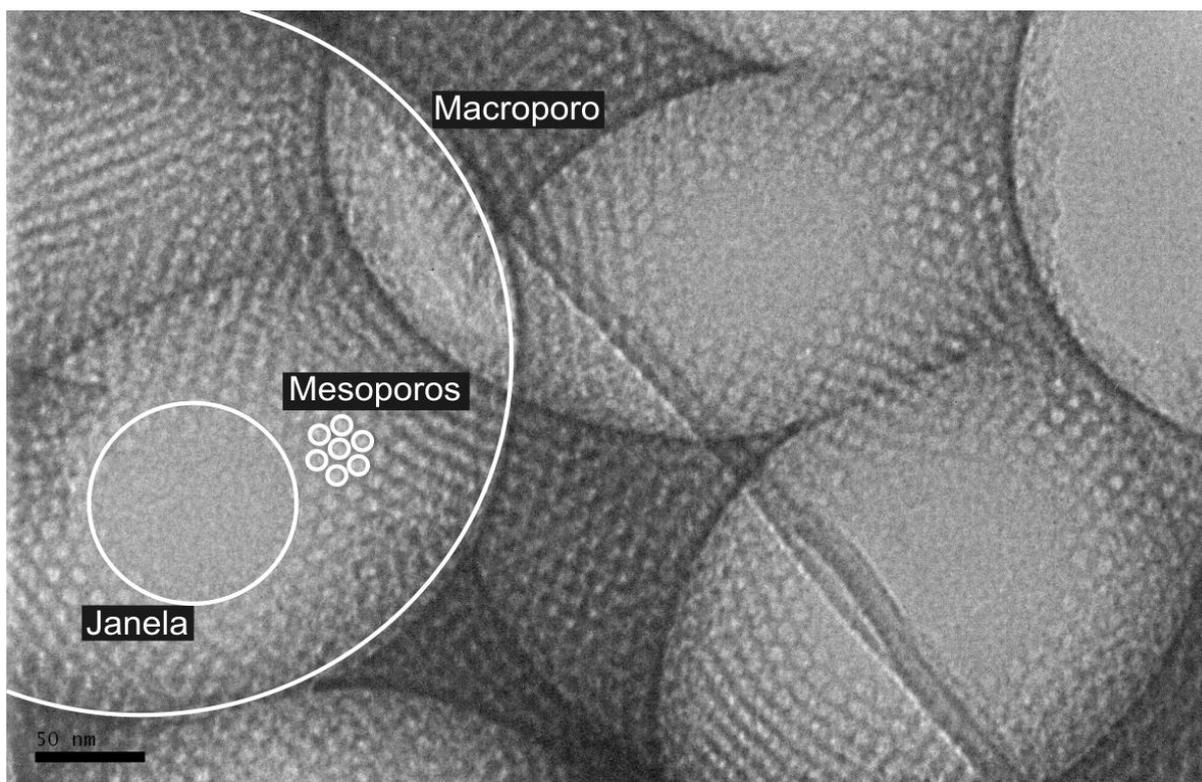


Figura 54. TEM da amostra PS-F2e com detalhes.

É evidente a forma como os mesoporos encontram-se distribuídos, sendo que em um plano cada poro é cercado por outros seis, como deve ser esperado para uma estrutura com grupo espacial $Fm\bar{3}m$.

4.2.8 Microscopia de força atômica (AFM)

Ambas as análises de SEM e TEM fornecem importantes informações acerca da superfície dos materiais e dos poros. Entretanto, estas técnicas não permitem a identificação de características particulares existentes nas paredes entre os macroporos. Uma imagem obtida por meio de AFM da amostra PS-F2e é mostrada na Figura 55 (I e II). Até o presente momento não há registros na literatura do uso desta técnica sendo aplicada ao estudo de materiais porosos hierárquicos. Os resultados apresentados aqui mostram propriedades relevantes da superfície externa, essencialmente com respeito aos macroporos. As dimensões das aberturas maiores são de aproximadamente 300 nm, concordando com as medidas feitas através de SEM. Além disso, a forma dos poros pôde ser estimada através das medidas mostradas na Figura 55 (III e IV). Estes dados confirmam que os poros apresentam naturezas idênticas e tamanhos uniformes, o que confere a estes

materiais um alto grau de homogeneidade no que diz respeito à distribuição dos sistemas porosos.

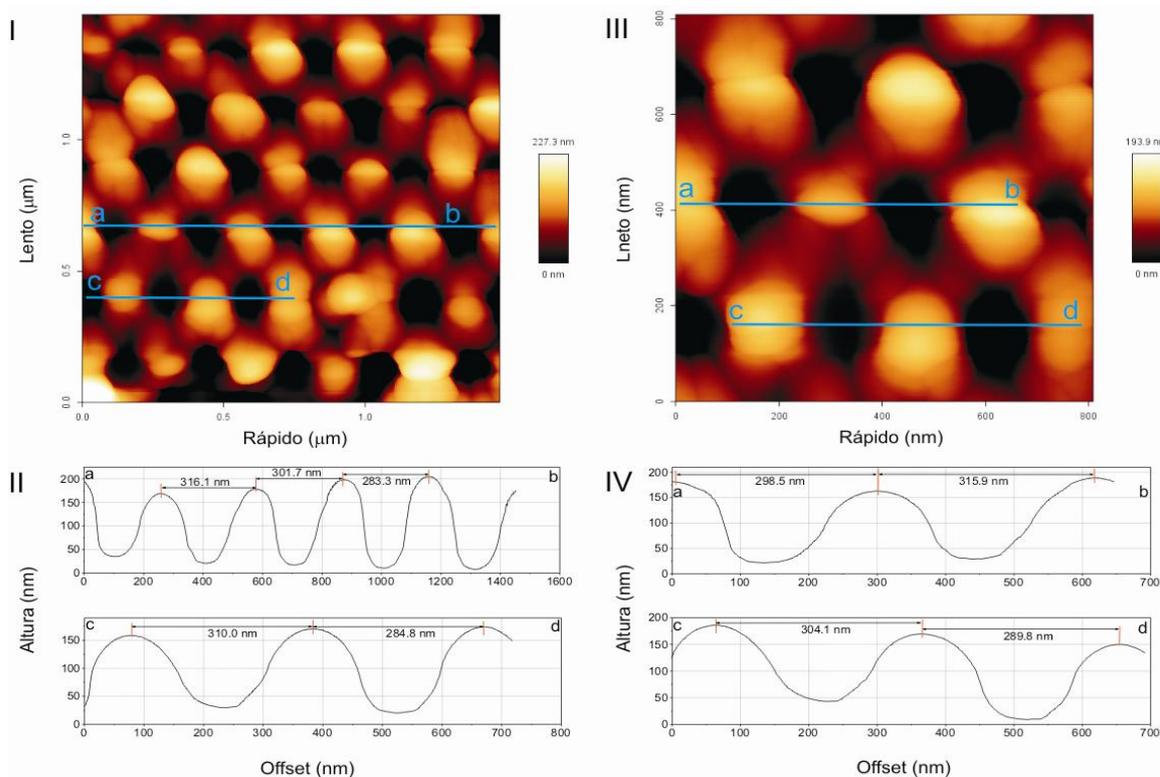


Figura 55. Imagem obtida por AFM da amostra PS-F2e.

Uma outra vantagem no uso de AFM no estudo de caracterização de materiais porosos é a possibilidade de estimar a profundidade dos poros, e não somente o diâmetro como é feito a partir de medidas realizadas apenas na superfície. Como pode ser observado nas medidas efetuadas nas imagens de AFM, mostradas na Figura 55, a profundidade dos poros é da ordem de 200 nm. A forma esférica dos poros observada nas demais técnicas de microscopia também é evidenciada aqui, embora esta informação não seja prontamente perceptível ao se observar os gráficos de medida de uma secção transversal. O caminho percorrido pela agulha usada como sonda nas análises de AFM corresponde, com elevada precisão, aos gráficos mostrados na figura anterior, e estes são característicos de poros com formato esférico.

Os dados de AFM podem ser apresentados ainda através de um gráfico 3D, como exemplificado no caso da amostra PS3-F2c (Figura 56).

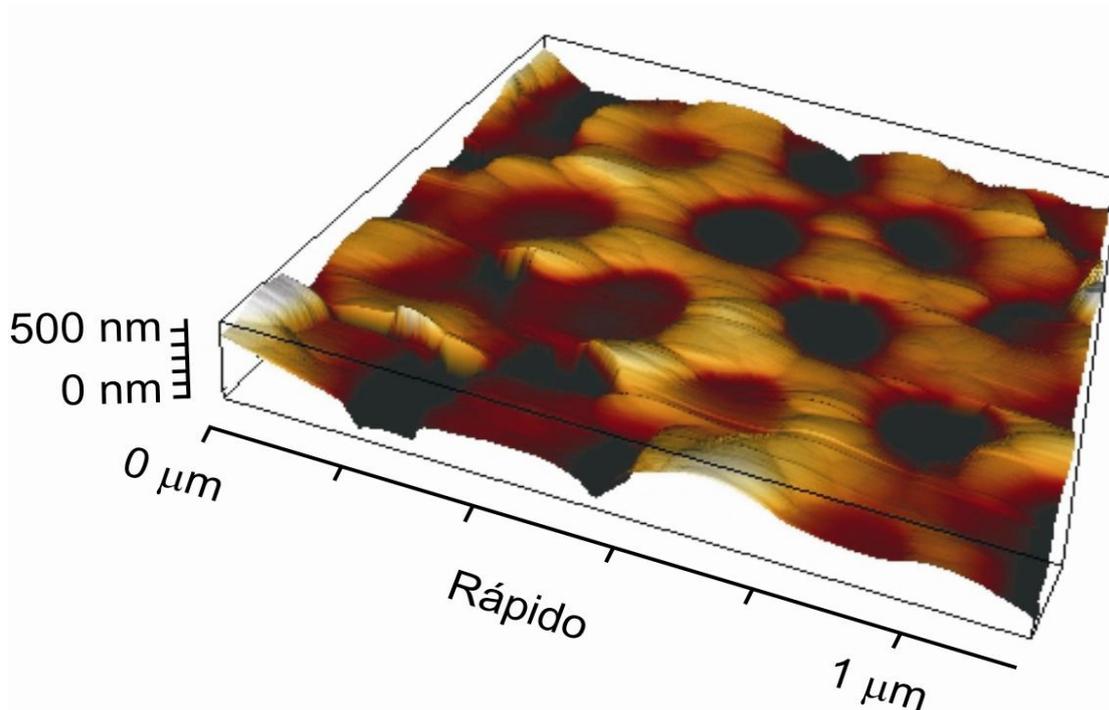


Figura 56. Projeção em 3D de imagem obtida por AFM da amostra PS3-F2c.

Nesta imagem, detalhes da topologia do material hierárquico podem ser melhor observados. É importante notar que a resolução desta técnica no que diz respeito à profundidade é limitada, em grande parte, à forma e ao tamanho da ponta da agulha que desempenha a função de sonda. Deste modo, a Figura 56 mostra a topologia da amostra em uma escala de cerca de 500 nanômetros, o que é suficiente para se visualizar as principais propriedades inerentes à topologia da camada superficial de macroporos.

Embora o difratograma de raios-X da amostra PS-F2e revele a simetria da fase mesoporosa, ele não permite confirmar de forma definitiva se o sistema de mesoporos existe no interior dos macroporos, isto é, não há evidências suficientes para inferir detalhes sobre a interconectividade entre os diferentes sistemas porosos. Para resolver esta importante questão, recorreu-se à análise de microscopia de força atômica no modo de deflexão, cujos resultados obtidos para esta amostra (PS-F2e) são mostrados na Figura 57:

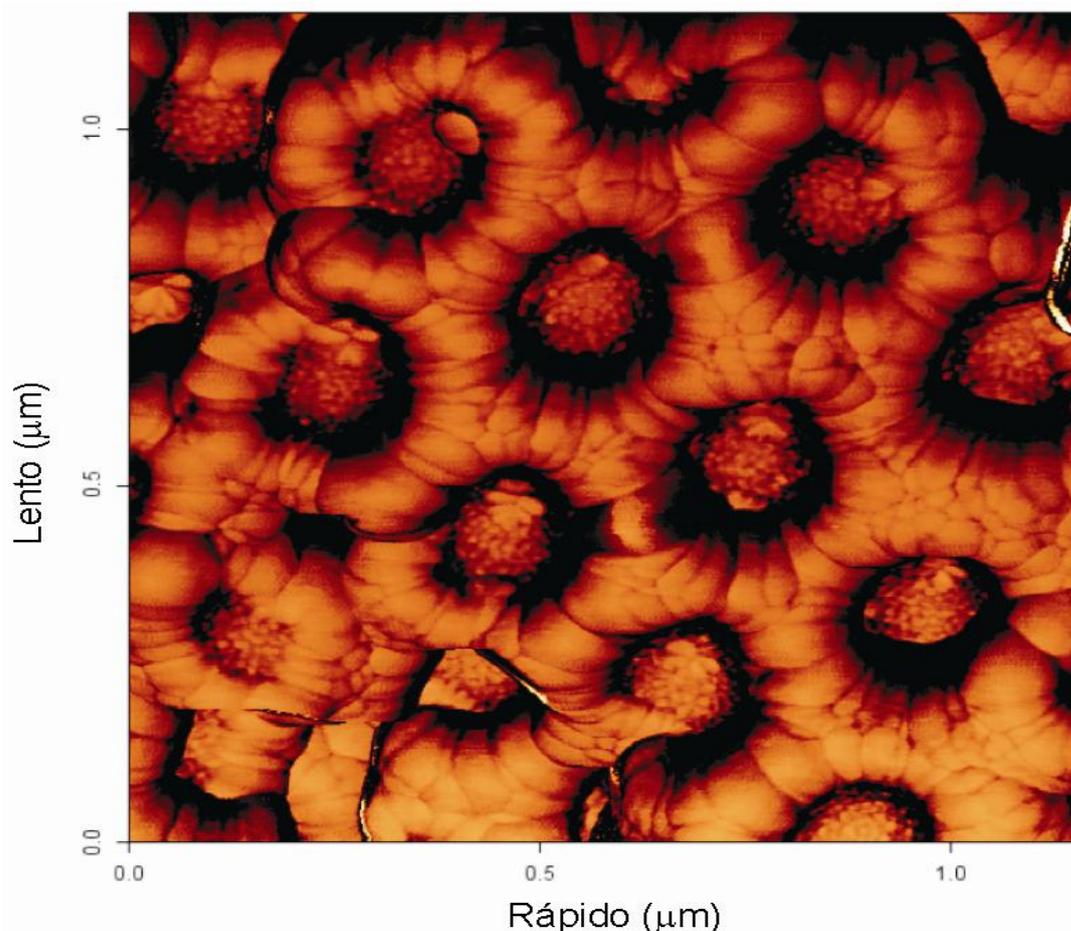


Figura 57. Imagem obtida por AFM em modo de deflexão mostrando ranhuras no interior da parede macroscópica consistente com os sistemas de canais mesoporosos interconectados com o sistema macroporoso.

Esta imagem é obtida com sonda de alta-resolução, possibilitando o contraste de algumas características mesoporosas presentes na superfície interna da estrutura macroporosa. À medida que a sonda percorre a superfície macroporosa, a ponta da sonda rola sobre as janelas de interconexão e o resultado é uma imagem que é a convolução do caminho percorrido pela sonda, e é dependente do formato da ponta da sonda e da estrutura que constitui a superfície do material analisado. A estrutura da superfície da parede de um macroporo é revelada em maiores detalhes operando o microscópio de força atômica no modo de fase, o que permite uma detecção mais detalhada das diferenças de composição da superfície interna do macroporo. Os resultados mostrados na Figura 57 indicam a presença da estrutura mesoporosa na superfície da parede macroporosa, e a distância entre as ranhuras observadas na imagem é de $18,1/\sqrt{2} = 12,8$ nm é

condizente com a estrutura mesoporosa cúbica de face centrada, evidenciada pelas análises de difração de raios-X. É importante ressaltar, entretanto, que embora estas observações sejam consistentes com a presença de uma estrutura mesoporosa na superfície dos macroporos, os resultados de HRSEM não indicaram haver conectividade efetiva entre estes dois sistemas de poros, de modo que os resultados de AFM podem estar associados à própria topologia da superfície macroporosa e não necessariamente à presença de mesoporos com aberturas para esta superfície.

4.2.9 Mecanismo de formação

As etapas envolvidas no processo de formação dos materiais hierarquicamente estruturados são mostradas na Figura 58. Os mecanismos envolvidos na síntese destes materiais iniciam-se com a adição da solução precursora de sílica ao sistema de agentes direcionadores de estrutura. O primeiro desafio consiste em fazer com que os interstícios existentes neste sistema sejam preenchidos de modo a não permitir que sobrem espaços vazios, o que acarretaria na formação de uma estrutura desorganizada. Como mostrado na Figura 58a, tal preenchimento não deve oferecer maiores complicações já que os espaços intersticiais para este tipo de estrutura são razoavelmente grandes. Uma dificuldade maior recai sobre a necessidade de se adicionar no sistema reacional um agente direcionador de estrutura para a geração de mesoporos. O ponto chave aqui se refere à forma de organização que estes agentes, neste caso o copolímero em bloco F127, devem apresentar, ou seja, um conjunto de espécies organizadas para gerar mesoporos deve coexistir dentro um sistema desenvolvido para originar a rede de macroporos. A Figura 58c ilustra como é possível haver esta interação entre os agentes modeladores de estrutura. Outra propriedade significativa do copolímero F127 é que o mesmo pode ainda gerenciar a formação de microporos, embora estes não venham a apresentar organização característica, como de fato não é evidenciado pelo não surgimento de picos de difração de raios-x em regiões de altos ângulos. Como resultado neste conjunto de propriedades de auto-organização das nanoesferas de poliestireno e do copolímero em bloco tem-se a geração de um material possuidor das três classes de porosidade, cada uma delas apresentando elevada homogeneidade. Os poros com os diâmetros maiores encontram-se separados pelas paredes de sílica, as quais são formadas pelos poros com dimensões mais baixas Figura 58d. Esta organização é especialmente notável pela

conectividade entre os sistemas de poros, pois deste modo, pode-se esperar uma interligação efetiva entre os diferentes sistemas do material obtido.

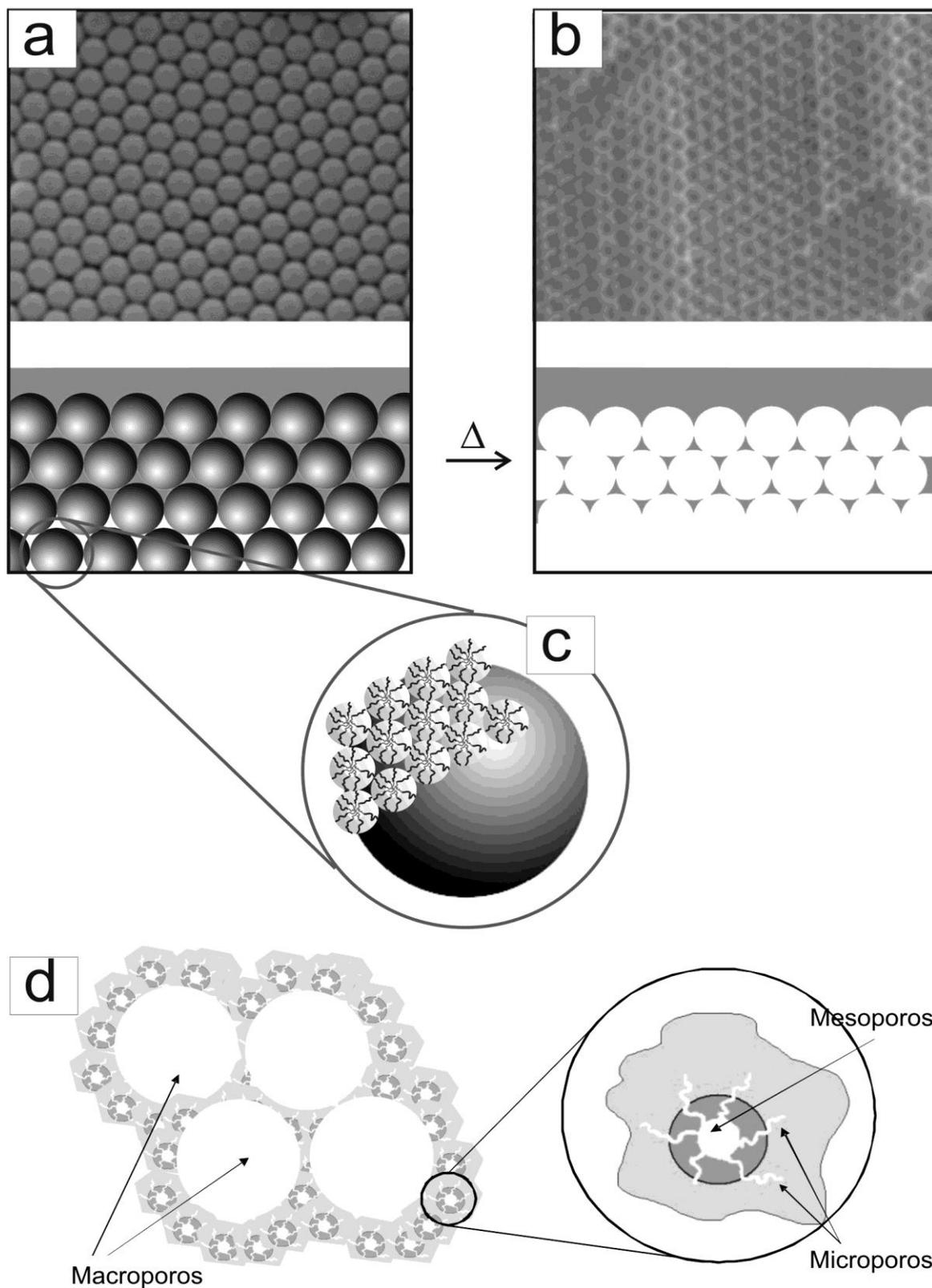


Figura 58. Mecanismo de formação dos materiais hierarquicamente estruturados: a) preenchimento, com a solução precursora de sílica, dos interstícios entre as nanoesferas de poliestireno, b) formação dos macroporos após a remoção das nanoesferas, c) organização

das micelas formadas pelo copolímero F127 (inserida na solução precursora) em torno das nanoesferas e d) arranjo ordenado dos macro-, meso- e microporos.

Evidentemente, os poros só são de fato formados quando todos os agentes poliméricos são eliminados, seja através de calcinação ou através da extração com solvente seguido de calcinação, pois são exatamente os espaços ocupados por estes agentes que remanescem como poros no material hierárquico.

4.3 Zeólitas com arquitetura macroporosa

4.3.1 Difração de raios-X

O difratograma de raios-X obtido para a amostra PS-DYc é mostrado na Figura 59.

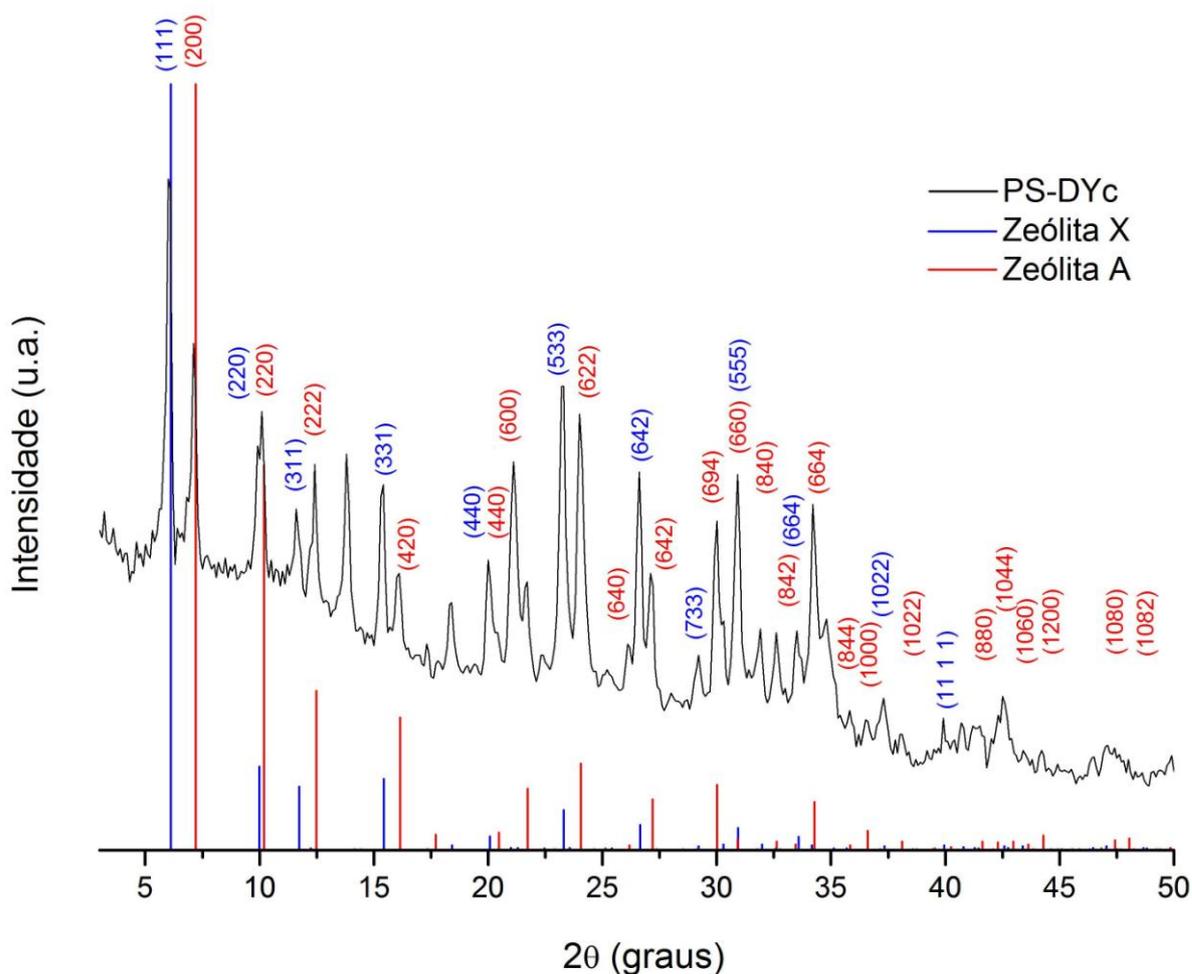


Figura 59. Difratograma de raios-X da amostra PS-DYc com os padrões de duas fases identificadas.

Este difratograma indica que mais de uma fase cristalina foi obtida. É possível verificar a presença de pelo menos duas fases: da zeólita X e da zeólita A, cujos padrões são mostrados. As zeólitas X e A apresentam razão Si : Al próxima a 1[100], de modo que a mistura reacional inicialmente prevista para gerar a zeólita Y mostrou-se mais apropriada para síntese de zeólitas com menor teor de alumínio.

4.3.2 Microscopia eletrônica de varredura

O controle da morfologia zeolítica mostra-se bastante interessante tendo em vista que esta propriedade permite um design racional de produtos que apresentem uma ampla faixa de aplicações [101]. A formação de uma estrutura macroporosa formada a partir da síntese de zeólitas é evidenciada pelas análises de microscopia eletrônica de varredura cujos resultados são mostrados na Figura 60:

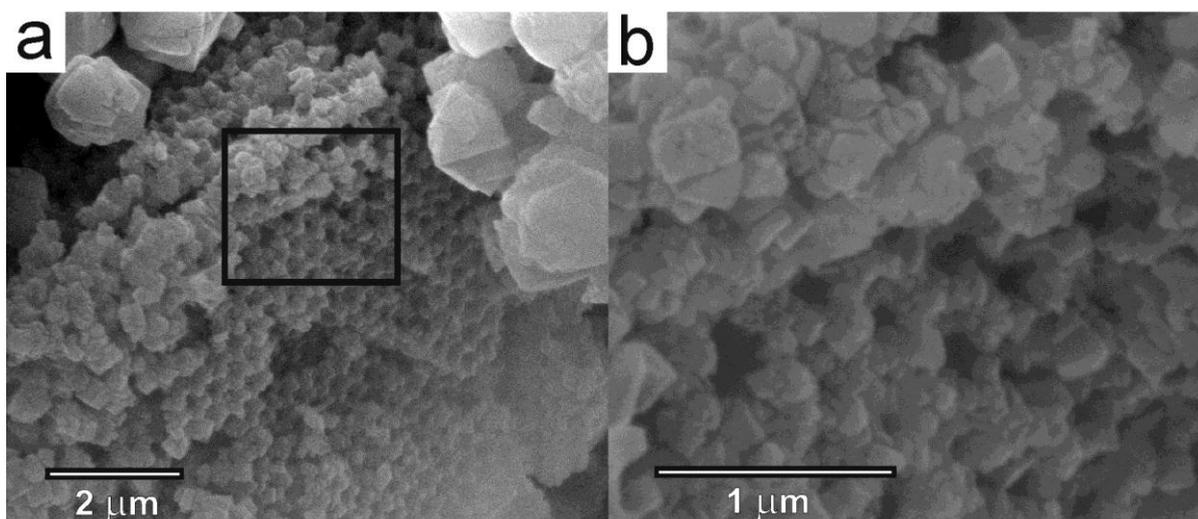


Figura 60. SEM da amostra PS-DYc mostrando estruturas macroporosas.

As zeólitas sintetizadas deram origem a um sistema de macroporos oriundos da cristalização das zeólitas em torno do agente direcionador de estrutura macroporosa, formadas por nanoesferas de poliestireno, as quais apresentavam uma estrutura organizada. Na etapa de calcinação, estes foram eliminados dando origem às cavidades de dimensões macrométricas.

A extensão em que se observa a presença de macroporosidade, entretanto se limita a uma fração do material total obtido, assim como é reportado em outros trabalhos [102, 103]. Uma parcela considerável deste apresenta-se na forma de cristalitos onde duas morfologias bem definidas são observadas na Figura 61.

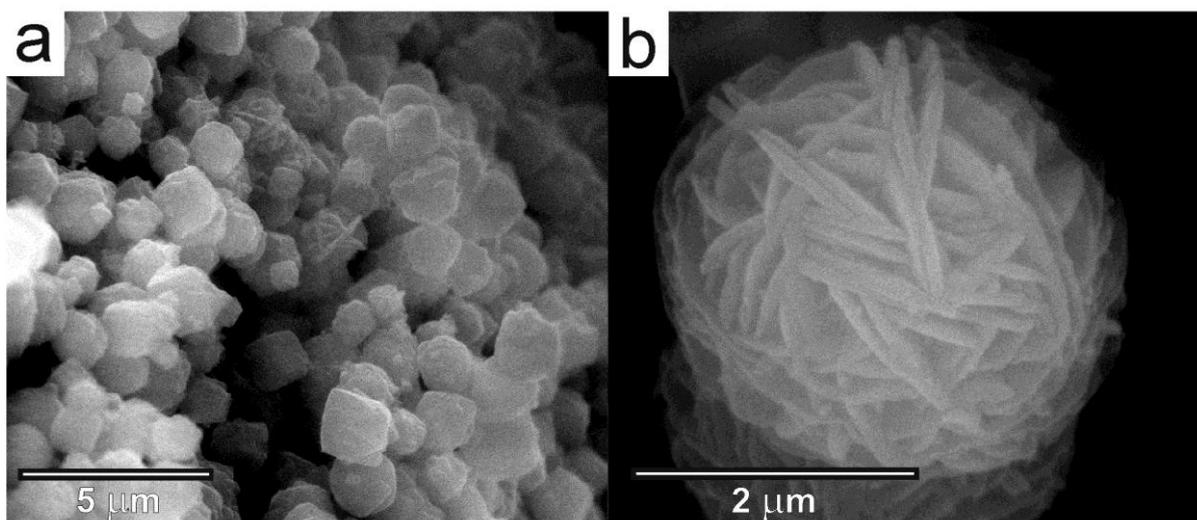


Figura 61. SEM da amostra PS-DYc mostrando diferentes morfologias zeolíticas.

É provável que as duas morfologias verificadas refiram-se às duas zeólitas identificadas através da difratometria de raios-X.

4.4 Funcionalização do suporte

Os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos para a amostra MHE funcionalizada com glutaraldeído (amostra MHE-GA) são mostrados na Figura 62.

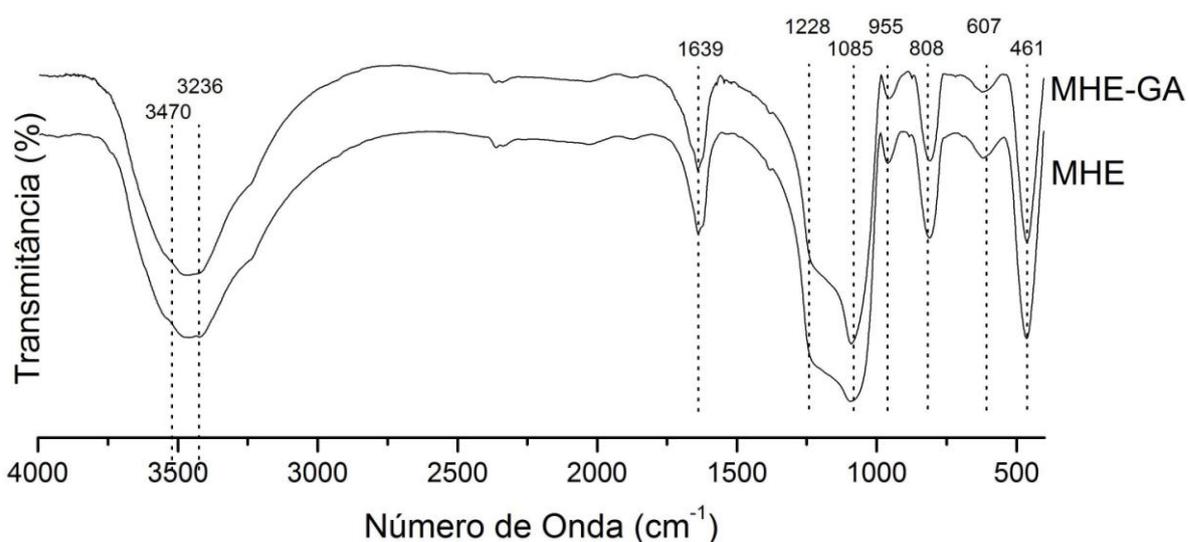


Figura 62. Espectros de absorção na região do infravermelho para o processo de funcionalização da amostra MHE com GA.

Nestes gráficos não se observa a presença de nenhuma banda referente a uma possível interação do glutaraldeído com a amostra. Embora não tenha havido confirmação da funcionalização através desta técnica, foi possível observar que a coloração da amostra MHE-GA apresentou-se com uma totalidade levemente avermelhada, um pouco diferente, portanto da amostra MHE, que possuía aspecto esverdeado. É provável que o glutaraldeído tenha se impregnado no interior do sistema de poros do suporte sem que tenha havido interação química.

Diante destes resultados inconclusivos, optou-se por uma nova etapa de funcionalização, agora fazendo uso do composto MBT (2-mercaptobenzotiazol). A funcionalização da amostra com o composto MBT apresenta algumas dificuldades não podendo ser feita diretamente. Deste modo, é necessário utilizar um terceiro composto, o CPTS, para atuar como um mediador entre a amostra MHE e o composto MBT. O primeiro passo é promover uma reação entre o MBT e o CPTS. Em seguida, é necessário promover a reação entre o MBT-CPTS e a amostra MHE. Estas reações, baseadas na rota homogênea proposta por Pérez-Quintanilla [85], são apresentadas na ilustração a seguir (Figura 63).

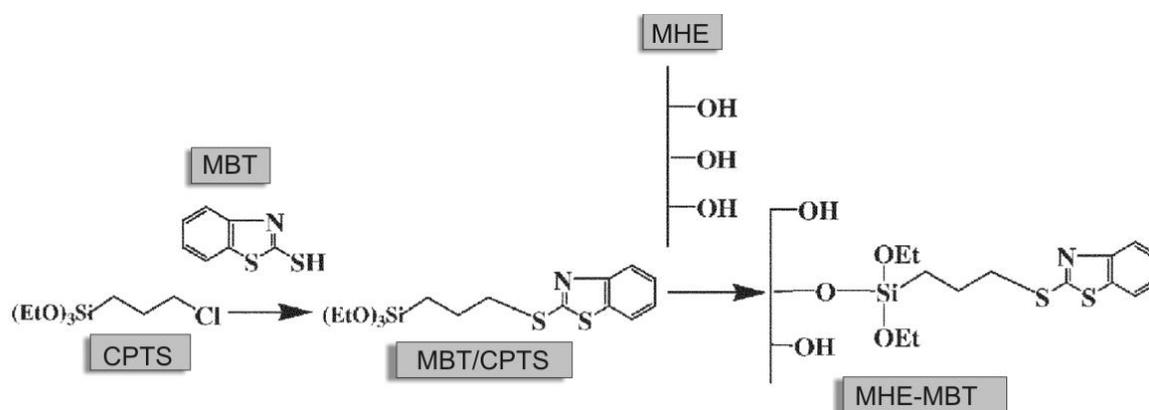


Figura 63. Rota homogênea de funcionalização com MBT.

Como pode ser observado na Figura 63, a funcionalização se processa através de um intermediário que exerce a função de se ligar concomitantemente à superfície do material hierárquico e ao composto MBT.

A eficiência deste método foi avaliada através de espectroscopia de absorção na região do infravermelho, cujos espectros são mostrados na (Figura 64).

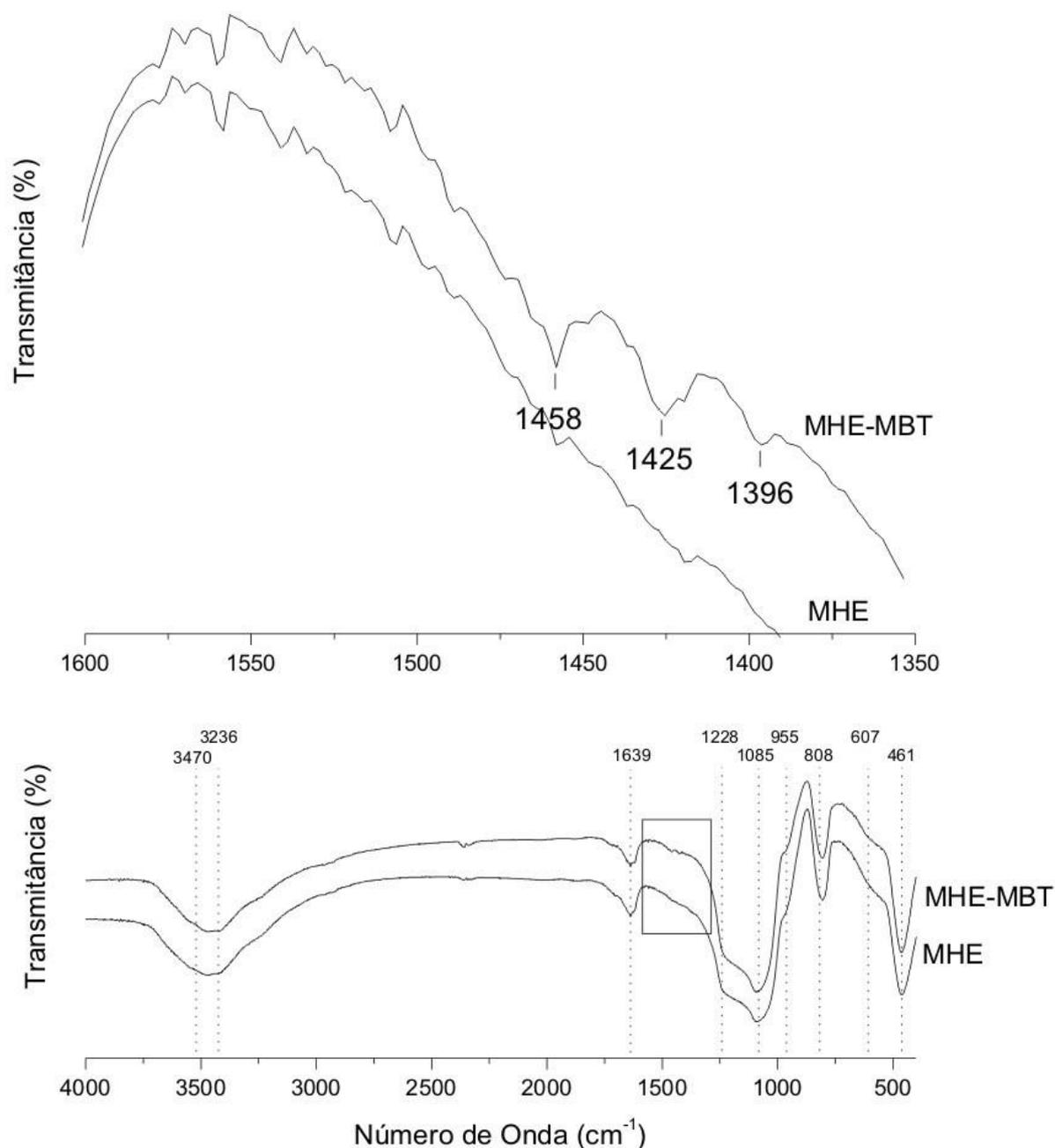


Figura 64. Espectros de absorção na região do infravermelho para o processo de funcionalização da amostra MHE com MBT.

No espectro da amostra MHE-MBT é observado o surgimento de três bandas, em 1458, 1425 e 1396 cm^{-1} , as quais podem ser atribuídas a vibrações de estiramento das ligações C=N e C=C [85, 104]. Estes resultados indicam que há MBT interagindo de alguma maneira com a superfície da amostra MHE, levando à conclusão que o processo em questão resultou na funcionalização do suporte.

4.5 Testes catalíticos

Na Figura 65, é mostrada a variação da absorbância em função do tempo para os testes de determinação da atividade das soluções enzimáticas.

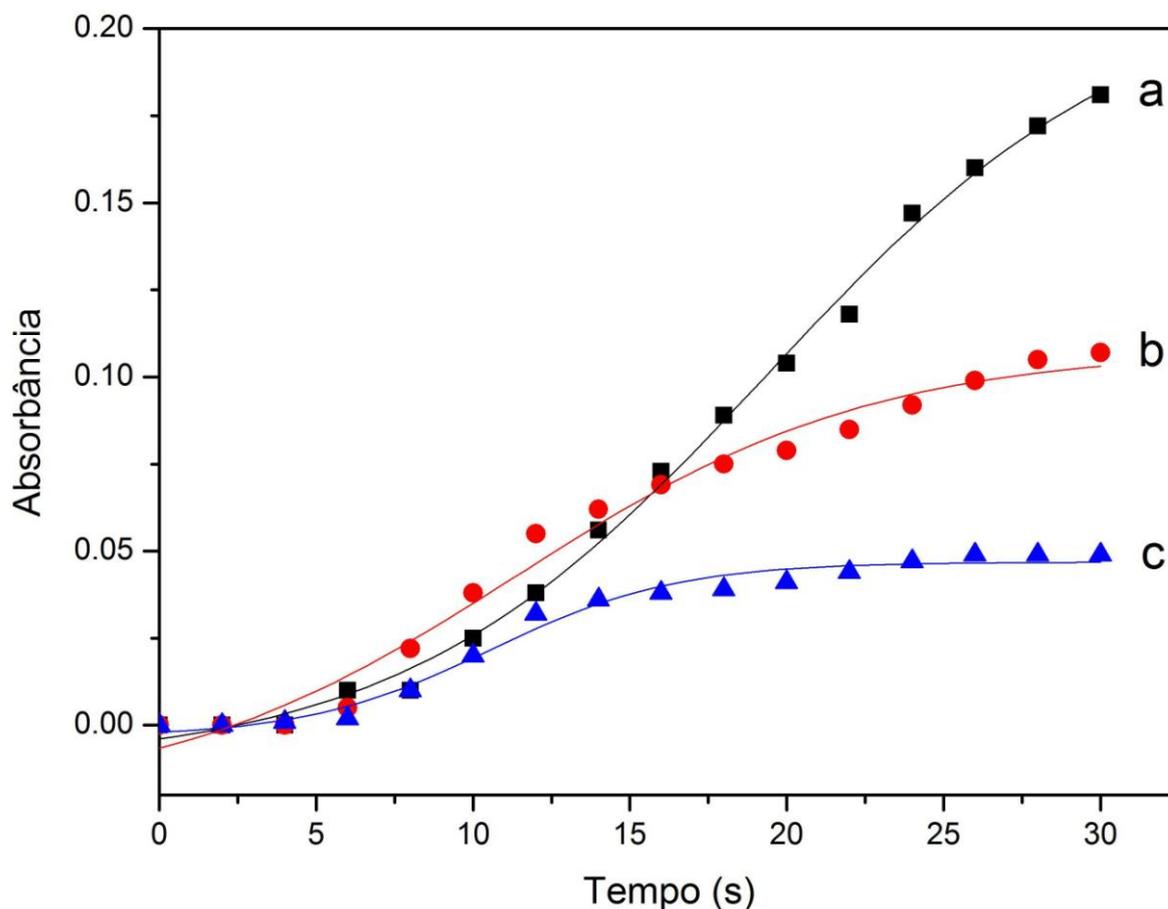


Figura 65. Determinação de atividade enzimática a) da solução enzimática, b) do sobrenadante após a imobilização e c) da primeira lavagem do suporte contendo a enzima imobilizada.

A solução enzimática inicialmente preparada apresentou atividade de 0,0195 unidade/mL enzima. Uma unidade significa que 1 mL da solução enzimática 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. A soma das atividades do sobrenadante após o processo de imobilização e do sobrenadante após as lavagens foi de 0,0116 unidade/mL enzima. Deste modo, a diferença entre a atividade enzimática da solução enzimática usada para a imobilização e a soma das atividades das soluções sobrenadantes deve equivaler à atividade máxima que o biocatalisador produzido pode apresentar. Esta diferença corresponde a 0,0078 unidade/mL enzima, ou seja, a quantidade de

enzima retida no biocatalisador foi de 40 %. É esperado, no entanto, que a atividade do biocatalisador seja menor que o valor calculado tendo em vista que a forma como a enzima se encontra ancorada na superfície do suporte pode não favorecer o acesso do substrato ao centro catalítico da enzima, além de que é possível, embora não muito provável, que o substrato se difunda através do reator sem ter contato com a enzima imobilizada.

A análise de injeção em fluxo (FIA) consiste na injeção repetida de um pequeno volume de amostra em um líquido transportador que, em condições hidrotermicamente controladas, se desloca de forma contínua e não segmentada até um detector que acusará um sinal tendencialmente gaussiano [105]. Para o propósito deste trabalho, as análises feitas por injeção em fluxo são utilizadas para adicionar um volume fixo de substrato, carregado por meio de um fluxo constante, a um reator onde o biocatalisador produzido atuará na sua conversão a um produto cuja detecção é feita espectrofotometricamente.

Os resultados dos testes de conversão do catecol à 1,2-benzoquinona, feitos por meio de análise de injeção em fluxo e em triplicata para cada concentração, são mostrados na Figura 66.

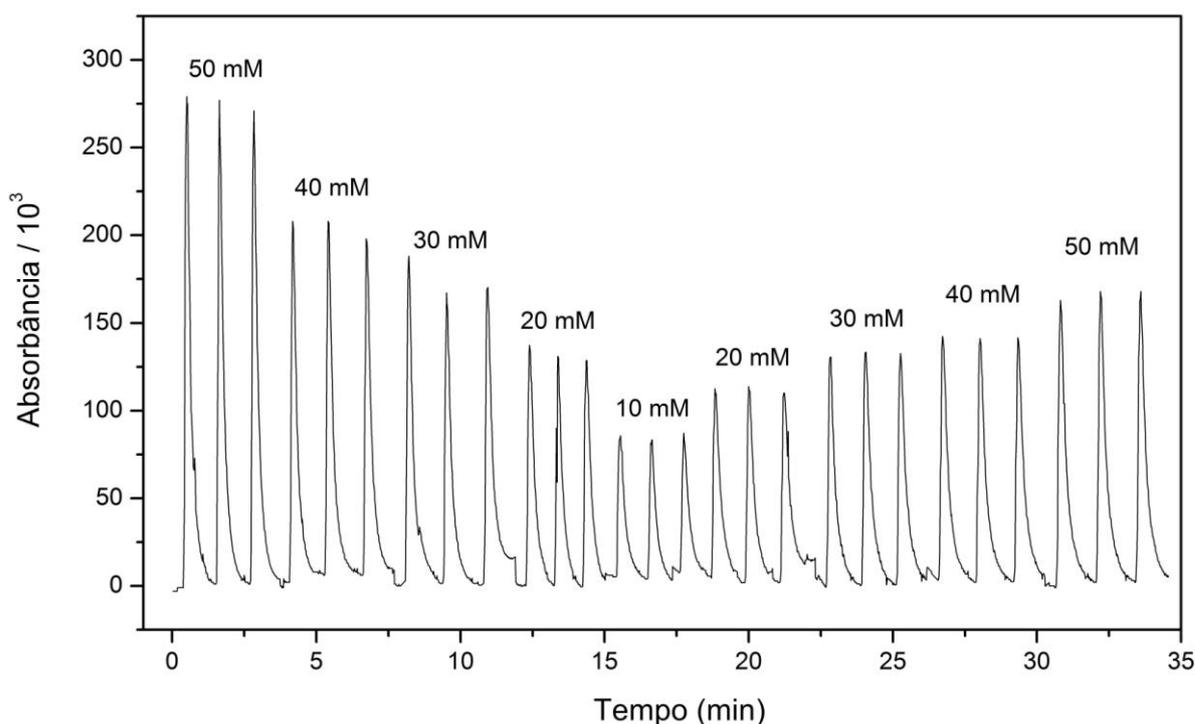


Figura 66. Análise de injeção em fluxo do catecol.

Devido ao arranjo do sistema de análises optou-se por iniciar as análises a partir da solução de catecol mais concentrada (50 mM), partindo em seguida para soluções de menor concentração até a solução mais diluída (10 mM), onde a concentração foi novamente variada, passando, no entanto para valores mais elevados.

Dentro de uma determinada faixa de concentrações é esperado que haja um comportamento linear entre a resposta do detector e a concentração do substrato. Além disso, há a expectativa que a capacidade do biocatalisador em converter o substrato seja constante a menos que ocorram problemas associados com o desprendimento da enzima da superfície do suporte ou com envenenamento do catalisador [106].

As replicatas das análises resultaram em valores semelhantes de absorbância para cada concentração, mas quando a concentração do substrato é aumentada não se observa a mesma simetria dos picos visualizados na primeira parte das análises, quando a concentração do substrato é diminuída. Estes resultados são melhor visualizados através da Figura 67.

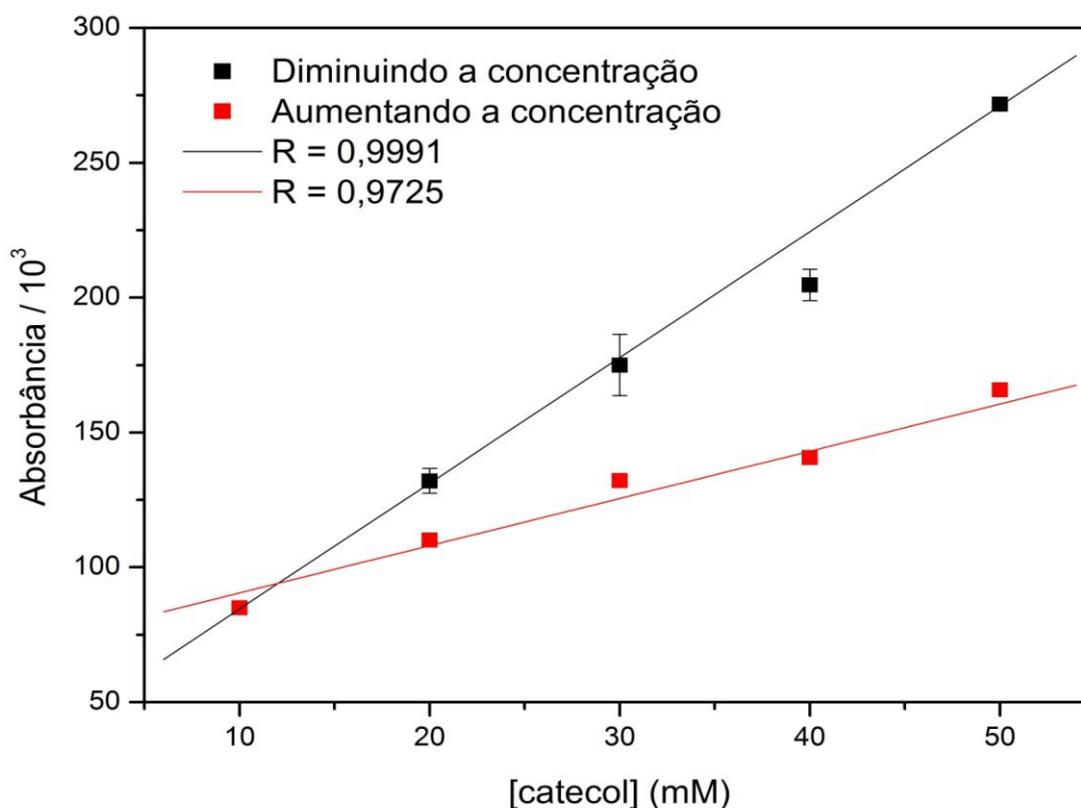


Figura 67. Variação da absorbância em função da concentração de substrato.

Neste gráfico é possível observar um comportamento que segue uma tendência linear, mas as retas não são coincidentes, o que condiz com a assimetria dos picos da Figura 66. Estes dados sugerem que embora haja enzimas imobilizadas no suporte (MHE), e que estas promovam a catálise do substrato, há um considerável decréscimo na capacidade de conversão do biocatalisador. Um fato interessante observado durante os experimentos foi o escurecimento do reator na parte onde se encontram as enzimas imobilizadas, o que pode ser associado à retenção de parte do produto formado o qual, diferentemente do substrato, absorve na região do visível. Se considerarmos que tal retenção ocorre em virtude da existência de porosidade no suporte, em especial nas escalas de micro- e mesoporos, é provável que o produto formado acabe se depositando junto às regiões ocupadas também pela enzima o que acarretaria na inibição desta última e, portanto, resultando na diminuição na sua capacidade de conversão. Isto poderia explicar o comportamento apresentado. Outra possibilidade é que as enzimas estejam sendo lixiviadas e, deste modo, haveria menos centros catalíticos disponíveis fazendo com que a atividade fosse suprimida. Por um lado, verificou-se que nas últimas etapas de lavagem do biocatalisador, durante o processo de imobilização, não houve desprendimento da enzima do suporte. Por outro lado, o meio reacional pode promover a liberação gradual da enzima [107].

Para a determinação das velocidades iniciais, foram feitas análises injetando-se, a fluxo constante de $1,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, soluções de catecol com diferentes concentrações. Os resultados destas análises são mostrados na Figura 68.

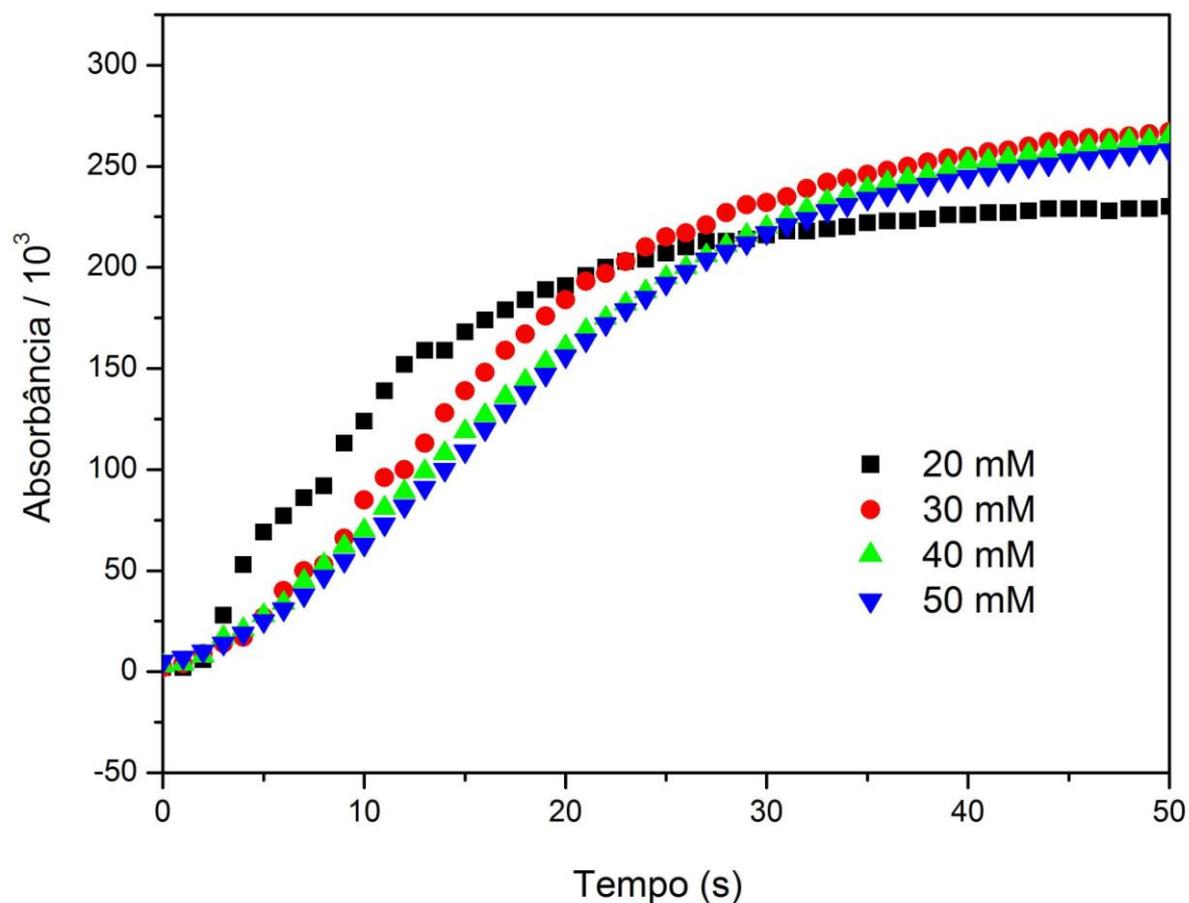


Figura 68. Capacidade máxima de conversão do biocatalisador em diferentes concentrações (fluxo de $1,8 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$).

As velocidades máximas, para cada concentração, podem ser estimadas considerando-se um comportamento linear nos primeiros segundos em que a reação se processa, ou seja, a tangente nesta região corresponde à velocidade inicial. Esta velocidade inicial, de uma reação catalisada por enzimas, deve aumentar logaritmicamente conforme a concentração do substrato é aumentada, seguindo o modelo de Michaelis-Menten [57].

Utilizando os dados extraídos do gráfico mostrado na Figura 68, e fazendo as devidas considerações, foi obtido o gráfico da velocidade inicial da reação de conversão do catecol, catalisada pelo biocatalizador gerado, em função da concentração do substrato (Figura 69).

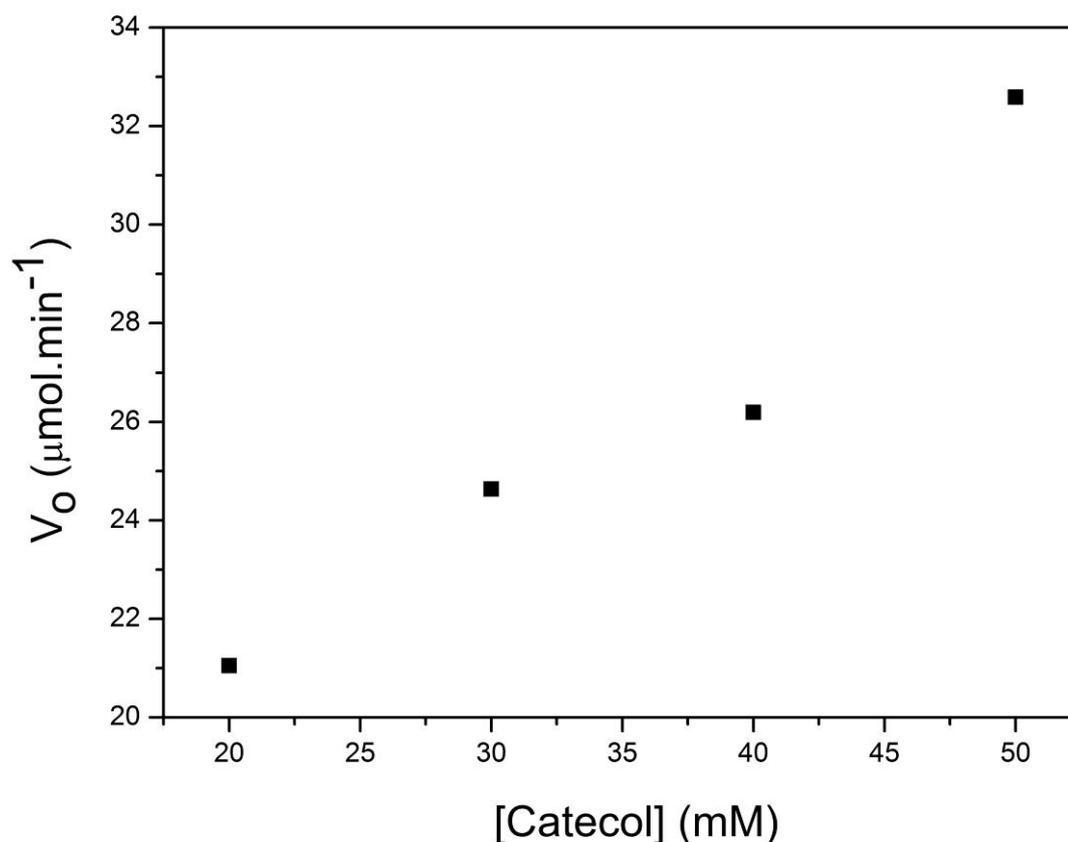


Figura 69. Influência da concentração do substrato sobre velocidade inicial da reação.

Ainda que não se verifique exatamente o comportamento logarítmico esperado para o gráfico da Figura 69, 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-Burk [87]:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{m\acute{a}x} [S]} + \frac{1}{V_{m\acute{a}x}}$$

Admitindo-se que o biocatalisador gerado obedece à equação de Michaelis-Menten, o gráfico de $1/V_0$ em função de $1/[S]$ (gráfico dos duplos recíprocos) deve ter um comportamento linear, com inclinação de $K_m/V_{m\acute{a}x}$, interceptando o eixo de $1/V_0$ em $1/V_{m\acute{a}x}$ e no eixo de $1/[S]$ em $1/K_m$. O gráfico dos duplos recíprocos é apresentado na Figura 70.

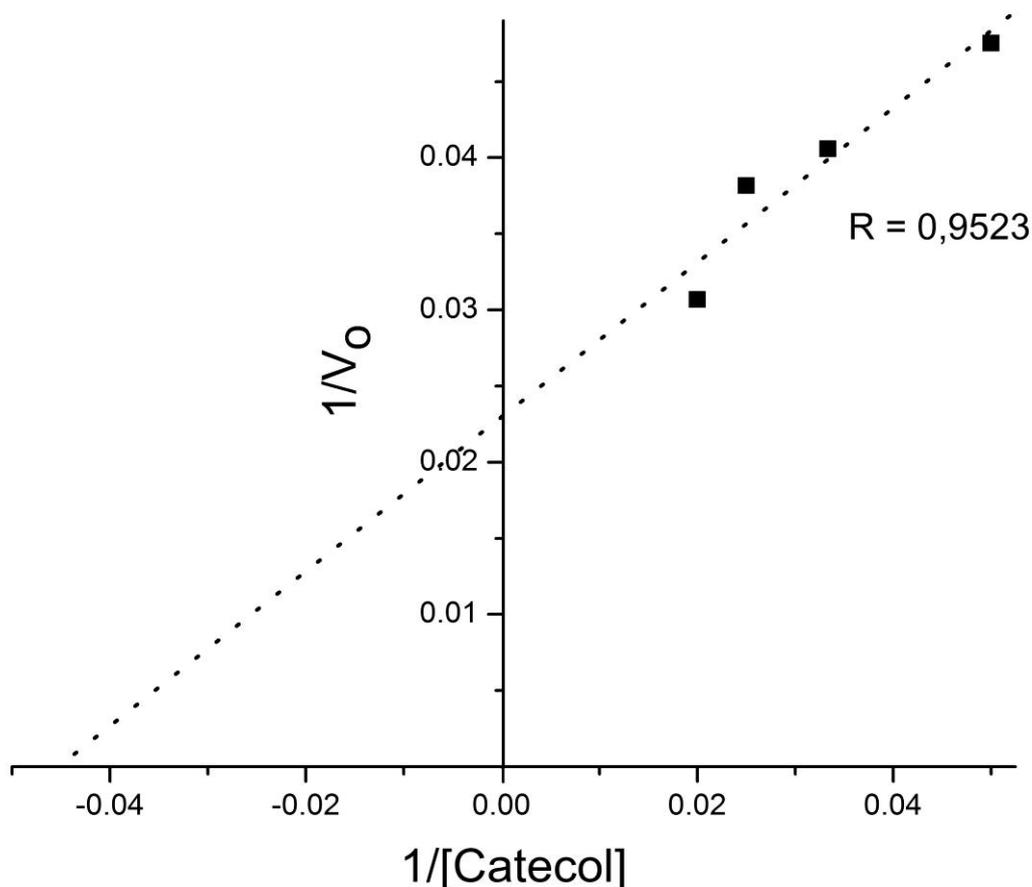


Figura 70. Gráfico dos duplos recíprocos.

A partir do gráfico apresentado na Figura 70, as seguintes constantes cinéticas foram obtidas: $K_m = 22 \text{ mM}$ e $V_{m\acute{a}x} = 43 \text{ } \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$. K_m , a constante de Michaelis-Menten, corresponde à concentração do substrato na qual a velocidade da reação é metade da velocidade máxima ($V_{m\acute{a}x}$). Esta constante é um importante parâmetro da reação enzimática e fornece uma medida da concentração do substrato para que ocorra uma catálise significativa [108].

Estes parâmetros cinéticos contribuiriam para uma melhor averiguação do papel do MHE como suporte para imobilização da enzima, já que na enzima imobilizada é esperada uma diminuição da atividade enzimática devido, entre outros fatores, a uma dificuldade difusional do substrato até o centro ativo da enzima [109]. Deste modo, um dos fatores indicativos da eficiência do biocatalizador obtido estaria

associado com pouca diminuição da atividade catalítica da enzima imobilizada quando comparada com sua atividade estando livre em solução [77].

Um teste simples onde se avaliou a capacidade máxima de conversão, usando um fluxo contínuo de substrato (catecol 50 mM) no reator (Figura 71), mostrou que conforme o teste é repetido, há uma ligeira diminuição na resposta do detector, ou seja, menores valores de absorvância são obtidos.

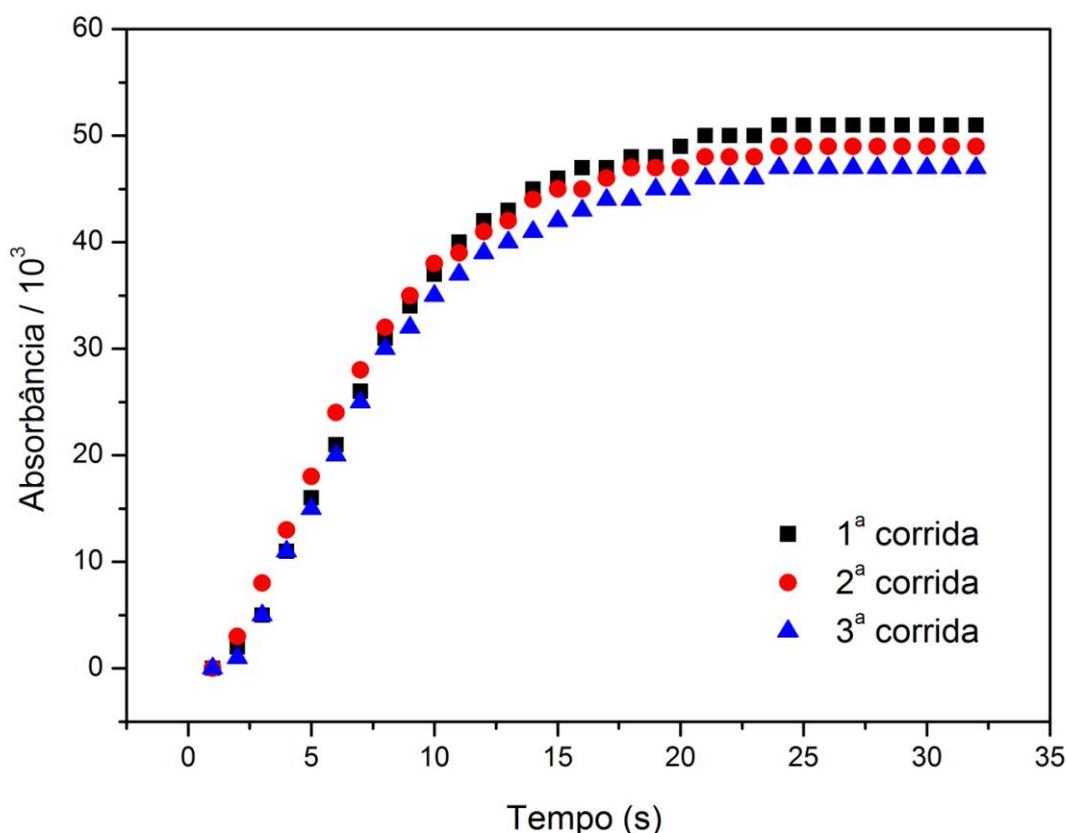


Figura 71. Capacidade máxima de conversão: replicatas usando catecol 50 mM com fluxo de 6 mL.min⁻¹.

Estes resultados indicam haver pouca evidência de que esteja havendo quedas apreciáveis de eficiência do biocatalisador conforme o mesmo é utilizado. Deste modo, é razoável inferir que a complexidade estrutural do suporte permite que a peroxidase seja imobilizada e exerça atividade no seu interior. Entretanto, esta atividade não se apresenta contínua devido, possivelmente, à própria arquitetura dos poros do material hierarquicamente estruturado e/ou ao composto funcionalizante

(MBT), que permite a adsorção do produto gerado da reação catalisada pela peroxidase acarretando na inibição da enzima.

5 CONCLUSÕES

A síntese de materiais hierarquicamente estruturados, com estrutura única, à base de sílica, foi eficientemente realizada dando origem a um sistema composto por macroporos dispostos em geometria empacotada e por mesoporos dispostos em estrutura cúbica. Este processo foi possível devido ao uso integrado de diferentes direcionadores de estrutura para gerar diferentes tipos de porosidade. As análises de difração de raios-X a baixo ângulo mostraram que a mesoporosidade é bem definida e homogênea. As análises de AFM mostraram indícios que indicam a conectividade entre os sistemas de meso- e macroporos, mas resultados de análises de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução apontam para uma interconectividade limitada. A hierarquia apresentada pelos materiais sintetizados é mais claramente observada quando se avalia as informações obtidas das técnicas microscópicas de TEM, SEM e AFM em conjunto. Foram sintetizadas ainda zeólitas em um arranjo que proporcionou a geração de macroporos em boa parte da extensão do material.

O material hierárquico PS3-F2c mostrou-se eficiente como suporte para imobilização enzimática, mas a estrutura complexa deste acarretou na retenção excessiva dos produtos formados e, conseqüentemente, na limitação da atividade enzimática conforme a reação catalítica se processava.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 FEYNMAN, R. P. **The pleasure of finding things out**. Londres: Penguin Books Ltd, 1999.
- 2 CIENTISTAS redesenham átomos e moléculas. O povo online, Fortaleza, 6 mai. de 2006. Disponível em:
<http://www.opovo.com.br/opovo/cienciaesaude/591395.html>. Acesso em 04 mai. 2009.
- 3 MARLOW, F.; KHALIL, A. S. C.; STEMPNIEWICZ, M. Circular mesostructures: solids with novel symmetry properties. **J. Mater. Chem.**, v. 17, n. 21, p. 2168-2182. 2007.
- 4 SEN, T. et al. Synthesis and characterization of hierarchically ordered porous silica materials. **Chem. Mater.**, v. 16, n. 11, p. 2044-2054. 2004.
- 5 BECK, J. S. et al. A new family of mesoporous molecular sieves prepared with liquid crystal templates. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 114, n. 27, p. 10834-10843. 1992.
- 6 BLIN, J. L.; LEONARD, A.; SU, B. L. Synthesis of large pore disordered MSU-type mesoporous silicas through the assembly of C-16(EO)(10) surfactant and TMOS silica source: Effect of the hydrothermal treatment and thermal stability of materials. **J. Phys. Chem. B**, v. 105, n. 26, p. 6070-6079. 2001.
- 7 YANAGISAWA, T. et al. The Preparation of Alkyltrimethylammonium-Kanemite Complexes and Their Conversion to Microporous Materials. **B. Chem. Soc. Jpn.**, v. 63, n. 4, p. 988-992. 1990.
- 8 HUO, Q.; MARGOLESE, D. I.; STUCKY, G. D. Surfactant control of phases in the synthesis of mesoporous silica-based materials. **Chem. Mater.**, v. 8, n. 5, p. 1147-1160. 1996.
- 9 SEN, T. et al. Hierarchically ordered porous silica composites ordering on three different lengths with three dimensional pore inter-connectivity. **Stud. Surf. Sci. Catal.**, v. 154, p. 408-415. 2004.
- 10 SEN, T. et al. A macroporous–mesoporous–microporous silica material with ordered mesoporosity influenced by alcohol cosurfactant. UK Pat. 0201951.1, 2002.
- 11 VELEV, O. D. et al. Porous silica via colloidal crystallization. **Nature**, v. 389, n. 6650, p. 447-448. 1997.
- 12 HOLLAND, B. T.; BLANFORD, C. F.; STEIN, A. Synthesis of macroporous minerals with highly ordered three-dimensional arrays of spheroidal voids. **Science**, v. 281, n. 5376, p. 538-540. 1998.
- 13 IMHOF, A.; PINE, D. J. Ordered macroporous materials by emulsion templating. **Nature**, v. 389, n. 6654, p. 948-951. 1997.

- 14 MUKAI, S. R.; NISHIHARA, H.; TAMON, H. Porous microfibers and microhoneycombs synthesized by ice templating. **Catal. Surv. Asia**, v. n. 10, 3-4, p. 161-171. 2006.
- 15 SEPULVEDA, P.; BINNER, J. G. P. Processing of cellular ceramics by foaming and in situ polymerisation of organic monomers. **J. Eur. Ceram. Soc.**, v. 19, n. 12, p. 2059-2066. 1999.
- 16 SEN, T. et al. Meso-cellular silica foams, macro-cellular silica foams and mesoporous solids: a study of emulsion-mediated synthesis. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 78, n. 1-3, p. 255-263. 2005.
- 17 ZHAO, S. L.; DONG, W.; LIU, Q. H. A new model of templated porous materials. **J. Mol. Liq.**, v. 136, n. 3, p. 241-248. 2007.
- 18 CAI, X. et al. Diatom-templated synthesis of ordered meso/macroporous hierarchical materials. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 18, p. 3641-3645. 2006.
- 19 HOLLAND, B. T.; ABRAMS, L.; STEIN, A. Dual Templating of macroporous silicates with zeolitic microporous frameworks. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 121, n. 17, p. 4308-4309. 1999.
- 20 DANUMAH, C. et al. Synthesis of macrostructured MCM-48 molecular sieves. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 44, edição especial, p. 241-247. 2001.
- 21 YANG, P. D. et al. Hierarchically ordered oxides. **Science**, v. 282, 5397, p. 2244-2246. 1998.
- 22 COLOMBO, P. Engineering porosity in polymer-derived ceramics. **J. Eur. Ceram. Soc.**, v. 28, n. 7, p. 1389-1395. 2008.
- 23 TIEMANN, M. Repeated templating. **Chem. Mater.**, v. 20, n. 3, p. 961-971. 2008.
- 24 RIGBY, S. P.; FAIRHEAD, M.; VAN DER WALLE, C. F. Engineering silica particles as oral drug delivery vehicles. **Curr. Pharm. Design**, v. 14, n. 18, p. 1821-1831. 2008.
- 25 ZHAO, Y. X.; DING, M. Y.; CHEN, D. P. Application of ordered mesoporous silicas and its hybrid materials in stationary phase of liquid chromatography. **Chinese J. Anal. Chem.**, v. 34, n. 2, p. 270-275. 2006.
- 26 LI, F. et al. Controlling the shape and alignment of mesopores by confinement in colloidal crystals: designer pathways to silica monoliths with hierarchical porosity. **Langmuir**, v. 23, n. 7 p. 3996-4006. 2007.
- 27 EL HASKOURI, J. et al. Nanoparticulated silicas with bimodal porosity: chemical control of the pore sizes. **Inorganic Chemistry**, v. 47, n. 18, p. 8267-8277. 2008.

- 28 EL-SAFETY, S. A.; EVANS, J. Formation of highly ordered mesoporous silica materials adopting lyotropic liquid crystal mesophases. **J. Mater. Chem.**, v. 12, n.1 p. 117-123. 2002.
- 29 KLEITZ, F. et al. Large cage face-centered-cubic *Fm3m* mesoporous silica: synthesis and structure. **J. Phys. Chem. B**, v. 107, n. 51, p. 12296-14300. 2003.
- 30 TAN, Q. F. et al. Synthesis, characterization, and catalytic properties of hydrothermally stable macro-meso-micro-porous composite materials synthesized via in situ assembly of preformed zeolite Y nanoclusters on kaolin. **J. Catal.**, v. 251, p. 69-79. 2007.
- 31 BALL, P. **Designing the molecular world**. Princeton: Princeton University Press, 1994.
- 32 STEIN, A.; SCHRODEN, A. C. Colloidal crystal templating of three-dimensionally ordered macroporous solids: materials for photonics and beyond. **Curr. Opin. Solid. St. M.**, v. 5, n. 6, p. 553-564. 2001.
- 33 BONCHEVA, M.; WHITESIDES, G. M. Making things by self-assembly. **MRS Bull.**, v. 30, n. 10, p. 736-742. 2005.
- 34 FORSTER, S. et al. Lyotropic phase morphologies of amphiphilic block copolymers. **Macromolecules**, v. 34, n. 13, p. 4610-4623. 2001.
- 35 ANTONIETTI, M.; GOLTNER, C. Superstructures of functional colloids. Chemistry on the nanometer scale. **Angew. Chem. Int. Ed.**, v. 36, n. 9, p. 944-964. 1997.
- 36 FORSTER, S. Amphiphilic block copolymers for templating applications. **Top. Curr. Chem.**, v. 226, p. 1-28. 2003.
- 37 TIRRELL, M. V.; KATZ, A. Self-Assembly in materials synthesis. **MRS Bull.**, v. 30, n. 10, p. 700-704. 2005.
- 38 LE HUA, Z. et al. Hierarchically macro/mesoporous silica monoliths constructed with interconnecting micrometer-sized unit rods. **J. Sol-Gel. Sci. Techn.**, v. 50, n. 1, p. 22-27. 2009.
- 39 LIU, Y. et al. Hierarchical agglomerates of carbon nanotubes as high-pressure cushions. **Nano Letters**, v. 8, n. 5, p. 1323-1327. 2008.
- 40 ALEXANDRIDIS, P.; OLSSON, U.; LINDMAN, B. Structural polymorphism of amphiphilic copolymers: six lyotropic liquid crystalline and two solution phases in a poly(oxybutylene)-b-poly(oxyethylene)-water-xylene system. **Langmuir**, v. 13, n. 1, p. 23-24. 1997.
- 41 KWON, K.-W. et al. Effects of alcohol addition on gelation in aqueous solution of poly(ethylene oxide)-poly(propylene oxide)-poly(ethylene oxide) triblock copolymer. **Polym. J.**, v. 33, n. 5, p. 404-410. 2001.

- 42 WANKA, G.; HOFFMANN, H.; ULBRICHT, W. Phase diagrams and aggregation behavior of poly (oxyethylene)-poly (oxypropylene) -poly(oxyethylene) triblock copolymers in aqueous solutions. **Macromolecules**, v. 27, n. 15, p. 4145-4159. 1994.
- 43 HOLMQVIST, P.; ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. Phase behavior and structure of ternary amphiphilic block copolymer-alkanol-water systems: Comparison of poly(ethylene oxide) poly(propylene oxide) to poly(ethylene oxide) poly(tetrahydrofuran) copolymers. **Langmuir**, v. 13, n. 9, p. 2471-2479. 1997.
- 44 GRUDZIEN, R. M.; GRABICKA, B. E.; JARONIEC, M. Effective method for removal of polymeric template from SBA-16 silica combining extraction and temperature-controlled calcination. **J. Mater. Chem.**, v. 16, n. 9, p. 819-823. 2006.
- 45 FENG, P.; BU, X.; J. PINE, D. J. Control of pore sizes in mesoporous silica templated by liquid crystals in block copolymer-cosurfactant-water systems. **Langmuir**, v. 16, n. 12, p. 5304-5310. 2000.
- 46 LI, D. et al. Highly efficient synthesis of ordered mesoporous silica materials with controllable microporosity using surfactant mixtures as templates. **Colloids Surface A**, v. 272, n. 3, p. 194-202. 2006.
- 47 ALBERIUS, P. C. A. et al. General predictive syntheses of cubic, hexagonal, and lamellar silica and titania mesostructured thin films. **Chem. Mater.**, v. 14, n. 8, p. 3284-3294. 2002.
- 48 HOLMQVIST, P.; ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. Modification of the microstructure in poloxamer block copolymer-water-"oil" systems by varying the "oil" type. **Macromolecules**, v. 30, n. 22, p. 6788-6797. 1997.
- 49 D'AMATO, R. et al. Growth control and long-range self-assembly of poly(methyl methacrylate) nanospheres. **J. App. Polymer Sci.**, v. 102, n. 5, p. 4493-4499. 2006.
- 50 FRITZ, H.; MAIER, M.; BAYER, E. Cationic polystyrene nanoparticles: preparation and characterization of a model drug carrier system for antisense oligonucleotides. **J. Colloid Interface Sci.**, v. 195, n. 2, p. 272-288. 1997.
- 51 GOODWIN, J. W. et al. Studies on the preparation and characterization of monodisperse polystyrene latices. **Colloid Polym. Sci.**, v. 252, n. 6, p. 464-471. 1974.
- 52 MOUAZIZ, H. et al. Synthesis of porous microspheres via self-assembly of monodisperse polymer nanospheres. **J. Mater. Chem.**, v. 14, n. 15, p. 2421-2424. 2004.
- 53 XIA, Y. N. et al. Monodispersed colloidal spheres - old materials with new applications. **Adv. Mater.**, v. 12, n. 10, p. 693-713. 2000.
- 54 HOA, M. L. K.; LU, M.; ZHANG, Y. Preparation of porous materials with ordered hole structure. **Adv. Colloid Interface Sci.**, v. 121, n. 1-3, p. 9-23. 2006.

- 55 ZHAO, X. S. et al. Immobilizing catalysts on porous materials. **Materials Today**, v. 9, n. 3, p. 32-39. 2006.
- 56 GIRI, A. et al. Biotransformation using plant cells, organ cultures and enzyme systems: current trends and future prospects. **Biotechnol. Adv.**, v. 19, p. 175-199. 2001.
- 57 NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger principios de bioquímica**. 3 Ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- 58 BALL, P.; ZIEMELIS, K.; ALLEN, L. Biocatalysis: synthesis methods that exploit enzymatic activities. **Nature**, v. 409, p. 225. 2001.
- 59 KIM, J.; GRATE, J. W.; WANG, P. Nanostructures for enzyme stabilization. **Chem. Eng. Sci.**, v. 61, n. 3, p. 1017-1026. 2006.
- 60 DAVID, A. E. et al. Chemically surface modified gel (CSMG): An excellent enzyme-immobilization matrix for industrial processes. **J. Biotechnol.**, v. 125, p. 395-407. 2006.
- 61 ABURTO, J. et al. Stability and catalytic properties of chloroperoxidase immobilized on SAB-16 mesoporous materials. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 83, p. 193-200. 2005.
- 62 HUDSON, S. et al. Methodology for the immobilization of enzymes onto mesoporous materials. **J. Phys. Chem. B**, v. 109, p. 19496-19506. 2005.
- 63 SZYMANSKA, K.; BRYJAK, J.; JARZEBSKI, A. B. Immobilization of invertase on mesoporous silicas to obtain hyper active biocatalysts. **Top. Catal.**, v. 52, p. 1030-1036. 2009.
- 64 DÍAZ, J. F.; BALKUS JR., K. J. Enzyme immobilization in MCM-41 molecular sieve. **J. Mol. Catal. B: Enzym.**, v. 2, p. 115-126. 1996.
- 65 KANG, Y. et al. Influence of pore diameters on the immobilization of lipase in SBA-15. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 46, p. 4474-4479. 2007.
- 66 KIM, K. J.; PARK, J. K.; KIM, H. K. Synthesis and characterization of nanoporous silica support for enzyme immobilization. **Colloid Surface A**, v. 241, p. 113-117. 2004.
- 67 REIS, P.; WITULA, T.; HOLMBERG, K. Mesoporous materials as host for an entrapped enzyme. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 110, p. 355-362. 2008.
- 68 WANG, P. Nanoscale biocatalyst systems. **Curr. Opin. Biotech.**, v. 17, p. 574-579. 2006.
- 69 TORTAJADA, M. et al. Hierarchical bimodal porous silicas and organosilicas for enzyme immobilization. **J. Mater. Chem.**, v. 15, n. 35-36, p. 3859-3868. 2005.

70 HARTMANN, S.; BRANDHUBER, D.; HUSING, N. Glycol-modified silanes: novel possibilities for the synthesis of hierarchically organized (hybrid) porous materials. **Acc. Chem. Res.**, v. 40, p. 885-894. 2007.

71 STEIN, A.; LI, F.; DENNY, N. R. Morphological control of colloidal crystal templating of inverse opals, hierarchical structures and shaped particles. **Chem. Mater.**, v. 20, p. 649-666. 2008.

72 LOIOLA, A. R.; DA SILVA, L. R. D.; ANDERSON, M. W. Synthesis and characterization of hierarchical porous materials incorporating a cubic mesoporous phase. **J. Mater. Chem.**, v. 18, p. 4985-4993. 2008.

73 BERBICZ, F.; CLEMENTE, E. Avaliação da termoestabilidade e da regeneração da atividade da peroxidase extraída de laranja (*Citrus spp.*). **Acta Scientiarum Maringá**, v. 23, n. 5, p. 1239-1242. 2001.

74 KUNISHIMA, N. et al. Crystal structure of the fungal peroxidase from *Arthromyces ramosus* at 1.9 Å resolution. Structural comparisons with the lignin and cytochrome c peroxidases. **J. Mol. Bio.**, v. 235, n. 1, p. 331-334. 1994.

75 BHATTACHARYYA, D. K.; BANDYOPADHYAY, U.; BANERJEE, R. Chemical and kinetic evidence for an essential histidine residue in the electron transfer from aromatic donor to horseradish peroxidase compound I. **J. Biol. Chem.**, v. 268, n. 30, p. 22292-22298. 1993.

76 MCCARTHY, M. B.; WHITE, R. E. Functional differences between peroxidase compound I and the cytochrome P-450 reactive oxygen intermediate. **J. Biol. Chem.**, v. 258, n. 15, p. 9153-9158. 1983.

77 DA SILVA, L. R. D. **Óxido de titânio (IV) hidratado disperso na superfície da α -celulose: preparação, caracterização e aplicações.** Tese de doutorado. Unicamp, Campinas, 1996.

78 MAHANTI, M. K. Kinetics of oxidation of pyrogallol catalyzed by peroxidase. **Afinidad**, v. 48, p. 59-60. 1991.

79 YANG, S. et al. Horseradish peroxidase biosensor based on layer-by-layer technique for the determination of phenolic compounds. **Sens. Actuators, B**, v. 114, p. 774-780. 2006.

80 HOLLAND, B. T. et al. Synthesis of highly ordered, three-dimensional, macroporous structures of amorphous or crystalline inorganic oxides, phosphates, and hybrid composites. **Chem. Mater.**, v. 11, n. 3, p. 795-805. 1999.

81 SHOULDICE, G. T. D.; VANDEZANDE, G. A.; RUDIN, A. Practical aspects of the emulsifier-free emulsion polymerization of styrene. **Eur. Polym. J.**, v. 30, n. 2, p. 179-183. 1994.

82 IVANOVA, R.; ALEXANDRIDIS, P.; LINDMAN, B. Interaction of poloxamer block copolymers with cosolvents and surfactants. **Colloids Surface A**, v. 183, edição especial, p. 41-53. 2001.

83 HERNADEZ--RAMIREZ, O. et al. Removal and immobilisation of cobalt ions by a novel, hierarchically structured, diatomite/zeolite Y composite. **J. Mater. Chem.**, v. 17, p. 1804-1808. 2007.

84 BRUNAUER, S.; EMMETT, P. H.; TELLER, E. Adsorptions of gases in multimolecular layers. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 60, n. 2, p. 309-319. 1938.

85 PÉREZ-QUITANILLA, D. et al. Preparation of 2-mercaptobenzothiazole-derivatized mesoporous silica and removal of Hg(II) from aqueous solution. **J. Environ. Monitor.**, v. 8, p. 214-222. 2006.

86 CHANCE, B.; MAEHLI, A. C. Assay of catalases and peroxidases. **Method. Enzymol.**, v. 2, p. 764-775 1955.

87 AIRES-BARROS, M. R. et al. **Engenharia enzimática**. Lisboa: Lidel - Edições técnicas, lda, 2003.

88 BLIN, J. L. et al. Non-ionic surfactant (C13EO_m, m = 6, 12 and 18) for large pore mesoporous molecular sieves preparation. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 44, edição especial, p. 41-51. 2001.

89 CHANG, J. H.; KIM, K. J. The core-shell approach to formation of ordered nanoporous silicas by MPEG-b-PLA block copolymers. **J. Sol-Gel. Sci. Techn.**, v. 33, n. 1, p. 15-18. 2005.

90 BRINKER, C. J. Hydrolysis and condensation of silicates: effects on structure. **J. Non-Cryst. Solids**, v. 100, n. 1-3, p. 31-50. 1988.

91 SAKAMOTO, Y. et al. Three-dimensional cubic mesoporous structures os SBA-12 and related materials by electron crystallography. **J. Phys. Chem. B**, v. 106, n. 12, p. 3118-3123. 2002.

92 CHEN, D. et al. Anionic surfactant induced mesophase transformation to synthesize highly ordered large-pore mesoporous silica structures. **J. Mater. Chem.**, v. 16, n. 16, p. 1511-1519. 2006.

93 HAMMOND, C. **The basic of crystallography and diffraction**. 2 ed. Oxford: Oxford science publications, 2006.

94 SRINIVASU, P. et al. Novel three dimensional cubic Fm3m mesoporous aluminosilicates with tailored cage type pore structure and high aluminum content. **Adv. Funct. Mater.**, v. 18, n. 4, p. 630-651. 2008.

95 KLEITZ, F. et al. Transformation of highly ordered large pore silica mesophases (Fm3m, Im3m and p6mm) in a ternary triblock copolymer-butanol-water system. **Chem. Commun.**, v. 9, n. 13, p. 1536-1537. 2004.

- 96 LANDMESSER, H. et al. Interior surface hydroxyl groups in ordered mesoporous silicates. **Solid State Ionics**, v. 101-103, parte 1, p. 271-277. 1997.
- 97 SELVARAJ, M. et al. Comparison of mesoporous solid acid catalysts in the production of DABCO by cyclization of ethanolamine I. Synthesis and characterization of mesoporous solid acid catalysts. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 74, n. 1-3, p. 143-155. 2004.
- 98 WU, C.-W. et al. Structural study of highly ordered mesoporous silica thin films and replicated Pt nanowires by high-resolution scanning electron microscopy (HRSEM). **J. Mater. Chem.**, v. 16, n. 30, p. 3091-3098. 2006.
- 99 CIOLA, R. **Fundamentos da Catálise**. São Paulo: Editora Moderna, 1981. 377.
- 100 LOIOLA, A. R. **Diagênese acelerada de caulim à zeólita NaA para uso no abrandamento de águas**. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
- 101 DREWS, T. O.; TSAPATSI, M. Progress in manipulating zeolite morphology and related applications. **Curr. Opin. Colloid. In.**, v. 10, n. 5-6, p. 233-238. 2005.
- 102 SERRANO, D. P. et al. Molecular and meso- and macroscopic properties of hierarchical nanocrystalline ZSM-5 zeolite prepared by seed silanization. **Chem. Mater.**, v. 21, n. 4, p. 641-654. 2009.
- 103 ANDERSON, M. W. et al. Zeolitisation of diatoms. **J. Nanosci. Nanotechnol.**, v. 5, n. 1, p. 92-95. 2005.
- 104 PÉREZ-QUITANILLA, D. et al. Adsorption of mercury ions by mercapto-functionalized amorphous silica. **Anal. Bioanal. Chem.**, v. 384, p. 827-838. 2006.
- 105 CAMÕES, M. F. G. F. C. Análise de injeção em fluxo (FIA). **Química**, v. 51, p. 26-30. 1993.
- 106 LEI, J. et al. Immobilization of enzymes in mesoporous materials: controlling the entrance to nanospace. **Micropor. Mesopor. Mater.**, v. 73, p. 121-128. 2004.
- 107 BESANGER, T. R. et al. Screening of inhibitors using enzymes entrapped in sol-gel-derived materials. **Anal. Chem.**, v. 75, p. 2382-2391. 2003.
- 108 STUMPF, C. **Introdução à bioquímica**. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1980.
- 109 NAKA, K.; OHKI, A.; MAEDA, S. Amphiphilic block copolymer-horseradish peroxidase aggregate as a new polymer-enzyme hybrid in organic-solvents. **Chem. Lett.**, v. 8, p. 1303-1306. 1991.

ÍNDICE

- 1,2-benzoquinona, 54, 55, 105, 106
2-mercaptobenzotiazol, 14, 52, 103
3-cloropropiltriétoxisilano, 52
Adsorção-desorção de N₂, 85
AFM, 51, 94, 95, 96, 97, 114
Análise térmica, 66
área superficial, 7, 20, 22, 85, 88, 90
argila, 23
BET, 7, 50, 85
calcinação, 29, 45, 47, 57, 59, 66, 70, 72, 76, 77, 78, 87, 93
catecol, 35, 54, 56, 105, 106, 107, 108, 112
Copolímeros em blocos, 25
difração de raios-X, 7, 64, 85, 92, 98
endo-template, 23
etanol, 7, 46, 70
exo-template, 23
F127, 7, 25, 43, 44, 46, 66, 67, 69, 76
glutaraldeído, 52
histerese, 85, 86
HRSEM, 49, 73, 75, 76, 77
Microscopia de força atômica, 51
Microscopia de Força Atômica, 94
Microscopia Eletrônica de Transmissão, 91
Microscopia Eletrônica de Varredura, 71
Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução, 75
pirogalol, 37, 38, 39
poliestireno, 7, 19, 20, 27, 29, 41, 42, 43, 45, 47, 48, 57, 59, 65, 66, 67, 70, 72, 76,
77, 78, 92, 93
Porosimetria de mercúrio, 90
propriedades texturais, 87, 90
purpurogalina, 37, 39
SEM, 49, 58, 71, 75, 91, 94, 101, 102, 114
TEM, 51, 91, 92, 93, 94, 114
t-plot, 88
zeólitas, 40, 47, 48

L826m Loiola, Adonay Rodrigues
Materiais hierarquicamente estruturados com fase cúbica mesoporosa:
síntese, caracterização e uso como suporte na imobilização da enzima HRP
/ Adonay Rodrigues Loiola, 2009.
123 f; il. color. enc.

Orientador: Prof. Dr. Lindomar Roberto Damasceno da Silva
Co-orientador: Prof. Dr. Michael William Anderson
Área de concentração: Química Inorgânica
Tese (doutorado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências.
Depto. de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2009.

1. Materiais porosos 2. Mesoporosidade 3. Imobilização enzimática
4. Macroporosidade 5. Peroxidase I. Silva, Lindomar Roberto Damasceno
da (orient.) II. Anderson, Michael William III. Universidade Federal do
Ceará – Pós-Graduação em Química Orgânica e Inorgânica III. Título

CDD 546