

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química Inorgânica

*Óxido de Titânio(IV) Hidratado Disperso na Superfície da  
 $\alpha$ -Celulose: Preparação, Caracterização e Aplicações"*

Lindomar Roberto Damasceno da Silva

*TESE DE DOUTORADO*

Orientador: Prof. Dr. Yoshitaka Gushikem

Campinas, SP - 1996.

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA  
UNICAMP**

Si380      Silva, Lindomar Roberto Damasceno da  
Óxido de titânio(IV) hidratado disperso na superfície da  
 $\alpha$ -celulose: preparação, caracterização e aplicações. / Lindo-  
mar Roberto Damasceno da Silva. -- Campinas, [SP : s.n.],  
1996.

Orientador: Yoshitaka Gushikem.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas.  
Instituto de Química.

1. Adsorção de crômio(VI). 2. Imobilização de enzima.  
3. Celulose.

|             |                                     |
|-------------|-------------------------------------|
| UNIDADE     | BC                                  |
| Nº CHAMADA: | UNICAMP                             |
|             | Si380                               |
| V           |                                     |
| I - 000000  | 27.699                              |
| PROG.       | 667196                              |
| C           | <input type="checkbox"/>            |
| D           | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO       | R\$ 11,00                           |
| DATA        | 21/05/96                            |
| Nº CPD      | 011.00088583-3                      |

*"Que a tua sabedoria não seja uma humilhação para o teu próximo -  
Guarda domínio sobre ti mesmo e nunca te abandones à tua cólera - se  
aspiras a paz definitiva sorri ao destino que te fere, não firas a ninguém"*

*Omar Khayyam*

*"À minha querida Li, pela  
importante e indispensável presença  
que desde o primeiro momento se tornou eterna".*

*"Ao meu querido irmão Damasceno,  
que só pela sua existência já torna  
este meu esforço e conquista valiosíssimos".*

*"À minha adorável irmã Roseane (Bluc)  
que com a sua bravura em superar as  
dificuldades, nos inspirou".*

*"Aos meus pais José Maria e Zuleide  
pelo que representam em minha vida".*

## AGRADECIMENTOS

*Ao Prof. Yoshitaka Gushikem pela orientação, amizade, e por permitir a livre condução dos trabalhos. E pela constante preocupação em publicar os resultados.*

*Às professoras Sandra do Instituto de Física, Maria do Carmos (Carminha) do Instituto de Química, e ao professor Lauro Kubota pelas valiosíssimas discussões e frutífera cooperação.*

*À Cassia e Renata pela enorme paciência e profissionalismo com que realizaram as análises térmicas.*

*À Helena (Heleníssima) pelos muitos difratogramas e pela cordialidade com a qual sempre nos recebeu.*

*À Neusa (Neusíssima) pela grande amizade e torcida para que tivéssemos êxito em nosso trabalho. E pela colaboração sempre presente durante todo o tempo em que estivemos desenvolvendo esta tese.*

*Aos técnicos em desenho do Instituto de Química da UNICAMP, Eliane e Iveraldo, pela grande colaboração prestada, e pelo esmero e profissionalismo com que fizeram todos os desenhos para publicação.*

*A todos os técnicos do Instituto de Química, que de uma forma ou de outra, prestaram relevantes auxílios, indispensáveis à realização de nosso trabalho.*

*A todos os colegas de pós-graduação e de iniciação científica pela produtiva convivência e amizade.*

# ÍNDICE

|                                                                                                                                                  |               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| ABSTRACT                                                                                                                                         | iv            |
| RESUMO                                                                                                                                           | v             |
|                                                                                                                                                  | <i>Página</i> |
| I. INTRODUÇÃO                                                                                                                                    | 01            |
| I.1. Características estruturais da celulose                                                                                                     | 01            |
| I.2. Reatividade da celulose                                                                                                                     | 03            |
| I.2.1. Reações de adição                                                                                                                         | 03            |
| I.2.2. Reações de substituição                                                                                                                   | 04            |
| I.2.3. Reações de degradação                                                                                                                     | 05            |
| I.3. Características estruturais e reatividade do óxido de titânio(IV) hidratado                                                                 | 05            |
| I.4. Propriedades químicas e reatividade do cromo nos estados de oxidação III e VI e seus efeitos sobre o meio ambiente e os sistemas biológicos | 07            |
| I.5. Peroxidases                                                                                                                                 | 09            |
| I.5.1. Estrutura e mecanismo de ação da peroxidase de raiz forte                                                                                 | 09            |
| I.5.2. Atividade enzimática da HRP na conversão de pirogalol                                                                                     | 11            |
| I.6. Imobilização de enzimas                                                                                                                     | 13            |
| II. OBJETIVOS                                                                                                                                    | 16            |
| III. EXPERIMENTAL                                                                                                                                | 17            |
| III.1. METODOLOGIA                                                                                                                               | 17            |
| III.1.1. Análise de área superficial pelo método de B.E.T.                                                                                       | 17            |
| III.1.2. Análise térmica na caracterização da celulose e suas formas modificadas                                                                 | 17            |
| III.1.3. Difração de raios X aplicada ao estudo da celulose                                                                                      | 18            |

|                                                                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| III.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e a caracterização morfológica de superfícies poliméricas                                  | 19 |
| III.1.5. Espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS) e a caracterização de polímeros                                                       | 21 |
| III.1.6. Princípios e aplicações da Análise de Injeção em Fluxo (FIA)                                                                         | 22 |
| III.2. PROCEDIMENTOS                                                                                                                          | 24 |
| III.2.1. Soluções                                                                                                                             | 24 |
| III.2.2. Obtenção do compósito celulose-óxido de titânio(IV) hidratado                                                                        | 25 |
| III.2.3. Caracterização dos compósitos de celulose-óxido de titânio(IV) hidratado                                                             | 26 |
| III.2.4. Adsorção de Cr(VI)                                                                                                                   | 28 |
| III.2.5. Pré-concentração de Cr(VI)                                                                                                           | 29 |
| III.2.6. Cinética de adsorção de Cr(VI)                                                                                                       | 29 |
| III.2.7. Determinação de Cr(VI) em função do pH                                                                                               | 30 |
| III.2.8. Adsorção de Cr(VI) em função da concentração de equilíbrio do sobrenadante                                                           | 30 |
| III.2.9. Pré-concentração e determinação espectrofotométrica de Cr(VI) em linha com um sistema de análise de injeção em fluxo (FIA)           | 31 |
| III.2.10. Determinação de Cr(VI) em águas naturais por método convencional e por injeção em fluxo                                             | 33 |
| III.2.11. Imobilização de HRP e determinação da retenção de atividade                                                                         | 33 |
| III.2.12. Determinação espectrofotométrica da atividade biocatalítica em solução                                                              | 34 |
| III.2.13. Determinação espectrofotométrica em linha com um sistema de injeção em fluxo da atividade biocatalítica da HRP/CEL/TiO <sub>2</sub> | 35 |

|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV. CARACTERIZAÇÃO DO COMPÓSITO CELULOSE/ÓXIDO DE TITÂNIO(IV) HIDRATADO                                         | 37 |
| IV.1. Resultados e Discussão                                                                                    | 37 |
| IV.1.1. Obtenção do compósito                                                                                   | 37 |
| IV.1.2. Caracterização do óxido de titânio disperso na superfície do compósito                                  | 38 |
| V. PRÉ-CONCENTRAÇÃO E ANÁLISE DE Cr(VI)                                                                         | 54 |
| V.1. Resultados e discussão                                                                                     | 54 |
| V.1.1. Isoterma de adsorção de Cr(VI) pelo compósito em pH 1                                                    | 54 |
| V.1.2. Influência do pH                                                                                         | 57 |
| V.1.3. Isotermas de adsorção de Cr(VI) em função da concentração de equilíbrio no sobrenadante                  | 59 |
| V.1.4. Determinação de Cr(VI) em análise de injeção em fluxo                                                    | 60 |
| V.1.5. Seletividade do compósito na adsorção de Cr(VI)                                                          | 63 |
| V.1.6. Determinação de Cr(VI) em águas naturais                                                                 | 65 |
| VI. IMOBILIZAÇÃO DE PEROXIDASE DE RAIZ FORTE NA SUPERFÍCIE DO COMPÓSITO CELULOSE/ÓXIDO DE TITÂNIO(IV) HIDRATADO | 67 |
| VI.1. Resultados e discussão                                                                                    | 67 |
| VI.1.1. Características da enzima imobilizada                                                                   | 67 |
| VI.1.2. Cinética enzimática para a conversão do pirogalol pela HRP/CEL/TiO <sub>2</sub>                         | 75 |
| VII. CONCLUSÕES                                                                                                 | 80 |
| VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS                                                                                | 81 |

**TÍTULO: "Óxido de Titânio(IV) Hidratado Disperso na Superfície da  $\alpha$ -Celulose: Preparação, Caracterização e Aplicações".**

**RESUMO**

*A interação do cloreto de titânio com a superfície da celulose e as decorrentes modificações na sua morfologia, foram estudadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS). As análises químicas das superfícies foram realizadas através de espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS), e as mudanças na cristalinidade, devido ao tratamento químico, foram determinadas por difração de raios-X. A interação do titânio com a superfície da celulose ocorreu somente na superfície e a redução de sua cristalinidade está relacionada com o aumento na quantidade de óxido do titânio incorporado na matriz sólida.*

*Soluções aquosas de Cr(VI) com concentrações variando entre 10 e 50 ppb foram analisadas usando uma coluna empacotada com o composto obtido, em linha com um sistema de injeção em fluxo (FIA). A presença de outros íons, tais como, Cr(III), Cu(II), Mn(II), Hg(II) e Fe(III), e os ânions  $VO_3^{3-}$ ,  $MoO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  e  $SO_4^{2-}$ , não causaram interferência significativa nas análises.*

*A enzima peroxidase de raiz forte (HRP) imobilizada na superfície do composto foi usada para estudar a oxidação catalítica do pirogalol a purpurogalina em um sistema de injeção em fluxo. As constantes de Michaelis-Menten para a enzima imobilizada são,  $K_m=47$  mM e  $V_{m\acute{a}x}=22$   $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ . Para a enzima livre os valores obtidos foram,  $K_m=11$  mM and  $V_{m\acute{a}x}=53$   $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ . A atividade da enzima imobilizada sofre redução presumivelmente, em razão da interação com a superfície do composto. Entretanto, a retenção da atividade da fase imobilizada no sofreu diminuição com o tempo.*

**TITLE: "Hydrous Titanium(IV) Oxide Coated on  $\alpha$ -Cellulose Fibers: Preparation, Characterization and Applications".**

**ABSTRACT**

*The interaction of titanium chloride with  $\alpha$ -cellulose surface and the modifications introduced on the morphology were studied by means of scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive spectroscopy (EDS). The chemical analysis of the surface was carried out by X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and changes in the crystallinity upon chemical treatment was studied by X-ray diffraction (XRD) technique. Interaction of titanium with cellulose occurs only at the surface. The decrease of crystallinity was observed and was correlated with the amount of metal oxide incorporated into the solid matrix.*

*Aqueous Cr(VI) solution in a concentration range between 10 and 50 ppb was analysed using a column packed with the composite material in line with a flow injection analysis (FIA). The presence of other ions such as Cu(II), Mn(II), Hg(II) and Fe(III), and the anions  $VO_3^{3-}$ ,  $MoO_4^{2-}$ ,  $PO_4^{3-}$  and  $SO_4^{2-}$  did not interfere significantly in the separation process.*

*Horseradish peroxidase (HRP) immobilized on the matrix surface was used to study in a flow injection system the oxidation of pyrogallol to purpurogalline. The Michaelis-Menten constants for the enzymatic oxidation were determined:  $K_m=47$  mM and  $V_{max}=22 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ . For free enzyme,  $K_m=11$  mM and  $V_{max}=53 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$  were obtained. The activity of the immobilized enzyme is reduced presumably due to its interaction with the oxide surface. However, the level of activity of the immobilized phase did not decrease with time.*

## I. INTRODUÇÃO

### I.1. Características estruturais da celulose

A celulose é o principal componente da parede celular dos vegetais superiores e corresponde a cerca de 50% de toda a biomassa vegetal existente[1-3]. Trata-se de um polissacarídeo de cadeia linear formada pela união de monossacarídeos de  $\beta$ -D-glucose que se ligam através dos carbonos nas posições 1 e 4 do anel glicosídico. Sua molécula pertence a função química dos glicídeos[4-8].

As sucessivas reações entre as hidroxilas dos carbonos acima citados, são responsáveis pela origem da estrutura polimérica que pode chegar a possuir um GP(grau de polimerização) de 1000 a 15000 unidades de  $\beta$ -D-glucose. Como este monômero tem peso molecular de 162, o polímero terá um peso final variando entre 162.000 a 2.430.000. A macroestrutura da celulose é constituída por agrupamentos de fibras que se posicionam paralelamente, resultando em regiões cristalinas e amorfas[5], como mostra a Figura 1.

As propriedades físicas da celulose são determinadas pela possibilidade de rotação dos grupos hidroxilas e oximetil com relação à forma estável dos anéis glicosídicos nas cadeias macromoleculares. Isto está associado com as ligações intramoleculares e intermolecular[4,9-13] que são formadas pelos grupos hidroxilas do anel glicosídico. Estas ligações são fundamentais no processo de formação da parede celular dos vegetais.

Ivanova e colaboradores[14] investigaram o sistema de ligações de hidrogênio da região ordenada da celulose pela técnica de FT-IR e identificaram a existência de duas pontes de hidrogênio intramoleculares  $O_2-H...O_6^I$  e  $O_3^I-H...O_5$ ; e uma intermolecular  $O_6^I-H...O_3^{II}$ , como mostra a Figura 2. Os números arábicos indicam as posições dos oxigênios dentro do anel glicosídico, e os algarismos I e II, referem-se aos anéis glicosídicos.

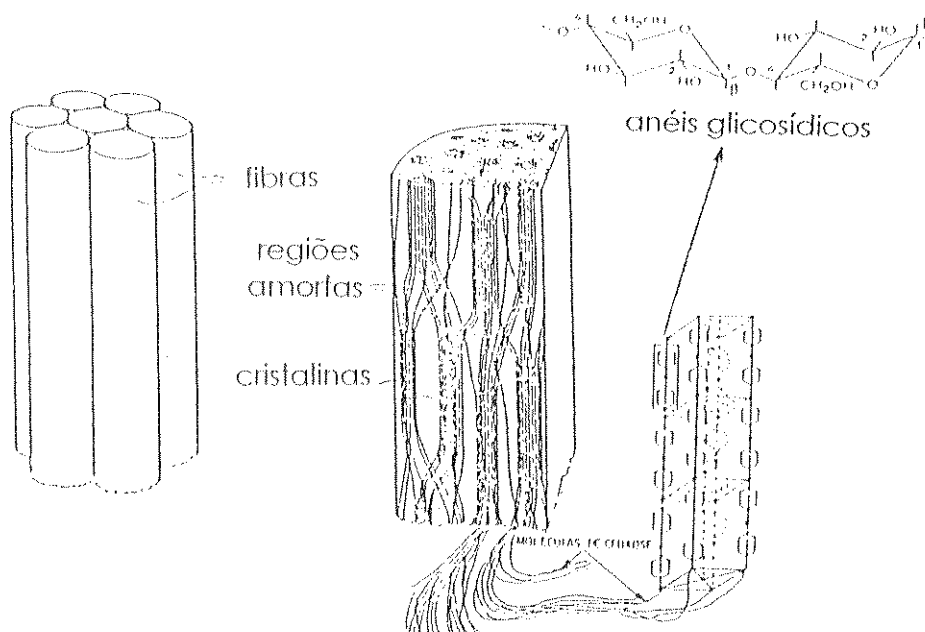


Figura 1 - Arranjo estrutural das fibras de celulose.

Uma outra característica de grande importância é o grau de cristalinidade (CG), que está relacionado com as características moleculares, tais como as ligações de hidrogênio [4,10-12].

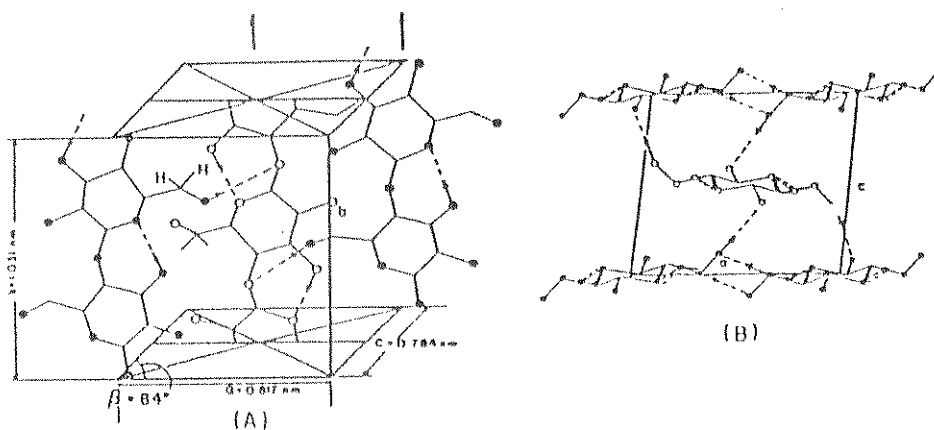


Figura 2 - (A) Estrutura cristalina da cela unitária da celulose. (B) Pontes de hidrogênio intramoleculares e intermolecular.

Conforme mostrado na Figura 2, existem três tipos de ligações responsáveis pela formação das estruturas finais da celulose. Dentre elas estão as ligações covalentes, cujo valor médio das energias das ligações C-C, C-O, C-OH e C-H, é de 225 KJ/mol. Estas ligações desempenham um papel fundamental, pois são as responsáveis pela formação dos anéis glicosídicos[2,5,8,13-16]. Outro tipo de ligação muito comum, como já mencionado, são as ligações de hidrogênio, cujo valor médio das energias das ligações pontes intramoleculares e intermoleculares são da ordem de 67,5 KJ/mol. E um terceiro tipo de ligação que participa da formação das fibras de celulose são as fracas forças de van der Waals, com estabilidade muito menor, cerca de 36 KJ/mol. Estas características atribuem à celulose reatividade, tanto do ponto de vista da sua composição química, quanto com relação a estrutura cristalina[2,5,8,14,15].

## **I.2. Reatividade da celulose**

As propriedades químicas da celulose são responsáveis pelas reações entre as hidroxilas e agentes de adição, substituição e oxidação, além da hidrólise de grupos acetais. Em decorrência do arranjo estrutural das microfibras da celulose, o acesso de reagentes ou de solventes ocorre de maneira distinta nas regiões cristalinas e amorfas, em virtude dos espaços entre as microfibras nas regiões amorfas serem maiores do que os espaços nas regiões cristalinas. Esta característica torna a celulose insolúvel em água[5,8,17-20].

### **I.2.1. Reações de adição**

As reações de adição ocorrem através de agentes entumecedores que penetram nas fibras de celulose causando o afastamento entre as mesmas. Isto

provoca a ruptura das pontes de hidrogênio intermoleculares, que são substituídas por outras entre o agente de adição e a celulose[5,8].

A presença desses entumecedores torna o polímero mais reativo, fazendo com que sejam possíveis quatro tipos de modificações: alcalina, ácida, amoniacal ou aminada e salina. A existência desses tipos de celuloses só será possível se esta for mantida em excesso de agente entumecedor, caso contrário, ela volta a se regenerar.

Um dos processos mais importantes que leva à obtenção da forma alcalina é a mercerização, que consiste no tratamento de fibras de algodão com soda cáustica em concentrações que variam de 12 a 18 % m/v. Este processo resulta em um intermediário extremamente importante na obtenção de muitos derivados, como por exemplo, carboximetilcelulose, nitrato de celulose, xantato de celulose, celofane e outros[5,7,8].

Através do tratamento da celulose com ácido nítrico 61% v/v, obtém-se a forma ácida, cujo composto mais conhecido é o  $C_6H_{10}O_5.HNO_3$ [8,13]. Já a forma amoniacal é um composto de adição formado pela amônia ou pelas alquil aminas. O tratamento com soluções concentradas de cloreto de zinco e tiocianato de lítio, dentre outros, causam entumecimento intracristalino, resultando na completa dissolução da celulose[21,22].

### **1.2.2. Reações de substituição**

As reações de substituição dependem da acessibilidade que um determinado reagente terá com relação às hidroxilas das macromoléculas de celulose. Portanto, este processo está intimamente relacionado com o entumecimento. Os processos de substituição não são uniformes, pois as três hidroxilas da unidade monomérica, D-glucose( $C_2$ ,  $C_3$  e  $C_6$ ), apresentam reatividades diferentes que resultam em dois possíveis processos, a esterificação e a eterificação[4,5,8].

### **1.2.3. Reações de degradação**

Entende-se por reações de degradação aquelas que implicam na cisão das ligações dos carbonos nas posições 1, 4 do anel glicosídico. E como resultado, ocorre a diminuição da cadeia, levando a uma modificação completa das propriedades físicas (viscosidade e resistência mecânica) do polímero[8,22].

São quatro os tipos de processos de degradação: a degradação hidrolítica, que consiste na cisão das cadeias moleculares com a eliminação de água; a degradação oxidativa que ocorre mais facilmente com os grupos hidroxilas e os aldeídos, e consiste na oxidação em diversas posições da cadeia molecular da celulose, e que portanto, as reações de oxidação serão, mais ou menos intensas, dependendo das condições nas quais forem realizadas. Alguns processos no entanto, são específicos, e ocorrem quando são utilizados reagentes como o hipiodito, o clorito e o periodato. Os dois primeiros abrem o anel de glucose, gerando grupos carboxílicos. Enquanto que com periodato resulta na formação de dialdeídos nas posições 2 e 3 do anel glicosídico.

Outro tipo de processo degradativo é o microbiológico, que consiste na ação de microorganismos sobre as fibras de celulose que através da *celulase* (degradação enzimática), não altera muito o grau de polimerização, em virtude do seu grande tamanho[8]. E por último, existem as degradações que não envolvem reações química ou enzimáticas, são portanto de natureza física[8,23].

### **1.3. Características estruturais e reatividade do óxido de titânio(IV) hidratado**

O elemento titânio apresenta quatro elétrons de valência, com a configuração eletrônica  $3d^2 4s^2$ , sendo o Ti(IV) o estado de oxidação mais estável, e conseqüentemente o mais comum. Como a energia requerida para a ionização do titânio na formação da espécie  $Ti^{4+}$  é extremamente elevada, a existência desse íon é incomum, e por essa razão, os compostos de Ti(IV) são

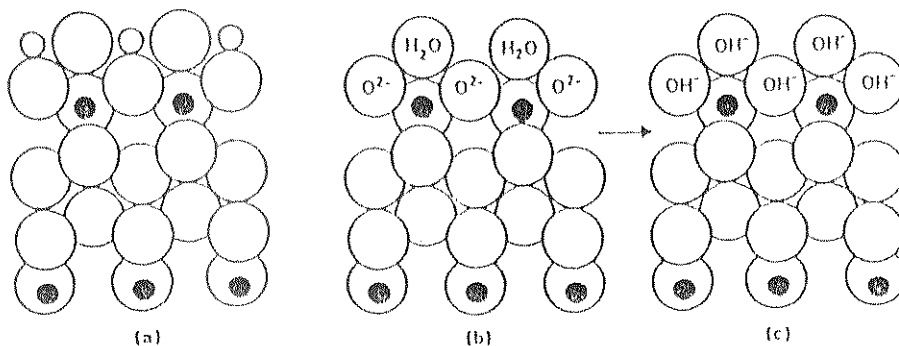
geralmente covalentes[20]. Os dois números de coordenação mais comuns para o Ti(IV) são 4 e 6, com geometrias tetraédrica e octaédrica, respectivamente[15,24-28].

O óxido de titânio apresenta três modificações cristalinas; rutilo, anatase e brookita, e em todas elas o átomo de titânio central está coordenado octaédricamente.

As formas rutilo e anatase são importantes pigmentos brancos na fabricação de tintas[15,26], enquanto que a brookita é pouco comum, e só é obtida sob condições hidrotérmicas na presença de hidróxido de sódio[15,25,26].

A ligação Ti—O no óxido de titânio(IV) tem 63% de caráter iônico, resultando em forte atração eletrostática na superfície do mesmo[15,26,27].

A forma hidratada do óxido de titânio(IV) (Figura 3), que pode ser obtido conforme mostrado nas equações químicas a seguir, tem atraído considerável atenção como trocador iônico, em função de sua elevada capacidade em adsorver seletivamente certos íons metálicos[15,29-34].



O - oxigênio  
• - titânio

Figura 3 - Clivagem no plano (001) do óxido de titânio(IV), na forma cristalina anatase. a) superfície anidra; b) superfície hidratada; c) superfície hidroxilada.

Em muitos trabalhos são descritas as características básicas das propriedades de adsorção desse material [15,29,35,36]. Os metais que têm atraído maior atenção são os íons Cr(IV), Hg(II) e Pb(II), por serem freqüentemente encontrados em sistemas de águas em regiões industriais e de mineração[30,37].

#### **1.4. Propriedades químicas e reatividade do crômio nos estados de oxidação III e VI e seus efeitos sobre o meio ambiente e os sistemas biológicos**

O crômio é uma espécie freqüentemente encontrada em efluentes industriais, destacando-se na indústria de curtume, tintas e galvanoplastia[26].

A sua presença pode representar sérios riscos ao meio ambiente, pois trata-se de um metal pesado, que apresenta propriedades de bioacumulação e persistência no meio ambiente, além de seus compostos serem extremamente reativos, e que portanto, provocam distúrbios nos processos metabólicos dos seres vivos[37-41].

Os efeitos que os compostos de crômio causam aos ecossistemas dependerão do estado de oxidação e da concentração em que forem encontrados. O Cr(VI) é a forma tóxica e a sua presença está atrelada ao pH, ao teor de oxigênio e também, à presença de matéria orgânica, sendo portanto, estas condições que irão determinar a distribuição dos estados de oxidação mais comuns que são, Cr(III) e Cr(VI) [40,42,43].

Sala e colaboradores[41] fazem uma descrição detalhada da ação intracelular exercida pelo crômio, destacando a toxidez dessa espécie, principalmente, por ser um oxidante muito importante para a indústria[25,26].

O esquema da Figura 4 mostra a redução do Cr(VI) no interior da célula. O interior das células dispõe de muitas moléculas com elevado potencial redutor, que poderiam reduzir o crômio. Para tanto, é necessário que estas moléculas

apresentem um potencial de redução de 0,52 V, que corresponde ao processo  $\text{Cr(VI)} \rightarrow \text{Cr(III)}$ , em pH 7,4. Portanto, qualquer molécula que apresente um

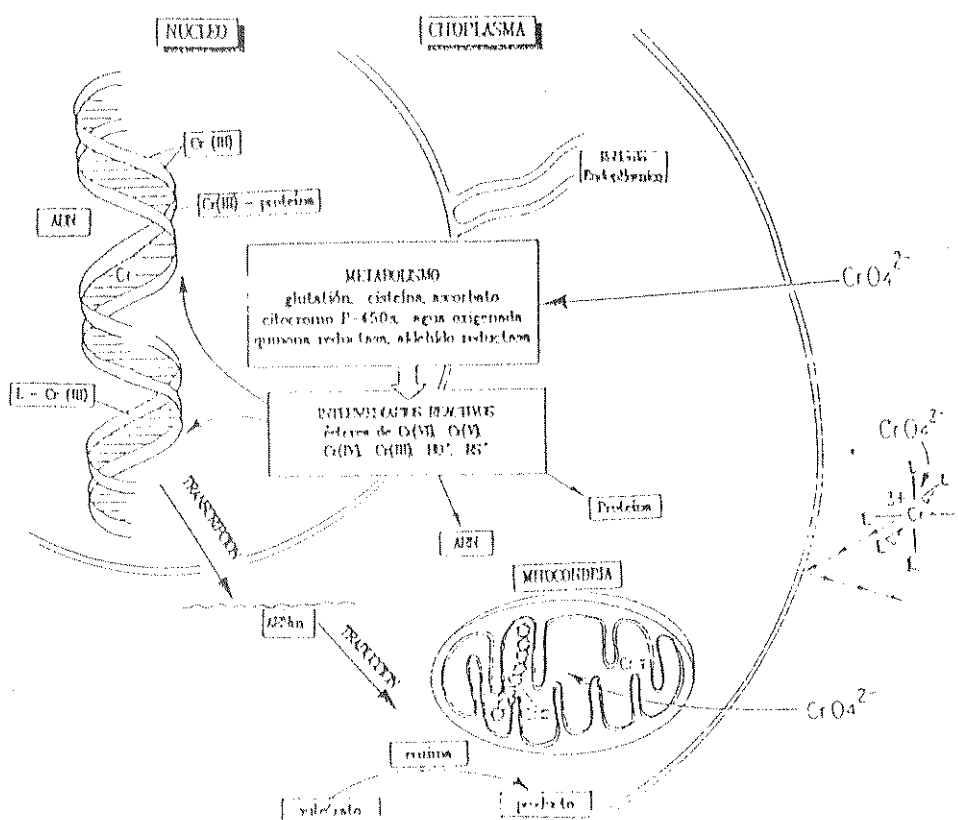


Figura 4 - Mecanismo de ação intracelular do  $\text{Cr(VI)}$ [41].

potencial de redução menor que este, se oxidará frente ao  $\text{Cr(VI)}$ . A cisteína, por exemplo, é um aminoácido que possui grupos (-SH) que são facilmente oxidados pelo  $\text{Cr(VI)}$ , formando o complexo mostrado na Figura 5. Como a cisteína faz parte da composição das cadeias polipeptídicas do DNA, que é o responsável

pelas informações genéticas, conclui-se que o cromo apresenta um forte caráter carcinogênico.

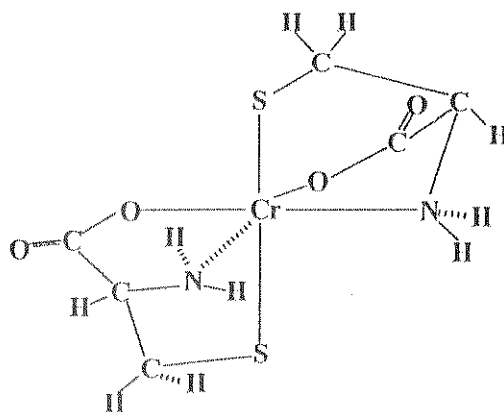


Figura 5 - Estrutura do complexo Cr(III)-cisteína[41].

## 1.5. Peroxidases

A Comissão Internacional em Enzimas classificou as enzimas em seis classes distintas, cujo critério foi o tipo de compostos sobre os quais elas apresentavam atividade catalítica. Dentre as seis classes, destacam-se as oxido-redutases, tais como as enzimas lignolíticas, por serem muito importantes para a indústria e o meio ambiente[44-48], pois devido à alta especificidade e capacidade oxidativa, são capazes de agir em reações que envolvem radicais fenólicos [48]. Por essa razão tem sido largamente usadas na deslignificação de efluentes da indústria de papel e celulose [45,46,49].

### 1.5.1. Estrutura e mecanismos de ação da peroxidase de raiz forte

Uma característica particular das peroxidases, é a existência do grupo prostético ferriprotoporfirina IX (Figura 6), que exerce um papel fundamental

como coenzima responsável pela mediação de elétrons no ciclo catalítico dessa enzima[49-60].

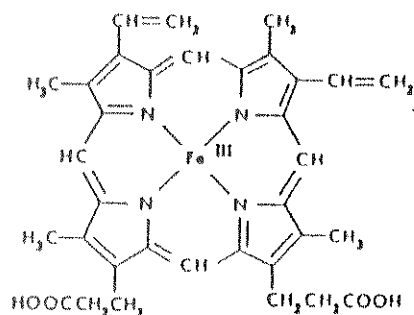


Figura 6 - Estrutura da ferriprotoporfirina IX[50].

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

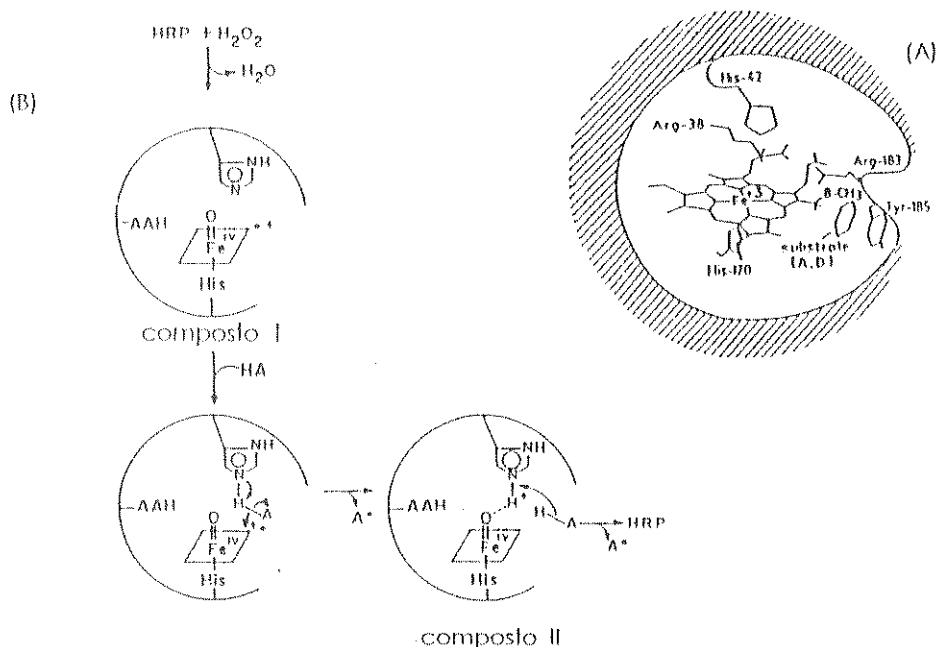


Figura 7 - (A) Cavidade na estrutura proteica da peroxidase de raiz forte mostrando a histidina-42. (B) Mecanismo de ação da peroxidase na formação dos compostos I e II[62].

Este aminoácido, encontra-se estrategicamente posicionado próximo à ferriprotoporfirina IX dentro da cavidade catalítica mostrada na Figura 7A[61,62].

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 7B[62].

### 1.5.2. Atividade enzimática da HRP na conversão de pirogalol

A catálise enzimática tem sido largamente empregada tendo em vista que os catalisadores biológicos ou modelos biomiméticos são capazes de reagir em condições especiais, permitem a obtenção de sub-produtos, que requerem elevada especificidade e grande sensibilidade, que somente este tipo de catalisador apresenta[63-67].

Como a peroxidase apresenta atividade catalítica na presença de peróxido de hidrogênio, sendo conhecidas também, como enzimas de peroxidação, a reação de oxidação de pirogalol a purpurogalina tem sido usada na determinação de sua cinética. Segundo McCarthy e White[68], a estequiometria dessa reação indica que a partir de duas moléculas de pirogalol é obtida uma molécula de purpurogalina, com a participação de três pares de elétrons, que no processo catalítico são transferidos como mostrado no mecanismo da Figura 8.

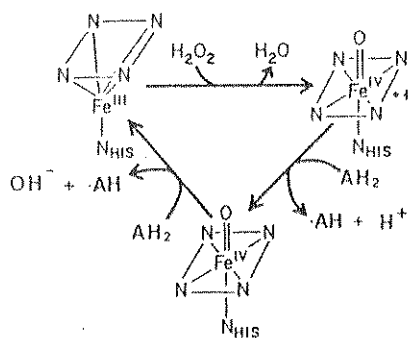


Figura 8 - Mecanismo de transferência de elétrons no processo catalítico da peroxidase.

Outro aspecto importante, é a participação do peróxido nesse processo, pois a sua concentração regula a velocidade da reação, que é de pseudo primeira ordem.

Mahanti[69] apresenta o mecanismo para a oxidação biocatalítica do pirogalol, utilizando a peroxidase, como mostrado na Figura 9.

Tal mecanismo mostra, inicialmente, a formação de um radical livre fenoxi, como o primeiro intermediário comum em reações nas quais existem acoplamentos de fenóis. Um radical desse tipo, obtido a partir do pirogalol, apresenta reatividade nos oxigênios das posições 1 e 5. De acordo com o esquema da Figura 9, o pirogalol (I), pode ser oxidado para formar um par radicalar em equilíbrio (II  $\leftrightarrow$  IIA). A ligação entre dois radicais (IIA), resulta na formação do dímero (III) que sofre rápida tautomerização na posição meta, sendo em seguida oxidado para formar o produto final, purpurogalina (IV).

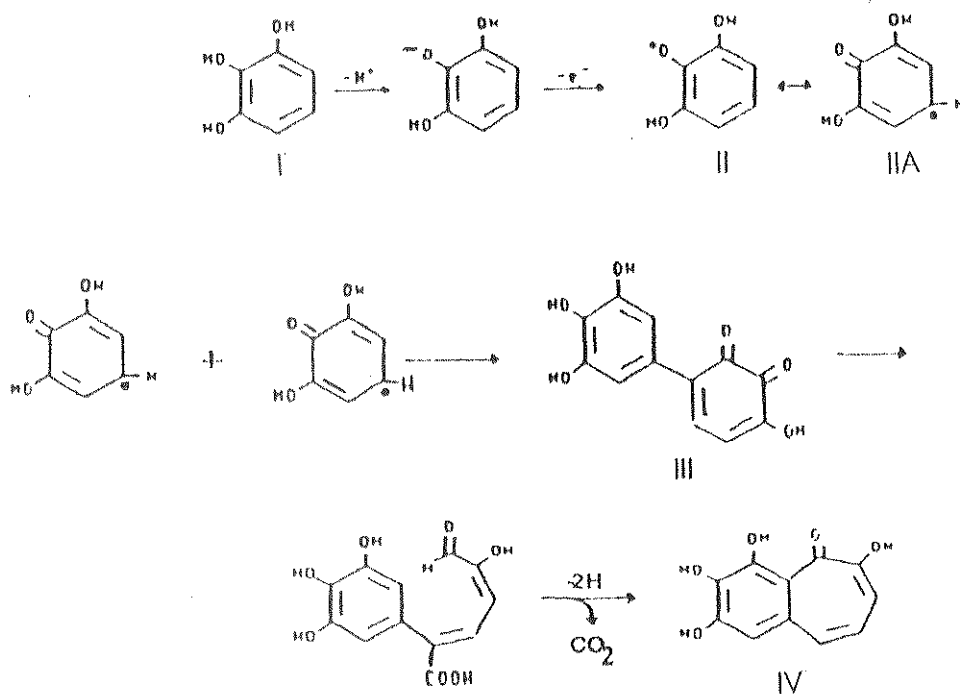


Figura 9 - Mecanismo de oxidação do pirogalol (estrutura I) a purpurogalina (estrutura IV)[69].

Neste processo, além da purpurogalina, nenhum outro produto pode ser obtido.

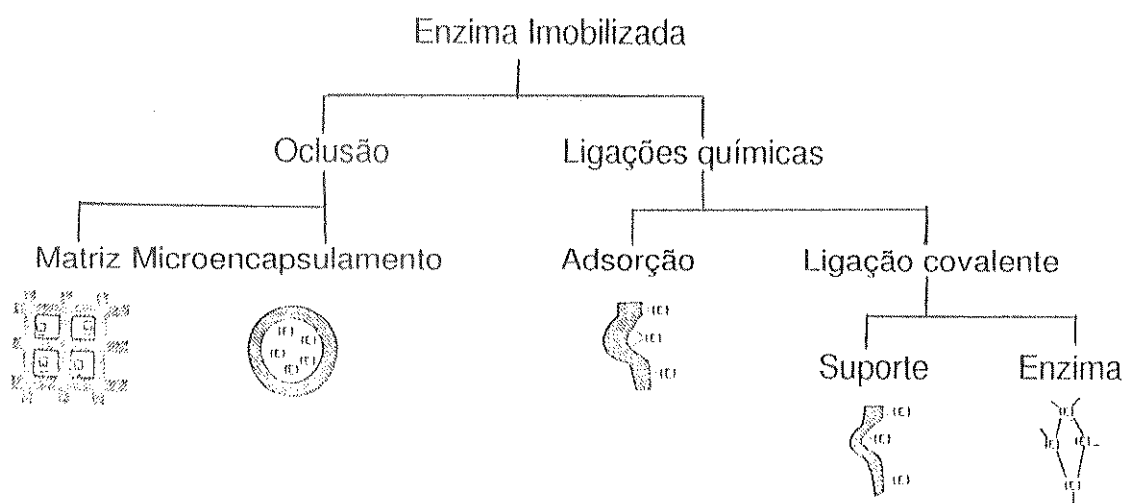
Isto indica que a peroxidase apresenta especificidade com relação aos fenóis.

## 1.6. Imobilização de enzimas

O alto custo das enzimas muitas vezes é compensado por meio de processos de imobilizações, pois diante de uma boa escolha do suporte e do método de imobilização, as enzimas passarão a apresentar algumas vantagens em relação ao uso em solução, tais como, a reutilização, que permite a redução dos custos; maior estabilidade, adquirida em função das características do suporte e pouca interferência a que estarão sujeitas frente a ativadores e inibidores[40,44,70-73]. Estas vantagens, no entanto, não impedem que as enzimas, ao serem imobilizadas, sofram redução em suas atividades[73].

Dentre os suportes insolúveis mais usados estão os polímeros (celulose sefarose, dextrana, colágeno, etc) e materiais inorgânicos (óxidos metálicos e perolas de vidro com porosidade controlada)[74-76].

Os métodos de imobilização, podem ser esquematizados da seguinte maneira:



Destes destaca-se a ligação covalente em suporte, como mostra a Figura 10.

Para obter este tipo de imobilização, quase sempre é necessário a funcionalização da superfície, ou seja, é preciso ancorar substâncias que apresentem grupos reativos, tais como: hidroxilas, carbonilas, aminas, fenólicos, imidazólicos e tióis, que são capazes de interagir com os resíduos de aminoácidos da estrutura proteica da enzima, tais como: os grupos carboxílicos dos ácidos aspártico e glutâmico; as hidroxilas fenólicas e alcoólicas da tirosina e serina, respectivamente, além dos grupos aminas terminais da lisina.

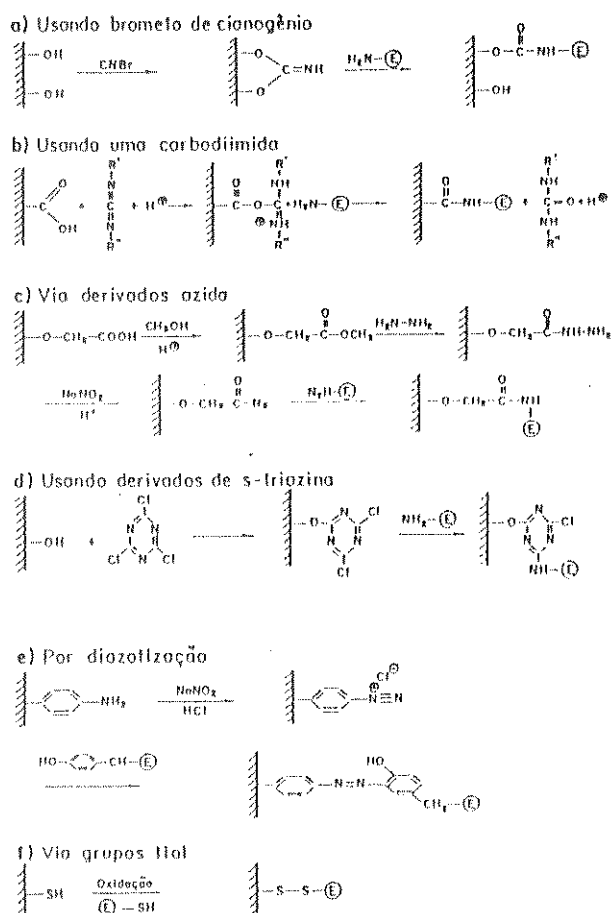


Figura 10 - Tipos mais importantes de imobilizações envolvendo ligações covalentes entre o suporte funcionalizado e a enzima[74].

Os processos de imobilização deixaram de ser uma alternativa para se tornarem uma necessidade[75-86]. Davis e Burns[44], em 1990, obtiveram por meio do método de oclusão, lacase e HRP em bolas de alginato, verificando que estas eram eficientes no branqueamento de efluentes fenólicos. Porém, não representou um método estável, pois as enzimas desprendiam-se rapidamente, impedindo o reuso.

Kennedy e colaboradores[20,87-89], também vêm estudando os processos de imobilização, para os quais tem utilizado alguns suportes, dentre eles, a celulose modificada com sais de metais de transição e a sílica gel organofuncionalizada, que permitiram com que fossem imobilizadas enzimas (ex. glicose oxidase, invertase) através de quelação com glutaraldeído, e através de processo de diazotização, sendo que estes procedimentos resultaram em grande estabilidade das enzimas imobilizadas.

Kurokawa, Ohmori e colaboradores[90-92], também utilizaram este método, obtendo bons resultados.

## II. OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo apresentar os resultados da preparação de compósitos obtidos a partir da dispersão de óxido de titânio(IV) na superfície da celulose em várias concentrações de óxido, bem como, a caracterização dos mesmos através das técnicas de análise térmica(TGA e DSC), difração de raios X(DRX), microscopia eletrônica de varredura(MEV), espectroscopia fotoeletrônica de raios X (XPS) e área superficial (BET).

Os compósitos obtidos serão utilizadas na separação e análise espectrofotométrica de Cr(VI), que inclui o estudo dos efeitos do pH e da concentração dessa espécie.

Outro aspecto a ser abordado é a interferência nas análises de Cr(VI), causada por espécies catiônica [Cr(III), Cu(II), Mn(II), Hg(II), Fe(III), V(V) e Mo(VI)] e aniônica [  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  ].

Devido a importância que o Cr(VI) representa para o meio ambiente, serão efetuadas determinações dessa espécie em águas de ambientes naturais. Estas análises serão realizadas utilizando uma microcoluna empacotada com um dos compósitos, em linha com um sistema de análise por injeção em fluxo.

Serão apresentados e discutidos também, os resultados da imobilização de peroxidase de raiz forte(HRP) na superfície de um dos compósitos preparados. Além de realizar estudo cinético da atividade catalítica dessa enzima através de análises por injeção em fluxo.

### III. EXPERIMENTAL

#### III.1. METODOLOGIA

##### III.1.1. Análise de área superficial pelo método de B.E.T.

Uma das características de grande importância nos materiais adsorventes e suportes de catalisadores químicos e biológicos é a área superficial[93,94].

A determinação experimental da área superficial baseia-se no método BET, que consiste em medir o volume de  $N_2(g)$  adsorvido na temperatura do nitrogênio líquido. Como os processos de adsorção e dessorção são proporcionais à área dos picos no registrador, a equação utilizada deriva da equação de Langmuir para a condensação polimolecular,  $P/V(P_0 - P) = 1/C.V_M + (C - 1)/C.V_M.P/P_0$ , onde  $V$  é o volume de  $N_2(g)$  adsorvido à pressão parcial  $P/P_0$ ;  $V_M$  o volume de  $N_2(g)$  que cobre o adsorbato com uma monocamada;  $P_0$  é a pressão de saturação de  $N_2(l)$ , e  $C$  é uma constante que envolve a energia de condensação. Esta equação permite a partir de algumas experiências, determinar o volume de  $N_2(g)$ ,  $V_M$ , necessário para formar uma monocamada sobre o adsorbato, ocorrendo através de adsorção física não específica[93].

##### III.1.2. Análise térmica na caracterização da celulose e suas formas modificadas

A análise térmica (DSC e TG) tem sido muito usada para determinar alterações físicas e química em materiais lignocelulósicos[23,95-98]. Algumas das alterações físicas que tem sido determinadas por meio de DSC (calorimetria de varredura diferencial) são: a cristalização, o ponto de fusão, a capacidade calorífica, bem como o calor de reação. Já as mudanças químicas de interesse são: a oxidação, a polimerização e as degradações térmicas e oxidativas[23,98].

Quanto ao TG (termogravimetria) os estudos de maior interesse são aqueles relativos à estabilidade térmica, aos aditivos e aos fenômenos de adsorção e dessorção[98-101].

Além dessas possibilidades, a análise térmica têm encontrado extensa aplicação em estudos cinéticos associados com as reações químicas que ocorrem sob aquecimento[95,97].

Destaca-se a aplicação desses métodos no estudo da celulose, que conforme as características descritas no início deste trabalho, sugere uma ampla investigação envolvendo as pontes de hidrogênio e as características estruturais da celulose. Chama-se a atenção para o fato desse material apresentar regiões altamente ordenadas que são interrompidas por regiões amorfas. Com isso, a termodecomposição da celulose constitui um fenômeno que tem gerado muitas investigações[23,98].

A pirólise da celulose tem sido assumida como cinética de primeira-ordem, descrita pela equação  $-dm/dt = K.m$ , onde  $m$  é a massa num tempo  $t$ , e  $K$  é a constante de velocidade. Esta constante pode ser entendida através da equação de Arrhenius,  $K = Ze^{-E/RT}$ , onde  $E$  é a energia de ativação,  $R$  a constante dos gases,  $T$  a temperatura absoluta e  $Z$  o fator pré-exponencial[97].

### III.1.3. Difração de raios X aplicada ao estudo da celulose

A definição que é atribuída à celulose na atualidade, decorre de muitas investigações que tiveram início com Nageli, em 1858 [citação de Labaki(102)]. A partir daí, sucederam-se uma série de estudos, até que em 1913, Nishikawa e Ono[citação de Labaki(102)], confirmaram pela técnica de Laue, que o diagrama de difração de raios-X da celulose apresentava anéis de difração bem definidos, indicando que a mesma possuía uma estrutura tridimensional que se aproximava do estado cristalino [102].

Alguns anos mais tarde, se verificou que a celulose apresentava apenas uma parte das fibras com cristalinidade bem definida, surgindo a partir daí a idéia de regiões "cristalinas" ao longo dos conjuntos de fibras[102]. Outro fato verificado, é que, qualquer que fosse a fonte de origem, a celulose sempre exibiria o mesmo padrão de difração[10,102-104].

Com o desenvolvimento da química dos carboidratos e polissacarídeos, nos anos 30, reconhecia-se que a celulose era constituída por feixes de macromoléculas lineares formadas por unidades glicosídicas policondensadas, ligadas através dos carbonos 1 e 4 dos anéis glicosídicos. Nessa mesma época, Mark e colaboradores[102] postularam que a celulose apresentava uma cela unitária monoclinica cujas dimensões eram  $a=8,35 \text{ \AA}$ ;  $b=10,3 \text{ \AA}$ (periodicidade ao longo da fibra);  $c=7,9 \text{ \AA}$  e  $\beta=84^\circ$ .

Um refinamento nas investigações por difração de raios-X, levaram a descoberta de que haviam pequenas variações nas dimensões da cela, que estão relacionadas com a fonte de origem(algodão, linho, rami, etc)[102]. Com isso, adota-se atualmente os seguintes valores para os parâmetros de rede da celulose nativa:  $a=8,17 \text{ \AA}$ ;  $b=10,34 \text{ \AA}$ ;  $c=7,85 \text{ \AA}$  e  $\beta=83,6^\circ$ .

Como essas variações decorrem da origem desse polímero, é provável que os valores estimados para a celulose de algodão, por exemplo, sejam valores médios, já que não é possível obter um cristal de celulose, não permitindo com isso, uma definição exata destes parâmetros.

#### **III.1.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e a caracterização morfológica de superfícies poliméricas**

O princípio da microscopia eletrônica de varredura consiste na emissão de um feixe de elétrons que é colimado por um conjunto de lentes magnéticas, produzindo um feixe fino que rastreia a superfície da amostra com o auxílio de um anteparo de deflexão colocado antes das lentes finais, resultando na emissão de elétrons de várias naturezas, sendo os elétrons secundários os mais comumente usados. Além desses, são emitidos também, elétrons retroespalhados, auge, e outros, como mostra a Figura 11. O sinal de um detector de elétrons secundários modula a área que forma a imagem na tela de um tubo de raios catódicos. Essa imagem é formada devido a varredura sincronizada entre o tubo de raios catódicos e o feixe de elétrons colimado[105].

A microscopia de varredura apresenta ampla faixa de contraste e profundidade de foco, que permitem observações detalhadas de uma amostra.

Um importante aspecto que distingue a microscopia eletrônica das demais, é que dentro de uma resolução adequada são possíveis observações diretas do tamanho de partículas com dimensões inferiores a  $10\mu\text{m}$ , da morfologia e da textura, que faz com que, tanto a microscopia de varredura(MEV) quanto a de transmissão(MET) sejam largamente utilizadas no estudo de polímeros naturais, como por exemplo, a celulose e suas formas modificadas[106].

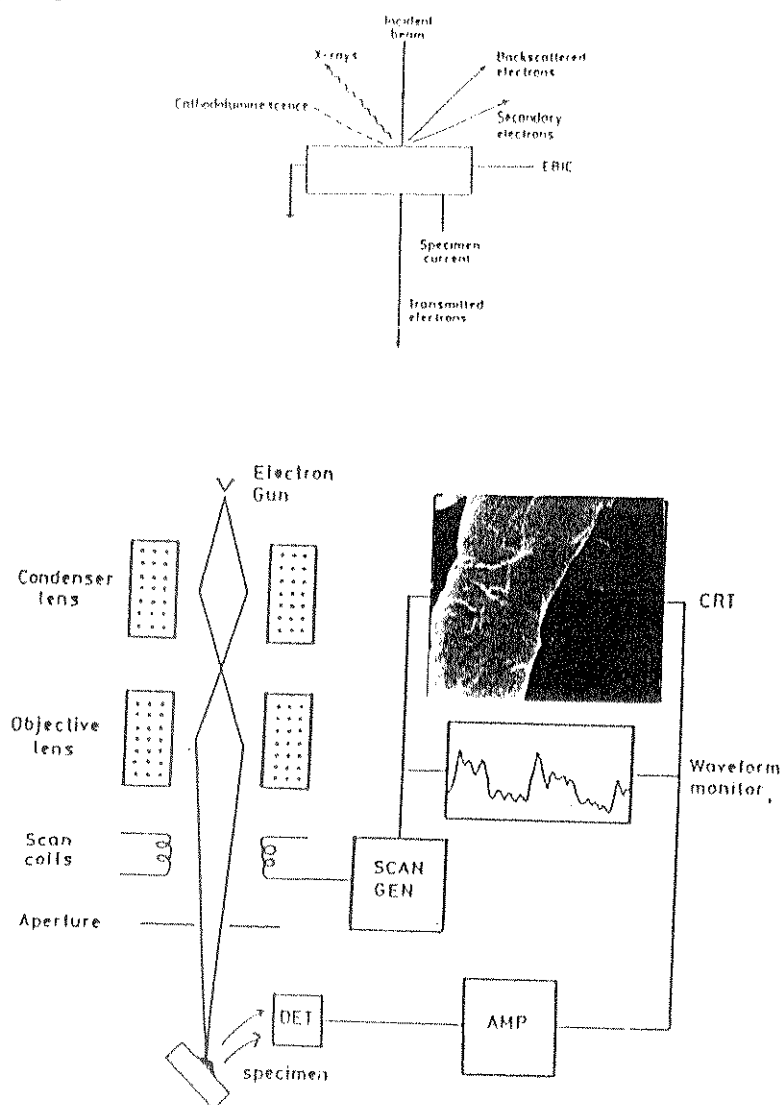


Figura 11 - Tipos de elétrons e a formação de imagens em um microscópio eletrônico de varredura(MEV)[105].

### **III.1.5. Espectroscopia fotoeletrônica de raios-X (XPS) e a caracterização de polímeros**

A técnica de XPS baseia-se no princípio do efeito foto-elétrico de Einstein, através do qual é possível determinar as energias de ligação dos elétrons em níveis internos de átomos de superfícies de uma grande variedade de materiais (catalisadores, polímeros, metais, ligas, semi-condutores, eletrodos, filmes de óxidos, etc). Através dessa técnica, é possível detectar todos os elementos com exceção do hidrogênio, com um limite de 0,1-1%. São diversas as informações que podem ser obtidas: determinação percentual de impurezas e a composição química de materiais; identificação do estado de oxidação do átomo central em compostos de coordenação; dedução da estrutura eletrônica de moléculas; estudo de mecanismos de reação; análise de interfaces de sistemas binários, determinação da espessura de camadas de materiais compósitos, etc[107-116].

Essa técnica se destaca na análise de superfícies através da medida dos deslocamentos nas energias dos elétrons ejetados, que são da ordem de 1 a 10 eV. Este fenômeno resulta da interação não destrutiva de uma superfície com fótons de energia  $E=h\nu$ , que são absorvidos pelos elétrons ejetadas, como mostra a Figura 12.

A energia de ligação do foton-elétron da superfície pode ser determinada pela expressão  $E_b=h\nu - E_k - \phi_{sp}$ , onde  $\phi_{sp}$  é uma constante de valor conhecido,  $E_k$  a energia cinética com a qual o foton-elétron é ejetado e  $E_b$  a energia de ligação do elétron em um determinado orbital. Portanto, depende da natureza de cada superfície, da concentração atômica, do estado de oxidação e da densidade eletrônica em torno do átomo analisado[110].

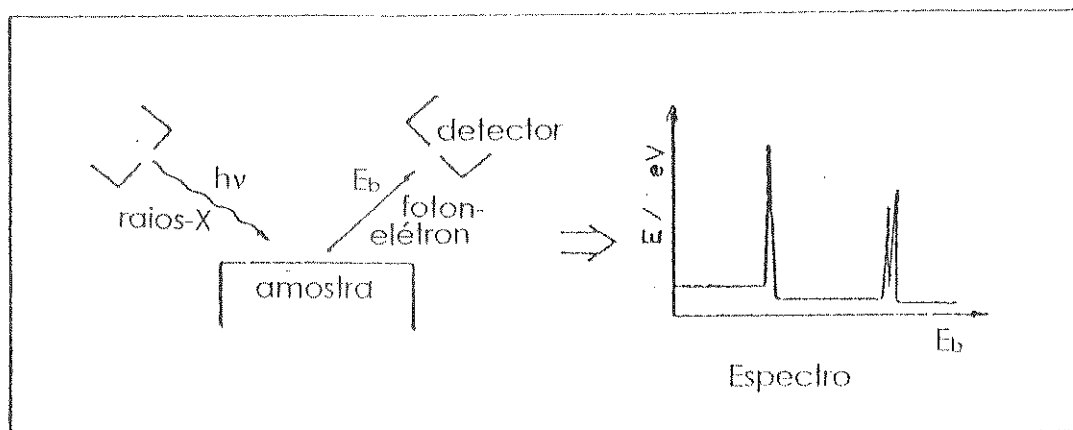


Figura 12 - Efeito foto-elétrico e a análise por XPS[109].

### III.1.6. Princípios e Aplicações da Análise por Injeção em Fluxo(FIA)

A análise por injeção em fluxo(FIA) consiste na injeção repetida de um pequeno volume de amostra em um líquido transportador que em condições hidrodinamicamente controladas, se desloca continuamente sem segmentação até ser detectada. No percurso essa amostra poderá ser submetida a uma grande variedade de processos químicos, físicos ou físico-químicos(Ex.: diluição, reações químicas, diálise, extração líquido-líquido), permitindo também, que outros líquidos transportadores, reativos ou não, possam juntar-se em qualquer ponto entre a injeção e a detecção[117-119].

Devido à simplicidade, elegância, rapidez, economia de reagentes, possibilidade de automação e maior quantidade de informações, a técnica de FIA é hoje largamente utilizada[120-133].

Um fator importante na análise por FIA é o coeficiente de dispersão da amostra,  $D$ . Este está relacionado com a forma de montagem do sistema, sendo

portanto, um critério de classificação da técnica, quanto ao seu uso[118,121,125].

Quando em um experimento simples são medidas as absorbâncias de uma dada substância colorida, que obedeça a *lei de Lambert-Beer*, a altura do pico máxima,  $H_{m\acute{a}x}$ , observada é diretamente proporcional à concentração da substância analisada. Medindo-se a absorbância dessa mesma substância, não diluída, em fase estacionária, a razão entre  $H_0$ (altura de pico neste último caso) e  $H_{m\acute{a}x}$ , corresponderá ao coeficiente de dispersão,  $D= H_0/ H_{m\acute{a}x}$ [118].

Com base nesses princípios pode-se determinar com colunas de pré-concentração em linha com um sistema de injeção em fluxo, as quantidades de um sem número de substâncias em níveis reduzidos, ppb(parte por bilhão) ou ppt(parte por trilhão), de concentração. Com isso, ela é especialmente apropriada para a especiação de metais pesados em efluentes de diversas procedências[123,127-129].

O método de análise em fluxo também pode ser aplicado ao estudo de enzimas imobilizadas[125,126,132-134]. Tem-se constatado que esse método é comumente usado no estudo do comportamento cinético de sensores enzimáticos[82,135-142].

## III.2. PROCEDIMENTOS

### III.2.1. Soluções

(a) Solução estoque  $5 \times 10^{-3}$  M de dicromato de potássio foi preparada pela dissolução de 0,1476 g deste reagente, previamente secado em estufa a 413 K, com solução de ácido nítrico 0,1 M em balão de 100 mL. Para determinar a cinética de adsorção do crômio, foi preparada também, solução com ácido clorídrico 0,1 M como diluente.

A solução estoque de Cr(VI) para a determinação em sistema com injeção em fluxo foi de 1000 ppm. Preparada pela dissolução de 2,829 g de dicromato de potássio, previamente secado, em 1000 mL de solução de ácido nítrico 0,1 M. As soluções estoque dos interferentes foram preparadas pela dissolução de quantidades apropriadas dos respectivos sais em 100 mL de água desmineralizada de maneira que fossem obtidas soluções de 1000 ppm.

(b) Solução de 1,5-difenilcarbazida(DFC) 0,05 % m/v, foi obtida pesando-se cerca de 0,05 g e dissolvendo em 5 mL de acetona, e completando o volume com água bidestilada em balão de 100 mL.

(c) Solução de 1,5-difenilcarbazida(DFC) 0,25% m/v, preparada dissolvendo-se 0,25 g em 50 mL de acetona, em balão de 100 mL, e completando-se o volume com água bidestilada.

(d) A solução estoque de tampão PIPES(ácido piperazinatetraacético) foi preparada pela solubilização em água desmineralizada, com adição de solução de hidróxido de sódio, até total solubilização, ajustando-se, concomitantemente, o pH da solução. Finalmente transferiu-se a solução para um balão volumétrico completando o volume com água desmineralizada. As demais soluções foram preparadas por simples diluição de quantidades adequadas da solução estoque.

- (e) As soluções de pirogalol foram obtidas através da simples solubilização deste em água desmineraliza, para concentrações variando de 10 a 80 mM, em balões âmbar, em virtude da fotossensibilidade deste reagente. Portanto, devido a impossibilidade de estocá-las, em cada experimento foram preparadas novas soluções.
- (f) As soluções de peróxido de hidrogênio foram preparadas com os mesmos cuidados dispensados ao pirogalol, a partir de uma solução padrão, sendo que as concentrações dessas soluções variaram de 3,75 a 60 mM.

### **III.2.2. Obtenção do compósito celulose-óxido de titânio(IV) hidratado**

Foram realizadas 4 preparações. Nas três primeiras foram pesados 5,0 g de celulose de algodão (Sigma 99,5%) e colocados em um balão de reação em atmosfera de nitrogênio, acrescento em seguida, 250 mL de  $\text{CCl}_4$ . Foram adicionados cerca de 0,25 mL, 0,50 mL e 1,00 mL de  $\text{TiCl}_4$  em cada preparação. A mistura reacional ficou refluxo sob agitação e aquecimento de 343 K durante 5 horas. Em seguida filtrou-se o sólido obtido sob pressão reduzida e em atmosfera de nitrogênio, seguido de sucessivas lavagens com  $\text{CCl}_4$ . O sólido obtido foi imerso em etanol anidro, borbulhando-se amônia durante 1 hora, com agitação constante, visando neutralizar o ácido clorídrico formado durante a síntese. A celulose modificada foi filtrada ao ar, e lavada exaustivamente; primeiro com etanol anidro, depois com etanol/água (1:1), e finalmente com água desmineralizada, obtendo-se no final um material totalmente hidrolisado. Após secagem, foram realizados testes qualitativos com peróxido de hidrogênio, que em contato com a superfície do compósito adquire uma coloração amarelada, que será mais intensa, quanto mais titânio hidratado estiver presente.

Na última preparação foram utilizados 20,0 g de celulose e cerca de 5,0 mL de  $\text{TiCl}_4$ . Ao final foram obtidos os compósitos  $\text{CEL1/TiO}_2$ ,  $\text{CEL2/TiO}_2$ ,  $\text{CEL3/TiO}_2$  e  $\text{CEL4/TiO}_2$ , respectivamente, na forma de pós.

### III.2.3. Caracterização dos compósitos de celulose-óxido de titânio(IV) hidratado

Antes da caracterização, os compósitos foram secados em estufa a 353 K por 16 horas e em vácuo de  $10^{-3}$  Torr por um período de 4 horas.

As análises gravimétricas para determinar o teor de óxido de titânio incorporado em cada uma das amostras consistiu em pesar 0,2 g de cada, calcinando a 1173 K por 2 horas até peso constante.

Nas medidas de área superficial, foi empregado o método de BET multipontos, utilizando o equipamento Micrometrics modelo Flowsorb II 2300. Foram usados cerca de 0,4 g de material em cada análise.

O comportamento térmico dos materiais foi determinado aquecendo-se cerca de 4 mg de cada um, sob atmosfera de oxigênio, a uma velocidade de 5 °C/min. O equipamento utilizado nas medidas foi o termoanalisador da Dupont modelo 1090.

Os difratogramas da celulose e do compósito foram obtidos empregando um difratômetro Shimadzu XD-3A, usando radiação  $\text{CuK}\alpha$  com  $\lambda=1,54023 \text{ \AA}$ , e aplicando uma tensão de 30 kV e uma corrente de 20 mA, com varreduras de 1°/min.

Os difratogramas obtidos foram corrigidos segundo o fator de Lorentz e de polarização[143], e desdobrados em duas regiões, como mostra a Figura 13. As regiões cristalinas do espectro da Figura 13, estão representadas por um conjunto de cinco picos estreitos, enquanto que o amorfo corresponde ao largo halo sob a curva experimental. As distâncias interplanares da cela unitária da celulose determinadas pelos picos do difratograma são mostrados na Figura inserida, através da qual são vistos os índices de Müller (hkl) correspondentes, para cada plano de difração da cela unitária. As cristalinidades relativas das cinco amostras foram obtidas pelo ajuste dos difratogramas, aplicando a expressão matemática  $I(2\theta) = \sum G_i(2\theta) + AM(2\theta) + B(2\theta)$ , onde  $G_i(2\theta)$  é uma função de distribuição gaussiana para os planos cristalinos;  $AM(2\theta)$  é a função

gaussiana para o halo do espectro referente à parte amorfa, com máximo em 20 graus, e B(20) representa a linha base.

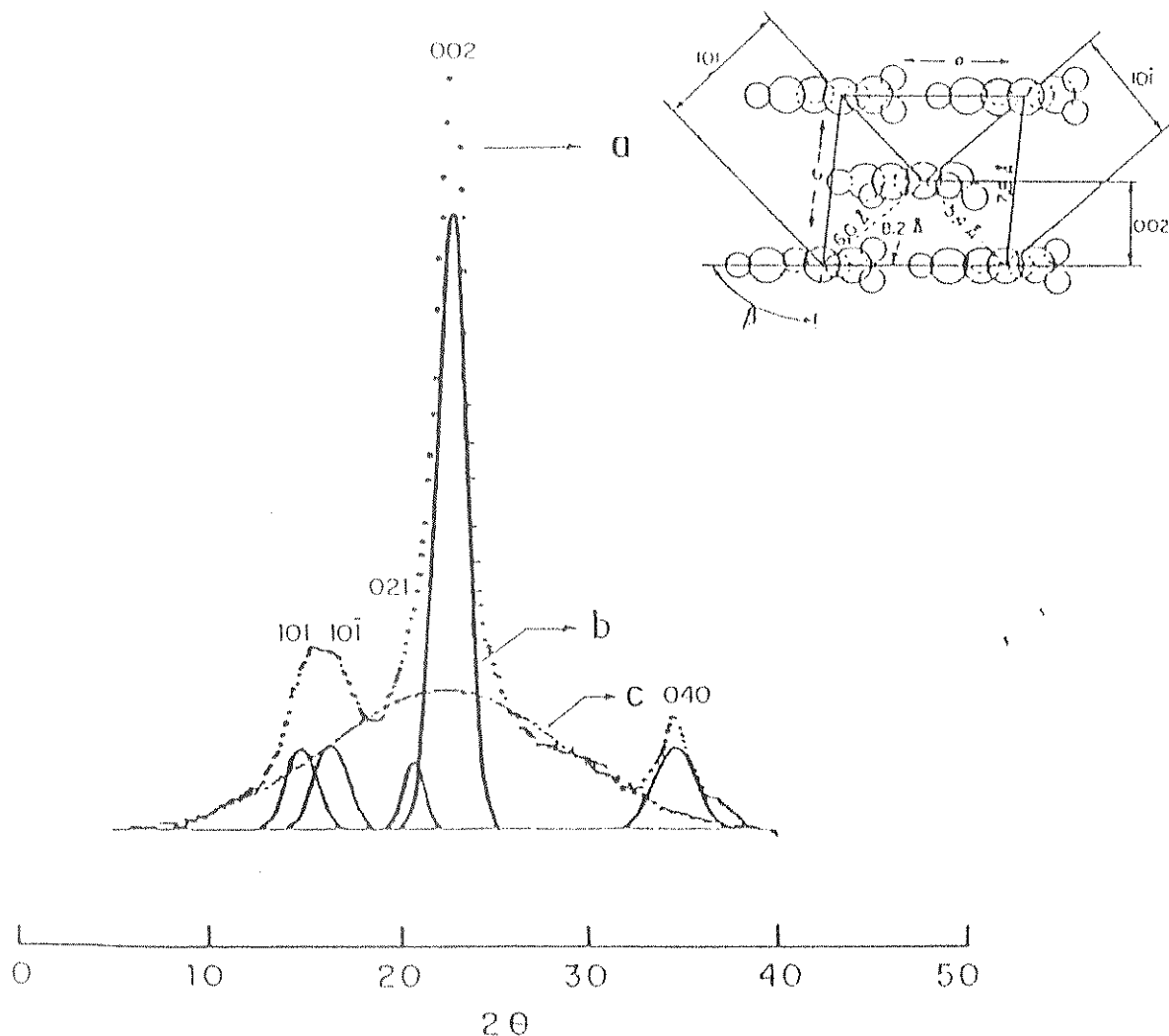


Figura 13 - Difratoograma típico do compósito CEL3/TiO<sub>2</sub>. (a) difratogramas observados; (b) Gaussiana dos picos resolvidos correspondendo a fase cristalina; c) Gaussiana do pico resolvido correspondendo a fase amorfa.

Os ajustes das curvas experimentais e teórica foram realizados com base no algoritmo de mínimos quadrados propostos por Marquardt-Levenberg[102,143-146].

Os espectros de XPS foram obtidos em um espectrômetro McPherson-36, usando um anodo de alumínio ( $AlK\alpha=1486,6$  eV), e uma pressão menor que  $2 \times 10^{-7}$  Torr. As razões atômicas foram estimadas através das áreas sob os picos e a secção de choque de Scofield[147]. A energia de ligação de referência foi a do carbono 1s de hidrocarboneto em 284,6 eV[115].

Nas análises morfológicas, a celulose e os compósitos foram inicialmente dispersados em suporte de latão ou alumínio contendo uma fita dupla face da 3M, possibilitando dessa forma a fixação dos pós. Após a retirada de excessos das amostras, foram feitos recobrimentos com vapores de uma liga ouro/paládio (método de Sputter), e para as amostras contendo a HRP, utilizou-se recobrimento com carbono, em um Sputter Low Voltage LVC76 da Plasma Science. As análises foram realizadas por meio de um microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM T-300, contendo detector de elétrons secundários (SEI) e retroespalhados (BEI), além do detector de raios-X (EDS) Northern com modo análise e imagem (mapeamento).

#### III.2.4. Adsorção de Cr(VI)

As isotermas de adsorção de Cr(VI) foram obtidas de soluções aquosas a 298 K, através da técnica de batelada, utilizando o compósito CEL/TiO<sub>2</sub>.

As quantidades de Cr(VI) adsorvidas pelos sólidos foram calculadas através da equação:  $N_f = (N_a - N_s)/m$ , onde  $N_a$  é o número de moles de Cr(VI) da solução de partida;  $N_s$  é o número de moles no sobrenadante após o equilíbrio com a fase sólida; e  $m$  a massa do compósito, em gramas. Os valores foram determinados espectrofotometricamente com leituras em 390 nm em um espectrofotômetro Micronal B380, utilizando cubeta de 1 cm de caminho ótico.

### **III.2.5. Pré-concentração de Cr(VI)**

A pré-concentração de Cr(VI) em sistemas de análise convencional (leituras manuais), constitui um outro método que normalmente é utilizado como forma de comparação com métodos de FIA, com o objetivo de verificar a eficiência deste último. No presente trabalho a pré-concentração foi realizada usando-se os seguintes recursos: bomba peristáltica ajustada para bombear  $1,4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  de solução; coluna de vidro com 9 cm de comprimento e 0,4 cm de diâmetro contendo c. a. 500 mg de celulose modificada.

Inicialmente foram percolados através da coluna 30 mL de  $\text{HNO}_3$  0,1 M, para a ativação dos sítios de adsorção da superfície do material, seguido de lavagem com 30 mL de água desmineralizada, para retirada do excesso de ácido. Logo em seguida foram percolados 200 mL de solução 0,174 ppm de Cr(VI) em pH 1 e mais 30 mL de  $\text{HNO}_3$ . O Cr(VI) adsorvido na superfície foi eluído com NaOH 0,1 M, em fluxo reverso, sendo recolhidos em balão de 50 mL, contendo 5 mL de  $\text{HNO}_3$  1 M e 2 mL de DFC 0,25 % m/v, completando-se o volume com água desmineralizada. As concentrações das soluções eluídas foram determinadas através de curva analítica para soluções de Cr(VI) de concentrações variando entre 0 e 4,5 ppm.

### **III.2.6. Cinética de Adsorção de Cr(VI)**

Esta etapa consistiu em determinar o tempo necessário para que ocorresse a máxima adsorção, e conseqüentemente a saturação da superfície do compósito pelo Cr(VI); para tanto foram colocados cerca de 0,1 g de CEL/TiO<sub>2</sub> em frascos de agitação e adicionados 50 mL de solução  $5 \times 10^{-4}$  M em pH 1, iniciando imediatamente a cronometragem. Este experimento foi conduzido por um período de 3 horas e 25 minutos, e acompanhado com leituras espectrofotométricas em 390 nm, em intervalos de 5 minutos na primeira meia-hora. O mesmo procedimento foi usado para o ácido clorídrico como diluente.

### III.2.7. Determinação de Cr(VI) em função do pH

Foram pesados 0,1 g de CEL/TiO<sub>2</sub> para cada valor de pH e colocados em frascos de agitação com a adição logo em seguida de 50 mL de solução  $5 \times 10^{-4}$  M de Cr(VI), que tiveram seus pH ajustados pela adição de ácido nítrico ou hidróxido de sódio; de tal maneira que ao final fossem obtidos 50 mL no pH desejado, cujos valores variaram de 1 a 8. Após misturá-las, os frascos de agitação foram submetidos a constante agitação durante 30 minutos. Ao final desse tempo, foram medidos os pH's das soluções em equilíbrio com a fase sólida, e após centrifugação foram retiradas de cada, alíquotas do sobrenadante; dessas alíquotas foram retirados 5 mL e colocados separadamente em balões volumétricos de 10 mL, seguido da adição de 2 mL de tampão acetato, e completando os volumes. Finalmente foram feitas as leituras em 390 nm.

### III.2.8. Adsorção de Cr(VI) em função da concentração de equilíbrio do sobrenadante

A partir da solução  $5 \times 10^{-3}$  de Cr(VI), foram obtidas as demais:  $2 \times 10^{-4}$  M;  $4 \times 10^{-4}$  M;  $5 \times 10^{-4}$  M;  $6 \times 10^{-4}$  M;  $8 \times 10^{-4}$  M e  $10^{-3}$  M, usando solução 0,1 M de ácido nítrico, como diluente.

Alíquotas de 50 mL de cada concentração foram acrescentadas a 0,1g de CEL/TiO<sub>2</sub> em frascos de agitação, sob agitação por um período de 30 minutos, seguido de centrifugação e retirada de alíquotas dos sobrenadantes para leituras espectrofotométricas em 390 nm.

### **III.2.9. Pré-concentração e determinação espectrofotométrica de Cr(VI) em linha com um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA)**

A injeção em fluxo utilizada para o estudo de pré-concentração e análise de Cr(VI) apresenta uma configuração como mostrado na Figuras 14. Portanto, foram utilizados dois injetores, um para o Cr(VI) e o outro para o eluente NaOH, com tempos de injeção controlados.

A microcoluna (2 cm de comprimento; 0,3 cm de diâmetro) foi empacotada com cerca de 30 mg do compósito. O sistema foi operado em quatro etapas, descritas a seguir.

1. *Ativação:* 0,1 M de  $\text{HNO}_3$  foi injetada na microcoluna a uma vazão de 2,8 ml/min durante 10 segundos.
2. *Injeção de Cr(VI):* Uma solução ácida (pH 1) de Cr(VI) foi conduzida através da microcoluna em tempos pré-determinados (10-100 s) sob uma vazão de 3,2 ml/min.
3. *Lavagem:* Após a pré-concentração a microcoluna foi lavada com  $\text{HNO}_3$  0,1 M durante 10 s na mesma vazão que a da ativação.
4. *Eluição e detecção:* Esta última etapa consistiu em eluir o Cr(VI) adsorvido na microcoluna com solução de NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup> sob vazão de 3,2 ml/min. Ao mesmo tempo a solução de DFC (0,05 % m/v) se misturou a uma solução de  $\text{HNO}_3$  0,8 mol.L<sup>-1</sup>, e finalmente com a solução de Cr(VI) proveniente da pré-concentração. O contato entre essas soluções resultou na complexação do crômio com a DFC, cuja absorbância foi lida a 540 nm, e o sinal foi obtido no registrador R. Todas as determinações de Cr(VI) foram realizadas em um espectrofotômetro Micronal B380.

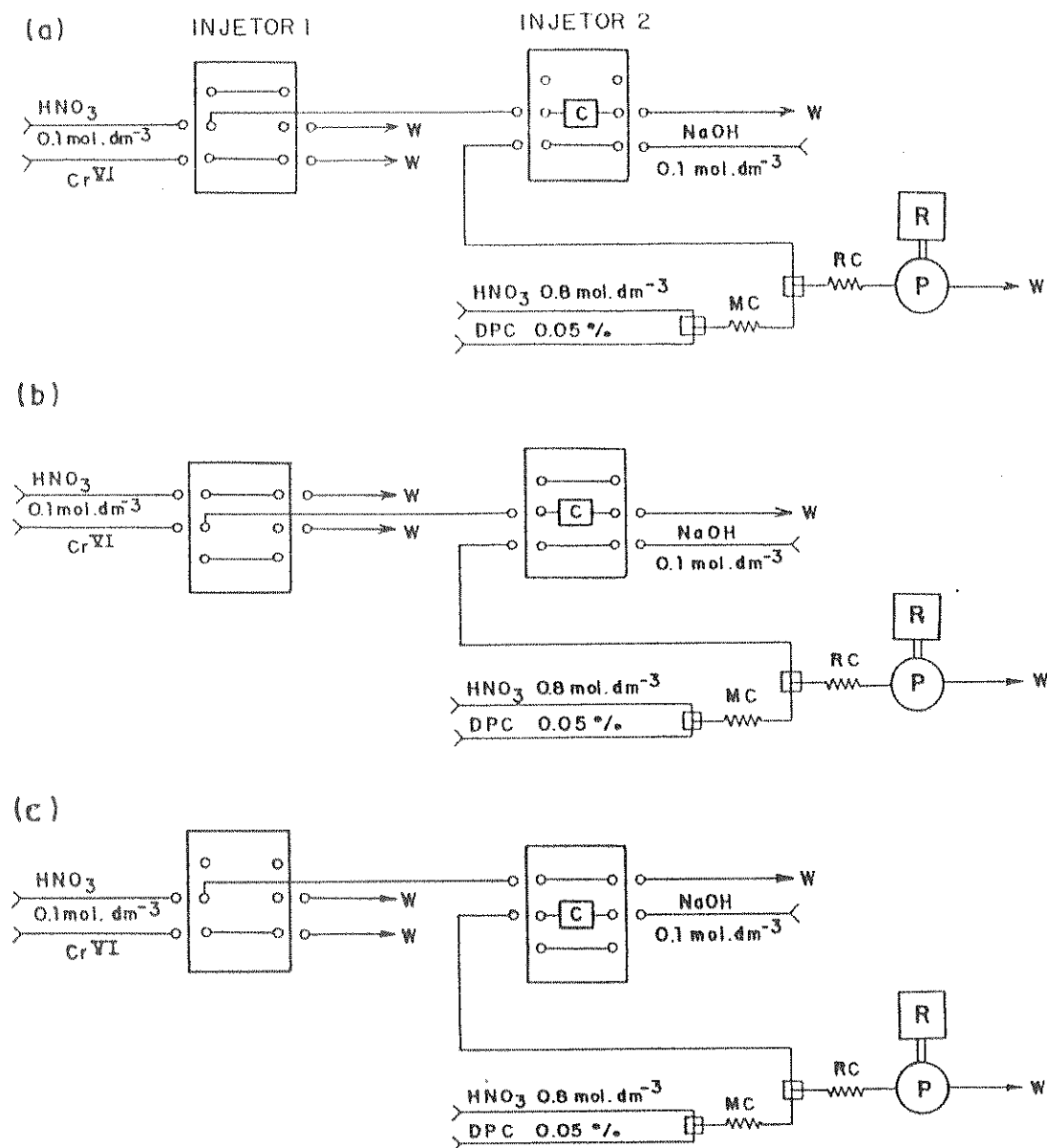


Figura 14 - Configuração do sistema de injeção em fluxo para a pré-concentração e análise de Cr(VI): a) Ativação; b) Injeção; c) Lavagem e d) Eluição. D = Descarte; BM = bobina de mistura; BR = bobina de reação; P = Espectrofotômetro e R = Registrador; W = Descarte.

### **III.2.10. Determinação de crômio(VI) em águas naturais por método convencional e por injeção em fluxo**

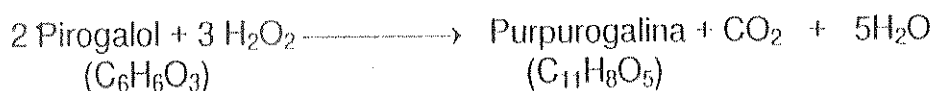
As águas coletadas nas lagoas do Taquaral e da Unicamp foram aciduladas com  $\text{HNO}_3$  e após serem filtradas com papel de filtro Whatman 40 para eliminação da matéria orgânica em suspensão, foram analisadas por FIA como descrito no item III.2.9. Como não foi detectado a presença de crômio em nenhuma das amostras, ambas foram dopadas com 5 mL de uma solução 10 ppm de  $\text{Cr(VI)}$  e 0,61 mL de ácido nítrico P.A., completando os volumes com as respectivas águas, até atingir 100 mL. Os valores de absorbância encontrados foram avaliados usando-se como referência uma solução de  $\text{Cr(VI)}$  100 ppb, para construção da curva analítica, fazendo-se injeções nos tempos de 10, 20, 30 segundos.

### **III.2.11. Imobilização da HRP e determinação da retenção de atividade**

A HRP(EC 1.11.1.7, Sigma, tipo VI) foi imobilizada sobre a celulose modificada através de um método de imobilização que se baseia na interação covalente entre a enzima e o suporte [74].

Partindo de 10 mL de uma solução contendo 0,19 mg/mL(19,1 U) de HRP em tampão PIPES (pH 6), foi retirada uma alíquota de 8 mL(15,3 U) e colocada em um erlenmayer contendo 100 mg de  $\text{CEL/TiO}_2$ , fechando o recipiente e colocando em banho de gelo num agitador orbital durante 3 horas. Em seguida, o conteúdo foi transferido para um tubo de centrifuga de polietileno e centrifugado a 3000 rpm para separação das partículas em suspensão, seguido da determinação da atividade enzimática do sobrenadante, bem como dos 2 mL inicialmente separados, e que foram utilizados como controle. A fase sólida foi lavada 3 vezes com tampão. E de cada lavagem, foi retirada uma alíquota para verificar se haveria atividade enzimática.

A diferença de atividade estabelecida entre a solução de controle e a somatória das atividades das alíquotas das soluções de lavagem e do sobrenadante, resultou na quantidade de enzima imobilizada, que foi de 5,7 U ou 0,057 U.mg<sup>-1</sup> de CEL/TiO<sub>2</sub>. Este rendimento foi obtido através de leituras espectrofotométricas em um espectrofotômetro Beckman DU 640 em cubeta de quartzo de 1 cm de caminho ótico em 420 nm, para a cinética de oxidação enzimática do pirogalol na presença de peróxido de hidrogênio, conforme a equação química abaixo[68].



Todas as leituras seguiram as instruções contidas no folheto fornecido pela Sigma Chemical Company. A imobilização resultou no biocatalisador HRP/CEL/TiO<sub>2</sub>.

### III.2.12. Determinação espectrofotométrica da atividade catalítica em solução

A atividade catalítica da HRP foi determinada usando-se pirogalol e peróxido de hidrogênio(30 mM) como substratos em solução de tampão PIPES em pH 6. Todas as soluções de pirogalol(10, 20, 30, 40, e 50 mM) foram preparadas pela solubilização de quantidades apropriadas com água desmineralizada. As medidas espectrofotométricas foram conduzidas em comprimento de ondas de 420 nm num espectrofotômetro DU 640 da Beckman.

### **III.2.13. Determinação espectrofotométrica em linha com um sistema de injeção em fluxo da atividade catalítica da HRP/CEL/TiO<sub>2</sub>**

Para o estudo cinético da peroxidase foi utilizado o sistema FIA apresentado na Figura 15. As amostras de peroxidase imobilizada na superfície de CEL/TiO<sub>2</sub>, foram colocados em um reator de acrílico com 2 cm de comprimento e 0,3 cm de diâmetro, com capacidade volumétrica de 0,14 cm<sup>3</sup>. A quantidade de biocatalisador utilizada nos ensaios variou entre 3 e 5 mg. O funcionamento do sistema FIA consiste basicamente em dois passos: 1 - corresponde a posição do injetor (válvula de comutação manual), na qual a solução de tampão passa continuamente através do reator r, proporcionando um constante acondicionamento do biocatalisador, em condições de fluxo e de pH adequados, indo finalmente para o recipiente de descarte; 2 - Nesta posição o injetor permite que a mistura reagente (pirogalol + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), contido no loop de volume fixo, seja transportada pela tampão (fluido transportador) até o leito catalítico. A purpurogalina produzida no reator r, passa por um sistema semelhante ao de detecção do crômio. As medidas espectrofotométricas foram obtidas em comprimento de ondas de 420 nm. Em ambos os casos foi utilizada uma bomba peristáltica WIZ e um espectrofotômetro Micronal B380.

Segundo Kubota e colaboradores[148], a interação do peróxido de hidrogênio com o titânio resulta na formação de traços de radicais livres. Por isso, foram, realizadas medidas cinéticas na ausência de enzima, para se certificar se haveria a formação de espécies capazes de provocar alterações nas medidas da atividade peroxidásica da HRP. Para essa finalidade foram utilizadas respectivamente, 20 mM de pirogalol e 7,5 mM de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

As medidas para a seleção do volume mais adequado para o fluxo de 0,9 mL.min<sup>-1</sup> foram realizadas fixando-se a concentração dos substratos e variando os volumes injetados desde 10 até 80  $\mu$ L. As concentrações de pirogalol e de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> utilizadas foram respectivamente, 40 mM e 15 mM. A massa de catalisador utilizada neste experimento foi de c.a. 4 mg.

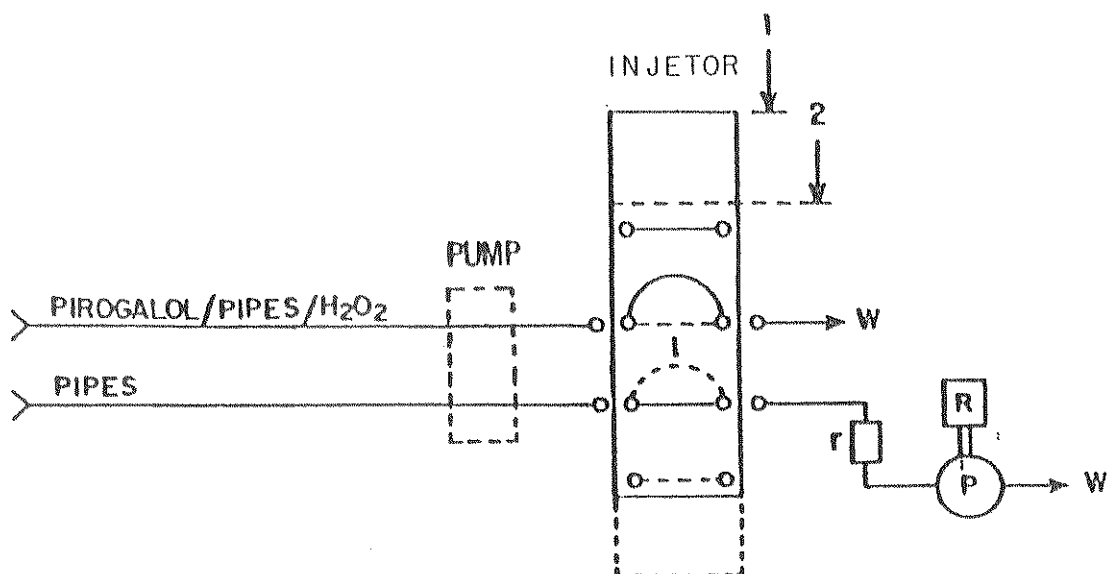


Figura 15 - Configuração do sistema de injeção em fluxo para a determinação da atividade catalítica da peroxidase: 1) posição de lavagem do reator com solução de tampão PIPES em pH 6; 2) Posição de injeção do substrato no reator. W = Descarte.

Outro ensaio realizado foi a variação da concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 3,75 mM a 30 mM, fixando a concentração de pirogallol em 40 mM com tampão pH 6. Todas as medidas foram realizadas a 298 K.

## **IV. CARACTERIZAÇÃO DO COMPÓSITO CELULOSE-ÓXIDO DE TITÂNIO(IV) HIDRATADO**

### **IV.1. Resultados e Discussão**

#### **IV.1.1. Obtenção do compósito**

SIHTOLA e NEIMO[2] descrevem a reatividade da celulose como uma função de sua solubilidade em determinados solventes. Porém, ela só será efetivamente dissolvida se as interações com os solventes ocorrerem através das ligações pontes de hidrogênio da sua estrutura. E esta interação é definida por SPANGE e colaboradores[149] como a propriedade doador-aceptor em decorrência da polaridade das moléculas do solvente, resultando em dissolução não degradativa. Este tipo de dissolução tem encontrado aplicações, principalmente, na obtenção de filmes de celulose[21,22].

No presente trabalho, tem-se utilizado solvente apolar,  $\text{CCl}_4$ , por não solubilizar a celulose, pois pretendia-se modificar apenas a superfície desse polímero pela ação de  $\text{TiCl}_4$ , sem perda das propriedades mecânicas.

LEE[150] tem demonstrado através de dessorção de gases, que para processos adsorptivos semelhantes ao que se tem obtido, estão envolvidas propriedades energéticas superficiais que determinam uma interação do tipo hidrofóbica entre as macromoléculas de celulose e o  $\text{CCl}_4$ .

SERIBAEVA e colaboradores[151] discutem a interação da celulose com ácidos de Lewis do tipo  $\text{MCl}_x$  (Ti, Sb, Sn e Al), como resultado de processos de degradação termocatalítica. Estes diferem dos processos relacionados com as propriedades termomecânicas da celulose.

Através de análises de infravermelho, AFANASEV e colaboradores[152] demonstraram que degradações termocatalíticas são atribuídas à formação inicial de um complexo ácido de Lewis-celulose, resultando no aparecimento de bandas de absorção em  $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  na região do infravermelho, que são atribuídas à formação de ligações do tipo C-O-Ti.

Outro aspecto descrito anteriormente, refere-se à reatividade da celulose, que está relacionada com a presença de grupos hidroxilas estruturais[5,20,21].

Ao reagir a celulose com o tetracloreto de titânio, verifica-se a ocorrência de uma reação ácido-base com liberação de ácido clorídrico e formação de um composto intermediário, oxicroreto de titânio-celulose, que sofre hidrólise com muita facilidade, através de uma reação similar a apresentada no item I.3. Nestas condições a matriz celulose sofre um processo de degradação superficial que será maior ou menor, dependendo da quantidade dos reagentes empregados. A evidência para este fato contraria os resultados de AFANASEV e colaboradores[152], pois não se verificou degradações com cisões hidrolíticas, visto que isso acarretaria na fragmentação das fibras.

Observou-se também, que as preparações não são estequiométricas (Tabela 1), pois o rendimento em cada preparação não apresenta uma relação molar com os percentuais de titânio incorporado à celulose.

#### **IV.1.2. Caracterização do óxido de titânio disperso na superfície da celulose**

As quantidades de óxido de titânio depositadas na superfície da celulose foram determinadas como descrito no item III.2.3.

O rendimento da incorporação de Ti nas fibras de celulose sofre uma sensível redução nas amostras CEL3/TiO<sub>2</sub> e CEL4/TiO<sub>2</sub>, como mostra a Tabela 1. Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de que até 0,91 mmol de Ti, não há um completo recobrimento das fibras pelo óxido de titânio. Este fato é evidenciado também, através dos resultados de XPS, que serão apresentados.

A curva de TG da celulose (Figura 16a), obtida em atmosfera oxidante, concorda com os dados apresentados por PATAKY e colaboradores[23]. Ambos indicam que a estabilidade térmica da celulose vai até c.a. 473 K, havendo apenas uma pequena perda de massa, 3 %, que é atribuída a água fisicamente adsorvida.

Tabela 1 - Rendimento do  $\text{TiO}_2$  disperso na superfície da celulose

| amostras             | massa<br>celulose<br>/g | de Ti adicionado<br>/mmol | Ti incorporado<br>/mmol.g (%m/m) |
|----------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| CEL1/ $\text{TiO}_2$ | 5,0                     | 0,45                      | 0,16(34)                         |
| CEL2/ $\text{TiO}_2$ | 5,0                     | 0,91                      | 0,89(98)                         |
| CEL3/ $\text{TiO}_2$ | 5,0                     | 1,80                      | 1,25(69)                         |
| CEL4/ $\text{TiO}_2$ | 20,0                    | 9,06                      | 3,24(36)                         |

A partir daí, ocorre uma rápida e assintótica perda de massa, decompondo-se totalmente em 692 K. Já nas curvas dos compósitos CEL/ $\text{TiO}_2$  (Figura 16b-e), observa-se um teor de umidade um pouco maior, c.a. 5%, para as amostras, CEL2/ $\text{TiO}_2$ , CEL3/ $\text{TiO}_2$  e CEL4/ $\text{TiO}_2$ .

Esta característica está relacionada com a capacidade de adsorção do óxido de titânio disperso na superfície da celulose, que é citada por KENNEDY e CABRAL[20] como uma propriedade das formas rutilo e anatase. Outra característica observada na curva e, é uma redução mais lenta da massa, na qual somente em 749 K a fase orgânica, celulose, é totalmente pirolisada, ficando apenas o óxido de titânio que equivale a aproximadamente 18%. Muito próximo, portanto, dos 16% obtidos com a calcinação a 1173 K.

No entanto, não se deve atribuir a este fato uma maior estabilidade térmica do compósito, visto que, tanto nas amostras de celulose modificada, quanto na de celulose pura, as perdas de massa começam a ocorrer em c.a. 473 K. A diferença mais marcante está no intervalo de temperatura que vai de 573 a 693 K. Nesta faixa, enquanto a celulose se decompõe, desaparecendo totalmente, a massa residual dos compósitos, segue um processo de mudança estrutural que foi acompanhado por difração de raios-X, através de sucessivas calcinações de uma amostra da CEL4/ $\text{TiO}_2$ , desde 373 K a 973 K, como mostra a Figura 17A-F.

Os resultados das análises por DSC para as amostras de celulose modificada (Figura 18b-e), indicam que no intervalo de temperatura acima citado, as amostras passam por um processo exotérmico que é atribuído à cristalização do óxido de titânio (Figura 17A-F).

Os dados de DSC para a celulose de algodão (Figura 18a), mostram dois picos endotérmicos, que segundo NGUYEN e colaboradores[98], são devidos a formação de L-glicose. De acordo com esses mesmos autores, a partir das áreas dos picos endotérmicos podem ser estimados os percentuais de cristalinidade da celulose.

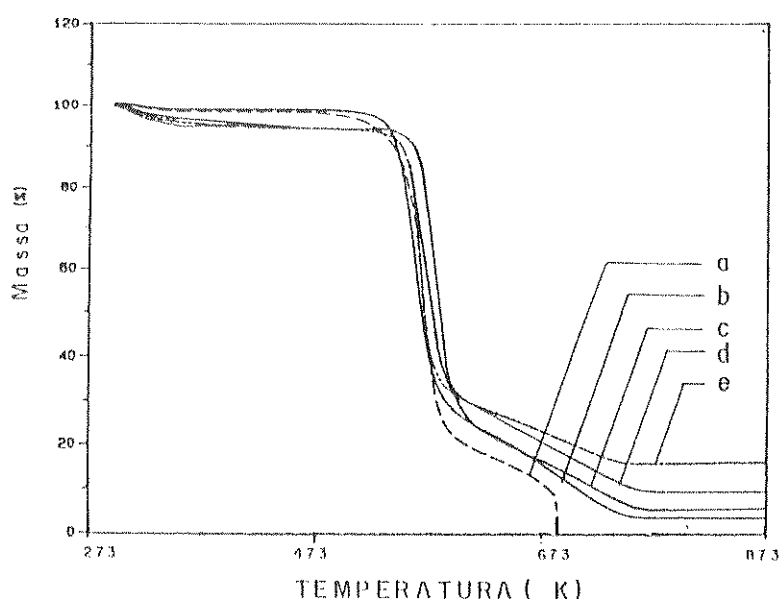


Figura 16. Curvas termogravimétricas (TG) : a) Celulose; b) CEL1/TiO<sub>2</sub>; c) CEL2/TiO<sub>2</sub>; d) CEL3/TiO<sub>2</sub>; e) CEL4/TiO<sub>2</sub>.

Porém, os cálculos são dificultados pela existência de um pico exotérmico que não pode ser facilmente distinguido dos demais, e que aparece entre os picos endotérmicos das curvas de DSC (Figura 17). De acordo com BASCH e

LEWIN[100], isto ocorre porque a L-glicose não sofre uma decomposição rápida, devido ao fato desta depender da espessura e da geometria das macromoléculas de celulose, e também em razão da existência de regiões estruturais intermediárias, citadas como "regiões paracristalinas"[153]. Portanto, os dois picos endotérmicos característicos da celulose poderiam ser atribuídos às duas regiões estruturais distintas, ou seja, as cristalinas e as amorfas.

Com base nas considerações feitas, as energias correspondentes a estes e ao pico exotérmico são estimados traçando-se uma senóide como linha base.

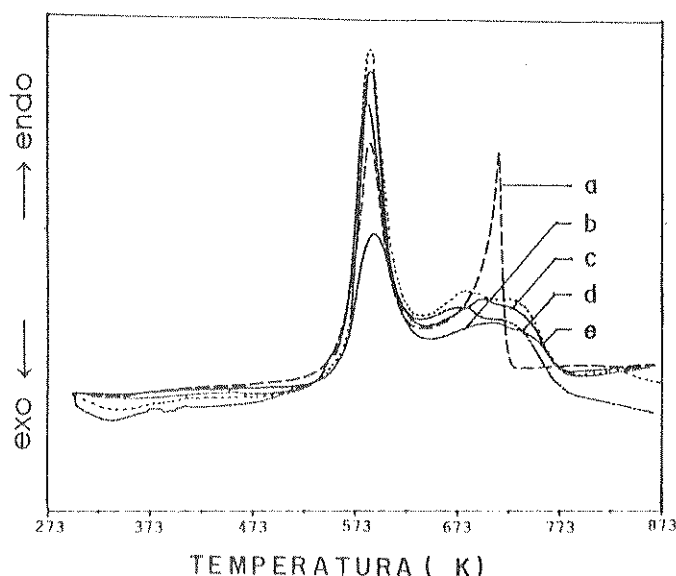


Figura 17. Curvas de Calorimetria Diferencial de Varredura(DSC): A) Celulose; B) CEL1/TiO<sub>2</sub>; C) CEL2/TiO<sub>2</sub>; D) CEL3/TiO<sub>2</sub>; E) CEL4/TiO<sub>2</sub>.

Os valores encontrados através da curva de DSC da amostra de celulose pura (Figura 17a), para os picos endotérmicos em 587 K e 713 K, são respectivamente, 674 KJ.mol<sup>-1</sup> e 374 KJ.mol<sup>-1</sup> de glicose. Considerando toda a área sob os picos a energia obtida foi de 1559 KJ.mol<sup>-1</sup> de glicose. Portanto,

subtraindo desta a soma das duas anteriores, o resultado é  $511 \text{ KJ.mol}^{-1}$ , que corresponde a energia aproximada do pico exotérmico.

A energia total oblida para as amostras CEL1/TiO<sub>2</sub>, CEL2/TiO<sub>2</sub>, CEL3/TiO<sub>2</sub> e CEL4/TiO<sub>2</sub> (Figura 17b-e), foram respectivamente,  $1070 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ,  $1034 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ,  $1031 \text{ KJ.mol}^{-1}$  e  $1288 \text{ KJ.mol}^{-1}$  de glicose. Esses valores menos os  $1559 \text{ KJ.mol}^{-1}$ , resultam respectivamente, em  $489 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ,  $525 \text{ KJ.mol}^{-1}$ ,  $528 \text{ KJ.mol}^{-1}$  e  $271 \text{ KJ.mol}^{-1}$  de glicose, os quais são atribuídos à entalpia de interação da celulose com o TiO<sub>2</sub>, e devido também, à contribuição da energia de cristalização.

Na Figura 17, observa-se também, que nas curvas b, c, d e e, o segundo pico endotérmico praticamente desaparece. Comparando este fenômeno com o ocorrido com a celulose pura (curva a), conclui-se que parte da L-glicose se decompõe ao mesmo tempo em que ocorre a cristalização da fase inorgânica, TiO<sub>2</sub>. Em termos de entalpias de reação, verifica-se que a quantidade de calor remanescente, para a amostra CEL4/TiO<sub>2</sub> por exemplo, referente a decomposição, é de  $103 \text{ KJ.mol}^{-1}$  de glicose.

Os resultados de difração, mostrados na Figura 18, revelam que a fase cristalina do compósito CEL4/TiO<sub>2</sub>, devida ao óxido de titânio, começa a se manifestar já a partir de 473 K, apresentando os parâmetros de difração da forma cristalina *rutilo*, com os valores de  $d(hkl)$  em 3,24(110), 1,68(211), 2,47(101), 1,62(227), 2,18(111), 2,29(200). No entanto, à medida que aumenta a temperatura de calcinação, 773 K, começam a aparecer outros picos com os valores de  $d(hkl)$  em 2,33(112), 2,37(004) e 3,52(101), que são característicos da *anatase*. A partir dessa temperatura, a intensidade desses picos aumenta e com isso, a forma cristalina do *rutilo*, começa a dar lugar a forma *anatase*, e esse processo prossegue até que em 973 K, predomina a fase *anatase*.

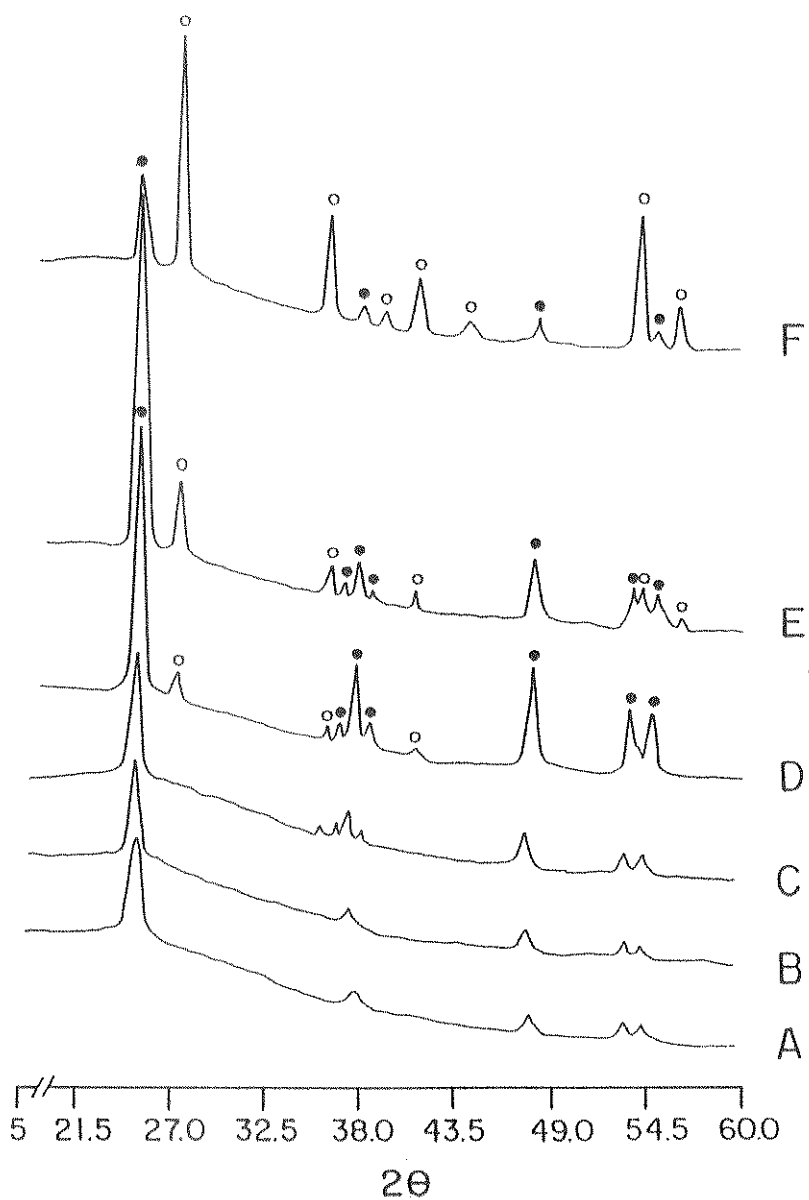


Figura 18 - Difratoograma da cristalização do óxido de titânio amorfo pela eliminação da fase orgânica, celulose. Queima de amostras do compósito CEL4/TiO<sub>2</sub> nas seguintes temperaturas: A) 473 K; B) 573 K; C) 673 K; D) 773 K; E) 873 K e F) 973 K. (●) rutilo e (○) anatase.

As áreas superficiais,  $S_{\text{BET}}$ , da celulose e do  $\text{TiO}_2$  são muito baixas, como mostra a Tabela 2. Porém, ao modificar a celulose com o cloreto de titânio, as áreas dos compósitos obtidos aumentaram consideravelmente a partir da adição de 0,91 mmol de Ti. O valor da área superficial da amostra com 1,2% m/m de óxido de titânio é um pouco maior que as áreas da celulose e do  $\text{TiO}_2$ , e isso se deve provavelmente, a pouca quantidade de  $\text{TiCl}_4$  utilizada, tendo com isso, provocado pouca modificação na superfície da celulose.

Tabela 2 - Medidas de área superficial

| Amostras             | $S_{\text{BET}}$ / m <sup>2</sup> / g |
|----------------------|---------------------------------------|
| Celulose             | 2                                     |
| $\text{TiO}_2$       | 2                                     |
| CEL1/ $\text{TiO}_2$ | 2                                     |
| CEL2/ $\text{TiO}_2$ | 19                                    |
| CEL3/ $\text{TiO}_2$ | 27                                    |
| CEL4/ $\text{TiO}_2$ | 46                                    |

A relação existente entre o aumento da quantidade de titânio adsorvido e os valores crescentes de áreas superficiais refletem o caracter amorfo da estrutura do óxido depositado sobre a celulose, e concordam com os graus de cristalinidade apresentados na Tabela 3.

As reduções nas áreas superficiais dos compósitos são provenientes de alterações das regiões amorfas e cristais da celulose, bem como do caráter amorfo apresentado pelo óxido de titânio depositado sobre a mesma. Já que a calcinação dos referidos compósitos, como visto anteriormente (Figura 17), provoca a cristalização do óxido residual.

Vários métodos para determinação da cristalinidade de celulose obtida de diversas fontes como algodão, rayon, lã e etc, são muito conhecidos[10,13,146,153-158]. Contudo, devido ao fato da celulose apresentar espaçamentos interatômicos da ordem do comprimento de ondas da radiação X, a difração é hoje a técnica mais utilizada para este fim[127].

CLARK e TERFORD[154] determinaram através da lei de Bragg os parâmetros de difração da fase amorfa da celulose, conseguindo com isso, estabelecer os ângulos que delimitam a região do difratograma correspondente ao aló amorfo, encontrando assim, o intervalo que vai de  $17,4^\circ$  a  $21,0^\circ$ . Esta determinação explica satisfatoriamente o background observado entre os picos (101) e (002) dos difratogramas experimentais mostrados na Figura 19.

Os difratogramas obtidos para as amostras A, B, C, D e E (Figura 19), revelam alterações na cristalinidade, que foram estimadas pelo desdobramento dos espectros, como descrito no item III.2.3.

Somando-se as áreas dos picos cristalinos e dividindo pela área total dos difratogramas obteve-se as cristalinidades que são apresentadas na Tabela 3. De acordo com os valores apresentados, observa-se uma redução de c.a. 18% e 33% para as amostras D e E, respectivamente, em relação à celulose pura. Portanto, a partir de 10% m/m de óxido de titânio (amostra D), a cristalinidade sofre uma sensível redução.

Tabela 3 - Grau de cristalinidade da celulose pura e modificada

| Amostras |                       | grau de cristalinidade<br>/% |
|----------|-----------------------|------------------------------|
| A        | Celulose              | $49 \pm 3$                   |
| B        | CEL1/TiO <sub>2</sub> | $50 \pm 3$                   |
| C        | CEL2/TiO <sub>2</sub> | $49 \pm 3$                   |
| D        | CEL3/TiO <sub>2</sub> | $40 \pm 3$                   |
| E        | CEL4/TiO <sub>2</sub> | $33 \pm 3$                   |

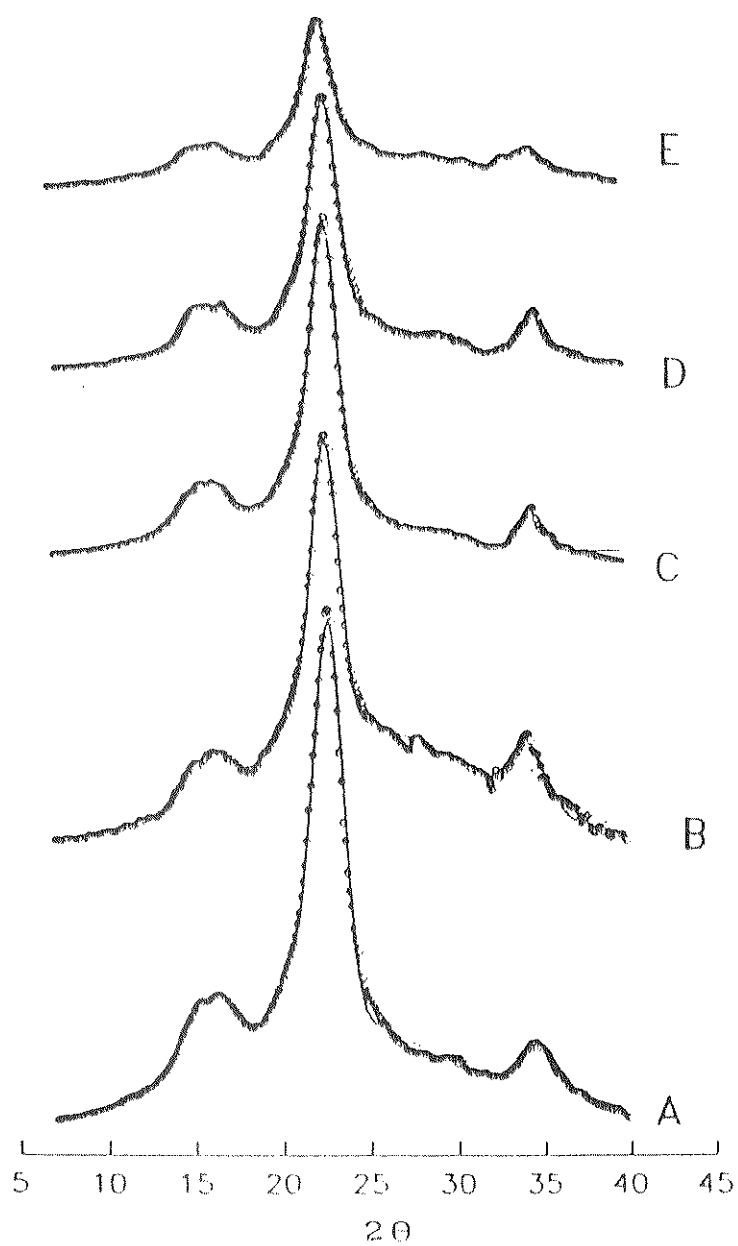


Figura 19. Difrátogramas de raios-X: A)  $\alpha$ -celulose; B) CEL1/TiO<sub>2</sub>; C) CEL2/TiO<sub>2</sub>; D) CEL3/ TiO<sub>2</sub> e E) CEL4/ TiO<sub>2</sub>.

As análises dos espectros de XPS da celulose pura mostrados na Figura 20, revelam que a energia de ligação do oxigênio O1s da celulose (designado O<sub>I</sub>) é de 532,1 eV. Já os espectros dos compósitos indicam o aparecimento de um segundo sinal (designado O<sub>II</sub>) em 530,5 eV, que corresponde a energia de ligação do oxigênio com o átomo de titânio. O sinal do O<sub>II</sub> aumenta de intensidade à medida que a quantidade de óxido aumenta., e a posição deste pico é similar ao observado para o TiO<sub>2</sub>(*anatase*), para o qual a energia de ligação é 530,5 eV[139]. Portanto, o oxigênio O<sub>II</sub> é atribuído ao óxido, e está ligado somente ao titânio, visto que, a interação deste com outra espécie, por exemplo o carbono, acarretaria numa mudança da densidade eletrônica sobre o mesmo, e como consequência, haveria um deslocamento na energia de ligação dos elétrons O1s.

Com relação as razões atômicas, os resultados obtidos dos espectros de XPS mostrados na Tabela 4, indicam que O<sub>II</sub>/Ti para as amostras CEL2/TiO<sub>2</sub>, CEL3/TiO<sub>2</sub> e CEL4/TiO<sub>2</sub>, não sofreram alterações. Porém, o fato delas apresentarem razão atômica três, implica na possível interação  $\equiv\text{C-O-Ti(OH)}_3$ . Acredita-se que a razão atômica O<sub>II</sub>/Ti=4,0 para a amostra CEL1/TiO<sub>2</sub> se deve, presumivelmente, a interações do tipo  $\equiv\text{Ti-O-H...O-T(OH)}_3$ . Os resultados da Tabela 4 mostram também, que a diminuição das razões atômicas, a partir de 7% m/m de óxido incorporado, ou seja, amostra CEL2/TiO<sub>2</sub>, indicam que desse valor em diante ocorre a formação de uma espessa camada de óxido sobre as fibras, que é evidenciada através de microscopia eletrônica de varredura.

A presença de TiO<sub>2</sub>, se caracteriza pelo aparecimento dos picos com energia de 458,5 e 464,3 eV atribuídos, respectivamente, aos elétrons 2p<sub>3/2</sub> e 2p<sub>1/2</sub> do titânio. MURATA e colaboradores[158] realizaram estudos do efeito de polarização e deslocamento químico por XPS em Perovskita e compostos correlatos, e observaram que tanto para rutilo quanto para a anatase as energias de ligação dos elétrons Ti2p<sub>3/2</sub> são idênticas e iguais a 459,0 eV, enquanto que para compostos do tipo MTiO<sub>3</sub> (M=Ca<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>) os deslocamentos nas energias de ligação desses elétrons variam de -0,3 a -0,6 eV. Esta diminuição de energia decorre de um aumento no comprimento da ligação Ti-O.

O mesmo verifica-se nos compósitos. Porém, nestes ocorre uma diminuição de 0,5 eV para CEL1/TiO<sub>2</sub>, é de até 1,0 eV para CEL4/TiO<sub>2</sub>, em relação à anatase.

O espectro para os elétrons do carbono nos subníveis C1s, Figura 20, mostra a presença de três tipos distintos de carbono, onde o de maior energia corresponde aos carbonos dos grupos, -C-OH e -C-O-C; o de energia intermediária aos carbono éster, O-C-O, e o pico de menor energia é devido a presença de hidrocarbonetos[159].

Tabela 4 - Dados de XPS para a celulose modificada

| Amostras              | TiO <sub>2</sub> | Ti 2p <sub>3/2</sub><br>/eV | razão atômica |      |
|-----------------------|------------------|-----------------------------|---------------|------|
|                       | %                |                             | O/Ti          | O/Ti |
| CEL1/TiO <sub>2</sub> | 1,2              | 458,5 ± 0,3                 | 3,8           | 4,1  |
| CEL2/TiO <sub>2</sub> | 7,0              | 458,6 ± 0,3                 | 4,7           | 3,1  |
| CEL3/TiO <sub>2</sub> | 10,0             | 458,8 ± 0,3                 | 4,2           | 3,0  |
| CEL4/TiO <sub>2</sub> | 16,0             | 458,0 ± 0,3                 | 5,3           | 2,9  |

\*energia de ligação

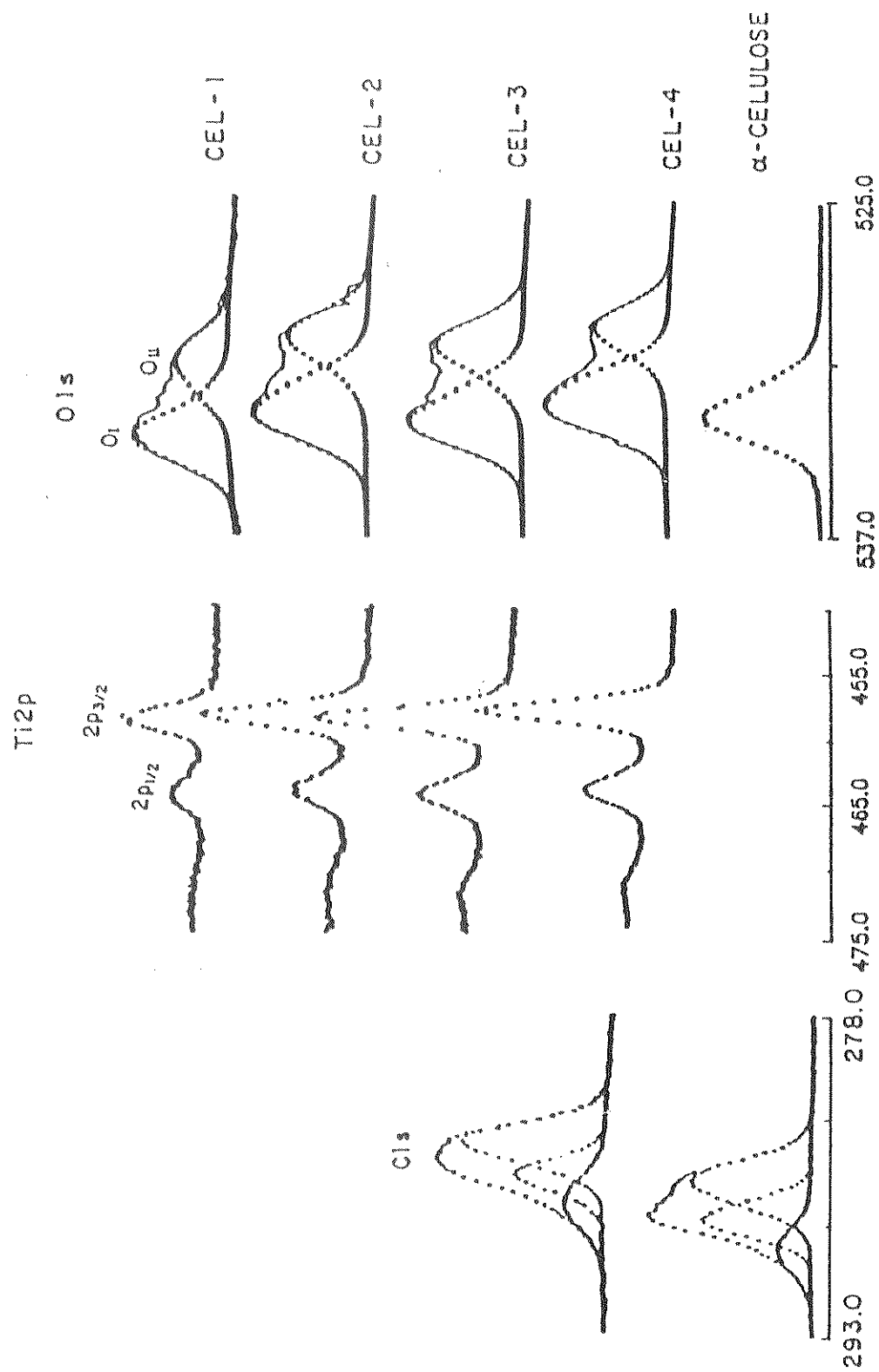


Figura 20. Espectro de XPS da celulose e da celulose modificada com o óxido de titânio.

As análises microscópicas da celulose foram feitas usando imagens geradas por elétrons secundários(SEI), que apresentam riqueza de detalhes morfológicos da superfície desse polímero. A imagem vista na Figura 21A indica que este material é fibroso, porém com formas retorcidas e de tamanhos bastante variados. Aspectos morfológicos mais detalhados da superfície são vistos na Figura 21B, que mostra a rugosidade da superfície.

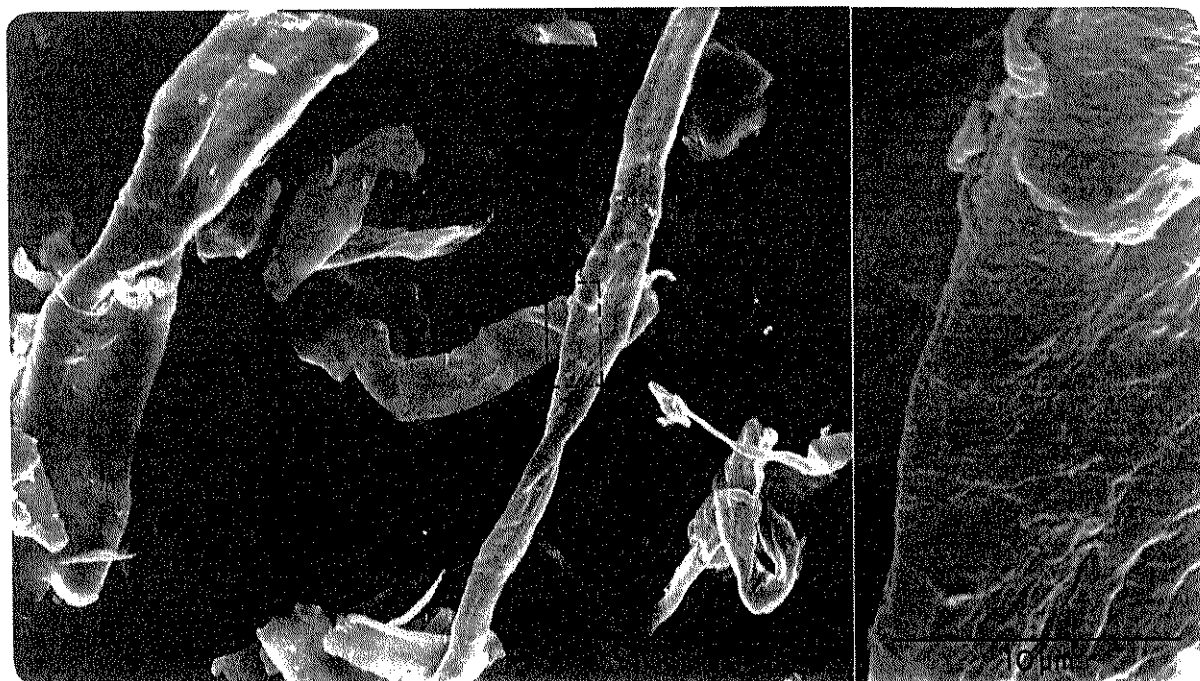


Figura 21 - Micrografias de varredura da celulose. A) imagem SEI (500X); B) imagem SEI (3500X).

As amostras de celulose modificada, também foram analisadas por microscopia de varredura (Figuras 22A-D), através da qual verifica-se que elas se distinguem basicamente na espessura da camada de óxido depositado sobre as fibras. Na CEL1/TiO<sub>2</sub> (Figura 22A), não se observou, através de imagem de elétrons secundários(SEI), a deposição em camada de óxido de titânio. No entanto, são vistas depressões típicas de ataque ácido degradativo. Na

Figura 22B é vista a formação de uma camada de óxido que se estende por toda a superfície da celulose. A partir dessa amostra visualizou-se um fenômeno de deposição, que condiz com o previsto nas análises de XPS. Isto se torna evidente quando é feita a comparação entre as imagens SEI da Figura 22B-D, pois em todas são vistos aumentos gradativos na espessura da camada de óxido depositado.

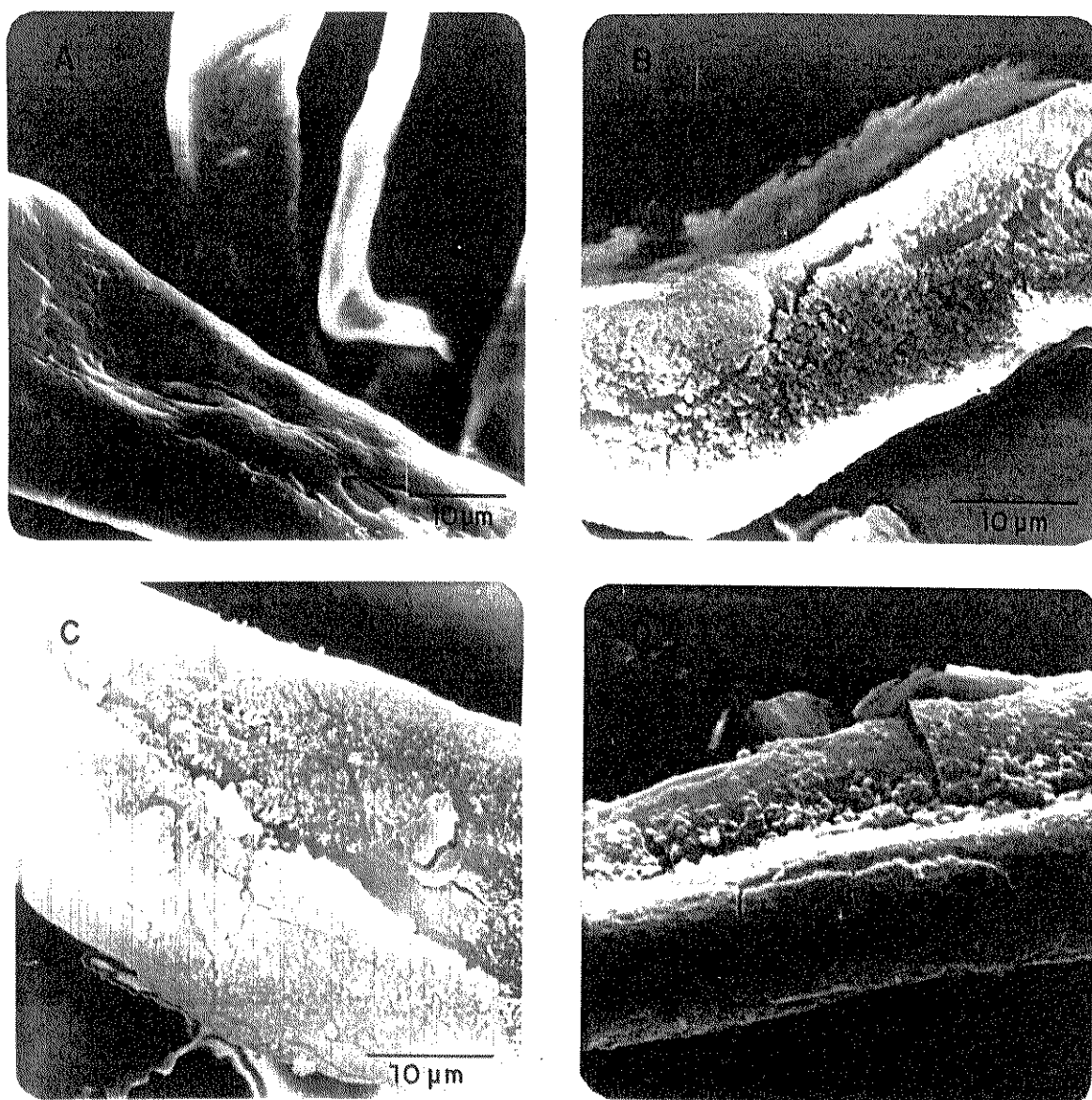


Figura 22 - Micrografias de varredura da celulose modificada. A) CEL1/TiO<sub>2</sub>; B) CEL2/TiO<sub>2</sub>; C) CEL3/TiO<sub>2</sub>; D) CEL4/TiO<sub>2</sub>

Fazendo-se o mapeamento da região mostrada nas Figuras 23A e B da amostra CEL4/TiO<sub>2</sub>, com microsonda de raios-X(EDS), obteve-se a imagem da Figura 23C e o espectro correspondente (Figura 24), na faixa de energia das linhas de emissão TiK $\alpha$  e TiK $\beta$ , que apresentam 4,52 e 4,93 keV, respectivamente.

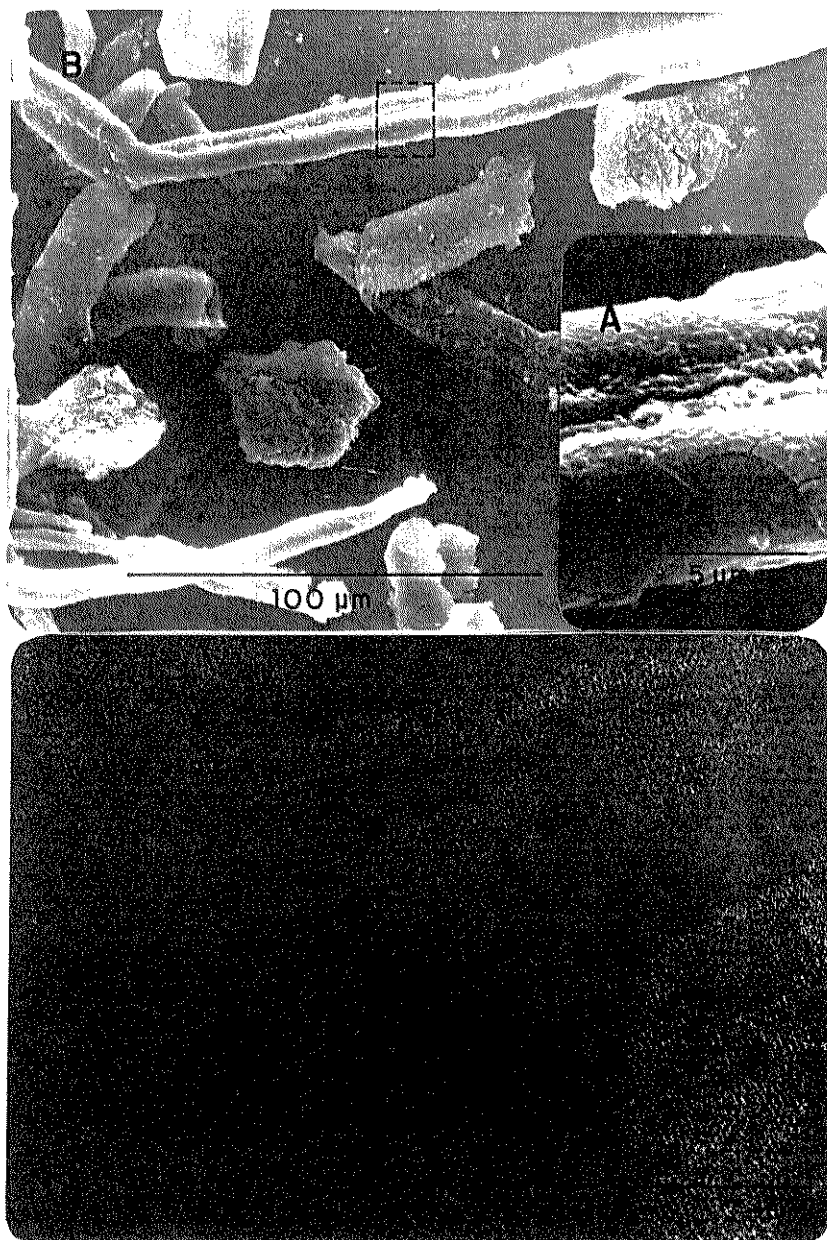


Figura 23 - Micrografias de varredura da CEL4/TiO<sub>2</sub>. A) imagem SEI (3500X); B) imagem SEI (500X); C) mapeamento do titânio por EDS, modo imagem (500X).

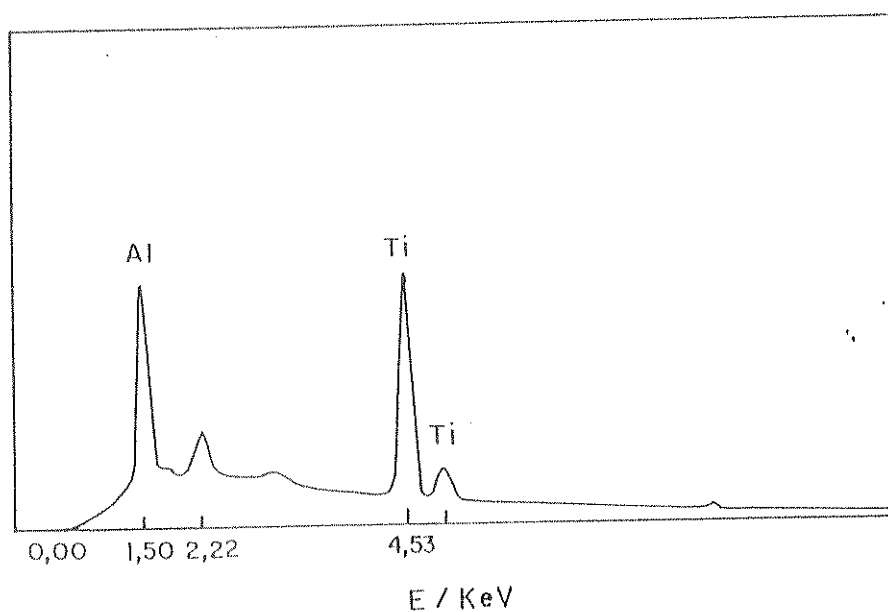


Figura 24. Espectro de EDS do compósito CEL4/TiO<sub>2</sub>. O pico para o Al refere-se ao suporte utilizada, que é constituído por esta espécie, e os que não estão indicados correspondem à metalização com ouro.

## V. PRÉ-CONCENTRAÇÃO E ANÁLISE DE CRÔMIO(VI)

### V.1. Resultados e discussão

#### V.1.1. Isoterma de adsorção de Cr(VI) pelo compósito em pH 1

Os valores de  $N_t$  determinados pela isoterma de adsorção (Figura 25), demonstram que a utilização de ácido nítrico (curva A) apresenta melhores resultados do que quando se utiliza ácido clorídrico, apesar do equilíbrio neste último caso ter sido atingido mais rapidamente (curva B).

Informações da literatura[29-31] sugerem que este fenômeno decorre de competição entre as espécies  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCrO}_4^-$  pelos sítios  $\equiv\text{Ti}^+$ , sendo que o mesmo não ocorre com o  $\text{NO}_3^-$ .

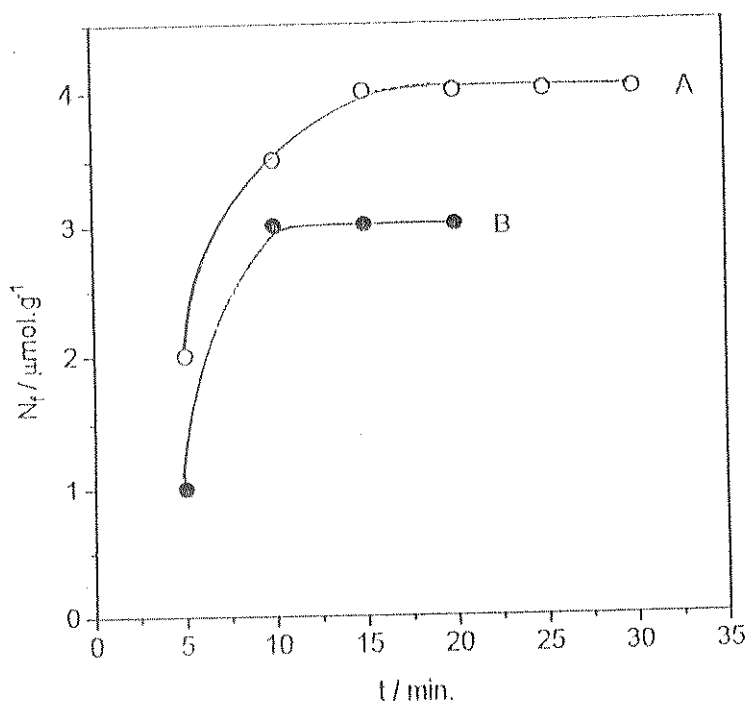


Figura 25 - Isoterma de adsorção de Cr(VI) sobre CEL4/TiO<sub>2</sub> em função do tempo, em pH 1. A) HNO<sub>3</sub> e B) HCl.

Análises através do microscópio eletrônico de varredura (Figura 26), revelam a distribuição da espécie Cr(VI) nos sítios  $\equiv\text{Ti}^+$  da superfície, reforçando a seletividade do óxido de titânio em relação ao Cr(VI). A presença de crômio na superfície foi confirmada através de análise por EDS, como mostra a Figura 26C, e o espectro de energia dispersiva para o  $\text{CrK}\alpha$  5,43 keV (Figura 27).

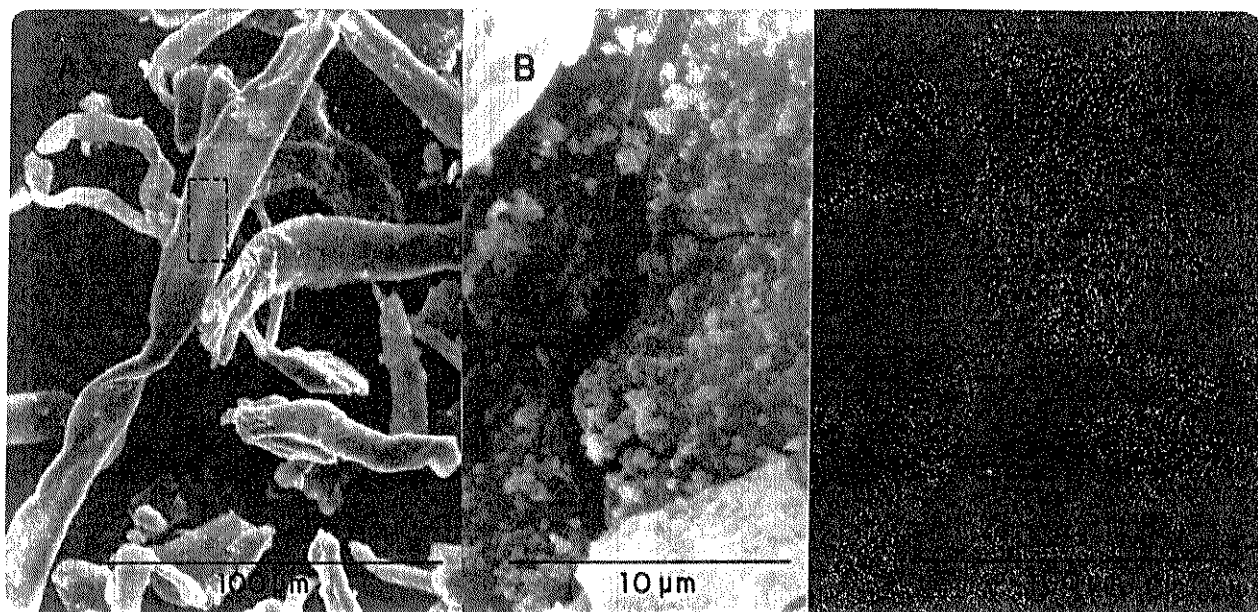
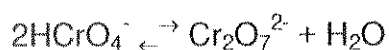


Figura 26 - Micrografias de varredura. A) Imagem SEI do Cr(VI) adsorvido na superfície da CEL/TiO<sub>2</sub> (75X); B) Imagem SEI (3500X), os pontos claros indicam a presença de partículas de Cr(VI) adsorvido; C) Mapeamento por EDS(75X).

Entre os fatores que afetam a velocidade de adsorção do Cr(VI) estão a força iônica(*I*) e a constante de equilíbrio(*K*)[160-162]. A espécie dicromato em solução aquosa apresenta o equilíbrio:



Segundo TANDON e colaboradores[161], para  $I < 0,022 \text{ M}$  o valor da constante de equilíbrio a  $25^\circ\text{C}$  será 33,3. Como o experimento realizado para verificar a velocidade com que a adsorção atinge o equilíbrio, ocorreu em  $\text{pH} \leq 1$ , deslocando o equilíbrio no sentido de formação da espécie  $\text{HCrO}_4^-$ .

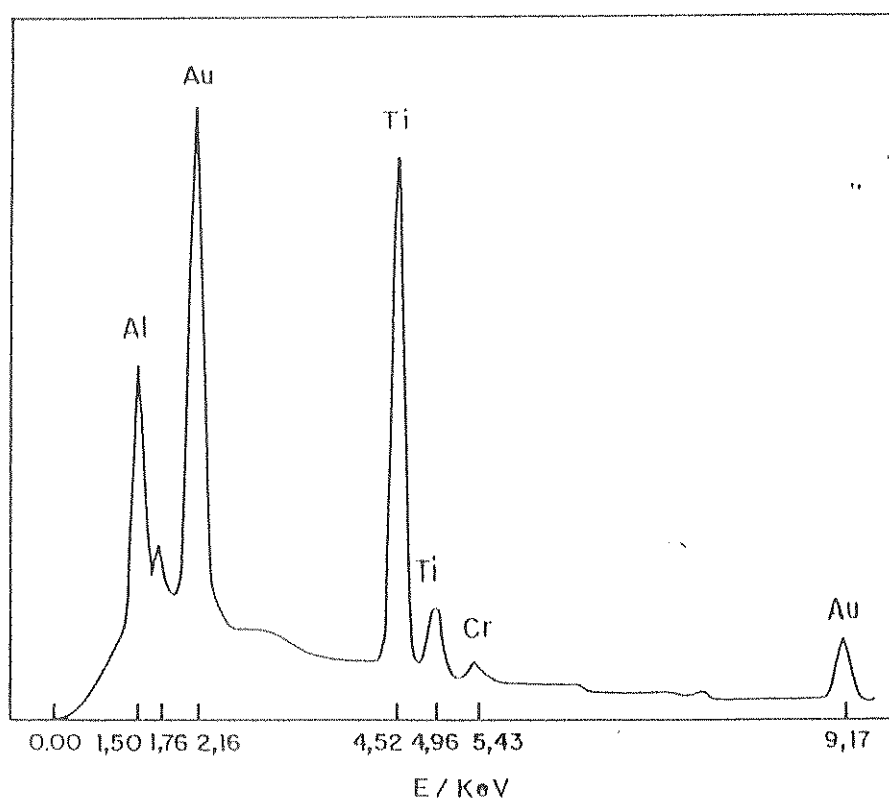


Figura 27 - Espectro do Cr(VI) obtido através de mapeamento por EDS(modos análise). Os picos do Al e do Au, referem-se respectivamente, ao suporte e à metalização.

As condições estabelecidas nas medidas do presente trabalho favoreceram a adsorção de Cr(VI), que atingiu o equilíbrio em um tempo relativamente curto, c.a. 10 minutos, para o ácido clorídrico e c.a. 15 minutos para o ácido nítrico (Figura 25). Quando se compara esses resultados com valores da literatura[29,30], constata-se que em muitas reações são necessárias entre 24-96 h para o  $\text{TiO}_2$  hidratado alcançar o equilíbrio na adsorção de Cr(VI). Esta característica faz com que os compósitos obtidos possam ser utilizados em microcolunas em linha com sistema FIA.

### V.1.2. Influência do pH

O processo de adsorção de Cr(VI) é dependente do pH, como apresentado na Figura 28, que mostra o gráfico de  $N_t$  em função do pH das soluções. Abaixo de pH 2, este processo está associado à formação de sítios ácidos na superfície do compósito[26]. Isto ocorre através da dissociação dos grupos  $\equiv\text{TiOH}$  pela ação dos cátions hidrônios provenientes dos ácidos nítrico e clorídrico distintamente, e que podem ser ilustrado da seguinte forma:



Esta dependência se deve ao efeito do pH das soluções aquosas de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ , que na faixa de pH 1-8, estão presente as seguintes espécies[161,163]:  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ,  $\text{HCrO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ , e que foram observadas em três regiões de pH, nas quais predomina uma ou outra espécie, com o seguinte comportamento: (i)  $\text{pH} \leq 0$ ,  $\text{H}_2\text{CrO}_4$  é a espécie predominante; (ii) pH 2 a 6, são encontradas as espécies  $\text{HCrO}_4^-$  e  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ; (iii)  $\text{pH} > 6$ , a espécie  $\text{CrO}_4^{2-}$  é a que predomina.

Fazendo-se uma análise na faixa que inclui a concentração  $5 \times 10^{-4}$  M de Cr(VI), verifica-se as seguintes proporções molares nos pH's 1 e 2 para ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ,

$\text{HCrO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ ):  $\text{pH}=1$ ,  $10^{-3} \text{ M}$  (1 : 16,7 : 9,2) e  $10^{-4} \text{ M}$  (1 : 160 : 89). Para  $\text{pH}=2$ ,  $10^{-3} \text{ M}$  (1,6 : 18,3 : 1) e  $10^{-4}$  (1 : 94 : 5). A espécie  $\text{CrO}_4^{2-}$  não existe nesses valores de  $\text{pH}$ , e a abundância da espécie  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  é muito baixa[161]. Com isso, a variação de  $N_f$  com o  $\text{pH}$  da solução, mostrada na Figura 28, pode ser representada pela seguinte equação:

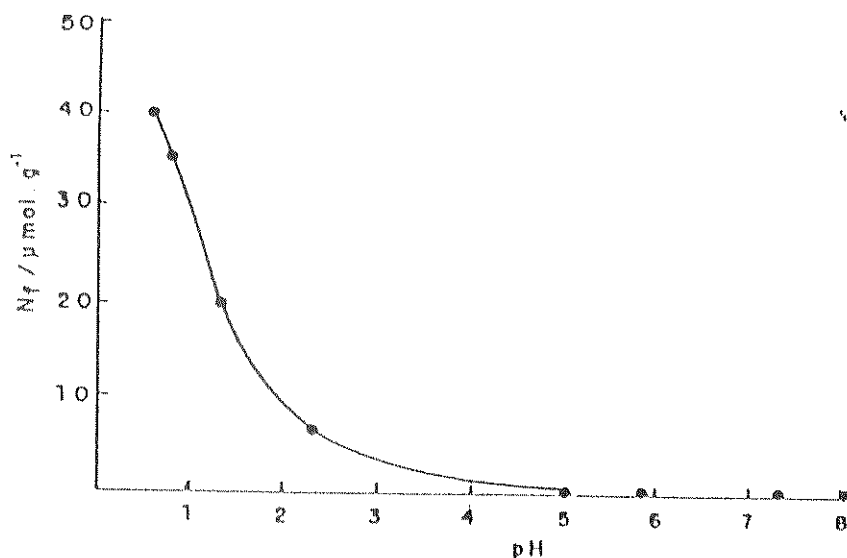


Figura 28 - Adsoção de Cr(VI) vs pH.

onde,  $\equiv\text{TiOH}$  corresponde ao óxido de titânio hidratado disperso na superfície da celulose. Nestas condições a reação é deslocada para a direita com a formação

da espécie iônica  $\equiv\text{Ti}^+\text{HCrO}_4^-$ . E em c.a. pH 5, não ocorre mais nenhuma adsorção.

### V.1.3. Isotermas de adsorção de Cr(VI) em função da concentração de equilíbrio no sobrenadante

A capacidade de adsorção desse material, determinada em pH 1 foi de  $40 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , Figura 29, curva A. A adsorção de Cr(VI) pela celulose pura, curva B, nas mesmas condições, é muito inferior, não ultrapassando  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ .

Analisando a curva B, verifica-se desvios aleatórios nos valores de adsorção, que indica prováveis reações de oxidação, embora muito reduzidas, da celulose pelo dicromato de potássio. Portanto, o valor  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , não significa que tenha ocorrido um fenômeno de adsorção.

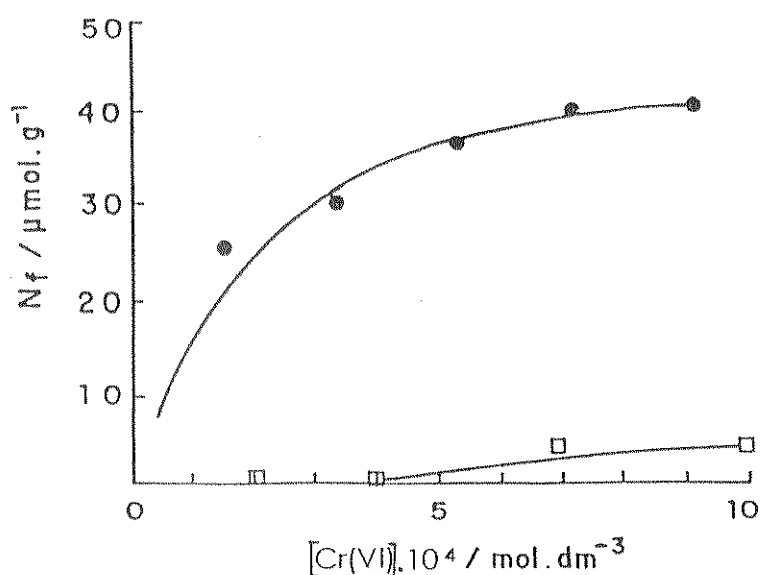


Figura 29 - Isotermas de adsorção de A) CEL4/TiO<sub>2</sub> e B) Celulose pura, em pH 1.

#### V.1.4. Determinação de Cr(VI) em análise por injeção em fluxo

A análise por injeção em fluxo na determinação de crômio, é atualmente muito utilizada[121-123,127,130,164].

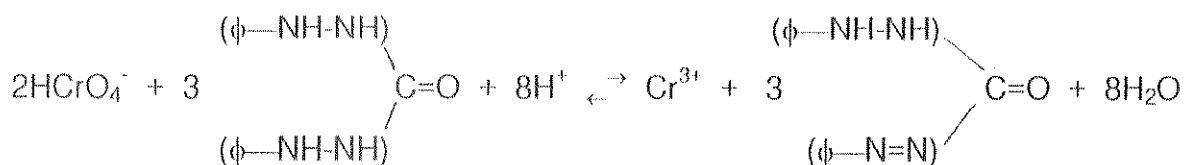
Em vista dos sucessivos resultados positivos alcançados por esta técnica na determinação de crômio, procurou-se conciliar suas muitas vantagens com as propriedades físicas e químicas do compósito obtido. Conforme discutido anteriormente, CEL/TiO<sub>2</sub> apresenta características que são adequadas à determinação de Cr(VI), pois em meio ácido mostrou-se eficiente na sua adsorção, além de ser seletivo nessas condições.

A Tabela 5 apresenta os resultados obtidos do diagrama FIA, (Figura 30), para a calibração da adsorção de Cr(VI) pela CEL3/TiO<sub>2</sub> utilizada como carga na coluna de pré-concentração.

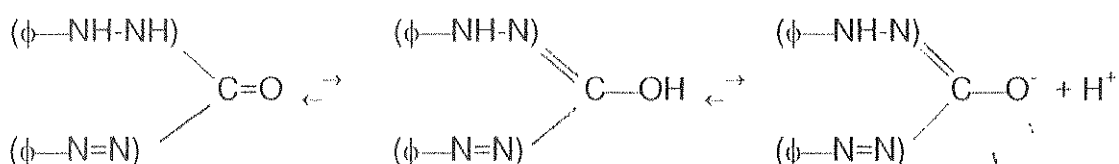
Os resultados mostram que para todos os tempos de injeção, 10, 40, 70 e 100 s, houve excelente reprodutibilidade. Este experimento foi realizado numa só etapa, sem haver troca da amostra contida na coluna. Isso levou a concluir que este material suportaria vários ciclos de operação.

São encontradas muitas citações na literatura sobre a determinação de crômio em níveis de traços[165,166]. Ocorre no entanto, que para a determinação dessa espécie em concentrações muito reduzidas, torna-se necessário a utilização de técnicas muito sensíveis[120,167-169] e de métodos de complexação[147,151,152]. Elleouet e colaboradores[168] apresentaram recentemente, resultados da especiação de Cr(VI), para a qual utilizaram método eletroquímico que incluiu a complexação do crômio com 1,4-difenilcarbazida(DFC).

(Equação I)



(Equação II)



$\phi$  = radical fenila

Em meio ácido Cr(VI) oxida difenilcarbazida a difenilcarbazona, que devido a suas propriedades ácidas ( $\text{pK}_2 = 9,2$ ) sofre tautomerização, como indicado nas equações I e II. Estes processos, são portanto, altamente dependentes do pH da solução e da concentração de Cr(VI).

Construindo-se um gráfico, a partir dos resultados da Tabela 5, foi obtida a equação  $A = 1,304m + 0,002$ , cujo coeficiente de correlação linear é 0,999. Já a precisão do método em diferentes concentrações de Cr(VI), foi obtido através de medidas em replicata, 10 vezes, de soluções distintas, de concentrações 10, 30 e 50 ppb, que foram injetadas na coluna com fluxo de  $3,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . Os valores de dpr(desvio padrão relativo), mostrados na Tabela 5, foram obtidos através da expressão  $\text{dpr} = \{[\sum(X_i - X)^2]^{1/2} / n \cdot 100\} / X$ , onde,  $X_i$ =valores de absorbância obtidos,  $X$ =média aritmética dos valores obtidos e  $n$ =número de dados. Os resultados foram avaliados comparando com os resultados obtidos na

separação e pré-concentração de Cr(VI) em uma microcoluna empacotada com sílica gel modificada com  $\text{ZrO}_2$  em linha com o sistema FIA[127]. Verificou-se que a solução de NaOH utilizada como eluente não atacou a celulose, ao contrário do que ocorreu com a sílica gel.

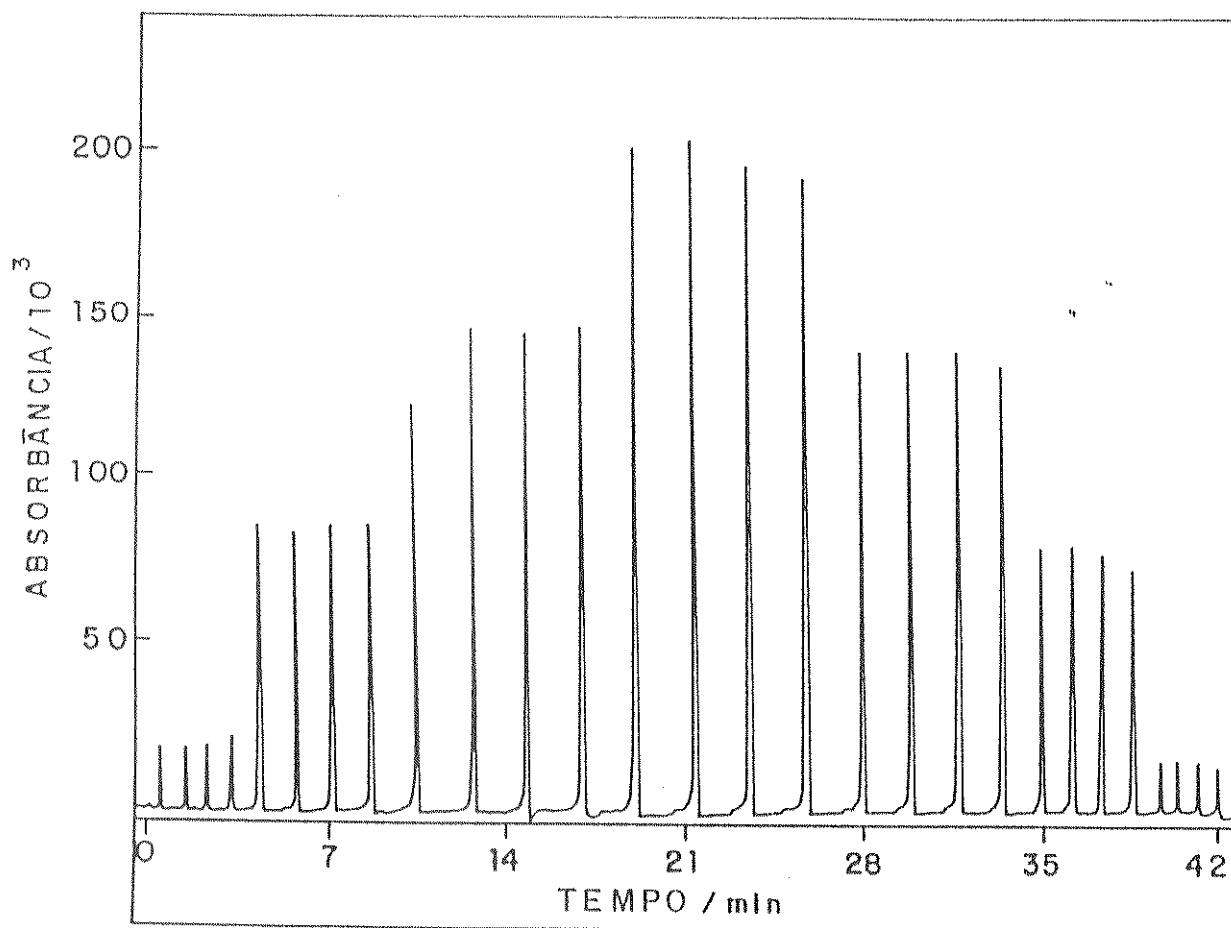


Figura 30 - Determinação de Cr(VI) usando o sistema da Figura 14. Da direita para a esquerda: replicatas de quatro injeções de solução Cr(VI) 50 ppb, com os tempos de injeção de 10, 40, 70, 100, 70, 40 e 10 segundos.

Tabela 5 - Dados da curva de calibração da adsorção de Cr(VI) pela CEL3/TiO<sub>2</sub>, e o desvio padrão relativo(dpr)

| Tempo de Injeção<br>/s         | VOLUME Injetado<br>/cm <sup>3</sup> | Massa de Cr(VI)<br>/µg | Absorbância |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------|-------------|
| 10                             | 0,53                                | 0,027                  | 0,019       |
| 40                             | 2,12                                | 0,106                  | 0,080       |
| 70                             | 3,71                                | 0,186                  | 0,140       |
| 100                            | 5,30                                | 0,265                  | 0,202       |
| Concentração de Cr(VI)<br>/ppb |                                     |                        | dpr<br>%    |
| 20                             | 50                                  |                        | 3,37        |
| 33                             | 30                                  |                        | 2,44        |
| 100                            | 10                                  |                        | 6,44        |

velocidade de fluxo: 3,2 mL/min

#### V.1.5. Seletividade do compósito na adsorção de Cr(VI)

Com a finalidade de estudar a seletividade do presente material para separar e determinar Cr(VI), foram realizados estudos de interferentes através da passagem de misturas binárias de 0,1 ppm de Cr(VI) e o íon interferente em várias concentrações, em uma coluna contendo o compósito. Os valores obtidos para as medidas de interferência são apresentados na Tabela 6. O fator de interferência foi calculado através da razão da absorbância de Cr(VI) na solução binária e da solução de Cr(VI) 0,1 ppm.

A interferência devida aos cátions Cr(III), Cu(II), Mn(II), Hg(II) e Fe(III) só foi observada a partir da razão de concentração [interferente]/[Cr(VI)] = 50/1. Não foram observadas interferências significativas para a razão 10/1. Com exceção do Fe(III), pois devido a sua forte tendência em sofrer hidrólise, apresentou interferência bastante elevada em comparação com os demais cátions, para a razão 50/1[170].

Tabela 6 - Dados da interferência de íons na adsorção de Cr(VI)\* pela CEL3/TiO<sub>2</sub>

| Íon                           | Adicionado como                   | [Interferente]/[Cr(VI)] | Fator de Interferência |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Cr <sup>III</sup>             | Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> | 50                      | 0,93                   |
|                               |                                   | 10                      | 1,07                   |
| Cu <sup>II</sup>              | CuCl <sub>2</sub>                 | 50                      | 1,01                   |
| Mn <sup>II</sup>              | MnCl <sub>2</sub>                 | 50                      | 0,85                   |
|                               |                                   | 10                      | 1,13                   |
|                               |                                   | 1                       | 1,10                   |
| Hg <sup>II</sup>              | HgCl <sub>2</sub>                 | 50                      | 0,83                   |
|                               |                                   | 10                      | 1,08                   |
|                               |                                   | 1                       | 0,99                   |
| Fe <sup>III</sup>             | FeCl <sub>3</sub>                 | 10                      | 0,94                   |
|                               |                                   | 1                       | 1,00                   |
| V <sup>V</sup>                | NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>   | 50                      | 1,28                   |
|                               |                                   | 10                      | 1,10                   |
|                               |                                   | 1                       | 1,00                   |
| Mo <sup>VI</sup>              | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub>  | 10                      | 1,16                   |
|                               |                                   | 1                       | 0,99                   |
| SO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>    | 10                      | 0,85                   |
|                               |                                   | 1                       | 1,00                   |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>  | 10                      | 0,76                   |
|                               |                                   | 1                       | 0,99                   |

\* [Cr<sup>VI</sup>] = 0,1 ppm

As observações feitas com relação aos ânions, é que estes interferem mais que os cátions, em virtude da superfície do composto ser positivamente carregado em pH 1, já que isto provoca competição destes com o HCrO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Foram observadas fortes interferências das espécies, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, sendo

respectivamente, 0,85 e 0,76 para a razão molar [interferente]/[Cr(VI)] = 10/1. No entanto, não se verificou interferência para a razão 1/1.

#### V.1.6. Determinação de Cr(VI) em águas naturais

Visando verificar a utilidade deste material como adsorvente específico para Cr(VI), foram coletadas amostras de águas da lagoa do Taquaral (amostra A) e da lagoa da Unicamp (amostra B), com ajuste dos pH's. As análises destas amostras usando o método descrito anteriormente[127], indicaram a ausência da espécie Cr(VI). Estas foram então, dopadas com Cr(VI) e em seguida analisadas através da técnica de injeção em fluxo, cujas respostas são apresentadas no diagrama FIA da Figura 31. As amostras também foram analisadas espectrofotometricamente usando a 1,5-difenilcarbazida. Os resultados são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 - Comparação entre os resultados das análises de águas naturais dopadas com crômio(VI)

| Amostras | Cr(VI)/ppm |            |
|----------|------------|------------|
|          | método DPC | método FIA |
| A        | 0,076      | 0,072      |
| B        | 0,028      | 0,027      |

A - lagoa do Taquaral; B- lagoa da Unicamp

A comparação entre os resultados obtidos pelos dois métodos indica que este material pode ser usado com vantagens na análise de Cr(VI) em águas naturais.

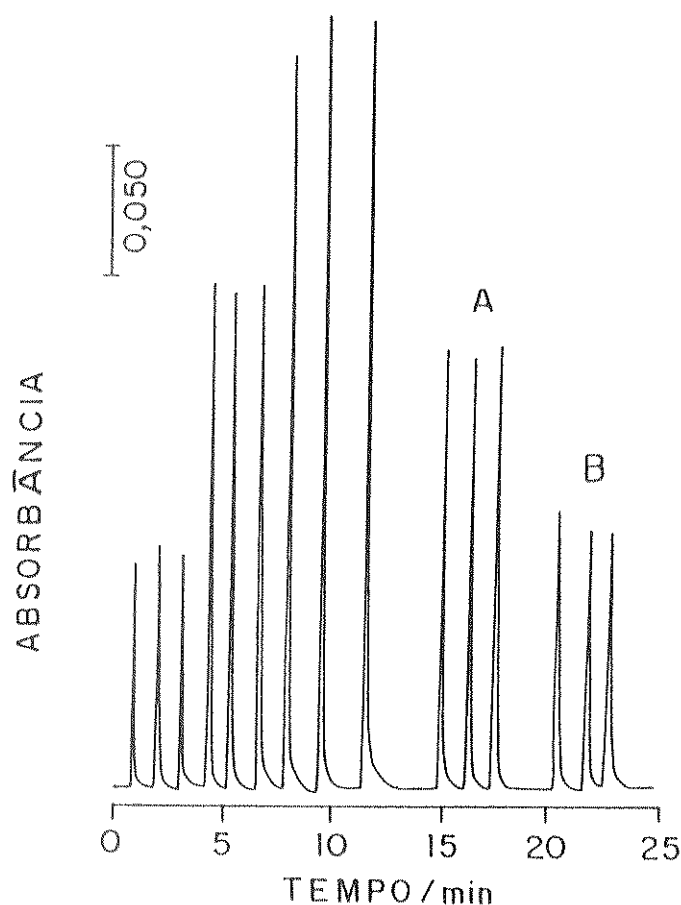


Figura 31 - Diagrama FIA para a determinação seletiva de Cr(VI) em água de lagoas. (A) lagoa do Taquaral; (B) lago do campus universitário.

Os valores expressos na Tabela 7, indicam uma grande redução na concentração do Cr(VI), adicionado nas amostras de águas naturais em quantidade suficiente para se obter 500 ppb dessa espécie. Porém, após ajustar o pH para valores inferiores a dois, e dopá-las com solução de dicromato de potássio, verificou-se que as concentrações sofreram reduções em aproximadamente 85% e 95%, para as amostras A e B, respectivamente. Estas excessivas reduções são devidas, provavelmente, ao elevado teor de matéria orgânica presente nas águas analisadas.

## **VI. IMOBILIZAÇÃO DE PEROXIDASE DE RAIZ FORTE NA SUPERFÍCIE DO COMPÓSITO CELULOSE/ÓXIDO DE TITÂNIO(IV) HIDRATADO**

### **VI.1. Resultados e discussão**

#### **VI.1.1. Características da Enzima Imobilizada**

A imobilização da HRP na superfície da CEL2/TiO<sub>2</sub>, foi facilmente obtida, em virtude da pronta adsorção pela fase sólida. E ocorreu, provavelmente, pela interação dos grupos amino e carboxilatos terminais dos aminoácidos, responsáveis pela formação da cadeia polipeptídica, com os sítios ácidos de Brønsted representados pelos grupos  $\equiv\text{TiOH}$  da superfície da matriz.

A quantidade de enzima imobilizada foi de *c. a.* 37%. Porém, a retenção de atividade foi de 17%, ou seja, apenas 0,0097 U.mg<sup>-1</sup> apresentaram atividade catalítica. São diversas as possíveis razões para essa drástica redução de atividade. No entanto, as mais cabíveis seriam: efetiva interação entre a enzima e a matriz, fazendo com que os sítios catalíticos mais próximos da superfície ficassem inacessíveis ao pirogalol e ao peróxido de hidrogênio; aglomeração de enzima em regiões irregulares da superfície, como as junções entre as fibras e grandes fragmentos de CEL2/TiO<sub>2</sub>.

Embora tenha sido observada redução da atividade em relação à quantidade de enzima imobilizada, não se verificou (Figura 32), além dos *c. a.* 13% de queda na atividade nos primeiros cinco dias, qualquer outra perda da atividade retida no decorrer de 60 dias.

Análises microscópicas de varredura revelaram através de imagens topográficas (Figura 33A eB), a formação de aglomerados enzima-matriz, que indicam grande concentração de sítios de Ferriprotoporfirina IX. A varredura de outras regiões da superfície da mesma amostra de CEL2/TiO<sub>2</sub> (Figura 34B), mostra a enzima mais dispersa, formando finos novelos. Ampliando o campo visual (Figura 34A), e mapeando com energia dispersiva de raios X (EDS), na região de fluorescência do FeK $\alpha$ , que é de 6,45 keV, obteve-se uma imagem (Figura 34C) que mostra alta dispersão da enzima, recobrando toda a superfície da matriz.

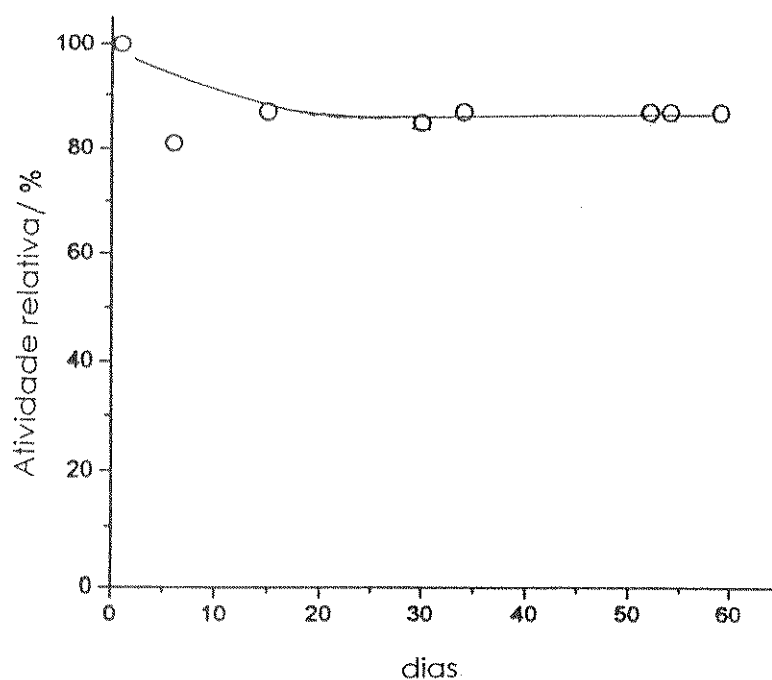


Figura 32 - Atividade relativa de HRP/ CEL2/TiO<sub>2</sub>

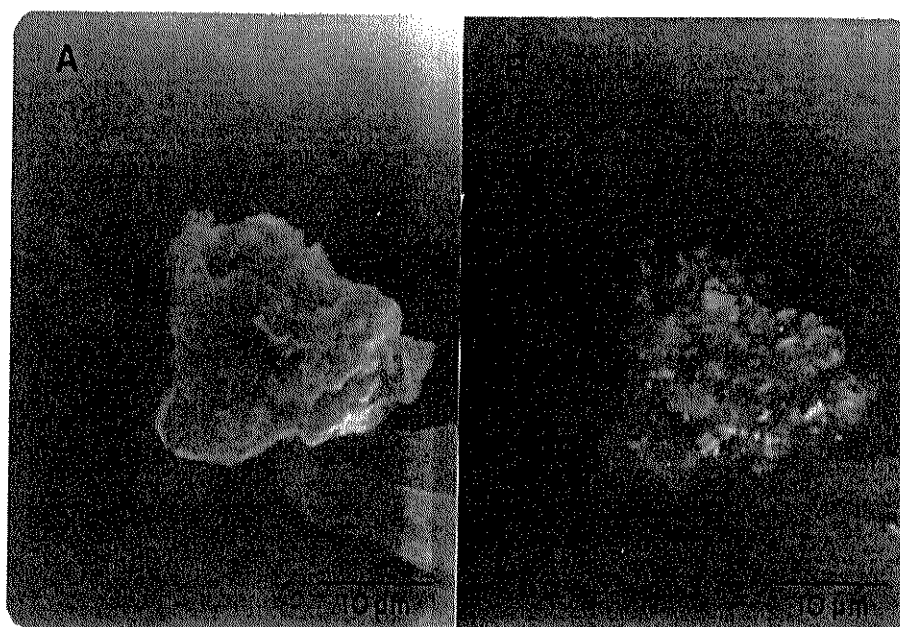


Figura 33 - Micrografias de varredura de um fragmento de CEL2/TiO<sub>2</sub> contendo a HRP imobilizada (A) Imagem SEI (ampliação de 1500X); (B) Imagem BEI (ampliação de 1500X). Os pontos claros vistos na imagem da B indicam a presença de ferriprotoporfirina IX.

O resultado analítico desse mapeamento está retratado no espectro da Figura 35.

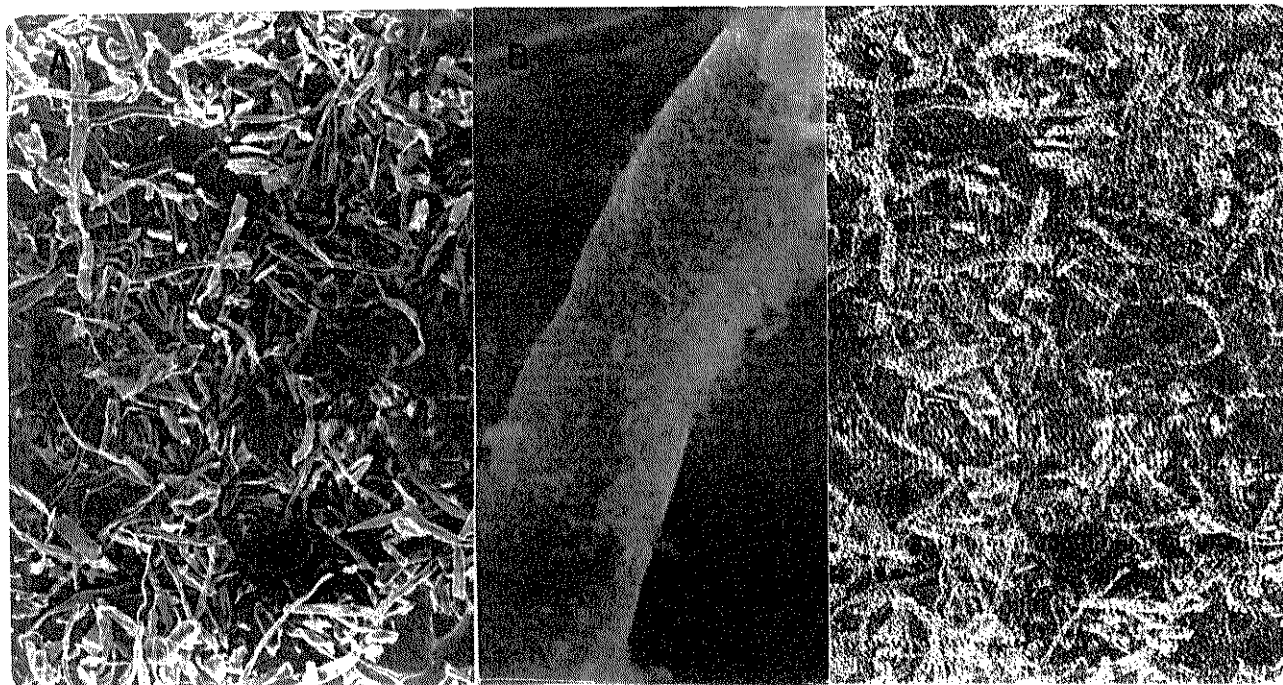


Figura 34 - Micrografias de varredura de CEL2/TiO<sub>2</sub> contendo a HRP imobilizada.

(A) Imagem SEI (ampliação de 75X); (B) Imagem SEI (ampliação 1500X); (C) mapeamento EDS modo imagem (ampliação de 75X).

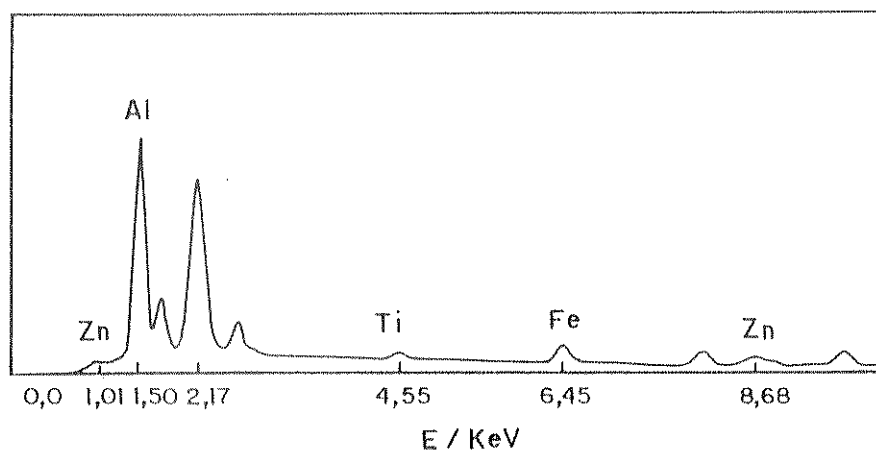


Figura 35 - Espectro de energia dispersiva de raios X do FeK $\alpha$  da ferriprotoporfirina IX. Com excessão dos picos das espécies Ti e Fe, a demais são referêntes aos constituintes do suporte utilizado.

A resposta espectrofotométrica foi inicialmente testada na ausência de enzima, não se verificando nenhuma resposta catalítica que pudesse ser atribuída à interação do peróxido com o titânio. Com isso, pode-se concluir que nas condições de fluxo e concentração de pirogalol e peróxido utilizadas, não se espera nenhuma interferência no processo enzimático.

Fazendo-se testes pela injeção de volumes fixos, de 10 a 80  $\mu\text{L}$ , de pirogalol 40 mM e peróxido de hidrogênio 15 mM, com registro da absorbância e do tempo, simultaneamente (Figura 36A), foram obtidos os diagramas de injeção em fluxo para os respectivos volumes de loop. Integrando as áreas dos picos e construindo um gráfico em função dos volumes foi obtida a curva da Figura 36B, que mostra não haver proporcionalidade entre as respostas espectrofotométricas e as quantidades de substrato injetadas no reator, pois a quantidade relativa de produto formado, diagrama FIA, diminui com o aumento da quantidade de substrato. Nesse experimento verificou-se que o loop com 60  $\mu\text{L}$  de capacidade volumétrica, nas condições de fluxo e concentrações empregados, indicou a saturação da capacidade de conversão, definindo este como o volume mais adequado.

Cálculos dos desvios padrões para os volumes de todos os loops utilizados, são apresentados na Tabela 8, e indicam que para uma série de 10 medidas de atividade catalítica utilizando o mesmo loop, os desvios apresentados são considerados bastante razoáveis, tendo em vista as condições nas quais foram determinados. O loop de 60  $\mu\text{L}$  apresentou um dos menores desvios, que se refletiu em todas as medidas de atividade catalítica.

Tabela 8 - Determinação dos desvios padrões relativos para a série de loops.

| LOOP           | x  | Volume<br>/ul | Extensão<br>/cm | n(PIROGALOL)<br>/umoles | ABSORB<br>MÉDIA | dp/<br>% |
|----------------|----|---------------|-----------------|-------------------------|-----------------|----------|
| L <sub>1</sub> | 10 | 10            | 2,2             | 0,40                    | 0,077           | 3,1      |
| L <sub>2</sub> | 10 | 20            | 4,2             | 0,80                    | 0,119           | 5,0      |
| L <sub>3</sub> | 10 | 29            | 7,2             | 1,16                    | 0,145           | 5,8      |
| L <sub>4</sub> | 10 | 40            | 10,6            | 1,60                    | 0,165           | 7,5      |
| L <sub>5</sub> | 10 | 50            | 10,5            | 2,00                    | 0,203           | 3,8      |
| L <sub>6</sub> | 10 | 60            | 12,9            | 2,40                    | 0,219           | 3,8      |
| L <sub>7</sub> | 10 | 68            | 18,0            | 2,72                    | 0,515           | 5,8      |
| L <sub>8</sub> | 10 | 80            | 17,0            | 3,20                    | 0,566           | 3,3      |

[PIROGALOL]=40 mM; m=4 mg de HRP/CEL/TiO<sub>2</sub>

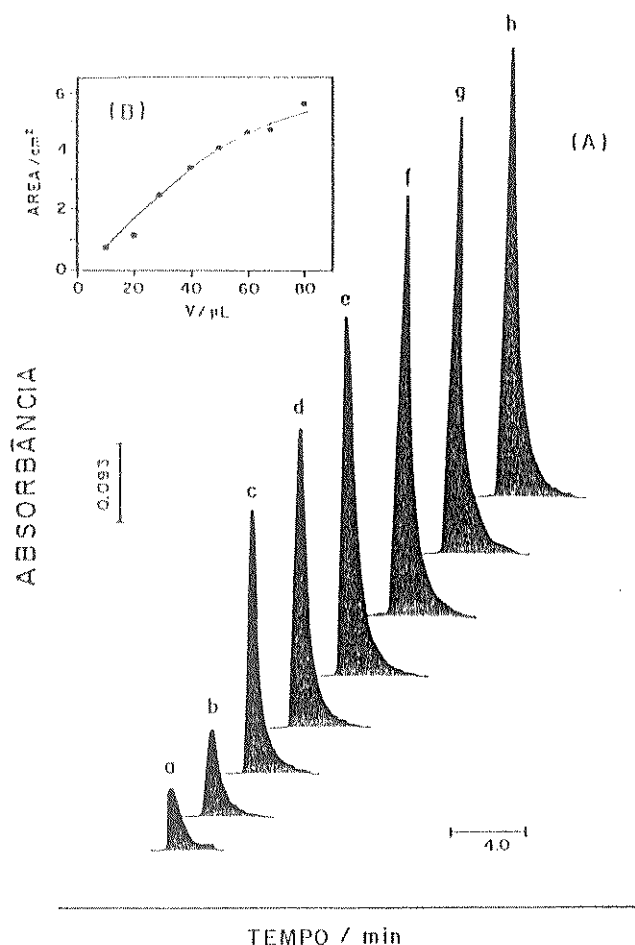


Figura 36 - Respostas espectrofotométricas para a injeção do substrato no reator com 4 mg de HRP/ CEL/TiO<sub>2</sub>. (A) Volume(em μL): a) 10; b) 20; c) 29; d) 40; e) 50; f) 60; g) 68 e h) 80. (B). Gráfico das áreas em função dos volumes injetados. Concentração dos substratos: [pirogalol]=40 mM, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]=15 mM. Soluções tamponadas com PIPES em pH 6, velocidade de fluxo 0,9 mL.min<sup>-1</sup>.

Em outro experimento considerou-se um aspecto importante da ação peroxidásica da HRP na oxidação de fenóis, a participação do peróxido de hidrogênio[171]. Para isso, foi realizado um experimento onde só se variou a concentração de peróxido. A partir dos resultados (Figura 37) se conclui que, a concentração de peróxido é um fator determinante na oxidação de pirogalol, pois

à medida que se aumenta a concentração, uma quantidade maior de pirogalol é cataliticamente oxidado.

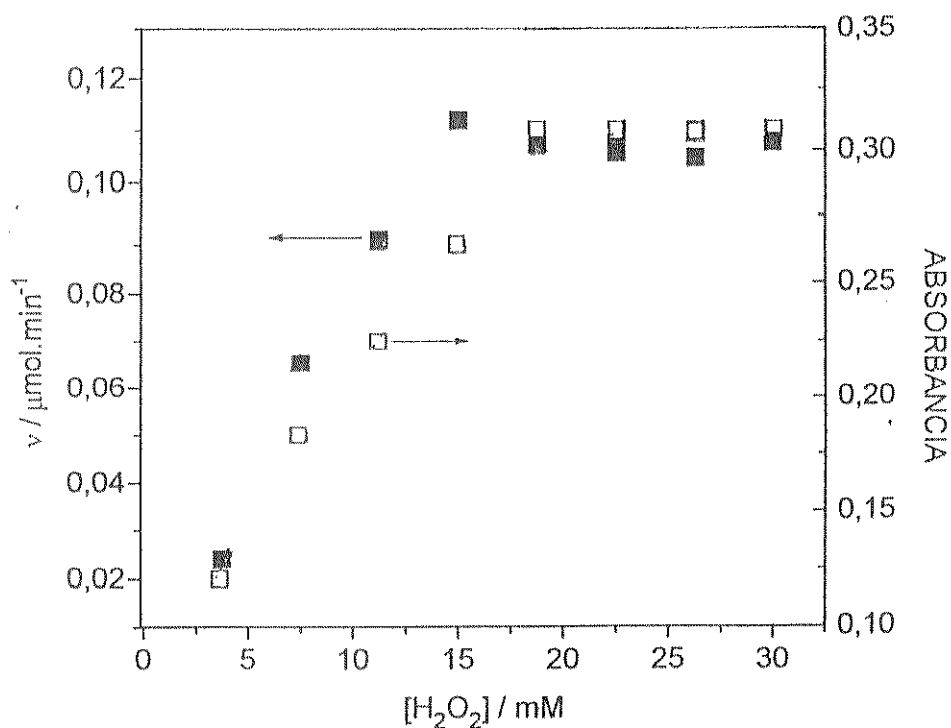


Figura 37 - Atividade peroxidásica da HRP em condições de Fluxo de  $0,9 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 4 mg de HRP/CEL/ $\text{TiO}_2$ ; volume  $60 \mu\text{L}$ ;  $[\text{Pirogalol}] = 40 \text{ mM}$ .

A etapa seguinte consistiu em verificar o comportamento do catalisador, variando apenas a concentração do pirogalol de 10 a 70 mM. Como resultado (Figuras 38), observa-se 100% de conversão até 30 mM, caindo a partir daí, com o aumento da concentração de pirogalol, até atingir 60% para 70 mM.

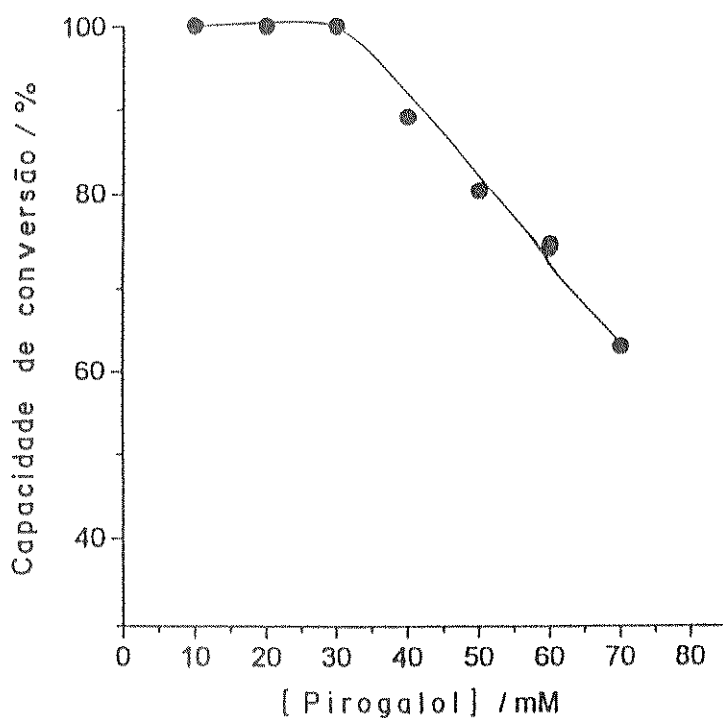


Figura 38 - Capacidade de conversão da enzima imobilizada. Reator com 3,6 mg de HRP/CEL2/TiO<sub>2</sub>, em condições de fluxo 0,9 mL.min<sup>-1</sup>; volume 60 µL; pH 6 e [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 30 mM.

As medidas de capacidade máxima de conversão, como mostra a Figura 39, foram obtidas pela adição contínua de substrato no reator, e indica que o catalisador atinge o máximo de sua conversão em aproximadamente 1 minuto. O tempo de residência estimado, considerando as dimensões do reator e o volume injetado, é de c. a. 5 segundos.

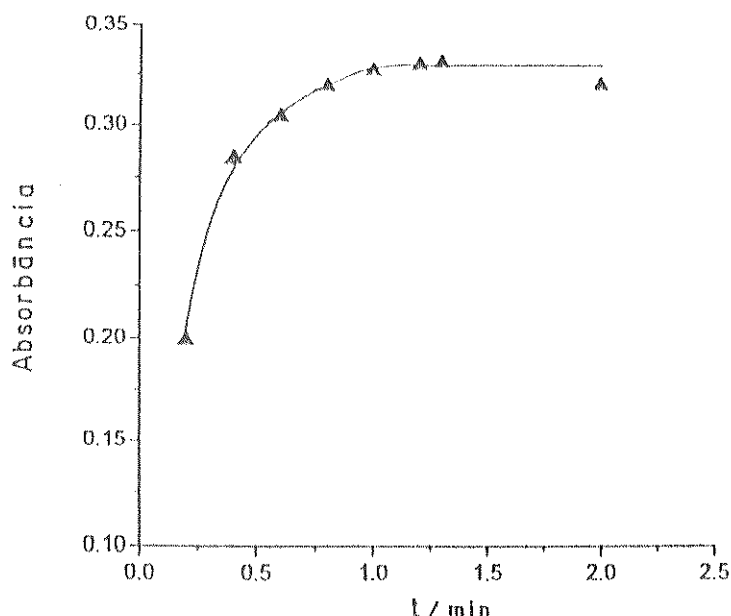


Figura 39 - Capacidade máxima de conversão em função do tempo. Reator com 3,6 mg de HRP/CEL/TiO<sub>2</sub>; [Pirogalol]=20 mM; [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]=7,5 mM. O substrato foi adicionado continuamente ao reator em fluxo de 0,9 mL.min<sup>-1</sup>.

#### VI.1.2. Cinética enzimática para a conversão do pirogalol pela HRP/CEL/TiO<sub>2</sub>

Dentre os principais fatores que afetam a cinética de reações enzimáticas estão a concentração dos substratos, a concentração da enzima, ativadores, inibidores, pH e força iônica[73]. Como a cinética de oxidação de fenóis pela HRP tem sido muito investigada[62,69,75,172-175], procurou-se neste trabalho verificar basicamente o efeito das concentrações de pirogalol, tanto da enzima quanto dos substratos, pirogalol e peróxido de hidrogênio, em virtude das características do suporte.

Aplicando a equação de Lineweaver-Burk, que é uma adaptação da equação de Michaelis[176-179], aos resultados obtidos, verifica-se um comportamento linear das velocidades iniciais em cada uma das concentrações utilizadas. Esse comportamento demonstra ainda, que a velocidade de conversão do pirogalol é controlada pela sua difusão para dentro das cavidades da enzima, nos quais se encontram os sítios ativos.

A Figura 39 mostra também, que após a injeção do substrato no reator, a velocidade de conversão máxima é atingida em 1,3 minutos. Do ponto de vista analítico, esse fato é muito importante, pois possibilita um maior número de medidas em pouco tempo, e uma melhor reprodutibilidade. Por esta razão foram realizadas sucessivas injeções em triplicada de várias concentrações, obtendo-se o diagrama de FIA mostrado na Figura 40A, onde se vê claramente uma resposta linear nos valores de absorbância.

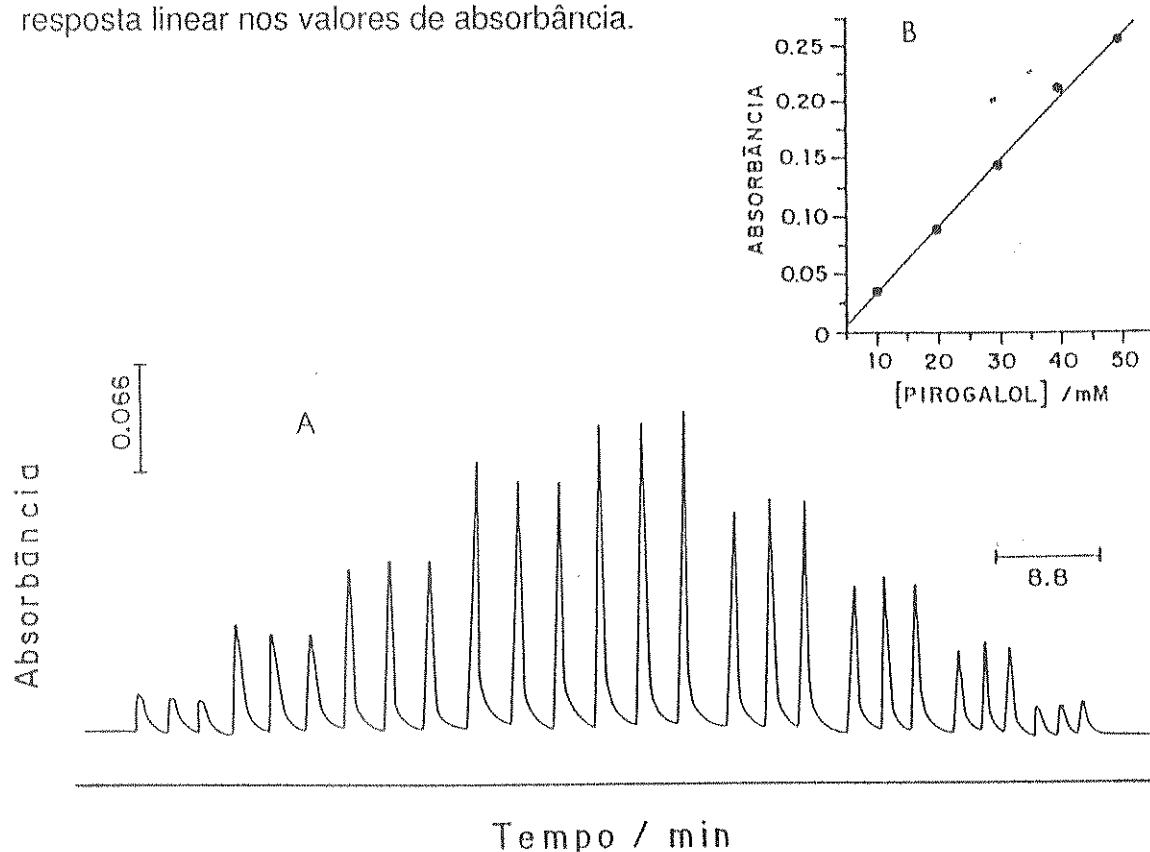


Figura 40 - (A) Diagrama de FIA da resposta espectrofotométrica useo reator empacotado com 4,8 mg de HRP/CEL2/TiO<sub>2</sub>; Fluxo de 0,9 mL.min<sup>-1</sup>. (B) Absorbância *versus* concentração de pirogalol.

Deste diagrama foi obtida a curva de calibração de absorbância *versus* concentração (Figura 40B), cujo valor de correlação linear foi de 0,998.

Na cinética de conversão de pirogalol em purpurogalina, foi investigado o efeito de alta concentração de peróxido de hidrogênio, 60 mM, cujo resultado foi comparado com o da resposta catalítica utilizando 30 mM (Figura 41). Observa-se a partir da curva B, que a velocidade sofre considerável redução, devido a duas possíveis causas que podem ser identificadas: a) adsorção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  sobre  $\text{CEL2/TiO}_2$  formando uma espécie complexa do tipo  $\equiv\text{Ti}^+(\text{H}_2\text{O}_2)$  [148] e, b) O  $\text{TiO}_2$  foi lixiviado da superfície juntamente com a enzima que se encontrava imobilizada. No entanto, nas condições experimentais utilizadas, não foi observado a formação de um complexo amarelo na superfície da matriz, e nem o turvamento da solução do efluente devido a uma possível lixiviação desse óxido.

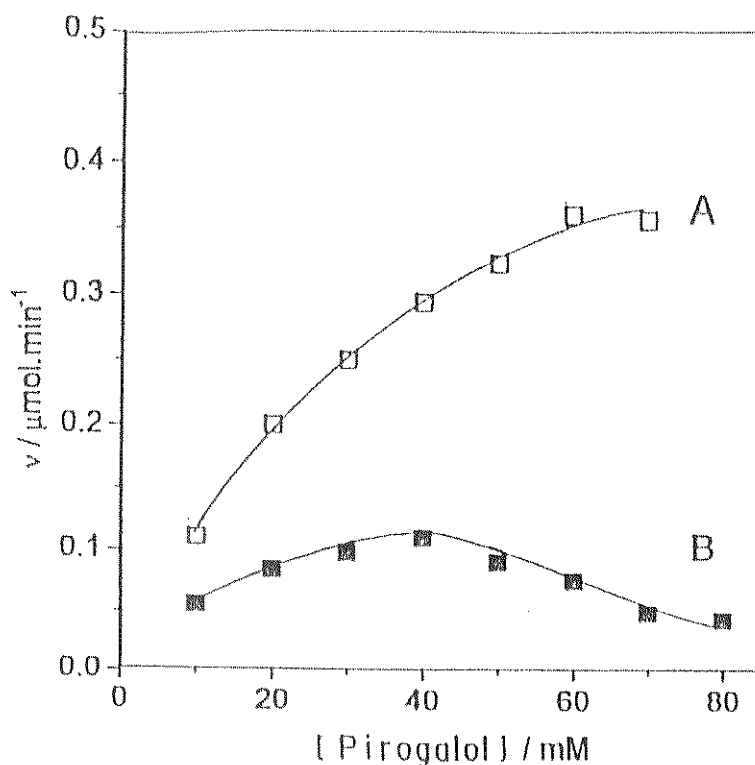


Figura 41 - Influência da concentração do substrato sobre a velocidade de reação para 3,6 mg de HRP/CEL2/TiO<sub>2</sub>; Fluxo de 0,9 mL.min<sup>-1</sup>; volume injetado 60  $\mu\text{L}$ ; (A) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]=30 mM, (B) [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]=60 mM.

Os parâmetros cinéticos foram determinados aplicando o modelo matemático de Lineweaver-Burk :  $v = V.s/(K_m + s)$ , onde  $s$  é a concentração do substrato,  $v$  a velocidade, e  $V$  e  $K_m$  são respectivamente, velocidade máxima e constante de Michaelis[46,176,177]. A partir do recíproco  $1/v$  versus  $1/[$ pirogalol] (Figura 42), observa-se neste gráfico uma correlação linear entre os valores dos quais são obtidas as seguintes constantes cinéticas:  $K_m=47$  mM e  $V=22$   $\mu\text{mol}.\text{min}^{-1}$ .

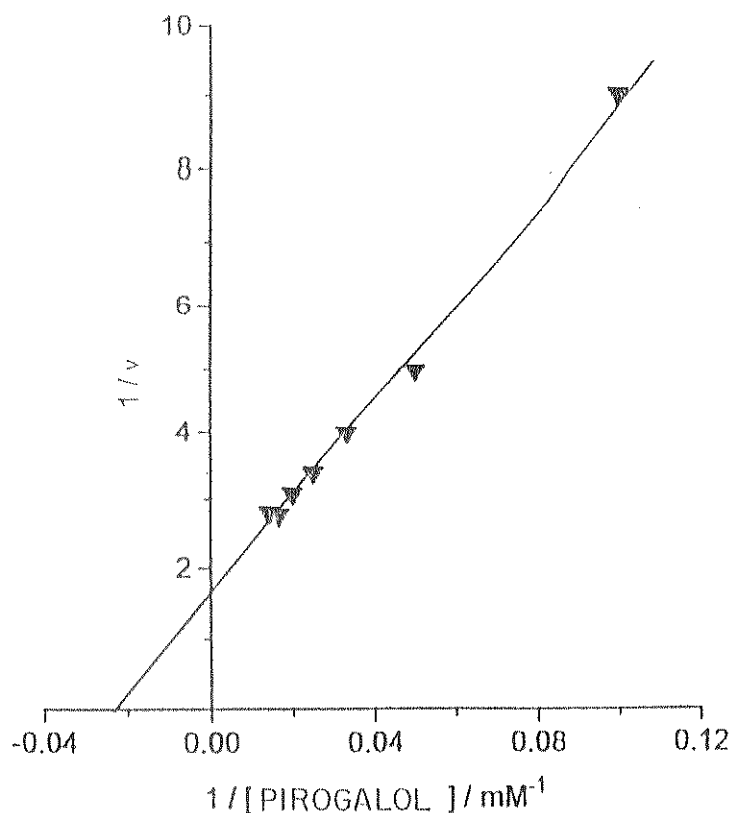


Figura 42 - Gráfico de  $1/v$  versus  $1/[$ Pirogalol]. Reator contendo 3,6 mg de HRP/CEL/ $\text{TiO}_2$ ; Fluxo de 0,9  $\text{mL}.\text{min}^{-1}$ ; volume injetado 60  $\mu\text{L}$ ;  $[\text{H}_2\text{O}_2]=30$  mM.

Comparando estes valores com os encontrados para a cinética em solução, cujos resultados são mostrados nas Figuras 43 e 44,  $K_m=11$  mM e  $V=53$   $\mu\text{mol}.\text{min}^{-1}$ , verifica-se que a enzima livre é mais ativa do que quando se encontra imobilizada, devido provavelmente, à interação da HRP com a

superfície, que aumenta a dificuldade difusional do substrato até o centro ativo da enzima[172].

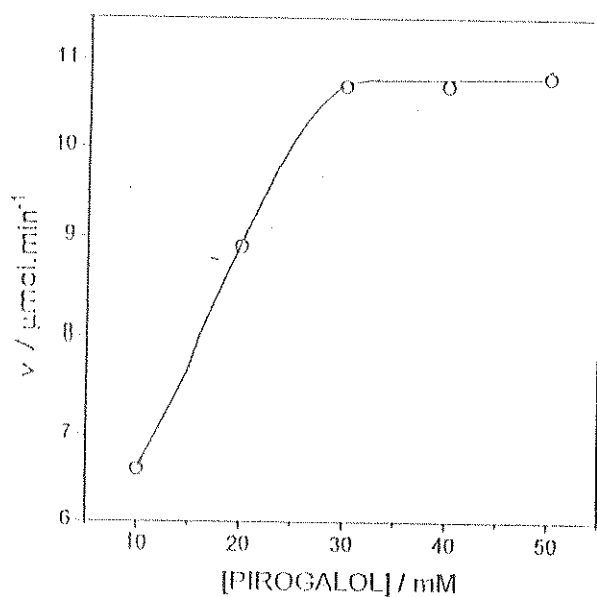


Figura 43 - Cinética de velocidade para a enzima em solução.

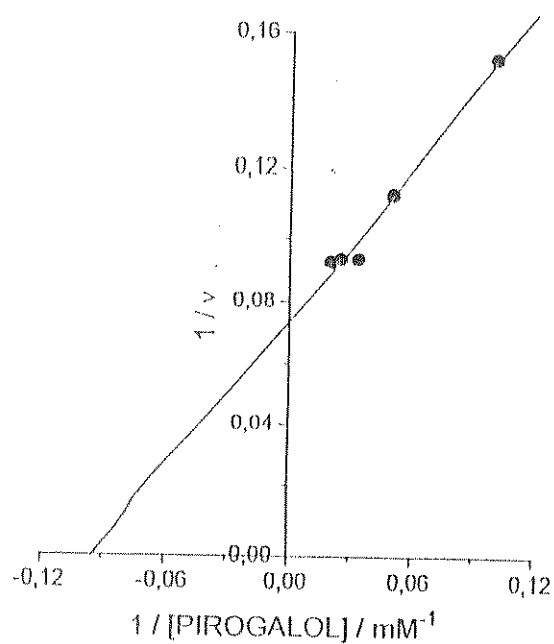


Figura 44 - Gráfico de  $1/v$  versus  $1/[\text{pirogalol}]$ ,  $[\text{H}_2\text{O}_2]=30 \text{ mM}$ .

Outra possibilidade seria a mudança nas estruturas ternária e quaternária da estrutura proteica. Esta desvantagem é compensada por não ocorrer a lixiviação da superfície, e pelo fato da atividade não diminuir com o tempo, nas condições usadas no sistema FIA após vários ciclos.

## VII. CONCLUSÕES

No processo de dispersão de  $\text{TiCl}_4$  na superfície da celulose, a interação do metal com a superfície se dá provavelmente, através do oxigênio da interface, como sugerido por dados de XPS. Com o aumento da quantidade de titânio na superfície da celulose, ocorre o recobrimento total das fibras com razão atômica de *c.a.*  $\text{O}_{\text{II}}/\text{Ti}=3$ , para quantidades iguais ou superiores a 7% de óxido. Entretanto, de acordo com os dados de XPS medidos em função da fase  $\text{TiO}_2$ , é provável que o óxido hidratado que recobre a superfície, apresente a forma de interação  $\equiv\text{-Ti-O-H}\dots\text{O-T-(OH)}_3$  para a razão atômica  $\text{O}_{\text{II}}/\text{Ti}=4$ .

O óxido de titânio(IV) sobre celulose é muito seletivo na separação de Cr(VI), além de não permitir interferência significativa das espécies Cr(III), Cu(II), Fe(III), V(V) e Mo(VI). Outra vantagem em comparação com outros materiais, como por exemplo, a sílica gel modificada com óxido de zircônio e com óxido de titânio, é que além de ser facilmente preparado, o composto apresenta propriedades físicas que facilitam a sua utilização como carga para colunas de pré-concentração de Cr(VI) em linha com um sistema de injeção em fluxo. Outra característica bastante relevante, é a sua resistência à eluição com solução de NaOH, não ocorrendo a inutilização da coluna.

Este composto representa também, um suporte em potencial para a imobilização de peroxidase, em função de suas características. As constantes cinéticas determinadas,  $K_m$  e  $V$ , indicam que a atividade da enzima é menor em relação a sua atividade em solução. Em contra partida, o suporte não provoca a redução da atividade enzimática com o tempo de armazenamento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] R. M. BROWN JR., "Cellulose e other natural polymer systems, biogenesis, structure, e degradation", Plenum Press, New York, (1982), p. 403.
- [2] H. SIHTOLA e L. NEIMO, "Symposium on Enzyme Hydrolysis of Cellulose", Sitra, Helsinki, (1975), p.9.
- [3] E. T. REESE; M. MEELS e A. H. WEISS, "Cellulose as a Novel Energy Source", Advances in Biochemical Engineering, Springer Verlag, New York, (1972), p. 181.
- [4] A. VISWANATHAN, *Cellulose Chem. Technol.*, 9(1975), 103.
- [5] R. A. YOUNG e R. M. ROWELL, "Cellulose Structure, Modification e Hydrolysis", John Wiley & Sons, New York, (1986).
- [6] E. A. GOMÉZ, "Contribuição à Fotoquímica da Celulose: Aplicação em Hidrólise Enzimática e Crescimento de Fungos", Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, (1987).
- [7] M. YALPANI e R. H. MARCHESAULT, "Polysaccharides, Syntheses, Modifications e Structure/Property Relations", Elsevier, Amsterdam, (1988), cap. 7.
- [8] M. L. O. D'ALMEIDA, "Celulose e Papel, Tecnologia de Fabricação do Papel, SENEI/IPT, 2ª Edição, São Paulo, (1981).
- [9] H. INAGAKI e G. O. PHILLIPS, "Cellulosics Utilization: Research e Rewards in Cellulosics", Elsevier Applied Science, London, (1989).
- [10] K. J. HERITAGE, J. MANN e L. ROLDAN-GONZALEZ, *J. Polym. Sci. Part A*, 1(1963), 671.
- [11] T. PAAKKARI, M. BLOMBERG e R. SERIMAA, *J. Appl. Cryst.*, 21(1988), 393.
- [12] A. J. MICHELL, *Carbohydr. Res.*, 197(1990), 53.
- [13] M. Y. SHISHONOK, E. V. GERT, T. I. FILANCHUK e F. N. KAPUTSKII, *J. Appl. Chem.*, 60(1987), 1086.
- [14] N. V. IVANOVA, E. A. KOROLENKO, E. V. KOROLIK e R. G. ZHBANKOV, *J. Appl. Spectr.*, 52(1989), 847.

- [15] J. SUGIYAMA, J. PERSSON e H. CHANZY, *Macromolecules*, 24(1991), 2461.
- [16] R. M. MUKHAMADEEVA, R. G. ZHBANKOV, V. I. KOVALENKO, V. F. SOPIN e G. N. MARCHENKO, *J. Appl. Spect.*, 52(1990), 403.
- [17] A. N. ZHILKIN, D. A. SUKHOV e P. M. VALOV, *J. Appl. Spect.*, 2(1990), 566.
- [18] I. G. HURTUBISE e H. KRASSIG, *Anal. Chem.*, 32(1960), 177.
- [19] J. J. H. CAEL, H. GARDNER, J. L. KOENIG e J. BLACKWELL, *J. Chem. Phys.*, 62(1975), 1145.
- [20] J. F. KENNEDY e J. M. S. CABRAL, *Trans. Met. Chem.*, 11(1985), 41.
- [21] D. C. JOHNSON, M. D. NICHOLSON e F.C. HAIGH, *Appl. Polymer Symp.*, 28(1976), 931.
- [22] Y. ZHI-LI, W. KUO-MING, M. CHEIN-FONG e FENG-HAN-DE, *Cellulose Chem. Technol.*, 16(1982), 651.
- [23] B. PATAKY, S. PERCZEL e J. P. SACHETTO, *J. Polym. Sci.: Symp.*, 43(1973), 267.
- [24] A F. COTTON e G. WILKINSON, "*Advance Inorganic Chemistry*", 4<sup>a</sup> edição, New York, (1980).
- [25] N. N. GRANDENWOOD e A. EARNSHAW, "*Chemistry of the Elements*", Pergamon Press, New York, (1985).
- [26] W. BÜCHNER, R. SCHLIEBS, G. WINTER e K. H. BÜCHEL, "*Industrial Inorganic Chemistry*" VCH, (1989), p. 255.
- [27] L. E. ORGEL, "*Introdução à Química dos Metais de Transição*", Edgard Blucher, São Paulo, (1966).
- [28] F. BASOLO e R. JOHNSON, "*Química de los Compuestos de Coordinación*", Editora Reverté, Barcelona, (1980).
- [29] V. V. STRELKO, S. A. KHAINOKOV, A. P. KVASHENKO, V. N. BELYAKOV e A. I. BORTUN, *Journal Appl. Chem.*, 61(1988), 1922.
- [30] M. ABE, P. WANG, R. CHITRAKAR e M. TSUJI, *Analyst*, 144(1989), 435.
- [31] L. T. KUBOTA, Y. GUSHIKEM e J. C. MOREIRA, *Analyst*, 116(1991), 281.
- [32] M. ABE, M. TSUJI, S. P. QURESHI e H. UCHIKOSHI, *Chromatographia*, 13(1980), 626.

- [33] C. HEITNER-WIRGUIN e A. ALBU-YARON, *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 28(1966), 2379.
- [34] V. VESELY e V. PEKÁREK, *Talanta*, 19(1972), 219.
- [35] D. E. YATES e T. W. WEALY, *J. C. S. Faraday I*, 76(1980), 9.
- [36] Y. GUSHIKEM; C. R. M. PEIXOTO e L. T. KUBOTA, "New Developments in Ion Exchange", ICIE'91, Tokyo, (1991).
- [37] E. BERMAN, "Toxic Metals e Their Analysis", Heyden, London, (1980).
- [38] U. FÖRSTNER e G. T. W. WITTMANN, "Metal Pollution in the Aquatic Environment", Springer-Verlag, Berlin, (1983).
- [39] T. M. TAVARES e F. M. CARVALHO, *Química Nova*, 15(1992), 147.
- [40] T. M. FLORENCE e G. E. BATLEY, *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 9(1980), 219.
- [41] L. F. SALA, M. A. RIZOTO, M. I. FRASCAROLI, C. M. PALOPOLI e S. R. SIGMORELLA, *Química Nova*, 18(1995), 468.
- [42] R. COLTON, *Coord. Chem. Rev.*, 78(1987), 1.
- [43] E. L. KING e J. A. NEPTUNE, *J. Am. Chem. Soc.*, 77(1955), 3186.
- [44] S. DAVIS, R. BURNS, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32(1990), 721.
- [45] T. E. BERMAN, "Enzyme Handbook: Supplement", Springer-Verlag, New York, (1974).
- [46] A. L. LEHNINGER, "Bioquímica", Edgard Blücher Lt., São Paulo, (1977), Tradução à 2ª edição, cap. 3.
- [47] M. DIXON e E. C. WEBB, "Enzymes", Academic Press, New York, (1979).
- [48] I. FERRER, M. DEZOTTI e N. DURÁN, *Biotechnol. Letters.*, 13, (1991), 577.
- [49] M. H. GOLD, H. WARIISHI e K. VALLI, "Extracellular peroxidases involved in lignin degradation by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*". In: *Biocatalysis in Agricultural Biotechnology*. Am. Chem. Soc., New York, (1989), pp. 127-139.
- [50] H. B. DUNFORD e J. S. STILLMAN, *Coord. Chem. Rev.*, 19(1976), 187.
- [51] Z. S. FARHANGRAZI, B. R. COPELE, T. NAKAYAMA, T. AMACHI, I. YAMAZAKI e L. S. POWERS, *Biochemistry*, 33(1994), 5647.

- [52] W. A. OERTLING e G. T. BABCOCK, *Biochemistry*, 27(1988), 3331.
- [53] J. E. BRUNET e M. PULGAR, *Biochim. Biophys. Acta*, 1203(1993), 171.
- [54] M. M. FITZGERALD, *Diss. Abstr. Int.*, 52(1992), 6413B.
- [55] L. A. EERSSON e J. H. DAWSON, *Structure Bonding*, 64(19), 1.
- [56] M. FERNEEZ, R. B. FRYDMAN, J. HURST e G. BULDAIN, *Eur. J. Biochem.*, 218(1993), 251.
- [57] V. VARGAS, J. E. BRUNET e M. JAMESON, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 178(1991), 104.
- [58] T. M. LOEHR e J. S. LOEHR, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 55(1973), 218.
- [59] R. AASA, T. VANNGARD e B. DUNFORD, *Biochim. Biophys. Acta*, 391(1975), 259.
- [60] G. RAKSHIT e T. G. SPIRO, *Biochemistry*, 26(1974), 5317.
- [61] J. SAKURADA, S. TAKAHASHI e T. HOSOYA, *J. Biol. Chem.*, 261(1986), 9657.
- [62] D. K. BHATTACHARYYA, U. BEYOPADHYAY e R. K. BANERJEE, *J. Biol. Chem.*, 268(1993), 22292.
- [63] C. S. CHANG, I. YAMAZAKI, R. SINCLAIR, S. KHALID e L. POWERS, *Biochemistry*, 32(1993), 923.
- [64] G. LABAT e B. MEUNIER, *J. Org. Chem.*, 54(1989), 5008.
- [65] J. R. KOSAK, "*Catalysis of Organic Reactors*", Maercel Dekker, New York, (1984).
- [66] J. L. BOYER, B. GILOT e R. GUIRAUD, "*XI Simp. Iberoam. Catalisis*", Guanajuato, (1988).
- [67] B. ATKINSON, "*Biochemical Reactors*", Pion Lt., London, (1974).
- [68] M. MCCARTHY e R. E. WHITE, *J. Biol. Chem.*, 258(1983), 9153.
- [69] M. K. MAHANTI, *Afinidad*, 48(1991), 59.
- [70] R. A. MESSING, *Process Biochem.*, (1974), 26.
- [71] S. A. BARKER, A. N. EMERY e J. M. NOVAIS, *Process Biochem.*, (1971), 11.

- [72] C. BULLOCK, *Educ. Chem.*, (1989), 179.
- [73] V. L. Da SILVA, "Construção e Avaliação de Eletrodo Enzimático para Determinação de Uréia Utilizeo *Canavalia Marítima*", Tese de Doutorado, Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, (1991).
- [74] O. FATIBELLO F<sup>o</sup>. e M. D. CAPELATO, *Química Nova*, 15(1992), 28.
- [75] A. KONDO, F. MURAKAMI, M. KAWAGOE e K. HIGASHITANI, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 39(1993), 726.
- [76] K. MATSUMOTO, H. KAMIKADO, H. MATSUBARA e Y. OSAJIMA, *Anal. Chem*, 60(1988), 147.
- [77] J. RUZICKA e E. H. HANSEN, *Anal. Chim. Acta*, 106(1979), 207.
- [78] K. S. KURTZ e S. R. CROUCH, *Anal. Chim. Acta*, 254(1991), 201.
- [79] K. TAKAHASHI, S. TANIGUCHI, T. KUROIISHI, K. YASUDA e T. SANO, *Anal. Chim. Acta*, 220(1989), 13.
- [80] R. S. SCHILFREIN, D. A. HANNA, L. D. BOWERS e P. W. CARR, *Anal. Chem.* 49(1977), 1929.
- [81] G. G. GUILBAULT, *Anal. Chem.*, 14(1966), 61.
- [82] H. HARA, T. KITAGAWA e Y. OKABE, *Analyst*, 118(1993), 1317.
- [83] J. RUZICKA e E. H. HANSEN, *Anal. Chim. Acta*, 69(1974), 129.
- [84] W. HENDERSON, H. H. PETACH e K. SARFO, *J. Chem. Soc., Chem. commun.*, (1994), 245.
- [85] M. D. TREVAN, "Immobilized Enzymes", John Wiley & Sons, New York, (1980).
- [86] O. R. ZABORSKY, "Immobilized Enzymes", CRC Hebook Series, Clevele, (1974).
- [87] J. F. KENNEDY e J. M. S. CABRAL, *Trans. Met. Chem.*, 12(1987), 481.
- [88] J. F. KENNEDY e I. M. KAY, *J. C. S. Perkin I*, (1976), 329.
- [89] J. F. KENNEDY e J. M. S. CABRAL, *Trans. Met. Chem.*, 15(1990), 197.
- [90] Y. KUOKAWA, T SANO, H. OHTA e Y. NAKAGAWA, *Biotechnol. Bioeng.*, 42(1993), 394.
- [91] Y. KUOKAWA, H. OHTA, M. OKUBO e M TAKAHASHI, *Carboh. Polym.*, 23(1994), 1.

- [92] Y. OHMORI e Y. KUOKAWA, *J. Biotechnol.*, 33(1994), 205.
- [93] R. CIOLA, *Fundamentos da Catálise*, Editora Moderna, 1ª edição, São Paulo, (1981).
- [94] B. C. GATES, *Catalytic Chemistry*, John Wiley & Sons, New York, (1992).
- [95] M. Z. SEFAIN e S. F. EL-KALYOUNI, *Thermochimica Acta*, 75(1984), 107.
- [96] M. C. RAMO-SANCHEZ, F. J. REY, M. L. RODRIGUEZ-MENDEZ, F. J. MARTIN-GIL e J. MARTIN-GIL, *Thermochim. Acta*, 134(1988), 55.
- [97] R. K. AGRAWAL, *Thermochim. Acta*, 91(1985), 343.
- [98] T. NGUYEN, E. ZAVARIN e E. M. BARRALL, *J. Macromol. Sci.-Rev. Macromol. Chem.*, C20(1981), 1.
- [99] A. BASCH e M. LEWIN, *J. Polymer Sci.: Polymer Chem. Ed.*, 11(1973), 3071.
- [100] A. BASCH e M. LEWIN, *J. Polymer Sci.: Polymer Chem. Ed.*, 11(1973), 3095.
- [101] A. BASCH e M. LEWIN, *J. Polymer Sci.: Polymer Chem. Ed.*, 12(1974), 2053.
- [102] L. C. LABAKI, *"Estudo da Cristalinidade e Mecanismo de Sorção de Água em Biopolímeros"*, Tese de Doutorado, Instituto de Física, UNICAMP, Campinas, (1990).
- [103] A. L. RYLE, *J. Chem. Educ.*, 35(1958), 80.
- [104] E. V. GERT, M. V. SHISHONOK, V. I. TORGASHOV e F. N. KAPUTSKII, *J. Polymer. Sci., Part C; Polym. Lett.*, 28(1990), 163.
- [105] P. J. GOODHEW e F. J. HUMPHREYS, *"Electron Microscopy e Analysis"*, Taylor & Francis, London, (1988).
- [106] R. D. PRESTON, *J. Microscopy*, 93(1971), 7.
- [107] S. SRIVESTAVA, *Appl. Spect. Rev.*, 24(1988), 81.
- [108] U. P. RODRIGUES F<sup>O</sup>., Y. GUSHIKEM, F. Y. FUJIWARA, S. C. DE CASTRO, I. C. L. TORRIANI, e L. P. CAVALCANTI, *Langmuir*, 10(1994), 4357.
- [109] B. J. TAN, K. J. KLABUNDE e P. M. A. SHERWOOD, *J. Am. Chem. Soc.*, 113(1991), 855.

- [110] A. M. B. DO REGO, *Química*, 48(1993), 28.
- [111] C. S. FADLEY, "*Basic Concepts of X-ray Photoelectron Spectroscopy: Theory, Techniques e Applications*", V. 2, Academic Press, New York, 1978.
- [112] J. C. CARVER, G. K. SCHWEITZER e T. A. CALTSON, *J. Chem. Phys.*, 57(1972), 973.
- [113] J. FURNEMONT, *Educ. Chem.*, (1994), 135.
- [114] D. BRIGGS e G. BEANSON, *Anal. Chem.*, 65(1993), 1517.
- [115] J. J. PIREAUX, *Rev. Bras. Aplic. Vácuo*, 13(1994), 2.
- [116] T. L. BARR, *Critical Rev. Anal. Chem.*, 22(1991), 229.
- [117] T. L. SPINKS, G. E. PACEY e I. FABIAN, *Anal. Chim. Acta*, 254(1991), 209.
- [118] M. F. G. F. C. CAMÕES, *Química*, 51(1993), 26.
- [119] J. RUZIKA e E. HANSEN, "*Chemical Analysis: A Série of Monographs on Analytical Chemistry e Its Applications Flow Injection Analysis*", John Wiley & Sons, New York, (1981).
- [120] A. G. COX, I. G. COOK e C. W. MCLEOD, *Analyst*, 110(1985), 331.
- [121] S. S. JøRGENSEN e M. A. B. REGITANO, *Analyst*, 105(1980), 292.
- [122] J. C. ERADE, J. C. ROCHA e N. BACCAN, *Analyst*, 110(1985)197.
- [123] J. RUZ, A. RIOS, M. D. L. e M. VALCÁRCEL, *Anal. Chim. Acta*, 186(1986), 139.
- [124] J. WANG e N. NASER, *Anal. Letters*, 25(1992), 999.
- [125] BO OLSSON, L. OGREN, *Anal. Chim. Acta*, 145(1983), 87.
- [126] N. D. NARINESINGH, V. A. STOUTE, G. DAVIS, F. SHAAMA e T. T. NGO, *Anal. Letters*, 24(1991), 727.
- [127] C. R. M. PEIXOTO, Y. GUSHIKEM e N BACCAN, *Analyst*, 117(1992), 1029.
- [128] C. A. JOHNSON, *Anal. Chim. Acta*, 238(1990), 273.
- [129] I. KUBRAKOVA, T. KUDINOVA, A. FORMANOVSKY, N. KUZ'MIN, G. TSYSIN e Y. ZOLOTOV, *Analyst*, 119(1994), 2477.
- [130] J. C. De ERADE, J. C. ROCHA, C. PASQUINI e N. BACCAN, *Analyst*, 108(1983), 621.

- [131] J. C. De ERADE, J. C. ROCHA e N. BACCAN, *Analyst*, 109(1984), 645.
- [132] K. A. HOLM, *Anal. Chim. Acta*, 188(1986), 285.
- [133] L. BRACO, J. A. DARÓS e M. DE LA GUARDIA, *Anal. Chem.* 64(1992), 129.
- [134] E. DOMINGUEZ, G. MARKO-VARGA, B. HALN-HÄGERDAL e LO GORTON, *Anal. Chim. Acta*, 249(1991), 145.
- [135] T. FONONG e G. A. RECHNITZ, *Anal. Chim. Acta*, 158(1984), 357.
- [136] T. P. HADJIOANNOU e P. C. GRITZAPIS, *Anal. Chim. Acta*, 126(1981), 51.
- [137] S. D. KUMAR, A. V. KULKARNI, R. G. DHANESHWAR e S. F. D'SOUZA, *Bioelectrochem. Bioenergetics*, 34(1994), 195.
- [138] A. AMINE, J. M. KAUFFMANN e G. G. GUILBAULT, *Anal. Letters*, 26(1993), 1281.
- [139] L. ÖGREN e G. JOHANSSON, *Anal. Chim. Acta*, 96(1978), 1.
- [140] J. WANG e Q. CHEN, *Anal. Chem.*, 65(1993), 2698.
- [141] E. CSÖREGI, LO GORTON e G. MARKO-VARGA, *Anal. Chim. Acta*, 237(1993), 59.
- [142] T. TATSUMA, M. GONDAIRA e T. WATABABE, *Anal. Chem.*, 64(1992), 1183.
- [143] M. KAKUDO e N. KASAI, "X-ray Diffraction by polymers", Kodansha Ltd, Tokyo, (1972), p. 359.
- [144] P. R. HEVINGTON, "Data reduction e error analysis for the physical science", Mcgraw-Hill, New York, (1969), p. 204.
- [145] W. J. KENEDY JR. e J. E. GENTLE, "Statistical Computing", Marcel Dekker Inc., (1980), p. 483.
- [146] J. H. WAKELIN, H. S. VIRGIN e E. CRYSTAL, *J. Appl. Phys.*, 30(1959), 1654.
- [147] J. H. SCOFIELD, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, 8(1976), 129.
- [148] L. T. KUBOTA, Y. GUSHIKEM, A. M. MANSANARES e H. VARGAS, *J. Colloid Interface Sci.*, 173(1995), 372.

- [149] S. SPANGE, T. HEINZE e D. KLEMM, *Polymer Bull.*, 28(1992), 697.
- [150] H. L. LEE, *Diss. Abstr. Int.* 50(1989), 589B.
- [151] R. I. SARYBAEVA, A. S. SULTANKULOVA, T. V. VASILIKOVA, V. A. AFANASEV, *Cellul. Chem. Technol.*, 25(1991), 199.
- [152] V. A. AFANASEV, P. I. SARYBAEVA, A. S. SULTANKULOVA e T. V. VASILKOVA, *Pure & Appl. Chem.*, 61(1989), 1993.
- [153] A. K. KULSHRESHTHA e N. E. DWELTZ, *J. Polymer Sci.: Polymer Physics Ed.*, 11(1973), 487.
- [154] G. L. CLARK e H. C. TERFORD, *Anal. Chem.*, 27(1955), 888.
- [155] L. SEGAL, J. J. CREELY, A. E. MARTIN e C. M. CONRAD, *Textile Res. J.*, 29(1959), 786.
- [156] A. BASCH, T. WASSERMAN e M. LEWIN, *J. Polymer Sci.: Polymer Chem. Ed.*, 12(1974), 1143.
- [157] M. L. NELSON e R. T. O'CONNOR, *J. Appl. Polymer Sci.*, 8(1964), 1311.
- [158] M. MURATA, K. WAKINO e S. IDEDA, *J. Electron Spectr. Related Phenom.*, 6(1975), 459.
- [159] A. DILKS, "Developments in Polymer Characterization", Appl. Sci. Pub. Ltd, London, (1980), Cap. 4.
- [160] A. OKUMURA, M. KITANI, Y. TOYOMI e N. OKAZAKI, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 53(1980), 3143.
- [161] R. K. TEON, P. T. CRISP, J. ELIIS e R. S. BAKER, *Talanta*, 31(1984), 227.
- [162] C. ALTMAN e E. L. KING, *J. Am. Chem. Soc.*, 83(1961), 2825.
- [163] J. Y. TONGE e E. L. KING, *J. Am. Chem. Soc.*, 75(1953), 6180.
- [164] GUANG-LIEN OU-YANG e JEN-FON JEN, *Anal. Chim. Acta*, 279(1993), 329.
- [165] F. W. E. STRELOW, R. RETHEMEYER e C. J. C. BOTHMA, *Anal. Chem.*, 37(1965), 106.
- [166] D. T. BURNS, M. HARRIOTT e S. A. BARAKAT, *Anal. Chim. Acta*, 259(1992), 33.
- [167] A. ISOZAKI, K. KUMAZAI e S. UTSUMI, *Anal. Chim. Acta*, 153(1983), 5.

- 
- [168] C. ELLEOUET, F. QUENTEL e C. MADEC, *Anal. Chim. Acta*, 257(1992), 301.
- [169] K. COLLINS, P. S. BONATO, C. ARCHUNDIA, M. E. L. R. QUEIROZ e C. H. COLLINS, *Chromatographia*, 26(1988), 160.
- [170] C. F. BAES e R. E. MESMER, *The Hydrolysis of Cations*, Wiley, New York, (1976), p. 229.
- [171] M. MARSHALL, e G. W. CHISM, *J. Food Sci.* 44(1979), 942.
- [172] K. NAKA, A. OHKI e S. MAEDA, *Chem. Letters*, (1991), 1303.
- [173] N. N. DAEID, S. T. ATKINSON e K. B. NOLAN, *Pure & Appl. Chem.*, 65(1993), 1541.
- [174] G. LÓPEZ-CUETO e C. UBIDE, *Anal. Proceed. Include Anal. Commun.*, 32(1995), 235.
- [175] E. CHORNET, e C. ROY, *Thermochim. Acta*, 35(1980), 389.
- [176] A. CORNISH-BOWDEN e R. EISENTHAL, *Biochem. J.*, 139(1974), 715.
- [177] A. CORNISH-BOWDEN e R. EISENTHAL, *Biochem. J.*, 139(1974), 721.
- [178] R. E. CHILDS e W. G. BARDSLEY, *Biochem. J.*, 145(1975), 93.
- [179] N. F. HAARD, G. CHISM e N. NAGLE, *Anal. Biochem.*, 69(1975), 627.

## FORMAÇÃO ACADÊMICA

Licenciado em Química (com complementação do bacharelado)  
Universidade Federal do Ceará  
Fortaleza, CE. de 1986 a 1989

Mestre em Ciência  
Área de Concentração: Química Inorgânica  
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP  
Ribeirão Preto, SP de mar/90 a ago/92

Doutorado em Ciências (em andamento)  
Área de Concentração: Química Inorgânica  
Instituto de Química-UNICAMP  
Campinas, SP de set/92 a

## ARTIGOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS CIENTÍFICOS ESPECIALIZADO

1. Utilização do compósito celulose-óxido de zircônio(IV) na pré-concentração de Cr(VI) em linha em sistema de análise de injeção em fluxo. Lindomar R. Damasceno da Silva, Ubirajara P. Rodrigues Filho, Carlos R. M. Peixoto e Yoshitaka Gushikem, *Química Nova*, 18(1994), 337.
2. Highly dispersed titanium(IV) oxide on  $\alpha$ -cellulose surface. A XPS, SEM, and XRD study. Lindomar R. Damasceno da Silva, Yoshitaka Gushikem, Sandra C. de Castro, Maria do Carmo Gonçalves and Ubirajara P. Rodrigues Filho, *J. Appl. Polymer Sci.*, 58(1995), 1669.
3. Use of  $\alpha$ -cellulose coated with titanium(IV) oxide in separation of Cr<sup>VI</sup>. Lindomar R. Damasceno da Silva, Carlos R. M. Peixoto and Yoshitaka Gushikem, *Separation Science and Technol.*, 31, 8, (1996), 1045.
4. Peroxidase activity in flow injection of horseradish peroxidase immobilized in hydrous titanium(IV) oxide. Lindomar R. Damasceno da Silva, Lauro T. Kubota e Yoshitaka Gushikem, *Colloid and Surface B: Biointerface*, 1995. (no prelo)

## TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS E ENCONTROS

### COMUNICAÇÃO ORAL

Espectação de Cr(VI) em águas naturais com análises por injeção em fluxo usando pré-concentração em uma microcoluna de celulose modificada com óxido de zircônio(IV). Lindomar R. Damasceno da Silva\*, Ubirajara P. Rodrigues Filho, Carlos R. M. Peixoto e Yoshitaka Gushikem., 46ª Reunião Anual da SBPC, 1994, Vitória, ES.

\*apresentador

Este Trabalho participou do Prêmio Reunião Anual da SBPC, tendo recebido "Menção Honrosa".

## TRABALHOS COMPLETOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS CIENTÍFICOS

1. *Atividade biocatalítica em fluxo da horseradish peroxidase imobilizada em microfibras de celulose modificada com óxido de titânio(IV) hidratado.* Lindomar R. Damasceno da Silva, Lauro T. Kubota e Yoshitaka Gushikem. **XV Simpósio Iberoamericano de Catálise**, 1996, Córdoba, Argentina. (Submetido)
2. *Seletividade de uma argila natural modificada na desidratação de etanol.* Lindomar Roberto Damasceno da Silva e Luiz Carlos Garla, **8º Seminário Brasileiro de Catálise**, 1995, Nova Friburgo, RJ.

## TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS CIENTÍFICOS COM RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS

1. *Hydrous titanium(IV) oxide coated on  $\alpha$ -celulose . A study by SEM, XPS and XRD.* Lindomar R. Damasceno da Silva, Sandra C. de Castro, Maria do Carmo Gonçalves, Yoshitaka Gushikem, e Ubirajara P. Rodrigues Filho, **4º SLAP/2º SIAP/6º IMC**, 1994, Gramado, RS.
2. *Estrutura do óxido de titânio hidratado disperso na superfície da  $\alpha$ -celulose.* Lindomar R. Damasceno da Silva e Yoshitaka Gushikem, **17ª Reunião Anual da SBQ**, 1994, Caxambú, MG.
3. *Determinação de  $Cr^{6+}$  via análise por injeção em fluxo com pré-concentração em linha numa microcoluna empacotada com o composto  $(C_{12}H_{20}O_{11})n^- TiO_2 \cdot mH_2O$ .* Lindomar R. Damasceno da Silva, Carlos R. de Menezes Peixoto e Yoshitaka Gushikem, **17ª Reunião Anual da SBQ**, 1994, Caxambú, MG.
4. *Desidratação seletiva de etanol na superfície de argila do tipo caulim modificada.* Lindomar R. Damasceno da Silva e Luiz Carlos Garla, **Workshop em Catálise Homogênea e Heterogênea**, 1993, São Paulo, SP.
5. *Argilas naturais como catalisadores. II - Influência da temperatura de calcinação na atividade catalítica.* Lindomar R. Damasceno da Silva e Luiz Carlos Garla, **16ª Reunião Anual da SBQ**, 1993, Caxambú, MG.
6. *Argilas naturais como catalisadores I - Estudo da atividade e seletividade de argila modificada da Bacia do Rio Pardo da região de Ribeirão Preto.* Lindomar R. Damasceno da Silva e Luiz Carlos Garla, **15ª Reunião Anual da SBQ**, 1992, Caxambú, MG.
7. *Preparação e caracterização de catalisadores de metais suportados em argilas naturais.* Lindomar R. Damasceno da Silva e Luiz Carlos Garla, **1º Workshop em Catálise do Estado de São Paulo**, 1991, São Carlos, SP.\*