



Universidade Federal Rural de Pernambuco

Rede Nordeste de Biotecnologia - Renorbio

Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

Uso de compósitos magnéticos metal/polímero na extração de cromo
hexavalente e na produção de galacto-oligossacarídeos

Ginetton Ferreira Tavares

Juazeiro-BA

2018

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Rede Nordeste de Biotecnologia - Renorbio

Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

Uso de compósitos magnéticos metal/polímero na extração de cromo hexavalente e na produção de galacto-oligossacarídeos

Ginetton Ferreira Tavares

Orientador: Dr. Helinando Pequeno de Oliveira

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste em Biotecnologia - RENORBIO, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia, área de concentração Biotecnologia em Saúde

Juazeiro-BA/2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

T231uTavares, Ginetton Ferreira
Uso de compósitos magnéticos metal/polímero na extração de
cromo hexavalente e na produção de galacto-oligossacarídeos/
Ginetton Ferreira Tavares. – 2018.
125 f.: il.

Orientador: Helinando Pequeno de Oliveira.
Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia – RENORBIO, Recife, BR-PE, 2018.
Ponto focal em Pernambuco – Universidade Federal Rural
de Pernambuco.
Inclui referências e apêndice(s).

1. Polímeros 2. Cromo 3. Oxidação 4. Materiais compostos
I. Oliveira, Helinando Pequeno de, orient. II. Título

CDD 620.8

TERMO DE APROVAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA
RENORBIO

TESE DE DOUTORADO ELABORADA POR:

GINETTON FERREIRA TAVARES

Uso de compósitos magnéticos metal/polímero para extração de cromo hexavalente e na produção de galacto-oligossacarídeos

Tese defendida e aprovada pela banca examinadora em: 09 de julho de 2018.

Orientador: _____

Prof. Dr. Helinando Pequeno de Oliveira – Univasf

Examinadores:

Prof. Dr. Eduardo Padrón Hernández- UFPE

Prof. Dr. Natoniel Franklin de Melo- Embrapa semi árido

Prof. Dr. Douglas de Brito- Embrapa semi árido

Prof. Dr. Nikifor Rakov Gomez- Univasf

Agradecimentos

- *Agradecer a Deus por permitir mais uma conquista em minha vida.*
- *À minha família, em especial aos meus pais Edilson e Elizabeth, minha esposa Amanda e minhas filhas Maria Eduarda e Juliana.*
- *Ao professor Dr. Helinando Pequeno de Oliveira pela confiança depositada e pelos ensinamentos.*
- *Aos colegas do grupo Leimo e os amigos e amigas da Renorbio.*
- *À professora Dr. Aurea Wischral por toda sua atenção prestada aos alunos durante a sua gestão como coordenadora.*
- *Ao colegiado de pós graduação em ciência dos materiais/Univasf pela disponibilidade de uso dos laboratórios para realização das pesquisas*

“Toda decisão acertada é proveniente de experiência. E toda experiência é proveniente de uma decisão não acertada”

Albert Einstein

Resumo

Neste trabalho, nanocompósitos magnéticos à base de óxido de ferro, polipirrol e nanotubos de carbono foram aplicados na extração de cromo hexavalente em solução e na síntese de galacto-oligossacarídeos (GOS). Foram preparados para isso, dois tipos de nanocompósito distintos, sendo um a base de polipirrol e óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$) e outro contendo nanotubos de carbono magnetizados e polipirrol ($\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$). Durante a preparação dos nanocompósitos dois tipos de agentes oxidantes foram utilizados. Inicialmente o persulfato de amônio (APS) foi utilizado para síntese dos nanocompósitos e posteriormente cloreto de ferro III com seis relações distintas entre monômero e oxidante foram aplicadas. Estes compósitos foram empregados na extração de cromo hexavalente em meio aquoso e na produção GOS a partir da imobilização da enzima β -galactosidase. Na primeira etapa, os compósitos foram submetidos a testes de adsorção na presença de solução de cromo hexavalente, na qual a concentração de cromo foi medida antes e após o contato com os compósitos. A segunda etapa foi analisar a influência da imobilização da enzima β -galactosidase na superfície do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ e observar os efeitos na produção de GOS e na hidrólise da lactose através de cromatografia líquida de alta eficiência. Foi possível observar que os compósitos $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ e $\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ são capazes de adsorver cromo hexavalente presentes em solução e que a capacidade de adsorção de cromo foi maior para compósitos que contém nanotubos de carbono. Também observamos que fatores como tipo de oxidante, pH, temperatura e tempo de contato interferem diretamente na capacidade de adsorção de cromo em solução. Em relação à produção de GOS foi possível observar que o nanocompósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ atuou de forma eficaz, facilitando a retirada do meio reacional através da aplicação de campo magnético, favorecendo assim o processo de produção de GOS.

Abstract

In this work, magnetic nanocomposites based on iron oxide, polypyrrole and carbon nanotubes were applied in the extraction of hexavalent chromium in solution and in the synthesis of galactooligosaccharides (GOS). Two different types of nanocomposites were prepared, one based on polypyrrole and iron oxide ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$) and another containing magnetized carbon nanotubes and polypyrrole ($\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$). During the preparation of the nanocomposites two types of oxidizing agents were used. Initially the ammonium persulfate (APS) was used to synthesize the nanocomposites and later iron chloride III with six different relations between monomer and oxidant were applied. These compounds were used in the extraction of hexavalent chromium in aqueous medium and in GOS production from the immobilization of the β -galactosidase enzyme. In the first step, the composites were subjected to adsorption tests in the presence of hexavalent chromium solution, in which the chromium concentration was measured before and after contact with the composites. The second step was to analyze the influence of the immobilization of the β -galactosidase enzyme on the surface of the $\text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{PPy}$ composite and to observe the effects on the production of GOS and the hydrolysis of lactose through high performance liquid chromatography. It was possible to observe that the $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ and $\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ composites are capable of adsorbing hexavalent chromium present in solution and that the chromium adsorption capacity was higher for composites containing carbon nanotubes. We also observed that factors such as type of oxidant, pH, temperature and contact time directly interfere with the adsorption capacity of chromium in solution. In relation to the GOS production, it was possible to observe that the $\text{Fe}_3\text{O}_4 @ \text{PPy}$ nanocomposite acted efficiently, facilitating the removal of the reaction medium through the application of magnetic field, thus favoring the GOS production process.

Keywords: residues, heavy metals, polypyrrole, adsorption, chromium, GOS, enzyme, β -galactosi

Lista de Símbolos

- 1) APS – Persulfato de amônia
- 2) As - Arsenio
- 3) BET – Análise se área superficial (isotermas de Brunauer, Emmett e Taller)
- 4) c_e – Concentração de equilíbrio
- 5) Cr – Cromo
- 6) Cu - Cobre
- 7) EDS – Espectroscopia por energia dispersiva
- 8) Fe_3O_4 – Óxido de ferro
- 9) $FeCl_3$ – cloreto férrico
- 10) GOS – Galacto-oligossacarídeo
- 11) Gli – Glicina
- 12) Hg – Mercúrio
- 13) HPLC – cromatografia líquida de alta eficiência
- 14) MEV – Microscopia eletrônica de varredura
- 15) MWCNT – Nanotubos de carbono multicamadas
- 16) PANI – Polianilina
- 17) Pb- Chumbo
- 18) PPy – Polipirrol
- 19) q_e – Capacidade máxima de adsorção
- 20) TEM – microscopia eletrônica de varredura
- 21) UV-vis – Espectroscopia com ultravioleta e visível

Lista de Figuras

Figura 01- Representação dos defeitos estruturais da cadeia de polipirrol

Figura 02- Possível esquema para adsorção de cromo VI através da cadeia de polipirrol.

Figura 03- Esquema proposto por Bhaumik e colaboradores para formação de copolímero de polipirrol/polianilina.

Figura 4- Estrutura do polipirrol dopada por ácido aspártico.

Figura 05- Mecanismo proposto por Almaraj para adsorção de cromo através de compósitos $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PPy-Gli}$.

Figura 06- Principais tipos de isotermas.

Figura 07- Rotas de funcionalização a partir de nanotubos de simples camada.

Figura 08- Funcionalização de nanotubos com grupos carboxila e amina.

Figura 09- Representação esquemática da formação de compósitos híbridos a base de nanotubos e partículas magnéticas.

Figura 10- Meio de conversão enzimática da lactose a partir da β -galactosidase.

Figura 11- Microscopia eletrônica de varredura de partículas de óxido de ferro com. À esquerda (ausência de campo magnético) e direita (presença de campo magnético) em anexo, disposição das partículas como e sem campo magnético.

Figura 12- Tamanho médio das nanopartículas de Fe_3O_4 .

Figura 13- Imagens do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPY}$ com aumento de 10 e 20 K respectivamente.

Figura 14- Análise de FTIR do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$.

Figura 15- Mapeamento (EDS) do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$.

Figura 16- Diagrama de Pareto para efeito de estimação: (A) GOS total e (B) conversão de lactose.

Figura 17- Gráficos de cubo previstos para GOS total (A) e conversão de lactose (B).

Figura 18- Perfil cromatográfico da mistura de carboidratos por HPLC.

Figura 19- Efeito do uso nos ciclos de atividade da enzima β -galactosidase imobilizada.

Figura 20- Curva de calibração para determinação de cromo em solução através do método da difenilcarbazida.

Figura 21- Percentual de cromo removido em função da massa do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ com tempo de contato de 24 horas.

Figura 22- Capacidade de adsorção x tempo de contato variando a massa de adsorvente na solução

Figura 23- Curva de calibração para concentrações elevadas de cromo hexavalente em solução.

Figura 24- Capacidade máxima de adsorção variando a concentração de cromo e mantendo constante a massa de adsorvente.

Figura 25- Espectro de EDS antes (esquerda) e após (direita) adsorção de cromo.

Figura 26- Espectro Raman do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ antes e após o processo de adsorção.

Figura 27- Isotermas de Langmuir aplicadas em concentrações diferentes de cromo mantendo a massa de adsorvente constante.

Figura 28- Análise de MEV das amostras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ polimerizadas com cloreto de ferro III e relações monômero/oxidante diferentes.

Figura 29- Adsorção de cromo usando diferentes relações de monômero/oxidante.

Figura 30-Espectro Raman relativo à relação 0,4/1 do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$.

Figura 31- Capacidade máxima de adsorção em função do tempo.

Figura 32- Variação da massa do compósito mantendo a concentração de cromo fixa.

Figura 33- Variação do pH da solução x capacidade de remoção de cromo.

Figura 34- Variação da temperatura nos processos de adsorção de cromo.

Figura 35- Ajuste linear da isoterma de Langmuir em diferentes temperaturas.

Figura 36- Ajuste linear da isoterma de Freundlich em diferentes temperaturas.

Figura 37- Espectro de EDS do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ antes do processo de adsorção de cromo VI.

Figura 38- Espectro de EDS do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ após o processo de adsorção de cromo VI.

Figura 39- MEV das amostras contendo nanotubos de carbono magnéticos sem e com polipirrol.

Figura 40- Adsorção de cromo usando compósitos com e sem nanotubos de carbono.

Figura 41- Espectro Raman para compósitos $\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$

Figura 42- Processo de adsorção de cromo utilizando temperaturas diferentes.

Figura 43- Remoção de cromo em função da massa de compósito utilizada.

Figura 44- Ajuste da equação de Langmuir na sua forma linearizada.

Figura 45- Ajuste da equação de Freundlich na sua forma linearizada.

Figura 46- Ajuste das isotermas de Langmuir e Freundlich aplicadas no processo de adsorção.

Figura 47- MEV do compósito $\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ em diferentes relações monômero/oxidante.

Figura 48- Relação monômero oxidante para compósitos MWCNT/Fe₃O₄@PPy.

Figura 49- Micrografias com aumentos de 20, 40 e 50 mil vezes respectivamente do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy.

Figura 50- Percentual de remoção de cromo em função da variação da concentração mantendo constante a massa do compósito.

Figura 51- Capacidade de adsorção versus o tempo de contato mantendo constante a massa do compósito.

Figura 52- Influência da temperatura no processo de adsorção.

Figura 53- Influência do pH no processo de adsorção.

Figura 54- Modelo da isoterma de Langmuir 5 °C.

Figura 55- Capacidade de remoção de cromo após lavagem com hidróxido de sódio.

Figura 56- Espectro de EDS após processo de extração de cromo com hidróxido de sódio.

Figura 57- Modelo cinético de pseudo primeira ordem.

Figura 58- Modelo cinético de pseudo segunda ordem.

sumário

1-Introdução.....	16
2-Objetivos.....	22
2.1 Objetivos Gerais.....	22
2.2 Objetivos Específicos.....	22
3-Revisão de Literatura.....	23
3.1) Contaminações por Cromo.....	23
3.2) Uso do polipirrol como mecanismo de adsorção aplicados na remoção de cromo.....	25
3.3) Polipirrol.....	26
3.4) Mecanismos de Adsorção.....	34
3.4.1- Isotermas.....	35
3.5) Nanotubos de carbono.....	37
3.6) Galacto-oligossacarídeos (GOS).....	42
4-Materiais e métodos.....	47
4.1) Síntese de nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4	47
4.2) Síntese de compósitos magnéticos núcleo/casca de polipirrol e óxido de ferro ($Fe_3O_4@PPy$).....	48
4.2.1) Uso de persulfato de amônia ($(NH_4)_2S_2O_8$) como agente oxidante.....	48
4.2.2) Uso de cloreto de ferro III como agente oxidante.....	49
4.3) Funcionalização de nanotubos de carbono multicamadas (MWCNT).....	50
4.3.1) Síntese de nanotubos de carbono multicamadas magnéticos (MWCNT/ Fe_3O_4).....	50
4.4) Síntese de compósito magnético a base de nanotubo e polipirrol (MWCNT/ $Fe_3O_4@PPy$).....	51
4.4.1) Usando persulfato de amônia ($(NH_4)_2S_2O_8$) como agente oxidante.....	51
4.4.2) Usando cloreto de ferro III hexahidratado ($FeCl_3.6H_2O$) como agente oxidante.....	51
4.5) Processo de reutilização do compósito MWCNT/ $Fe_3O_4@PPy$	52
4.6) Análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	53
4.7) Análise de BET.....	54
4.8) Espectroscopia UV-vis.....	54

4.9) Análise de tamanho de partículas	54
4.10) processo de adsorção de cromo hexavalente em solução	55
4.11) Determinação da concentração de cromo hexavalente.....	55
4.12) Imobilização de β -galactosidase na superfície do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$	56
4.12.1) Determinação da concentração relativa de açúcares	58
5- Resultados e discussão	60
5.1) Nanopartículas de Fe_3O_4	60
5.2) Compósitos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ usando persulfato de amônia como agente oxidante	61
5.3) Produção de GOS utilizando β -galactosidase imobilizada na superfície do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$	65
5.4) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ usando persulfato de amônia como agente oxidante	71
5.5) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ usando cloreto férrico como agente oxidante	80
5.6) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos a base de MWCNT/ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ usando APS como agente oxidante	91
5.7) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos MWCNT/ $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ PPy usando FeCl_3 como agente oxidante.....	100
6- Conclusões e Perspectivas.....	116
7- Referências Bibliográficas	120

1-Introdução

A geração de resíduos de metais pesados como Cr, Ni, Pb, As, Cu, Hg e Zn tem aumentado de forma significativa com a maior demanda por produtos industrializados (YAN, SHENGYUAN ET AL. 2015). À medida que países industrializados tendem a gerar mais resíduos, o planeta deverá aprimorar suas técnicas para diminuir ou cessar de vez a contaminação de solos, lençóis freáticos e águas residuais por metais pesados (EL-SOROGEY AND YOUSSEF 2015).

O curtimento, mineração, indústria automotiva, indústria de pesticidas e fertilizantes são em sua maioria, grandes vilões ambientais no que diz respeito à poluição por resíduos (HSU, HSIEH ET AL. 2011). A grande problemática da contaminação por metais pesados é que seus íons não são biodegradáveis e tem uma facilidade muito grande em se acumular em organismos vivos (VYMAZAL 2016). Sintomas como náusea, vômitos, perda de peso, mal funcionamento dos rins, intestinos e câncer são alguns dos problemas de saúde que estão diretamente relacionados com a contaminação de água por metais pesados (VIGNERI, MALANDRINO ET AL. 2016).

Esse conjunto de fatores faz com que haja necessidade urgente de desenvolvimento de técnicas cada vez mais eficazes e de baixo custo que possam ser aplicadas na descontaminação de solos, água e águas residuais, uma vez que grande parte do esgoto não é tratado de forma correta e acaba por desaguar em fontes de água que seriam utilizadas para o consumo humano e animal (ABRAHAM AND SUSAN 2017).

Novos sistemas vêm sendo desenvolvidos nos últimos anos pra diminuir ao máximo o acúmulo de resíduos de metais pesados na natureza utilizando processos biotecnológicos (WU, LIANG et al. 2017). Métodos como precipitação química, mudança de íons, osmose reversa, filtração por membranas, tratamento eletroquímico, extração com solventes e adsorção são alguns já utilizados no tratamento e na remoção desses metais (JIA, LI ET AL. 2016). O uso de novas tecnologias aliadas ao baixo custo de novos materiais tem despertado interesse crescente de acordo com a literatura, e nesse sentido sistemas envolvendo polímeros condutores como polipirrol e polianilina têm demonstrado grande potencial, uma vez que estes materiais são eficazes na remoção/adsorção de metais pesados, tanto de forma isolada quanto associada a outros materiais. Substâncias como quitosana, sílica, grafeno e outros materiais orgânicos e inorgânicos têm feito com que o polipirrol tenha destaque na remediação ambiental como a remoção de metais pesados (LIM, SONG ET AL. 2012).

Neste sentido, a preparação de compósitos voltados para o desenvolvimento de sistemas capazes de remover metais pesados tanto de sólidos quanto de líquidos tem despertado interesse da comunidade científica nos últimos anos (LING, LIU et al. 2017). Uma das preocupações no que diz respeito aos processos de descontaminação ocorrida por metais pesados é a metodologia aplicada no processo. Para isso, um dos métodos que vem ganhando destaque na literatura é o processo que utiliza separação magnética através da incorporação de partículas metálicas a materiais capazes de remover esses metais (HUANG, YE et al. 2013).

O processo de incorporação de partículas metálicas pode está associado aos mais diversos tipos de matérias, no entanto, os polímeros vem ganhando destaque devido a sua capacidade de interação com íons de metais pesados e também a possibilidade de funcionalização dos grupos presentes na cadeia (GE, LI et al. 2012). Para adicionar propriedades magnéticas a um polímero se faz necessário introduzir partículas metálicas com características magnéticas, na qual o produto final apresentará propriedades melhores de que o metal isolado. Sabe-se que nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) apresentam propriedades ferromagnéticas e super paramagnética, a depender do tamanho (WU, YEN et al. (2008). Neste sentido a magnetita é a forma mais utilizada do óxido de ferro devido ao seu baixo custo, fácil síntese, baixa toxicidade e alta magnetização de saturação (PANKHURST, CONNOLLY ET AL. 2003).

Outra classe de materiais que vem sendo aplicada nos processos de remediação por contaminação através de metais pesados são os nanotubos de carbono (ALQADAMI, ABDALLA ET AL. 2013; JAGADISH, CHANDRASHEKAR ET AL. 2016). Por volta de 1990, a descoberta destas estruturas revolucionou a ciência e abriu de vez a porta para interdisciplinaridade nas áreas de química, física, materiais e farmacológica (DE SOUZA FILHO AND FAGAN 2007). Esses compostos apresentam características ópticas, mecânicas e eletrônicas bem definidas e fizeram com que os olhares da biotecnologia se voltassem para essas estruturas e seus compósitos. Com aplicações nos mais variados campos da ciência, os nanotubos de carbono têm agregado valor, sendo aplicados como emissores de elétrons para mostradores, sensores de gases e sensores biológicos,

pontas para microscópio de força atômica (AFM) e, quando combinados a outros materiais, como polímeros e fibras, servem como elementos de reforço formando compósitos com excelentes propriedades mecânicas (SAHMETLIOGLU, YILMAZ ET AL. 2014).

Dessa forma, a união entre a capacidade do PPy em remover metais pesados e a versatilidade dos nanotubos de carbono quando agregados a outros compostos, pode fornecer bons resultados nos processos de descontaminação desses metais de águas e águas residuais (MAHMUD, HUQ et al. 2016), e além disso agregando ao sistema PPy/MWCNT partículas de óxido de ferro é possível realizar a descontaminação do meio através da aplicação de campo magnético (WANG, LI ET AL. 2011).

Outra grande preocupação por parte da população diz respeito à ingestão de alimentos. Alimentos capazes de atuar no organismo de forma específica gerando bem estar e evitando certos tipos de doenças estão sendo cada vez mais utilizados nos dias de hoje (NAKAKUKI 2002). Neste sentido, alimentos tidos como funcionais ganham espaço na mesa e também nas pesquisas. Esses alimentos apresentam em sua composição substâncias que ao serem adicionadas a uma dieta desencadeiam processos metabólicos e fisiológicos que atuam na prevenção de doenças e na manutenção da saúde (ANJO 2004).

Entre os alimentos funcionais conhecidos, podemos citar a classe dos oligossacarídeos e polissacarídeos, também chamados de fibras alimentares. Alimentos contendo essas classes de substâncias diminuem o nível de colesterol sanguíneo e reduzem as chances de desenvolvimento de câncer devido à retenção de substâncias tóxicas ingeridas ou formadas no trato

gastrointestinal durante os processos digestivos, além de diminuir o tempo de trânsito intestinal diminuindo assim o tempo de contato entre as substâncias nocivas e o tecido do intestino (KAY AND STRASBERG 1978).

Os galacto-oligossacarídeos (GOS) são obtidos a partir da hidrólise da lactose por ação da enzima β -galactosidase, são açúcares não digeríveis, garantindo alimentos com baixo teor de lactose, melhorando a solubilidade e digestibilidade do leite e derivados (ROSSETTO, ZANIN ET AL. 2013). O consumo de GOS está associado a um aumento na população de bifidobactérias e na diminuição de bactérias putrefativas, sendo assim, podemos chamá-lo também de alimento prebiótico. O consumo de prebióticos, em geral, traz muitos benefícios ao usuário. Dessa forma, novas pesquisas na área de alimentos funcionais se fazem necessárias para o desenvolvimento e aprimoramento dos métodos já existentes de produção dessa nova classe de alimentos que vem surgindo (SAKO, MATSUMOTO ET AL. 1999).

O próximo capítulo trará os objetivos gerais e específicos que serão desenvolvidos neste trabalho. Os objetivos gerais estão associados aos processos de adsorção de cromo hexavalente por nanocompósitos magnéticos a base de polímeros condutores e também na imobilização da enzima β -galactosidase aplicada na produção de galacto-oligossacarídeos. Com relação aos objetivos específicos iremos avaliar o potencial de adsorção de cromo hexavalente em diferentes parâmetros; como concentração de cromo, massa de adsorvente, temperatura e pH. Também iremos aplicar modelos cinéticos e isotérmicos para avaliar qual deles se aplica melhor nos processos de adsorção. Em relação à produção de GOS, analisaremos a influência da

temperatura, concentração de lactose, pH e tempo de reação no processo de hidrólise da lactose a partir do uso da enzima β -galactosidase.

2-Objetivos

2.1 Objetivos Gerais

- Analisar o processo de adsorção de cromo hexavalente através do uso de compósitos magnéticos híbridos metal/polímero condutor e metal/polímero condutor/nanotubos de carbono multicamadas.
- Imobilizar a enzima β -galactosidase na superfície de compósitos híbridos metal/polímero condutor para produzir GOS a partir da lactose.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito de diferentes concentrações de cromo hexavalente nos processos de adsorção através dos compósitos magnéticos.
- Verificar a influência de parâmetros como pH, temperatura, tempo de contato e massa de adsorvente nos processos de adsorção.
- Determinar a capacidade máxima de adsorção de cromo por compósitos magnéticos.
- Aplicar modelos cinéticos e isotérmicos para caracterizar o tipo de adsorção.
- Verificar a influência da temperatura, concentração de lactose, pH e tempo de reação no processo de produção de GOS.
- Analisar a capacidade máxima de ciclos do compósito híbrido metal/polímero no processo de imobilização da enzima β -galactosidase.

3-Revisão de Literatura

Neste capítulo faremos uma breve revisão dos trabalhos desenvolvidos envolvendo os temas e materiais utilizados nesta tese. Aqui faremos uma revisão sobre os processos de contaminação por cromo, uso do polipirrol, nanotubos de carbono e mecanismos de adsorção aplicados na remoção de cromo, além de definir os processos de adsorção, isotermas, modelos cinéticos aplicados na adsorção e a produção de galacto-oligossacarídeos.

3.1) Contaminações por Cromo

O elemento químico Cromo (Cr) foi descoberto em 1711 pelo mineralogista Johann Gottlob Lehmann através da extração do mineral crocoíta (PbCrO_4) que foi isolado na forma de minério somente no final de 1798. É um elemento que ocorre nas valências de (-2 a +6), sendo as mais comuns +2 (Cr^{2+}), +3 (Cr^{3+}) e +6 (Cr^{6+}). Atualmente o cromo na sua forma hexavalente é o mais utilizado pela indústria (SHA, WU et al. 2017). Tem sido utilizado em revestimento anti corrosivo de circuitos eletrônicos, painéis de circuitos integrados e revestimento para tubos de raios catódicos (WANG, WANG et al. 2017).

Ao contrário do cromo trivalente, que é essencial para manutenção de algumas funções dos organismos de seres vivos (ativação da atividade biológica da insulina (ANDERSON 1981), o cromo hexavalente (Cromo VI), causa diversos malefícios à saúde humana, principalmente nos rins

(HANTSON, VAN CAENEGEM ET AL. 2005; KOLAHIAN, SADRI ET AL. 2015). As atividades do cromo no organismo estão intimamente ligadas à sua relação com a insulina, uma vez que esse elemento é utilizado no metabolismo de carboidrato. Em sua forma inorgânica, o cromo apresenta baixo ou nenhum potencial na atividade da insulina, no entanto, na forma de complexos orgânicos o seu potencial aumenta significativamente.

A toxicidade do cromo está limitada aos compostos hexavalentes, que têm uma ação irritante e corrosiva no corpo humano. A exposição ao cromo hexavalente pode ocorrer, geralmente, através da inalação, contato com a pele e ingestão (CRUZ, COSTA et al. 2006). A inalação, por exemplo, do cromo VI, além de causar grave irritação das vias respiratórias, já foi reconhecida como um carcinogênico humano (WANG, JIA et al. 2011). Apesar da Organização Mundial da Saúde (OMS) estabelecer o limite para o consumo humano, de 50 µg/L, não há estudos científicos que comprovem qual a concentração de cromo ingerida que pode vir a causar doenças (RODRÍGUEZ, GUTIÉRREZ et al. 2000). Os potenciais efeitos do cromo hexavalente variam, principalmente, com as espécies e as quantidades absorvidas na corrente sanguínea, a rota e a duração da exposição. Por isso, o cromo hexavalente encontra-se na maior parte das listas nacionais e internacionais de materiais de elevada toxicidade, para os quais se aplicam rígidos procedimentos de controle. Zhang e colaboradores (1987) (ZHANG e LI 1987) relacionaram o aumento de casos de câncer de estômago em uma província da China vinte anos após a abertura de uma mina de ferrocromo. Upreti e colaboradores (2005) (UPRETI et al (2005) realizaram um trabalho no qual verificaram as células epiteliais do intestino de ratos na presença de cromo hexavalente e detectaram um retardo no

crescimento celular usando uma concentração de cromo na faixa de 100 mg/L. Em geral, a contaminação por cromo hexavalente está associada a poluição de águas e mananciais provenientes de rejeitos da indústria.

3.2) Uso do polipirrol como mecanismo de adsorção aplicados na remoção de cromo

Várias tecnologias têm sido aplicadas nos últimos anos para a remoção de cromo da água. Entre essas tecnologias se destacam os mecanismos de adsorção, por serem menos agressivos, baixo custo e possibilidade de serem reaproveitados. Sistemas de adsorção para moléculas de cromo hexavalente vêm sendo desenvolvido utilizando os mais diversos tipos de materiais. Em 2007, Ansari e Fahim recobriram serragem de madeira com polipirrol e aplicaram na adsorção de cromo hexavalente em solução. Eles determinaram que os processos de adsorção de cromo em solução são pH dependentes devido às diversas formas com que os íons cromo se encontram em função da variação do pH. Na Tabela 1 temos a predominância dos íons em função da variação do pH na presença de íons cromo (DAKIKY, KHAMIS et al. 2002).

Tabela 1- Predominância dos íons cromo em função do pH

pH	Espécie Predominante
<1	H_2CrO_4
2 < 4	$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$
2 < 6	HCrO_4^- ; CrO_7^{2-}
6 < 8	CrO_7^{2-} ; CrO_4^{2-}
> 8	CrO_4^{2-}

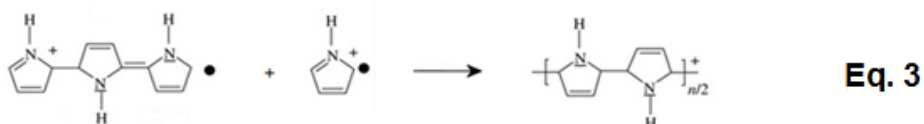
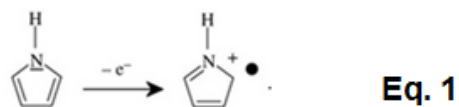
Fonte: (Dakiky, Khamis et al. 2002).

O trabalho desenvolvido por Ansari e Fahin (2007) abriu as portas para o desenvolvimento de novos materiais à base de polipirrol voltado exclusivamente para processos de adsorção de cromo VI em solução. Katal e colaboradores (KATAL, GHIASS et al. 2011) desenvolveram polipirrol em escala nanométrica e aplicaram para a adsorção de cromo VI e concluíram que o processo de adsorção está relacionado com a área superficial do polímero.

3.3) Polipirrol

O polipirrol é um polímero intrinsecamente condutor que foi descoberto em 1968 por Dall'Olio e colaboradores (DALLOLIO, DASCOLA et al. 1968), que obteve um pó preto aderido à superfície do eletrodo ao eletrolisar uma solução de pirrol em ácido sulfúrico. As cadeias poliméricas do PPy são formadas de unidades aromáticas, ligadas por meio de átomos de carbono. Juntamente com a polianilina, o polipirrol é considerado um dos polímeros condutores mais promissores, para trabalhos de pesquisa e desenvolvimento em diversas áreas, devido à sua estabilidade química, facilidade de síntese e elevada condutividade elétrica (HAN, LEE et al. 2005). A polimerização do PPy se dá pela oxidação do monômero pirrol, o que leva à formação de um intermediário cátion-radical pirrol (Eq. 1). Na sequência há o acoplamento de dois cátion-radicais, e através de uma transferência de carga, ocorre a eliminação de dois prótons com a formação de um dímero neutro (Eq. 2). O dímero oxida-se mais facilmente que o monômero e assim é imediatamente convertido a um novo cátion radical. Dessa forma, vão sendo formadas sucessivamente cadeias de oligômeros que por sua vez levam à formação do polipirrol que apresenta

principalmente acoplamentos nas posições 2,5 (Eq. 3), havendo, contudo, a possibilidade da formação de defeitos, com ligações nas posições 1,5.



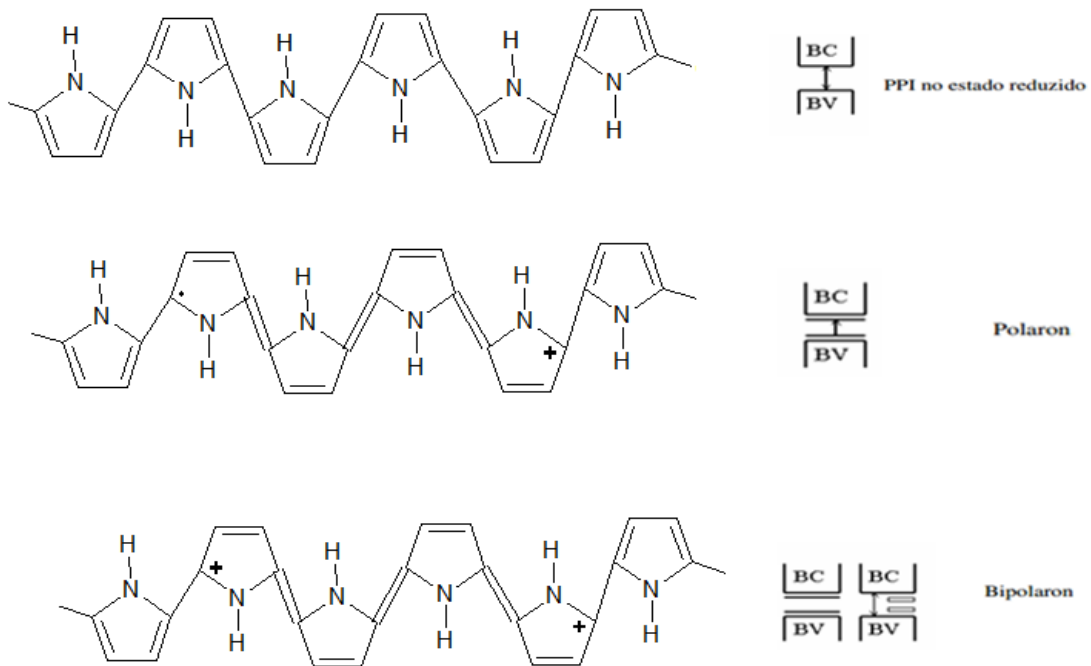
O modelo de condutividade em polímeros condutores é explicado fazendo-se uma analogia aos semicondutores inorgânicos. No caso dos polímeros, os dopantes não passam a fazer parte da estrutura, mas são inseridos entre as cadeias poliméricas, podendo ser removidos através da aplicação de um potencial elétrico; e este é o motivo da dopagem em polímeros poder ser um processo reversível (KOBRYANSKII AND ARNAUTOV 1993). Um mecanismo geral que descreva a dopagem em polímeros ainda não foi estabelecido, pois um único mecanismo descrito para todo e qualquer polímero não funciona para os demais.

No caso do polipirrol a separação de energia entre a BV (banda de valência) e a BC (banda de condução) no seu estado reduzido não favorece o processo de condução (MANE, SARTALE et al. 2015). Com a oxidação da

cadeia polimérica, ocorre inicialmente a formação de um cátion radical o que leva a uma distorção na rede polimérica devido a uma relaxação da geometria da rede aromática pela formação de estruturas quinóides que se estendem por quatro anéis pirrólicos.

Este cátion-radical é chamado de pólaron. Os níveis polarônicos gerados encontram-se semi-preenchidos e apresentam-se a por volta de 0,5 eV das bandas de condução e valência. Com a perda de mais elétrons, formam-se dicátions, com duas cargas positivas localizadas na mesma região inicialmente distorcida. A formação do bipólaron é energeticamente favorecida, pois leva a uma maior relaxação da rede cuja distorção encontra-se agora, altamente localizada sobre os quatro anéis pirrólicos. Os níveis bipolarônicos encontram-se vazios, mas em altos níveis de dopagem, estes níveis podem se sobrepor, formando bandas bipolarônicas (MÜNSTEDT, KÖHLER et al. 1987). Em determinados polímeros, que possuam baixos valores de E_g , como é o caso do politiofeno, as bandas bipolarônicas podem chegar a sobrepor as bandas de condução e valência e nesse caso, temos uma situação semelhante à condução em metais. A representação da estrutura da cadeia de polipirrol em seu estado reduzido, formando pólarons e bipólarons é mostrada na Fig.1 (BREDAS, SCOTT et al. 1984).

Figura 01. Representação dos defeitos estruturais da cadeia de polipirrol



Fonte: autoria própria

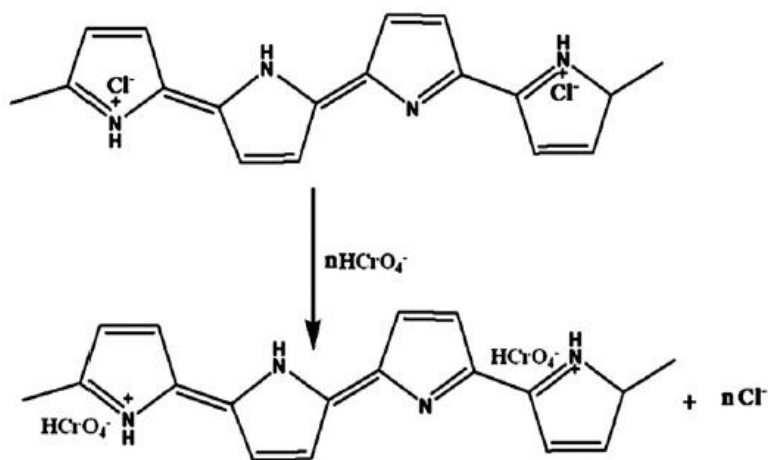
A aplicação do polipirrol em sistemas adsorventes de cromo tem aumentado significativamente nos últimos anos. Bhaumik e colaboradores (2012) aumentaram a eficiência de adsorção adicionando partículas magnéticas de Fe_3O_4 ao polipirrol. Wang e colaboradores (2012) desenvolveram sistemas ternários à base de óxido de grafeno reduzido decorado com polipirrol e óxido de ferro aplicados na adsorção de cromo hexavalente. O desenvolvimento de novos materiais aplicados na remoção de metais pesados como cromo tem chamado a atenção da comunidade científica e a aplicação de sistemas integrados vêm ganhando espaço (BHAUMIK, MAITY et al. 2012).

Estruturas do tipo núcleo casca também vêm sendo aplicadas na remoção de íons de cromo hexavalente por adsorção. Wang e colaboradores (WANG, ZOU et al. 2012) desenvolveram um sistema do tipo núcleo casca (PPy/Fe₃O₄) que foi capaz de adsorver 209 mg de cromo por cada grama de material adsorvente utilizado e apresentavam em média 500 nm de diâmetro após polimerização do polipirrol na superfície das partículas magnéticas. Compósitos à base de quitosana também vêm sendo empregados como potenciais adsorventes de íons de cromo em solução.

Zimmermann e colaboradores (1999) desenvolveram um compósito reticulado de quitosana e ferro e aplicaram na adsorção de cromo. Resultados mostram que coexiste uma reação entre o complexo de quitosana/ferro e íons de cromo para eliminação de íons nitrato do reticulado. Recentemente polímeros como polipirrol, poliacrilonitrila e polianilina têm se mostrado bons adsorventes de íons de metais pesados devido a presença de grupo - C=O, -CN, -OH e - COO⁻. A diferença de hidrofobicidade entre os polímeros e materiais usados para produzir compósitos pode ser facilmente contornada através da adição de agentes funcionalizantes. Isso pode ser facilmente identificado no caso de polímeros como polipirrol e a polianilina, que possuem a sua superfície hidrofóbica formando compósitos de base magnética que geralmente apresentam superfície hidrofílica (WANG, ZOU et al. 2012). Os processos de adsorção ou filtração através da cadeia do polipirrol são facilitados devido à presença de átomos de nitrogênio carregados (ZHANG, BAI et al. 2006). Um possível mecanismo para remoção de HCrO₄⁻ foi descrito por Bhaumik e colaboradores (BHAUMIK, MAITY et al. 2011), para este processo ocorre uma mudança de íons Cl⁻ pelo HCrO₄⁻, espécie dominante do

íon cromo em solução com pH entre 2 e 6, que ocorre no nitrogênio positivo do anel do polipirrol (Fig. 2). Os autores ainda conseguiram associar a diminuição da remoção do cromo em pH alcalino a partir da competitividade entre os íons CrO_4^{2-} e OH^- presente na solução.

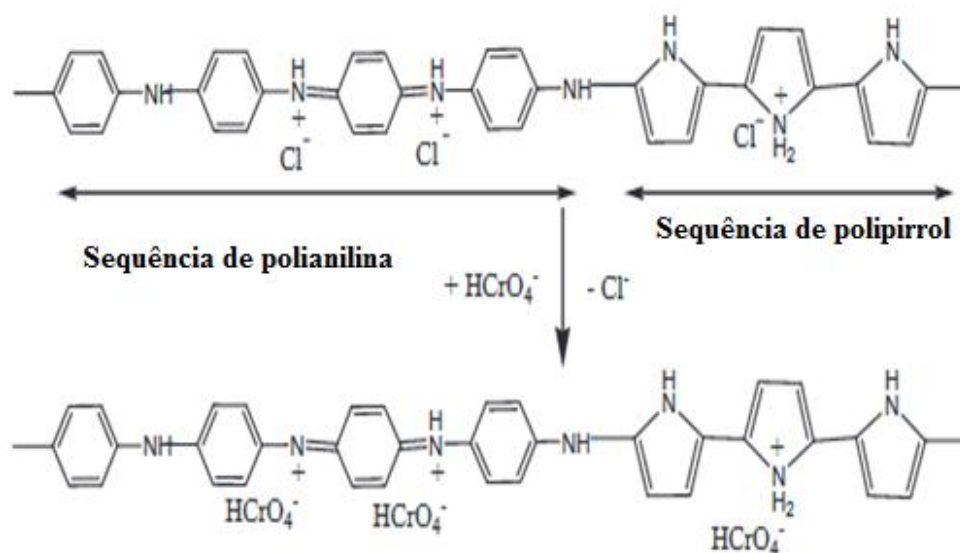
Figura 02- Possível esquema para adsorção de cromo VI através da cadeia de polipirrol.



Fonte: (Bhaumik, Maity et al. 2011).

Compósitos à base de polipirrol também têm sido aplicados na remoção de cromo hexavalente disperso em solução. Bhaumik e colaboradores (2011) sintetizaram nanofibras de polipirrol/polianilina e aplicaram na adsorção de cromo VI, verificando que as nanofibras de polipirrol/polianilina exercem um maior poder de adsorção quando comparado com homopolímero polipirrol. Eles propuseram que as cadeias de polianilina/polipirrol apresentavam sítios distintos, idênticos a copolímeros em blocos, e que esses sítios eram responsáveis pelo aumento no processo de adsorção dos íons HCrO_4^- (BHAUMIK, MAITY et al. 2012).

Figura 03- Esquema proposto por Bhaumik e colaboradores para formação de copolímero de polipirrol/polianilina.

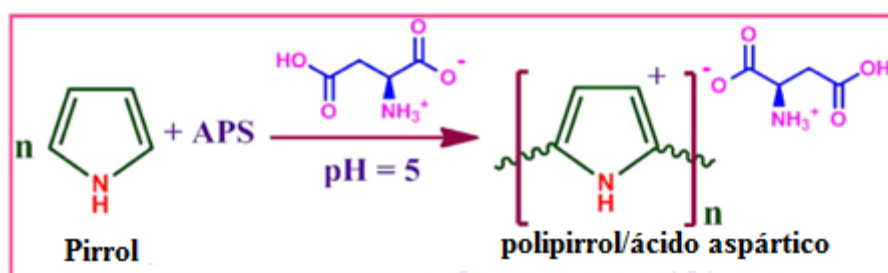


Fonte: (BHAUMIK, MAITY et al. 2012).

O desenvolvimento de compósitos de polipirrol para adsorção de cromo hexavalente geralmente está associado a estruturas que formam cargas positivas em sítios específicos da cadeia (KRISHNANI, SRINIVES et al. 2013; MTHOMBENI, ONYANGO et al. 2015). Recentemente, Ballav e colaboradores (BALLAV, MAITY et al. 2012) sintetizaram compósitos de polipirrol dopados com glicina e obtiveram um bom rendimento de adsorção devido à presença de novos sítios carregados positivamente. Seguindo essa linha de raciocínio, Amalraj e colaboradores (AMALRAJ, SELVI et al. 2016) doparam polipirrol com ácido aspártico e aplicaram na adsorção de cromo hexavalente, nesse caso o polipirrol dopado com ácido aspártico se mostrou eficaz na adsorção de cromo em pH abaixo de 6. Os autores relacionam esse fato ao processo de

desprotonação do grupo amina presente na cadeia de ácido aspártico (Fig.4) em valores de pH elevados, o que diminuiria a atração eletrostática dos íons cromo

Figura 4- Estrutura do polipirrol dopada por ácido aspártico.

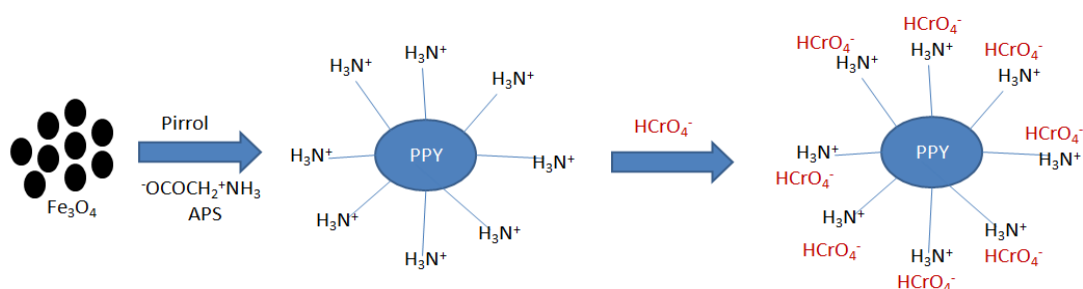


Fonte: (AMALRAJ, SELVI et al. 2016).

Em paralelo ao desenvolvimento de modificações na estrutura do polipirrol, novos compósitos foram surgindo na tentativa de melhorar a capacidade de adsorção do cromo em solução. Neste sentido, a inclusão de partículas com propriedades magnéticas ou superparamagnéticas em sistemas envolvendo polipirrol tem ganhado destaque nos últimos anos. Braumik e colaboradores (2011) conseguiram uma capacidade de adsorção de 169,5 mg/g, Wang e colaboradores (2012) aumentaram o potencial de adsorção preparando microesferas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PPy}$ atingindo 209 mg/g. Almaraj e colaboradores (2016) doparam $\text{PPy}/\text{Fe}_3\text{O}_4$ e aumentaram a capacidade de adsorção de cromo para 238 mg/g. A grande vantagem dos sistemas de partículas magnéticas é a facilidade de remoção do meio em que se encontram. A aplicação de um campo magnético pré definido permite separar o

material adsorvente do meio facilitando os processos de reuso do material, após o processo de dessorção.

Figura 05- Mecanismo proposto por Almaraj para adsorção de cromo através de compósitos $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PPy-Gli}$.



Fonte: (AMALRAJ, SELVI et al. 2016)

3.4) Mecanismos de Adsorção

O processo de adsorção é a capacidade de um gás ou líquido de ser acumulado seletivamente na superfície de um sólido (ROUQUEROL, ROUQUEROL et al. 2013). Os constituintes da adsorção são o adsorbato e o adsorvente, onde a substância adsorvida é chamada adsorbato e o material sobre o qual ocorre a adsorção é o adsorvente. No processo de adsorção geralmente ocorre uma diminuição da energia superficial do sistema (processo espontâneo) no qual a energia livre de Gibbs é menor que zero. Basicamente podem ocorrer dois tipos de adsorção; adsorção química e adsorção física.

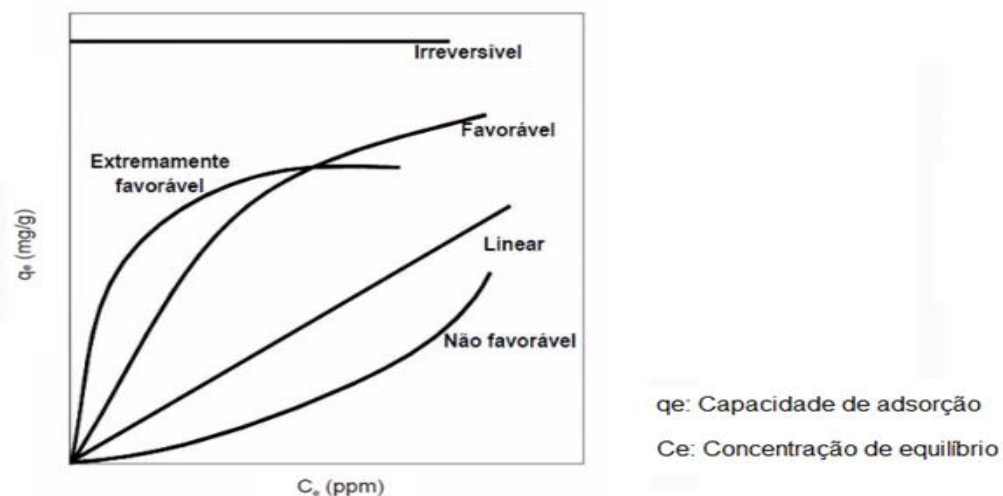
No processo de adsorção química existe a formação de ligação química através da transferência de elétrons entre o adsorvente e o adsorbato

resultando na formação de uma monocamada adsorvida. Na adsorção física, existe a predominância das ligações de Van der Waals ou atração eletrostática entre íons de cargas opostas presentes nas espécies que podem formar camadas sobrepostas (DASH 2012).

3.4.1- Isotermas

Os processos de adsorção são representados por curvas chamadas de isothermas. Isothermas de adsorção são representadas por funções matemáticas que descrevem a adsorção de solutos por sólidos, a temperaturas constantes (EPSTEIN, MICHAEL et al. 2015). Essas isothermas indicam a forma como o adsorvente adsorverá o soluto, se o processo é economicamente viável e são capazes de fornecer estimativas para determinar a capacidade máxima de adsorção. A Fig. 6 relaciona os principais tipos de isothermas conhecidos na atualidade.

Figura 06. Principais tipos de isothermas.



Fonte: <http://labvirtual.eq.uc.pt> (acesso em 17/09/2017)

Duas equações de adsorção são comumente utilizadas para descrever a adsorção de íons nos sólidos: Os modelos de Langmuir e Freundlich. A equação de Langmuir foi inicialmente utilizada para descrever a adsorção de gases por sólidos e se baseia em três suposições: (a) a superfície de adsorção é homogênea, isto é, a adsorção é constante e independente da extensão da cobertura da superfície; (b) a adsorção ocorre em sítios específicos, sem interação com as moléculas do soluto; (c) a adsorção torna-se máxima quando uma camada monomolecular cobre totalmente a superfície do adsorvente (EPSTEIN, MICHAEL ET AL. 2015). A equação de Langmuir na sua forma linearizada é mostrada na Eq.4, onde c_e é a concentração de equilíbrio, b é a constante de Langmuir e q_m é a capacidade máxima de adsorção.

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{bq_m} + \frac{c_e}{q_m} \quad \text{Eq. 4}$$

Outro modelo de equação bastante utilizado é o modelo de Freundlich. A equação de Freundlich sugere que a energia de adsorção decresce logaritmicamente, à medida que a superfície vai se tornando coberta pelo soluto, o que a diferencia da equação de Langmuir (PERUCHI, FOSTIER et al. 2015). O modelo de Freundlich pode ser derivado teoricamente ao se considerar que o decréscimo na energia de adsorção com o aumento da superfície coberta pelo soluto é devido à heterogeneidade da superfície (ALLEONI, CAMARGO et al. 1998). A equação de Freundlich é representada

na sua forma linearizada como podemos ver na Eq. 5, onde k_f é a capacidade máxima de adsorção e $1/n$ é a intensidade de adsorção.

$$\ln q_e = \ln k_f + \frac{1}{n} \ln c_e \quad \text{Eq. 5}$$

3.5) Nanotubos de carbono

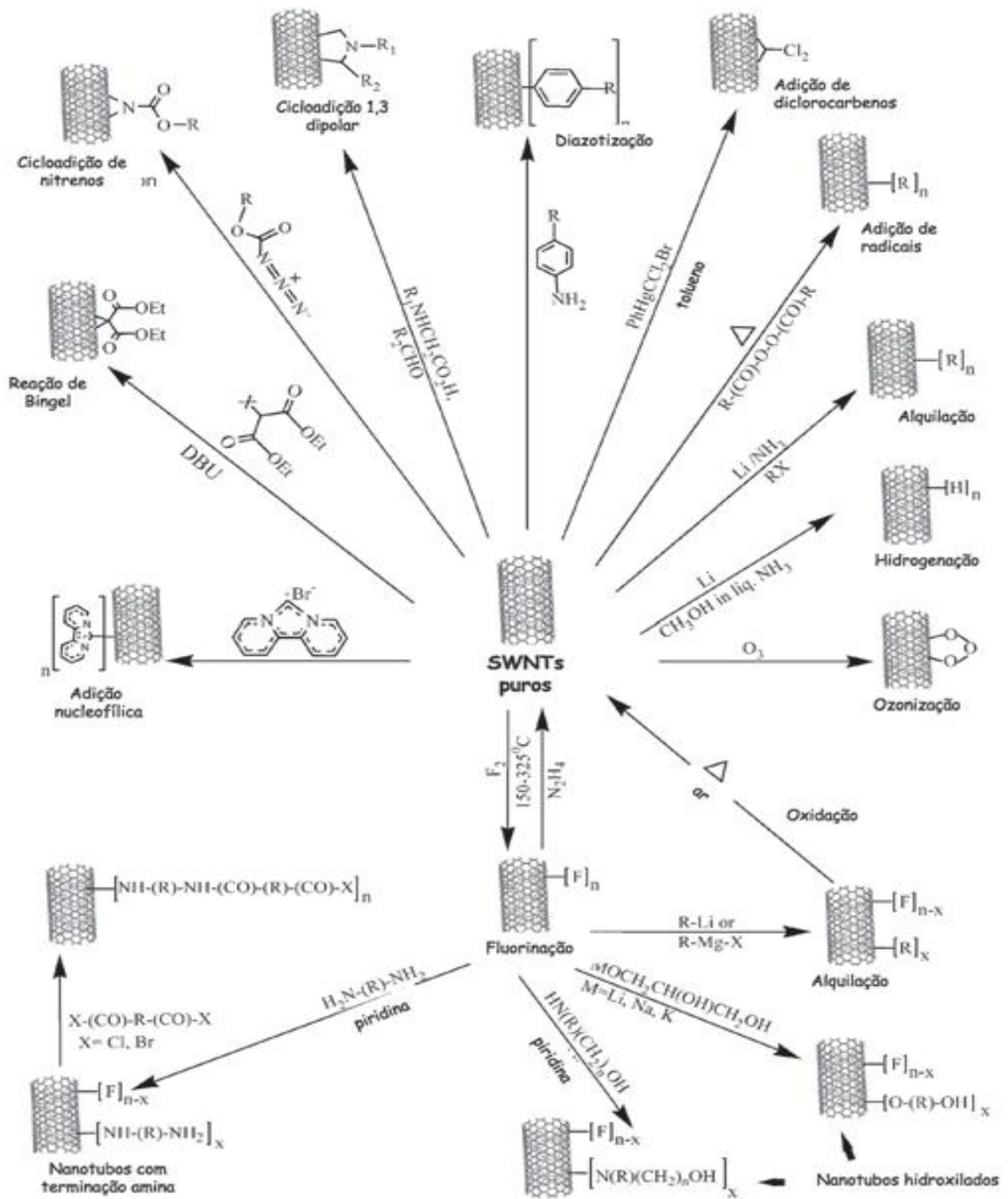
Os nanotubos de carbono foram descobertos em 1991 e representam estruturas versáteis que podem ser aplicadas nos mais diversos campos da ciência, podendo ser classificadas de acordo com o número de camadas, como nanotubos de camadas múltiplas (MWNTs), camada simples (SWNTs) e outro tipo especial de MWNT é o nanotubo de parede dupla (DWNTs) (HERRERO-LATORRE, BARCIELA-GARCÍA ET AL. 2017). Sabemos que essas estruturas podem ter suas propriedades físico-químicas melhoradas para os mais diversos tipos de aplicações (WANG, CAI ET al. 2014). Uma das alternativas para o tratamento de nanotubos de carbono é a funcionalização, que pode ocorrer em suas paredes, pontas ou por encapsulamento (capilaridade das pontas) (TOÇOĞLU, HATIPOĞLU et al. 2016).

Esses processos de funcionalização facilitam a interação dos nanotubos com moléculas orgânicas, biológicas, farmacológicas, tóxicas e até com vírus e bactérias (DE SOUZA FILHO AND FAGAN 2007; LIU, LI et al. 2015; CHATTERJEE, YANG et al. 2017). Na Fig. 7 temos algumas rotas de funcionalização de nanotubos esquematizada por Li e colaboradores (LI,

CHENG et al. 2005). Um tipo de funcionalização bastante utilizado em nanotubos de carbono é a funcionalização com grupos carboxila (-COOH).

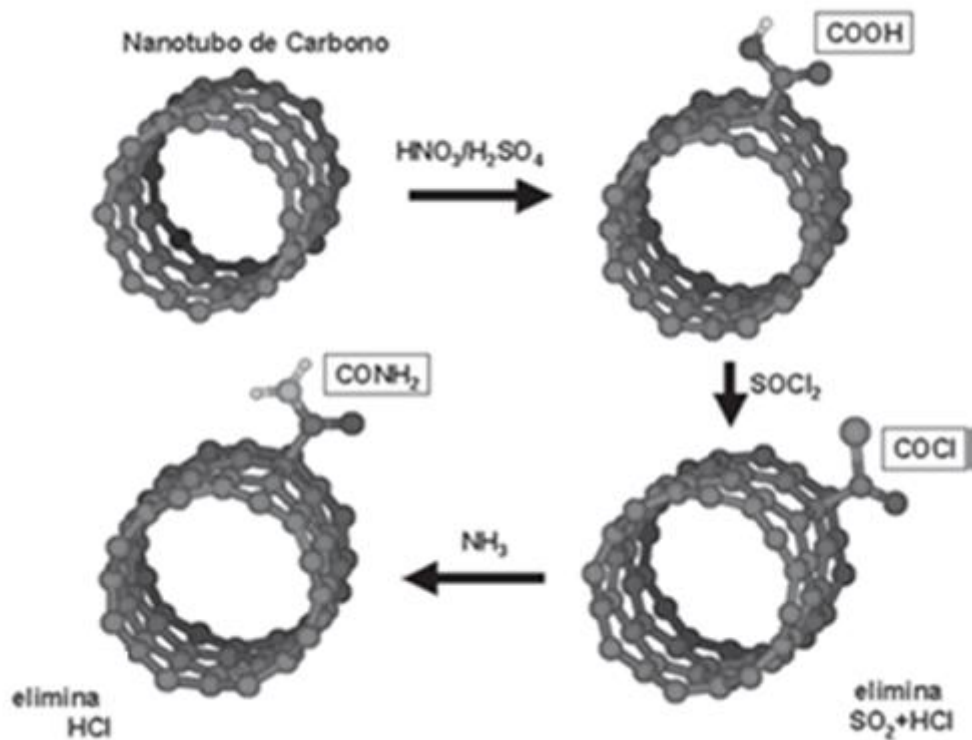
A funcionalização com esses grupos favorece a interação dos nanotubos com espécies mais complexas como DNA e marcadores fluorescentes (SHI KAM, JESSOP et al. 2004). Além disso, é possível converter os grupos carboxilas adicionados aos nanotubos em outros grupos de interesse como grupos amina. A Fig. 8 demonstra a principal rota de funcionalização de nanotubos com grupos carboxila e posterior conversão em grupos amina.

Figura 07- Rotas de funcionalização a partir de nanotubos de simples camada.



Fonte: (LIU, LI ET AL. 2015)

Figura 08- Funcionalização de nanotubos com grupos carboxila e amina.

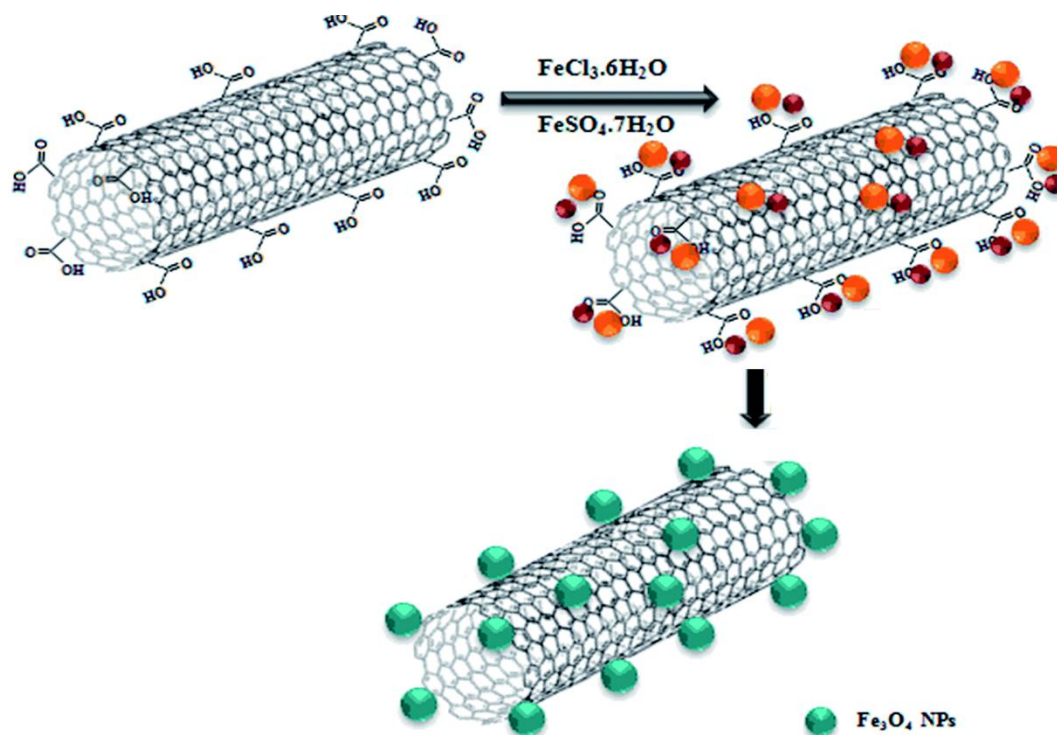


Fonte: (DE SOUZA FILHO e FAGAN, 2007)

Outra linha envolvendo os nanotubos de carbono se refere à adição de partículas magnéticas em sua superfície. Trabalhos desenvolvidos recentemente (HERRERO-LATORRE, BARCIELA-GARCÍA ET AL. 2015; ALBAAJI, CASTLE ET AL. 2016) mostram diferentes rotas para se aderir partículas com características ferromagnéticas ou superparamagnéticas na superfície desses materiais. Neste sentido, partículas com altos valores de saturação magnética, como a magnetita (Fe_3O_4), têm atraído a atenção de pesquisadores para os mais diversos campos de aplicação (WU, CAO et al. 2011). Esses compósitos híbridos têm sido aplicados cada vez mais na biomedicina como nano carregadores para diferentes tratamentos, inclusive em

hipertermia guiada magneticamente, liberação controlada no tratamento de tumores e em medicina regenerativa (WU, LIU et al. 2011). Um dos principais cuidados que se deve ter no uso de nanotubos aplicados em biomedicina é a sua toxicidade, nanotubos não modificados apresentam toxicidade (IANNAZZO, PIPERNO ET AL. 2012) e precisam apresentar uma boa dispersividade em água após a adição de grupos carboxila antes de serem utilizados. A Fig. 9 representa um modelo proposto por Iannazzo e colaboradores para a representação de compósitos híbridos de nanotubos funcionalizados e não funcionalizados com grupos carboxila e partículas magnéticas.

Figura 09- Representação esquemática da formação de compósitos híbridos a base de nanotubos e partículas magnéticas.



Fonte:(Beitollahi, Ebadinejad et al. 2016)

Dessa forma podemos aproveitar a versatilidade dos nanotubos de carbono e produzir estruturas com área superficial diferenciada e aplicá-los nos mais diferentes tipos de processos, agregando a eles espécies com propriedades específicas.

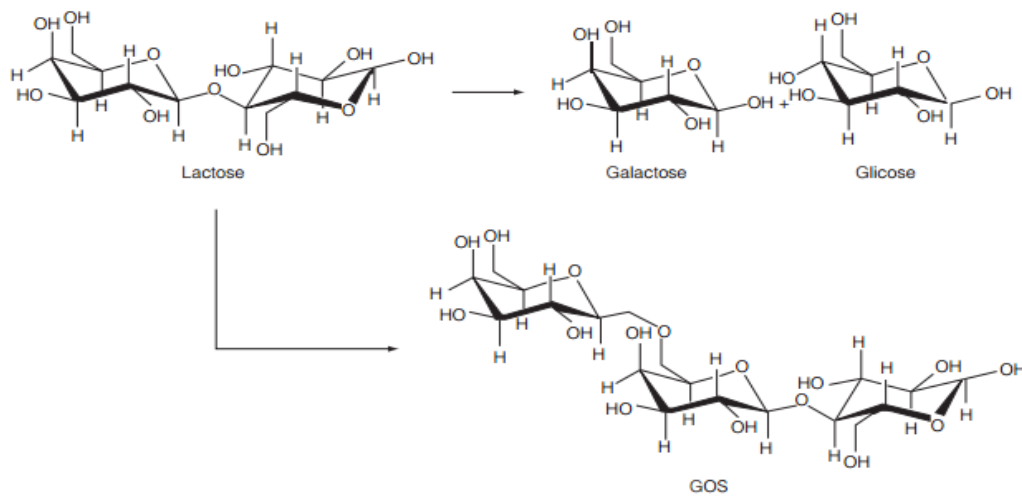
3.6) Galacto-oligossacarídeos (GOS)

Oligossacarídeos são glicosídeos com 3 a 10 unidades de monossacarídeos. Geralmente são encontrados em componentes naturais de muitos alimentos, incluindo leite, frutas, vegetais etc. Também são chamados de ingredientes funcionais, pois sua ingestão possibilita uma enorme gama de benefícios à saúde humana (CUI 2005). Galacto-oligossacarídeos (GOS) são carboidratos formados por sete unidades de galactose e uma glicose terminal (TZORTZIS AND VULEVIC 2009).

São estruturas resistentes à ação de enzimas digestivas ao serem consumidas e por isso são consideradas alimentos prebióticos. Muitos são os benefícios ocasionados pela ingestão do GOS, que vão desde regulação do trato gástrico intestinal (TEURI, KORPELA et al. 1998), modulação do sistema imune através de propriedades antiaderentes e absorção de minerais como cálcio e magnésio (GOPALAKRISHNAN, CLINTHORNE et al. 2012). Além disso, não geram cárie por não serem metabolizados por microorganismos da cavidade oral e são hipocalóricos. Os GOS são formados pela transgalactosilação da lactose por ação da enzima β -galactosidase, a partir de

substratos ricos em lactose (MAHONEY 1998). A Fig.10 mostra duas rotas de conversão da lactose catalisada pela enzima β -galactosidase.

Figura 10. Meio de conversão enzimática da lactose a partir da β -galactosidase.



Fonte:(MARTINS AND BURKERT 2009)

Muitas metodologias têm sido usadas atualmente na produção de GOS. Misson e colaboradores (MISSION 2015) montaram nanofibras de poliestireno com *Kluyveromyces lactis* através da técnica de eletrofiação para formar uma região hidrofóbica na superfície da fibra que fosse capaz de repelir moléculas de água e conseguiram assim aumentar o rendimento na produção de GOS em 73 g.L.h quando comparada com a β -galactosidase livre demonstrando assim que o sistema atua como biocatalisador e favorece a transgalactosilação da

lactose. Neri e colaboradores (NERI, BALCÃO et al. 2009) investigaram a produção de GOS usando como suporte para β -galactosidase polisiloxano magnetizado recoberto com polianilina e analisaram fatores como a concentração de lactose e temperatura do meio na produção de GOS concluindo que a concentração inicial de lactose na reação afeta a produção de GOS, além do derivado enzimático insolúvel em água poder ser reutilizado após o uso através de separação magnética.

Wandermam e colaboradores (2014) compararam a produção de GOS utilizando um reator de leite embalado com a produção convencional através de enzimas livres. Os autores puderam observar que o tempo médio de estabilidade da enzima quando se utiliza o reator é alta (90 dias) e que a produção de GOS chega a ser seis vezes maior quando comparada a metodologia tradicional. Sabe-se que diferentes tipos de β -galactosidase influenciam na produção e de GOS e na hidrólise da lactose. Nesse sentido, vários estudos têm sido efetuados a fim de verificar a influência da origem da β -galactosidase no processo de obtenção de GOS (WARMERDAM, ZISOPOULOS et al. 2014).

A associação do GOS com fruto-oligossacarídeo (FOS) (SHEN, TUOHY et al. 2011) tem sido utilizada em recém nascidos pré maturo com importantes vantagens na maturação do intestino e no desenvolvimento cerebral (GUDIEL-URBANO AND GONI 2001). Com base nestas aplicações, o desenvolvimento a baixo custo e mais eficiente nos processos de biotransformação representam um passo importante nas reações direcionais envolvendo a enzima β -galactosidase (MISSON, DAI et al. 2016).

As condições de imobilização da β -galactosidase são bastante seletivas, e quando voltada para produção de GOS necessitam de ambientes hidrofóbicos, pH e densidade de cargas adequadas. A adequada funcionalização da enzima em ambientes específicos é extremamente necessária devido à competição entre a transgalactosilação e a hidrólise (IWASAKI, NAKAJIMA et al. 1996). A concentração inicial de lactose e o tempo de reação são parâmetros críticos e que definem o tipo de reação, se a concentração de lactose for baixa prevalece a hidrólise e caso contrário prevalece a produção de GOS. O mecanismo de ação enzimático pode ser estabilizado com a transferência da galactose para o aceptor nucleofílico, se considerarmos água como aceptor o produto final é a galactose, se o aceptor for um açúcar então o resultado é um oligossacarídeo (MAHONEY 1998). A adequada relação entre a concentração de lactose e o tempo de reação favorece a produção de GOS devido à mínima quantidade de hidrólise ocorrida na reação. A determinação do tempo de reação é um fator importante, pois a conversão do GOS é evitada após a hidrólise subsequente (SPLECHTNA, NGUYEN et al. 2007).

O aumento na concentração do GOS tende a favorecer a sua hidrólise, devido à alta afinidade da ligação galactose-galactose em relação à ligação galactose-glucose (CRUZ, CRUZ et al. 1999). A funcionalização de suportes orgânicos para ação de enzimas incorpora vantagens relativas à retenção do material ativo para sucessivas aplicações na produção de GOS. A imobilização de enzimas em suportes magnéticos tem sido uma alternativa nos processos que envolvem a remoção de bactérias (KOZITSINA, SVALOVA et al. 2016) e biocatálise (XIE AND ZANG 2016), tendo como a principal vantagem a

possibilidade de reuso do material ativo após a separação magnética do derivado enzimático do meio reacional (CAO, WEN et al. 2016).

No próximo capítulo abordaremos os materiais e métodos utilizados nesta tese. Mostraremos a metodologia de preparo e síntese de nanopartículas de óxido de ferro e dos nanocompósitos magnéticos à base de polipirrol utilizando diferentes agentes oxidantes, bem como as variações nas relações monômero/oxidante. Também serão apresentadas as técnicas de análise e seus referidos equipamentos utilizados na caracterização dos nanocompósitos magnéticos.

4-Materiais e métodos

Todos os reagentes usados nesta tese foram de grau analítico. Com exceção do pirrol (Sigma Aldrich) que foi previamente destilado antes do uso, os demais reagentes foram utilizados sem nenhum tratamento prévio. A água utilizada no preparo das soluções foi obtida através de Sistema Milli-Q® Advantage A10 com resistividade 18,2 Mohm.cm. As análises foram realizadas no Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais, pertencente à Universidade Federal do Vale do São Francisco (IPCM/Univasf-Juazeiro-BA) e no centro de tecnologias estratégicas do nordeste (CETENE/MCTIC-Recife-PE). Os gráficos foram gerados a partir dos softwares Originlab 8 e Estatística 8.0.

4.1) Síntese de nanopartículas magnéticas de Fe₃O₄

A síntese de nanopartículas de óxido de ferro se deu pela adição de cloreto de ferro III na presença de acetato de sódio dissolvido em etilenoglicol. Inicialmente, 1,06 g de cloreto de ferro III hexahidratado foi dissolvido em 40 mL de etilenoglicol. Após 5 minutos de agitação, 3,0 g de acetato de sódio foram adicionados e agitados por 10 minutos para completa dissolução dos reagentes. Após isso, o sistema foi submetido a refluxo com temperatura de 250° C durante 5 horas com agitação constante. Essa metodologia foi adaptada a partir do trabalho desenvolvido por Wang e colaboradores (WANG et al, 2012), onde substituímos um reator de aço e teflon pelo refluxo para

realizar o processo de reação solvotérmica. As nanopartículas formadas foram lavadas, separadas magneticamente e secas em estufa a 80 °C por 12 horas.

4.2) Síntese de compósitos magnéticos núcleo/casca de polipirrol e óxido de ferro ($\text{Fe}_3\text{O}_4@PPy$)

4.2.1) Uso de persulfato de amônia ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) como agente oxidante

Os compósitos magnéticos núcleo/casca de polipirrol foram preparados a partir da síntese química do polipirrol na superfície das nanopartículas de óxido de ferro. Inicialmente, 40 mL de Fe_3O_4 (0,2 mmol) foram agitados através de ultrasom por 10 minutos. Após a agitação, 0,2 mL de pirrol foram adicionados e agitados por mais 30 minutos para completa dispersão do monômero na superfície das partículas. Para finalizar a polimerização 10 mL de persulfato de amônia (10 mmol) foram adicionados ao sistema e agitados por uma hora. Após a polimerização o compósito foi lavado com água Milli-Q®, separado magneticamente e seco em estufa a 80 °C por 12 horas.

4.2.2) Uso de cloreto de ferro III como agente oxidante

Para sintetizar o compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foram testadas 6 relações monômero/oxidante, como mostra a tabela 2. Inicialmente 100 mg de Fe_3O_4 foram dispersas em 80 mL de água e agitadas em ultrassom por 10 minutos. Após a agitação o oxidante foi dissolvido em 20 mL de água e agitado magneticamente por 30 minutos. Para finalizar o monômero de pirrol foi adicionado lentamente ao sistema e o mesmo foi submetido à agitação mecânica por 3 horas. Após a polimerização os compósitos foram lavados, coletados magneticamente e secos em estufa a 80°C por 24 horas.

Tabela 2. Relação monômero oxidante para síntese de compósitos $\text{PPy}@\text{Fe}_3\text{O}_4$.

Vol. Monômero (mL)	Massa oxidante (g)	Relação monômero./oxidante.
0,8	6	0,13
0,8	1	0,8
0,4	6	0,06
0,4	1	0,4
0,2	6	0,03
0,2	1	0,2

Fonte: Autoria própria

4.3) Funcionalização de nanotubos de carbono multicamadas (MWCNT)

Inicialmente nanotubos de carbono multicamadas foram funcionalizados em uma mistura de ácido sulfúrico/ácido nítrico (3:1 molar) durante 5 horas sob refluxo a 100 °C. Após a funcionalização, os nanotubos foram lavados com água até o pH se estabilizar em torno de 7 sendo em seguida secos em estufa a 100 °C durante 12 horas.

4.3.1) Síntese de nanotubos de carbono multicamadas magnéticos (MWCNT/Fe₃O₄)

Para preparação dos nanotubos de carbono magnéticos, 500 mg de nanotubos funcionalizados foram dispersos em 40 mL de etilenoglicol e agitados em ultrassom por 15 minutos. Após a agitação, 1,08 gramas de cloreto de ferro III hexahidratado foram adicionados ao sistema e mantidos em agitação por mais 15 minutos. Após isso, 3,0 g de acetato de sódio foram adicionados e a temperatura foi elevada para 250 °C na qual permaneceu durante 5 horas sob refluxo e agitação. Após a síntese, os nanotubos foram lavados com água Milli-Q®, separados magneticamente e secos em estufa por 12 horas a 100°C.

4.4) Síntese de compósito magnético a base de nanotubo e polipirrol (MWCNT/Fe₃O₄@PPy)

4.4.1) Usando persulfato de amônia ((NH₄)₂S₂O₈) como agente oxidante

Inicialmente 200 mg de MWCNT/Fe₃O₄ foram dispersos em 400 ml de água Milli-Q® e agitados em ultrassom por 10 minutos. Após esse tempo 0,8 mL de pirrol foram adicionados ao sistema e agitados por mais 5 minutos. Para finalizar 490 mg de ((NH₄)₂S₂O₈) foram dissolvidos em 210 mL de água Milli-Q®, vertidos na solução contendo nanotubos e agitados magneticamente por 3 horas. Após a síntese, o compósito foi lavado, separado magneticamente e seco em estufa a 100 °C por 12 horas.

4.4.2) Usando cloreto de ferro III hexahidratado (FeCl₃.6H₂O) como agente oxidante

Para sintetizar o compósito híbrido 200 mg de nanotubos de carbono funcionalizados foram dispersos em 80 mL de água Milli-Q® e agitados em ultrassom por 10 minutos. Após a agitação, cloreto férrico hexahidratado foi dissolvido em 20 ml de água Milli-Q® e vertido sobre a solução de nanotubos. Para dispersar o cloreto férrico na solução, o sistema foi mantido em agitação

constante por 30 minutos em temperatura ambiente e para finalizar a síntese, pirrol foi gotejado lentamente ao sistema e agitado a 500 rpm por 3 horas. A fim de verificar a influência da relação oxidante/monômero, foram realizadas seis relações diferentes envolvendo a quantidade de pirrol e cloreto férrico como mostra a Tabela 3.

Tabela 3. Relação monômero oxidante para síntese de compósitos MWCNT/Fe₃O₄@PPy.

Vol. Monômero (mL)	Massa oxidante (g)	Relação mon./oxi.
0,8	6	0,13
0,8	1	0,8
0,4	6	0,06
0,4	1	0,4
0,2	6	0,03
0,2	1	0,2

Fonte: Autoria própria

4.5) Processo de reutilização do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy

Para o processo de reutilização do compósito, 100 mL de solução de cromo a uma concentração de 100 mg/L foi aplicado ao processo de adsorção na presença de 100 mg de compósito durante três horas. Após isso, o compósito foi separado magneticamente lavado com água, imerso em hidróxido de sódio (0,1M e 1M), com objetivo de elevar o pH e ocorrer o

processo de liberação dos íons cromo (CHÁVEZ-GUAJARDO, MEDINA-LLAMAS et al. 2015) e agitado magneticamente por uma hora. Após a agitação, o mesmo foi separado magneticamente, lavado e seco em estufa a 80°C por 24 horas. Durante o processo de reaproveitamento ocorreu uma redução de cerca de 20% do compósito devido às perdas com lavagem e transferência de recipientes. Essa perda foi compensada no segundo processo de adsorção, quando 80 mL de solução de cromo a uma concentração de 100 mg/L foi utilizado para realizar o novo teste de adsorção (TAN, WEI et al. 2017).

4.6) Análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Com o objetivo de verificar a morfologia das nanopartículas de óxido de ferro e dos materiais compósitos, imagens de microscopia eletrônica de varredura foram realizadas nas amostras utilizando um microscópio eletrônico de varredura modelo VEGA 3 marca TESCAN. Antes da realização a análise de MEV as amostras foram depositadas em fita dupla face condutora a base carbono e metalizadas com ouro sobre a superfície em atmosfera de argônio durante 300 segundos a uma taxa de deposição de 5 nm/min utilizando uma metalizadora marca Quorum modelo Q 150R ES para melhorar a condutividade do material.

4.7) Análise de BET

As análises de área superficial foram realizadas no centro de tecnologias estratégicas do nordeste (CETENE/MCTIC-Recife-PE) utilizando analisador de superfície e de tamanho de poros Micromeritics ASAP 2420. O modelo é equipado com 12 estações independentes de tratamento de amostras e seis estações de análises que funcionam simultaneamente.

4.8) Espectroscopia UV-vis

As análises de absorção na região do ultra violeta visível foram realizadas em um espectrofotômetro marca HACH modelo DR 5000 de feixe simples com cubeta de quartzo. As leituras para determinação de cromo hexavalente em solução foram determinadas seguindo a NBR 13738, medidas a 540 nm.

4.9) Análise de tamanho de partículas

O tamanho das partículas foi medido utilizando um medidor nanozeta size, modelo ZS 90 da marca Malvern. Esse sistema utiliza espalhamento de luz dinâmico sob ângulo de dispersão de 90° para cálculo de tamanho de partícula e potencial zeta.

4.10) processo de adsorção de cromo hexavalente em solução

Para realização do processo de adsorção, uma solução com concentração definida de dicromato de potássio foi preparada e após a preparação o compósito previamente pesado foi adicionado ao sistema. Após a adição do compósito o sistema foi agitado magneticamente a 500 rpm e a concentração de cromo foi medida em intervalos de tempo pré determinado através da análise de 1 ml da solução sobrenadante após a decantação magnética do compósito para evitar erros nas medidas de Uv-vis.

4.11) Determinação da concentração de cromo hexavalente

Para determinação da concentração de cromo em solução foi utilizado a NBR 13738, método da 1,2-difenilcarbazida (Vetec), essa reação converte a difenilcarbazida em um complexo de cromo difenilcarbazona que apresenta coloração roxa e pode ser medido usando espectrofotômetro Uv-vis com comprimento de onda em 540 nm. Para determinação do percentual de cromo removido (eficiência de remoção) foi utilizada a Eq. 6, onde c_0 é a concentração inicial e c_e é a concentração de equilíbrio. A capacidade máxima de adsorção (q_e) foi determinada utilizando a Eq. 7, onde m é a massa do adsorvente (g) e V o volume (L). Para determinação da concentração de cromo

$$\% \text{ removido} = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100 \quad \text{Eq. 6}$$

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{m} \times V \quad \text{Eq. 7}$$

4.12) Imobilização de β -galactosidase na superfície do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$

No processo de imobilização de β -galactosidase em compósitos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foram usados os seguintes reagentes: β -galactosidase de *Aspergillus oryzae*, (3-Aminopropil)-trietoxissilano (APTES), glutaraldeído (25%), lactose, glucose, galactose, hidróxido de amônio (NH_4OH), cloreto de ferro III, ácido acético, hidróxido de sódio. Com exceção da β -galactosidase que foi adquirida junto a Sigma-Aldrich, os demais reagentes foram adquiridos da VETEC e usados sem prévia purificação. Inicialmente 500 mg de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foram funcionalizados com APTES (2,5% v/v) e misturados em acetona e agitados por 2 h a 25° C para silanizar as nanopartículas poliméricas. O material resultante foi lavado diversas vezes com água deionizada. Após isso, 10 mg do compósito silanizado foi ativado através da imersão em 1 mL de glutaraldeído 10% v/v em pH 4,6 à temperatura ambiente durante 1 hora sob agitação intensa, em seguida o produto foi lavado 5 vezes com tampão pH 4,6. Para imobilizar a biomolécula o compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foi incubado em estufa por 18 h em β -galactosidase (0,5 mg/mL) a 4° C. Após todo o processo o material foi separado da solução utilizando campo magnético para análise

posterior. A produção de GOS foi analisada usando um planejamento fatorial 2^4 com 4 repetições em torno do ponto central.

Os parâmetros analisados nos experimentos foram; concentração de lactose (50 g/L, 275 g/L e 500 g/L), tempo de reação (0.25 h, 0.50 h e 0.75 h), pH (3.6 , 4.6 e 5.6) e temperatura (30° C, 40° C e 50° C). No intervalo de tempo pré definido, o sobrenadante foi separado do meio através de campo magnético, mantido a 100° C por 10 minutos e analisados em HPLC a fim de quantificar a quantidade de açúcar. As variáveis independentes foram definidas como pH (X1), concentração de lactose (X2), tempo de reação (X3) e Temperatura (X4) sendo considerados três níveis, abaixo (-1), central (0) e acima (+1), como mostra a Tabela 4.

Tabela 4. Variáveis independentes e nível correspondente.

FATOR	PARÂMETRO	NÍVEL DA VARIÁVEL		
		-1	0	1
pH	X ₁	3,6	4,6	5,6
[Lactose] (g.L ⁻¹)	X ₂	50	275	500
Tempo de reação (h)	X ₃	0,25	0,5	0,75
Temperatura (°C)	X ₄	30	40	50

Fonte: Autoria própria

4.12.1) Determinação da concentração relativa de açúcares

A concentração relativa de açúcares (GOS, lactose, glicose e galactose) foi determinada utilizando um módulo de separação Waters Alliance 2695, Rezex RHM-Monosaccharid H + (8%), 300 x 7,8 mm (Phenomenex) coluna de 30 °C e um detector de índice de refração. A fase móvel utilizada foi H₂O a um fluxo de 0,6 ml.min⁻¹. Com base na curva de calibração obtida, considerando uma solução (1%) contendo lactose, glicose e galactose, exploramos a proporcionalidade entre as áreas de picos e a concentração de açúcar (w/v) para determinar a porcentagem em peso de açúcar total em termos de lactose inicial (NERI ET AL, 2009). A atividade da enzima foi calculada a partir da quantidade de glicose produzida e quantificada através de HPLC. A Retenção foi determinada através da comparação entre atividade da enzima imobilizada e livre (em termos de produção de glicose). A concentração total de GOS foi determinada através da Eq. 8, como sendo a diferença entre a concentração inicial de lactose e a concentração final de lactose e monossacarídeos (glicose e galactose). O rendimento do GOS produzido foi calculado de acordo com a Eq. 9 e conversão da lactose foi determinada a partir da Eq 10, onde [LAC]_i representa a quantidade inicial de lactose, [LAC]_f a quantidade final de lactose (espécies não convertidas), [GLI] indica a quantidade de glicose e [GAL] a quantidade de galactose formada.

$$[\text{GOS}]_t \text{ (g/L)} = [\text{LAC}]_i - ([\text{LAC}]_f + [\text{GLI}] + [\text{GAL}]) \quad \text{Eq. 8}$$

$$[\text{GOS}] \% = \left(\frac{[\text{GOS}]_t}{[\text{LAC}]_c} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 9}$$

$$[\text{LAC}]_c \text{ (g/L)} = [\text{LAC}]_i - [\text{LAC}]_f \quad \text{Eq.10}$$

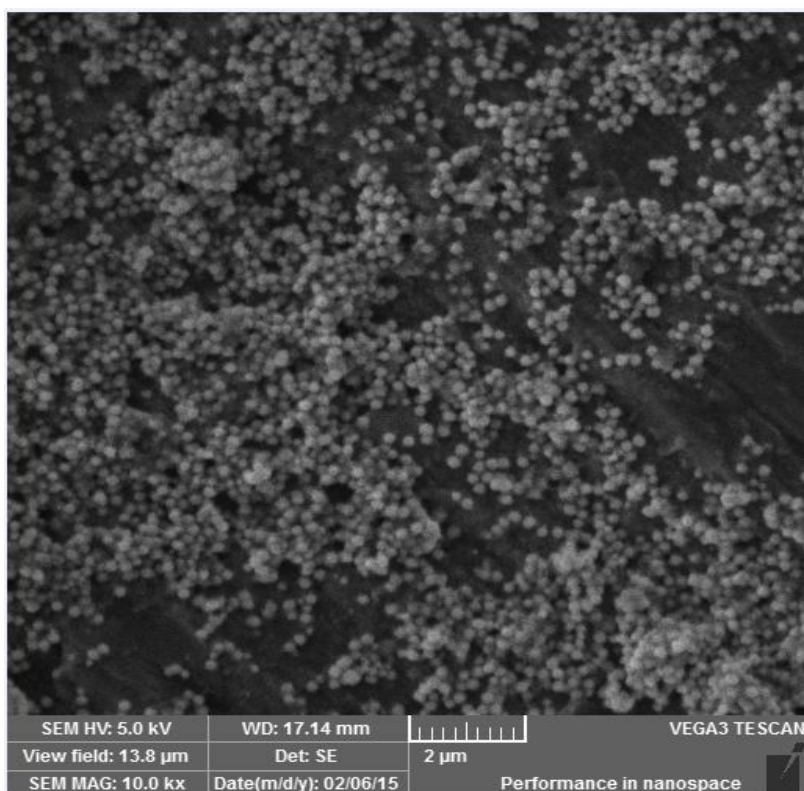
No próximo capítulo mostraremos os resultados e discussões obtidos nesta tese. Nele, iremos mostrar os resultados da análise morfológica através de MEV das nanopartículas de óxido de ferro e dos nanocompósitos magnéticos. Mostraremos também os resultados dos testes de adsorção de cromo hexavalente através dos nanocompósitos na presença e na ausência de nanotubos de carbono multicamadas. Através dos resultados obtidos determinaremos qual o melhor modelo cinético e isotérmico se aplica aos nanocompósitos.

5- Resultados e discussão

5.1) Nanopartículas de Fe_3O_4

Após a síntese, as partículas de óxido de ferro foram secas e submetidas à análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). A Fig.11 mostra a micrografia das partículas, onde podemos observar a morfologia esférica e afirmar que a metodologia de refluxo apresentou bons resultados.

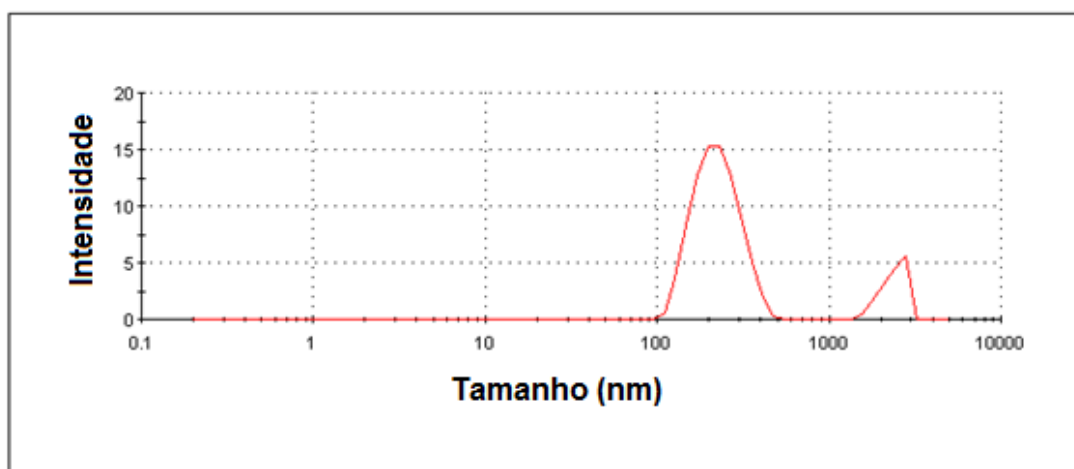
Figura 11- Microscopia eletrônica de varredura de partículas de óxido de ferro com.



Fonte: Autoria própria

As partículas de óxido de ferro também foram submetidas à análise de tamanho de partículas através de um medidor zeta sizer, sendo possível observar um tamanho médio de 200nm, como podemos observar na Fig.12.

Figura 12.Tamanho médio das nanopartículas de Fe_3O_4 .

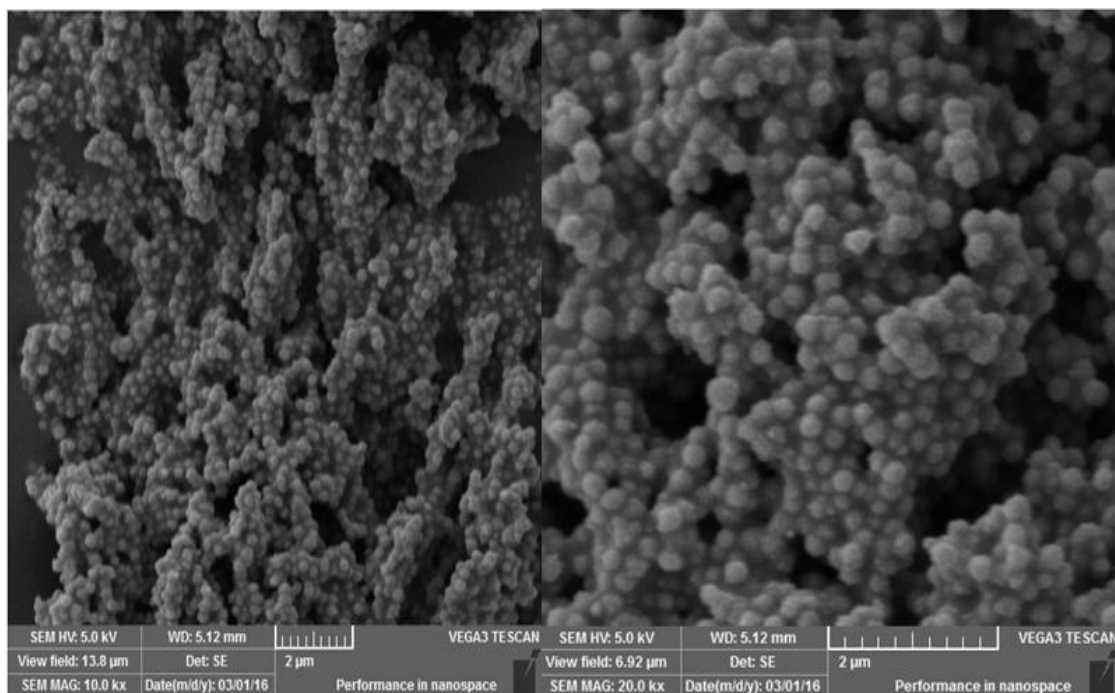


Fonte: Autoria própria

5.2) Compósitos de Fe_3O_4 @PPy usando persulfato de amônia como agente oxidante

As análises de microscopia eletrônica de varredura (Fig. 13) foram realizadas nos compósitos de Fe_3O_4 @PPy com o intuito de observar a morfologia do compósito após a polimerização do pirrol. Além da análise por MEV foram também realizadas medidas de tamanho de partícula e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) representada na Fig. 14.

Figura 13. Imagens do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ com aumento de 10 e 20 K respectivamente.

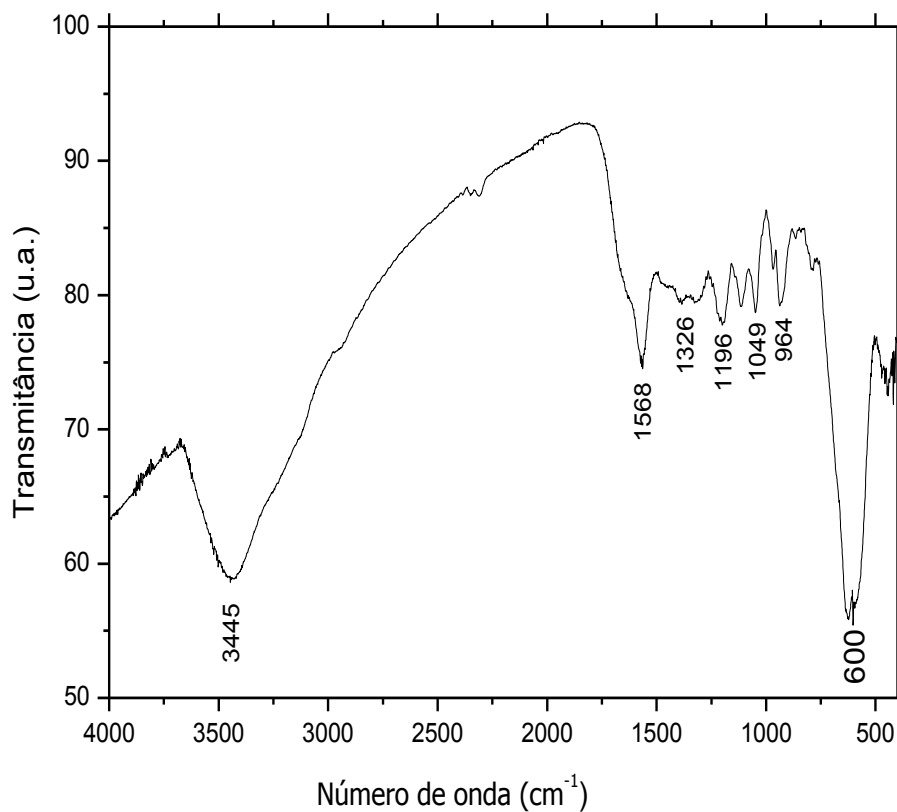


Fonte: Aatoria Própria

Na imagem gerada, podemos observar que a morfologia esférica do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ se mantêm, ou seja, a estrutura esférica das partículas de óxido de ferro se conserva. Analisando o tamanho das partículas do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ através de espalhamento de luz verificamos um aumento médio de 80 nm em relação às esferas isoladas, o que podemos atribuir ao revestimento ocasionado pela polimerização do pirrol. Análises de FTIR confirmam a presença de picos do polipirrol com bandas em 3445, 1568, 1326, 1196, 1049 e 964 cm^{-1} , que representam assinaturas das vibrações N-H, C=C, C-C, C-N, bandas vibratórias no plano e fora do plano das ligações C-H e

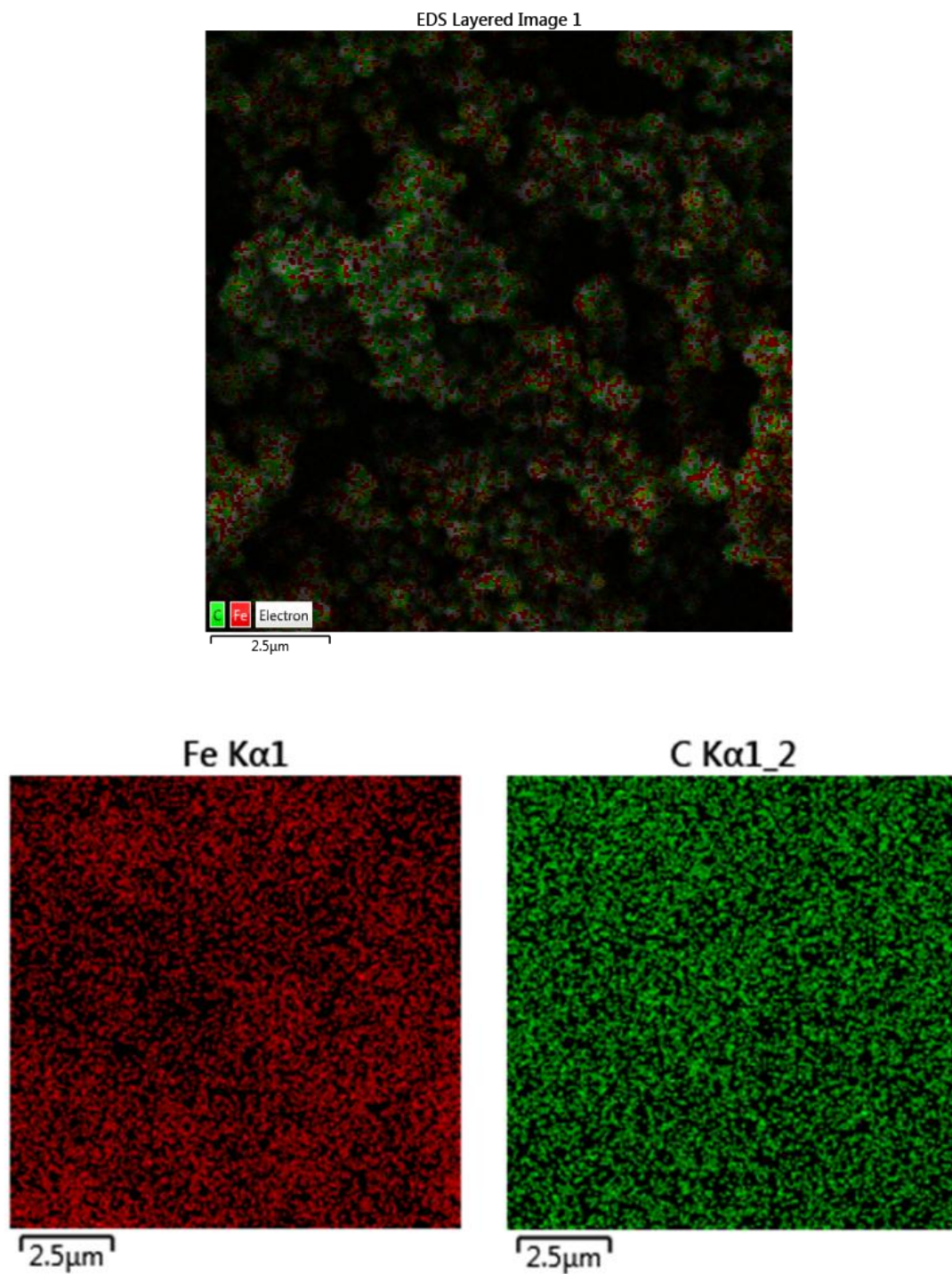
a vibração do anel de pirrol respectivamente. Também foi possível verificar um pico em torno de 600 cm^{-1} , que é atribuído a ligação Fe-O. Para corroborar com os resultados de FTIR e MEV, que indicam a presença do polipirrol recobrindo a estrutura do óxido de ferro, realizamos também um mapeamento através de análise de EDS, na qual foi possível observar a dispersão de carbono na superfície das nanoesferas de óxido de ferro, como mostra a Fig.15.

Figura 14. Análise de FTIR do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$.



Fonte: Autoria Própria

Figura 15. Mapeamento (EDS) do compósito Fe₃O₄@PPy.



Fonte: Autoria própria

Após a caracterização do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ o mesmo foi aplicado na imobilização da enzima β -galactosidase para produção de GOS e os resultados serão mostrados na próxima seção.

5.3) Produção de GOS utilizando β -galactosidase imobilizada na superfície do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$

A Tabela 5 mostra os valores de conversão de lactose em função das variáveis independentes analisadas. Podemos observar que quando a concentração de lactose inicial é alta (500 g L^{-1}), com o passar do tempo (0.25 para 0.75 h), o incremento na conversão de lactose é acompanhada pelo aumento da quantidade de GOS produzido, entretanto, quando a concentração de lactose inicial é baixa (50 g L^{-1}), a lactose convertida continua sendo maior com o passar do tempo, mas a quantidade de GOS produzido passa a ser menor.

Tabela 05. Descrição dos dados em função das variáveis independentes

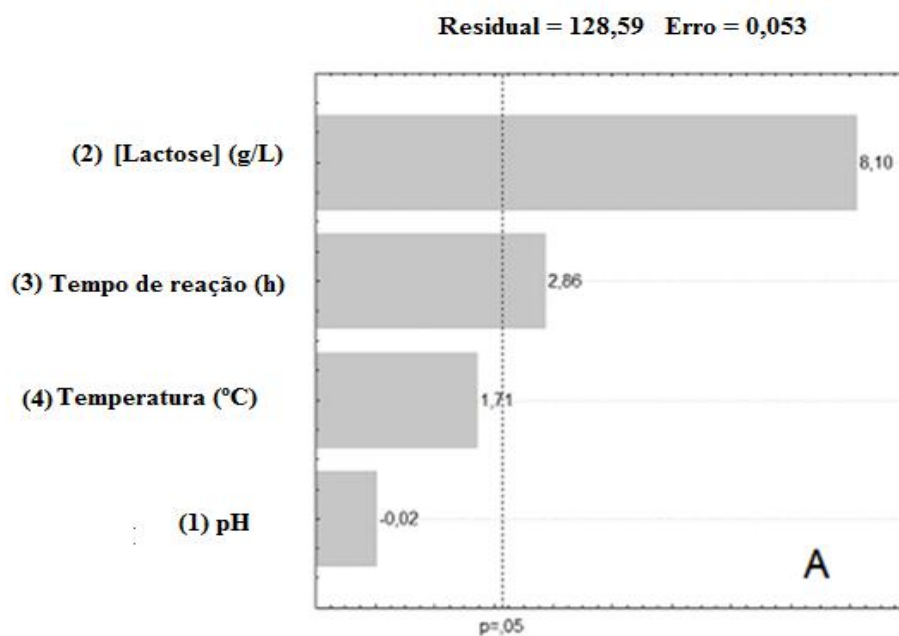
Exp.	pH	[Lactose]	Tempo de reação	Temperatura	GOS Total	Conversão Lactose
		(g L ⁻¹)	(h)	(°C)	(g L ⁻¹)	(g L ⁻¹)
1	-1 (3.6)	-1 (50)	-1 (0.25)	-1 (30)	5.49	13.69
2	+1 (5.6)	-1 (50)	-1 (0.25)	-1 (30)	5.55	11.99
3	-1 (3.6)	+1 (500)	-1 (0.25)	-1 (30)	26.16	41.79
4	+1 (5.6)	+1 (500)	-1 (0.25)	-1 (30)	27.77	43.56
5	-1 (3.6)	-1 (50)	+1 (0.75)	-1 (30)	5.68	20.94
6	+1 (5.6)	-1 (50)	+1 (0.75)	-1 (30)	6.55	19.09
7	-1 (3.6)	+1 (500)	+1 (0.75)	-1 (30)	55.60	88.29
8	+1 (5.6)	+1 (500)	+1 (0.75)	-1 (30)	55.88	86.75
9	-1 (3.6)	-1 (50)	-1 (0.25)	+1 (50)	5.33	17.46
10	+1 (5.6)	-1 (50)	-1 (0.25)	+1 (50)	5.75	15.45
11	-1 (3.6)	+1 (500)	-1 (0.25)	+1 (50)	44.74	70.75
12	+1 (5.6)	+1 (500)	-1 (0.25)	+1 (50)	42.01	65.35
13	-1 (3.6)	-1 (50)	+1 (0.75)	+1 (50)	4.23	25.83
14	+1 (5.6)	-1 (50)	+1 (0.75)	+1 (50)	5.20	22.65
15	-1 (3.6)	+1 (500)	+1 (0.75)	+1 (50)	80.78	130.99
16	+1 (5.6)	+1 (500)	+1 (0.75)	+1 (50)	78.40	123.37
17	0 (4.6)	0 (275)	0 (0.50)	0 (40)	39.68	65.87
18	0 (4.6)	0 (275)	0 (0.50)	0 (40)	39.78	65.64
19	0 (4.6)	0 (275)	0 (0.50)	0 (40)	39.26	64.98
20	0 (4.6)	0 (275)	0 (0.50)	0 (40)	39.47	65.31

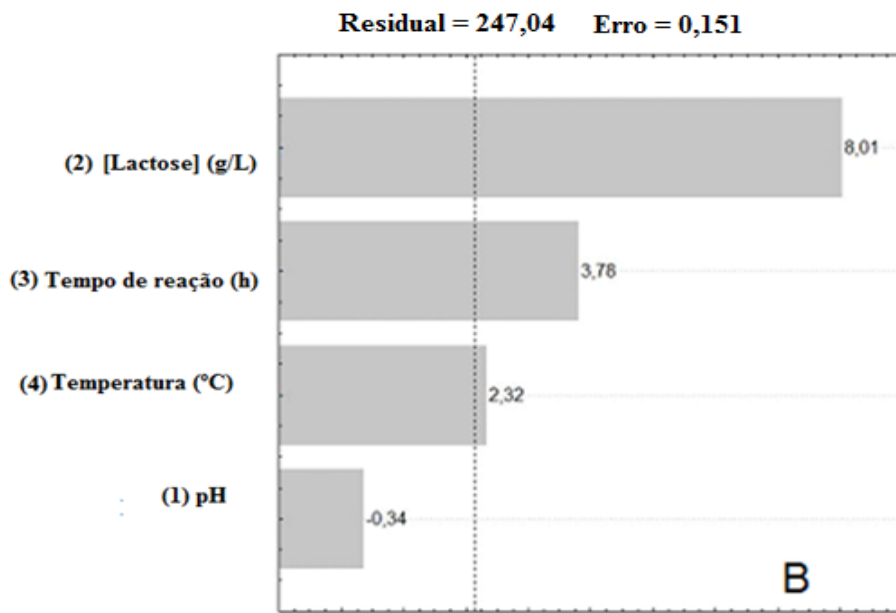
Fonte: Autoria própria

Com base nesses dados calculamos o diagrama de Pareto relacionado à produção de GOS total e a conversão de lactose com base nos parâmetros experimentais analisados. Foi possível observar que tanto para produção de GOS total quanto para conversão de lactose, os parâmetros seguem a seguinte ordem: concentração de lactose, tempo de reação, temperatura e pH (Fig. 16A e 16B). Apesar de seguirem a mesma sequência na ordem dos parâmetros, se utilizarmos 95% de confiança apenas a concentração de lactose e o tempo de

reação são fatores considerados importantes na produção de GOS total. A fim de se obter as melhores condições para produção de GOS e conversão de lactose, três variáveis independentes foram combinadas através de gráficos em cubo como mostra a Fig. 17.

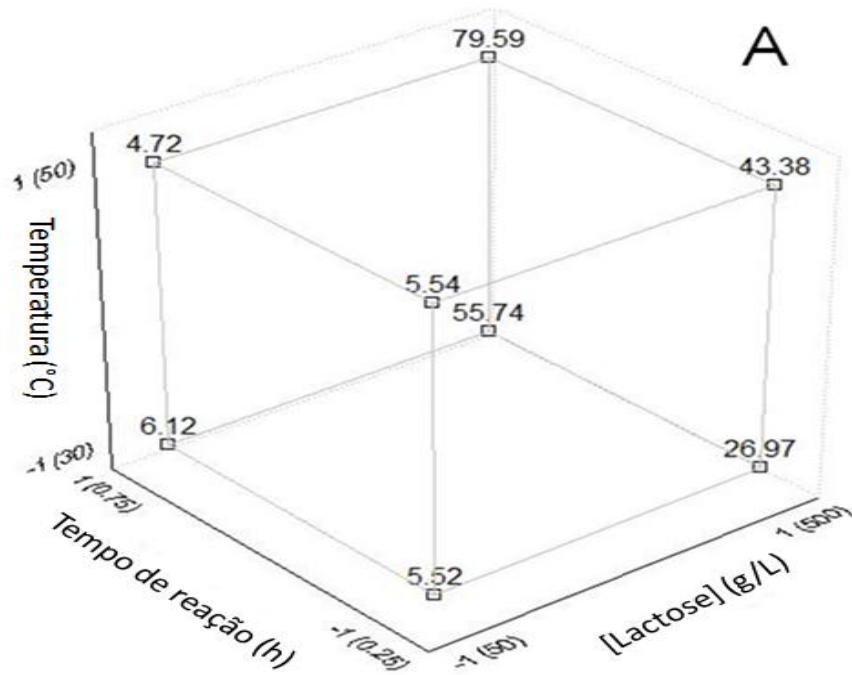
Figura 16. Diagrama de Pareto para efeito de estimação: (A) GOS total e (B) conversão de lactose.

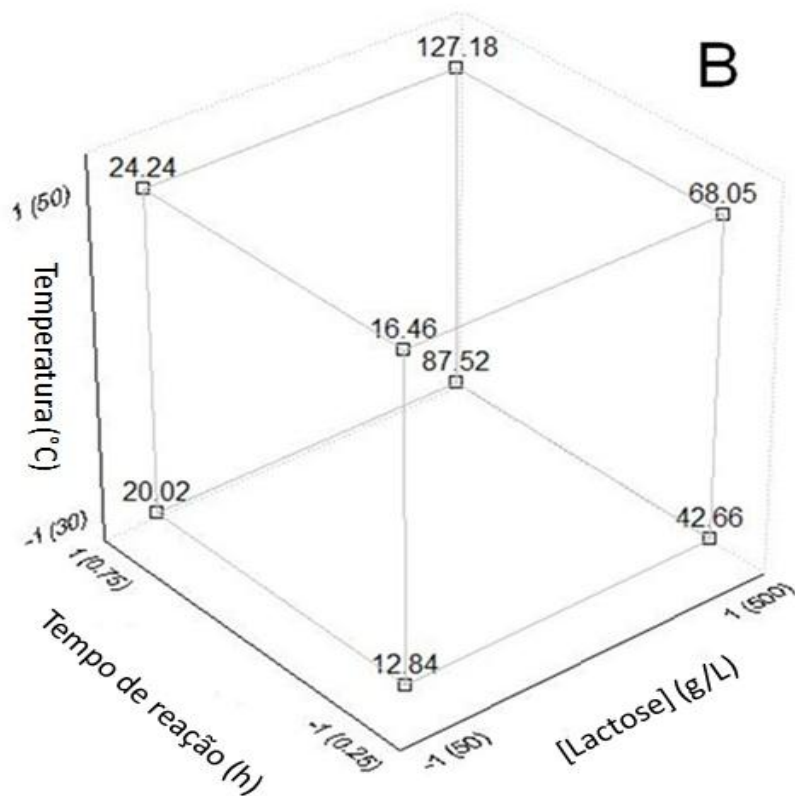




Fonte: Autoria própria

Figura 17. Gráficos de cubo previstos para GOS total (A) e conversão de lactose (B).



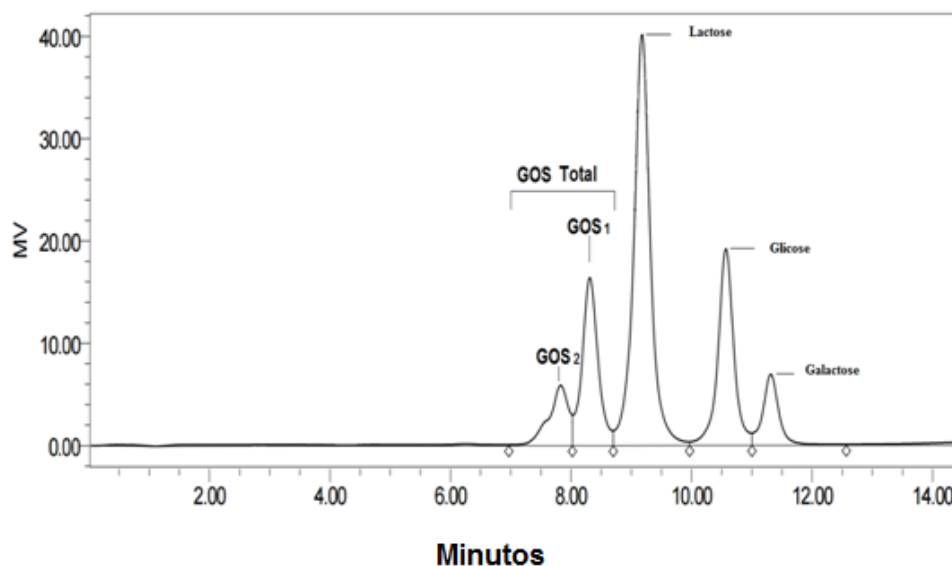


Fonte: Autoria própria

As melhores condições estabelecidas para produção de GOS e conversão de lactose foram estabelecidas considerando nível acima (+1), concentração de lactose (500 g/L) e tempo de reação 0,75 h a 50 °C, correspondente ao experimento 15 mostrado na Tabela 05. Vale ressaltar que a produção progressiva de lactose é acompanhada pelo aumento na produção de GOS, isso em concentrações elevadas de lactose (500 g/L) e em baixas concentrações de lactose (50 g/L) a produção de GOS diminui com o tempo. Esse processo pode ser justificado devido a hidrólise do GOS através do alto teor de água no produto. A Fig. 18 mostra diferentes tipos de açúcar produzidos após a conversão da lactose (500 g/L) durante 8 horas de reação

com pH 4.6 e 40 °C. Na imagem é possível observar pelo menos dois tipos diferentes de GOS.

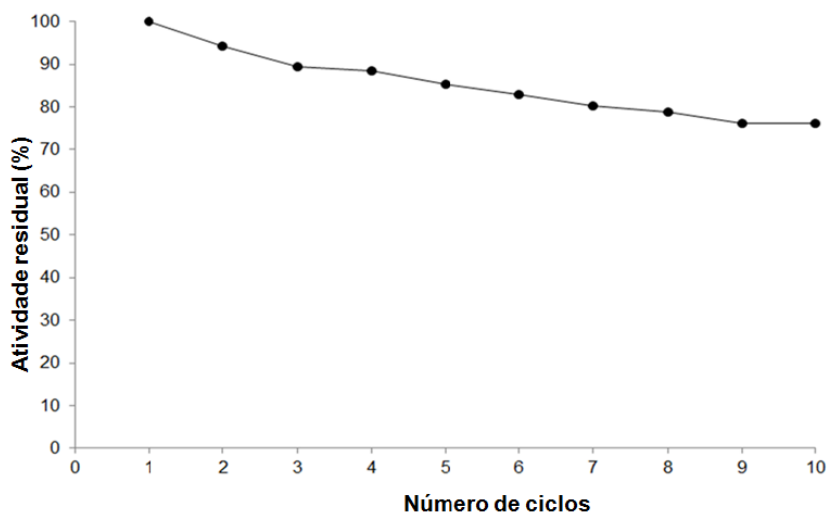
Figura 18- Perfil cromatográfico da mistura de carboidratos por HPLC.



Fonte: Autoria própria

A aplicação do composto $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foi importante para o reuso da enzima nos processos de produção de GOS devido principalmente ao controle no tempo de reação. A Fig. 19 mostra que apenas 23,9 % da atividade enzimática foi perdida ao longo de 10 ciclos de aplicação, isso pode ser justificado devido à perda de massa ocorrida nos processos de separação e lavagem.

Figura 19. Efeito do uso nos ciclos de atividade da enzima β -galactosidase imobilizada.



Fonte: Autoria própria

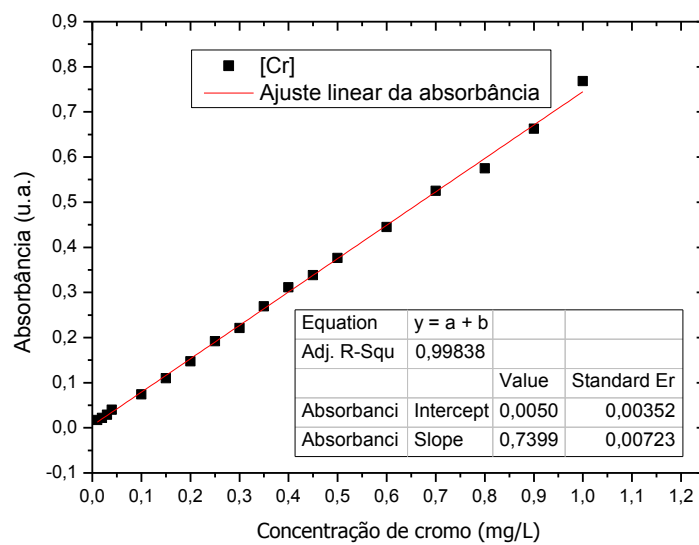
Na próxima seção iremos aplicar o compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ no processos de adsorção de cromo hexavalente presentes em solução. Fatores como tempo de contato, pH e quantidade de adsorvente serão analisados e os resultados discutidos.

5.4) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ usando persulfato de amônia como agente oxidante

Inicialmente foi levantada uma curva de calibração (Fig. 20) para se determinar a concentração do cromo através da NBR 13738. Após a

preparação da curva de calibração, as medidas de adsorção de cromo foram determinadas tendo como parâmetros de análise a temperatura, tempo de contato, massa de adsorvente, concentração de cromo na solução, tipo de oxidante, relação monômero/oxidante, variação do pH e de modelos cinéticos e isotérmicos que foram aplicados e discutidos em cada tipo específico de compósito.

Figura 20- Curva de calibração para determinação de cromo em solução através do método da difenilcarbazida.

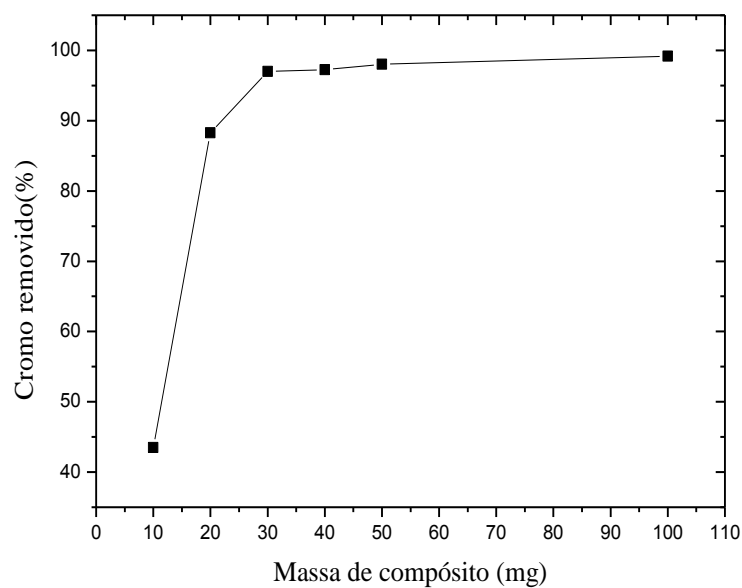


Fonte: Autoria própria

Na Fig. 21 podemos observar o percentual de remoção de cromo em função da variação na massa do adsorvente. A concentração de cromo neste experimento foi de 4 mg/L, uma concentração 80 vezes o máximo permitido

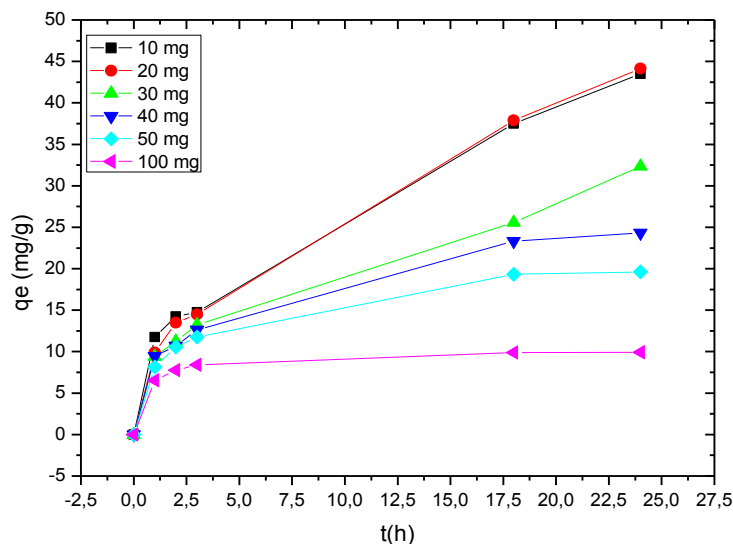
para o consumo de cromo VI pela organização mundial da saúde (OMS), que é de 0,05 mg/L. Este resultado mostra que para essa concentração, 30 mg de compósito é suficiente para remover praticamente todo o cromo da solução em um período de 24 horas. Convertendo os valores em capacidade de adsorção (q_e), foi possível obter um q_e máximo de aproximadamente 45 mg/g como podemos observar no gráfico da Fig. 22.

Figura 21-Percentual de cromo removido em função da massa do compósito $Fe_3O_4@PPy$ com tempo de contato de 24 horas.



Fonte: Autoria própria

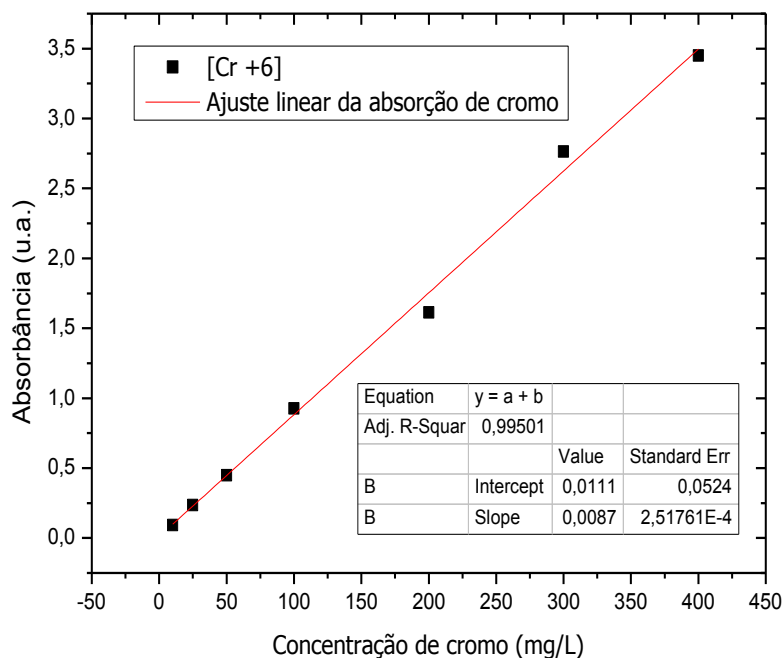
Figura 22- Capacidade de adsorção x tempo de contato variando a massa de adsorvente na solução.



Fonte: Autoria própria

Com o intuito de obter o comportamento do compósito frente a concentrações maiores de cromo e a diferentes massas de adsorvente, novos testes foram realizados variando agora a concentração de cromo na solução e mantendo-se constante a massa do adsorvente e a temperatura, a fim de se determinar a capacidade máxima de adsorção do compósito. Para isso, a massa do adsorvente foi mantida constante em 40 mg e a concentração de cromo na solução foi variada. Uma nova curva de calibração (Fig. 23) contendo concentrações maiores de cromo foi realizada e os dados de absorbância convertidos em concentração de cromo em mg/L.

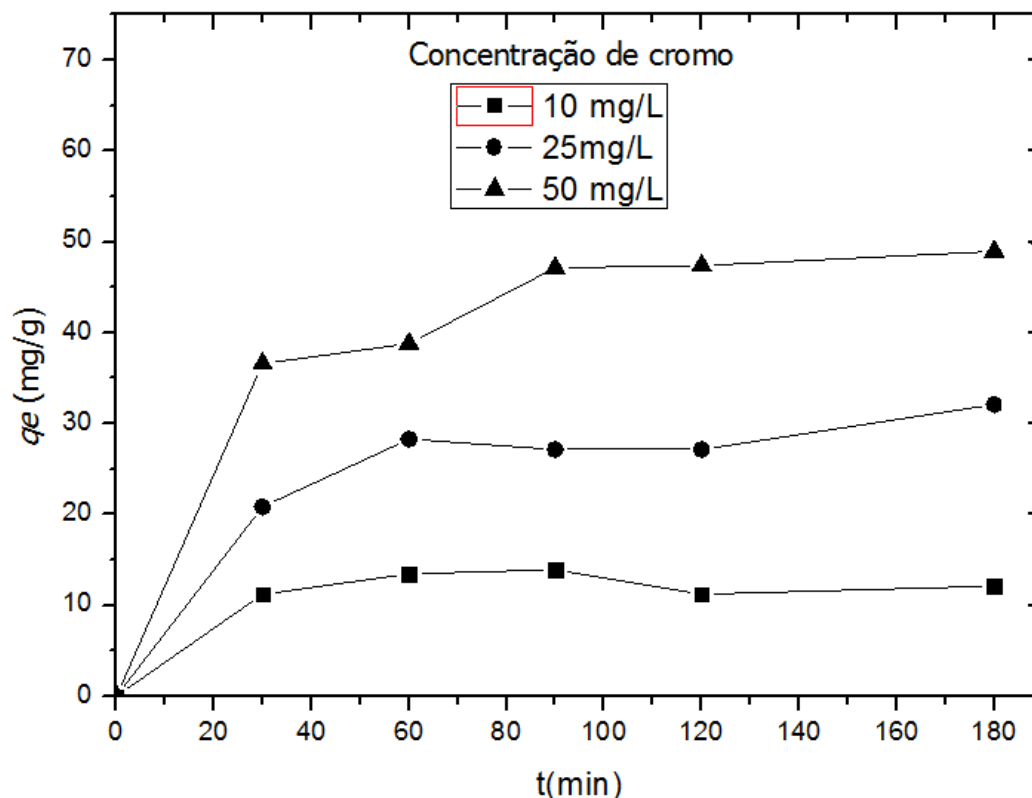
Figura 23. Curva de calibração para concentrações elevadas de cromo hexavalente em solução.



Fonte: Autoria própria

A Fig. 24 mostra os resultados obtidos para o processo de adsorção mantendo-se constante a massa do adsorvente e variando-se a concentração de cromo. Foi possível observar uma capacidade máxima de adsorção de 68 mg/g após 6 horas de contato. Apesar do processo de adsorção do cromo ocorrer rapidamente nos primeiros minutos, o mesmo continua ocorrendo de maneira menos acentuada com o passar do tempo. Esse processo pode ser atribuído a uma rápida atração entre os íons cromo presentes na solução e a cargas presentes no compósito.

Figura 24. Capacidade máxima de adsorção variando a concentração de cromo e mantendo constante a massa de adsorvente.



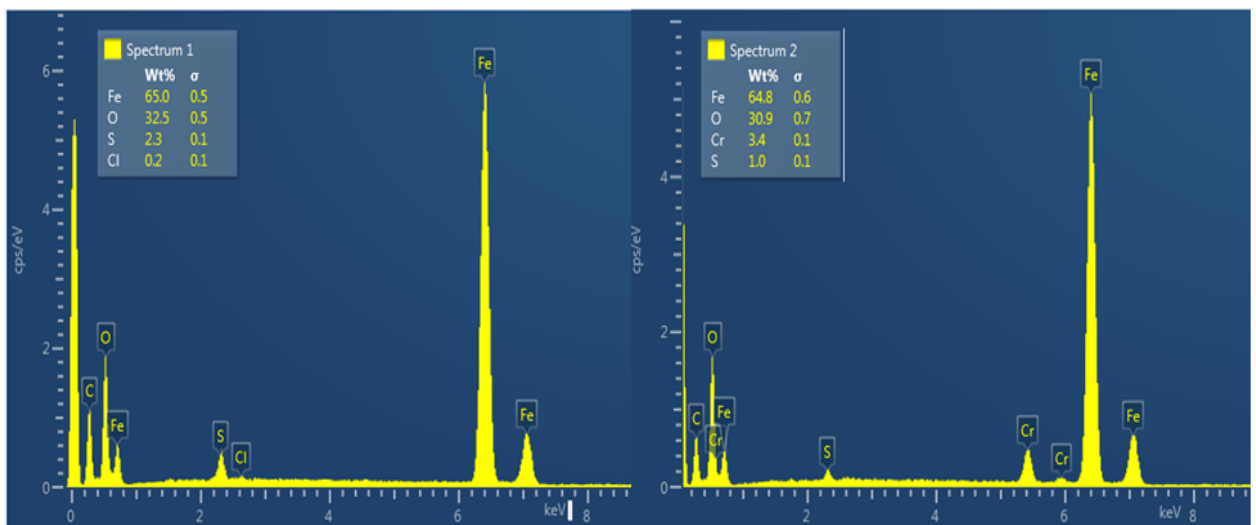
Fonte: Autoria própria

Análises de EDS realizada antes e depois do processo de adsorção de cromo são mostradas na Fig. 25. Nela podemos observar a presença de cromo no espectro após o processo de adsorção. Esse resultado corrobora com os resultados de adsorção, onde a concentração de cromo em solução diminui com a presença do compósito. Espectroscopia Raman também foi realizada nas amostras antes e após o processo de adsorção (Fig. 26).

De acordo com Chen e colaboradores (2007), a estrutura do polipirrol se divide em três partes no que diz respeito à espectroscopia Raman; (I) Região de vibração do esqueleto central com picos relativos às vibrações de

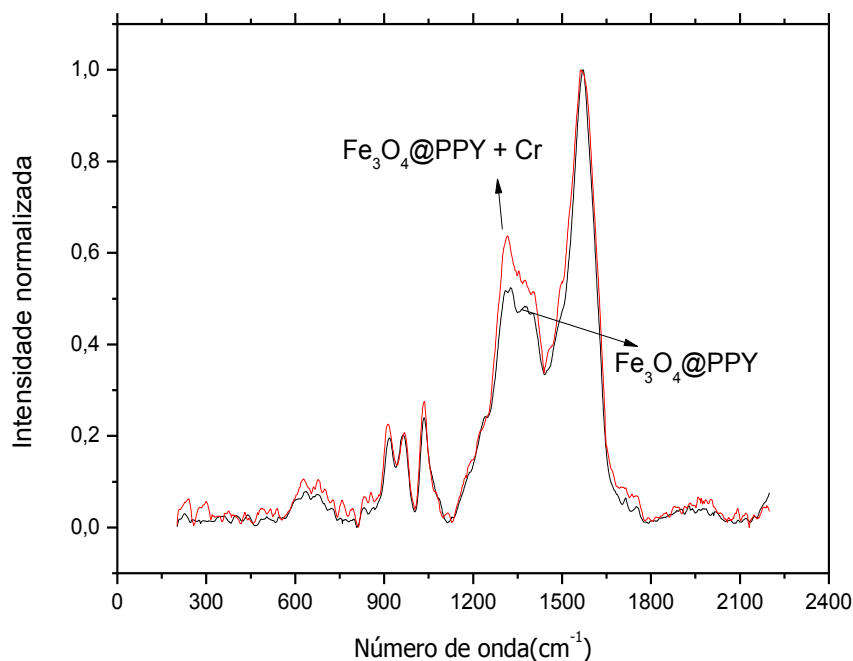
estiramento de C=C em 1590 cm^{-1} e C-N em 1497 cm^{-1} , (II) deformação assimétrica do plano C-H em torno de 1250 cm^{-1} , modo de flexão do plano C-H entre 1000 e 1100 cm^{-1} e (III) deformação do anel de deformação com picos entre 750 e 990 cm^{-1} (CHEN, LI et al. 2007). Comparando a intensidade dos picos antes e após os processos de adsorção podemos observar que houve um aumento na desordem do sistema, podemos propor que essa desordem é ocasionada pela adesão de partículas de cromo na superfície do composto (HOU, ZHANG et al. 2014).

Figura 25. Espectro de EDS antes (esquerda) e após (direita) adsorção de cromo.



Fonte: Autoria própria

Figura 26. Espectro Raman do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ antes e após o processo de adsorção.



Fonte: Autoria própria

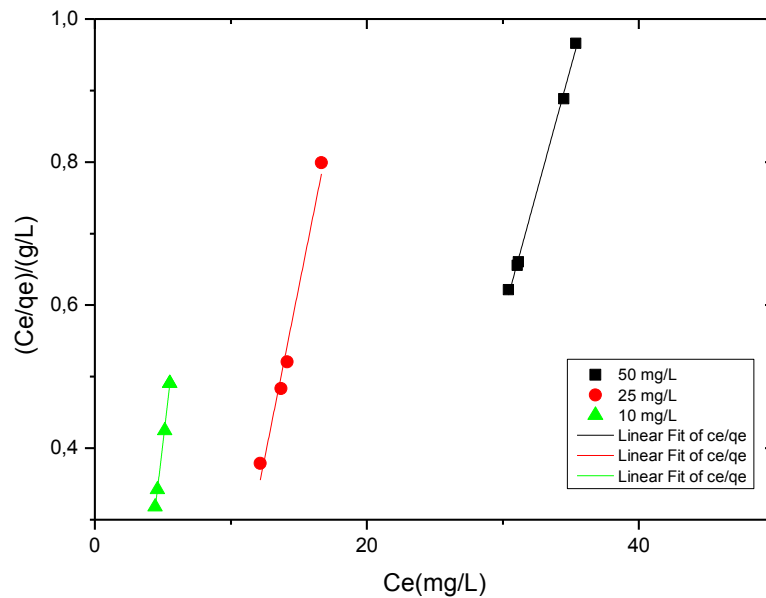
O modelo isotérmico de Langmuir foi usado para relacionar o tipo de interação entre o adsorvente e o adsorbato. Como podemos ver na Fig. 27, o gráfico representa a equação de Langmuir na forma linearizada e devido aos bons valores de R^2 podemos prever que existe a possibilidade da existência de uma monocamada homogênea na superfície do adsorvente capaz de adsorver cromo através de apenas um sítio de ligação. Para isso aplicamos o modelo de Langmuir em três concentrações e em três temperaturas diferentes e tabulamos os valores da capacidade máxima de adsorção (q_m), constante de Langmuir (b) e R^2 na Tabela 6.

Tabela 06.Parâmetros de Langmuir

[Cr] mg/L	qm (mg/g)	b	R ²
10	6,21	0,4	0,997
25	10,5	0,11	0,9752
50	14,357	0,06	0,9972

Fonte: Autoria própria

Figura 27. Isotermas de Langmuir aplicadas em concentrações diferentes de cromo mantendo a massa de adsorvente constante.



Fonte: Autoria própria

Após os testes de adsorção de cromo utilizando o compósito Fe_3O_4 @PPy polimerizado com persulfato de amônia, mudamos o agente oxidante do polímero e refizemos os testes de adsorção. Os resultados serão mostrados na próxima seção.

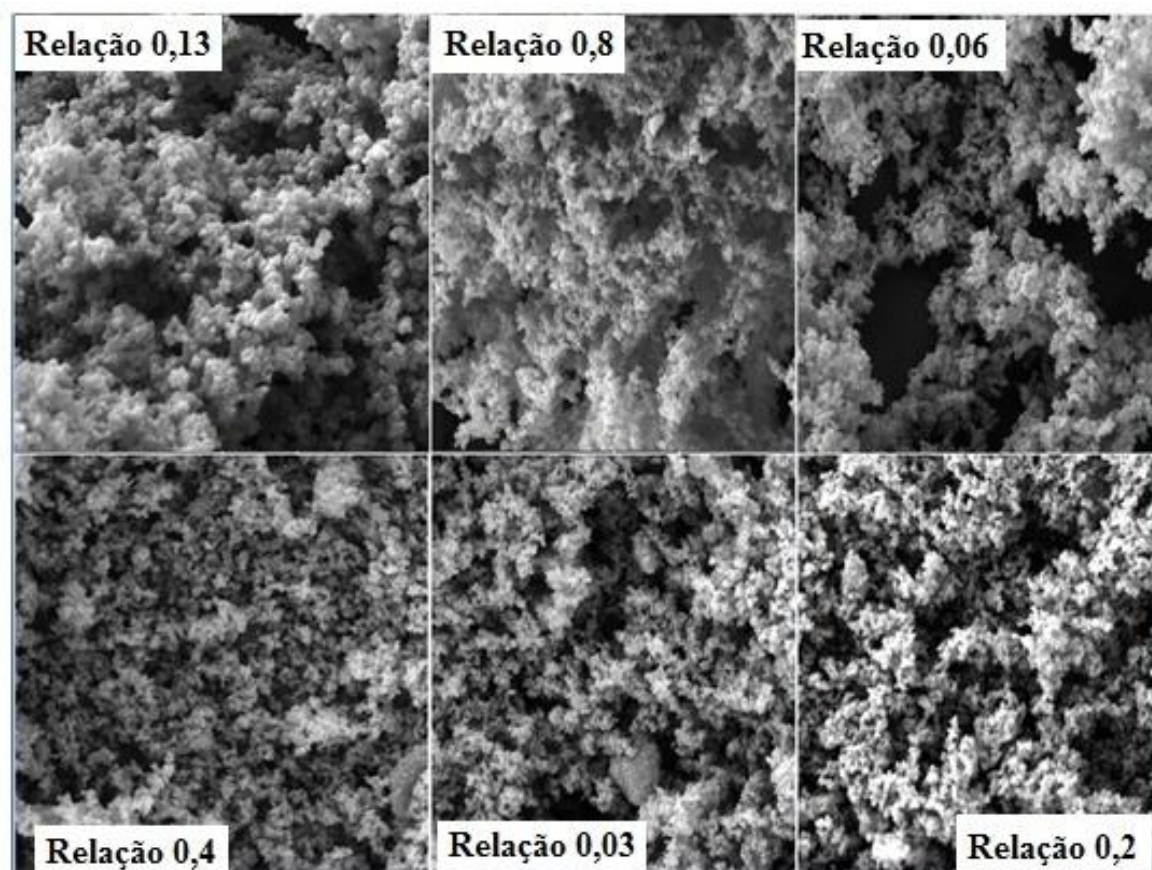
5.5) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos de Fe_3O_4 @PPy usando cloreto férrico como agente oxidante

Com objetivo de verificar o rendimento e o aumento na capacidade de adsorção do compósito Fe_3O_4 @PPy fizemos uso de cloreto de ferro III como agente oxidante em relações monômero/oxidante diferentes. Observando as sínteses propostas pela literatura, tomamos como base seis relações monômero/oxidante (Tabela 2). Análises de MEV foram realizadas com o intuito de se observar a morfologia dos compósitos (como mostra a Fig. 28).

Como podemos ver nas micrografias, a morfologia dos compósitos é bastante semelhante. É possível observar uma morfologia esférica resultado da síntese do polipirrol e a presença de poucos agregados. Para saber qual a melhor relação monômero/oxidante, foi realizado um teste prévio de adsorção utilizando 100 mg de compósito e 100 mg/L de cromo VI em um período de 3 horas. O percentual de cromo removido em cada compósito é mostrado na Fig. 29. Nela podemos observar que a relação 0,4/1 monômero/oxidante obteve

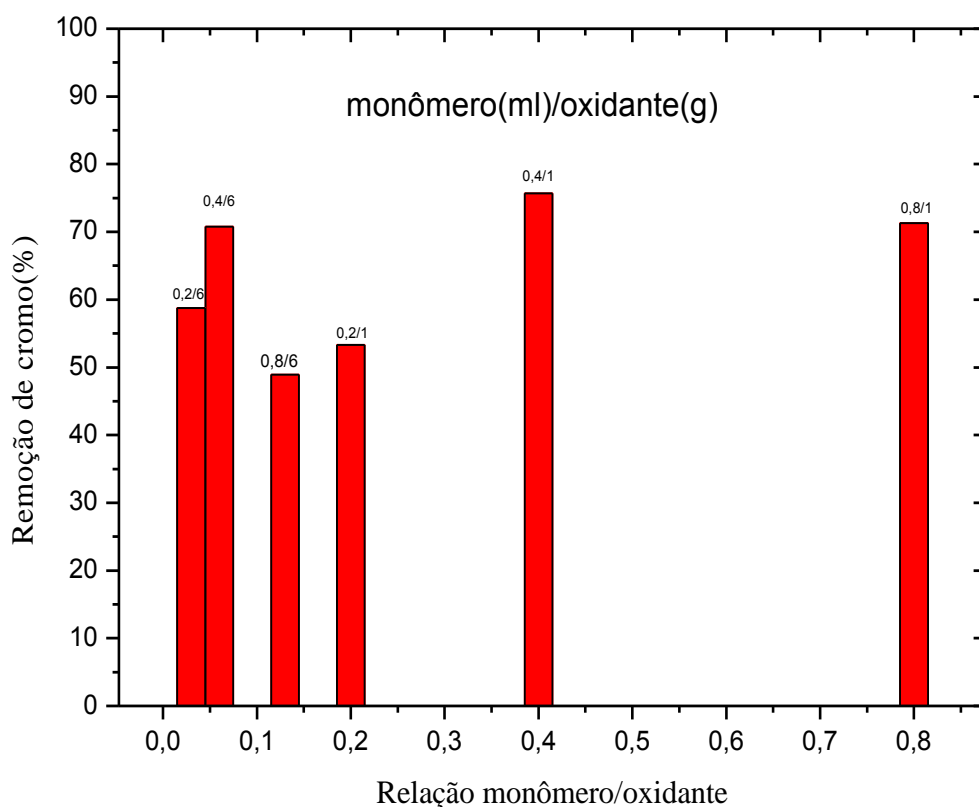
melhor rendimento no processo de adsorção com a remoção de aproximadamente 80% do cromo presente na solução. Apesar de outras relações monômero/oxidante apresentarem capacidade de remoção próximas a 70%, a relação 0,4/1 além de apresentar a melhor capacidade de remoção, também representa economia financeira em termos de monômero e oxidante utilizado.

Figura 28. Análise de MEV das amostras de $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ polimerizadas com cloreto de ferro III e relações monômero/oxidante diferentes.



Fonte: Autoria própria

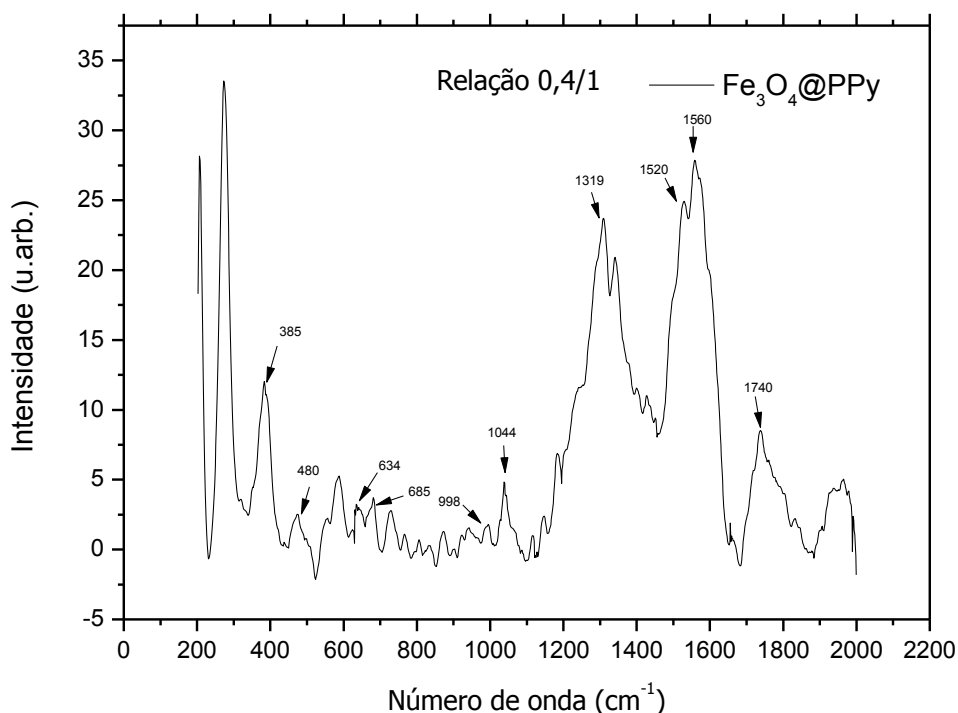
Figura 29. Adsorção de cromo usando diferentes relações de monômero/oxidante.



Fonte: Autoria própria

Análises de FTIR e Raman foram realizadas na relação 0,4/1 com o objetivo de caracterizar a presença do polipirrol na superfície das partículas de óxido de ferro. A Fig.30 mostra o espectro Raman da relação 0,4/1, onde podemos identificar os picos característicos do polipirrol em 1562, 1526 cm^{-1} relativos ao alongamento da ligação C=C, 1044 cm^{-1} referente ao alongamento da ligação C-H, 998 cm^{-1} vibração do anel PPy e picos relativos ao óxido de ferro em 346, 488 e 686 cm^{-1} relativos ao modo de vibração E_g , T_{2g} e A_{1g} respectivamente (YUAN, DING et al. 2013).

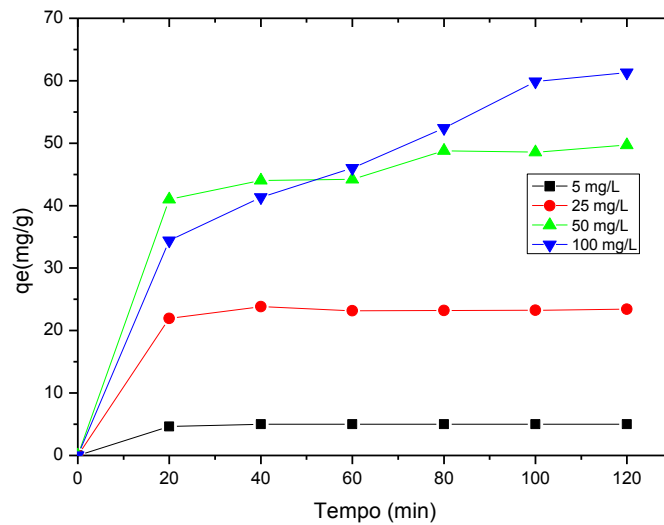
Figura 30. Espectro Raman relativo à relação 0,4/1 do compósito Fe₃O₄@PPy.



Fonte: Autoria própria

Após verificar qual a melhor relação monômero/oxidante, testes de adsorção variando a concentração de cromo e mantendo-se constante a massa do adsorvente foram realizadas a fim de observarmos parâmetros como: modelo de adsorção, influência da temperatura, tempo de contato e influência do pH no processo de remoção de cromo VI presentes em solução. A Fig. 31 mostra a capacidade máxima de adsorção em função do tempo. De acordo com os resultados, foi possível obter uma capacidade máxima de adsorção em torno de 60 mg/g utilizando uma concentração de 100 mg/L de cromo e 50 mg de compósito com um tempo de contato de 120 minutos.

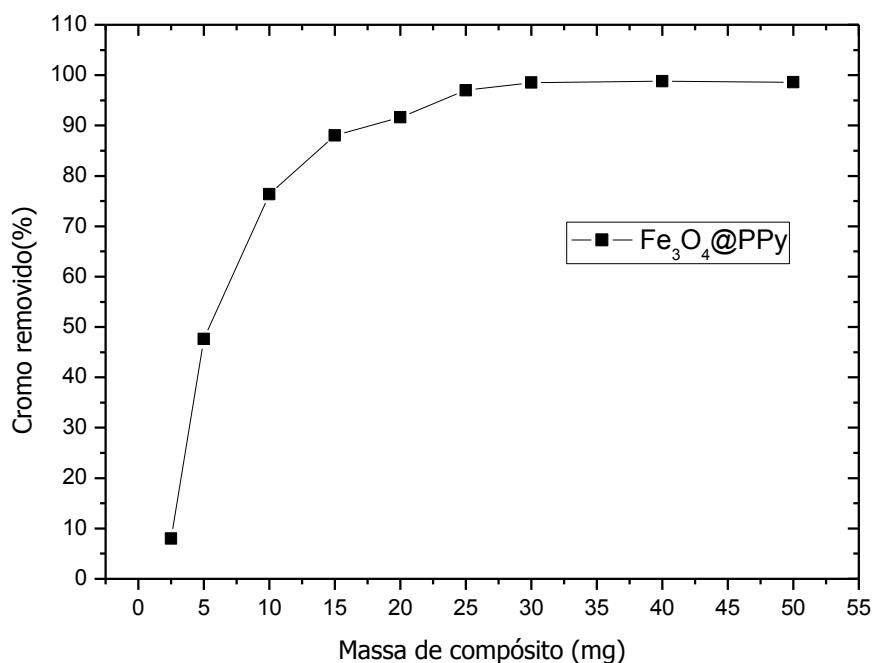
Figura 31. Capacidade máxima de adsorção em função do tempo.



Fonte: Autoria própria

Em termos de capacidade máxima de adsorção esse valor quando comparado a outros valores presentes na literatura, pode ser considerado expressivo. Também foi possível observar que para uma solução de cromo com concentração de 10 mg/L em temperatura ambiente e pH 6.0, existe um ponto de saturação quando se aumenta a massa de adsorvente no sistema (Fig. 32). Nela é possível observarmos que, para essa concentração, a massa de adsorvente acima de 10 mg, já é capaz de remover 80% ou mais do cromo presente na solução. Quando se tem concentrações maiores que 20 mg a capacidade de remoção do cromo ultrapassa 90% e a partir desta massa o valor de remoção se estabiliza em torno deste percentual.

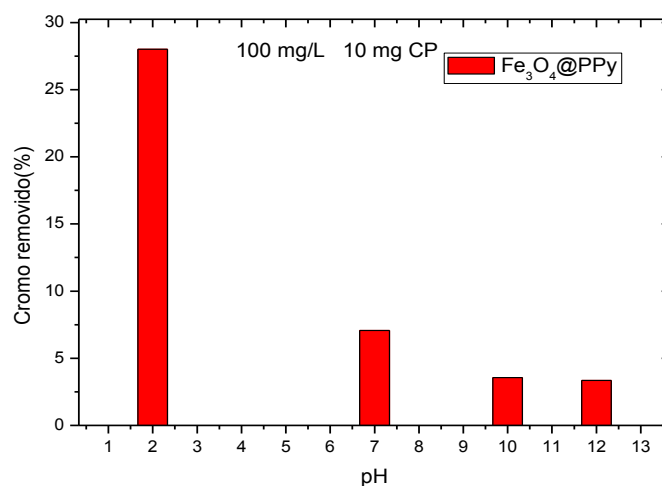
Figura 32. Variação da massa do compósito mantendo a concentração de cromo fixa.



Fonte: Autoria própria

A Fig. 33 mostra a capacidade de remoção de cromo em função da variação do pH. Como podemos observar, o processo de remoção de íons cromo ocorre melhor em baixos valores de pH. Esse fato se dá em função do tipo de íon presente no meio quando se varia o pH da solução de dicromato de potássio. Para valores de pH ($2 < \text{pH} < 4$), a predominância dos íons $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ocorre de forma mais acentuada e nesse caso o tipo de cargas pode afetar o processo de adsorção.

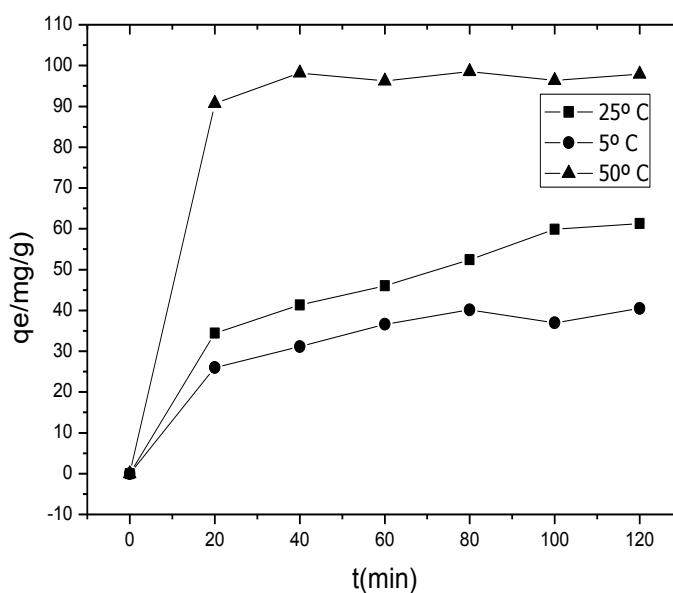
Figura 33. Variação do pH da solução x capacidade de remoção de cromo.



Fonte: Autoria própria

Ensaio de adsorção variando a temperatura da solução também foram realizados, como mostra a Fig. 34. De acordo com os resultados obtidos foi possível observarmos que durante o aumento na temperatura do sistema ocorreu também um aumento na capacidade máxima de adsorção do cromo. Aumentando-se a temperatura do sistema de 5 °C para 50 °C, a capacidade máxima de adsorção passa de 35 mg/g para 95 mg/g. Isotermas de Langmuir e Freundlich também foram determinadas a partir das três temperaturas distintas como podemos ver nas Figs. 35 e 36. Para isso, aplicamos a equação de Langmuir e Freundlich em suas formas linearizadas e determinamos o valor de R^2 em cada temperatura analisada.

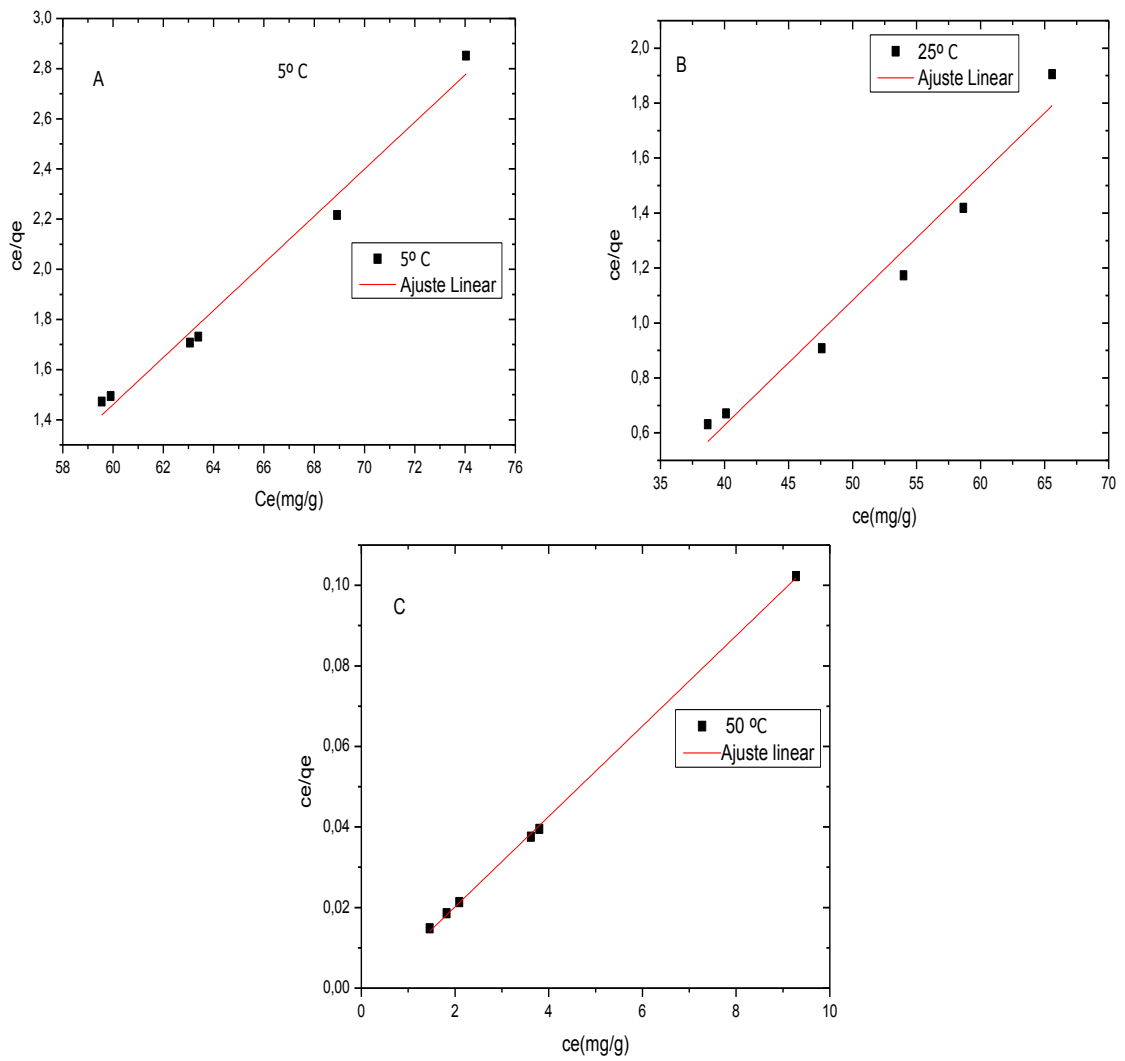
Figura 34. Variação da temperatura nos processos de adsorção de cromo.



Fonte: Autoria própria

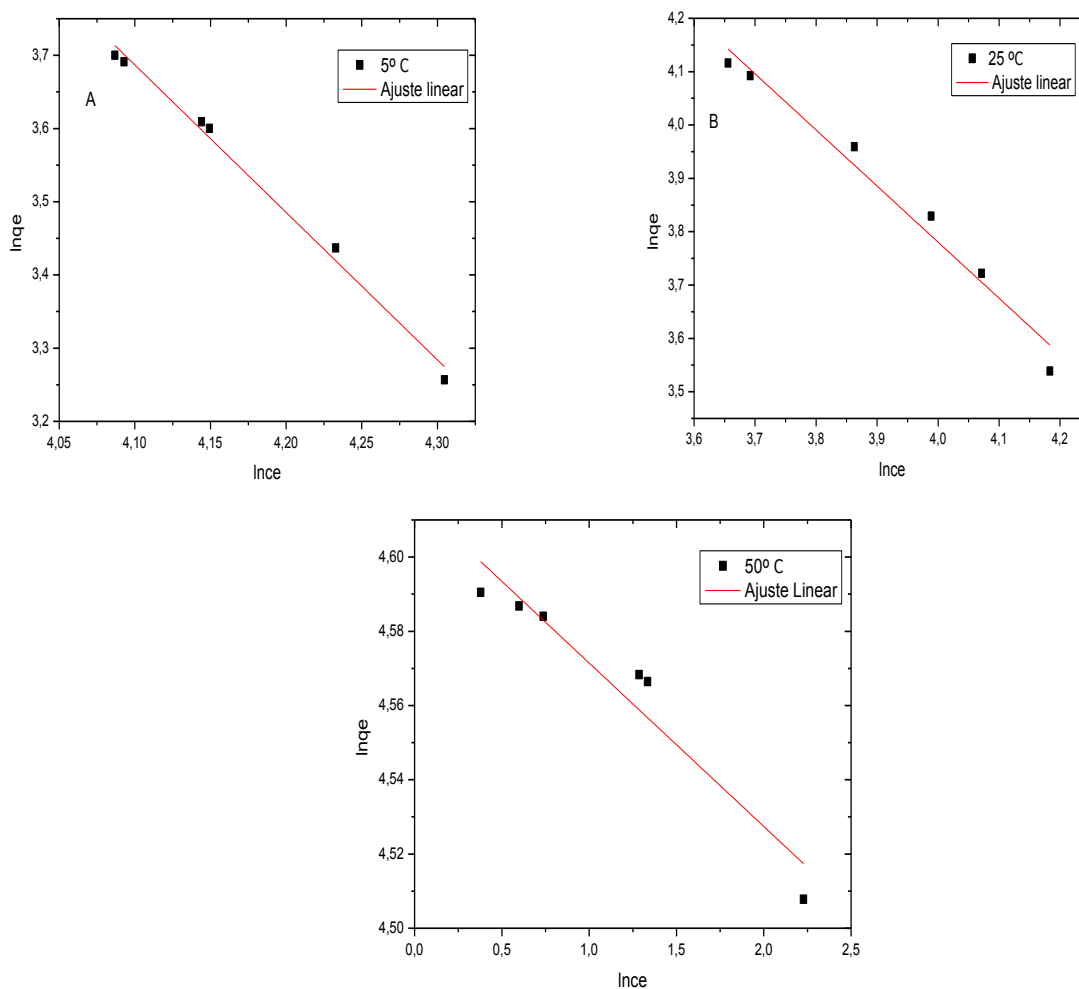
De acordo com o cálculo da média de R^2 nas três temperaturas analisadas (Tabela 08), podemos propor que os processos de adsorção de cromo por compósitos $Fe_3O_4@PPy$ segue o modelo proposto por Langmuir e nesse caso a adsorção ocorre de forma homogênea a partir da formação de uma monocamada na superfície do compósito. Análises de EDS corroboram a hipótese de que o processo de adsorção nos compósitos de $Fe_3O_4@PPy$ é ocasionado pela substituição dos íons cloro presente na cadeia do polipirrol por íons cromo presentes na solução. Como podemos observar (Figs. 37 e 38), existe uma diminuição considerável no teor de cloro presente no compósito antes (16,6%) e depois (3,7%) do processo de adsorção, o que nos leva a crer que existe um processo de substituição de íons no sistema.

Figura 35. Ajuste linear da isoterma de Langmuir em diferentes temperaturas.



Fonte: Autoria própria

Figura 36. Ajuste linear da isoterma de Freundlich em diferentes temperaturas.



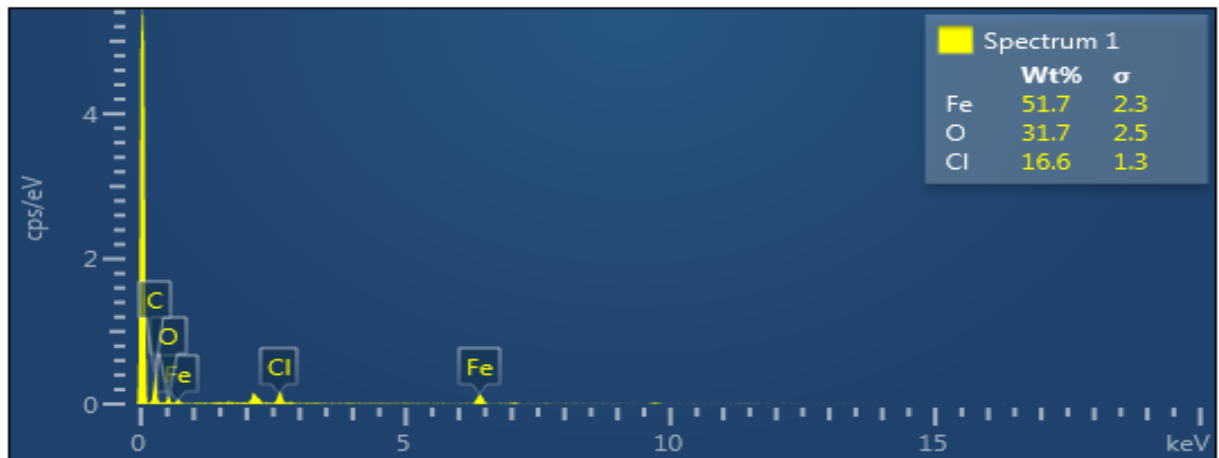
Fonte: Autoria própria

Tabela 08. Parâmetros de Langmuir

[Cr] mg/L	qm (mg/g)	b	r ²
25	20,72	0,04	0,99924
50	21,98	0,019	0,96436
100	41,66	0,0135	0,99677

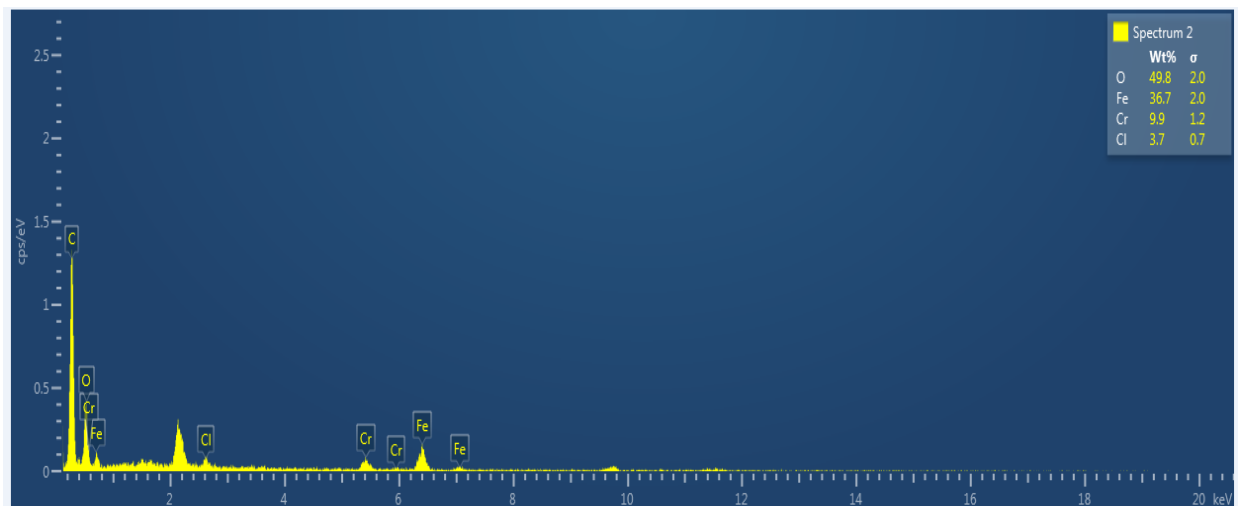
Fonte: Autoria própria

Figura 37. Espectro de EDS do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ antes do processo de adsorção de cromo VI.



Fonte: Autoria própria

Figura 38. Espectro de EDS do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ após o processo de adsorção de cromo VI.



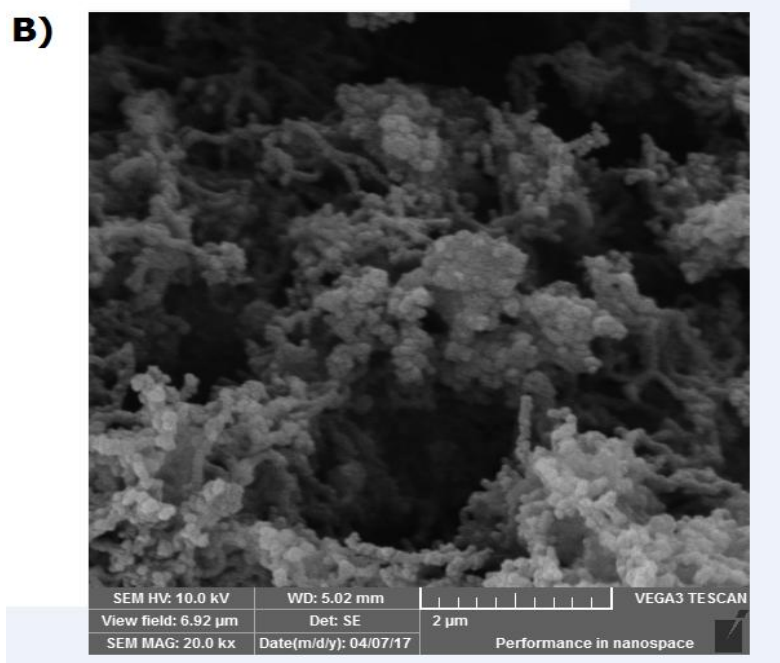
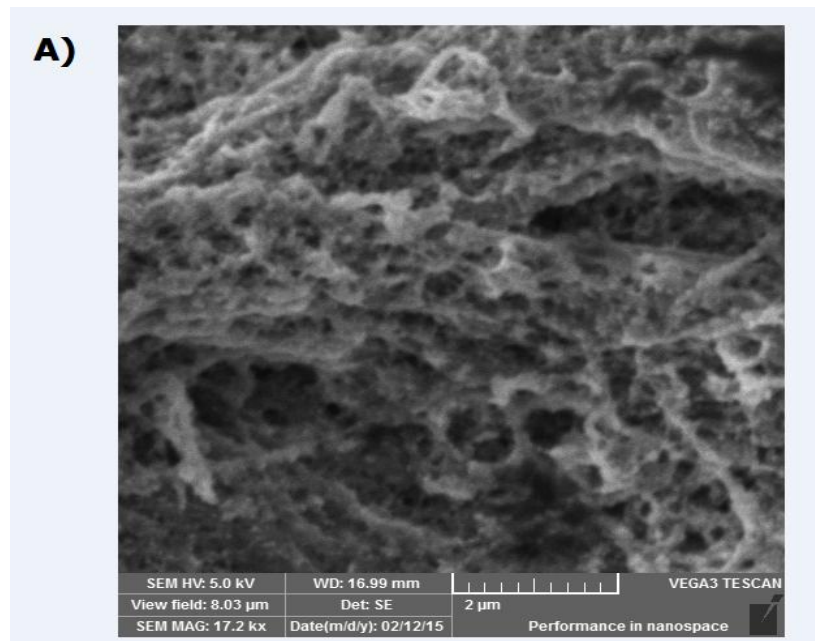
Fonte: Autoria própria

A seguir iremos observar a influência da inclusão de nanotubos de carbono multicamadas nos compósitos magnéticos e suas respostas nos processos de adsorção de cromo.

5.6) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos a base de MWCNT/Fe₃O₄@PPy usando APS como agente oxidante

Com o objetivo de aumentarmos a área superficial dos compósitos de Fe₃O₄@PPy, nanotubos de carbono foram adicionados ao sistema e aplicados ao processo de adsorção de cromo VI em solução. Medidas de área superficial (BET) foram realizadas nos compósitos de Fe₃O₄@PPy e MWCNT/Fe₃O₄@PPy, onde foi possível observar uma área de 47,7903 m²/g para compósitos sem nanotubos e 113,434 m²/g para compósitos com nanotubos. Essa diferença na área superficial dos compósitos contendo nanotubos de carbono representa também um importante fator para o aumento no processo de adsorção de cromo VI em solução. Análises de MEV do compósito foram realizadas antes e depois da polimerização do polipirrol como podemos observar na Fig. 39. A micrografia da esquerda mostra o compósito magnético (MWCNT/Fe₃O₄) com um aumento de 20 mil vezes. Nesta imagem é possível observar a presença dos nanotubos revestidos por pequenas partículas com morfologia variável e alguns aglomerados que podemos atribuir ao óxido de ferro. A micrografia da direita revela o compósito magnético com a presença de nanotubos revestido com polipirrol. Podemos observar que a polimerização do pirrol ocorre de forma bastante homogênea em alguns pontos da amostra, em outros pontos ainda é possível observar regiões contendo nanotubos de forma isolada não sendo possível concluir se existe ou não polímero em sua superfície.

Figura 39. MEV das amostras contendo nanotubos de carbono magnéticos: A) sem polipirrol e B) com polipirrol.

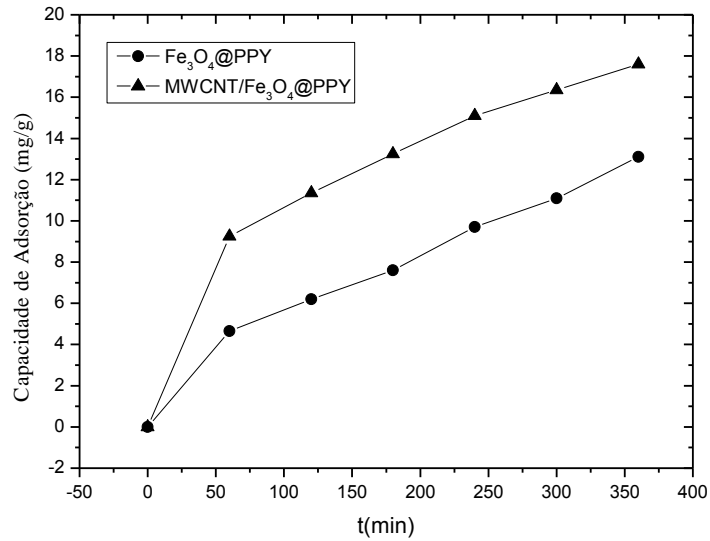


Fonte: Autoria própria

Testes de adsorção comprovam o aumento na capacidade de adsorver cromo em compósito com nanotubos quando comparado ao compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$. Inicialmente realizamos um teste comparativo de adsorção entre os dois compósitos, como mostra a Fig. 40 é possível observar que o sistema que apresenta nanotubos de carbono consegue manter uma maior capacidade de adsorção em relação ao compósito sem nanotubos.

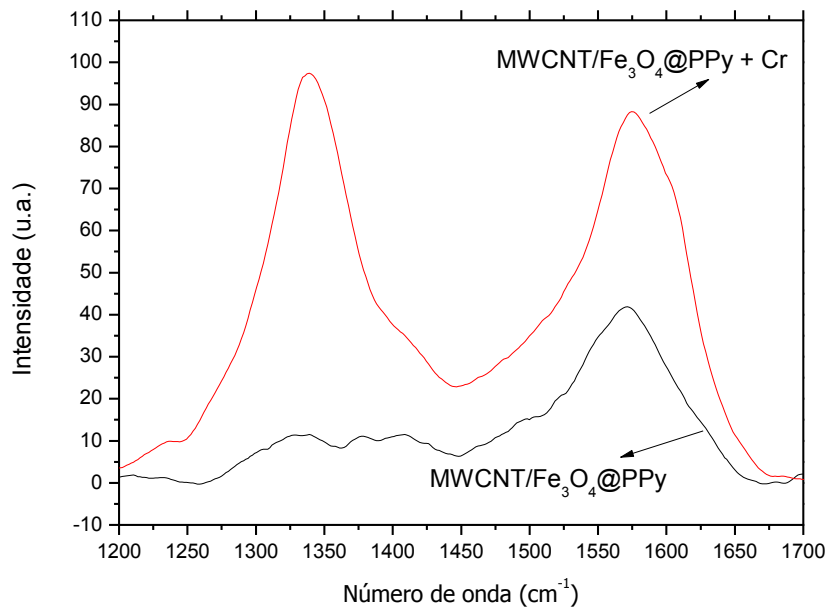
A partir destes dados, novas análises foram realizadas nos compósitos com nanotubos a fim de observar a influência de parâmetros como tempo de contato, pH, modelo de adsorção etc. A Fig. 41 mostra o resultado da espectroscopia Raman do compósito antes e após a adsorção de cromo. Nela é possível observarmos picos em 1350 cm^{-1} e 1585 cm^{-1} que estão relacionados as bandas D e G dos nanotubos de carbono. Calculando a relação de intensidade entre as bandas (I_D/I_G) obtivemos os valores de 0,003 para compósitos sem cromo e de 1,08 pra compósitos com cromo. Esse resultado indica que existe um aumento no número de defeitos gerados pela adsorção do cromo na estrutura do compósito (CAPEK 2011).

Figura 40. Adsorção de cromo usando compósitos com e sem nanotubos de carbono.



Fonte: Autoria própria

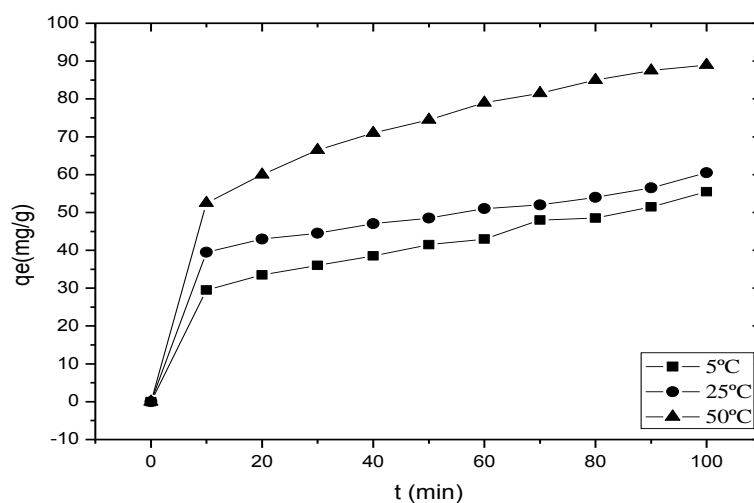
Figura 41. Espectro Raman para compósitos MWCNT/Fe₃O₄@PPy



Fonte: Autoria própria

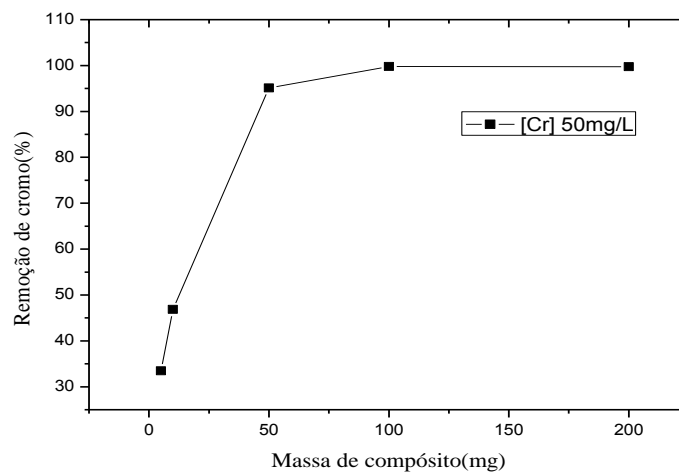
Analisando a influência da temperatura no processo de adsorção, foi possível observar que existe um aumento na capacidade de adsorção a medida com que se aumenta a temperatura, como podemos observar na Fig. 42 (BHAUMIK, MAITY et al. 2011). Esse aumento na adsorção pode está associado ao aumento na energia térmica da espécie adsorvida. Analisando o gráfico é possível ver que existe um aumento na capacidade de adsorção de 50 mg/g para aproximadamente 90 mg/g, ou seja, quase o dobro do valor a medida que a temperatura varia de 5 °C para 50 °C. Utilizando uma solução de cromo com concentração de 50 mg/L também foi possível verificar que existe uma saturação no processo de adsorção a medida com que se aumenta a massa do compósito na solução, como pode ser verificado na Fig. 43. Isso ocorre devido ao aumento na área superficial do compósito e consequentemente a existência de mais sítios carregados, que são responsáveis pelo processo de adsorção.

Figura 42. Processo de adsorção de cromo utilizando temperaturas diferentes.



Fonte: Autoria própria

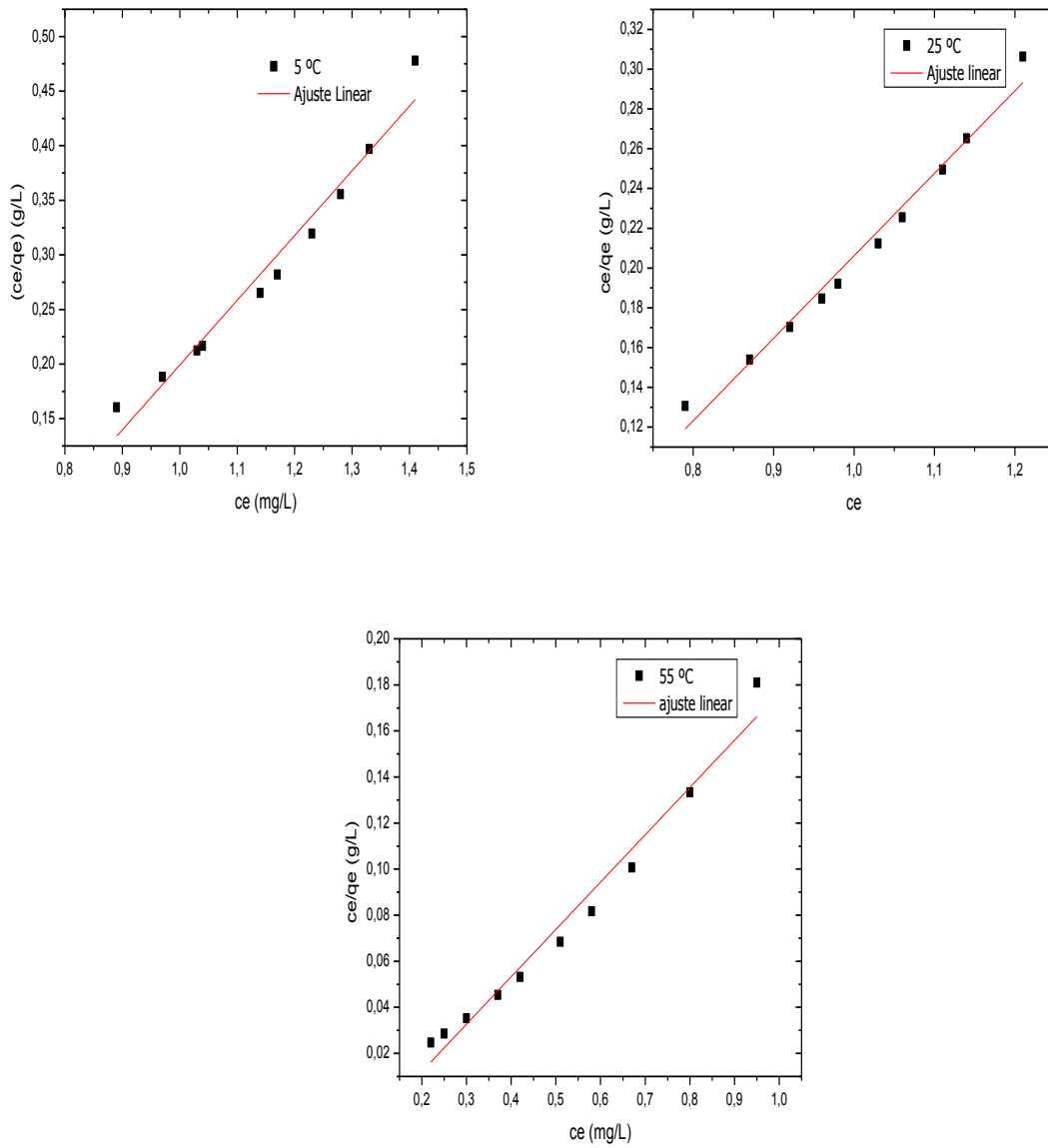
Figura 43. Remoção de cromo em função da massa de compósito utilizada.



Fonte: Autoria própria

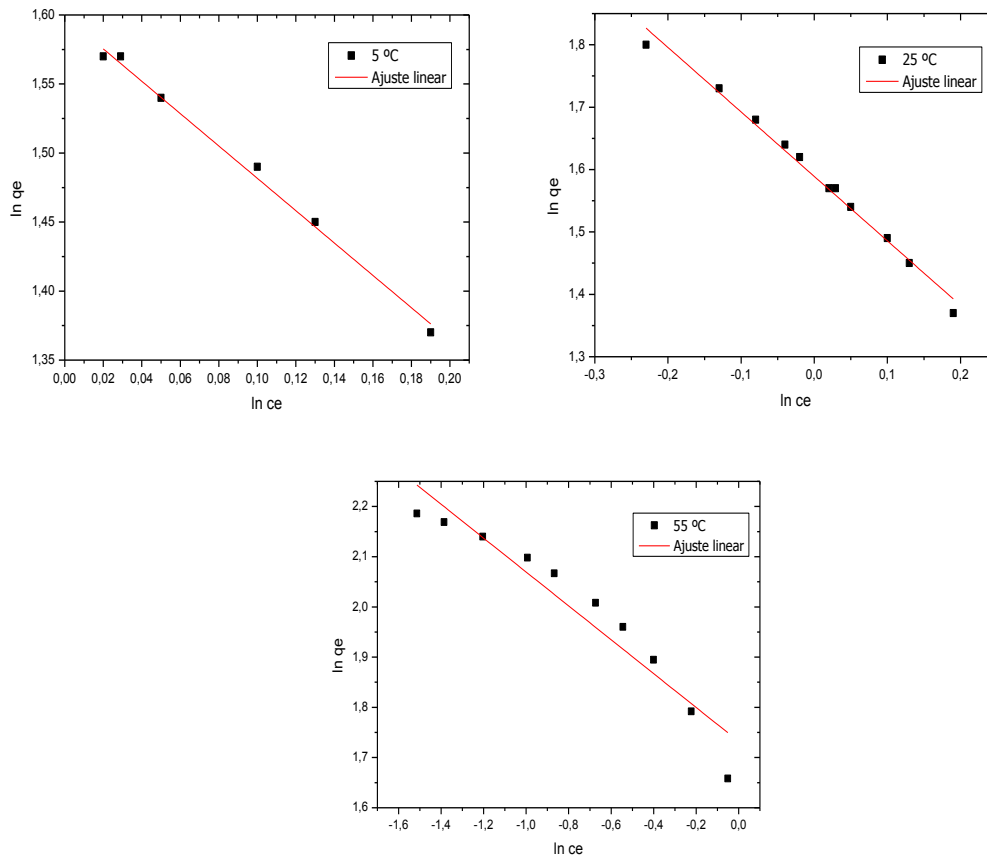
Parâmetros de Langmuir e Freudlinch foram calculados de forma isolada para tentar explicar o mecanismo de adsorção presente nos processos. A Fig. 44 representa a forma linearizada da equação de Langmuir e a Fig. 45 representa a forma linearizada da equação de Freundlich aplicadas nos processos de adsorção com três temperaturas diferentes. Os parâmetros de Langmuir e Freundlich foram tabulados e são mostrados na Tabela 9.

Figura 44. Ajuste da equação de Langmuir na sua forma linearizada.



Fonte: Autoria própria

Figura 45. Ajuste da equação de Freundlich na sua forma linearizada.



Fonte: Autoria própria

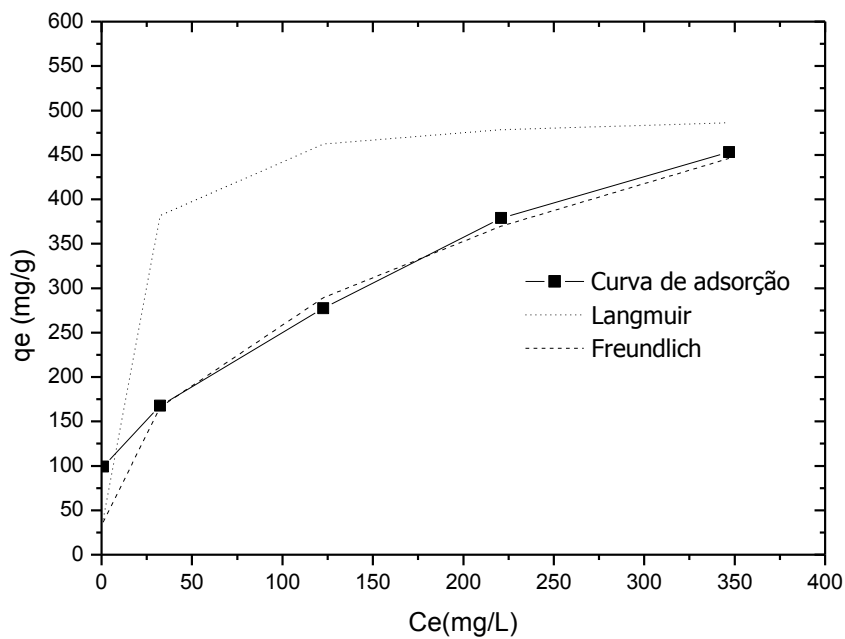
Tabela 9. Parâmetros de Langmuir e Freundlich

Temperatura (°C)	Langmuir			Freundlich		
	q_m (mg/g)	b (L/mg)	R^2	$1/n$	K_f (mg/g)	R^2
5	1,68	1,51	0,96231	1,17	4,9	0,99194
25	2,41	1,99	0,98077	1,03	4,89	0,98786
55	4,86	7,14	0,97319	0,0336	5,64	0,91432

Fonte: Autoria própria

A partir dos parâmetros calculados ajustamos duas curvas com base nos valores experimentais obtidos nas isotermas de Langmuir e Freundlich (Fig. 46). A partir desses dados podemos propor que o modelo de Freundlich se aproxima mais dos parâmetros reais da adsorção apesar da média do coeficiente de correlação (0,96) ser menor em relação à média calculada no modelo de Langmuir (0,97).

Figura 46. Ajuste das isotermas de Langmuir e Freundlich aplicadas no processo de adsorção.



Fonte: Autoria própria

5.7) Testes de adsorção de cromo hexavalente com compósitos MWCNT/Fe₃O₄@ PPy usando FeCl₃ como agente oxidante

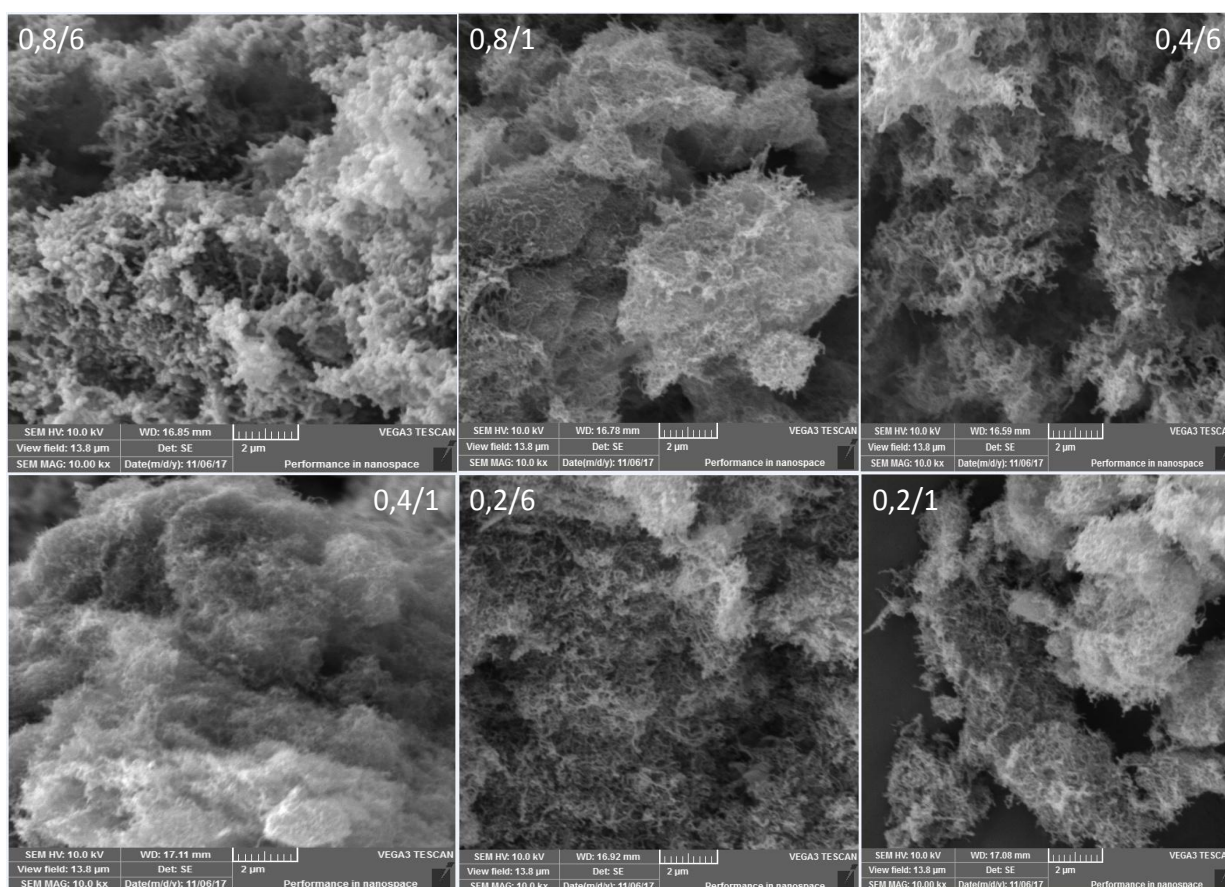
Além da síntese do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy possibilitar um aumento na capacidade de adsorção de cromo em solução, verificamos também que a mudança no tipo de oxidante afeta o grau de remoção de cromo em solução. Com o intuito de analisar a influência desse parâmetro, foram sintetizados os compósitos MWCNT/Fe₃O₄@PPy com seis relações monômero/oxidante diferentes.

Inicialmente, análise de MEV (Fig. 47) nos mostra a morfologia do compósito em diferentes relações monômero/oxidante. Analisando as micrografias podemos observar que na imagem relativa a relação monômero/oxidante 0,8/6 apresenta uma grande quantidade de grãos (que pode ser atribuída ao polipirrol) dispersos nas cadeias dos nanotubos, quando comparado com a relação 0,2/1.

Essa diferença pode está associada à quantidade de polipirrol gerada durante o processo de síntese. A relação 0,8/6 apresenta oxidante e monômero em excesso quando comparada com a relação 0,2/1. Apesar da amostra com relação 0,8/6 teoricamente apresentar uma maior concentração de polipirrol em sua estrutura, a mesma não foi responsável pela maior capacidade de adsorção de cromo em solução. Testes de adsorção usando todas as relações foram realizados utilizando-se 100 mg de compósito em 100 ml de cromo VI

com concentração de 100 mg/L durante 1 hora. Esse resultado pode ser observado na Fig. 48.

Figura 47. MEV do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy em diferentes relações monômero/oxidante.

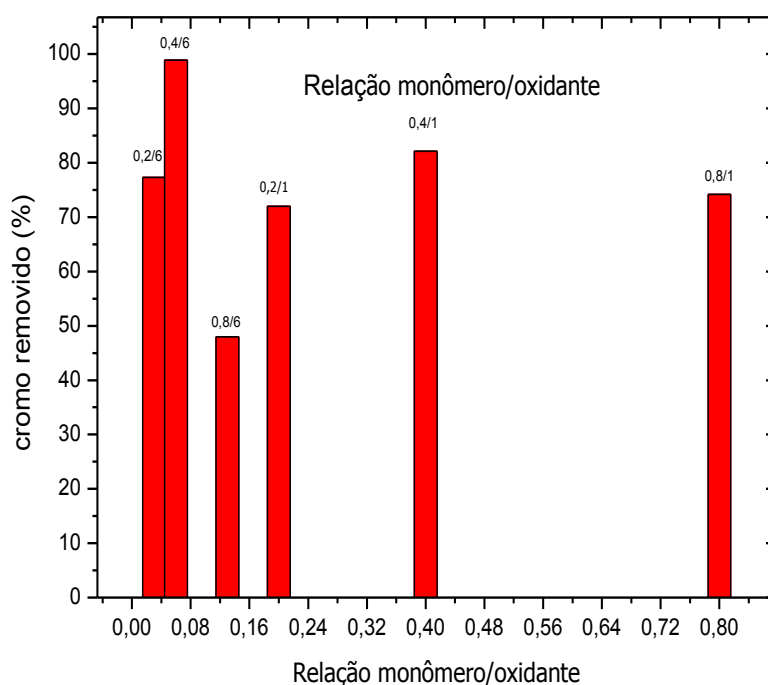


Fonte: Autoria própria

Analisando as micrografias podemos observar que na imagem relativa a relação monômero/oxidante 0,8/6 apresenta uma grande quantidade de grãos (que pode ser atribuída ao polipirrol) dispersos nas cadeias dos nanotubos, quando comparado com a relação 0,2/1. Essa diferença pode está associada à quantidade de polipirrol gerada durante o processo de síntese. A relação 0,8/6

apresenta oxidante e monômero em excesso quando comparada com a relação 0,2/1. Apesar da amostra com relação 0,8/6 teoricamente apresentar uma maior concentração de polipirrol em sua estrutura, a mesma não foi responsável pela maior capacidade de adsorção de cromo em solução. Testes de adsorção usando todas as relações foram realizados utilizando-se 100 mg de compósito em 100 ml de cromo VI com concentração de 100 mg/L durante 1 hora. Esse resultado pode ser observado na Fig. 48.

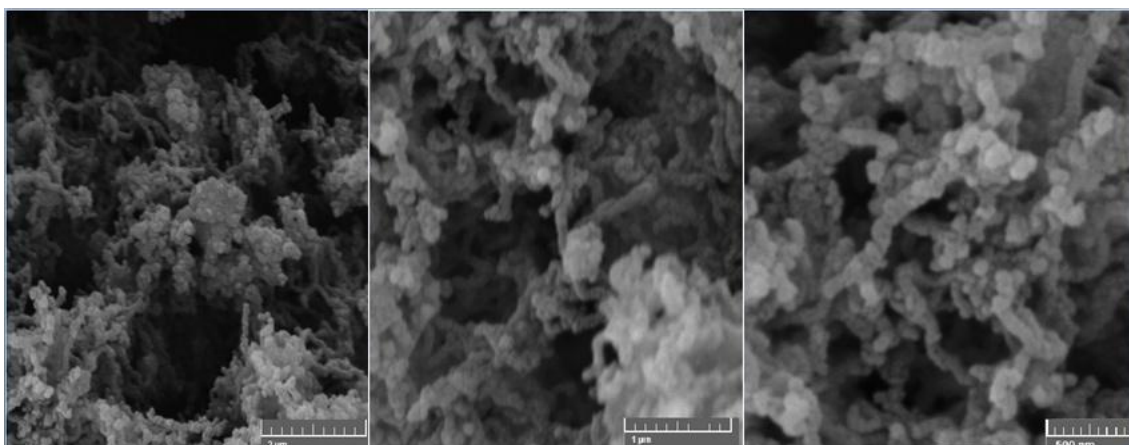
Figura 48. Relação monômero oxidante para compósitos MWCNT/Fe₃O₄@PPy.



Fonte: Autoria própria

Neste resultado podemos observar que a relação 0,4/6 foi capaz de adsorver 98% do cromo presente na solução. Para observarmos melhor a morfologia deste compósito foram realizados também micrografias com aumentos maiores da relação monômero/oxidante 0,4/6. Nessas micrografias é possível observarmos a distribuição homogênea do polipirrol ao longo dos nanotubos de carbono (Fig.49)

Figura 49. Micrografias com aumentos de 20, 40 e 50 mil vezes, respectivamente, do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy.

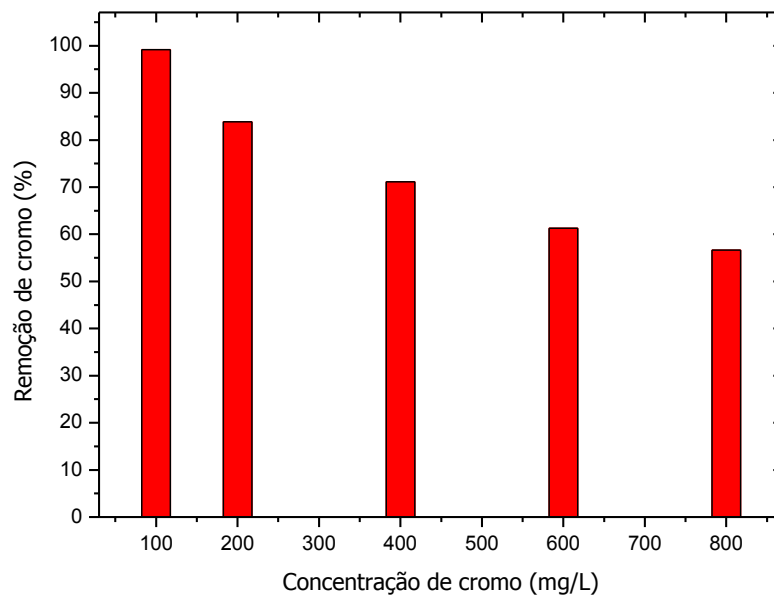


Fonte: Autoria própria

Com base na melhor relação monômero/oxidante foi verificada a influência de parâmetros como eficiência de remoção, tempo de contato, massa de adsorvente, influência do pH e da temperatura. Foi aplicado também o modelo de Langmuir e o de Freundlich para determinar os modelos de adsorção bem como os modelos cinéticos de pseudo primeira e segunda ordem. Além dos parâmetros citados, análises de FTIR, Raman e EDX também

foram realizadas antes e após os processos de adsorção com o intuito de observar mudanças na resposta do material. A eficiência na remoção de cromo foi verificada utilizando-se 100 mg de compósito e variando-se a concentração de cromo de 100 mg/L até 800 mg/L. Foi possível observar que usando 100 mg de compósito praticamente todo cromo da solução foi removido em 2 horas e que mesmo ocorrendo uma queda na quantidade de cromo removido na solução o compósito consegue manter um padrão de adsorção acima de 50% sendo constante a massa do compósito (Fig.50).

Figura 50. Percentual de remoção de cromo em função da variação da concentração mantendo constante a massa do compósito.



Fonte: Autoria própria

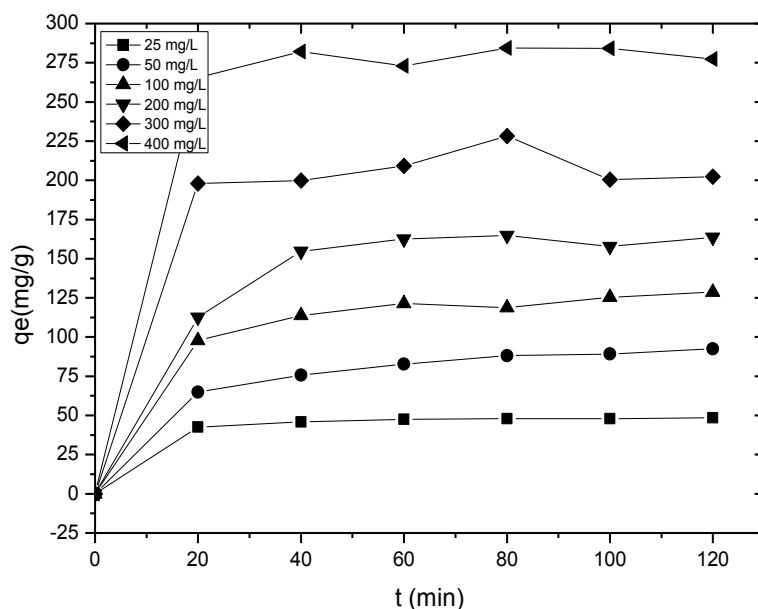
Para testar a influência dos parâmetros citados foram realizados testes de adsorção mantendo-se constante a massa do compósito em 100 mg e variando-se a concentração de cromo de 25 mg/L até 400 mg/L. A Fig. 51 mostra os dados da adsorção convertidos em capacidade de adsorção. Podemos observar que a capacidade de adsorção do compósito chega a 275 mg/g, o que representa excelente valor quando comparado com outros compósitos presentes na literatura. Para termos de comparação, a Tabela 10 relaciona alguns materiais adsorventes e suas capacidades relativas de adsorção de cromo (VI) em solução.

Tabela 10. Relação de adsorventes para cromo hexavalente e capacidade máxima de adsorção.

Adsorvente	q_m (mg/g)	Referência
Polipirrol/serragem de madeira	3,4	(Ansari and Fahim 2007)
Compósito Pani/PEG	68,97	(Samani, Borghei et al. 2010)
Carbono ativado	15,47	(Babel and Kurniawan 2004)
Nanocompósito PPy/Fe ₃ O ₄	169	(Bhaumik, Maity et al. 2011)
Polietilamina modificado	279,5	(Deng and Ting 2005)
Polianilina dop. ac. Sulfúrico	95,79	(Zhang, Ma et al. 2010)
Nanofibras de ppy/pani	227	(Bhaumik, Maity et al. 2012)
Bioadsorvente quitosana	153,8	(Boddu, Abburi et al. 2003)

Fonte: Autoria própria

Figura 51. Capacidade de adsorção versus o tempo de contato mantendo constante a massa do compósito.



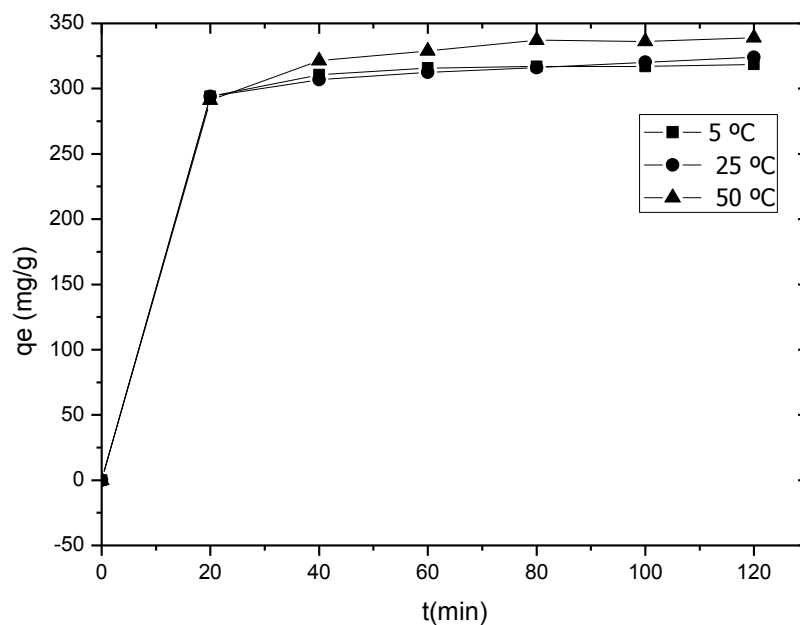
Fonte: Autoria própria

A influência da temperatura foi verificada utilizando-se três temperaturas distintas (Fig. 52), inicialmente foi usada uma solução de 400 mg/L de cromo VI e 100 mg de compósito para verificarmos se o efeito da temperatura sobre o sistema alteraria a capacidade de adsorção. Podemos observar que o aumento na temperatura também aumenta a capacidade de adsorção, tratando-se assim de um processo endotérmico.

Análises variando o pH ,através da adição de ácido nítrico 0.1M, (Fig. 53) também indicam uma influência do mesmo nos processos de adsorção. Para pH altamente ácido (pH = 2), o processo de adsorção é bem mais eficaz

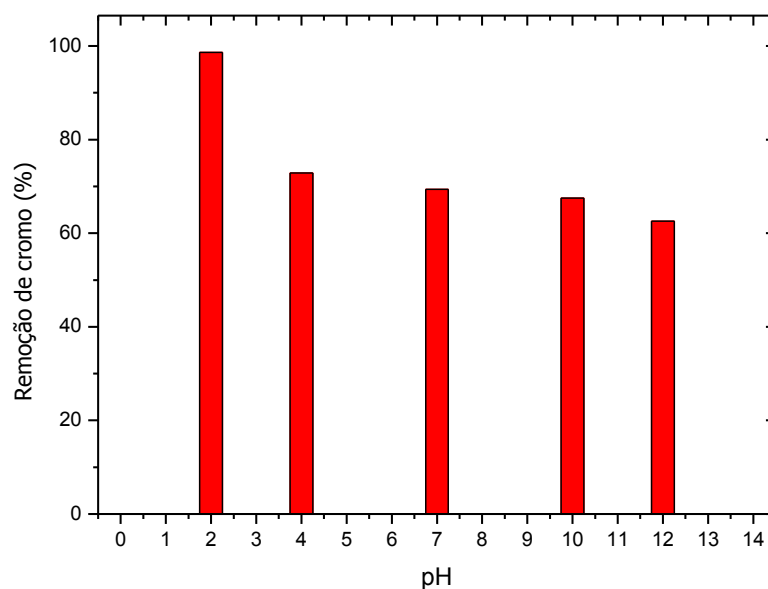
quando comparado aos demais. Esse fato deve-se ao processo de substituição dos íons cloro presentes na cadeia do polipirrol pelos íons HCrO_4^- presentes na solução de cromo. À medida com que se aumenta o pH da solução ocorre uma diminuição no processo de adsorção, dessa forma podemos propor que o mecanismo presente neste processo é o de mudança de íons, já conhecido na literatura para polímeros como polipirrol (ZHAO, CHEN ET AL. 2012). Em valores de pH elevados, existe uma concorrência entre os íons de cromo e os ânions presentes na solução, diminuindo assim a capacidade de remover íons cromo.

Figura 52. Influência da temperatura no processo de adsorção.



Fonte: Autoria própria

Figura 53. Influência do pH no processo de adsorção.



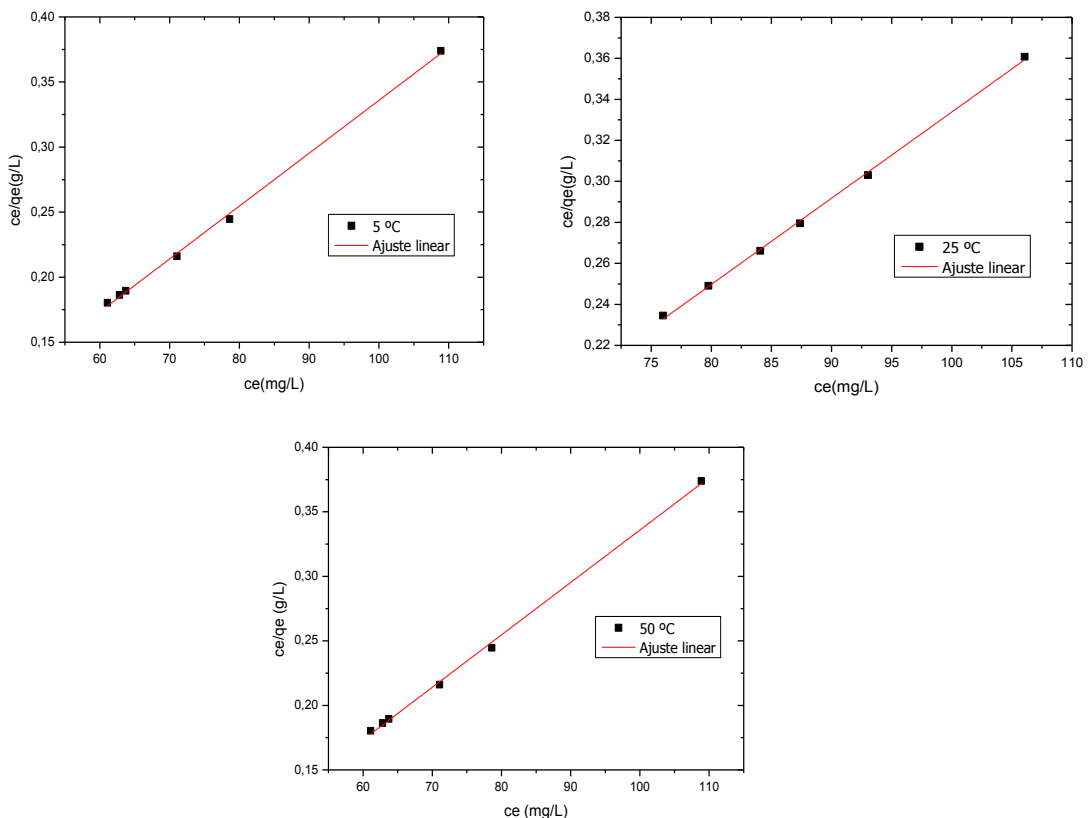
Fonte: Autoria própria

Para verificarmos o modelo de adsorção que melhor se aplica ao sistema, isotermas de Langmuir (Fig. 54) foram analisadas em três temperaturas (5 °C, 25 °C e 50 °C) e os parâmetros são mostrados na Tabela 11. Com base nos parâmetros encontrados, podemos atribuir que o processo de adsorção proposto por Langmuir se aplica ao composto MWCNT/Fe₃O₄@PPy.

Podemos observar também que a capacidade máxima de adsorção de cromo varia de 217,39 mg/g para 246,3 mg/g quando se aumenta a temperatura de 5 °C para 50 °C. Quando comparado a alguns trabalhos

observados na literatura, o compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy pode ser considerado um bom adsorvente de íons cromo, podendo ser utilizado na descontaminação de águas provenientes da indústria. No entanto, não podemos esquecer que os testes envolvendo esse compósito estão associados a apenas um tipo de íon presente na solução. No caso de sistemas ambientais a quantidade de íons presentes é bem superior, necessitando assim de novos ensaios para garantir a sua aplicabilidade na presença de outros íons decorrentes de contaminação.

Figura 54. Modelo da isoterma de Langmuir 5 °C.



Fonte: Autoria própria

Tabela 11. Parâmetros de Langmuir aplicados em temperaturas diferentes.

Langmuir			
T(°C)	qm (mg/g)	b(L/mg)	R ²
5	217,39	0,021	0,99826
25	237,52	0,052	0,99885
50	246,3	0,057	0,99823

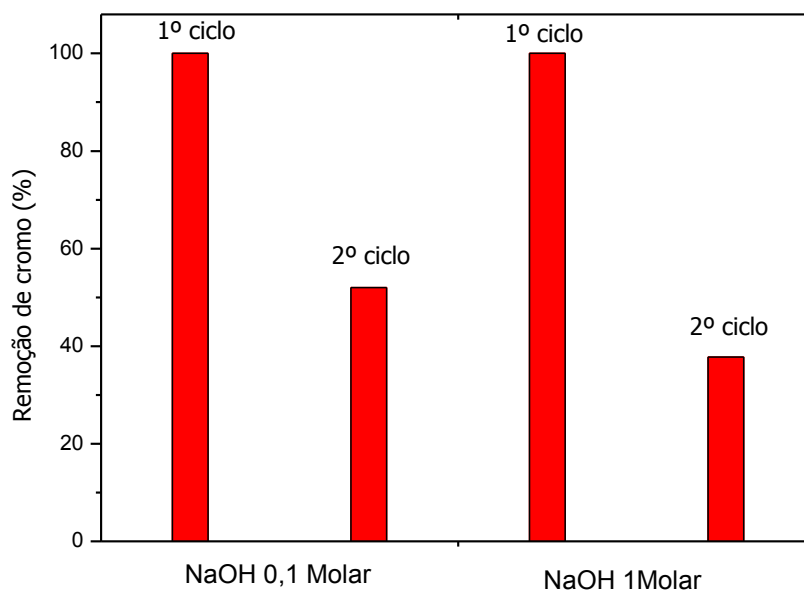
Fonte: Autoria própria

Um dos fatores importantes nos processos de adsorção é a capacidade do adsorvente ser reutilizado após algum tipo de tratamento. Com o objetivo de testar a capacidade de reutilização do compósito o mesmo foi submetido a um tratamento químico a base de hidróxido de sódio 0,1M. A Fig. 55 mostra a capacidade de remoção de cromo no 1º e no 2º ciclo de adsorção. Podemos observar que após o procedimento de lavagem com hidróxido de sódio (0,1 M) o compósito volta a ter capacidade de remover cromo da solução. No entanto, essa capacidade é reduzida quase que pela metade quando se compara o 1º com 2º ciclo.

Neste caso, o processo de extração do cromo do compósito já utilizado é limitado. Análises de EDS foram realizadas na amostra após a dispersão do compósito adsorvido em hidróxido de sódio e revelou a presença de cromo na sua composição, como mostra a Fig. 56. Dessa forma, podemos entender que o processo de extração de cromo a partir do compósito já adsorvido não é

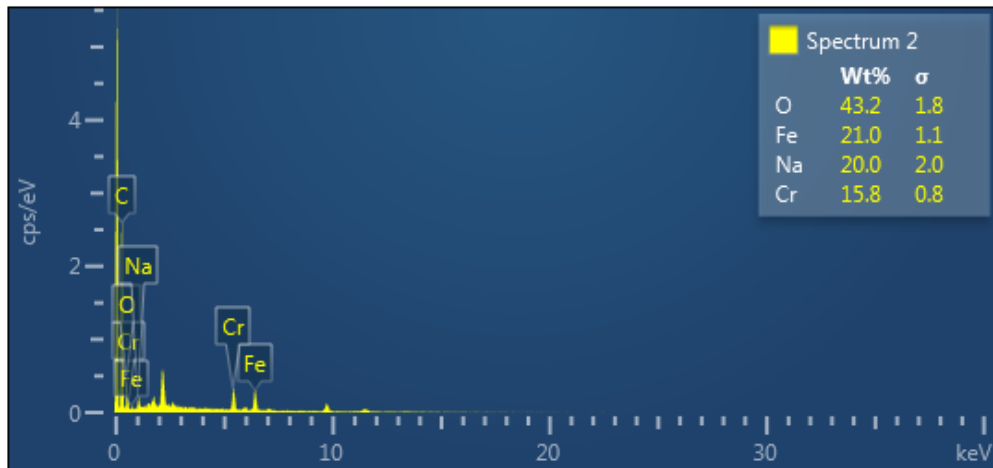
eficaz. Além de que podemos prever que o motivo da falha no processo de desorção é a permanência do cromo na estrutura do composto

Figura 55. Capacidade de remoção de cromo após lavagem com hidróxido de sódio.



Fonte: Autoria própria

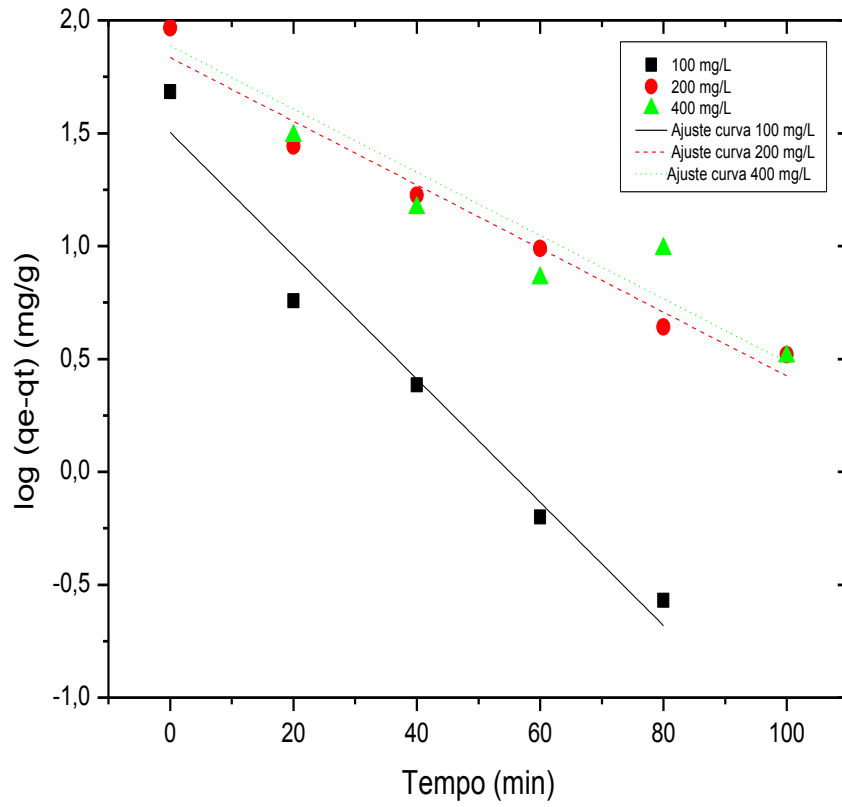
Figura 56. Espectro de EDS após processo de extração de cromo com hidróxido de sódio.



Fonte: Autoria própria

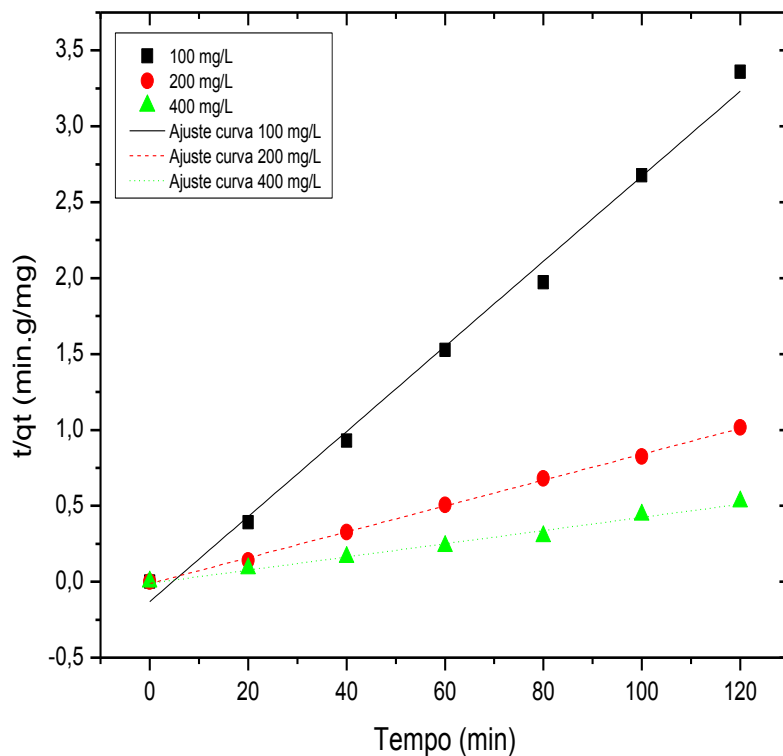
Para entender melhor a cinética de adsorção, modelos de pseudo primeira e segunda ordem foram aplicados em sistemas com concentrações de 100, 200 e 400 mg/L (Fig. 57 e 58) e os parâmetros mostrados na Tabela 12.

Figura 57. Modelo cinético de pseudo primeira ordem.



Fonte: Autoria própria

Figura 58. Modelo cinético de pseudo segunda ordem.



Fonte: Autoria própria

Tabela 12. Parâmetros cinéticos relacionados aos modelos de pseudo primeira e segunda ordem.

Pseudo primeira ordem				Pseudo Segunda ordem		
[Cr] mg/L	k1 (1/min)	qe (mg/g)	R ²	k2 (g/mg/min)	qe (mg/g)	R ²
100	0,06	32	0,96082	0,005	35,67	0,99203
200	0,032	69	0,96121	0,0058	117,37	0,99866
400	0,322	77	0,8597	0,0018	230,41	0,98625

Fonte: Autoria própria

Dessa forma, podemos propor que o modelo cinético mais adequado ao sistema analisado é o de pseudo segunda ordem, onde o coeficiente de determinação e a capacidade máxima de adsorção são 0,99 e 230,41 mg/g respectivamente. Considerando os valores de capacidade máxima de adsorção presentes na literatura voltados para adsorção de cromo hexavalente em sistemas aquosos, podemos dizer que o compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy sintetizado com cloreto férrico atua de forma eficaz e se assemelha aos trabalhos com maiores valores para adsorção de cromo, podendo dessa forma ser utilizado em processos de descontaminação de água e águas residuais.

6- Conclusões e Perspectivas

Com base nos resultados apresentados, concluímos que os compósitos a base de óxido de ferro/polipirrol e óxido de ferro/nanotubos de carbono/polipirrol, apresentaram resultados distintos no que diz respeito à adsorção de cromo. O compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ sintetizado com APS apresentou morfologia do tipo esférica bem definida, no entanto a capacidade adsorção de cromo é limitado a 20 mg/g de acordo com o modelo de Langmuir.

Ao substituir o APS pelo cloreto férrico a capacidade máxima de adsorção foi elevada devido ao rendimento da reação de polimerização ser maior, no entanto, a morfologia do compósito foi alterada. Com relação à introdução dos nanotubos de carbono ao compósito (MWCNT/ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$) podemos observar que a capacidade máxima de adsorção passa a ter valores mais expressivos, chegando a 90 mg/g a 50 °C. Novamente o processo de substituição do oxidante de APS pra cloreto férrico ocasiona uma mudança nos níveis de adsorção de cromo através do compósito.

Foi possível observar que a capacidade máxima de adsorção chega a 275 mg/g para o compósito MWCNT/ $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ sintetizado com cloreto de ferro III utilizando a relação monômero/oxidante (0,4/6), esse pode ser considerado um excelente valor de capacidade máxima de adsorção quando comparado aos valores existentes na literatura. Apesar do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ sintetizado com APS não ter apresentado bons resultados no processo de adsorção de cromo, o mesmo apresentou ótimos resultados no processo de imobilização da enzima β -galactosidase para síntese de GOS.

Podemos observar que a utilização do compósito $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ foi de bastante relevância para produção de GOS uma vez que o tempo de reação se mostrou um fator relevante para que a hidrólise do GOS já formado fosse evitada. Além disso, a utilização deste compósito como ambiente capaz de imobilizar a enzima β -galactosidase favoreceu o processo de reutilização do derivado enzimático por 10 ciclos com perda na ordem de 23,9% da atividade enzimática, que pode estar associada a perdas durante o processo de lavagem para reutilização.

No geral cada substância atua de forma específica nos processos de síntese de GOS e na adsorção de cromo hexavalente. A magnetização dos compósitos se mostra eficaz tanto para produção de GOS quanto para adsorção de cromo, uma vez que existe a possibilidade de se retirar do meio, reacional ou não, o compósito com aplicação de campo magnético no sistema.

O uso do PPy foi de fundamental importância neste trabalho, uma vez que a possibilidade de funcionalização dos grupos presentes na cadeia do polímero permitiu a interação polímero-enzima para produção de GOS e também no fornecimento de carga para atração dos íons cromo presentes em solução, favorecendo assim a adsorção dos mesmos. A inserção de nanotubos de carbono multicamadas ao compósito favoreceu o processo de adsorção através do aumento na área superficial fazendo com que a capacidade máxima de adsorção do compósito $\text{MWCNT}/\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{PPy}$ obtivesse valores expressivos em relação aos valores observados na literatura.

As perspectivas para trabalhos futuros estão voltadas para testes de síntese de GOS utilizando novos compósitos e a produção de um filtro cujo refil seja composto basicamente pelo do compósito MWCNT/Fe₃O₄@PPy e cuja aplicação esteja voltada para remoção de cromo presente em solução.

- Trabalho publicado durante o desenvolvimento desta tese.

Chemical Engineering Journal 306 (2016) 816–825



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Chemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cej

Chemical
Engineering
Journal

Fe₃O₄@polypyrrole core-shell composites applied as nanoenvironment for galacto-oligosaccharides production



Ginetton F. Tavares, Mariana R. Xavier, David F.M. Neri, Helinando P. de Oliveira *

Institute of Materials Science, Federal University of São Francisco Valley, 48920-310, Juazeiro, BA, Brazil

- Trabalho em fase de submissão

THE INFLUENCE OF PPY-BASED COMPOSITE ON REMOVAL EFFICIENCY OF HEXAVALENT CHROMIUM FROM AQUEOUS SOLUTION

Helinando P. de Oliveira and Ginetton F. Tavares

Instituto de Pesquisa em Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Vale do São

Francisco, Juazeiro, Bahia, 48902-300, Brazil

7- Referências Bibliográficas

- abraham, m. r. and t. b. susan (2017). "water contamination with heavy metals and trace elements from kilembe copper mine and tailing sites in western uganda; implications for domestic water quality." chemosphere **169**: 281-287.
- albaaji, a. j., e. g. castle, et al. (2016). "mechanical and magnetic properties of spark plasma sintered soft magnetic fe-co alloy reinforced by carbon nanotubes." journal of materials research **31**(21): 3448-3458.
- alleoni, l., o. camargo, et al. (1998). "isotermas de langmuir e de freundlich na descrição da adsorção de boro em solos altamente intemperizados." sci. agric **55**(3): 379-387.
- alqadami, a. a., m. a. abdalla, et al. (2013). "application of solid phase extraction on multiwalled carbon nanotubes of some heavy metal ions to analysis of skin whitening cosmetics using icp-aes." international journal of environmental research and public health **10**(1): 361-374.
- amalraj, a., m. k. selvi, et al. (2016). "preparation and characterization of aspartic acid doped polypyrrole for the efficient removal of cr (vi) from aqueous solution." journal of water process engineering **11**: 162-173.
- anderson, r. a. (1981). "nutritional role of chromium." science of the total environment **17**(1): 13-29.
- anjo, d. f. c. (2004). "alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular." jornal vascular brasileiro **3**(2): 145-154.
- ansari, r. and n. k. fahim (2007). "application of polypyrrole coated on wood sawdust for removal of cr (vi) ion from aqueous solutions." reactive and functional polymers **67**(4): 367-374.
- babel, s. and t. a. kurniawan (2004). "cr (vi) removal from synthetic wastewater using coconut shell charcoal and commercial activated carbon modified with oxidizing agents and/or chitosan." chemosphere **54**(7): 951-967.
- beitollahi, h., f. ebadinejad, et al. (2016). "a magnetic core-shell fe₃o₄@sio₂/mwcnt nanocomposite modified carbon paste electrode for amplified electrochemical sensing of amlodipine and hydrochlorothiazide." analytical methods **8**(32): 6185-6193.
- bhaumik, m., a. maity, et al. (2011). "enhanced removal of cr (vi) from aqueous solution using polypyrrole/fe₃o₄ magnetic nanocomposite." journal of hazardous materials **190**(1): 381-390.
- bhaumik, m., a. maity, et al. (2012). "removal of hexavalent chromium from aqueous solution using polypyrrole-polyaniline nanofibers." chemical engineering journal **181**: 323-333.

- boddu, v. m., k. abburi, et al. (2003). "removal of hexavalent chromium from wastewater using a new composite chitosan biosorbent." environmental science & technology **37**(19): 4449-4456.
- bredas, j., j. scott, et al. (1984). "polarons and bipolarons in polypyrrole: evolution of the band structure and optical spectrum upon doping." physical review b **30**(2): 1023.
- cao, y., l. wen, et al. (2016). "magnetic auno@ fe₃o₄ nanoparticles as reusable carriers for reversible enzyme immobilization." chemical engineering journal **286**: 272-281.
- capek, i. (2011). dispersions based on carbon nanotubes–biomolecules conjugates. carbon nanotubes-growth and applications, intech.
- chatterjee, n., j. yang, et al. (2017). "differential crosstalk between global dna methylation and metabolomics associated with cell type specific stress response by pristine and functionalized mwcnt." biomaterials **115**: 167-180.
- chávez-guajardo, a. e., j. c. medina-llamas, et al. (2015). "efficient removal of cr (vi) and cu (ii) ions from aqueous media by use of polypyrrole/maghemite and polyaniline/maghemite magnetic nanocomposites." chemical engineering journal **281**: 826-836.
- chen, b., j. li, et al. (2007). highly conjugated polypyrrole on multiwalled carbon nanotube templates analyzed by raman spectroscopy. proc of spie.
- cruz, m. j., r. costa, et al. (2006). "asma ocupacional inducida por cromo y niquel." archivos de bronconeumología **42**(6): 302-306.
- cruz, r., v. c. d. a. cruz, et al. (1999). "production of transgalactosylated oligosaccharides (tos) by galactosyltransferase activity from penicillium simplicissimum." bioresource technology **70**(2): 165-171.
- cui, s. w. (2005). food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications, crc press.
- dakiky, m., m. khamis, et al. (2002). "selective adsorption of chromium (vi) in industrial wastewater using low-cost abundantly available adsorbents." advances in environmental research **6**(4): 533-540.
- dallolio, a., g. dascola, et al. (1968). "electronic paramagnetic resonance and conductivity of a black electrolytic oxypyrrole." comptes rendus hebdomadaires des seances de l'academie des sciences serie c **267**(6): 433-&.
- dash, j. g. (2012). films on solid surfaces: the physics and chemistry of physical adsorption, elsevier.
- de souza filho, a. g. and s. b. fagan (2007). "funcionalização de nanotubos de carbono." química nova **30**(7): 1695.
- deng, s. and y. p. ting (2005). "polyethylenimine-modified fungal biomass as a high-capacity biosorbent for cr (vi) anions: sorption capacity and uptake mechanisms." environmental science & technology **39**(21): 8490-8496.

- el-sorogy, a. s. and m. yousef (2015). "assessment of heavy metal contamination in intertidal gastropod and bivalve shells from central arabian gulf coastline, saudi arabia." journal of african earth sciences **111**: 41-53.
- epstein, j., j. michael, et al. (2015). "modeling langmuir isotherms with the gillespie stochastic algorithm." journal of chromatography a **1380**: 81-87.
- ge, f., m.-m. li, et al. (2012). "effective removal of heavy metal ions cd^{2+} , zn^{2+} , pb^{2+} , cu^{2+} from aqueous solution by polymer-modified magnetic nanoparticles." journal of hazardous materials **211**: 366-372.
- gopalakrishnan, a., j. f. clinthorne, et al. (2012). "supplementation with galacto-oligosaccharides increases the percentage of nk cells and reduces colitis severity in smad3-deficient mice." the journal of nutrition **142**(7): 1336-1342.
- gudiel-urbano, m. and i. goni (2001). "human milk oligosaccharides. the rule in the health and development of the infants." archivos latinoamericanos de nutricion **51**(4): 332-339.
- han, d.-h., h. j. lee, et al. (2005). "electrochemistry of conductive polymers xxxv: electrical and morphological characteristics of polypyrrole films prepared in aqueous media studied by current sensing atomic force microscopy." electrochimica acta **50**(15): 3085-3092.
- hantson, p., o. van caenegem, et al. (2005). "hexavalent chromium ingestion: biological markers of nephrotoxicity and genotoxicity." clinical toxicology **43**(2): 111-112.
- herrero-latorre, c., j. barciela-garcía, et al. (2017). "graphene and carbon nanotubes as solid phase extraction sorbents for the speciation of chromium: a review." analytica chimica acta.
- herrero-latorre, c., j. barciela-garcía, et al. (2015). "magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: a review." analytica chimica acta **892**: 10-26.
- hou, y., l. zhang, et al. (2014). "raman characterization of pseudocapacitive behavior of polypyrrole on nanoporous gold." physical chemistry chemical physics **16**(8): 3523-3528.
- hsu, s.-c., h.-l. hsieh, et al. (2011). "tungsten and other heavy metal contamination in aquatic environments receiving wastewater from semiconductor manufacturing." journal of hazardous materials **189**(1): 193-202.
- huang, p., z. ye, et al. (2013). "rapid magnetic removal of aqueous heavy metals and their relevant mechanisms using nanoscale zero valent iron (nzvi) particles." water research **47**(12): 4050-4058.
- iannazzo, d., a. piperno, et al. (2012). "functionalization of multi-walled carbon nanotubes with coumarin derivatives and their biological evaluation." organic & biomolecular chemistry **10**(5): 1025-1031.
- iwasaki, k.-i., m. nakajima, et al. (1996). "galacto-oligosaccharide production from lactose by an enzymic batch reaction using β -galactosidase." process biochemistry **31**(1): 69-76.

- jagadish, k., b. chandrashekar, et al. (2016). "simultaneous removal of dye and heavy metals in a single step reaction using pva/mwcnt composites." analytical methods **8**(11): 2408-2412.
- jia, j., h. li, et al. (2016). "magnet bioreporter device for ecological toxicity assessment on heavy metal contamination of coal cinder sites." sensors and actuators b: chemical **222**: 290-299.
- katal, r., m. ghiass, et al. (2011). "application of nanometer size of polypyrrole as a suitable adsorbent for removal of cr (vi)." journal of vinyl and additive technology **17**(3): 222-230.
- kay, r. and s. strasberg (1978). "origin, chemistry, physiological effects and clinical importance of dietary fibre." clinical and investigative medicine. medecine clinique et experimentale **1**(1): 9.
- kobryanskii, v. and s. arnautov (1993). "the role of doping in electrochemical synthesis of conductive polymers." synthetic metals **55**(2-3): 1371-1376.
- kolahian, s., h. sadri, et al. (2015). "the effects of leucine, zinc, and chromium supplements on inflammatory events of the respiratory system in type 2 diabetic rats." plos one **10**(7): e0133374.
- kozitsina, a., t. svalova, et al. (2016). "a new enzyme-free electrochemical immunoassay for escherichia coli detection using magnetic nanoparticles." analytical letters **49**(2): 245-257.
- krishnani, k. k., s. srinives, et al. (2013). "hexavalent chromium removal mechanism using conducting polymers." journal of hazardous materials **252**: 99-106.
- li, h., f. cheng, et al. (2005). "functionalization of single-walled carbon nanotubes with well-defined polystyrene by "click" coupling." journal of the american chemical society **127**(41): 14518-14524.
- lim, c. w., k. song, et al. (2012). "synthesis of ppy/silica nanocomposites with cratered surfaces and their application in heavy metal extraction." journal of industrial and engineering chemistry **18**(1): 24-28.
- ling, l.-l., w.-j. liu, et al. (2017). "magnesium oxide embedded nitrogen self-doped biochar composites: fast and high-efficiency adsorption of heavy metals in an aqueous solution." environmental science & technology **51**(17): 10081-10089.
- liu, l., y. li, et al. (2015). "a label-free voltammetric immunoassay based on 3d-structured rgo-mwcnt-pd for detection of human immunoglobulin g." sensors and actuators b: chemical **211**: 170-176.
- mahmud, h. n. m. e., a. o. huq, et al. (2016). "the removal of heavy metal ions from wastewater/aqueous solution using polypyrrole-based adsorbents: a review." rsc advances **6**(18): 14778-14791.
- mahoney, r. r. (1998). "galactosyl-oligosaccharide formation during lactose hydrolysis: a review." food chemistry **63**(2): 147-154.

- mane, a., s. sartale, et al. (2015). "dodecyl benzene sulfonic acid (dbsa) doped polypyrrole (ppy) films: synthesis, structural, morphological, gas sensing and impedance study." journal of materials science: materials in electronics **26**(11): 8497-8506.
- martins, a. r. and c. a. v. burkert (2009). "revisão: galacto-oligosacarídeos (gos) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos."
- misson, m. (2015). "manipulation of nanofiber-based-galactosidase nanoenvironment for enhancement of galacto-oligosaccharide production."
- misson, m., s. dai, et al. (2016). "manipulation of nanofiber-based β -galactosidase nanoenvironment for enhancement of galacto-oligosaccharide production." journal of biotechnology **222**: 56-64.
- mthombeni, n. h., m. s. onyango, et al. (2015). "adsorption of hexavalent chromium onto magnetic natural zeolite-polymer composite." journal of the taiwan institute of chemical engineers **50**: 242-251.
- münstedt, h., g. köhler, et al. (1987). "rechargeable polypyrrole/lithium cells." synthetic metals **18**(1-3): 259-264.
- nakakuki, t. (2002). "present status and future of functional oligosaccharide development in japan." pure and applied chemistry **74**(7): 1245-1251.
- neri, d. f., v. m. balcão, et al. (2009). "galactooligosaccharides production by β -galactosidase immobilized onto magnetic polysiloxane-polyaniline particles." reactive and functional polymers **69**(4): 246-251.
- pankhurst, q. a., j. connolly, et al. (2003). "applications of magnetic nanoparticles in biomedicine." journal of physics d: applied physics **36**(13): r167.
- peruchi, l. m., a. h. fostier, et al. (2015). "sorption of norfloxacin in soils: analytical method, kinetics and freundlich isotherms." chemosphere **119**: 310-317.
- rodríguez, f. j., s. Gutiérrez, et al. (2000). "the efficiency of toxic chromate reduction by a conducting polymer (polypyrrole): influence of electropolymerization conditions." environmental science & technology **34**(10): 2018-2023.
- rossetto, b. p., g. m. zanin, et al. (2013). "determinação da atividade da enzima b-galactosidase por lactose do soro de queijo." bbr-biochemistry and biotechnology reports **1**(2): 28-32.
- rouquerol, j., f. rouquerol, et al. (2013). adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications, academic press.
- sahmetlioglu, e., e. yilmaz, et al. (2014). "polypyrrole/multi-walled carbon nanotube composite for the solid phase extraction of lead (ii) in water samples." talanta **119**: 447-451.
- sako, t., k. matsumoto, et al. (1999). "recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides." international dairy journal **9**(1): 69-80.

- samani, m. r., s. m. borghei, et al. (2010). "removal of chromium from aqueous solution using polyaniline–poly ethylene glycol composite." journal of hazardous materials **184**(1): 248-254.
- sha, h., y. wu, et al. (2017). "utilization of industrial waste as a novel adsorbent: mono/competitive adsorption of chromium (vi) and nickel (ii) using diatomite waste modified by edta." applied organometallic chemistry.
- shen, q., k. m. tuohy, et al. (2011). "in vitro measurement of the impact of human milk oligosaccharides on the faecal microbiota of weaned formula-fed infants compared to a mixture of prebiotic fructooligosaccharides and galactooligosaccharides." letters in applied microbiology **52**(4): 337-343.
- shi kam, n. w., t. c. jessop, et al. (2004). "nanotube molecular transporters: internalization of carbon nanotube– protein conjugates into mammalian cells." journal of the american chemical society **126**(22): 6850-6851.
- splechtna, b., t.-h. nguyen, et al. (2007). "comparison between discontinuous and continuous lactose conversion processes for the production of prebiotic galacto-oligosaccharides using β -galactosidase from lactobacillus reuteri." journal of agricultural and food chemistry **55**(16): 6772-6777.
- tan, y., c. wei, et al. (2017). adsorption of hexavalent chromium onto sisal pulp/polypyrrole composites. iop conference series: materials science and engineering, iop publishing.
- teuri, u., r. korpela, et al. (1998). "increased fecal frequency and gastrointestinal symptoms following ingestion of galacto-oligosaccharide-containing yogurt." journal of nutritional science and vitaminology **44**(3): 465-471.
- toçoğlu, u., g. hatipoğlu, et al. (2016). "electrochemical characterization of silicon/graphene/mwcnt hybrid lithium-ion battery anodes produced via rf magnetron sputtering." applied surface science **389**: 507-513.
- tzortzis, g. and j. vulevic (2009). galacto-oligosaccharide prebiotics. prebiotics and probiotics science and technology, springer: 207-244.
- vigneri, r., p. malandrino, et al. (2016). "heavy metals in the volcanic environment and thyroid cancer." molecular and cellular endocrinology.
- vymazal, j. (2016). "concentration is not enough to evaluate accumulation of heavy metals and nutrients in plants." science of the total environment **544**: 495-498.
- wang, j., k. cai, et al. (2014). "preparation and thermoelectric properties of multi-walled carbon nanotubes/polypyrrole composites." synthetic metals **195**: 132-136.
- wang, q., j. li, et al. (2011). "removal of cobalt from aqueous solution by magnetic multiwalled carbon nanotube/iron oxide composites." chemical engineering journal **174**(1): 126-133.
- wang, t., g. jia, et al. (2011). "renal impairment caused by chronic occupational chromate exposure." international archives of occupational and environmental health **84**(4): 393-401.

- wang, y., b. zou, et al. (2012). "synthesis of orange-like fe₃o₄/ppy composite microspheres and their excellent cr (vi) ion removal properties." journal of materials chemistry **22**(18): 9034-9040.
- wang, z., x. wang, et al. (2017). "a specific fluorescence probe for chromium (vi) anions and its application." sensors and actuators b: chemical **244**: 727-731.
- warmerdam, a., f. k. zisopoulos, et al. (2014). "kinetic characterization of galacto-oligosaccharide (gos) synthesis by three commercially important β -galactosidases." biotechnology progress **30**(1): 38-47.
- wu, h., p. cao, et al. (2011). "microwave-assisted synthesis and magnetic properties of size-controlled coni/mwcnt nanocomposites." journal of alloys and compounds **509**(4): 1261-1265.
- wu, h., g. liu, et al. (2011). "the behavior after intravenous injection in mice of multiwalled carbon nanotube/fe₃o₄ hybrid mri contrast agents." biomaterials **32**(21): 4867-4876.
- wu, m., j. liang, et al. (2017). "decontamination of multiple heavy metals-containing effluents through microbial biotechnology." journal of hazardous materials **337**: 189-197.
- wu, t. m., s. j. yen, et al. (2008). "synthesis, characterization, and properties of monodispersed magnetite coated multi-walled carbon nanotube/polypyrrole nanocomposites synthesized by in-situ chemical oxidative polymerization." journal of polymer science part b: polymer physics **46**(7): 727-733.
- xie, w. and x. zang (2016). "immobilized lipase on core-shell structured fe₃o₄-mcm-41 nanocomposites as a magnetically recyclable biocatalyst for interesterification of soybean oil and lard." food chemistry **194**: 1283-1292.
- yan, h., y. shengyuan, et al. (2015). "evaluation of heavy metal contamination in agricultural topsoils in suburban xuchang city, china." environmental earth sciences **74**(3): 2475-2480.
- yuan, x., x.-l. ding, et al. (2013). "use of polypyrrole in catalysts for low temperature fuel cells." energy & environmental science **6**(4): 1105-1124.
- zhang, r., h. ma, et al. (2010). "removal of chromium (vi) from aqueous solutions using polyaniline doped with sulfuric acid." industrial & engineering chemistry research **49**(20): 9998-10004.
- zhang, x., r. bai, et al. (2006). "selective adsorption behaviors of proteins on polypyrrole-based adsorbents." separation and purification technology **52**(1): 161-169.
- zhao, z.-q., x. chen, et al. (2012). "selective adsorption toward toxic metal ions results in selective response: electrochemical studies on a polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite." chemical communications **48**(16): 2180-2182.
- zimmermann, a. c., a. mecabô, et al. (2010). "adsorption of cr (vi) using fe-crosslinked chitosan complex (ch-fe)." journal of hazardous materials **179**(1): 192-196.