

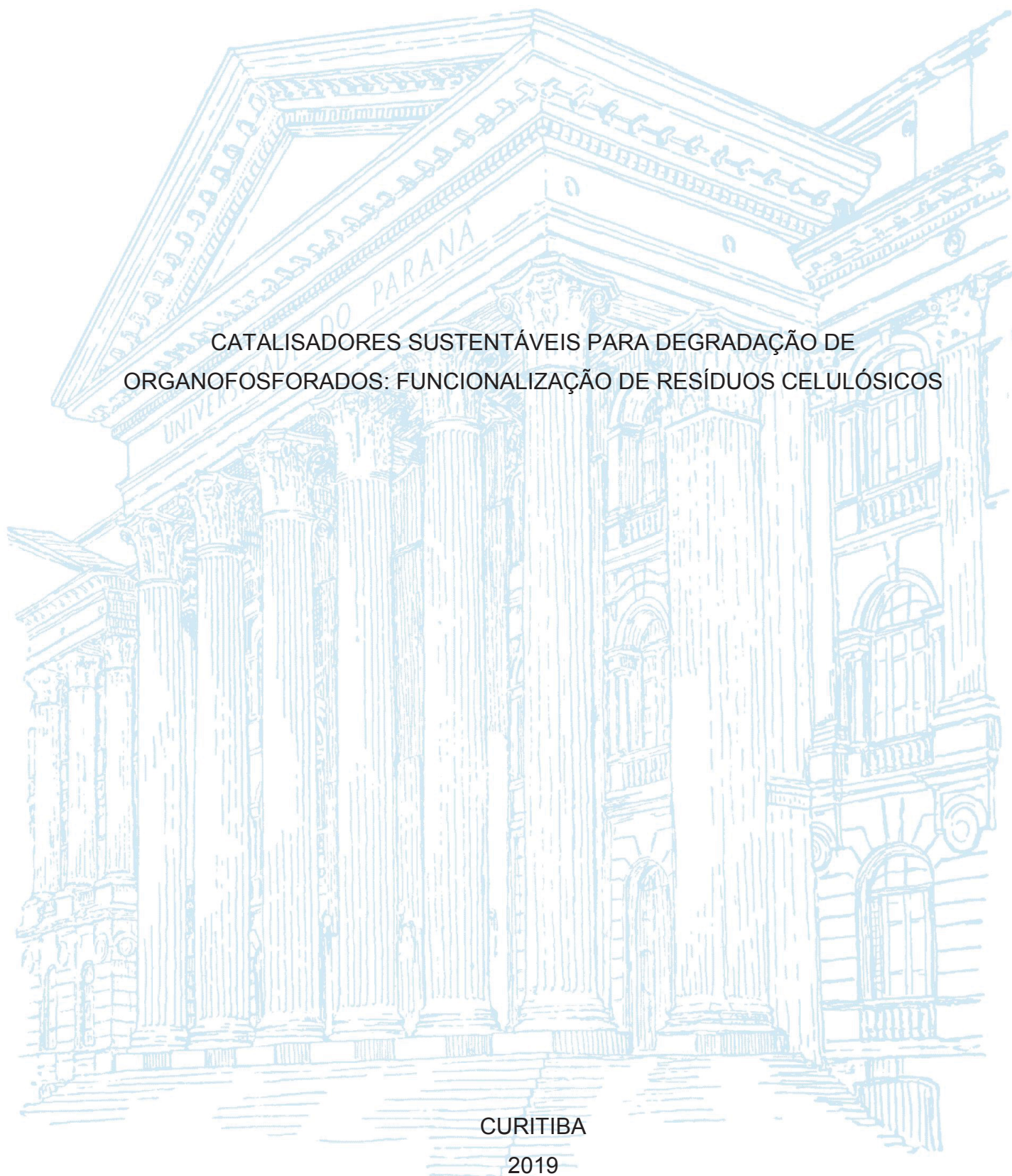
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOSÉ GUILHERME LOPES FERREIRA

CATALISADORES SUSTENTÁVEIS PARA DEGRADAÇÃO DE  
ORGANOFOSFORADOS: FUNCIONALIZAÇÃO DE RESÍDUOS CELULÓSICOS

CURITIBA

2019



JOSÉ GUILHERME LOPES FERREIRA

CATALISADORES SUSTENTÁVEIS PARA DEGRADAÇÃO DE  
ORGANOFOSFORADOS: FUNCIONALIZAÇÃO DE RESÍDUOS CELULÓSICOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisa Souza Orth

CURITIBA

2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

F383c Ferreira, José Guilherme Lopes

Catalisadores sustentáveis para degradação de organofosforados:  
funcionalização de resíduos celulósicos [recurso eletrônico] / José  
Guilherme Lopes Ferreira, 2019.

Dissertação (mestrado) – Pós-graduação em Química, Setor de  
Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisa Souza Orth

1. Catálise. 2. Processos químicos. 3. Pesticidas. I. Universidade  
Federal do Paraná. II. Orth, Elisa Souza. III. Título.

CDD 660.2995

---



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO QUÍMICA -  
40001016026P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **JOSÉ GUILHERME LOPES FERREIRA** intitulada: **CATALISADORES SUSTENTÁVEIS PARA DEGRADAÇÃO DE ORGANOFOSFORADOS: FUNCIONALIZAÇÃO DE RESÍDUOS CELULÓSICOS**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 26 de Fevereiro de 2019.

ELISA SOUZA ORTH

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

RILTON ALVES DE FREITAS

Avaliador Interno (UFPR)

EDVANI CURTI MUNIZ

Avaliador Externo (UEM)

Aos que creem na Ciência como a pedra fundamental, os alicerces e o domo da humanidade.

## AGRADECIMENTOS

À professora Elisa Orth por quase 7 anos de orientação regados à paciência, dedicação e muito aprendizado. É impossível agradecer em palavras todos os aspectos de ter sido orientado por ela, porém escolho dois que a fazem a cientista humana que tenho orgulho: a alegria com que se dedica a todos seus alunos e aquilo que ela ensina de mais importante, pensamento crítico.

Ao aluno de iniciação científica Willian Hidetaki que colaborou nos trabalhos experimentais e mostrou uma aptidão singular. Espero que siga na carreira científica, pois há de ter um futuro brilhante.

Aos meus pais, familiares e amigos que muito apoiaram durante toda a vida.

Aos professores Izabel Vidotti e Rilton Freitas pelas contribuições no exame de qualificação de mestrado.

Aos professores Edvani Curtis e Rilton Freitas pelas contribuições na defesa dessa dissertação de mestrado.

Aos professores formais e informais com quem tive a honra de aprender.

Aos amigos do GCC, GPMIN e GQM pelo apoio científico e não científico durante todos esses anos.

Ao Departamento de Química, Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR e Centro de RMN da UFPR e seus técnicos pelas análises.

À UFPR e seus técnicos, professores e alunos que fazem dessa universidade o que tenho orgulho de chamar de segunda casa.

A todos que por um lapso de memória não agradei, mas que contribuíram de alguma forma com o desenvolvimento deste trabalho.

Aos órgãos de fomento pelo apoio financeiro na execução desse projeto.

*“Nobody exists on purpose. Nobody belongs anywhere. Everybody's gonna die. You live life according to the set rules by the society without understanding why and then you die. Break the circle. Rise above. Focus on Science.”* Adaptado da citação de Morty Smith, personagem da série Rick e Morty (2014).

## RESUMO

A biomassa lignocelulósica é um material barato, amplamente distribuída mundialmente e renovável. Uma dessas fontes de biomassa é a casca de arroz (CA): um resíduo agrícola de uma das maiores culturas agrícolas mundiais e que mais utilizam pesticidas organofosforados. Além dos pesticidas, algumas armas químicas também são compostos organofosforados, que tem como características principais serem altamente estáveis e extremamente tóxicos. Esses compostos podem ser clivados por grupos nucleofílicos como imidazóis e ácidos hidroxâmicos, levando a organofosforados menos tóxicos. Assim, uma abordagem promissora na degradação de organofosforados é a funcionalização covalente de materiais com grupos nucleofílicos e sua aplicação na degradação desses compostos. O objetivo desse trabalho foi obter catalisadores sustentáveis para a degradação de organofosforados a partir da funcionalização covalente da celulose da CA com grupos imidazol e ácido hidroxâmico. Para isso, a CA após tratamento alcalino teve parte das hidroxilas da celulose oxidadas a ácidos carboxílicos pelo método TEMPO/NaBr/NaClO de duas maneiras: (i) um baixo grau de oxidação, gerando a amostra sólida ICACOOH; e (ii) um alto grau de oxidação, gerando a amostra coloidal SCACOOH. As amostras ICACOOH e SCACOOH foram funcionalizadas covalentemente com 1-(3-aminopropil)imidazol, gerando, respectivamente duas amostras com imidazol: ICAIMZ (sólida) e SCAIMZ (coloidal). De forma análoga, a funcionalização covalente das amostras ICACOOH e SCACOOH com cloridrato de hidroxilamina deu origem as amostras com ácidos hidroxâmicos ICAAHD (sólida) e SCAAHD (coloidal). As amostras foram caracterizadas por diversas técnicas, dentre as quais titulação potenciométrica, microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier e ressonância magnética nuclear. O conjunto dessas técnicas comprovou a funcionalização covalente dos materiais, bem como elucidou a composição desses materiais. A atividade catalítica das amostras foi avaliada com os organofosforados 2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP) e o pesticida Paraoxon. Foram observados incrementos catalíticos entre os maiores já reportados, da ordem de  $10^6$ - $10^7$  vezes na reação entre os biocatalisadores com o DEDNPP e da ordem de  $10^4$ - $10^5$  vezes entre os biocatalisadores e o Paraoxon, em relação às respectivas reações espontâneas. Os biocatalisadores foram reciclados por três ciclos de catálise, sem variação significativa da atividade catalítica, provando ser reutilizável. A fim de compreender o mecanismo, os biocatalisadores foram estudados na reação com cloro-2,4-dinitrobenzeno, não mostrando nenhuma atividade. Esses resultados indicam que os imidazóis e ácidos hidroxâmicos desses materiais são seletivos no ataque ao fósforo dos organofosforados. Assim, foram sintetizados a partir do resíduo agrícola CA dois materiais *template* (um colóide e um sólido) e quatro biocatalisadores (dois colóides e dois sólidos), sendo que esses últimos mostraram altos incrementos catalíticos na degradação dos organofosforados, seletivos no mecanismo de ataque e reciclados ao fim da reação. Uma abordagem inovadora é mostrada ao aplicar princípios da química verde na modificação química de um resíduo agrícola e utilizá-lo como catalisador na degradação de pesticidas.

Palavras-chave: Imidazol. Ácido hidroxâmico. Casca de arroz. Catálise. Armas Químicas. Pesticidas.

## ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is an inexpensive material, widely distributed worldwide and renewable. One of the sources of biomass is rice husk (CA): an agricultural residue from one of the world's largest agricultural crops and one that counts abusive use of organophosphate pesticides. Besides pesticides, some chemical weapons are also organophosphorus compounds, whose main characteristics are the high stability and extreme toxicity. These compounds can be cleaved by nucleophilic groups such as imidazoles and hydroxamic acids, leading to less toxic organophosphates. Thus, a promising approach in the degradation of organophosphates is the covalent functionalization of materials with nucleophilic groups and its application in the degradation of these compounds. The objective of this work was to obtain sustainable biocatalysts for the degradation of organophosphates from the covalent functionalization of cellulose in CA with imidazoles and hydroxamic acids. Therefore, CA after alkaline treatment had part of the cellulose hydroxyls oxidized to carboxylic acids by the TEMPO/NaBr/NaClO method in two ways: (i) a low degree of oxidation, giving the solid sample ICACOOH; and (ii) a high degree of oxidation, giving the colloidal sample SCACOOH. The ICACOOH and SCACOOH samples were then covalently functionalized with 1-(3-aminopropyl) imidazole, generating, respectively, the imidazole samples ICAIMZ (solid) and SCAIMZ (colloidal). Similarly, the covalent functionalization of the samples ICACOOH and SCACOOH with hydroxylamine hydrochloride gave the samples with hydroxamic acids ICAAHD (solid) and SCAAHD (colloidal). The samples were characterized by several techniques, such as potentiometric titration, scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance. All these techniques proved the covalent functionalization of the materials with imidazoles or hydroxamic acids, as well as it elucidated the composition of these materials. The catalytic activity of the samples was then evaluated with the organophosphates 2,4-dinitrophenyl phosphate (DEDNPP) and the pesticide Paraoxon. Catalytic increments, among the highest reported, in the order of  $10^6$ - $10^7$ -fold were observed in the reaction between the biocatalysts with DEDNPP and in the order of  $10^4$ - $10^5$ -fold between the biocatalysts and Paraoxon, compared with the respective spontaneous reactions. The biocatalysts were also evaluated in 3 consecutive cycles of catalysis, without a significant variation of the catalytic activity. In order to understand the mechanism, the biocatalysts were studied in the reaction with chloro-2,4-dinitrobenzene, showing no activity. These results indicate that the imidazoles and hydroxamic acids of these materials are selective in the phosphorus attack of organophosphates. Thus, two template materials (one colloid and one solid) and four biocatalysts (two colloids and two solids) were synthesized from the agricultural residue CA, and the latter showed high catalytic increments in the degradation of organophosphates, selective in the attack mechanism and recycled at the end of the reaction. An innovative approach is shown by applying green chemistry principles in the chemical modification of an agricultural residue and using it as a catalyst in the degradation of pesticides.

Keywords: Imidazole. Hydroxamic acid. Rice husk. Chemical weapons. Catalysis. Pesticides.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA REPRESENTATIVA DA A) LIGNINA, B) CELULOSE E C) HEMICELULOSES .....	21
FIGURA 2 – ESTRUTURA HIERÁRQUICA DA CELULOSE EM PAREDES VEGETAIS .....	23
FIGURA 3 – OS DEZ MAIORES PRODUTORES DE ARROZ EM CASCA DE 1997 À 2017, DE ACORDO COM A FAOSTAT <sup>8</sup> .....	24
FIGURA 4 – <b>A</b> CASCA DE ARROZ E SUA ESTRUTURA COMPOSTA POR CÉLULAS VEGETAIS ENVOLTAS EM SÍLICA AMORFA E <b>B</b> IMAGENS DE MEV DO BIOCHAR MANTENDO A ESTRUTURA HIERARQUIZADA.....	25
FIGURA 5 – EXEMPLOS DE REAÇÕES DE FUNCIONALIZAÇÃO COVALENTE NA CELULOSE: (I) CLOROSILAÇÃO; (II) REAÇÃO COM ANIDRIDOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS; (III) REAÇÃO COM HALETOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS; (IV) REAÇÃO COM ÁCIDO SULFÚRICO; (V) REAÇÃO COM EPÓXIDOS; (VI) REAÇÃO COM ISOCIANATOS; (VII) OXIDAÇÃO À ÁCIDOS CARBOXÍLICOS POR TEMPO; (VIII) CARBOXIMETILAÇÃO COM ÁCIDO MONOCLOROACÉTICO .....	28
FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO INTRA E INTERMOLECULARES ENTRE CADEIAS DE CELULOSE ADJACENTES .....	29
FIGURA 7 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO PELO MÉTODO TEMPO/NABR/NACLO EM UMA FIBRILA DE CELULOSE E A ESFOLIAÇÃO DAS CADEIAS SUPERFICIAIS .....	30
FIGURA 8 – ÁCIDOS FOSFÓRICO, FOSFÔNICO E FOSFÍNICO E AS CLASSES DE ORGANOFOSFORADOS DERIVADAS POR SUBSTITUIÇÃO ..	31
FIGURA 9 – EXEMPLOS DE ORGANOFOSFORADOS UTILIZADOS COMO ARMAS QUÍMICAS.....	33
FIGURA 10 – CONSUMO MUNDIAL ABSOLUTO DE PESTICIDAS 2006-2016 .....	37
FIGURA 11 – ORGANOFOSFORADOS DETECTADOS PELO PARA-ANVISA: EM VERMELHO ESTÃO ORGANOFOSFORADOS PROIBIDOS NO BRASIL .....	38

FIGURA 12 – ESTRATÉGIAS DE DETOXIFICAÇÃO DE UM ORGANOFOSFORADO .....	39
FIGURA 13 – MECANISMO GENÉRICO DE ATAQUE NUCLEOFÍLICO EM UM TRIÉSTER DE FOSFATO.....	40
FIGURA 14 – EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE E EQUILÍBRIO TAUTOMÉRICO DO IMIDAZOL .....	41
FIGURA 15 – MECANISMO DE HIDRÓLISE DO ORGANOFOSFORADO PARAOXON PELAS ENZIMAS DA CLASSE FOSFOTRIESTERASE.	42
FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CARBOXIMETILAÇÃO PARCIAL DA CELULOSE NA CASCA DE ARROZ, SEGUIDA DE FUNCIONALIZAÇÃO COM GRUPOS IMIDAZOL <sup>16</sup> .....	43
FIGURA 17 – ÁCIDOS HIDROXÂMICOS E A) TIPOS, B) ISOMERIA Z-E E C) ESTRUTURAS DE RESSONÂNCIA.....	44
FIGURA 18 – CAMINHOS DE IONIZAÇÃO POSSÍVEIS PARA UM ÁCIDO HIDROXÂMICO PRIMÁRIO.....	45
FIGURA 19 – PLOT DE BRÖNSTED PARA REAÇÃO DE DIVERSOS NUCLEÓFILOS COM O ORGANOFOSFORADO DEDNPP .....	46
FIGURA 20 – ESQUEMA DAS REAÇÕES ENTRE OS ORGANOFOSFORADOS DEDNPP E EDNPP COM O BHA <sup>-</sup> .....	47
FIGURA 21 – ESQUEMA DE SÍNTESE DAS AMOSTRAS .....	51
FIGURA 22 – FOTOS DAS AMOSTRAS .....	60
FIGURA 23 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO PELO MÉTODO TEMPO/NABR/NACLO: (i) OXIDAÇÃO DAS HIDROXILAS À ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PELO ÍON OXOAMÔNIO; (ii) FORMAÇÃO DO ÍON OXOAMÔNION PELA OXIDAÇÃO DO TEMPO; (iii) REAÇÃO GLOBAL DE OXIDAÇÃO ....	61
FIGURA 24 – REAÇÃO DE FUNCIONALIZAÇÃO DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS À IMIDAZÓIS OU ÁCIDOS HIDROXÂMICOS PELO MÉTODO EDC/NHS.....	62
FIGURA 25 – FTIR EM MODO ATR DAS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD: <b>A</b> NA REGIÃO DE 4000-600 CM <sup>-1</sup> E <b>B</b> NA REGIÃO DE 1800-600 CM <sup>-1</sup> .....	66
FIGURA 26 – FTIR EM MODO ATR DAS AMOSTRAS COLOIDAIS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD NA FORMA DE FILME: <b>A</b> NA REGIÃO DE 4000-650 CM <sup>-1</sup> E <b>B</b> NA REGIÃO DE 1800-650 CM <sup>-1</sup> .....	67

FIGURA 27 – TGA PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD EM AR SINTÉTICO, FLUXO DE 100 ML MIN <sup>-1</sup> E TAXA DE AQUECIMENTO DE 5 °C MIN <sup>-1</sup> .....	70
FIGURA 28 – DTG PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD EM AR SINTÉTICO, FLUXO DE 100 ML MIN <sup>-1</sup> E TAXA DE AQUECIMENTO DE 5 °C MIN <sup>-1</sup> .....	70
FIGURA 29 – TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS A 25 °C PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD UTILIZANDO KOH 8,93x10 <sup>-3</sup> MOL L <sup>-1</sup> . A LINHA VERMELHA CORRESPONDE AO AJUSTE ITERATIVO PELO PROGRAMA BEST7 <sup>88</sup> .....	73
FIGURA 30 – TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS A 25 °C PARA AS AMOSTRAS COLOIDAIAS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD UTILIZANDO KOH 8,93x10 <sup>-3</sup> MOL L <sup>-1</sup> . A LINHA VERMELHA CORRESPONDE AO AJUSTE ITERATIVO PELO PROGRAMA BEST 7 <sup>88</sup> .....	73
FIGURA 31 – ESQUEMA DOS EQUILÍBRIOS ÁCIDO-BASE DOS GRUPOS PRESENTES NAS AMOSTRAS SCACOOH, ICACOOH, SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD E ICAAHD. ....	74
FIGURA 32 – ESQUEMA DE HIDRÓLISE DA CELOBIOSE PRESENTE NAS AMOSTRAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD .....	76
FIGURA 33 – ESQUEMA DE HIDRÓLISE DOS MONÔMEROS PRESENTES NAS AMOSTRAS MODIFICADAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD.....	77
FIGURA 34 – ESPECTROS DE RMN DE <sup>13</sup> C DAS AMOSTRAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ EM 51% H <sub>2</sub> O, 39% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> E 10% D <sub>2</sub> O. ....	78
FIGURA 35 – ESPECTROS DE RMN DE <sup>13</sup> C DAS AMOSTRAS COLOIDAIAS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD EM 90% H <sub>2</sub> O E 10% D <sub>2</sub> O.....	80
FIGURA 36 – IMAGENS DE MEV DAS AMOSTRAS CA E CANAOH.....	83
FIGURA 37 – IMAGENS DE MEV DAS AMOSTRAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD .....	84
FIGURA 38 – DIFRATOGRAMA DAS AMOSTRAS CA E CANAOH EM SUBSTRATO DE ALUMÍNIO. ....	86
FIGURA 39 – TITULAÇÕES EM POTENCIAL ZETA DAS AMOSTRAS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD. ....	87
FIGURA 40 – PERFIL DE ELUIÇÃO DA AMOSTRA SCACOOH.....	88

FIGURA 41 – PERFIL DE ELUIÇÃO AMOSTRA DA SCAIMZ.....	88
FIGURA 42 – PERFIL DE ELUIÇÃO DA AMOSTRA SCAAHD .....	89
FIGURA 43 – AMOSTRAS SÓLIDAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD APÓS TESTE COM FECL <sub>3</sub> . .....	89
FIGURA 44 – REAÇÃO DE DESFOSFORILAÇÃO DO TRIÉSTER DE FOSFATO DEDNPP EM DIETIL FOSFATO E DNP. ....	91
FIGURA 45 – ICAAHD E SCAAHD NO MEIO REACIONAL COM O SUBSTRATO DEDNPP. ....	91
FIGURA 46 – <b>A</b> ESPECTROS UV-VIS DE 190-800 NM PARA A REAÇÃO ENTRE CAIMZ E DEDNPP EM PH 9,46 E <b>B</b> ABSORBÂNCIA EM 400 NM VERSUS TEMPO PARA A MESMA REAÇÃO .....	92
FIGURA 47 – ATIVIDADE CATALÍTICA DAS AMOSTRAS ( <b>A</b> ) SCAIMZ E ICAIMZ; E ( <b>B</b> ) SCAAHD E ICAAHD, COMPARADAS COM AS AMOSTRAS SCACOOH, ICACOOH E A HIDRÓLISE ESPONTÂNEA <sup>70</sup> E ALCALINA <sup>138</sup> , TODAS A 21 °C. AS LINHAS VERMELHAS CORRESPONDEM AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS PELA EQUAÇÃO (3).....	93
FIGURA 48 – CAMINHOS DE HIDRÓLISE PARA O SUBSTRATO DEDNPP NA REAÇÃO COM AS AMOSTRAS ICAIMZ E SCAIMZ ( <b>A</b> ) E PARA AS AMOSTRAS ICAAHD E SCAAHD ( <b>B</b> ) EM MEIO AQUOSO. ....	95
FIGURA 49 – INCREMENTO CATALÍTICO DOS BIOCATALISADORES DESTE TRABALHO E OUTROS CATALISADORES REPORTADOS NA LITERATURA COM O DEDNPP .....	96
FIGURA 50 – REAÇÃO DE DESFOSFORILAÇÃO DO PESTICIDA PARAOXON EM DIETIL FOSFATO E 4 NITROFENOLATO .....	98
FIGURA 51 – INCREMENTO CATALÍTICO ABSOLUTO DAS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD NA REAÇÃO COM O PESTICIDA PARAOXON A 30°C. ....	99
FIGURA 52 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM PARA AS AMOSTRAS SCAIMZ ( <b>A</b> ) E ICAIMZ ( <b>B</b> ) DURANTE 3 CICLOS DE CATÁLISE COM O SUBSTRATO DEDNPP À 21°C. ...	100
FIGURA 53 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM PARA AS AMOSTRAS SCAAHD ( <b>A</b> ) E ICAAHD ( <b>B</b> ) DURANTE 3 CICLOS DE CATÁLISE COM O SUBSTRATO DEDNPP À 21°C. ...	101

FIGURA 54 – ATAQUES NUCLEOFÍLICOS POSSÍVEIS À MOLÉCULA DE DEDNPP POR UM NUCLEÓFILO NU.....	102
FIGURA 55 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO A MOLÉCULA CDNB POR UM NUCLEÓFILO NU.....	103
FIGURA 56 – <b>A</b> ESPECTROS UV-VIS DE 190-800 NM PARA A REAÇÃO ENTRE ICAAHD E CDNB EM PH 10 E <b>B</b> ABSORBÂNCIA EM 400 NM VERSUS TEMPO PARA A MESMA REAÇÃO .....	103
FIGURA 57 – MECANISMO DE ATAQUE PROPOSTO PARA A REAÇÃO ENTRE O SUBSTRATO DEDNPP E OS BIOCATALISADORES SINTETIZADOS NESTE TRABALHO.....	105

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA, HEMICELULOSES E CELULOSE NA PAREDE CELULAR DAS PLANTAS .....	22
TABELA 2 – FATOS HISTÓRICOS SOBRE ORGANOFOSFORADOS COMO ARMAS QUÍMICAS.....	35
TABELA 3 – EVENTOS DE PERDA DE MASSA PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD .....	71
TABELA 4 – CONSTANTES DE EQUILÍBRIO PARA OS GRUPOS PRESENTES NAS AMOSTRAS EM QUE NU É O GRUPO NUCLEOFÍLICO PRESENTE (IMIDAZOL OU ÁCIDO HIDROXÂMICO) .....	74
TABELA 5 – $\delta^{13}\text{C}$ (PPM) EM RELAÇÃO AO PADRÃO TMSP (0 PPM) PARA AS AMOSTRAS INSOLÚVEIS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ TRATADAS COM $\text{H}_2\text{SO}_4$ . .....	79
TABELA 6 – $\delta^{13}\text{C}$ (PPM) EM RELAÇÃO AO PADRÃO TMSP (0 PPM) PARA AS AMOSTRAS COLOIDAIAS SCACOOH, SCAAHD E SCAIMZ.....	81
TABELA 7 – CONSTANTES CINÉTICAS E $\text{PK}_A$ 'S OBTIDOS DO AJUSTE DOS PERFIS DE PH DAS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD NA REAÇÃO COM DEDNPP A 21°C E O INCREMENTO CATALÍTICO EM RELAÇÃO A REAÇÃO NÃO CATALISADA .....	96
TABELA 8 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM E INCREMENTOS CATALÍTICOS PARA A REAÇÃO ENTRE AS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD E O PESTICIDA PARAOXON A 21°C. ....	98
TABELA 9 – CONSTANTES CINÉTICAS OBSERVADAS PARA A REAÇÃO COM O SUBSTRATO CDNB EM PH 10 A 21°C. ....	104

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	- 1-(3-Aminopropil)imidazol
ATR	- Attenuated Total Reflectance, em português Refletância Total Atenuada
BDNPP	- Bis-2,4-dinitrofenil fosfato
BHA <sup>-</sup>	- Ânion de benzohidroxamato
CA	- Casca de arroz
CANaOH	- CA após tratamento alcalino com NaOH
CCAIMZ	- Casca de arroz parcialmente carboximetilada e posteriormente funcionalizada com imidazol
CDNB	- Cloro-2,4-dinitrobenzeno
CTABr	- Brometo de cetiltrimetil amônio
$\bar{D}$	- Grau de polidispersão
DEDNPP	- Dietil 2,4-nitrofenil fosfato
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DNP	- 2,4-dinitrofenolato
DP	- Grau de polimerização, do inglês <i>Degree of polymerization</i>
DRX	- Difração de raios-x
DS	- Grau de substituição, do inglês <i>Degree of substitution</i>
DTA	- Derivada da análise termogravimétrica
DTG	- Derivada da curva termogravimétrica
EDC	- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
EDNPP	- Diéster etil 2,4-dinitrofenil fosfato
FAO/STAT	- Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FTIR	- Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
GPC/SEC	- Cromatografia por permeação em gel/Cromatografia por exclusão de tamanho
ICAAHD	- Sólido derivado da ICACOOH pela funcionalização parcial com ácidos hidroxâmicos
ICACOOH	- Sólido derivado da CANaOH após baixa oxidação de hidroxilas a ácidos carboxílicos

ICAIMZ	- Sólido derivado da ICACOOH pela funcionalização parcial com imidazol
$k_0$	- Constante de hidrólise espontânea em água
$k_{cat}$	- Constante de velocidade da reação catalisada pelos diversos grupos presentes
$k_{n\grave{a}o}$	- Constante de velocidade da reação não-catalisada
$k_{Nu}$	- Constante de velocidade da reação catalisada por nucleófilo ancorado
$k_{O^-}$	- Constante de velocidade da reação catalisada por hidroxilas da lignina desprotonadas
$k_{obs}$	- Constante de velocidade de pseudo-primeira ordem observada
$k_{OH}$	- Constante de velocidade de hidrólise alcalina
LS	- Light scattered, do inglês, luz espalhada
MEV	- Microscopia eletrônica de varredura
$M_n$	- Massa molar numérica média
$M_w$	- Massa molar ponderal média
NHS	- N-hidróxi-succinimida
Nu	- Nucleófilo
OPCW	- Organização para a Proibição de Armas Químicas, do inglês <i>Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons</i>
PARA	- Programa de Análise de Resíduos Agrícolas
$pK_a$	- Cologaritmo da constante de ionização
RMN	- Ressonância Magnética Nuclear
RNA	- Ácido ribonucléico
SCAAHD	- Coloide derivado da SCACOOH pela funcionalização parcial com ácidos hidroxâmicos
SCACOOH	- Coloide derivado da CANaOH pela alta oxidação de hidroxilas a ácidos carboxílicos
SCAIMZ	- Coloide derivado da SCACOOH pela funcionalização parcial com imidazol
$t_{1/2}$	- Tempo de meia vida da reação
TEMPO	- 2,2,6,6-Tetrametil-1-Piperidiniloxil
TG	- Termogravimetria
TGA	- Curva termogravimétrica
TMSP	- Ácido 2,2,3,3-d4-3-trimetilsilil-propiónico

UV-Vis - Espectroscopia na região do ultravioleta e visível

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>20</b>
1.1 CASCA DE ARROZ: UMA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA ABUNDANTE E VERSÁTIL .....	21
1.2 FUNCIONALIZAÇÃO COVALENTE DE MATERIAIS: DESIGN DE CATALISADORES .....	26
1.2.1 Funcionalização covalente da celulose .....	27
1.3 ORGANOFOSFORADOS: REATIVIDADE E TOXICIDADE .....	31
1.3.1 Armas Químicas .....	32
1.3.2 Pesticidas .....	35
1.4 DESTRUIÇÃO DE ORGANOFOSFORADOS: REAÇÕES NUCLEOFÍLICAS ...	39
1.4.1 Imidazol .....	41
1.4.2 Ácidos Hidroxâmicos .....	44
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>48</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>49</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	49
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	49
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>50</b>
4.1 REAGENTES .....	50
4.2 SÍNTESE DAS AMOSTRAS .....	50
4.2.1 Tratamento em meio básico da CA .....	51
4.2.2 Oxidação da CA com TEMPO/NaBr/NaClO .....	52
4.2.3 Funcionalização com grupos imidazol .....	53
4.2.4 Funcionalização com grupos ácido hidroxâmico .....	54
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	54
4.4 ESTUDO CINÉTICO .....	57
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>59</b>
5.1 SÍNTESE .....	60
5.2 CARACTERIZAÇÃO .....	64
5.2.1 FTIR .....	64
5.2.2 Termogravimetria .....	68
5.2.3 Titulações Potenciométricas .....	71
5.2.4 <sup>13</sup> C RMN .....	75

5.2.5 MEV.....	82
5.2.6 Caracterizações Complementares .....	85
5.2.7 Conclusões parciais da Caracterização .....	90
5.3 ESTUDO CINÉTICO COM ORGANOFOSFORADOS .....	91
5.3.1 Atividade Catalítica com organofosforados .....	91
5.3.2 Reciclagem dos catalisadores .....	99
5.3.3 Elucidação do mecanismo.....	101
5.3.4 Conclusões parciais do estudo cinético.....	105
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>107</b>
6.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	108
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>109</b>
<b>APÊNDICE – FIGURAS E IMAGENS COMPLEMENTARES .....</b>	<b>122</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Anualmente são produzidas milhões de toneladas de biomassa lignocelulósica, seja pelas atividades humanas como agricultura quanto naturalmente nos diversos habitats. Apesar dessa produção colossal de biomassa ser renovável e distribuída de forma razoavelmente uniforme pelo planeta, sua principal forma de utilização ainda é a queima para geração de energia. Fins mais nobres para a biomassa ainda são poucos, apesar de suas características singulares como biodegradabilidade, biocompatibilidade, entre outras, além da disponibilidade de diferentes grupos funcionais passíveis de funcionalização covalente.

De fato, a funcionalização covalente da biomassa permite a incorporação de novos grupos funcionais que irão dar origem a novas propriedades e aplicações preservando, no entanto, as características físico-químicas da biomassa. Dessa forma, um resíduo agrícola, por exemplo, por meio de sua funcionalização covalente pode ter valor agregado incorporado, com aplicações em diversas áreas.

Ainda no contexto da agricultura, o uso extensivo de pesticidas, dos quais a classe dos organofosforados é a mais utilizada, já se apresenta como um dos maiores problemas do século XXI. Os organofosforados são altamente tóxicos e estáveis, de tal forma que seu uso não se limitou somente aos pesticidas, tendo sido utilizados desde o século passado também como armas químicas. Essa alta toxicidade e estabilidade dificultam degradar os organofosforados a compostos menos tóxicos.

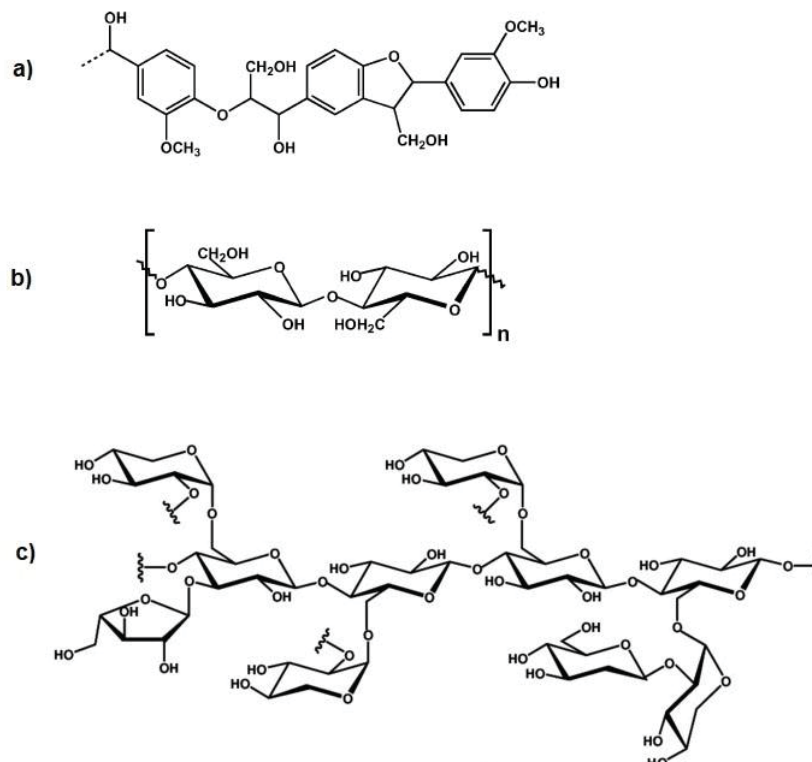
Assim, a catálise dessas reações, de forma a torná-las mais rápidas e eficientes é crucial. Dentre os grupos com grande potencial para promover essas reações destacam-se os nucleófilos como os imidazóis e ácidos hidroxâmicos. Esses grupos nucleofílicos apresentam alta atividade catalítica em reações envolvendo organofosforados, tornando-os promissores na funcionalização covalentemente de materiais. Assim, é possível aliar a alta atividade catalítica dos grupos nucleofílicos ancorado-os em um material *template* barato e renovável (como a biomassa), criando um catalisador eficiente e sustentável.

Essa é a proposta desse trabalho ao agregar esses conceitos e obter um catalisador a partir de uma fonte de biomassa e utilizar na degradação de organofosforados, uma abordagem inovadora e ainda pouco explorada.

## 1.1 CASCA DE ARROZ: UMA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA ABUNDANTE E VERSÁTIL

Biomassa lignocelulósica é definida como os materiais orgânicos derivados das estruturas vegetais. É composta majoritariamente por celulose, hemiceluloses e lignina (FIGURA 1) em uma razão aproximada de 2:1:1, respectivamente. A produção anual de biomassa lignocelulósica que provem da agricultura e dos ecossistemas naturais é da ordem de  $10^{11}$ - $10^{12}$  toneladas<sup>1</sup>, uma produção colossal e renovável. A FIGURA 1 mostra a estrutura representativa dos três componentes principais da biomassa lignocelulósica: celulose, hemiceluloses e lignina, que juntos são responsáveis por cerca de 80% da massa total da biomassa e estão interligados de forma covalente (hemiceluloses e lignina) e não covalente (celulose com lignina e hemiceluloses). A massa restante da biomassa lignocelulósica é composta por cerca de 2-8% proteínas, 1-2% lipídios, cerca de 5% inorgânicos e uma porcentagem de água e demais compostos orgânicos variáveis<sup>1</sup>.

FIGURA 1 – ESTRUTURA QUÍMICA REPRESENTATIVA DA A) LIGNINA, B) CELULOSE E C) HEMICELULOSES



FONTE: Adaptado de Dumitriu (2004)<sup>2</sup>.

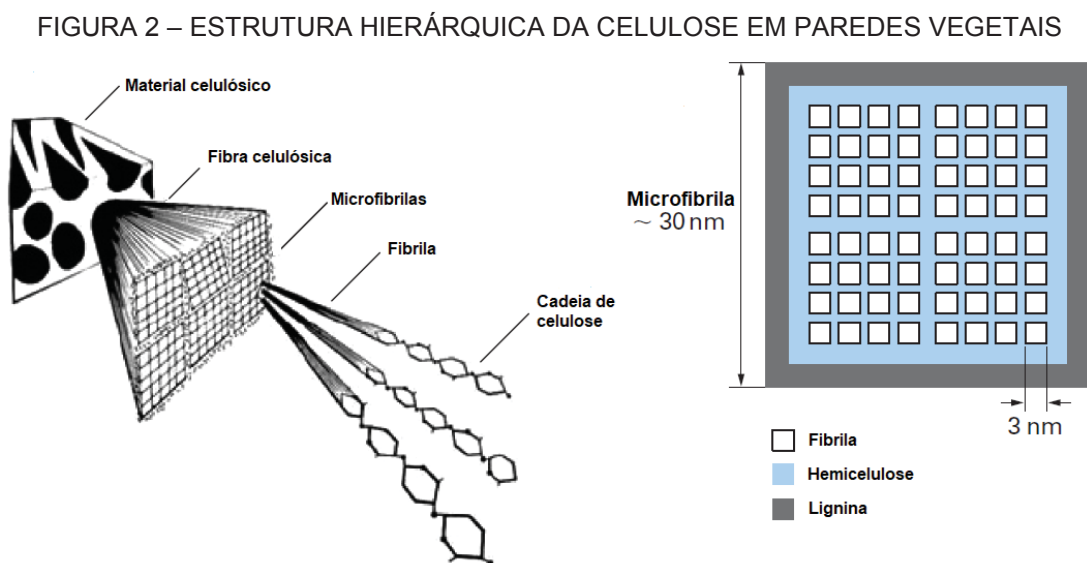
A TABELA 1 apresenta algumas das diferenças na composição química e características da celulose, hemiceluloses e lignina na parede celular das plantas<sup>1</sup>. É possível observar que dos três componentes, a celulose é o que apresenta a estrutura mais “regular”. As hemiceluloses e a lignina não apresentam estrutura regular bem definida e variam bastante dependendo da fonte de biomassa. Já a celulose apresenta uma estrutura regular: homopolímero linear que forma regiões cristalinas e amorfas. Apesar do grau de polimerização (DP) que é o número de unidades polimerizadas na cadeia celulósica variar dependendo da fonte de biomassa, suas propriedades químicas não variam significativamente<sup>3</sup>.

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA LIGNINA, HEMICELULOSES E CELULOSE NA PAREDE CELULAR DAS PLANTAS

	<b>Lignina</b>	<b>Hemiceluloses</b>	<b>Celulose</b>
<b>Subunidades</b>	Guaiacila (G), p-hidroxifenila (H) e siringial (S)	D-xilose, manose, L-arabinose, galactose, ácido glucurônico	D-glucopirranose
<b>Ligações entre as subunidades</b>	Diversas tipos de ligações éter e carbono-carbono, principalmente ligações éter $\beta$ -O-4	Ligações $\beta$ -1,4-glicosídicas na cadeia principal; $\beta$ -1,2- $\beta$ -1,3- e $\beta$ -1,6-glicosídicas nas cadeias laterais	Ligações $\beta$ -1,4-glicosídicas
<b>Polimerização</b>	4000	Menos que 200	Algumas centenas à dezenas de milhares
<b>Polímero</b>	Lignina G, lignina GS e lignina GSH	Galactoglucomanana (Gal-Glc-Man), Glucomanana (Glc-Man), entre outras	$\beta$ -glucana
<b>Composição</b>	Polímero tridimensional não homogêneo, amorfo e não linear	Polímero tridimensional não homogêneo, com uma pequena região cristalina.	Polímero tridimensional linear, com regiões cristalinas e amorfas
<b>Ligações entre os 3 componentes</b>	Ligações químicas covalentes com hemiceluloses	Ligações químicas covalentes com lignina	Sem ligações químicas covalentes

FONTE: Adaptado de Chen (2014)<sup>1</sup>.

A celulose, hemicelulose e lignina formam então uma matriz complexa como mostrado na FIGURA 2. As cadeias de celulose se agrupam em fibrilas com espessuras normalmente de 1,5-3,5 nm, podendo chegar a algumas dezenas de nanômetros. Essas fibrilas apresentam regiões amorfas e cristalinas e estão envoltas em uma matriz de hemiceluloses e lignina, que forma então as microfibrilas. As microfibrilas apresentam espessuras da ordem de 10-30 nm e seu agrupamento forma as fibras com espessuras da ordem de até alguns micrômetros. As fibras então compõem as paredes celulares das células e estarão envoltas por uma variedade de diferentes matrizes. O comprimento das fibrilas, microfibrilas e fibras vai variar de acordo com a fonte e o DP, porém é em cada estrutura descrita acima algumas ordens de grandeza superior a espessura. Como um exemplo, uma cadeia de celulose de DP=2000 tem o comprimento da ordem de  $1 \mu\text{m}^4$ .



FONTE: Adaptado de Dufresne (2017)<sup>4</sup>.

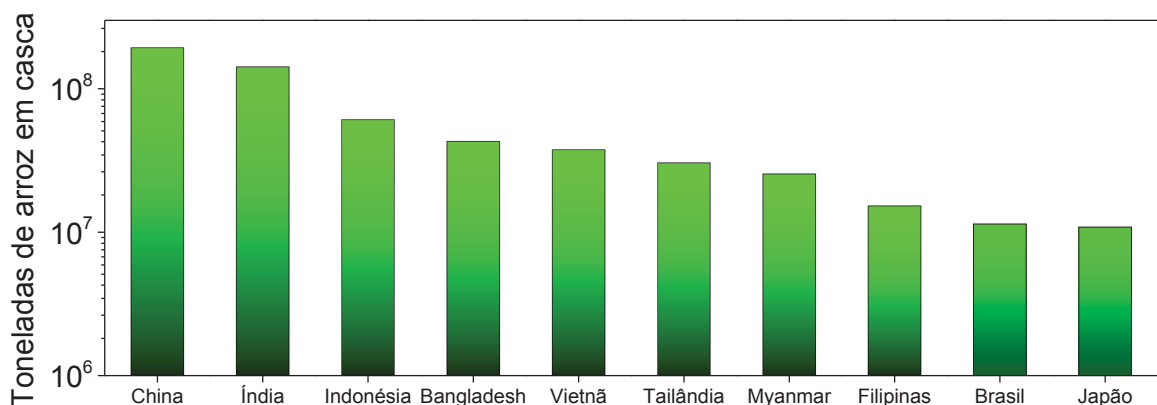
A estrutura apresentada na FIGURA 2 é similar nos mais diversos tipos de tecidos vegetais e diferentes fontes de biomassa. Um exemplo de biomassa lignocelulósica com as propriedades descritas acima é a casca de arroz (CA). Ela é composta por uma fração orgânica (78-85%) e uma fração inorgânica (15-22%)<sup>5</sup>. A fração orgânica é composta majoritariamente por celulose (43,8%) hemiceluloses (33,0%) e lignina (22,0%), responsáveis pela rigidez e firmeza da CA, características necessárias para proteger o germe do grão de arroz<sup>5</sup>. Já a fração inorgânica obtida da queima da CA é uma cinza com alto teor de  $\text{SiO}_2$  (94,38%),  $\text{K}_2\text{O}$  (2,29%) e  $\text{CaO}$

(0,97%) com traços de  $P_2O_5$ ,  $Al_2O_3$ ,  $MgO$ ,  $Fe_2O_3$ ,  $Na_2O$  e  $TiO_2$ <sup>6</sup>. Essas frações orgânica e inorgânica formam um compósito: em que a  $SiO_2$  presente na forma de sílica amorfa hidratada envolve as células vegetais que são compostas majoritariamente por celulose/hemiceluloses/lignina.

Algo impressionante é o volume gerado desse resíduo agrícola, uma vez que cerca de 22% da massa do grão de arroz corresponde a CA<sup>7</sup>, o que equivale a um valor estimado de mais de 166 milhões de toneladas de CA produzidas no mundo somente em 2017, de acordo com dados da Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT)<sup>8</sup>. Essa quantidade imensa de resíduo agrícola é basicamente utilizada como adubo, armazenada próxima a centros de beneficiamento ou queimada como biomassa. Entretanto, isso gera gases da combustão que poluem a atmosfera e cinzas que podem poluir corpos hídricos caso não tenham um destino adequado.

Nesse contexto, o Brasil figura entre os 10 maiores produtores de arroz no mundo (FIGURA 3), com uma produção aproximada de 11 milhões de toneladas de arroz em casca no período 1997-2017<sup>8</sup>. Isso corresponde a aproximadamente 2,5 milhões de toneladas de CA no mesmo período. Após a colheita, o arroz é armazenado com casca em cooperativas, sendo beneficiado conforme a demanda, gerando um volume de CA aproximadamente constante ao longo do ano. Infelizmente, a destinação da CA no Brasil não é diferente da adotada no resto do mundo, sendo um dos empecilhos o grande volume ocupado, devido à baixa densidade desse material, o que dificulta seu transporte.

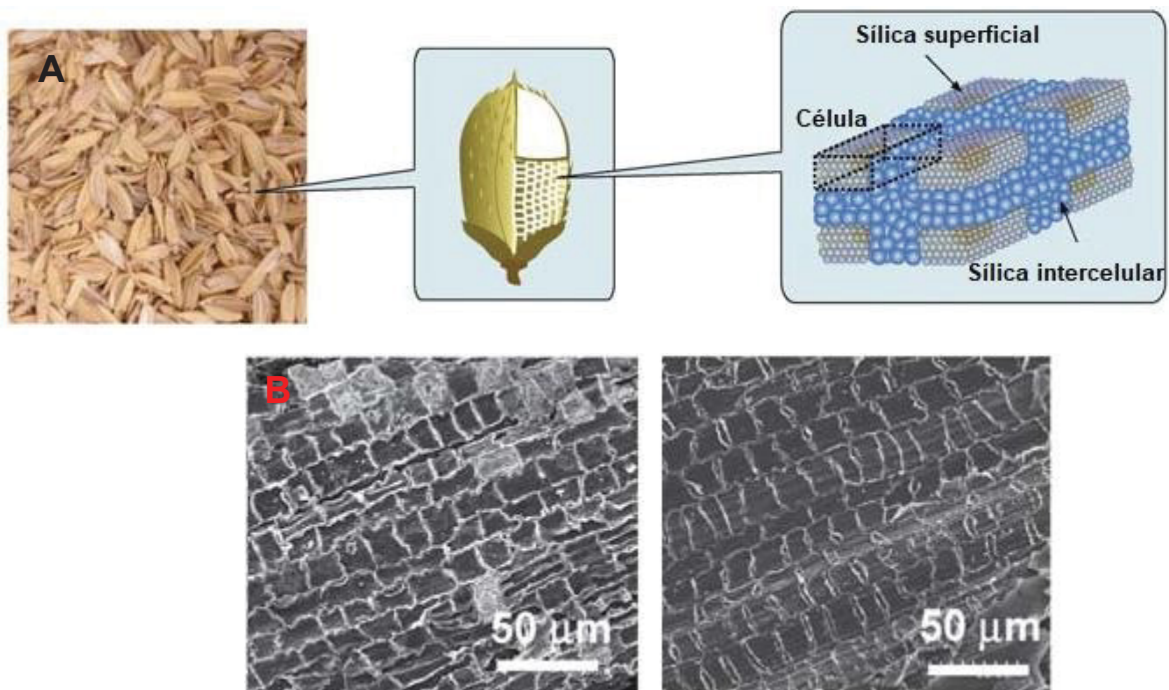
FIGURA 3 – OS DEZ MAIORES PRODUTORES DE ARROZ EM CASCA DE 1997 À 2017, DE ACORDO COM A FAOSTAT<sup>8</sup>



FONTE: Adaptado de FAOSTAT (2018)<sup>8</sup>.

Diversos estudos vem propondo aplicações mais nobres para a CA. Um exemplo é o de Tabata e colaboradores<sup>9</sup> (FIGURA 4) que após a remoção da sílica da CA produziu um *biochar* mantendo a estrutura hierarquizada das fibras celulósicas e obtendo uma alta área superficial ( $1340 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ ). Esse *biochar* apresentou biocompatibilidade em testes com roedores, tendo assim potencial de aplicação na liberação controlada de fármacos.

FIGURA 4 – **A** CASCA DE ARROZ E SUA ESTRUTURA COMPOSTA POR CÉLULAS VEGETAIS ENVOLTAS EM SÍLICA AMORFA E **B** IMAGENS DE MEV DO BIOCHAR MANTENDO A ESTRUTURA HIERARQUIZADA



FONTE: Adaptado de Tabata et. al. (2010)<sup>9</sup>.

Em outro estudo de Ajmal e colaboradores<sup>10</sup>, a CA após tratamento alcalino com NaOH em autoclave foi utilizada como adsorvente do corante verde malaquita. Essa CA modificada se mostrou um excelente adsorvente, com resultados similares aos de carvões ativos. Esses estudos mostram o potencial de aplicação da CA em materiais que exploram tanto sua estrutura hierarquizada quanto suas propriedades físico-químicas. Uma forma de aumentar ainda mais a gama de aplicações da CA é por meio de sua funcionalização covalente.

## 1.2 FUNCIONALIZAÇÃO COVALENTE DE MATERIAIS: DESIGN DE CATALISADORES

A funcionalização covalente nada mais é que a incorporação de moléculas em um material *template* por meio de uma ligação covalente. Difere assim da funcionalização não covalente, em que a interação entre essas moléculas e o material *template* se dá por diferentes forças como de Van der Waals, ligações de hidrogênio, atração eletrostática, etc. A funcionalização covalente traz assim uma série de vantagens quando comparada a não covalente, como por exemplo a maior estabilidade do material funcionalizado em meio aquoso, não ocorrendo assim a lixiviação das moléculas ancoradas.

Dessa forma, a funcionalização covalente incorpora novas propriedades pelo ancoramento de moléculas a um material *template*, sendo essas propriedades moduláveis pelo controle do grau de funcionalização. Por exemplo, nanocelulose (polar) funcionalizada com grupos silanos (apolares) tornam o material funcionalizado dispersível em solventes polares ou compatível com polímeros apolares<sup>11</sup>. Como essa nanocelulose tem a funcionalização somente superficial, suas propriedades mecânicas permanecem similares às da nanocelulose não modificada. Uma série de propriedades podem ser incorporadas a materiais pela funcionalização covalente como condutividade elétrica<sup>12</sup>, magnetismo<sup>13</sup>, entre outras.

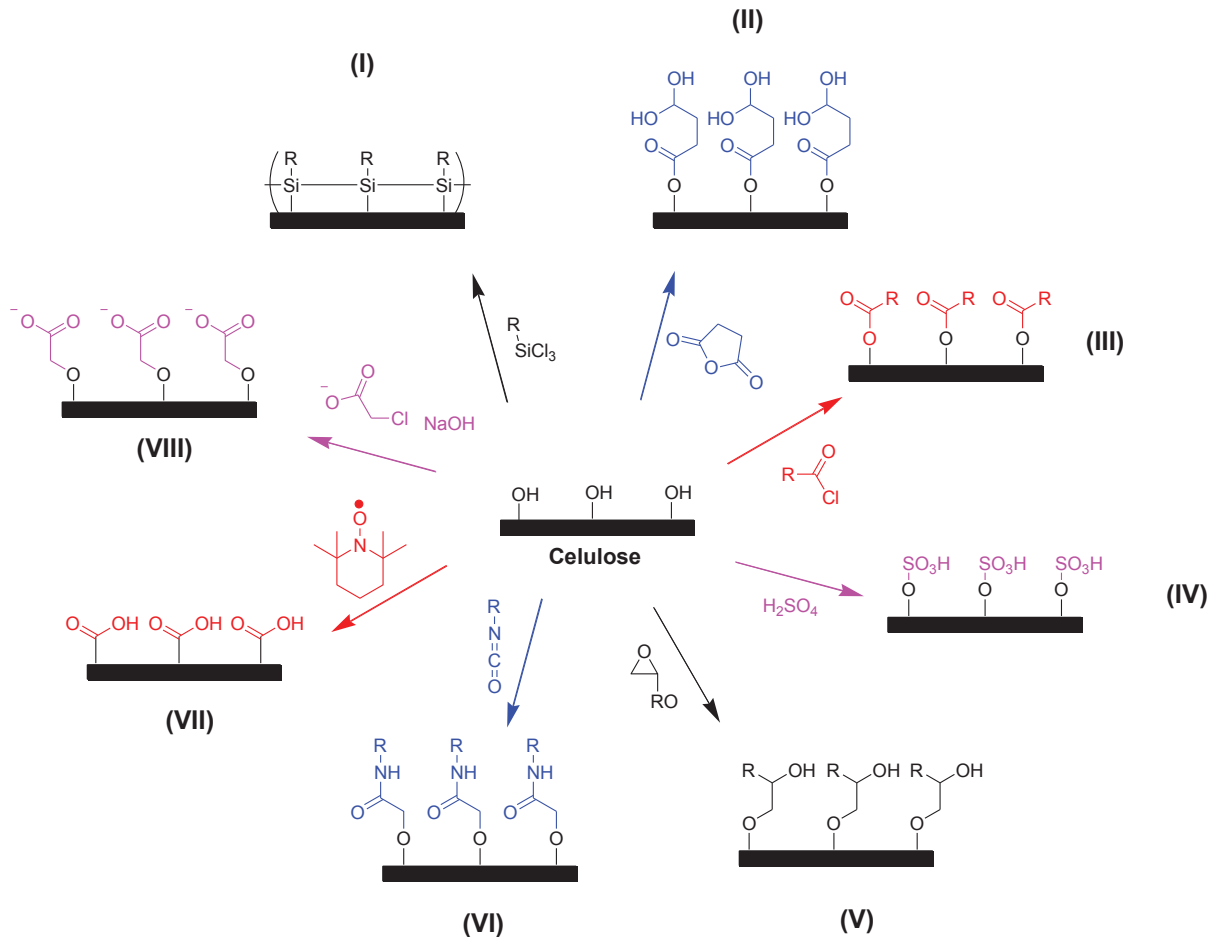
Uma das áreas que a funcionalização covalente tem grande potencial é na catálise. É possível escolher o grupo funcional que vai ser ancorado por suas propriedades catalíticas (nucleofílico, eletrofílico, etc.) e incorporá-lo em um material com grande área superficial, inerte ao meio reacional e de fácil separação. Por exemplo, nanocelulose funcionalizada com sal de imidazol<sup>14</sup> pode atuar tanto como um nucleófilo quando sem seu contra-íon, quanto na forma com o contra-íon este pode atuar como eletrófilo. Assim, aproveita-se a gigantesca área superficial da nanocelulose ancorando em sua superfície o imidazol (e seus contra-íons) que possuem alta atividade catalítica. Importante salientar que a interação entre o grupo funcionalizado e o material *template* pode tornar o material funcionalizado um catalisador mais eficiente que a grupo funcional quando presente em uma molécula<sup>15-19</sup>. Isso se deve, por exemplo, a efeitos sinérgicos entre o material funcionalizado e substrato alvo da catálise. Esses comportamentos motivam o estudo de materiais funcionalizados covalentemente na catálise e em outras áreas.

### 1.2.1 Funcionalização covalente da celulose

Existem três abordagens na funcionalização covalente da celulose: (i) formação de ligações cruzadas (*crosslinking*) entre cadeias de celulose, formando uma rede tridimensional; (ii) ancoramento de moléculas/macromoléculas pela reação com as hidroxilas da celulose, gerando ramificações (*grafting*) na cadeia linear da celulose; (iii) síntese da cadeia de celulose modificada a partir de monômeros de D-glucose e moléculas/monômeros desejados na modificação (uma bordagem *bottom-up*) formando um copolímero ramificado ou linear. Essa última abordagem ainda é pouco explorada, sendo poucos os relatos na literatura<sup>20-22</sup>, devido principalmente às dificuldades técnicas tanto na síntese quanto no controle da intercalação entre monômeros de D-glucose e os demais componentes.

Com relação às reações de formação de ligações cruzadas (*crosslinking*) e ancoramento de grupos (*grafting*) na celulose, ambas se baseiam no fato da celulose possuir três álcoois (um primário e dois secundários) passíveis de funcionalização covalente. A diferença é que no *crosslinking* é utilizado um reagente que possui dois grupos funcionais que vão reagir com duas cadeias de celulose adjacentes, interligando-as; enquanto no *grafting* o reagente se liga a cadeia de celulose e forma uma ramificação. Ao se pensar na grande versatilidade dos álcoois nas reações orgânicas, um amplo leque de reações é possível para o *crosslinking* e *grafting* da celulose. Alguns exemplos de reações utilizadas em ambos os métodos são apresentadas na FIGURA 5: (I) clorosilação, produzindo uma camada sililada polimerizada na superfície da celulose<sup>23</sup>; (II) reação com anidridos de ácidos carboxílicos, que forma uma ligação éster com a celulose e ancora uma cadeia com álcoois primários (com a possibilidade de outros grupos dependendo do anidrido utilizado)<sup>24,25</sup>; (III) reação com haleto de ácido carboxílico, criando uma ligação éster com a celulose e ancorando um grupo R<sup>26-28</sup>; (IV) sulfonação com ácido sulfúrico, formando ésteres de sulfato<sup>28</sup>; (V) reação com um epóxido, gerando uma ligação éter com a celulose e ancorando um grupo R<sup>23</sup>; (VI) reação com um isocianato, criando uma ligação uretano com a celulose e ancorando um grupo R<sup>29,30</sup>; (VII) oxidação das hidroxilas (primárias sob condições e cocatalisadores específicos) à ácidos carboxílicos<sup>31</sup>; (VIII) carboximetilação utilizando ácido monocloroacético, formando uma ligação éter com a celulose e ancorando um ácido carboxílico<sup>16,32,33</sup>.

FIGURA 5 – EXEMPLOS DE REAÇÕES DE FUNCIONALIZAÇÃO COVALENTE NA CELULOSE: (I) CLOROSILAÇÃO; (II) REAÇÃO COM ANIDRIDOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS; (III) REAÇÃO COM HALETOS DE ÁCIDOS CARBOXÍLICOS; (IV) REAÇÃO COM ÁCIDO SULFÚRICO; (V) REAÇÃO COM EPÓXIDOS; (VI) REAÇÃO COM ISOCIANATOS; (VII) OXIDAÇÃO À ÁCIDOS CARBOXÍLICOS POR TEMPO; (VIII) CARBOXIMETILAÇÃO COM ÁCIDO MONOCLOROACÉTICO



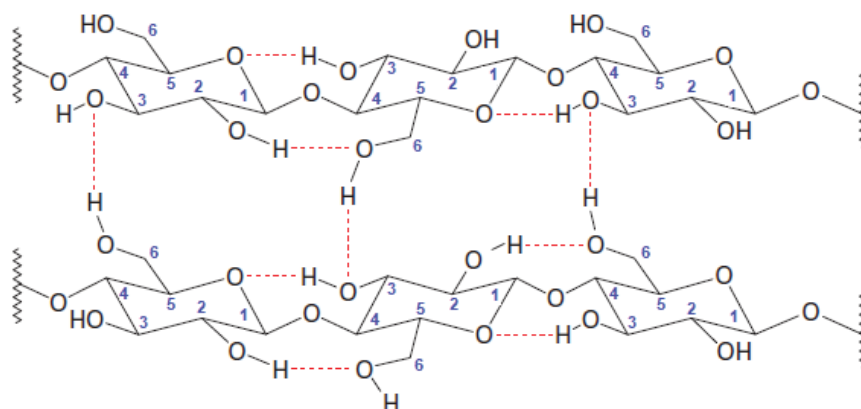
FONTE: Adaptado de Moon et. al. (2011)<sup>34</sup>.

Tanto no crosslinking quanto no grafting, o grau de substituição (do inglês *Degree of substitution* DS) é uma medida do grau de modificação química da cadeia da celulose. É definido como a razão entre o número médio de hidroxilas modificadas e o número de hidroxilas disponíveis por unidade monomérica da cadeia de celulose. Assim, esse valor pode variar desde 0 (celulose pura), até 3 (celulose completamente funcionalizada). A formação de ligações cruzadas é muito utilizada na indústria têxtil, em que o *crosslinking* entre as cadeias celulósicas das fibras as torna menos suscetíveis ao encolhimento pós-lavagem. Isso se deve a um aumento da resistência mecânica e rigidez, porém ocorre uma diminuição da elasticidade. Nas fibras têxteis, as ligações inter cruzadas são feitas em um baixo grau, porém um alto grau de ligações inter cruzadas pode formar uma rede

tridimensional rígida que pode ser utilizada na síntese de um hidrogel<sup>35</sup> ou aerogel<sup>36</sup>. Já um exemplo consagrado de *grafting* é a carboximetilcelulose, (reação VIII da FIGURA 5) produzida a partir da celulose e o ácido monocloroacético em meio básico. Devido aos carboxilatos ancorados, a carboximetilcelulose se dispersa em água e suas dispersões apresentam alta viscosidade em baixas concentrações de carboximetilcelulose. Além disso, a carboximetilcelulose é relativamente inerte em uma ampla faixa de temperatura e biocompatível, sendo muito utilizada na indústria de alimentos, farmacologia e fluidos industriais<sup>2</sup>.

Infelizmente, dentre as limitações à funcionalização da celulose está o fato desta ser insolúvel na maioria dos solventes e oferecer resistência ao intumescimento e a difusão de moléculas quando na fase cristalina<sup>4</sup>. Isso se deve a formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares entre cadeias celulósicas adjacentes como apresentado na FIGURA 6.

FIGURA 6 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS LIGAÇÕES DE HIDROGÊNIO INTRA E INTERMOLECULARES ENTRE CADEIAS DE CELULOSE ADJACENTES

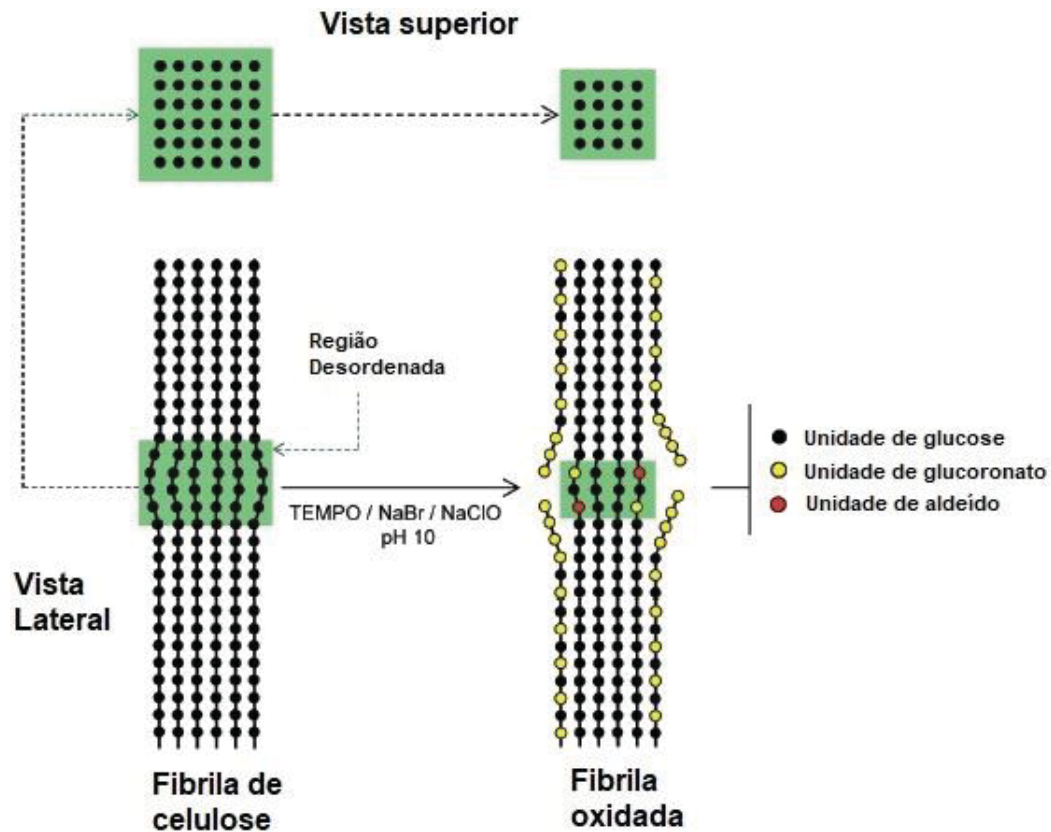


FONTE: Adaptado de Dufresne (2017)<sup>4</sup>.

O fato da celulose ser um sólido limita as reações às cadeias expostas superficialmente e as regiões de celulose amorfa, permanecendo a celulose cristalina das regiões internas não disponíveis para reagir. Caso a intenção seja somente a funcionalização superficial, mantendo a estrutura interna da celulose intacta, a funcionalização química superficial não é um problema. Esse é o caso, por exemplo, de um DS baixo e superficial em microfibrilas de celulose com grupos hidrofóbicos ancorados, cujo objetivo é tornar as microfibrilas dispersíveis em solventes apolares (ou insolúveis em polares), mas mantendo propriedades

interessantes da celulose, como sua resistência mecânica<sup>23</sup>. Entretanto, em alguns casos a funcionalização completa (ou o mais próximo disso) é desejada, como é o caso da carboximetilação ou oxidação por TEMPO. Nesses casos ocorre esfoliação das cadeias modificadas superficiais com o avanço da reação de funcionalização (devido à repulsão dos grupos  $\text{COO}^-$ ), expondo celulose não modificada e passível de modificação<sup>37</sup> (FIGURA 7). Isso faz com que o DS seja maior que em reações em que não ocorre uma esfoliação das cadeias modificadas. De fato, essas características motivaram diversos estudos envolvendo a funcionalização covalente da celulose e a oxidação por TEMPO<sup>38-42</sup> para as mais diversas aplicações.

FIGURA 7 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO PELO MÉTODO TEMPO/NABR/NACLO EM UMA FIBRILA DE CELULOSE E A ESFOLIAÇÃO DAS CADEIAS SUPERFICIAIS



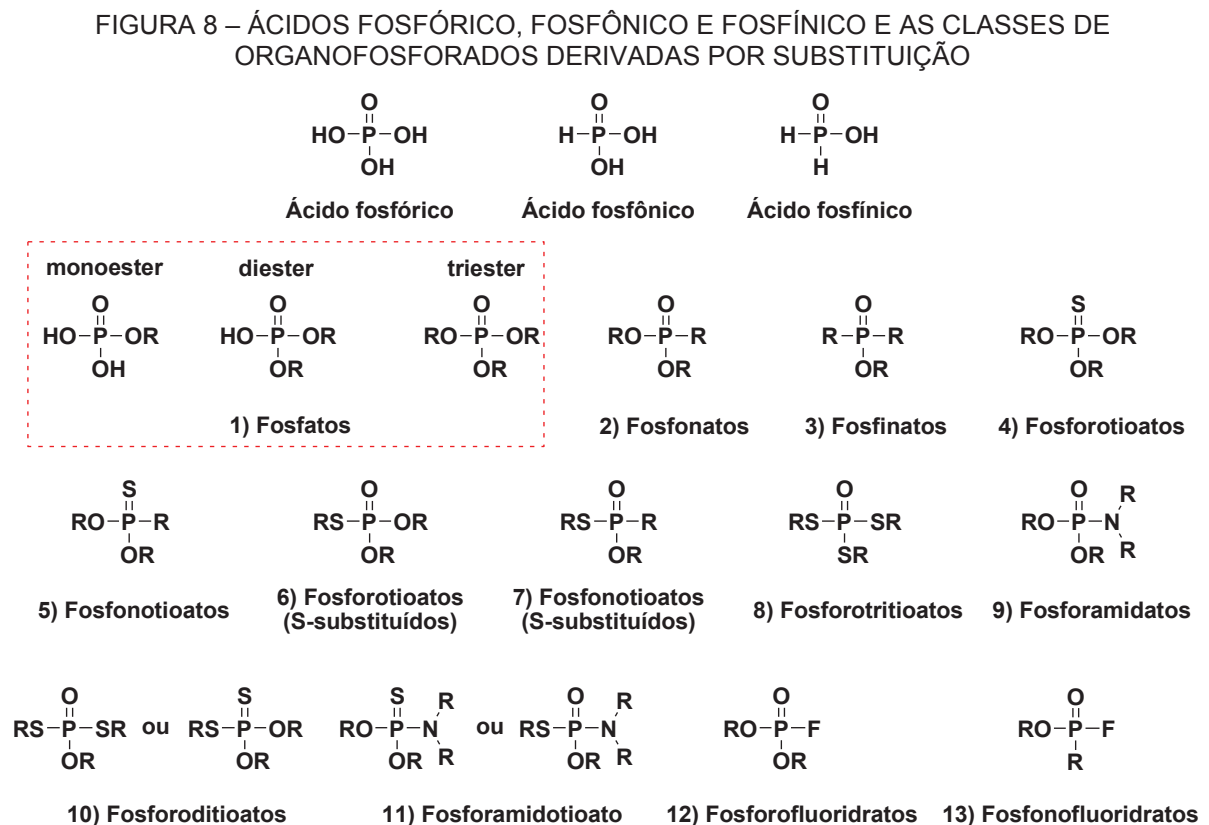
FONTE: Adaptado de Shinoda et. al. (2012)<sup>37</sup>.

Outra questão importante nas reações de funcionalização da celulose é a dispersabilidade do derivado em solventes. Apesar da dispersabilidade dos diferentes tipos de materiais derivados da celulose (nanowhiskers, celulose microfibrilada, cadeias poliméricas livres, etc...) variar para um mesmo DS, de uma

forma geral um DS superior a 0,029 com grupos COOH é suficiente para tornar o material dispersível em água<sup>43</sup>.

### 1.3 ORGANOFOSFORADOS: REATIVIDADE E TOXICIDADE

Organofosforados pertencem a uma ampla classe de ésteres derivados do ácido fosfórico onde o fósforo está ligado a um átomo de oxigênio ou enxofre por uma ligação dupla e os demais átomos podem ser oxigênio, carbono, enxofre, nitrogênio, entre outros. São utilizados como plastificantes, retardantes de chama e principalmente como pesticidas e armas químicas. A FIGURA 8 mostra as estruturas genéricas das 13 classes de organofosforados de acordo com seus grupos substituintes<sup>44</sup>.



FONTE: Adaptado de Gupta (2005).

Os organofosforados derivados do ácido fosfórico e do ácido fosfônico possuem atividades anticolinesterásica, sendo os compostos utilizados como armas químicas e pesticidas. Além disso, os compostos que possuem P=S possuem baixa

ou nenhuma atividades anticolinesterásica, ao contrário dos análogos  $P=O$ <sup>44</sup>. Entretanto, ainda que alguns organofosforados não possuam atividade anticolinesterásica não significa que não apresentem toxicidade. De fato, a exposição crônica a organofosfatos utilizados como plastificantes e retardantes de chama pode causar distúrbios hormonais, neurológicos e alguns tipos de câncer<sup>45</sup>.

Dentre os organofosforados, os ésteres de fosfato (destacados de vermelho na FIGURA 8) chamam a atenção, pois os monoésteres e diésteres fazem parte dos sistemas biológicos na transmissão e armazenamento de informação genética (DNA e RNA), na estrutura de muitas coenzimas e nos mecanismos de armazenamento de energia (trifosfato de adenosina, creatina fosfato, acetilfosfato, entre outros). Já os triésteres de fosfato são sintéticos e utilizados como pesticidas e armas químicas<sup>46</sup>.

As ligações P-O nos ésteres de fosfato são extremamente estáveis, razão pela qual a natureza escolheu os organofosforados na forma de DNA e RNA para transmissão de informação genética. Entretanto, igualmente estáveis são os organofosforados sintetizados pelo homem e utilizados como pesticidas e armas químicas<sup>46</sup>. Dessa forma, percebe-se a relevância de melhor entender os mecanismos das reações envolvendo esses compostos, de forma a possibilitar a degradação dos organofosforados a produtos atóxicos ou com toxicidade reduzida.

### 1.3.1 Armas Químicas

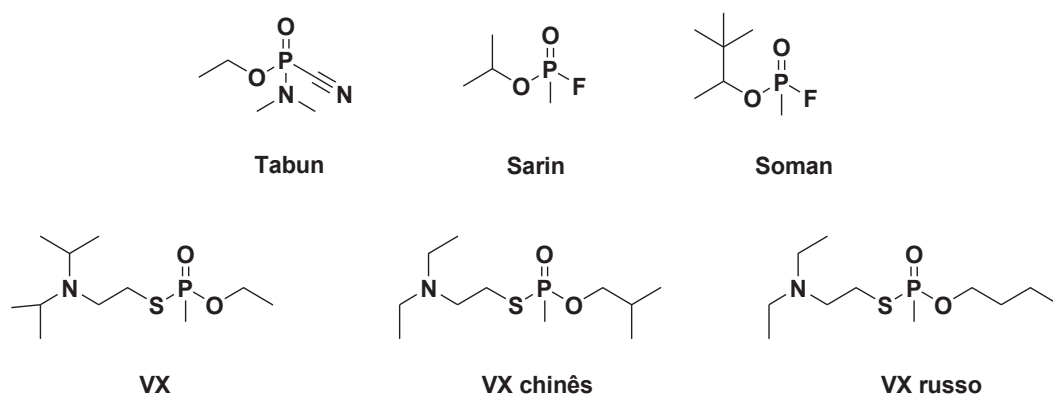
Foi durante a 1ª Guerra Mundial que houve o primeiro “aprimoramento” no uso de químicos no campo de batalha, com o uso do gás cloro e seus derivados como fosgênio ( $COCl_2$ ) e o mais sofisticado gás mostarda ( $C_4H_8Cl_2S$ )<sup>47,48</sup>. Foi ideia de Fritz Haber, que posteriormente ganharia o Nobel de Química pela síntese da amônia, a liberação de gás cloro armazenados em cilindros sobre tropas inimigas. Apesar de serem estimados “apenas” cerca de 1 milhão de feridos e 80000 mortos em toda a 1ª Guerra mundial, ficou evidente o papel crucial das armas químicas em conflitos armados.

Porém foi com o surgimento dos organofosforados que as armas químicas surgem como as conhecemos atualmente. Ao contrário dos químicos anteriores baseados em cloro que são agentes irritantes simples, os organofosforados são agentes que atuam no sistema nervoso. Eles atuam inibindo a enzima acetilcolinesterase nos mamíferos, fazendo com que o neurotransmissor acetilcolina

se acumule nas sinapses e ocorra uma superestimulação do sistema nervoso. Isso causa uma falha do sistema respiratório e subsequente morte, o que torna os organofosforados muito mais tóxicos que os agentes químicos<sup>49</sup>.

Foi em 1934 que a empresa I. G. Farben de Otto Bayer lançou um projeto de síntese de pesticidas sintéticos sob orientação do químico Gerhard Schröder. Logo seus interesses se voltaram aos compostos organofosforados, culminando na síntese de mais de 2000 organofosforados, incluindo os altamente tóxicos Tabun e Sarin. Por suas implicações bélicas, os trabalhos relacionados a esses organofosforados foram cuidadosamente mantidos sobre segredo pelo regime nazista e cerca de 9000 de tabun, 1300 de sarin e 20 toneladas de soman foram sintetizadas até abril de 1945<sup>50</sup>. Felizmente, o regime nazista não chegou a utilizar esse volume monstruoso, sendo apontados como motivos: (i) experiências negativas de Hitler com armas químicas, seriamente ferido por gás mostarda na Primeira Guerra Mundial; (ii) medo de retaliação e; (iii) subestimação da superioridade das armas químicas alemãs. De fato, somente Saunders e seu grupo na Universidade de Cambridge sob a orientação do governo britânico haviam sintetizado organofosforados, porém muito inferiores aos do governo alemão. Com a derrota do regime nazista após a Segunda Guerra Mundial, os trabalhos relacionados aos organofosforados e os cientistas responsáveis foram descobertos pela União Soviética e os países das forças aliadas. Isso culminou na síntese dos agentes da série VX na década de 1950 e motivou uma série de programas armamentistas durante a Guerra Fria (FIGURA 9).

FIGURA 9 – EXEMPLOS DE ORGANOFOSFORADOS UTILIZADOS COMO ARMAS QUÍMICAS



FONTE: O Autor (2019).

A alta toxicidade e o grande medo de sua utilização em conflitos bélicos e ataques terroristas motivaram em 1997 que a Convenção sobre a Proibição do Desenvolvimento, Produção, Armazenagem e Utilização de Armas Químicas fosse ratificada pela maioria dos países das Nações Unidas. A Organização para a proibição de armas químicas (OPCW, em inglês) é a entidade internacional responsável pela fiscalização desse acordo e seus esforços lhe renderam o Nobel da Paz de 2013<sup>51</sup>. Em seu último relatório (novembro de 2018) a OPCW havia destruído cerca de 96% dos estoques (declarados) de armas químicas<sup>52</sup>. Entretanto, apesar desses esforços, o uso de organofosforados como armas químicas (TABELA 1) pode ser atestado por uma série de eventos.

Alguns ataques recentes com organofosforados como armas químicas são o uso de sarin e VX em Osaka, Matsumoto e Toquio (1994-1995)<sup>53</sup>, o sarin na guerra civil da Síria (2012-atual)<sup>54</sup> e a classe “obscura” dos agentes nervosos Novichok que são altamente letais e foram utilizados em 2018 em um suposto ataque do governo russo a um ex-espião e sua filha<sup>50</sup>. Esses eventos ilustram a importância do estudo dos organofosforados utilizados como armas químicas a fim de desenvolver formas eficientes de detoxificação, antídotos, detecção e outros meios de prevenção e mitigação dos impactos.

TABELA 2 – FATOS HISTÓRICOS SOBRE ORGANOFOSFORADOS COMO ARMAS QUÍMICAS

<b>Ano</b>	<b>Fato Histórico</b>
<b>1936</b>	Gerhard Schröder sintetiza o agente neurotóxico Tabun
<b>1937</b>	Schröder e colaboradores sintetizam o Sarin
<b>1942</b>	Alemanha nazista começa a produção industrial de agentes neurotóxicos organofosforados
<b>1944</b>	O alemão Richard Kuhn sintetiza o agente neurotóxico Soman
<b>1950-1959</b>	O organofosforado VX é sintetizado pelos britânicos e convertido em arma química pelos americanos
<b>1973-1976</b>	Início do programa russo ultrassecreto FOLIANT, com mais de 200 químicos e engenheiros envolvidos e culminando em pelo menos 3 novos organofosforados da classe NOVICHOK.
<b>1984-86</b>	Uso de armas químicas pelo Iraque contra o Irã é confirmado
<b>1988</b>	Uso de armas químicas pelo governo iraquiano contra a população curda ao norte do país é confirmado
<b>1994</b>	Ataque terrorista (membros do Aum Shinrikyo) com sarin na cidade de Matsumoto no Japão resulta em 7 mortos e mais de 300 feridos
<b>1994-1995</b>	Diversas tentativas de assassinato (membros do Aum Shinrikyo) utilizando VX na cidade de Osaka no Japão, resultando em 1 morto
<b>1995</b>	Membros do Aum Shinrikyo usam sarin no metrô de Tóquio, 12 mortos e mais de mil feridos
<b>2013</b>	OPCW confirma uso de sarin na Guerra civil da Síria
<b>2017</b>	O governo americano confirma que o meio-irmão do ditador norte coreano Kim Jong-un foi assassinado com VX em um ataque no aeroporto da Malásia. Ele já havia sido vítima em 2012 de uma tentativa também com VX.
<b>2018</b>	OPCW confirma o uso de um organofosforado da classe Novichok no ataque contra o ex-espião russo e sua filha.

FONTE: Adaptado de Delfino et. al. (2009)<sup>53</sup>.

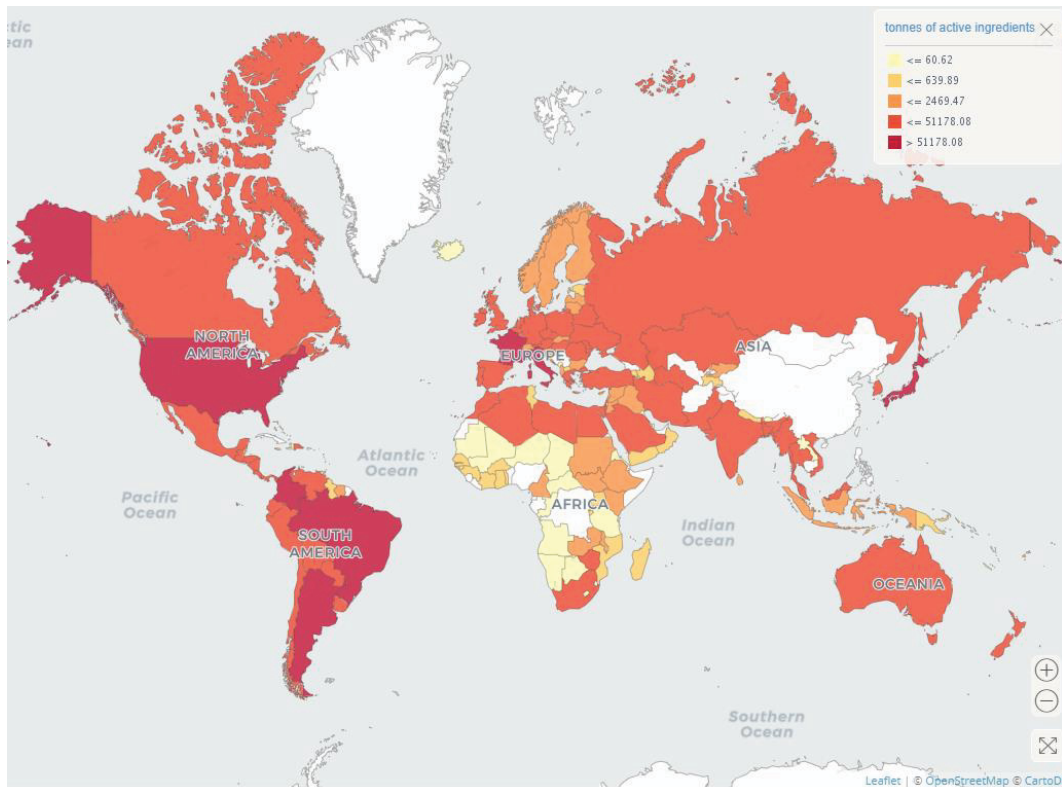
### 1.3.2 Pesticidas

Em 1934, o programa de síntese de pesticidas da empresa alemã I. G. Farben de Otto Bayer sob orientação do químico Gerhard Schröder iniciou a síntese dos pesticidas organofosforados. Entretanto, devido à alta toxicidade de alguns dos organofosforados sintetizados logo no início desse programa e suas possíveis aplicações bélicas para o regime nazista, o uso dos organofosforados como pesticidas não ocorreu de imediato.

Após o fim do regime nazista, os trabalhos sobre a química dos organofosforados deixaram de ser segredo e iniciou-se a produção intensiva de pesticidas organofosforados. O mecanismo de ação da maioria dos pesticidas organofosforados é o mesmo das armas químicas organofosforadas, inibindo a enzima acetilcolinesterase. Entretanto, são projetados para serem menos tóxicos ( $LD_{50}$  em humanos maior) que as armas químicas, de modo a possibilitar seu uso sem intoxicações agudas aos seres humanos. Porém, como os pesticidas organofosforados são utilizados intensamente, tem alta estabilidade e são bioacumulativos, existe uma grande preocupação quanto ao seu monitoramento e degradação. Isso vem sendo mostrado por diversos estudos que relataram efeitos teratogênicos, cancerígenos e quadros neurológicos relacionados aos pesticidas organofosforados<sup>55</sup>.

Infelizmente, atualmente os organofosforados são a classe de pesticidas mais utilizadas no mundo, com uma fatia de 30% de um mercado estimado em 7,06 bilhões de dólares em 2017<sup>56</sup>. O Brasil é o maior consumidor mundial de pesticidas por área agrícola e o terceiro maior consumidor em valores absolutos, sendo responsável por 19% do consumo mundial (FIGURA 10). Esse consumo tende a aumentar no Brasil com a expansão e modernização agrícola. Ainda, a crescente demanda mundial por alimentos, que depende fundamentalmente do uso de agrotóxicos, é outro fator que deve influenciar no aumento do consumo de pesticidas.

FIGURA 10 – CONSUMO MUNDIAL ABSOLUTO DE PESTICIDAS 2006-2016

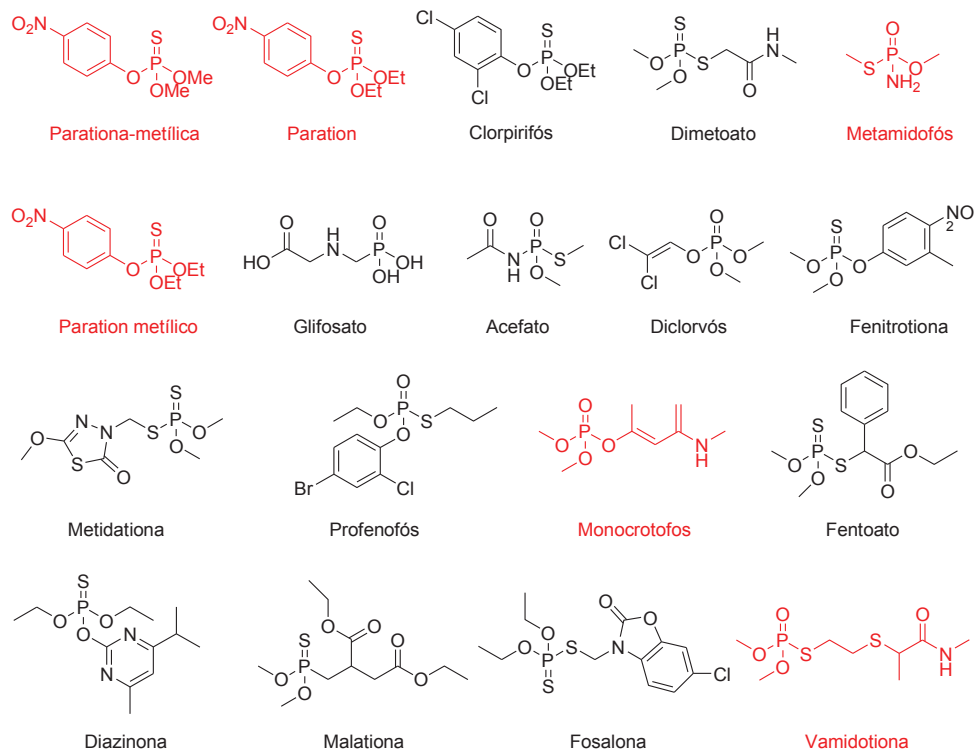


FONTE: Adaptado de FAOSTAT (2018)<sup>8</sup>.

Percebe-se então a importância do monitoramento contínuo do uso dos pesticidas organofosforados, que infelizmente tem como dificuldades: (i) a existência no mercado de centenas de organofosforados utilizados como princípios ativos de pesticidas; (ii) as baixas concentrações nos alimentos, solo e águas, que exigem algumas vezes o monitoramento indireto (bioacumulação em seres vivos) ou (iii) a utilização de técnicas de detecção avançadas que encarecem as análises. Um dos poucos estudos confiáveis e amplos realizados em território nacional foi feito pela ANVISA entre 2013 e 2015 por meio do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)<sup>57</sup>. O estudo analisou 12051 amostras de alimentos dos 26 estados da federação e constatou que: 42,0% das amostras não possuíam resíduos dos agrotóxicos pesquisados; 38,3% das amostras tinham resíduos de pesticidas em concentrações abaixo do limite estabelecido; e 19,7% das amostras apresentaram resíduos de pesticidas em concentrações acima do limite estabelecido ou de pesticidas ilegais. A classe dos organofosforados foi a com maior índice de detecção (40,0% de todas as amostras), das quais 36,0% desse valor foram detecções acima da concentração permitida ou de pesticidas ilegais<sup>57</sup>.

A FIGURA 11 mostra alguns dos pesticidas organofosforados detectados nesse estudo, sendo os organofosforados em vermelho proibidos no Brasil. Isso evidencia o quadro de uso indiscriminado de pesticidas organofosforados no território nacional, indo desde a utilização de pesticidas proibidos até dosagens acima do limite permitido. Infelizmente, a legislação brasileira também é branda e organofosforados, como o acefato, que já são proibidos há anos nos EUA e União Européia e aqui são liberados.

FIGURA 11 – ORGANOFOSFORADOS DETECTADOS PELO PARA-ANVISA: EM VERMELHO ESTÃO ORGANOFOSFORADOS PROIBIDOS NO BRASIL



FONTE: Adaptado de PARA (2016)<sup>57</sup>.

Infelizmente esse cenário alarmante não é exclusivo do Brasil. Estimam-se em cerca de 25 milhões os casos de envenenamento por pesticidas organofosforados somente em países em desenvolvimento<sup>55</sup>. Já os casos de morte por organofosforados chegam a 220000 por ano em todo o mundo<sup>53</sup>. Apesar de alguns organofosforados não apresentarem toxicidade aguda, como é o caso do herbicida glifosato e dos organofosforados utilizados como retardantes de chama e plastificantes, já existem estudos mostrando sua toxicidade crônica<sup>45</sup>. Somado ao

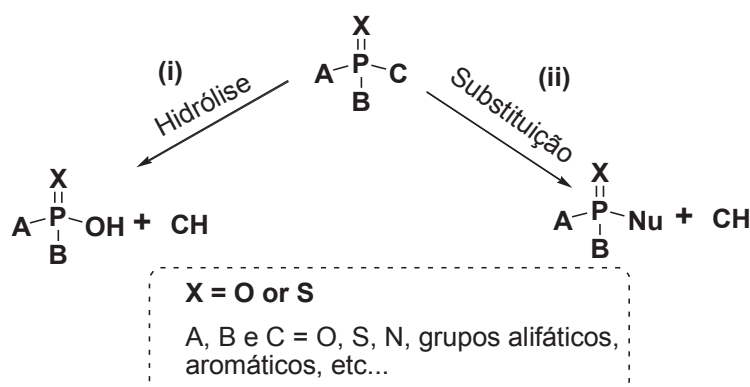
fato de serem altamente estáveis e bioacumulativos, tem-se um quadro dramático do uso indiscriminado dos organofosforados globalmente.

Isso mostra a importância do estudo de novas técnicas de detecção e mecanismos de degradação de organofosforados. Uma abordagem que vem sendo utilizada nos últimos anos em relação à degradação de organofosforados é o desenvolvimento de catalisadores com grupos nucleofílicos. Por meio da reação da degradação pode-se não só promover a detoxificação desses agentes tóxicos, mas também se beneficiar dos produtos da reação química para desenvolver sensores. Dois dos grupos catalíticos proeminentes que vem sendo estudados com organofosforados são os imidazóis e os ácidos hidroxâmicos<sup>16,17,19,58</sup>.

#### 1.4 DESTRUIÇÃO DE ORGANOFOSFORADOS: REAÇÕES NUCLEOFÍLICAS

A FIGURA 12 apresenta as duas principais estratégias de detoxificação de organofosforados: A rota (i) se baseia na hidrólise do organofosforado trissubstituído a um organofosforado dissustituído, que são via de regra menos tóxicos que trissubstituídos. Já a rota (ii) se baseia na substituição de um dos grupos do organofosforado por outro, de forma que o organofosforado produto dessa substituição seja menos tóxico que o precursor.

FIGURA 12 – ESTRATÉGIAS DE DETOXIFICAÇÃO DE UM ORGANOFOSFORADO

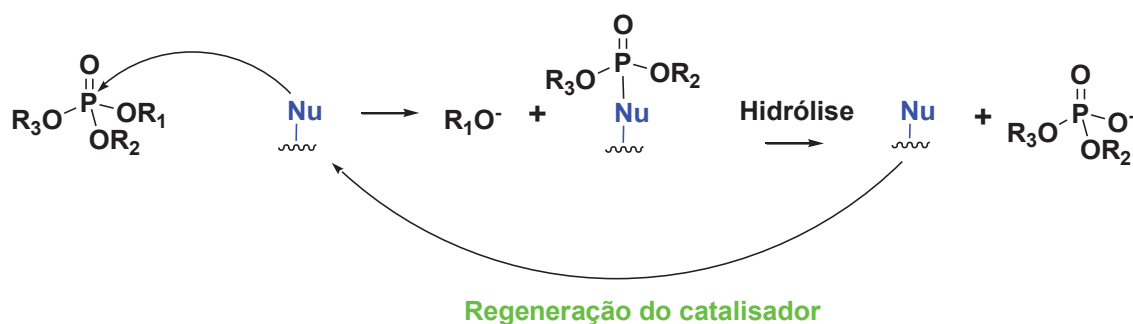


FONTE: O Autor (2019).

Entretanto, tanto a hidrólise como a substituição de organofosforados são reações extremamente lentas devido à alta estabilidade dos organofosforados. Entra em cena então a catálise, de importância crucial na aceleração dessas reações,

sendo o ataque nucleofílico a abordagem atual mais eficiente. Isso se deve ao fato dos átomos que se ligam ao átomo de fósforo nos organofosforados serem eletronegativos (S, O, N, etc...), tornando o átomo de fósforo eletrofílico. Isso facilita o ataque por um nucleófilo, que ataca o átomo de fósforo formando um intermediário que sofre hidrólise regenerando o catalisador nucleófilo e liberando um organofosforado menos tóxico que o precursor. A FIGURA 13 apresenta o mecanismo em uma única etapa em que essa reação ocorre: um nucleófilo Nu ataca um triéster de fosfato, liberando no processo um composto  $R_1O^-$  e formando um intermediário com o organofosforado. Esse intermediário é então hidrolisado a um diéster de fosfato menos tóxico que o organofosforado precursor e o nucleófilo Nu é regenerado ao final.

FIGURA 13 – MECANISMO GENÉRICO DE ATAQUE NUCLEOFÍLICO EM UM TRIÉSTER DE FOSFATO



FONTE: O Autor (2019).

Entretanto, o mecanismo apresentado na FIGURA 13 nem sempre é seletivo, podendo a hidrólise dos organofosforados e as suas reações com nucleófilos ocorrer com a liberação de diferentes grupos de saída<sup>59</sup>. Outro problema é a alta estabilidade dos organofosforados, que torna as reações extremamente lentas em condições brandas. Como exemplo, o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) à 25°C do monoânion do monoéster metil fosfato é 93 anos, enquanto para o diéster dimetil fosfato o  $t_{1/2}$  é estimado em mais de 30 milhões de anos<sup>60,61</sup>. Embora o triéster análogo da série, o trimetil fosfato, tenha  $t_{1/2}$  em torno de 11 anos, o menor  $t_{1/2}$  da série, sua toxicidade é a maior dentre os três<sup>14,15</sup>. Esse comportamento de maior toxicidade dos triésteres de fosfato em relação aos mono e diésteres é via de regra o

padrão, o que explica a utilização de muitos triésteres como armas químicas e pesticidas.

Dentre os nucleófilos com grande potencial para as reações de desfosforilação dois merecem atenção especial: (i) o imidazol, por estar presente em sítios ativos de enzimas que atuam em reações de desfosforilação em sistemas biológicos; e (ii) os ácidos hidroxâmicos, por serem alfa-nucleófilos e assim apresentar uma nucleofilicidade maior que a esperada pela sua basicidade de Brönsted.

#### 1.4.1 Imidazol

Imidazol é uma molécula aromática planar cíclica de 5 membros com dois nitrogênios nas posições 1 e 3 e três carbonos nas demais (FIGURA 14)<sup>62</sup>. Possui uma série de características que o tornam singular na química e bioquímica: (i)  $pK_a$  do imidazol e de seus derivados é próximo de 7, valor do pH fisiológico da maioria dos seres vivos, o que lhe garante uma enorme versatilidade nas reações que participa, podendo atuar tanto como ácido (forma protonada), como nucleófilo ou base (forma desprotonada)<sup>62,63</sup>; (ii) imidazol apresenta tautomeria, o que em seus derivados assimétricos (histamina, por exemplo), gera espécies que tem populações diferentes de cada tautômero<sup>62,64</sup>; (iii) o caráter aromático do imidazol o torna extremamente estável, podendo assim participar de uma série de reações, seja como catalisador ou sendo substituído sem que o anel imidazólico seja aberto<sup>62</sup>; (iv) imidazol e seus derivados formam ligações de hidrogênio entre si e com solventes próticos, o que resulta em pontos de fusão e ebulição mais altos que os esperados para substâncias com massas moleculares similares<sup>62</sup>; (v) o imidazol possui dois nitrogênios com características bem distintas: o nitrogênio imínico (tipo piridina) pode ionizar-se ( $pK_a=6,95$ ) e quando desprotonado atua como nucleófilo enquanto o outro nitrogênio (tipo pirrol) está comprometido com a aromaticidade do imidazol<sup>65</sup>.

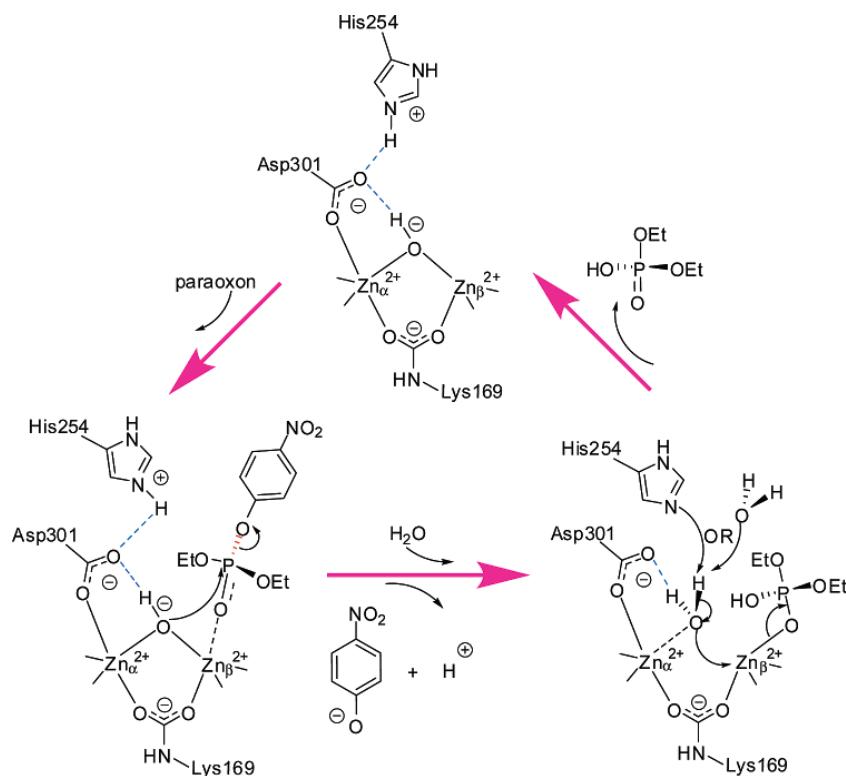
FIGURA 14 – EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE E EQUILÍBRIO TAUTOMÉRICO DO IMIDAZOL



FONTE: O Autor (2019).

Tamanho versatilidade do imidazol explica a sua presença na natureza na forma do aminoácido histidina que está presente nos sítios catalíticos de diversas enzimas. Uma delas é a quimotripsina, uma enzima presente no suco gástrico de diversos mamíferos, responsável pela quebra das ligações peptídicas das proteínas, bem como pela desacilação dos lipídeos<sup>66</sup>. Outro exemplo são as enzimas da classe fosfotriesterase que atuam desfosforilando uma ampla gama de substratos. Essas enzimas têm dois centros bimetálicos de zinco e resíduos de histidina, lisina e ácido aspártico que atuam de forma colaborativa enquanto uma hidroxila atua como nucleófilo atacando o organofosforado (no caso o paraoxon), como apresentado na FIGURA 15. Ocorre então à saída do grupo abandonador (no caso o 4-nitrofenolato) e o organofosforado é hidrolisado por uma molécula de água que além de facilitar a saída do organofosforado ligado ao zinco, é quebrada e protona o resíduo de histidina e gera uma hidroxila, regenerando assim a enzima<sup>67</sup>. Importante salientar que a classe das enzimas fosfotriesterases evoluiu recentemente com o uso dos pesticidas organofosforados, estando essas enzimas presentes em bactérias do solo, lulas e inclusive mamíferos<sup>68</sup>.

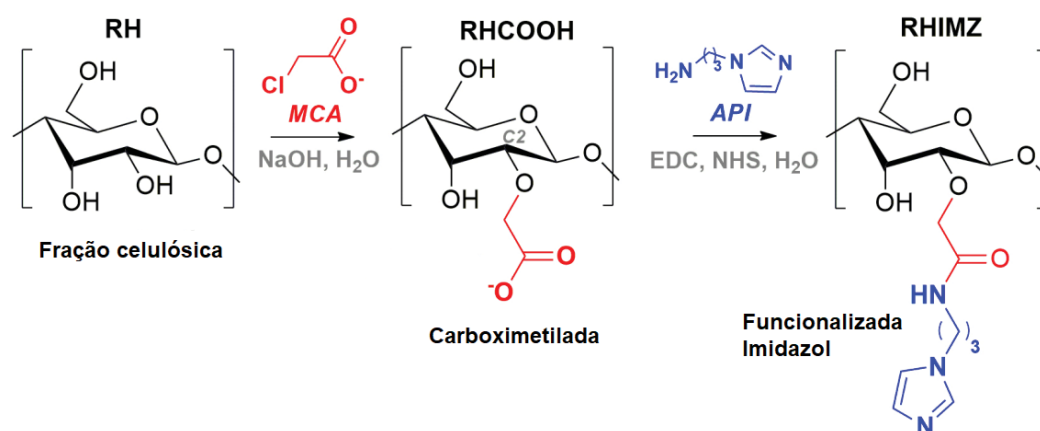
FIGURA 15 – MECANISMO DE HIDRÓLISE DO ORGANOFOSFORADO PARAOXON PELAS ENZIMAS DA CLASSE FOSFOTRIESTERASE.



FONTE: Adaptado de Wong et. al. (2007)<sup>67</sup>.

Vários estudos foram realizados até o momento com o intuito de mensurar a atividade catalítica do imidazol e seus derivados, mostrando-se excelentes catalisadores em diversos tipos de reações, como as de desacilação<sup>69</sup> e as de desfosforilação<sup>15-17,58,70-73</sup>. Recentemente novos catalisadores contendo grupos imidazol foram sintetizados e apresentaram incrementos catalíticos na clivagem do substrato dietil 2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP) da ordem de  $10^5$  vezes maior que a sua reação de hidrólise espontânea<sup>16,17,74</sup>. Dentre esses catalisadores, a goma arábica funcionalizada com imidazol foi um catalisador que apresentou um incremento catalítico da ordem de  $10^5$  vezes maior que a reação de hidrólise espontânea na reação com DEDNPP<sup>17</sup>. Esse biocatalisador conseguiu ainda atuar como uma nuclease artificial ao clivar DNA plasmídico, uma prova de sua atuação como uma enzima artificial<sup>17</sup>. Outro material com resultados impressionantes em reações de desfosforilação é CCAIMZ, a casca de arroz parcialmente carboximetilada (de forma a permanecer insolúvel em água) e posteriormente funcionalizada com imidazol<sup>16</sup> (FIGURA 16). Esse biocatalisador obteve incrementos catalíticos de  $10^7$  vezes na clivagem do pesticida Paraoxon, comparado a sua hidrólise espontânea<sup>16</sup>. Isso demonstra a relevância do estudo das reações de desfosforilação e design de novos catalisadores na degradação de organofosforados.

FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CARBOXIMETILAÇÃO PARCIAL DA CELULOSE NA CASCA DE ARROZ, SEGUIDA DE FUNCIONALIZAÇÃO COM GRUPOS IMIDAZOL<sup>16</sup>

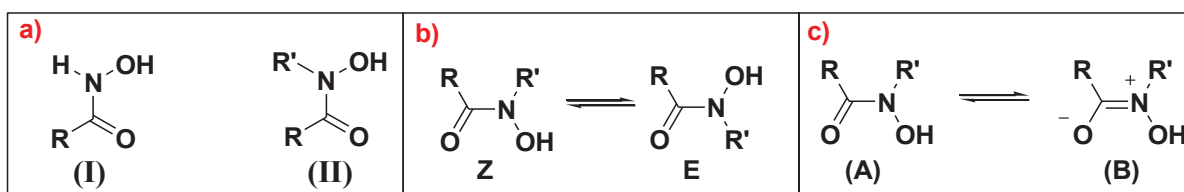


FONTE: Adaptado de Ferreira et. al. (2017)<sup>16</sup>.

### 1.4.2 Ácidos Hidroxâmicos

Ácidos hidroxâmicos são uma classe de amidas onde o N central tem uma hidroxila (FIGURA 17). São classificados em ácidos hidroxâmicos primários (i) e secundários (estruturas I e II, respectivamente, na FIGURA 17), onde R e R' podem ser grupos alifáticos e/ou arilas. A configuração dos ácidos hidroxâmicos lhes confere ainda a presença de isomeria Z-E (estruturas em b) da FIGURA 17). A distribuição dos isômeros Z-E depende do meio em que se encontra o ácido hidroxâmico: solventes próticos estabilizam a conformação Z, o que é essencial para a desprotonação do O da hidroxila<sup>75</sup>, enquanto o isômero E é predominante em solventes apróticos. Além disso, ácidos hidroxâmicos possuem ainda estruturas de ressonância (estruturas em c) na FIGURA 17), sendo a estrutura de ressonância (A) a predominante<sup>76</sup>.

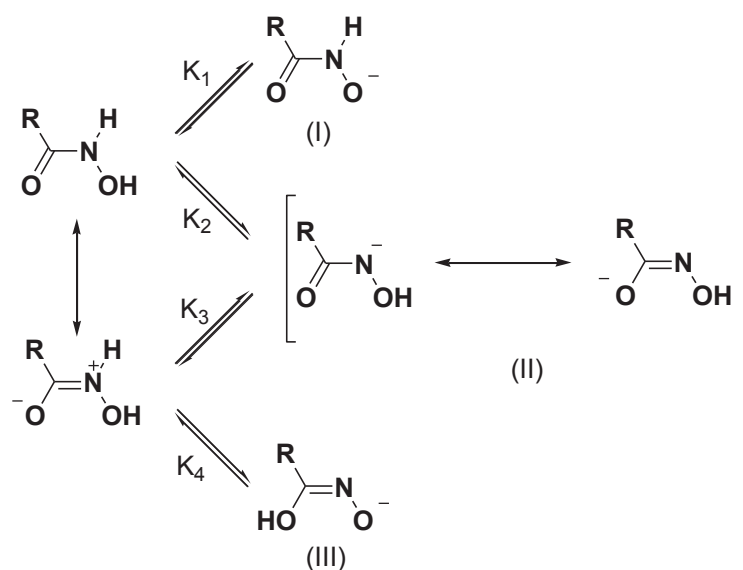
FIGURA 17 – ÁCIDOS HIDROXÂMICOS E A) TIPOS, B) ISOMERIA Z-E E C) ESTRUTURAS DE RESSONÂNCIA



FONTE: O Autor (2019).

Os ácidos hidroxâmicos são bem conhecidos por possuírem o efeito alfa, que nada mais é que uma reatividade superior a esperada para um nucleófilo “normal” com o mesmo valor de  $pK_a$ . (ou mesma basicidade de Brønsted)<sup>77,78</sup>. Isso é devido ao fato do átomo de N possuir um par de elétrons livre e ser vizinho do grupo OH que quando desprotonado pode atuar como nucleófilo (espécie I da FIGURA 18). Apesar de esta ser a espécie predominante em diversos meios para diversos ácidos hidroxâmicos primários, outras espécies ionizáveis já foram reportadas (estruturas da FIGURA 18)<sup>79</sup>.

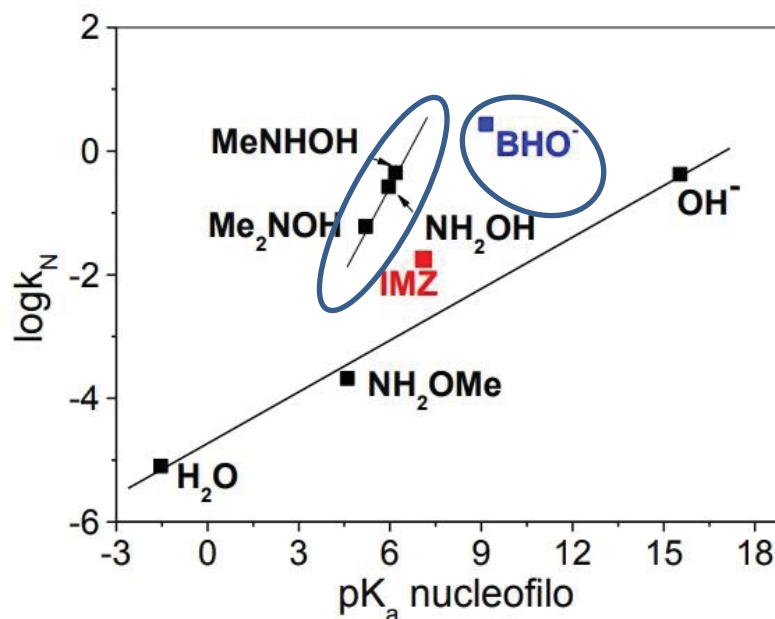
FIGURA 18 – CAMINHOS DE IONIZAÇÃO POSSÍVEIS PARA UM ÁCIDO HIDROXÂMICO PRIMÁRIO



FONTE: O Autor (2019).

Essa maior reatividade dos alfa-nucleófilos em relação aos nucleófilos “normais” é exemplificada na FIGURA 19 que apresenta um plot de Brønsted. Pode-se observar as constantes de segunda ordem na reação de desforforilação de vários nucleófilos com o organofosforado DEDNPP plotados em relação ao  $pK_a$  do nucleófilo<sup>58</sup>. O que se observa é um aumento linear com o aumento da basicidade para os nucleófilos de uma mesma classe. Porém os nucleófilos circulos de azul (alfa-nucleófilos) apresentam constantes muito maiores quando comparadas com os nucleófilos que não apresentam efeito alfa e tem  $pK_a$  similar. É possível observar ainda a posição privilegiada do imidazol que apesar de não possuir o efeito alfa tem uma nucleofilicidade elevada e superior a esperada para seu  $pK_a$ .

FIGURA 19 – PLOT DE BRÖNSTED PARA REAÇÃO DE DIVERSOS NUCLEÓFILOS COM O ORGANOFOSFORADO DEDNPP



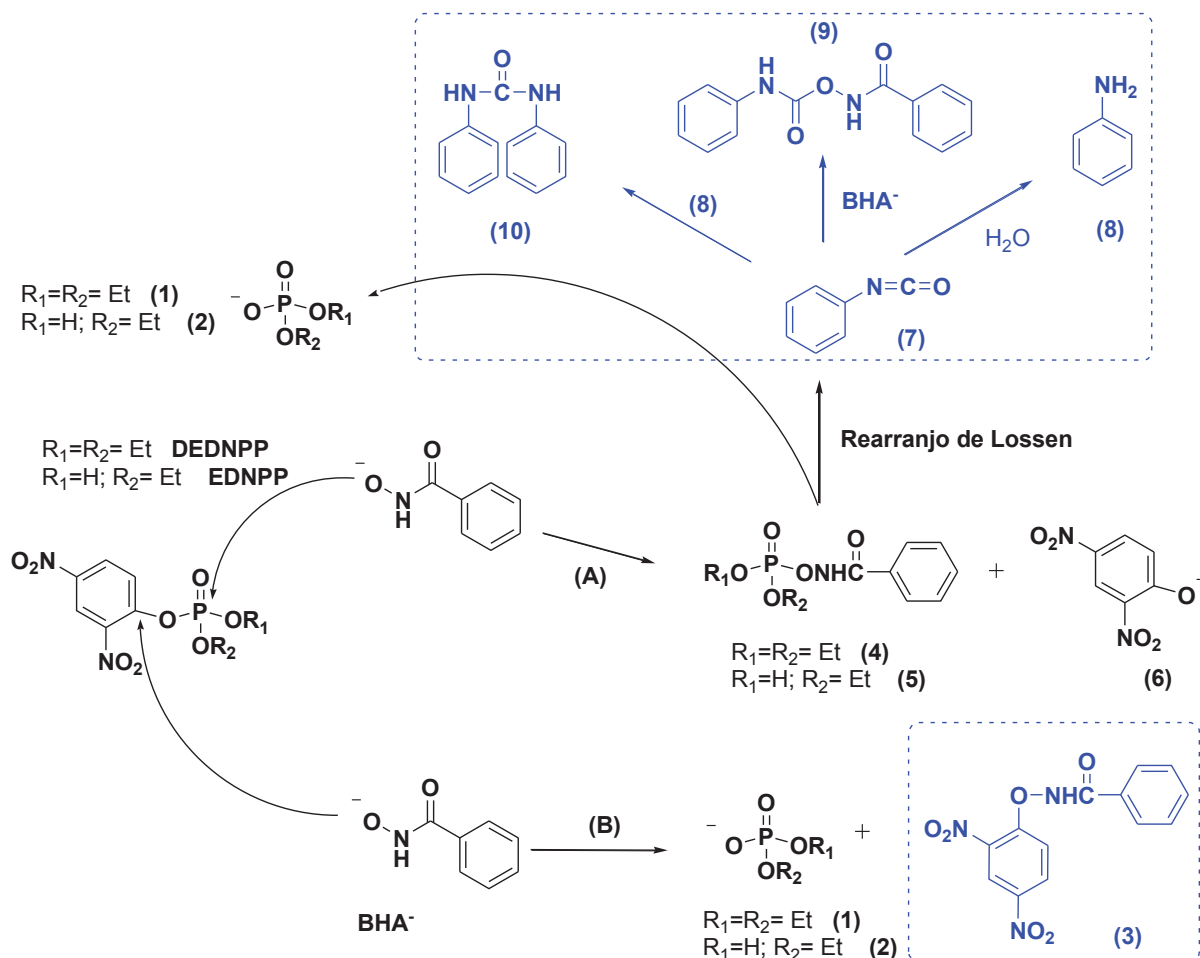
FONTE: Adaptado de Orth (2011)<sup>58</sup>.

Devido a sua reatividade superior a outros nucleófilos, os ácidos hidroxâmicos são nucleófilos interessantes em reações com compostos altamente estáveis, como por exemplo, os organofosforados. Um exemplo é a substituição de ciclodextrinas e glucoses com ácidos hidroxâmicos e o estudo desses compostos na detoxificação do Tabun<sup>19</sup>. Apesar das constantes cinéticas elevadas e incrementos de degradação do tabun de até  $3,6 \times 10^2$  vezes maior que a hidrólise espontânea, esses compostos não agiram como catalisadores. O que houve foi uma rápida clivagem ao tabun e formação de um organofosforado ligado a ciclodextrina/glucose, ou seja, esses compostos agiram como um antídoto.

Em outro estudo, o polímero derivado de poliacrilamida funcionalizado com ácidos hidroxâmicos em conjunto com o surfactante brometo de cetiltrimetil amônio (CTABr) foi utilizado na clivagem dos organofosforados DEDNPP e bis-2,4-dinitrofenil fosfato (BDNPP)<sup>80</sup>. Esse polímero apresentou incrementos catalíticos da ordem de  $10^6$  vezes maior que a hidrólise espontânea dos organofosforados<sup>80</sup>. Apesar dos resultados surpreendentes desses compostos em reações de desfosforilação, elas nem sempre são seletivas. Um estudo que exemplifica a questão dessa seletividade é o apresentado na FIGURA 20 em que o ânion de

benzohidroxamato ( $\text{BHA}^-$ ) foi estudado com os substratos DEDNPP e o diéster etil 2,4-dinitrofenil fosfato (EDNPP)<sup>80</sup>.

FIGURA 20 – ESQUEMA DAS REAÇÕES ENTRE OS ORGANOFOSFORADOS DEDNPP E EDNPP COM O  $\text{BHA}^-$



FONTE: Adaptado de Medeiros et. al. (2012)<sup>80</sup>.

Apesar do incremento catalítico da ordem de  $10^3$  vezes superior a hidrólise espontânea, o ânion benzohidroxamato ( $\text{BHA}^-$ ) quando ataca o fósforo pode passar por um rearranjo de Lossen. Isso leva a espécies fracamente nucleofílicas (aminas e amidas em azul na FIGURA 20) que não apresentam a alta reatividade do ânion hidroxamato, ou seja, o catalisador não é regenerado e não é seletivo. Esse tipo de "ataque suicida" foi similarmente observado na reação entre o  $\text{BHA}^-$  e o diéster bis(2,4-dinitrofenil)fosfato<sup>81</sup>, não sendo assim um caso isolado.

## 2 JUSTIFICATIVA

Baseado nas funcionalizações bem sucedidas com grupos imidazol dos ácidos carboxílicos da goma arábica<sup>17</sup> e da casca de arroz carboximetilada<sup>16</sup> e com ácidos hidroxâmicos em ciclodextrinas e glucoses<sup>19</sup>, e na aplicação desses materiais em reações de desfosforilação, propõe-se um novo método para obtenção do *template* e assim a ancoragem de grupos nucleofílicos. Dessa forma, a CA é um material interessante pois é um resíduo agrícola barato e rico em celulose.

A síntese do material *template* (ácidos carboxílicos para ancoragem dos nucleófilos) será feita pelo método TEMPO/NaBr/NaClO que permite condições mais brandas de síntese para a obtenção de ácidos carboxílicos quando comparada a carboximetilação. Além disso, o método TEMPO/NaBr/NaClO permite um melhor controle do grau de oxidação, seletividade na hidroxila do C6 da celulose. Ainda, a oxidação por TEMPO é uma reação mais rápida, utiliza reagentes menos tóxicos e condições mais brandas que a carboximetilação. Assim, busca-se um material “mais verde” e com um maior grau de substituição de ácidos carboxílicos passíveis de funcionalização com os grupos nucleofílicos. Quanto à funcionalização covalente de imidazóis e ácidos hidroxâmicos desses materiais celulósicos *template*, procura-se não somente beneficiar-se da nucleofilicidade dos imidazóis e ácidos hidroxâmicos, mas também de possíveis sinergismos entre esses grupos e o material *template*. Por fim, esses materiais serão aplicados na catálise de reações de desfosforilação: um resíduo agrícola degradando um pesticida.

A proposta científica aqui apresentada tem mérito e é inovadora sob diversos aspectos: (I) ao utilizar um material abundante, barato, biodegradável e que é um resíduo agrícola na síntese de catalisadores para pesticidas organofosforados (utilizados inclusive na referida cultura), transforma-se um material que seria descartado como resíduo na solução do problema em que está contextualizado; (II) o estudo das reações de desfosforilação e o desenvolvimento de novos catalisadores mimetizando sistemas biológicos permite elucidar o mecanismo dessas reações e desenvolver catalisadores mais eficientes, baratos e sustentáveis; e (III) os materiais propostos nesse trabalho tem potencial de aplicação que vão além da catálise das reações de degradação de organofosforados, podendo ser empregados na catálise de outras reações, como materiais pH responsivos, entre outros.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desse projeto é realizar a modificação química da celulose presente na CA pelo ancoramento de grupos imidazol ou ácido hidroxâmico e avaliar a atividade catalítica dessas amostras na clivagem de organofosforados.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para que o objetivo geral seja atingido foram determinados os seguintes objetivos específicos:

- Modificação química da celulose CA pela reação de oxidação por TEMPO/NaBr/NaClO: (i) baixo grau de oxidação, gerando uma amostra heterogênea insolúvel em água e (ii) alto grau de oxidação, gerando uma dispersão coloidal em água.
- Modificação química das amostras oxidadas por TEMPO/NaBr/NaClO pelo ancoramento de grupos imidazol ou ácido hidroxâmico.
- Caracterização das amostras por Termogravimetria (TG), titulação potenciométrica, infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV), ressonância magnética nuclear (RMN), cromatografia por permeação em gel/exclusão de tamanho (GPC/SEC), difração de raios-X (DRX) e titulação de potencial zeta como forma de qualificar e quantificar a funcionalização das amostras.
- Estudo cinético das reações das amostras sintetizadas com o substrato modelo DEDNPP e o pesticida real Paraoxon utilizando a técnica de espectroscopia UV-vis. Foram variadas as condições reacionais de pH do meio reacional e reciclagem do catalisador a fim de verificar a atividade catalítica das amostras.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

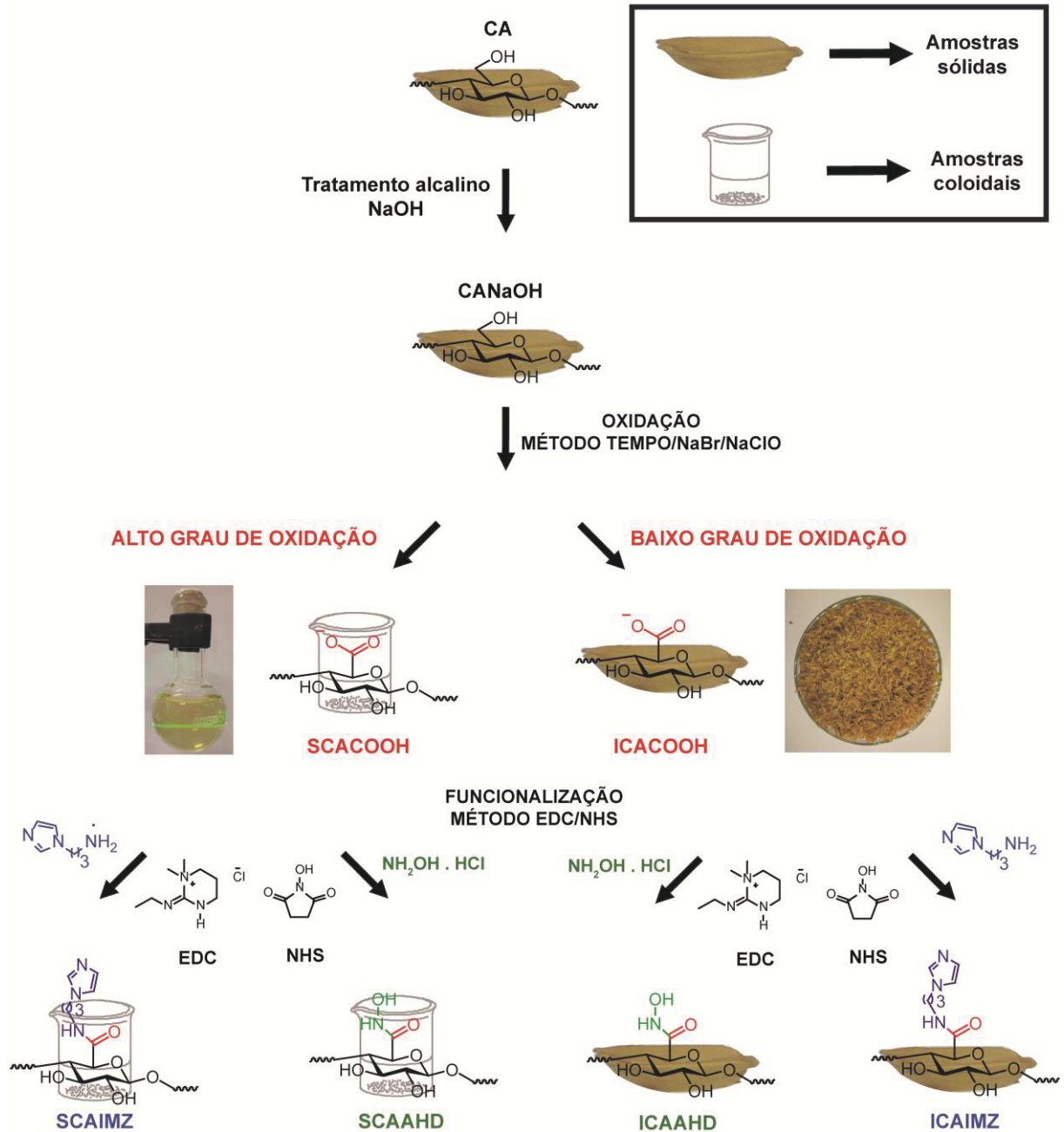
### 4.1 REAGENTES

CA, Paraoxon, N-hidroxisuccinimida (NHS), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC), N-(3-Aminopropil)-imidazol (API), TEMPO (2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy), 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), cloridrato de hidroxilamina, sais, ácidos, bases e demais reagentes foram obtidos comercialmente. O organofosforado DEDNPP foi sintetizado no grupo de Catálise e Cinética de acordo com procedimento já descrito na literatura<sup>71</sup>.

### 4.2 SÍNTESE DAS AMOSTRAS

A FIGURA 21 mostra o esquema de síntese das amostras. A CA foi tratada com hidróxido de sódio, gerando assim a amostra CANaOH, como forma de eliminar parte da lignina e hemiceluloses e tornar os grupos hidroxila da celulose mais disponíveis para as etapas seguintes de funcionalização. Então, hidroxilas da CANaOH foram oxidadas a ácidos carboxílicos pelo método TEMPO/NaBr/NaClO em dois graus de oxidação: (i) um alto grau de oxidação que gerou uma dispersão coloidal (SCACOOH) e (ii) um baixo grau de oxidação, levando a uma amostra sólida com ácidos carboxílicos em sua superfície (ICACOOH). Por fim, as amostras SCACOOH e ICACOOH foram funcionalizadas pelo método EDC/NHS para o ancoramento de grupos imidazol (SCAIMZ e ICAIMZ, respectivamente) e ácidos hidroxâmicos (SCAAHD e ICAAHD, respectivamente).

FIGURA 21 – ESQUEMA DE SÍNTESE DAS AMOSTRAS



FONTE: O Autor (2019).

#### 4.2.1 Tratamento em meio básico da CA

Em um béquer de 200 mL, 10,00 g de CA foram adicionados a 150 mL de solução 2,50 mol L<sup>-1</sup> de NaOH, a fim de solubilizar parte das hemiceluloses, lignina, ésteres, ceras, óleos, cátions, ânions e demais compostos orgânicos presentes na casca de arroz. Desta forma, busca-se aumentar a fração de celulose na amostra, além de tornar os grupos hidroxila mais disponíveis para a reação<sup>82,83</sup>. O meio

reacional permaneceu a temperatura ambiente sob agitação magnética por 24 horas. A solução foi então descartada e a casca de arroz remanescente (CANaOH) foi lavada com solução de HCl  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  por 3 vezes consecutivas para neutralização. Então, CANaOH permaneceu sob agitação magnética em água deionizada por 3 dias, sendo a água trocada diversas vezes. Após isso, a amostra foi seca em estufa a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  por duas horas e armazenada em frasco âmbar.

#### 4.2.2 Oxidação da CA com TEMPO/NaBr/NaClO

A CANaOH foi oxidada por meio de uma modificação do método TEMPO/NaBr/NaClO<sup>31</sup> de duas formas (FIGURA 23): (i) um baixo grau de oxidação (ICACOOH), permanecendo a amostra insolúvel em água; (ii) um alto grau de oxidação (SCACOOH), tornando agora a amostra dispersível em água.

No caso do baixo grau de oxidação, em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 50 mL de água, 2,51 g de CANaOH, 0,51 g de NaBr e 5,0 mg de TEMPO a temperatura ambiente e com agitação magnética. Então, a reação de oxidação foi iniciada pela adição de 2,53 mL de solução 12% de NaClO e o pH foi mantido durante toda a reação em pH 10 pela adição de alíquotas de solução  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH, até que estabilizasse. Após 7,5 horas, tendo sido adicionados 0,700 mL de solução  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH, a reação terminou e o sólido remanescente denominado ICACOOH foi lavado com solução  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl. A amostra ICACOOH foi então deixada em água deionizada, seca em estufa e armazenada em frasco âmbar, sendo todas estas etapas sob as mesmas condições descritas no item 4.2.1.

Já para o alto grau de oxidação, em um balão de fundo redondo de 100 mL foram adicionados 50 mL de água, 1,51 g de CANaOH, 3,81 g de NaBr e 16,7 mg de TEMPO e o sistema foi mantido a temperatura ambiente e agitação magnética. Então, a reação de oxidação foi iniciada pela adição de 30,0 mL de solução 12% de NaClO e o pH foi mantido durante toda a reação em pH 10 pela adição de alíquotas de solução  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH, até que estabilizasse. Após 7,5 horas, tendo sido adicionados 3,88 mL da solução  $0,50 \text{ mol L}^{-1}$  NaOH, a reação terminou e após decantação natural, a fração coloidal denominada SCACOOH foi dializada em membrana de éster de celulose (12-14 kDa  $M_r$  cut-off, Spectra/Por®), durante 3 dias com água deionizada. Finalmente, 200 ppm de  $\text{NaN}_3$  foram adicionados a

SCACOOH de forma a inibir crescimento microbiano e esta foi armazenada em frasco âmbar sob refrigeração. A concentração dessa solução estoque de SCACOOH foi estimada em  $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$ .

#### 4.2.3 Funcionalização com grupos imidazol

A funcionalização das amostras ICACOOH e SCACOOH com grupos imidazol foi feita pelo método EDC/NHS/API já descrito na literatura para funcionalização entre materiais com ácidos carboxílicos e aminas<sup>16,17,41,84,85</sup>.

Para a funcionalização da amostra ICACOOH, em um balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados 50 mL de água deionizada, 0,50 g de ICACOOH, 1,07 g de NHS e 1,77 g de EDC. O meio reacional (pH ~3,5) foi mantido em agitação magnética e banho de gelo por 1 hora, sendo então retirado o banho de gelo e mantido a temperatura ambiente e agitação por mais uma hora. Então, foi adicionado 1,10 mL de API e o meio reacional (pH ~3,5) permaneceu a temperatura ambiente e agitação magnética por 24 horas. Após, o sólido remanescente denominado ICAIMZ foi lavado com solução  $0,001 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl, deixado em água deionizada, seco em estufa e armazenado em frasco âmbar, todas estas etapas sob as mesmas condições descritas no item 4.2.1.

Já para a funcionalização da amostra SCACOOH, em um balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados 50 mL da solução estoque de SCACOOH, 0,79 g de NHS e 1,31 g de EDC. O meio reacional foi mantido em agitação magnética e banho de gelo por 1 hora, sendo então retirado o banho de gelo e permaneceu sob temperatura ambiente e agitação por mais uma hora. Então, foi adicionado 0,82 mL de API e o meio reacional mantido a temperatura ambiente e agitação magnética por 24 horas. Após, a mistura remanescente denominada SCAIMZ foi dializada, adicionado 200 ppm de  $\text{NaN}_3$  e armazenada em frasco âmbar sob refrigeração, todos esses passos sob as mesmas condições descritas no item 4.2.2 para a amostra SCACOOH. A concentração dessa solução estoque de SCAIMZ foi estimada em  $1,4 \text{ mg mL}^{-1}$ .

#### 4.2.4 Funcionalização com grupos ácido hidroxâmico

A funcionalização das amostras ICACOOH e SCACOOH com grupos ácido hidroxâmico foi feita por uma modificação do método EDC/NHS/cloridrato de hidroxilamina<sup>86</sup>.

Para a funcionalização da amostra, em um balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados 50 mL de água deionizada, 0,50 g de ICACOOH, 1,07 g de NHS e 1,77 g de EDC. O meio reacional foi mantido em agitação magnética e banho de gelo por 1 hora, sendo então retirado o banho de gelo e permaneceu sob temperatura ambiente e agitação por mais uma hora. Então, foi adicionado 5,00 mL de solução 1,85 mol L<sup>-1</sup> de cloridrato de hidroxilamina (pH 6,98). Então, o pH do meio reacional foi ajustado para pH 7,00 e permaneceu sob temperatura ambiente e agitação magnética por 24 horas. Após, o sólido remanescente denominado ICAAHD foi lavado com solução 0,001 mol L<sup>-1</sup> de HCl, deixado em água deionizada, seco em estufa e armazenado em frasco âmbar, todas estas etapas sob as mesmas condições descritas no item 4.2.1.

Já para a funcionalização da amostra SCACOOH, em um balão de fundo redondo de 100 mL, foram adicionados 50 mL da solução estoque de SCACOOH, 0,79 g de NHS e 1,31 g de EDC. O meio reacional foi mantido em agitação magnética e banho de gelo por 1 hora, sendo então retirado o banho de gelo e mantida a temperatura ambiente e agitação por mais uma hora. Então, foi adicionado 5,00 mL de solução 0,14 mol L<sup>-1</sup> de cloridrato de hidroxilamina (pH 7,01). Então, o pH do meio reacional foi ajustado para pH 7,02 e permaneceu sob temperatura ambiente e agitação magnética por 24 horas. Após, a mistura remanescente denominada SCAAHD foi dializada e adicionado 200 ppm de NaN<sub>3</sub>. A amostra foi então armazenada em frasco âmbar sob refrigeração nas mesmas condições descritas no item 4.2.2 para a amostra SCACOOH. A concentração dessa solução estoque de SCAAHD foi estimada em 1,4 mg mL<sup>-1</sup>.

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

**TG:** os ensaios foram feitos em um aparelho TA instruments modelo SDT Q600 com fluxo de 100 mL min<sup>-1</sup> de ar sintético e uma taxa de aquecimento de 5°C

$\text{min}^{-1}$ , variando da temperatura ambiente até 1000 °C. As amostras CA, CANaOH ICAIMZ e ICAAHD foram analisadas após secar por 30 minutos à 50 °C.

**MEV:** as análises foram feitas no microscópio eletrônico de varredura TESCAN VEGA3 LMU. As amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD foram secas a temperatura ambiente no suporte metálico e então metalizadas com ouro. As amostras sólidas CA, CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD foram secas à 50 °C por 30 minutos e então presas ao suporte e metalizadas com ouro.

**FTIR:** as análises de FTIR foram feitas em espectrofotômetro FTIR Bomem Bruker Vertex 70/70v<sup>®</sup> no modo de transmitância ou refletância total atenuada (ATR) com acessório de cristal de ZnSe. As amostras CA, CANaOH ICAIMZ e ICAAHD foram analisadas na forma sólida após secar por 30 minutos à 50 °C. Já as amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD foram analisadas após serem secas em substrato de alumínio à 50 °C por 30 minutos. Os espectros foram realizados de 600-4000  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 2  $\text{cm}^{-1}$  e 256 ciclos de acumulação para as amostras sólidas e para as amostras coloidais de 650-4000  $\text{cm}^{-1}$ , com mesma resolução e número de acumulações das amostras sólidas.

**RMN:** as amostras foram caracterizadas em um espectrômetro RMN Bruker DPX200<sup>®</sup> operating a 4,7 Tesla, observando  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  a 200,13 Hz e 50,62 Hz, respectivamente. O espectrômetro é equipado com sonda inversa quadrinuclear de 5 mm com gradiente z. Para as amostras insolúveis foi adaptada metodologia para hidrólise de polissacarídeos<sup>87</sup>: 1,00 mL de solução 72% m/m  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}$  foi adicionado a aproximadamente 40 mg de amostra sob agitação magnética e banho de gelo, sendo mantido o meio por 1 hora em temperatura ambiente e agitação magnética. Então, 0,67 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  foi adicionado e a amostra permaneceu por 10 minutos em estufa a 100 °C. Após isso, a mistura foi centrifugada a 13400 rpm por 10 minutos e 0,60 mL do sobrenadante foi misturado com 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$  com 0,5 % de TMSp. Já para as amostras solúveis, as soluções foram concentradas a partir da solução estoque até  $\sim 21 \text{ mg mL}^{-1}$  e então 0,60 mL dessa solução foi misturado com 60  $\mu\text{L}$  de  $\text{D}_2\text{O}$  com 0,5 % de TMSp. Os deslocamentos químicos do  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  foram dados em ppm em relação ao sinal em 0,00 ppm devido TMSp. Pelo menos 30000 ciclos de acumulações foram feitas para os espectros de  $^{13}\text{C}$ .

**DRX:** os difratogramas foram feitos em um difratômetro de raios-X Shimadzu modelo XRD-6000 com radiação  $\text{CuK}\alpha$ ,  $\lambda = 0,15418 \text{ nm}$ , 40 kV, 30 mA, velocidade de

varredura de  $2^\circ \text{ min}^{-1}$  e intervalo de  $0,02^\circ$ , sendo as amostras suportadas em substrato de alumínio.

**Titulações potenciométricas:** as análises foram feitas em cuba de vidro de 150,0 mL termostaticada a  $25^\circ \text{C}$ . As soluções foram acidificadas com solução aquosa  $0,43 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl e tituladas com pequenas alíquotas de solução aquosa  $8,93 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de KOH, ambas soluções livres de  $\text{CO}_2$ . As alíquotas foram adicionadas por micropipetas de 10-100  $\mu\text{L}$  e 100-1000  $\mu\text{L}$  e o pH monitorado por um pHmetro Hanna pH21<sup>®</sup>. O programa BEST7<sup>88</sup> foi utilizado para determinar as constantes de equilíbrio e as quantidades em mmols dos grupos ionizáveis presentes nas amostras.

**Titulações de potencial zeta:** as amostras SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD foram tituladas em um equipamento Stabino<sup>®</sup> Particle Metrix<sup>®</sup> Control 2.00.23 em cuba de PVDF de 10,0 mL e pistão de 200  $\mu\text{m}$ . Foi utilizado 1 mL da solução estoque de cada amostra em 14 mL de água deionizada. As soluções foram então acidificadas pela adição de solução aquosa  $0,43 \text{ mol L}^{-1}$  de HCl e então tituladas pela adição de alíquotas de 30  $\mu\text{L}$  de solução aquosa  $8,93 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de KOH, com um intervalo de 20 segundos entre as adições.

**GPC/SEC:** as amostras SRHCOOH, SCAIMZ E SCAAHD foram secas em vácuo e 1 mg de cada amostra foi solubilizada em 1,00 mL de  $\text{NaNO}_3$   $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  e 200 ppm de  $\text{NaN}_3$ , também utilizado como eluente na mesma concentração. Então, a solução foi filtrada em membranas PVDF Millipore com tamanhos de poro nominais de 0,22  $\mu\text{m}$ . Os valores correspondentes à massa molar ponderal média ( $M_w$ ) e o grau de polidispersão ( $D=M_w/M_n$ ) das amostras foram obtidos pelo software ASTRA versão 4.70.07<sup>®</sup>. As análises foram feitas em um cromatógrafo de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) equipado com detector de índice de refração diferencial (RI), modelo WATERS 2410, e com detector de espalhamento de luz laser com multiângulos (MALLS) WYATT TECHNOLOGY, modelo DAWN DSP com 18 canais, acoplados em série. O equipamento possui 4 colunas em série da Ultrahydrogel, Waters<sup>®</sup> (limites de exclusão de  $7 \times 10^6 \text{ Da}$ ,  $4 \times 10^5 \text{ Da}$ ,  $8 \times 10^4 \text{ Da}$  e  $5 \times 10^3 \text{ Da}$ ). Padrões de dextrana obtidos da Sigma-Aldrich<sup>®</sup> (487 kDa, 266 kDa, 124 kDa, 72,2 kDa, 40,2 kDa, 17,2 kDa e 9,4 kDa) foram usados para obter a curva de calibração e massa molecular de referência. A temperatura da coluna foi mantida a  $30^\circ \text{C}$  e o fluxo em  $0,10 \text{ mL min}^{-1}$ . O valor de  $dn/dc$  utilizado foi  $0,125 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$  ( $\lambda =$

690 nm) como relatado na literatura para o ácido celourônico a partir de celulose regenerada<sup>89</sup>.

**Teste colorimétrico com  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ :** as amostras ICACOOH (4,7 mg), ICAAHD (5,3 mg) e ICAIMZ (4,9) foram adicionadas em 3 mL de solução  $2,11 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  por 25 minutos em agitação magnética. Então, fotos foram tiradas das amostras após serem secas por 1 hora à 50 °C.

#### 4.4 ESTUDO CINÉTICO

A atividade catalítica do DEDNPP foi avaliada adicionando uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  do substrato (solução estoque de  $6,07 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em acetonitrila) ao meio reacional, uma cubeta de quartzo, com 1 cm de caminho ótico, contendo 3 mL de solução contendo  $0,28 \text{ mg mL}^{-1}$  de SCACOOH, SCAIMZ ou SCAAHD ou ~5 mg de ICACOOH, ICAIMZ ou ICAAHD.

Para as amostras heterogêneas é utilizada agitação magnética, sendo esta interrompida somente no momento de coletar os espectros e reações feitas na forma de triplicata. As reações foram feitas em condições de pseudo-primeira ordem e o pH foi ajustado com soluções de HCl ou NaOH. O meio reacional tanto das amostras heterogêneas quanto das coloidais continha ainda tampão  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{K}_2\text{PO}_4$  (pH 6-7) ou  $\text{KHCO}_3$  (pH 7,5-10,5) e  $\text{NaN}_3$  (200 ppm) de forma a inibir crescimento microbiológico, sendo a temperatura em 21 °C. As reações foram acompanhadas por espectroscopia UV-VIS pelo aparecimento do produto 2,4-dinitrofenolato que absorve em 400 nm. As reações serão acompanhadas por no mínimo 3 tempos de meia-vida e os dados serão tratados com o software Origin 9 e ajustados com a equação (1):

$$A = A_0 + (1 - e^{-k_{obs} \times t}) \times (A_i - A_0) \quad (1)$$

Em que A é a absorbância em um tempo t,  $A_0$  é a absorbância inicial,  $A_i$  é a absorbância no tempo infinito (todas absorbâncias em 400 nm),  $k_{obs}$  é a constante de velocidade observada e t é o tempo.

Já para o organofosforado Paraoxon que é mais estável e tóxico que o substrato DEDNPP, os estudos catalíticos foram feitos em temperatura maior que o DEDNPP e mantidos em frasco selado. Uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  do pesticida

Paraoxon ( $2 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  em acetonitrila) foi adicionado em um frasco eppendorf de 2 mL de solução contendo 0,28 mg/mL de SCACOOH, SCAIMZ ou SCAAHD ou ~5 mg de ICACOOH, ICAIMZ ou ICAAHD. Os frascos foram selados e mantidos imersos em banho maria a 30 °C e agitação magnética. As soluções continham tampão e  $\text{NaN}_3$  nas mesmas condições que para o substrato DEDNPP. A reação foi acompanhada pelo aparecimento do produto 4-nitrofenolato que absorve em 400 nm e as curvas cinéticas ajustadas pela equação (1).

A atividade catalítica das amostras SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD foi avaliada por 3 ciclos de reação. As condições de reação foram as mesmas das descritas acima, porém após o final da reação entre o biocatalisador e o substrato DEDNPP, outra alíquota de 10  $\mu\text{L}$  da solução estoque de DEDNPP ( $6,07 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em acetonitrila) foi adicionada na cubeta de quartzo e a reação foi monitorada (segundo ciclo). Após a completa reação no segundo ciclo, uma terceira alíquota de DEDNPP foi adicionada ao meio reacional e a atividade catalítica no terceiro ciclo foi mensurada.

Na reação com o CDNB, uma alíquota de 10  $\mu\text{L}$  ( $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em acetonitrila) foi adicionada ao meio reacional, uma cubeta de quartzo, com 1 cm de caminho ótico, contendo 3 mL de solução contendo 0,28 mg/mL de SCACOOH, SCAIMZ ou SCAAHD ou ~5 mg de ICACOOH, ICAIMZ ou ICAAHD. As reações foram acompanhadas espectroscopicamente pelo aparecimento da banda em 400 nm do produto 2,4-dinitrofenolato e as curvas cinéticas ajustadas pela Equação 1. As soluções foram tamponadas com  $\text{KHCO}_3$  ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e mantidas com  $\text{NaN}_3$  (200 ppm).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho serão descritos aspectos da síntese e caracterização da CA e das amostras sintetizadas, bem como o estudo cinético das amostras funcionalizadas com imidazol (ICAIMZ e SCAIMZ) e com ácido hidroxâmico (ICAAHD e SCAAHD) nas reações de desfosforilação dos organofosforados DEDNPP e Paraoxon. Cada rota de síntese foi pensada com foco na obtenção do catalisador final: (i) o tratamento alcalino da amostra *in natura* de CA com a finalidade de expor a celulose e seus grupos hidroxilas; (ii) a oxidação pelo método TEMPO/NaBr/NaClO a fim de obter dois materiais distintos contendo grupos ácidos carboxílicos que são os sítios alvos da funcionalização covalente (um sólido com grande área superficial de fibras celulósicas expostas e um colóide de baixa massa molar); (iii) e por fim a funcionalização covalente com grupos nucleofílicos conhecidos por sua atividade catalítica nas reações de desfosforilação. Ainda, vale destacar o cuidado no *design* estratégico das rotas para aliar a Química Verde: (i) condições brandas de reação: temperatura e pressão ambientes, uso de água como solvente, entre outros; (ii) utilização de reagente atóxicos/baixa toxicidade e em baixas concentrações e reações de modificação química conhecidas por seu alto rendimento; (iii) a escolha do material *template* casca de arroz por ser biodegradável, renovável, de baixo custo, bem distribuído mundialmente e com uma estrutura hierárquica ideal ao biocatalisador.

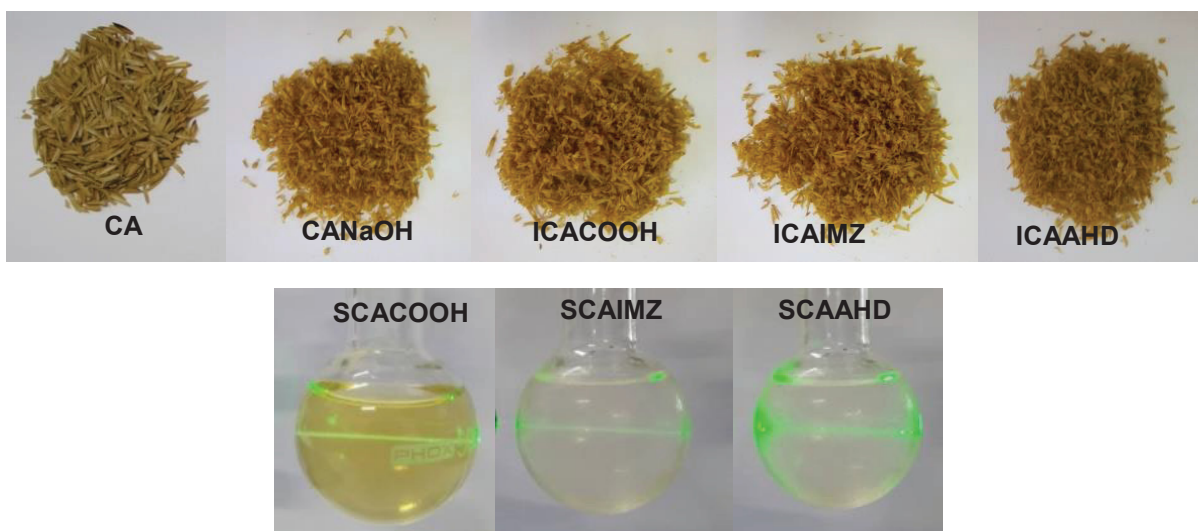
Dessa forma, a ideia do trabalho de empregar um resíduo agrícola como catalisador da degradação de um pesticida, utilizado na própria cultura, é inovadora. É ainda inédito e não reportado na literatura: (i) a oxidação da CA pelo método TEMPO/NaBr/NaClO levando a um sólido e a um colóide de baixa massa molar; e (ii) a funcionalização desses materiais com imidazol e ácidos hidroxâmicos pelo método EDC/NHS.

## 5.1 SÍNTESE

Após o tratamento alcalino da CA, observou-se uma solução de coloração marrom escuro, o que era esperado devido à solubilização de compostos orgânicos derivados de lignina, ceras, graxas,  $\text{SiO}_2$  e outros inorgânicos, etc<sup>16,83</sup>. Isso é comprovado pela redução em massa de 22,32% da CANaOH em relação a CA, além de uma coloração mais clara.

Nenhuma diferença visual entre as amostras CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD foi notada. Já a amostra SCACOOH apresentou uma coloração mais amarelada que SCAIMZ e SCAAHD, porém todas apresentaram efeito *Tyndall*<sup>90</sup>, um indicativo do sucesso na síntese dos coloides (FIGURA 22).

FIGURA 22 – FOTOS DAS AMOSTRAS

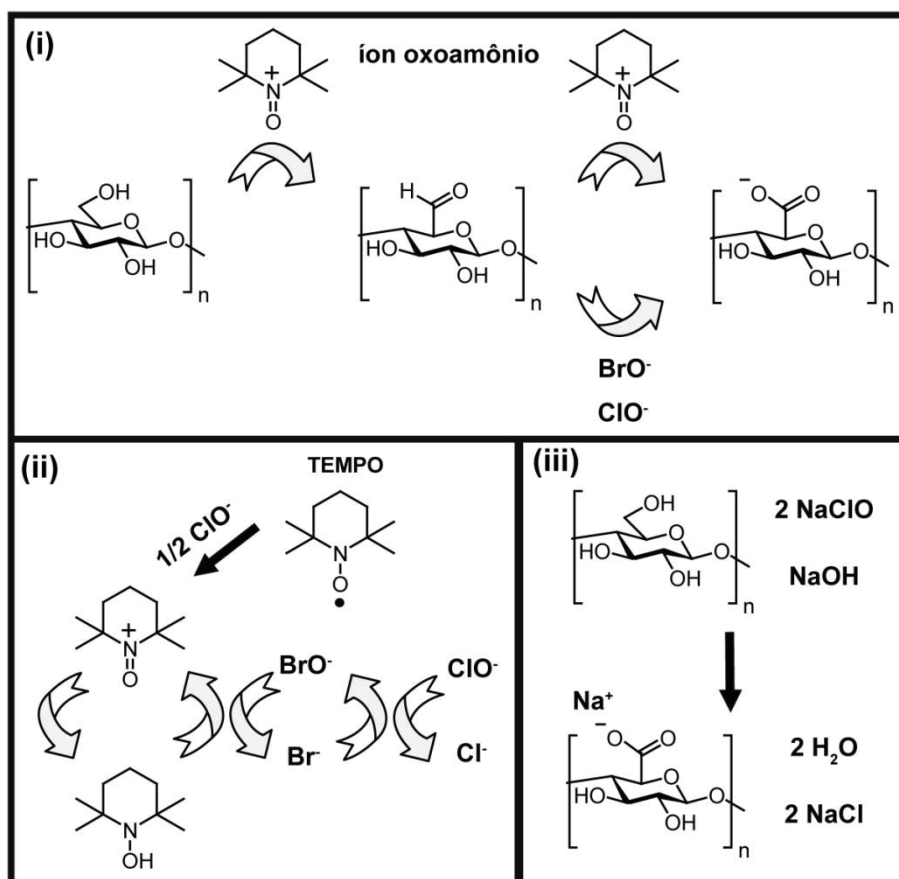


FONTE: O Autor (2019).

A FIGURA 23 apresenta a reação de oxidação pelo método TEMPO/NaBr/NaClO. Esse método de oxidação se dá através de uma sequência de reações: (i) o íon oxoamônio é o responsável pela oxidação dos álcoois primários em aldeídos e destes em ácidos carboxílicos; (ii) o íon oxoamônio é gerado pela oxidação do TEMPO pelo  $\text{BrO}^-$ , que é gerado pela oxidação do  $\text{Br}^-$  pelo  $\text{ClO}^-$ ; (iii) é consumido um  $\text{OH}^-$  do meio reacional por hidroxila oxidada, o que permite o acompanhamento do curso da reação, bem como o controle de sua extensão<sup>91</sup>. Paralelamente, pode ocorrer a oxidação dos aldeídos gerados à ácidos carboxílicos

pelos íons  $\text{BrO}^-$  e  $\text{ClO}^-$ <sup>91</sup>. Dessa forma, os íons  $\text{BrO}^-$  e  $\text{ClO}^-$  agem como co-catalisadores ao regenerarem o íon oxoamônio, que é convertido a sua forma reduzida ao oxidar as hidroxilas<sup>91</sup>. O método de TEMPO/NaBr/NaClO dessa forma tem como vantagem sua seletividade na oxidação das hidroxilas primárias de polissacarídeos em detrimento das hidroxilas secundárias<sup>31,92</sup>. É conhecido ainda pela alta taxa de conversão (próxima à 100%) nas condições ideais de pH ( $\text{pH} \leq 10$ ), temperatura ( $\leq 4^\circ\text{C}$ ), proporção dos reagentes (TEMPO como sacrifício), etc<sup>93-95</sup>.

FIGURA 23 – REAÇÃO DE OXIDAÇÃO PELO MÉTODO TEMPO/NABR/NACLO: (i) OXIDAÇÃO DAS HIDROXILAS À ÁCIDOS CARBOXÍLICOS PELO ÍON OXOAMÔNIO; (ii) FORMAÇÃO DO ÍON OXOAMÔNION PELA OXIDAÇÃO DO TEMPO; (iii) REAÇÃO GLOBAL DE OXIDAÇÃO



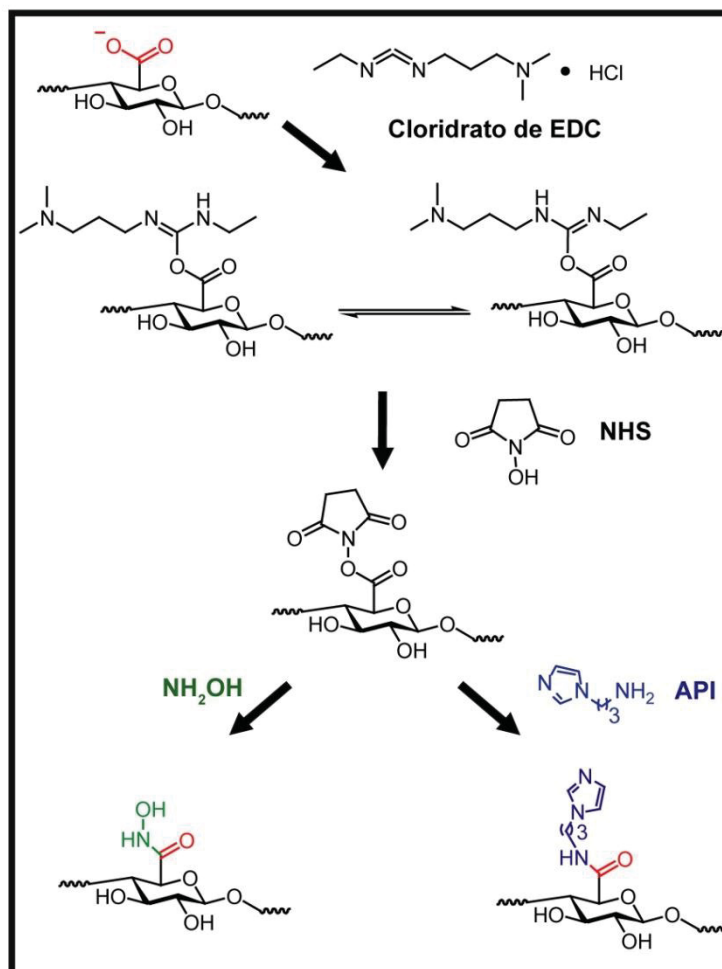
FONTE: O Autor (2019).

Entretanto, dadas às condições em que foram realizadas as sínteses das amostras SCACOOH e ICACOOH (temperatura ambiente, pH 10 e alto tempo de reação), espera-se que ocorra certo grau de despolimerização por  $\beta$ -eliminação. Adicionalmente espera-se que em menor grau que ocorra despolimerização da lignina, devido ao pH do meio reacional levemente alcalino. Um indício dessas

reações paralelas é o consumo de NaOH superior ao esperado única e exclusivamente pela reação de oxidação TEMPO/NaBr/NaClO. Entretanto, essas reações paralelas não configuram um problema, uma vez que as amostras oxidadas SCACOOH e ICACOOH passaram por diálise e lavagem, respectivamente, e os produtos de  $\beta$ -eliminação e despolimerização da lignina apresentam baixa massa molar e são em grande parte eliminados nessas etapas.

O mecanismo de funcionalização pelo método EDC/NHS é apresentado na FIGURA 24. Esse método se baseia na ativação da carbonila dos ácidos carboxílicos pela carbodiimida EDC seguida de um ataque da carbonila ativada pelo NHS. Então, a carbonila ativada com NHS pode ser atacada por um nucleófilo fraco (o nitrogênio da hidroxilamina ou a amina do API, no caso deste trabalho), formando uma ligação amida<sup>17,86,96</sup>.

FIGURA 24 – REAÇÃO DE FUNCIONALIZAÇÃO DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS À IMIDAZÓIS OU ÁCIDOS HIDROXÂMICOS PELO MÉTODO EDC/NHS



FONTE: O Autor (2019).

De forma análoga que as suas precursoras SCACOOH e ICACOOH, as amostras funcionalizadas com imidazol (SCAIMZ e ICAIMZ) e ácidos hidroxâmicos (SCAAHD e ICAAHD) foram dializadas e lavadas, respectivamente. Essas etapas de purificação eliminam os reagentes API e  $\text{NH}_2\text{OH}$  e os catalisadores EDC/NHS facilmente uma vez que apresentam baixa massa molar e alta solubilidade em água.

Dessa forma, variando o grau de oxidação da celulose nas amostras, foi possível obter amostras sólidas e colóides, totalizando 7 amostras derivadas da CA, além da própria, que foram caracterizadas pelas técnicas descritas no item 4.3.

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO

A fim de comprovar e quantificar as modificações químicas e físicas propostas na FIGURA 21, as amostras foram caracterizadas por diversas técnicas de caracterização que serão discutidas a seguir.

### 5.2.1 FTIR

Como forma de comprovar as modificações físicas e químicas em cada etapa de síntese, as amostras foram analisadas por FTIR. Na FIGURA 25 têm-se os espectros de FTIR em modo ATR para as amostras sólidas CA, CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD, sendo a análise realizada na amostra sólida sem nenhum preparo adicional. Já a FIGURA 26 apresenta os espectros de FTIR em modo ATR para as amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD na forma de filme. Os espectros revelaram para todas as amostras uma banda em  $2920\text{ cm}^{-1}$  devido à  $\nu(\text{C-H})$  assimétrico e em  $2851\text{ cm}^{-1}$  devido à  $\nu(\text{C-H})$  simétrico que são característicos de CH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> da celulose e hemiceluloses<sup>17,82,97</sup>. Estas bandas tem intensidades similares nas diversas amostras sólidas e de forma análoga entre as amostras coloidais. Assim, o aumento/diminuição de outras bandas foi comparado com relação a essas duas bandas  $2920\text{ cm}^{-1}$  e em  $2851\text{ cm}^{-1}$ , uma vez que são “constantes” de uma amostra para outra. A CA apresenta uma banda com intensidade baixa, porém larga de  $3200\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ , atribuída a  $\nu(\text{O-H})$  de hidroxilas e água adsorvida. A intensidade dessa banda aumenta na amostra CANaOH, o que é atribuído a grupos OH que não participam de ligações de hidrogênio após o tratamento alcalino<sup>82,83</sup>. Isso é devido à eliminação no tratamento alcalino de parte da hemicelulose e lignina que fazem ligações de hidrogênio com a celulose, deixando assim hidroxilas da celulose livres. Essa banda aumenta de intensidade e largura ( $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ ) para a amostra ICACOOH, devido a presença de  $\nu(\text{O-H})$  de ácidos carboxílicos após a oxidação por TEMPO/NaBr/NaClO. Essa banda diminui de intensidade para as amostras ICAIMZ e ICAAHD em relação à ICACOOH, devido à funcionalização de parte dos ácidos carboxílicos em ligações amida na ICAIMZ e ICAAHD. Para as amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD, é possível observar de forma análoga uma banda larga e intensa de  $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$  atribuída a  $\nu(\text{O-H})$  de ácidos carboxílicos após a oxidação por TEMPO/NaBr/NaClO, podendo

ter ainda contribuição nessa região de água adsorvida. Essa região é centrada numa banda em  $3398\text{ cm}^{-1}$  atribuída a  $\nu(\text{O-H})$  de hidroxilas dos polissacarídeos e presente nas três amostras coloidais<sup>97</sup>. Já a banda em  $3287\text{ cm}^{-1}$  presente nas amostras SCAIMZ e SCAAHD é atribuída a  $\nu(\text{N-H})$  do API ancorado na SCAIMZ<sup>98,99</sup> e dos ácidos hidroxâmicos na SCAAHD<sup>75,98,100,101</sup>.

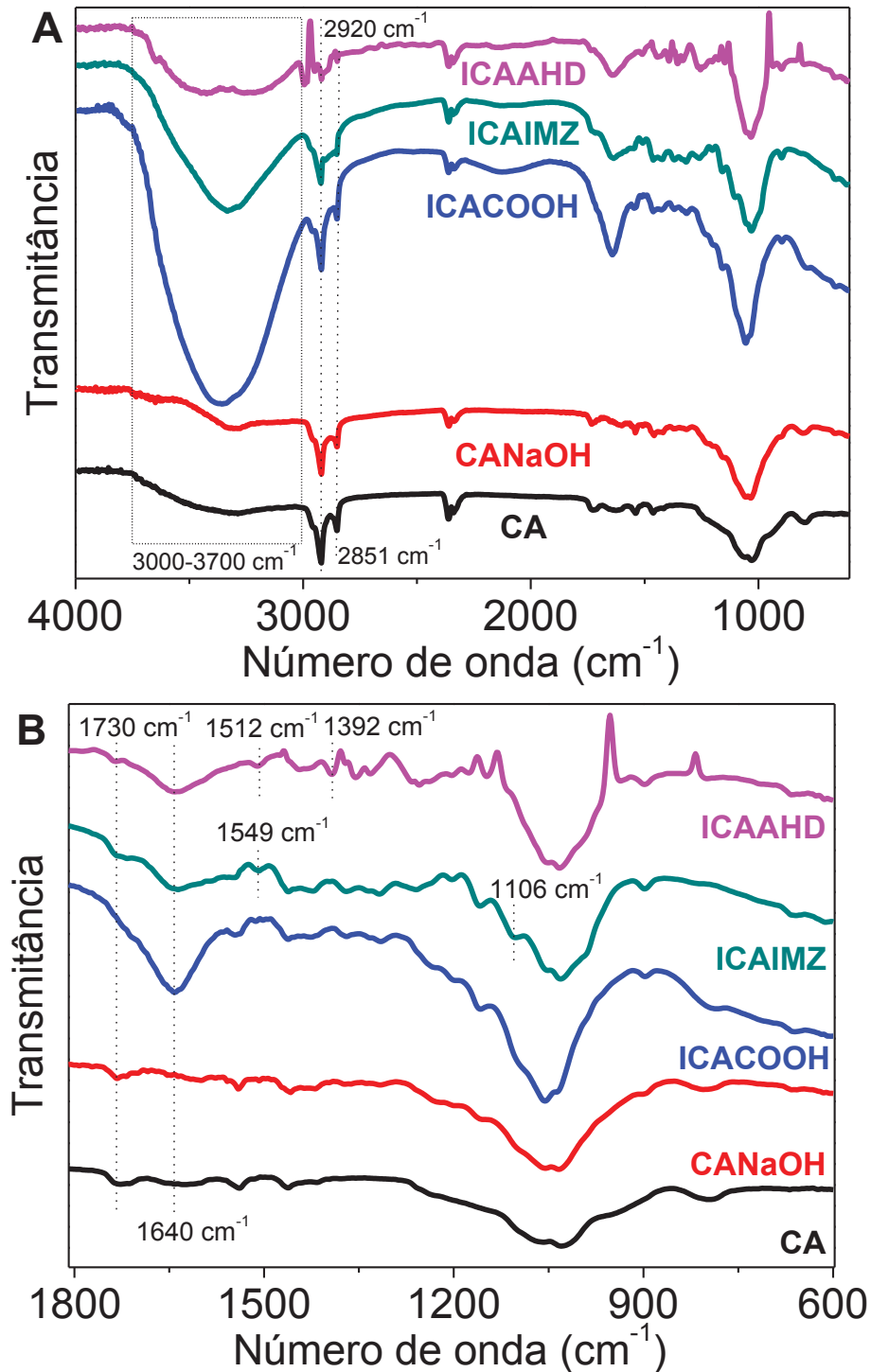
A banda em  $1730\text{ cm}^{-1}$  presente nas amostras ICACOOH, ICAAHD e ICAIMZ é atribuída a  $\nu(\text{C=O})$  de ácidos carboxílicos livres<sup>39,102,103</sup>. Outra banda na região de  $1640\text{ cm}^{-1}$  para as amostras sólidas é devido a  $\nu(\text{C=O})$  de carboxilatos de sódio<sup>102</sup>, sendo sua intensidade maior nas amostras ICACOOH, ICAAHD e ICAIMZ do que nas amostras não oxidadas CA e CANaOH. Essa mesma banda está presente na amostra SCACOOH em  $1610\text{ cm}^{-1}$  e é deslocada para  $1640\text{ cm}^{-1}$  nas amostras SCAIMZ e SCAAHD, sendo ainda atribuída a  $\nu(\text{C=O})$  de carboxilatos de sódio<sup>102</sup>. As bandas de  $\nu(\text{C=O})$  indicam a oxidação bem sucedida de hidroxilas a ácidos carboxílicos nas amostras SCACOOH e ICACOOH. Ainda, a presença das bandas  $\nu(\text{C=O})$  (livre e carboxilato) nas amostras ICAAHD e ICAIMZ e da banda  $\nu(\text{C=O})$  de carboxilato nas amostras SCAIMZ e SCAAHD sugerem a presença de ácidos carboxílicos/carboxilatos que não foram funcionalizados nessas amostras.

Já com relação às amostras funcionalizadas com imidazol ICAIMZ e SCAIMZ, as bandas em: (i)  $1549\text{ cm}^{-1}$  para ICAIMZ e  $1559\text{ cm}^{-1}$  para SCAIMZ e devido ao  $\delta(\text{N-H})$  de amida<sup>16,103</sup>; e (ii)  $1423\text{ cm}^{-1}$  para a ICAIMZ e  $1434\text{ cm}^{-1}$  para a SCAIMZ atribuídas ao  $\nu(\text{C-N})$  de amida II, indicam a funcionalização das amostras com imidazol pela formação da ligação amida<sup>15,17,41,42,104</sup>. Além disso, a presença do anel imidazólico na ICAIMZ e SCAIMZ é sugerida pelas bandas em  $1511\text{ cm}^{-1}$  e  $1507\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, atribuídas aos modos vibracionais  $\delta(\text{C=C})$  e  $\delta(\text{C-H})$ <sup>105,106</sup>; e em  $1106\text{ cm}^{-1}$  para a amostra ICAIMZ, devido ao  $\delta(\text{C-H})$ , todos do anel imidazólico<sup>105,106</sup>.

Com relação às amostras funcionalizadas com ácidos hidroxâmicos ICAAHD e SCAAHD é possível observar uma série de bandas que indicam a funcionalização bem sucedida com ácidos hidroxâmicos: (i)  $1512\text{ cm}^{-1}$  para ICAAHD e  $1559\text{ cm}^{-1}$  para SCAAHD atribuída aos modos vibracionais de  $\nu(\text{C-N})$ ,  $\delta(\text{O-H})$  e  $\delta(\text{N-H})$ <sup>41,75,100,107</sup>; (ii)  $1392\text{ cm}^{-1}$  para a amostra ICAAHD é atribuída a  $\delta(\text{O-H})$ <sup>107,108</sup>; (iii)  $1256\text{ cm}^{-1}$  para ICAAHD e  $1259\text{ cm}^{-1}$  para SCAAHD, devido ao  $\delta(\text{C-N-H})$ <sup>107,108</sup>; e (iv)

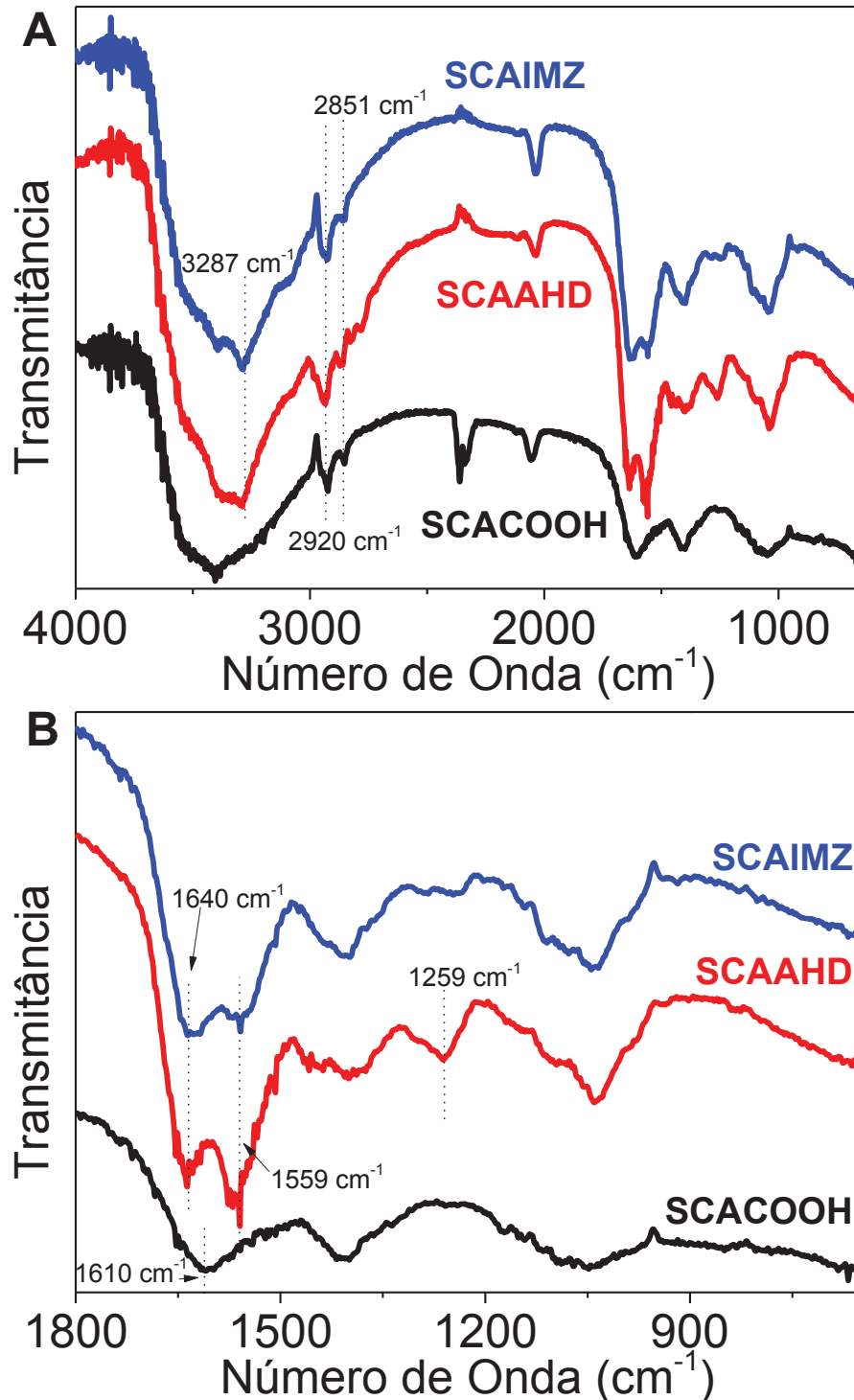
por último  $1145\text{ cm}^{-1}$  para a amostra ICAAHD relacionada a  $\delta(\text{C-N-O})^{107,108}$  de ácidos hidroxâmicos.

FIGURA 25 – FTIR EM MODO ATR DAS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD: **A** NA REGIÃO DE  $4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$  E **B** NA REGIÃO DE  $1800\text{-}600\text{ cm}^{-1}$



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 26 – FTIR EM MODO ATR DAS AMOSTRAS COLOIDAIS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD NA FORMA DE FILME: **A** NA REGIÃO DE 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  E **B** NA REGIÃO DE 1800-650  $\text{cm}^{-1}$



FONTE: O Autor (2019).

Ainda, todas as amostras apresentam bandas em  $1161 \text{ cm}^{-1}$  ( $\nu$  (C-O-C)),  $1057 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta$ (C-O) e  $\nu$ (O-Si-O) de sílica),  $1035 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta$ (C-O)) e  $895 \text{ cm}^{-1}$  ( $\delta$ (C-H)) todas relacionadas à celulose e hemiceluloses e  $798 \text{ cm}^{-1}$  devido  $\delta$ (O-Si-O) de sílica

<sup>83,97,102</sup>, esta última presente somente nas amostras sólidas. A presença dessas bandas referentes a modos vibracionais referentes a ligações de Si-O nas amostras sólidas sugere que apesar do tratamento alcalino eliminar a sílica superficial como observado nas imagens de MEV, ainda existe sílica na estrutura interna das amostras.

Assim, os espectros de FTIR indicaram a presença de ácidos carboxílicos nas amostras SCACOOH e ICACOOH, confirmando a oxidação das hidroxilas primárias pelo método TEMPO/NaBr/NaClO. As amostras SCAIMZ e ICAIMZ apresentaram bandas referentes a ligações C-N de amida e bandas do anel imidazólico, o que indica a funcionalização covalente bem sucedida das amostras com grupos imidazol. Já os espectros das amostras SCAAHD e ICAAHD apresentaram bandas referentes à ligação C-N de ácidos hidroxâmicos, além de outras bandas atribuídas à ácidos hidroxâmicos, indicando a funcionalização covalente bem sucedida das amostras com ácidos hidroxâmicos. A presença de bandas referentes a modos vibracionais de Si-O nas amostras sólidas sugere que a sílica amorfa interior não foi totalmente eliminada.

### 5.2.2 Termogravimetria

Foram realizados ensaios termogravimétricos das amostras sólidas como forma de avaliar a estabilidade térmica, hidroflicidade, os diferentes eventos de perda de massa presentes e a porcentagem final de resíduo. Na FIGURA 27 e na FIGURA 28 são apresentadas as curvas termogravimétricas (TGA) e as derivadas das mesmas (DTG), respectivamente, para as amostras sólidas CA, CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD em ar sintético. Já a TABELA 3 apresenta os eventos de perda de massa para essas amostras, bem como a porcentagem final de material. São evidentes 3 perdas características de massa: (i) até em torno de 150 °C para todas as amostras, que é atribuída à água adsorvida<sup>83</sup>; (ii) de ~200-350 °C devido as hemiceluloses, lignina, celulose amorfa e outros compostos orgânicos<sup>109</sup>; (iii) de ~360-580 °C devido a celulose cristalina e lignina<sup>83,109</sup>.

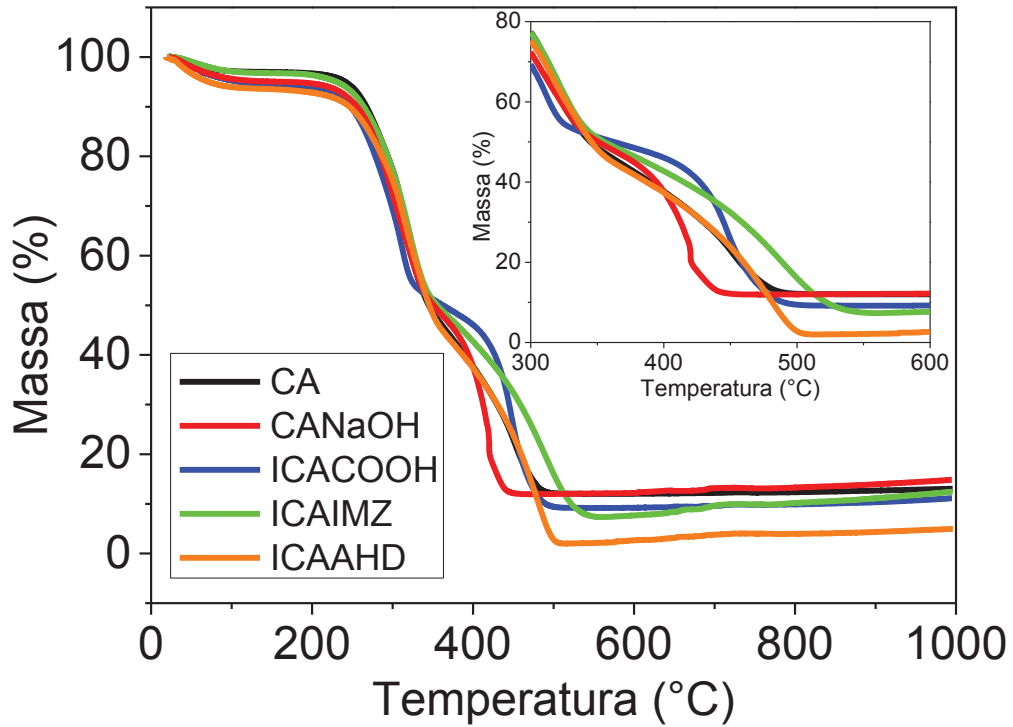
O primeiro evento de perda de massa (até ~150 °C) é mais acentuado na ICANaOH que na CA, um indício que o tratamento alcalino torna os grupos hidroxila da celulose na ICANaOH mais disponíveis, adsorvendo assim mais água. Da mesma forma, na amostra ICACOOH essa perda de massa foi maior que na ICANaOH, o

que também está de acordo uma vez que a presença de ácidos carboxílicos torna a amostra ainda mais hidrofílica. A amostra ICAAHD apresentou essa perda de massa superior que a ICACOOH, sendo a amostra mais hidrofílica dentre as 5 amostras heterogêneas. Já a amostra ICAIMZ apresentou essa perda de massa inferior à amostra precursora ICACOOH e todas as demais, sendo a mais hidrofóbica. Isso é esperado uma vez que o grupo imidazol e a cauda alifática do grupo API ancorado na amostra ICAIMZ a torna mais hidrofóbica que a precursora ICACOOH. Esse aumento de hidrofobicidade já foi reportado por García e colaboradores que funcionalizaram a casca de arroz com silanos, tornando esta mais hidrofóbica que a casca de arroz com tratamento alcalino<sup>110</sup>.

Já o segundo evento de perda de massa (~200-350 °C) é menor em todas as amostras quando comparado a CA. Isso é devido à eliminação de parte dos compostos orgânicos lignínicos e hemiceluloses durante o tratamento alcalino que explica a menor perda de massa quando comparada a CA.

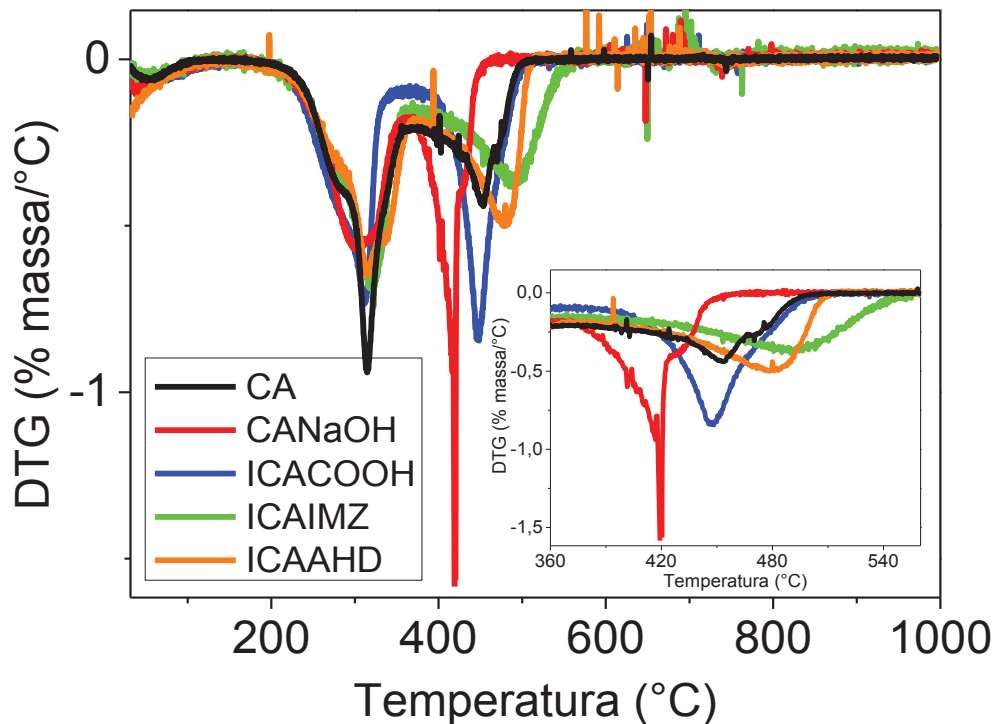
O terceiro evento de perda de massa (~360-580 °C) ocorre a uma taxa maior e termina cerca de 50 °C antes na CANaOH do que na CA. Isso pode ser atribuído a uma maior porosidade na estrutura após o tratamento alcalino, como já foi relatado na literatura<sup>83</sup>. Entretanto, a amostra ICACOOH teve um aumento na estabilidade térmica em relação à CANaOH, o que pode ser atribuído as ligações de hidrogênio dos ácidos carboxílicos presentes na ICACOOH. Após a funcionalização com grupos imidazol e ácido hidroxâmico, as amostras ICAIMZ e ICAAHD apresentaram aumento na estabilidade térmica em relação à ICACOOH, com essa perda de massa ocorrendo a uma taxa menor e em temperaturas maiores, comportamento já relatado para amostras funcionalizadas com grupos nitrogenados<sup>17,111,112</sup>. Ainda, houve um evento de perda de massa em ~340 °C presente somente na amostra ICAAHD que pode ser atribuído a um rearranjo de Lossen dos grupos ácidos hidroxâmicos resultando em um grupo amina e a liberação de CO<sub>2</sub><sup>113,114</sup>, um indício da funcionalização bem sucedida da ICAAHD.

FIGURA 27 – TGA PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD EM AR SINTÉTICO, FLUXO DE 100 ML MIN<sup>-1</sup> E TAXA DE AQUECIMENTO DE 5 °C MIN<sup>-1</sup>



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 28 – DTG PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD EM AR SINTÉTICO, FLUXO DE 100 ML MIN<sup>-1</sup> E TAXA DE AQUECIMENTO DE 5 °C MIN<sup>-1</sup>



FONTE: O Autor (2019).

TABELA 3 – EVENTOS DE PERDA DE MASSA PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD

Amostra	25-150°C (% H <sub>2</sub> O adsorvida)	150-350°C (% lignina, celulose amorfa, hemiceluloses)	350-580°C (% lignina e celulose cristalina)	Resíduo à 800 °C
CA	3,00	48,47	36,53	12,34
CANaOH	4,93	44,90	38,02	13,30
ICACOOH	5,61	43,17	42,03	9,90
ICAIMZ	3,24	45,72	43,55	10,18
ICAAHD	6,47	45,32	45,76	3,96

FONTE: O Autor (2019).

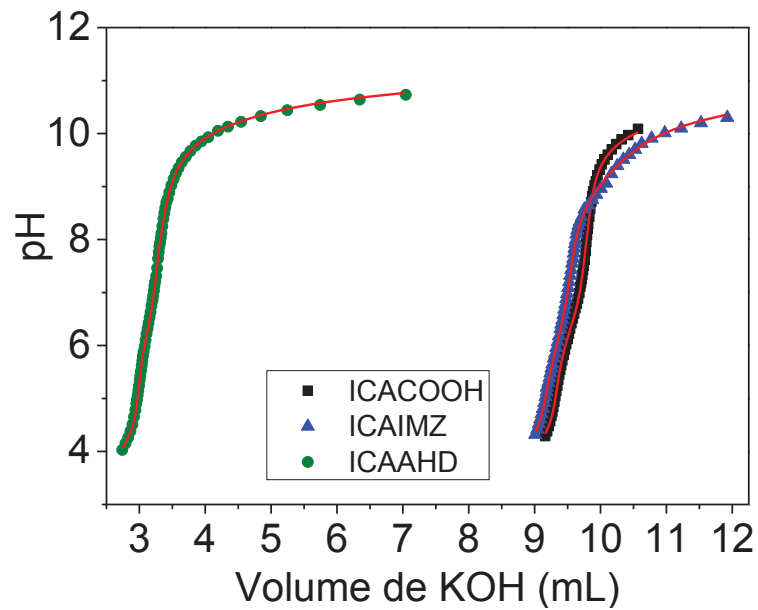
Dessa forma, a análise termogravimétrica das amostras revelou 3 perdas de massa características para as amostras heterogêneas que estão de acordo com a literatura. Outra característica sugerida para as amostras sólidas foi o caráter mais hidrofóbico/hidrofílico após cada etapa de síntese, indícios das modificações químicas nas amostras. Por fim, as amostras ICAIMZ e ICAAHD apresentaram a maior estabilidade térmica dentre as outras amostras, o que é devido à maior estabilidade de materiais funcionalizados com grupos nitrogenados. Exclusivamente para a amostra ICAAHD foi possível observar uma sutil perda de massa extra em ~340 °C que está de acordo com a literatura e é coerente com ácidos hidroxâmicos, comprovando a funcionalização bem sucedida com ácidos hidroxâmicos.

### 5.2.3 Titulações Potenciométricas

A fim de comprovar e quantificar os grupos funcionais presentes nas amostras foram realizadas titulações potenciométricas das amostras. A FIGURA 29 apresenta as titulações potenciométricas das amostras heterogêneas ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD e a FIGURA 30 apresenta as titulações potenciométricas das amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD. A titulação potenciométrica da amostra CANaOH não revelou nenhum  $pK_a$  para a amostra na faixa de pH 2,5-11. Isso indica que não existem grupos ionizáveis nessa faixa de pH para a amostra CANaOH, ou seja, somente celulose esta presente na superfície dessa amostra. De

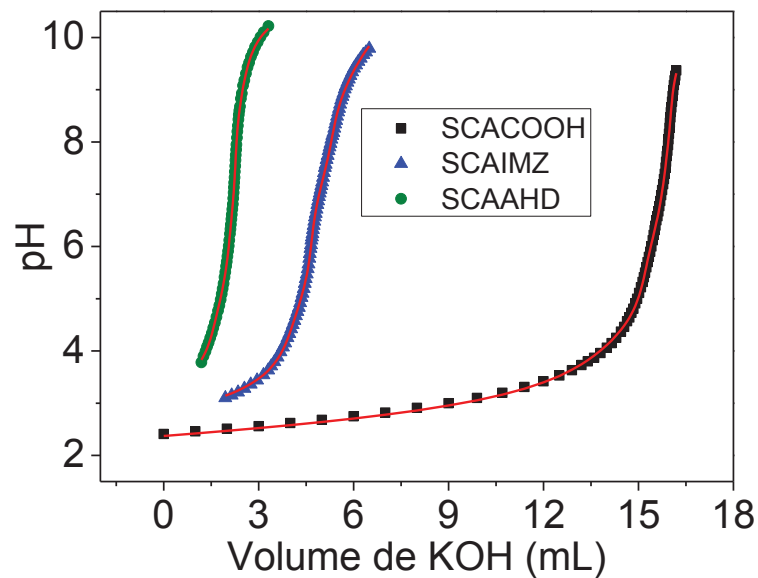
fato, o  $pK_a$  da extremidade redutora, que é o mais baixo, fica em torno de 12-12,5 para monossacarídeos e polissacarídeos<sup>115</sup>. Já a ausência de fenóis da lignina na amostra CANaOH se deve ao fato da lignina ser eliminada durante o tratamento alcalino. A FIGURA 31 mostra os equilíbrios ácido-base propostos para as amostras com ácidos carboxílicos (SCACOOH e ICACOOH), imidazol (SCAIMZ e ICAIMZ) e ácidos hidroxâmicos (SCAAHD e ICAAHD). O ajuste das curvas das titulações pelo programa BEST7<sup>88</sup> revelou a presença de dois  $pK_a$ 's para as amostras oxidadas SCACOOH e ICACOOH: O primeiro  $\sim 6$  é devido aos ácidos carboxílicos formados e característico de polissacarídeos<sup>16,17</sup> e o segundo devido a fenóis presentes na lignina nas amostras<sup>16</sup>. A presença de fenóis de lignina nas amostras sólidas (ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD) após a oxidação com TEMPO/NaBr/NaClO pode estar relacionada ao fato de ocorrer um afastamento entre as fibras das amostras, expondo lignina que não foi eliminada no tratamento alcalino. Já nas amostras coloidais a desestruturação de parte da estrutura celulose//hemicelulose/lignina acaba deixando as amostras coloidais (SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD) com uma fração de lignina<sup>116</sup>. Após a funcionalização com imidazol, as amostras SCAIMZ e ICAIMZ apresentaram além dos  $pK_a$ 's descritos para as amostras oxidadas mais um  $pK_a \sim 7$ . Esse  $pK_a$  extra é característico de grupos imidazol<sup>16,17,117</sup>, o que indica a funcionalização bem sucedida. Já as amostras SCAAHD e ICAAHD, além dos  $pK_a$ 's também presentes nas suas amostras precursoras, apresentaram um  $pK_a$  extra de 6,66 e 8,18, respectivamente, que são atribuídos a ácidos hidroxâmicos. Apesar da diferença de mais de uma unidade entre os  $pK_a$ 's das amostras funcionalizadas com ácidos hidroxâmicos, esses valores estão de acordo a literatura e é comum a grande diferença entre ácidos hidroxâmicos<sup>79,101</sup>. Dessa forma, os ajustes das curvas de titulação confirmam o modelo proposto na FIGURA 31 para os equilíbrios ácido-base nas amostras.

FIGURA 29 – TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS A 25 °C PARA AS AMOSTRAS SÓLIDAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD UTILIZANDO KOH  $8,93 \times 10^{-3} \text{ MOL L}^{-1}$ . A LINHA VERMELHA CORRESPONDE AO AJUSTE ITERATIVO PELO PROGRAMA BEST<sup>88</sup>



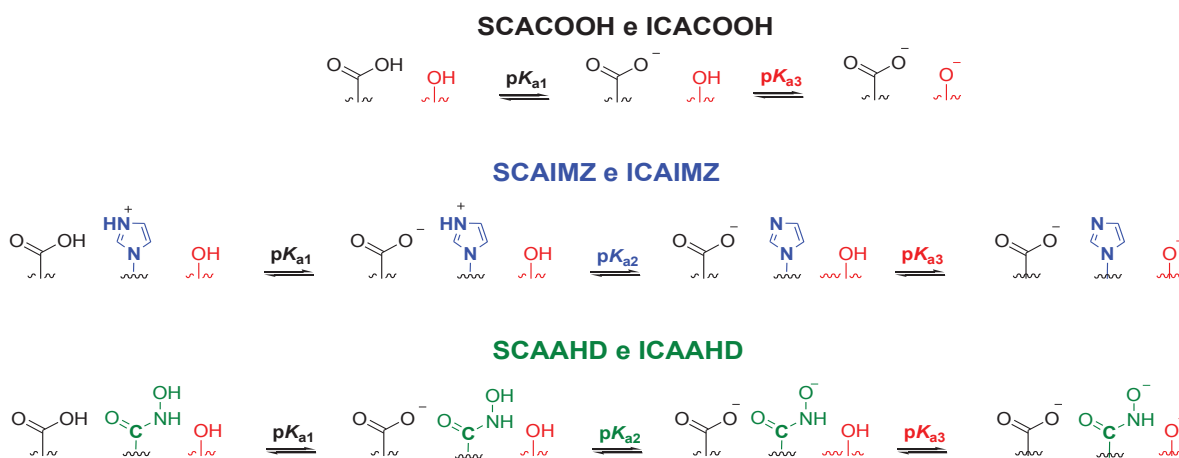
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 30 – TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS A 25 °C PARA AS AMOSTRAS COLOIDAIS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD UTILIZANDO KOH  $8,93 \times 10^{-3} \text{ MOL L}^{-1}$ . A LINHA VERMELHA CORRESPONDE AO AJUSTE ITERATIVO PELO PROGRAMA BEST<sup>88</sup>



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 31 – ESQUEMA DOS EQUILÍBRIOS ÁCIDO-BASE DOS GRUPOS PRESENTES NAS AMOSTRAS SCACOOH, ICACOOH, SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD E ICAAHD.



FONTE: O Autor (2019).

A TABELA 4 apresenta os valores dos  $pK_a$ 's e mmols de cada grupo presente nas amostras, sendo o grau de funcionalização de ácidos carboxílicos em imidazóis de 26,71% e 48,51% para as amostras ICAIMZ e SCAIMZ, respectivamente, e o grau de funcionalização de ácidos carboxílicos em ácidos hidroxâmicos de 37,84% e 29,33% para as amostras ICAAHD e SCAAHD, respectivamente. A ICAIMZ apresentou um grau de funcionalização de ácidos carboxílicos em imidazol similar aos 24,00% reportados para a CCAIMZ<sup>16</sup>, enquanto a SCAIMZ apresenta quase o dobro de conversão quando comparada as outras duas.

TABELA 4 – CONSTANTES DE EQUILÍBRIO PARA OS GRUPOS PRESENTES NAS AMOSTRAS EM QUE NU É O GRUPO NUCLEOFÍLICO PRESENTE (IMIDAZOL OU ÁCIDO HIDROXÂMICO)

Amostra	ICACOOH	ICAIMZ	ICAAHD	SCACOOH	SCAIMZ	SCAAHD
$pK_{a1}$ (COOH)	6,36±0,04	5,95±0,03	6,26±0,03	4,69±0,03	4,90±0,03	4,99±0,02
$pK_{a2}$ (Nu)	-----	7,15±0,03	8,18±0,03	-----	7,25±0,03	6,66±0,02
$pK_{a3}$ (OH)	8,67±0,04	9,12±0,03	9,92±0,03	7,75±0,03	9,27±0,03	8,92±0,02
mmols (COOH) /g de amostra	2,95x10 <sup>-1</sup>	2,36x10 <sup>-1</sup>	2,07x10 <sup>-1</sup>	6,64	2,25	1,60
mmols (Nu)/g de amostra	-----	8,60x10 <sup>-2</sup>	1,26x10 <sup>-1</sup>	-----	2,12	6,64x10 <sup>-1</sup>
mmols (OH)/g de amostra	8,29 x10 <sup>-2</sup>	6,16x10 <sup>-1</sup>	2,90x10 <sup>-1</sup>	7,10x10 <sup>-1</sup>	3,18	1,03

FONTE: O Autor (2019).

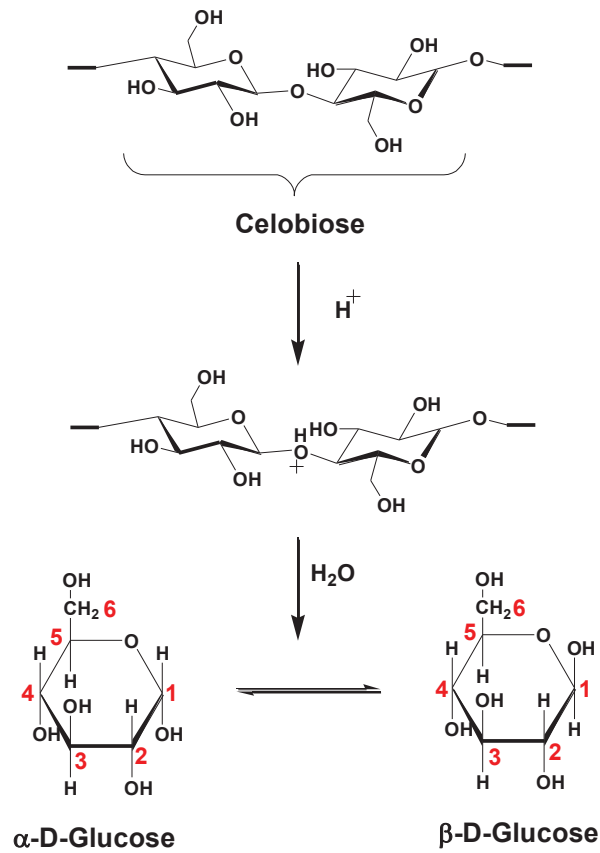
Assim, as titulações potenciométricas puderam confirmar a oxidação das hidroxilas nas amostras ICACOOH e SCACOOH pela presença de  $pK_a$ 's característicos de ácidos carboxílicos. Além disso, foi possível comprovar a funcionalização das amostras ICAIMZ e SCAIMZ com grupos imidazol e as amostras ICAAHD e SCAAH com grupos ácidos hidroxâmicos. Ainda, a presença de ácidos carboxílicos nas amostras ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD e SCAAHD confirma que a funcionalização dessas amostras foi parcial. Por fim, as titulações potenciométricas possibilitaram ainda estimar o grau de funcionalização nas amostras.

#### 5.2.4 $^{13}\text{C}$ RMN

As amostras foram caracterizadas por RMN de  $^{13}\text{C}$  como forma de comprovar as modificações químicas das amostras. Importante salientar ainda a complexidade e dificuldade na realização de análises de RMN na caracterização de amostras complexas de polissacarídeos, que envolve desde a deconvolução de uma grande quantidade de sinais que ocorrem próximos até a atribuição adequada dos mesmos.

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para as amostras sólidas CA, CANaOH, ICACOOH, ICAAHD e ICAIMZ foram feitos após o tratamento das amostras com  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , como descrito em MATERIAIS E MÉTODOS. Dessa forma, após a hidrólise da celulose nas amostras é esperada a presença dos monômeros de  $\alpha$  e  $\beta$ -D-glucose<sup>87,118</sup> como apresentado no esquema da FIGURA 32.

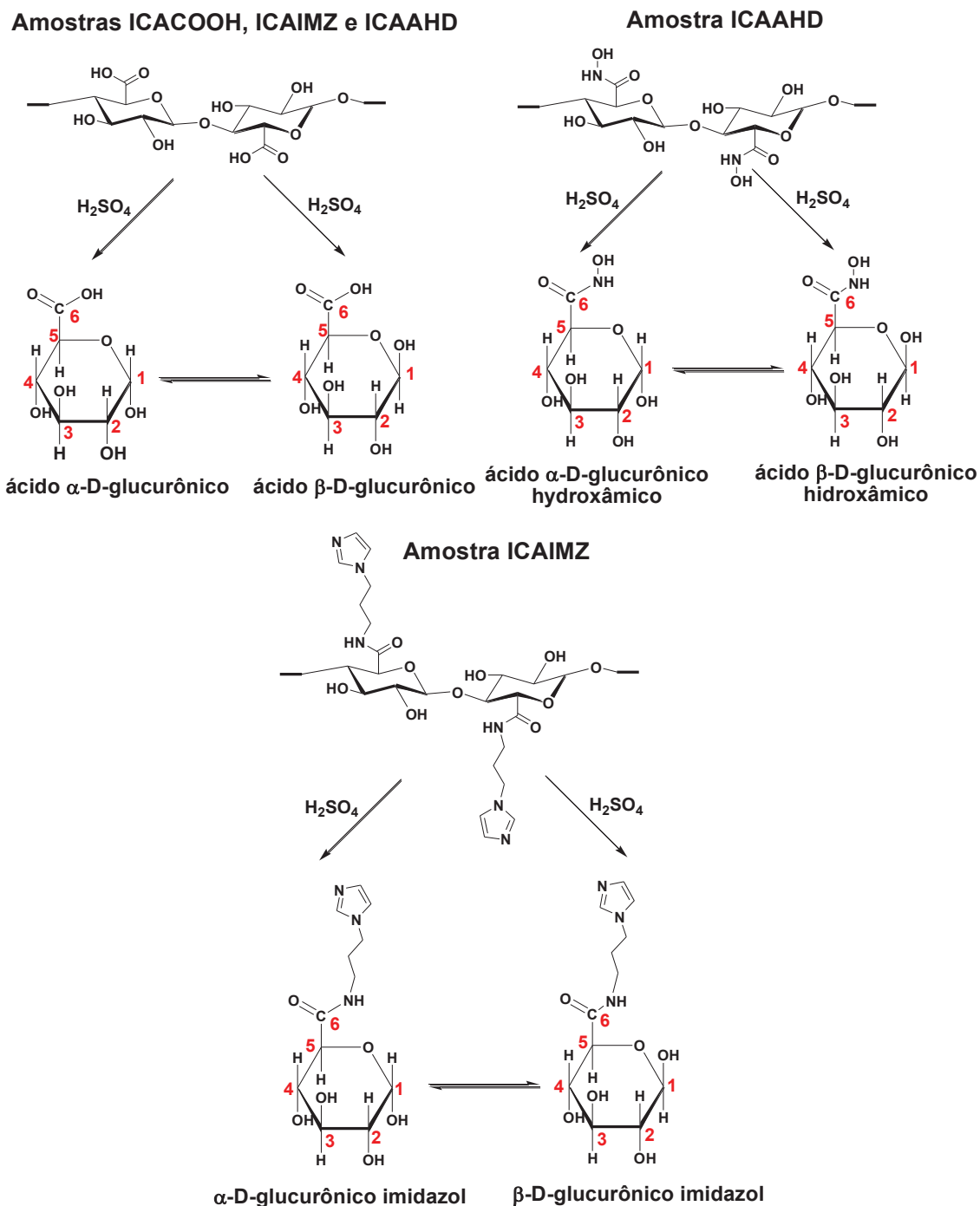
FIGURA 32 – ESQUEMA DE HIDRÓLISE DA CELOBIOSE PRESENTE NAS AMOSTRAS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD



FONTE: O Autor (2019).

De forma análoga, a presença de monômeros modificados na cadeia de celulose contendo ácidos carboxílicos, ácidos hidroxâmicos e imidazóis após a hidrólise levam aos monômeros correspondentes, como apresentado no esquema da FIGURA 33.

FIGURA 33 – ESQUEMA DE HIDRÓLISE DOS MONÔMEROS PRESENTES NAS AMOSTRAS MODIFICADAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD

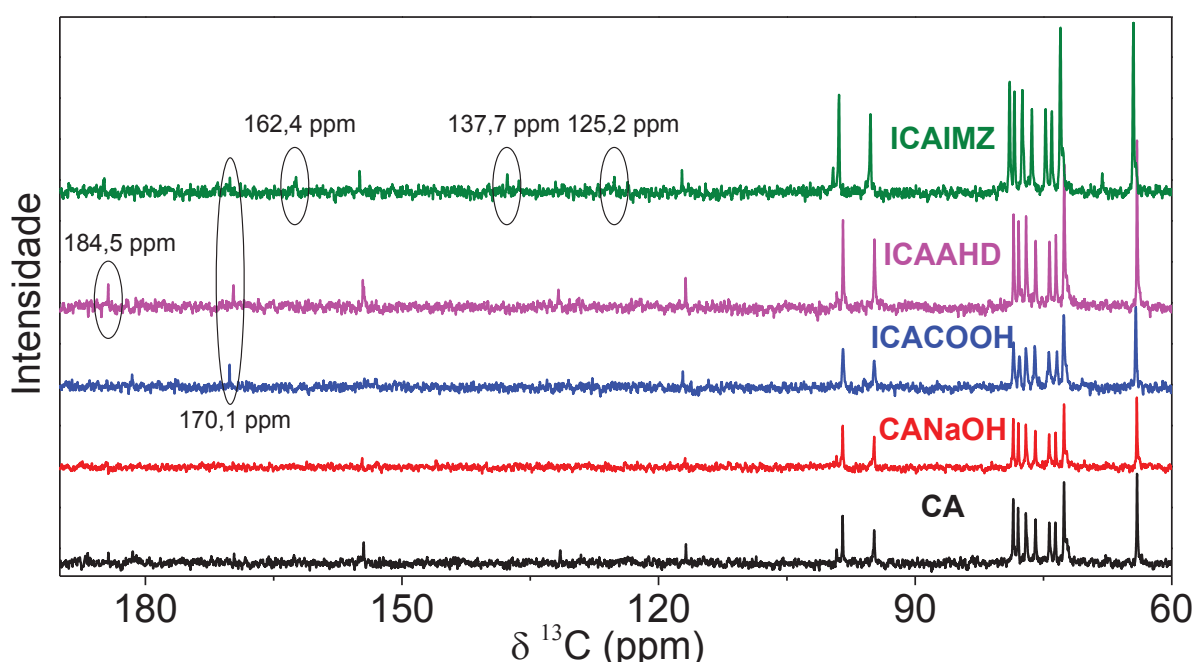


FONTE: O Autor (2019).

Dessa forma, é esperada a presença dos monômeros modificados após a hidrólise de cada amostra. Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  para as amostras CA, CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD são apresentados na FIGURA 34. Todas as amostras após a hidrólise apresentaram deslocamentos químicos característicos da  $\alpha$ -D-glucose e  $\beta$ -D-glucose<sup>119,120</sup>, que são apresentados na TABELA 5. A amostra

ICACOOH apresentou um deslocamento químico em 170,1 ppm<sup>119,121</sup>, atribuído a ácidos carboxílicos (ácidos  $\alpha$  e  $\beta$ -D-glucurônicos), indicando a oxidação bem sucedida das hidroxilas a ácidos carboxílicos. A presença do sinal em 64,1 ppm devido as hidroxilas do C6 de monômeros de  $\alpha$ -D-glucose e  $\beta$ -D-glucose é um indício de que a oxidação foi parcial na amostra ICACOOH. A amostra ICAAHD além dos deslocamentos já citados apresentou ainda um deslocamento químico em 184,5 ppm atribuído aos ácidos  $\alpha$  e  $\beta$ -D-glucurônico hidroxâmico<sup>75,101,122,123</sup>. É possível observar na amostra ICAIMZ os deslocamentos químicos em 31,9, 41,3 44,5, 117,3, 125,2 e 137,7 ppm que são atribuídos a molécula de API ancorada<sup>17,105,124</sup>, além do deslocamento químico em 162,4 ppm atribuído a ligação amida, indicando a funcionalização covalente<sup>17</sup>. Além disso, a presença do deslocamento químico em 170,1 ppm nas amostras ICAIMZ e ICAAHD indica a presença de ácidos carboxílicos, uma evidência da funcionalização parcial das amostras com imidazóis e ácidos hidroxâmicos, respectivamente. Já os deslocamentos químicos em 116,6, 131,5 e 154,4 ppm foram observados na amostra CA e são característicos de compostos lignínicos<sup>125</sup>. Esses deslocamentos químicos estão ausentes ou apresentam intensidade menor nas demais amostras, um indício da menor porcentagem de lignina nas amostras após o tratamento alcalino com NaOH.

FIGURA 34 – ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DAS AMOSTRAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ EM 51%  $\text{H}_2\text{O}$ , 39%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  E 10%  $\text{D}_2\text{O}$ .



FONTE: O Autor (2019).

TABELA 5 –  $\delta^{13}\text{C}$  (PPM) EM RELAÇÃO AO PADRÃO TMSP (0 PPM) PARA AS AMOSTRAS INSOLÚVEIS CA, CANAOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ TRATADAS COM  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>CA</b>	98,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 94,8 (CHOH- $\alpha$ -C1), 78,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 78,0 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 75,9 (CHOH- $\alpha$ -C3), 74,4 (CHOH- $\alpha$ -C2), 73,6 (CHO- $\alpha$ -C5), 72,7 (CHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C4), 64,1 ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ e $\beta$ -C6)
<b>CANAOH</b>	98,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 94,8 (CHOH- $\alpha$ -C1), 78,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 78,0 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 75,9 (CHOH- $\alpha$ -C3), 74,4 (CHOH- $\alpha$ -C2), 73,6 (CHO- $\alpha$ -C5), 72,7 (CHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C4), 64,1 ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ e $\beta$ -C6)
<b>ICACOOH</b>	170,1 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 98,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 94,8 (CHOH- $\alpha$ -C1), 78,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 78,0 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 75,9 (CHOH- $\alpha$ -C3), 74,4 (CHOH- $\alpha$ -C2), 73,6 (CHO- $\alpha$ -C5), 72,7 (CHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C4), 64,1 ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ e $\beta$ -C6)
<b>ICAAHD</b>	184,5 (CONHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 170,1 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 98,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 94,8 (CHOH- $\alpha$ -C1), 78,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 78,0 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 75,9 (CHOH- $\alpha$ -C3), 74,4 (CHOH- $\alpha$ -C2), 73,6 (CHO- $\alpha$ -C5), 72,7 (CHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C4), 64,1 ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ e $\beta$ -C6)
<b>ICAIMZ</b>	171,3 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 162,4 (CONH), 137,7 (CH), 125,2 (CH), 117,3 (CH), 98,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 94,8 (CHOH- $\alpha$ -C1), 78,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 78,0 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 75,9 (CHOH- $\alpha$ -C3), 74,4 (CHOH- $\alpha$ -C2), 73,6 (CHO- $\alpha$ -C5), 72,7 (CHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C4), 64,1 ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ e $\beta$ -C6), 44,5 ( $\text{CH}_2$ ), 41,3 ( $\text{CH}_2$ ), 31,9 ( $\text{CH}_2$ )

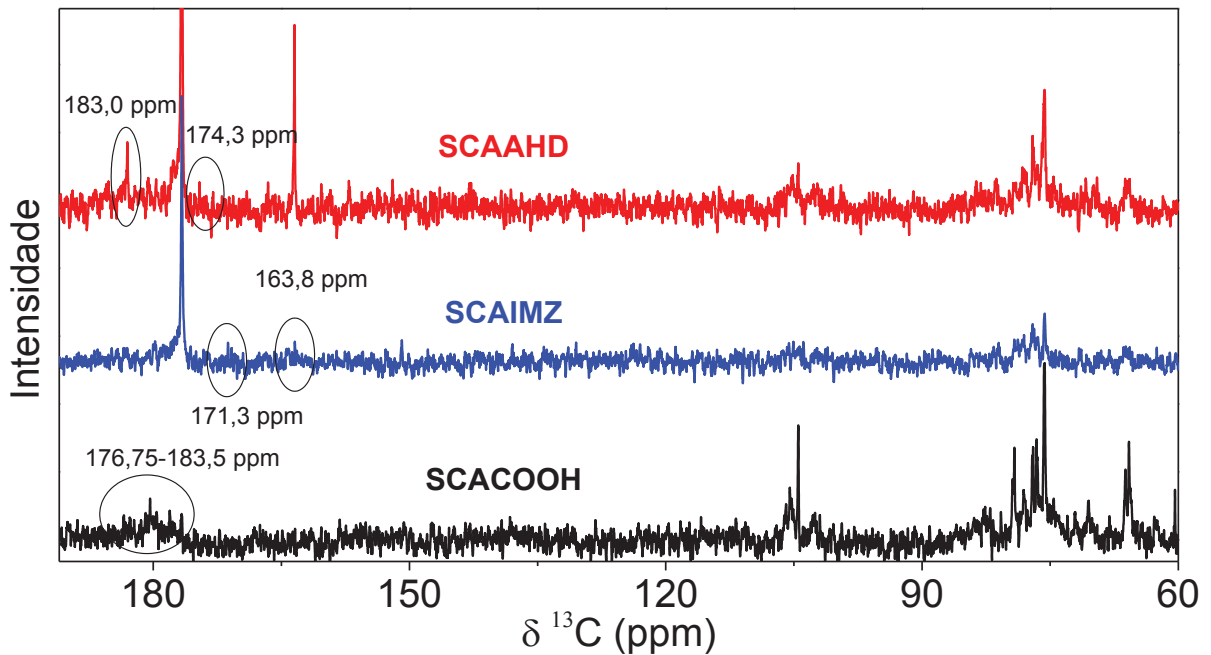
NOTA: As atribuições numéricas dos carbonos estão apresentadas nas FIGURA 32 e FIGURA 33.

FONTE: O Autor (2019).

Quanto às amostras coloidais, os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  (FIGURA 35) foram adquiridos após a concentração das soluções estoque até  $\sim 21 \text{ mg ml}^{-1}$ . Foram observados os deslocamentos químicos característicos de ácidos poliglucurônicos preparados a partir de celulose (TABELA 6)<sup>92,94</sup>. A amostra SCACOOH apresenta um deslocamento químico largo na região 176,7-183,5 ppm atribuído aos ácidos carboxílicos<sup>31,92,94</sup>, indicando a oxidação bem sucedida da amostra. Entretanto a presença dos deslocamentos químicos em 65,8 ppm ( $\text{CH}_2$ - $\alpha$ -C6) e 66,2 ppm ( $\text{CH}_2$ - $\beta$ -C6) na amostra SCACOOH indicam que a reação de oxidação foi parcial. Para a amostra SCAAHD além dos deslocamentos citados é observado ainda em 184,5 ppm um deslocamento atribuído aos ácidos  $\alpha$  e  $\beta$ -D-glucurônico hidroxâmico na cadeia do polímero<sup>75,101,122,123</sup>, uma evidência da funcionalização covalente com ácidos hidroxâmicos. Já a amostra SCAIMZ apresenta 31,3, 41,3, 44,4, 118,9, 124,1 e 138,1 ppm que são atribuídos a molécula de API<sup>17,105,124</sup>, além do deslocamento

químico em 163,8 ppm atribuído a ligação amida<sup>17</sup>, indicando a funcionalização covalente bem sucedida. Além disso, a presença do deslocamento químico na região de 170,1 ppm nas amostras SCAIMZ e SCAAHD indica a presença de ácidos carboxílicos nesses amostras, uma evidência da funcionalização parcial das amostras com imidazóis e ácidos hidroxâmicos, respectivamente.

FIGURA 35 – ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DAS AMOSTRAS COLOIDAIS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD EM 90%  $\text{H}_2\text{O}$  E 10%  $\text{D}_2\text{O}$ .



FONTE: O Autor (2019).

TABELA 6 –  $\delta^{13}\text{C}$  (PPM) EM RELAÇÃO AO PADRÃO TMSP (0 PPM) PARA AS AMOSTRAS COLOIDAIS SCACOOH, SCAAHD E SCAIMZ.

Amostra	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
<b>SCACOOH</b>	176,7-183,5 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 105,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 104,5 (CHOH- $\alpha$ -C1), 79,4 (CHOH- $\beta$ -C4), 79,2 (CHOH- $\alpha$ -C4), 78,1 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 76,6 (CHOH- $\beta$ -C3), 75,7 (CHOH- $\alpha$ -C2, CHOH- $\alpha$ -C3 e CHO- $\alpha$ -C5), 66,2 (CH <sub>2</sub> - $\beta$ -C6), 65,8 (CH <sub>2</sub> - $\alpha$ -C6)
<b>SCAAHD</b>	183,0 (CONHOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 174,3 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 105,5 (CHOH- $\beta$ -C1), 104,5 (CHOH- $\alpha$ -C1), 79,4 (CHOH- $\beta$ -C4), 79,2 (CHOH- $\alpha$ -C4), 78,1 (CHO- $\beta$ -C5), 77,1 (CHOH- $\beta$ -C2), 76,6 (CHOH- $\beta$ -C3), 75,7 (CHOH- $\alpha$ -C2, CHOH- $\alpha$ -C3 e CHO- $\alpha$ -C5), 66,2 (CH <sub>2</sub> - $\beta$ -C6), 65,8 (CH <sub>2</sub> - $\alpha$ -C6)
<b>SCAIMZ</b>	171,3 (COOH- $\alpha$ e $\beta$ -C6), 163,8 (CONH), 138,1 (CH), 124,1 (CH), 118,9 (CH), 105,3 (CHOH- $\beta$ -C1), 104,0 (CHOH- $\alpha$ -C1), 79,2 (CHOH- $\beta$ -C4), 78,8 (CHOH- $\alpha$ -C4), 77,0 (CHOH- $\beta$ -C2), 76,5 (CHOH- $\beta$ -C3), 75,6 (CHOH- $\alpha$ -C2, CHOH- $\alpha$ -C3 e CHO- $\alpha$ -C5), 66,4 (CH <sub>2</sub> - $\beta$ -C6), 65,7 (CH <sub>2</sub> - $\alpha$ -C6), 44,4 (CH <sub>2</sub> ), 41,4 (CH <sub>2</sub> ), 31,3 (CH <sub>2</sub> )

FONTE: O Autor (2019).

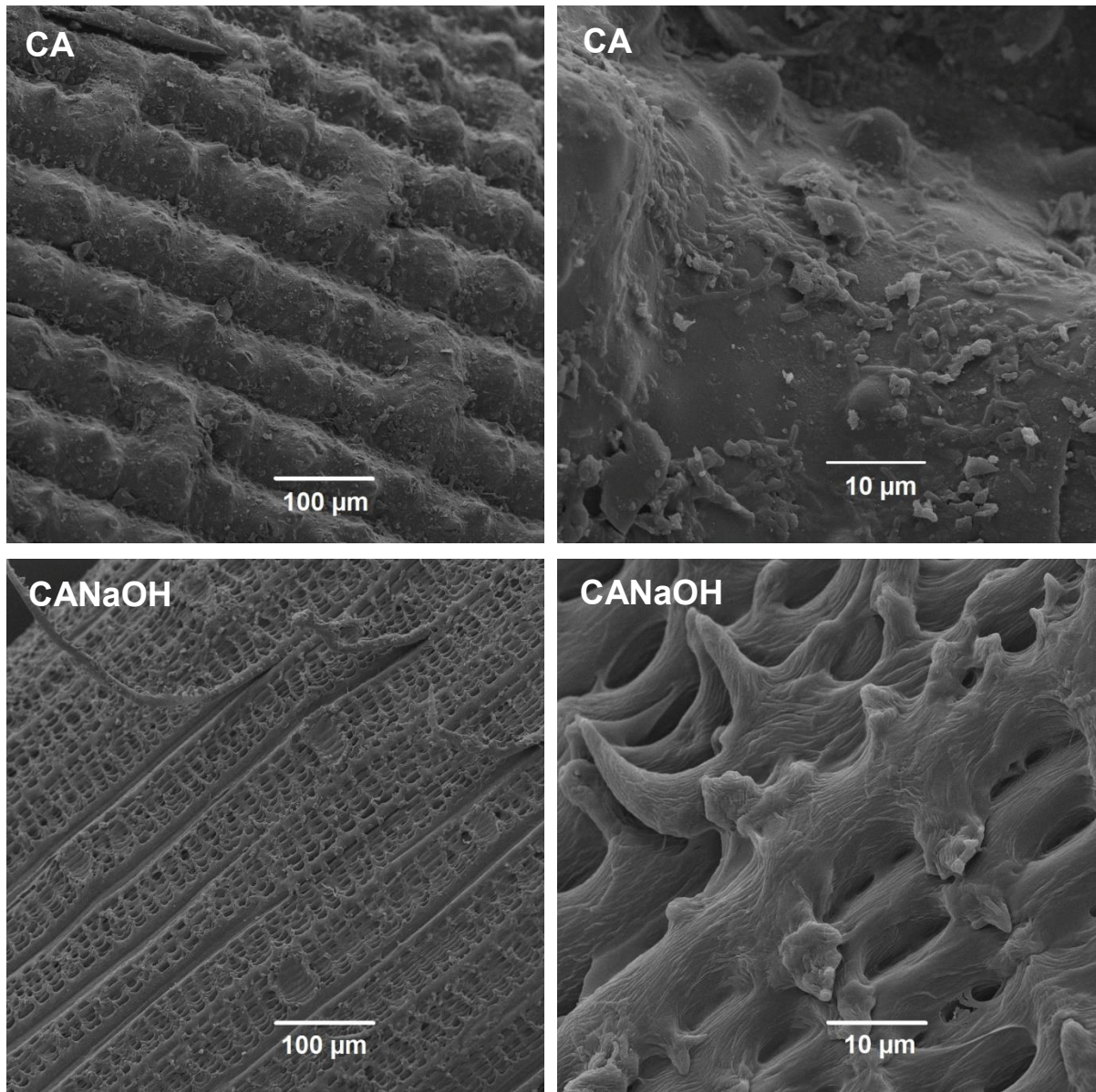
Ainda, os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  não revelaram deslocamentos químicos largos e múltiplos em torno de 110 e 150 ppm nas amostras após a oxidação e que são atribuídos a ressonâncias de ligações duplas no C4 e C5 devido a  $\beta$ -eliminação<sup>120</sup>. Isto indica que apesar de ser possível a ocorrência da  $\beta$ -eliminação<sup>120</sup> durante a reação de oxidação por TEMPO/NaBr/NaClO, caso tenha ocorrido os produtos foram eliminados nas etapas de diálise/lavagem das amostras, deixando as amostras SCACOOH e ICACOOH apenas com ácidos carboxílicos no C6.

Por fim, os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  comprovaram a oxidação bem sucedida das hidroxilas a ácidos carboxílicos nas amostras SCACOOH e ICACOOH. Os espectros indicam ainda que essa oxidação foi parcial e os ácidos carboxílicos estão presentes na posição C6 das cadeias do polissacarídeo. A presença de deslocamentos químicos típicos de ligação amida nas amostras SCAIMZ e ICAIMZ e de ácidos hidroxâmicos nas amostras SCAAHD e ICAAHD sugerem que houve a funcionalização bem sucedida dessas amostras com imidazóis e ácidos hidroxâmicos, respectivamente. Já a presença de deslocamentos químicos atribuídos a ácidos carboxílicos nas amostras SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD sugerem que a funcionalização com os grupos nucleofílicos foi parcial.

### 5.2.5 MEV

Imagens de MEV foram feitas das amostras sólidas (CA, CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD) a fim de avaliar a morfologia das amostras após cada etapa de síntese. Quanto as amostras coloidais (SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD), não foram observadas por MEV devido a dificuldade de preparo das amostras para a obtenção de amostras de alta resolução na faixa esperada de tamanho (nanométrica). A FIGURA 36 mostra imagens das amostras CA e CANaOH e observar uma diferença entre a superfície ondulada e recoberta por protuberâncias da CA e as fibras/fibrilas expostas da CANaOH., sugerindo a formação de uma ampla rede porosa com uma área específica maior que a precursora. Na CA, a superfície é recoberta por protuberâncias ~70  $\mu\text{m}$  de largura de sílica amorfa<sup>126-128</sup> além de impurezas da mais variada escala de tamanho, entretanto não existem fibras celulósicas expostas. O tratamento alcalino com NaOH converte a sílica superficial e intercelular da CA em  $\text{Na}_2\text{SiO}_3$  e despolimeriza parte da lignina/hemiceluloses, expondo assim a matriz de fibras e até mesmo microfibrilas de celulose<sup>129</sup>, como sugerem as imagens da FIGURA 36. O fato das fibras/microfibrilas ainda estarem estruturadas umas as outras, com poucas fibras/microfibrilas desestruturadas, sugere que a sílica amorfa, as hemiceluloses e a lignina não foram eliminadas internamente. Isso está de acordo com o esperado, pois as condições brandas do tratamento alcalino com NaOH não é suficiente para desestruturar internamente a estrutura celulose/hemiceluloses/lignina/sílica amorfa, eliminando apenas superficialmente as hemiceluloses, a lignina e a sílica amorfa<sup>126,129</sup>. Isso cria um material poroso com uma grande área superficial de celulose exposta superficialmente, um *template* ideal para as etapas posteriores da síntese dos biocatalisadores.

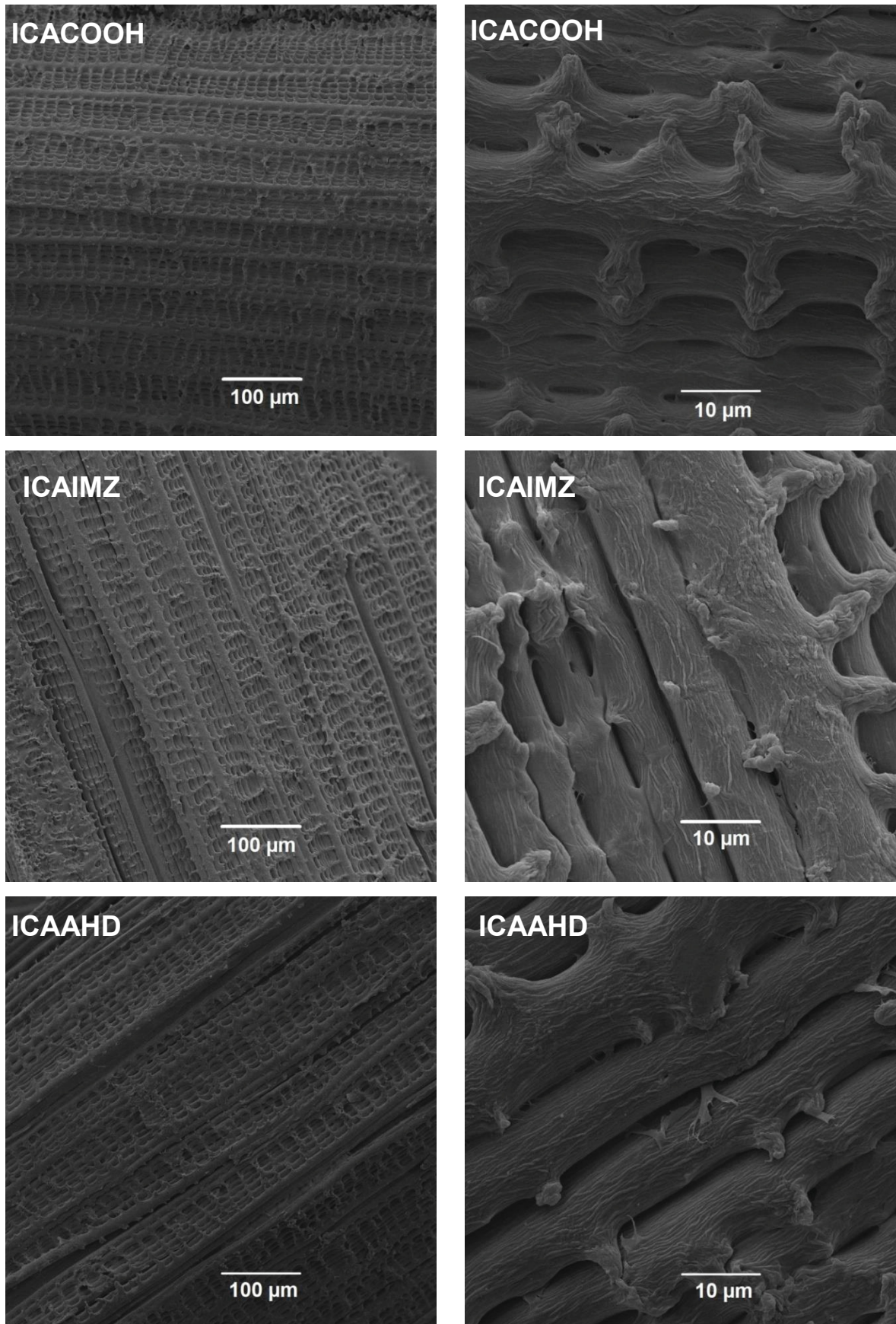
FIGURA 36 – IMAGENS DE MEV DAS AMOSTRAS CA E CANA0H



FONTE: O Autor (2019).

A FIGURA 37 apresenta as imagens de MEV para as amostras ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD. Pode-se observar que as amostras ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD apresentam a mesma morfologia apresentada pela amostra CANaOH. Isso sugere que tanto a oxidação TEMPO/NaBr/NaClO quanto a funcionalização pelo método EDC/NHS não alteram a morfologia das fibras/microfibrilas. Isso se deve a similaridade observada nas imagens das amostras ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD em que as fibras/microfibrilas estão expostas superficialmente, assim como na precursora CANaOH, porém ligadas entre si.

FIGURA 37 – IMAGENS DE MEV DAS AMOSTRAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD



FONTE: O Autor (2019).

Assim como na CANaOH, isso sugere que não ocorre a desestruturação da estrutura celulose/hemiceluloses/lignina durante as modificações químicas. No Apêndice encontram-se mais imagens das amostras com aumentos variando de 50 à 50000 vezes.

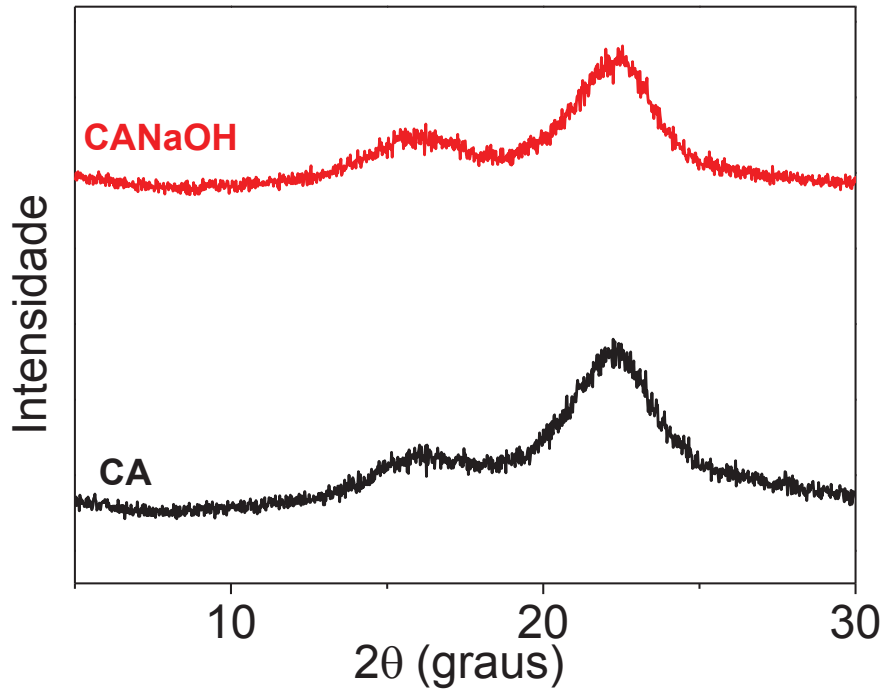
Dessa forma, as imagens de MEV sugerem a eliminação da sílica superficial na amostra CA após o tratamento alcalino, expondo assim as fibras/microfibrilas na amostra CANaOH. Ainda, o fato das fibras/microfibrilas estarem expostas superficialmente, porém unidas entre si, sugere que as hemiceluloses e lignina entre as fibras/fibrilas não foi eliminada na CANaOH. Assim a estrutura celulose/lignina/hemiceluloses internamente permanece unida, com a celulose das fibras/microfibrilas superficiais exposta. Por fim, a morfologia das amostras ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD não muda quando comparada a CANaOH, indicando que as reações de oxidação com TEMPO/NaBr/NaClO e funcionalização covalente com EDC/NHS não desestruturam a estrutura celulose/lignina/hemiceluloses internamente.

#### 5.2.6 Caracterizações Complementares

O difratograma das amostras CA e CANaOH são apresentados na FIGURA 38 e são observados picos largos em  $2\theta = 18^\circ$  (referente a celulose amorfa) e  $2\theta = 22^\circ$  (referente a celulose I)<sup>130</sup>. O índice de cristalinidade ( $I_c$ ) nessas amostras foi calculado pelo método de Segal<sup>131</sup> (equação (2) e revelou  $I_c = 54,01\%$  para CA e  $I_c = 52,94\%$ , ou seja, uma leve diminuição da cristalinidade da celulose após o tratamento alcalino, valores de acordo com a literatura<sup>132,133</sup>. A concentração baixa de NaOH, temperatura branda e tempo de reação curto são suficientes para que apenas ceras, impurezas superficiais (principalmente inorgânicos), sílica amorfa, hemiceluloses e lignina sejam eliminados superficialmente, pois o NaOH não consegue penetrar na estrutura interna da casca de arroz<sup>5,83</sup>. A ausência de deslocamentos nos picos dos difratogramas após o tratamento alcalino sugere que não ocorreu conversão da celulose I para celulose II, o que também já era esperado devido às condições brandas<sup>134</sup>. Assim, a eliminação desses compostos na superfície da casca de arroz apenas torna a celulose superficial mais disponível para as reações posteriores, enquanto o interior da casca de arroz permanece inalterado. Esse resultado está de acordo com as imagens de MEV das amostras CA e

CANaOH que sugerem a eliminação da sílica superficial, porém sem a desestruturação da estrutura das fibras celulósicas.

FIGURA 38 – DIFRATOGRAMA DAS AMOSTRAS CA E CANAHOH EM SUBSTRATO DE ALUMÍNIO.



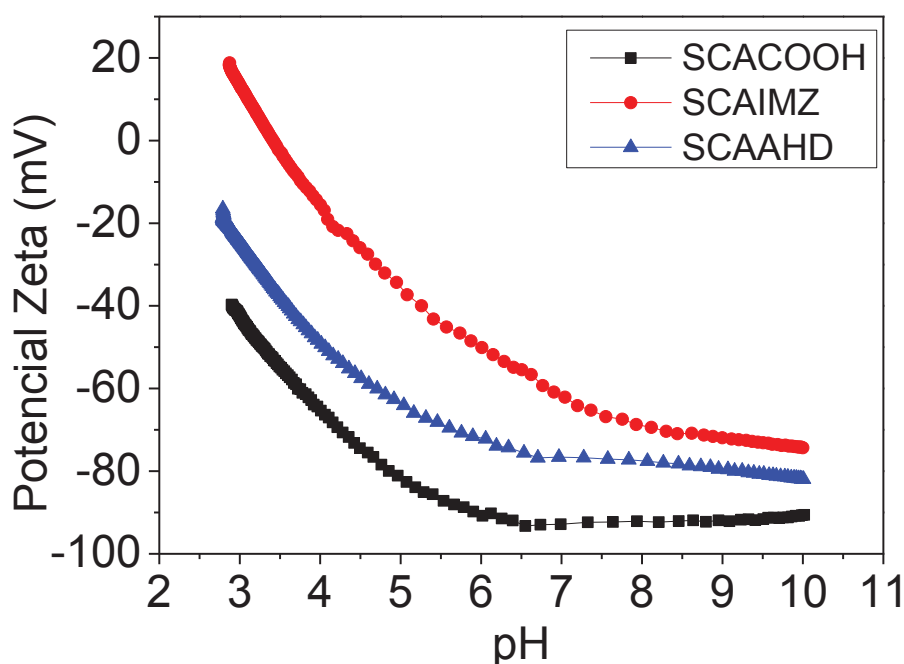
FONTE: O Autor (2019).

$$I_c(\%) = \frac{I_{200} - I_{Am}}{I_{200}} \times 100 \quad (2)$$

As titulações com potencial zeta (FIGURA 39) revelaram um aumento do potencial zeta das amostras SCAAHD e SCAIMZ em relação à SCACOOH. Isso é esperado devido à conversão de ácidos carboxílicos em ácidos hidroxâmicos ou imidazol, que estão em suas formas neutra e desprotonada, respectivamente, em contraste aos ácidos carboxílicos desprotonados da SCACOOH. Isso faz com que as amostras SCAAHD e SCAIMZ tenham um potencial zeta maior que o de sua amostra precursora SCACOOH. A amostra SCAIMZ apresentou inclusive ponto isoelétrico em torno de  $\sim 3,43$ , o que é esperado devido a protonação dos ácidos carboxílicos e imidazóis, dando ao colóide um caráter mais positivo que a precursora. É consenso que um potencial menor que  $-30$  mV oferece repulsão eletrostática suficiente para manter estáveis os colóides, evitando assim a

agregação<sup>103,135</sup>. O fato das amostras SCAAHD e SCAIMZ apresentarem potenciais zeta menores que -30 mV acima dos pHs 3,19 e 4,68, respectivamente, e da amostra SCACOOH apresentar valores abaixo de -30 mV em todo o espectro de pH sugerem que as amostras são altamente estáveis no pH em que foram armazenadas e na faixa de pH em que foram realizados os estudos cinéticos.

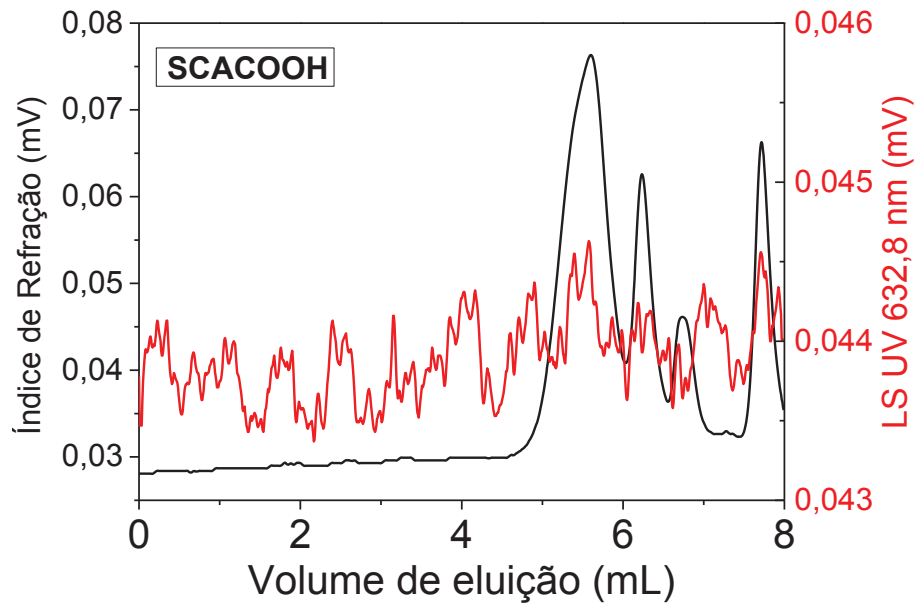
FIGURA 39 – TITULAÇÕES EM POTENCIAL ZETA DAS AMOSTRAS SCACOOH, SCAIMZ E SCAAHD.



FONTE: O Autor (2019).

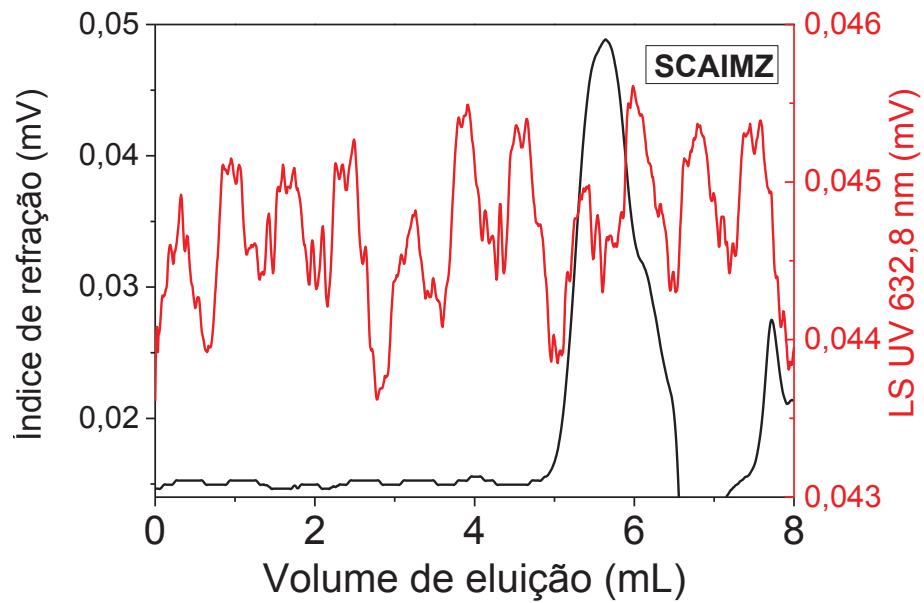
As análises de GPC/SEC para as amostras SCACOOH (FIGURA 40), SCAIMZ (FIGURA 41) e SCAAHD (FIGURA 42) revelaram que as amostras são polidispersas e polimodais. O fato das amostras apresentarem picos de eluição em volumes altos e somente refratarem a radiação, não apresentando um espalhamento com a fonte de radiação utilizada ( $\lambda=632,8$  nm), sugere que o raio de giro desses coloides é inferior a 31 nm ( $\lambda/20$ ). Isso corresponde a um baixo grau de polimerização da celulose nas amostras ( $DP < 62$ ), o que sugere que a oxidação pelo método TEMPO/NaBr/NaClO ocorreu preferencialmente em regiões desordenadas (celulose amorfa) e houve esfoliação do material, o que está de acordo com a literatura para a síntese de ácidos poliglucurônicos a partir de amostras de celulose mercerizadas<sup>37,136</sup>.

FIGURA 40 – PERFIL DE ELUIÇÃO DA AMOSTRA SCACOOH

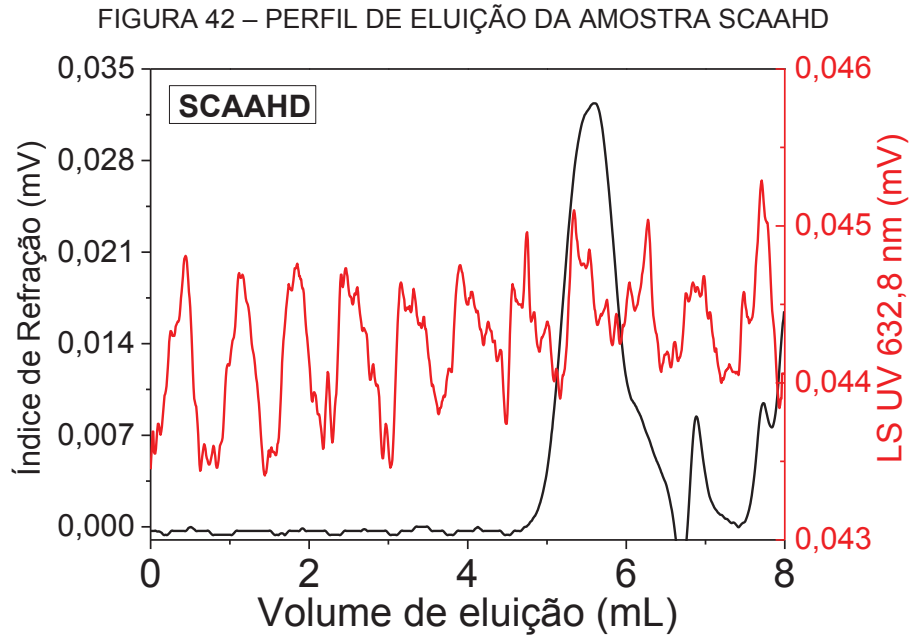


FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 41 – PERFIL DE ELUIÇÃO AMOSTRA DA SCAIMZ



FONTE: O Autor (2019).



FONTE: O Autor (2019).

A FIGURA 43 apresenta as fotos das amostras ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD após o teste colorimétrico com  $\text{FeCl}_3$ . É possível observar que as amostras ICACOOH e ICAIMZ não apresentam mudanças em sua coloração, porém a amostra ICAAHD apresenta uma coloração avermelhada após o teste. Isso é devido à formação de complexos entre os ácidos hidroxâmicos e os íons  $\text{Fe}^{3+}$ , que apresentam forte coloração avermelhada<sup>108,137</sup>, um indício da funcionalização bem sucedida da amostra ICAAHD com ácidos hidroxâmicos.

FIGURA 43 – AMOSTRAS SÓLIDAS ICACOOH, ICAIMZ E ICAAHD APÓS TESTE COM  $\text{FeCl}_3$ .



FONTE: O Autor (2019).

### 5.2.7 Conclusões parciais da Caracterização

O conjunto das técnicas de caracterização permite afirmar: (i) houve a oxidação parcial das hidroxilas do C6 da celulose à ácidos carboxílicos por meio do método TEMPO/NaBr/NaClO, levando a duas amostras com graus de oxidação distintos: uma amostra coloidal com um maior grau de oxidação (SCACOOH) e a uma amostra sólida com um menor grau de oxidação (ICACOOH); (ii) as amostras SCACOOH e ICACOOH foram funcionalizadas covalentemente e parcialmente pelo método EDC/NHS/API com grupos imidazol (SCAIMZ e ICAIMZ) e pelo método EDC/NHS/NH<sub>2</sub>OH com ácidos hidroxâmicos (SCAAHD e ICAAHD); (iii) as amostras CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD apresentam uma alta área superficial de celulose exposta enquanto as amostras SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD são colóides compostos majoritariamente por celulose modificada de baixa massa molar. Foi possível assim obter com sucesso 7 amostras derivadas do resíduo lignocelulósico casca de arroz: (i) uma amostra sólida (CANaOH) com fibras celulósicas expostas; (ii) duas amostras *template* com grupos ácidos carboxílicos, uma delas um sólido com grande área superficial de fibras celulósicas (ICACOOH) e a outra um colóide de baixa massa molar (SCACOOH); (iii) duas amostras funcionalizadas covalentemente com grupos imidazol, um sólido (ICAIMZ) e um colóide (SCAIMZ), similares quanto a sua natureza física com as suas amostras precursoras ICACOOH e SCACOOH, respectivamente; (iv) duas amostras funcionalizadas covalentemente com grupos ácido hidroxâmico, um sólido (ICAAHD) e um colóide (SCAAHD), similares quanto a sua natureza física com as suas amostras precursoras ICACOOH e SCACOOH, respectivamente. Essas amostras tem um amplo potencial de aplicação uma vez que os grupos químicos ancorados após cada etapa de síntese agregam novas propriedades ao material. A seguir será descrito o estudo cinético das amostras nas reações de desfosforilação com o substrato DEDNPP e o pesticida Paraoxon.

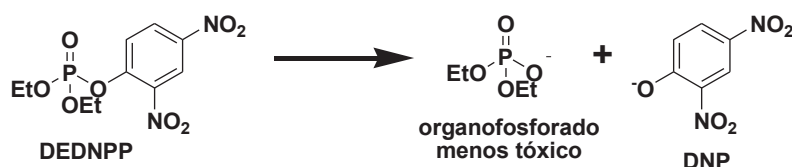
### 5.3 ESTUDO CINÉTICO COM ORGANOFOSFORADOS

Após a síntese e caracterização bem sucedida das amostras funcionalizadas com imidazol (ICAIMZ e SCAIMZ) e com ácidos hidroxâmicos (ICAAHD e SCAAHD), avaliou-se o desempenho dessas amostras na catálise de reações de desfosforilação.

#### 5.3.1 Atividade Catalítica com organofosforados

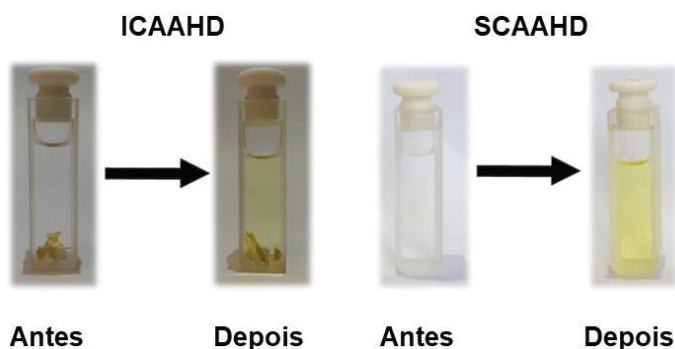
A atividade catalítica das amostras SCACOOH, SCAIMZ, SCAAHD, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD foi avaliada com o substrato DEDNPP. Este é desfosforilado em meio aquoso levando ao diéster dietil fosfato e ao DNP (FIGURA 44). O produto DNP tem uma banda de absorção em 400 nm conferindo uma coloração amarelada ao meio reacional conforme o avanço da reação apresentada na FIGURA 44. A FIGURA 45 mostra uma foto das amostras ICAAHD e SCAAHD antes e após a reação com o substrato DEDNPP, sendo análoga a aparência do meio reacional com as amostras SCAIMZ e ICAIMZ com o DEDNPP.

FIGURA 44 – REAÇÃO DE DESFOSFORILAÇÃO DO TRIÉSTER DE FOSFATO DEDNPP EM DIÉTER FOSFATO E DNP.



FONTE: O Autor (2019).

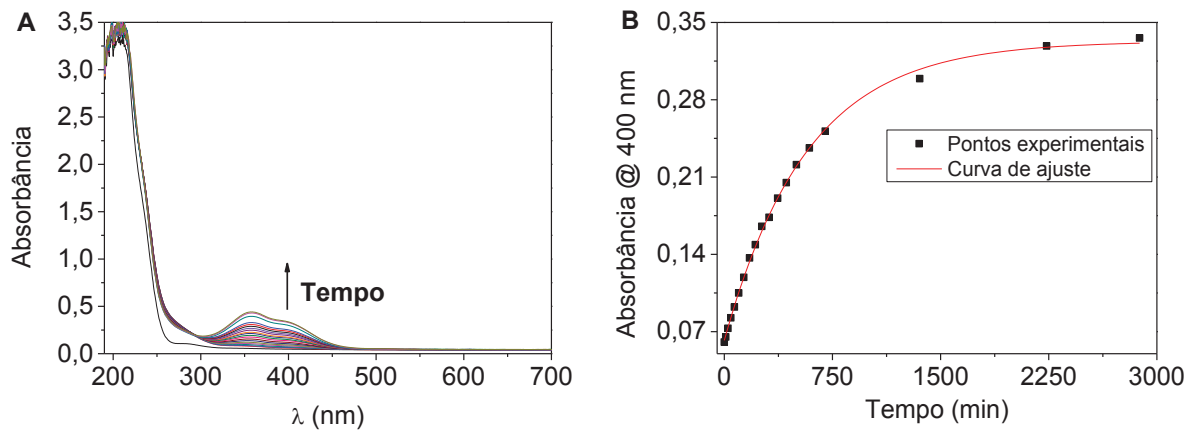
FIGURA 45 – ICAAHD E SCAAHD NO MEIO REACIONAL COM O SUBSTRATO DEDNPP.



FONTE: O Autor (2019).

Assim, a reação entre as amostras sintetizadas e o substrato DEDNPP foi acompanhada por espectroscopia UV-Vis pela formação do produto DNP (FIGURA 46 **A**). Então, a curva cinética em 400 nm *versus* o tempo (FIGURA 46 **B**) foi ajustada com a equação (1) para obtenção da constante cinética observada ( $k_{obs}$ ).

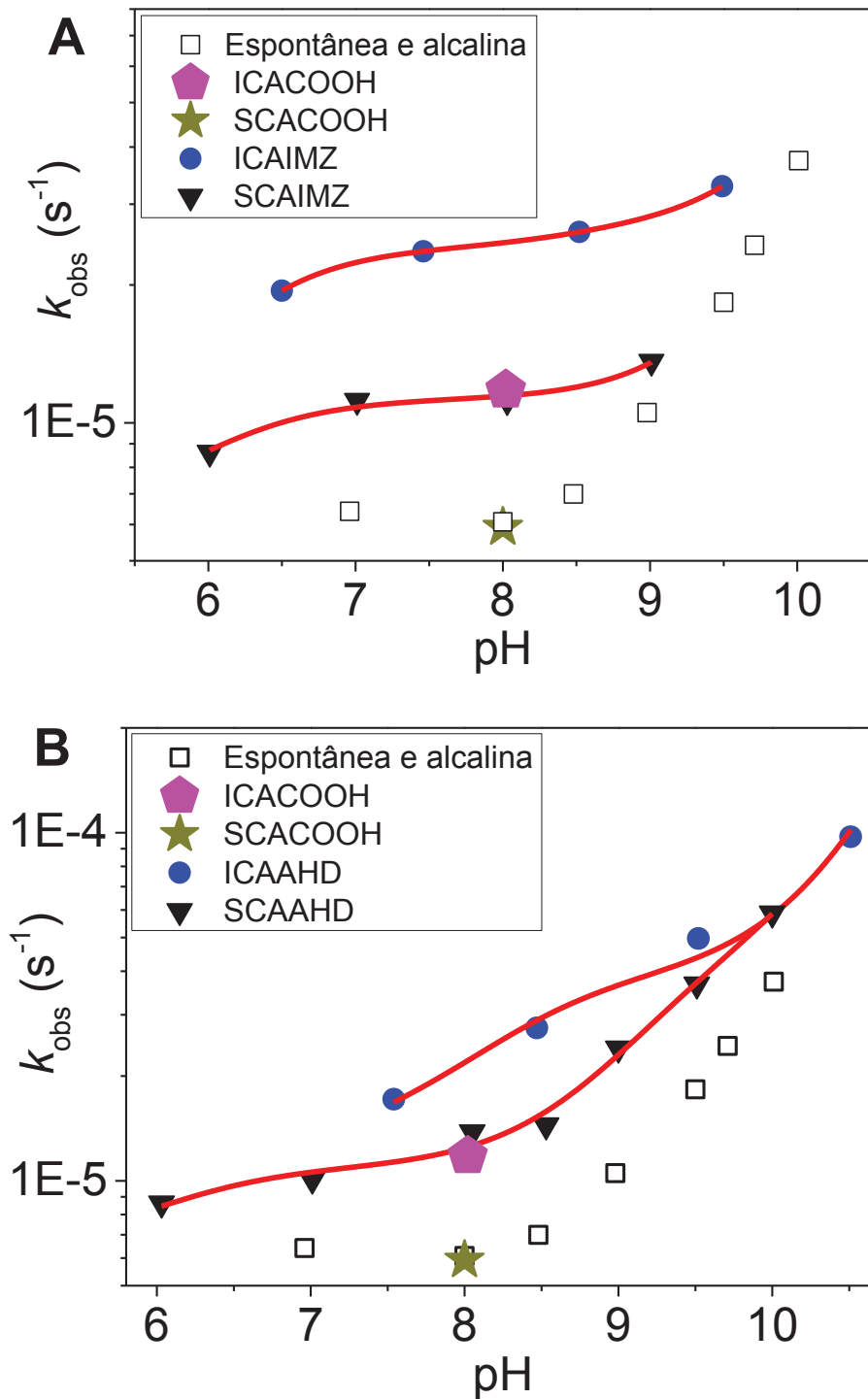
FIGURA 46 – **A** ESPECTROS UV-VIS DE 190-800 NM PARA A REAÇÃO ENTRE CAIMZ E DEDNPP EM PH 9,46 E **B** ABSORBÂNCIA EM 400 NM VERSUS TEMPO PARA A MESMA REAÇÃO



FONTE: O Autor (2019).

As reações entre as amostras coloidais SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD e as amostras sólidas ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD foram avaliadas em uma ampla faixa de pH. Os valores de  $k_{obs}$  obtidos do ajuste de cada curva cinética em seu respectivo valor de pH são apresentados na FIGURA 47.

FIGURA 47 – ATIVIDADE CATALÍTICA DAS AMOSTRAS (A) SCAIMZ E ICAIMZ; E (B) SCAAHD E ICAAHD, COMPARADAS COM AS AMOSTRAS SCACOOH, ICACOOH E A HIDRÓLISE ESPONTÂNEA<sup>70</sup> E ALCALINA<sup>138</sup>, TODAS A 21 °C. AS LINHAS VERMELHAS CORRESPONDEM AO AJUSTE DOS DADOS EXPERIMENTAIS PELA EQUAÇÃO (3).



FONTE: O Autor (2019).

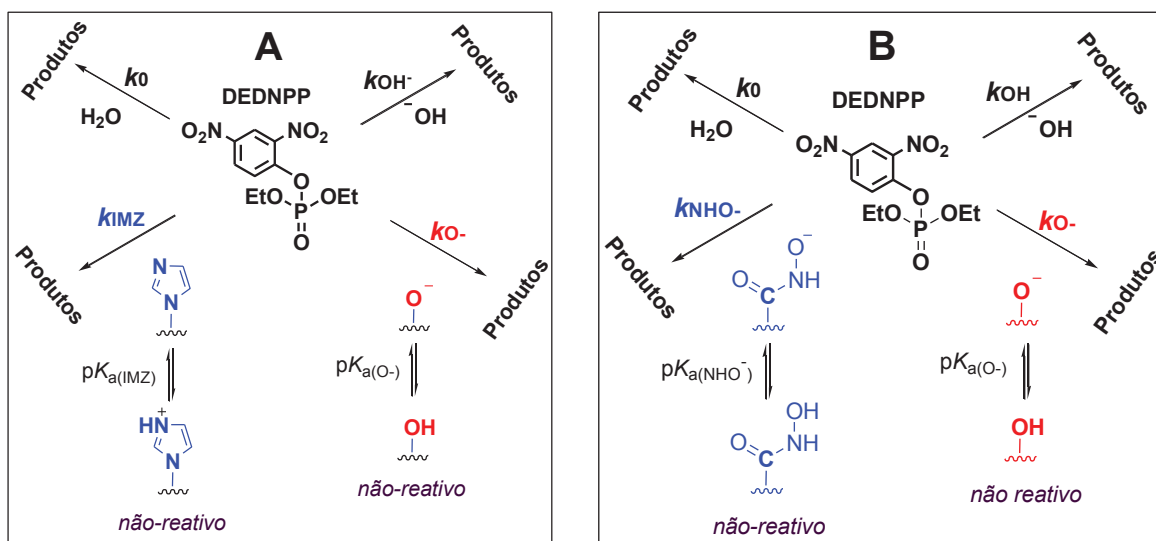
NOTA: Os valores de hidrólise espontânea<sup>70</sup> e alcalina<sup>138</sup> foram estimados pela equação de Arrhenius a partir dos valores reportados para essas reações à 25°C.

É possível observar que as amostras SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD apresentaram valores de  $k_{obs}$  superiores em toda a faixa de pH em relação à reação espontânea em água<sup>70</sup> e a reação alcalina<sup>138</sup>. Estas mesmas amostras apresentaram ainda valores de  $k_{obs}$  superiores aos de suas precursoras SCACOOH e ICACOOH, um indício de atividade catalítica das amostras funcionalizadas com imidazol e ácidos hidroxâmicos. Ainda é evidente que a atividade catalítica das amostras SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD aumenta com o aumento do pH, tendo a curva de cada amostra algo próximo a um patamar perto do  $pK_a$  do imidazol/ácido hidroxâmico ancorado. Isso pode ser explicado pelo fato da atividade catalítica do biocatalisador ser devido a sua forma nucleofílica, no caso do imidazol a forma desprotonada e no caso do ácido hidroxâmico ao hidroxamato. Também deve ser levada em consideração a contribuição dos fenóis desprotonados da lignina na atividade catalítica, pois as reações espontânea, alcalina e devido aos grupos nucleofílicos ancorados não descreve a atividade catalítica observada em todo o perfil de pH. É imprescindível então salientar a importância das titulações potenciométricas na caracterização das amostras: os valores dos  $pK_a$ 's dos grupos nucleofílicos ancorados e dos fenóis de lignina obtidos pelas titulações potenciométricas devem estar de acordo com os valores obtidos pelo perfil cinético.

Assim, foi proposto o ajuste dos perfis cinéticos apresentados na FIGURA 47 pela equação (3) que leva em consideração 4 reações (FIGURA 48): (i) a hidrólise espontânea em  $H_2O$  ( $k_0 = 6,24 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ), já reportada na literatura<sup>70</sup>; (ii) a hidrólise alcalina devido a  $OH^-$  do meio aquoso ( $k_{OH^-} = 0,195 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), já reportada na literatura<sup>138</sup>; (iii) reação nucleofílica por hidroxilas desprotonadas de fenóis da lignina ( $k_{O^-}$ ); e (iv) reação nucleofílica devido aos grupos nucleofílicos ancorados nas amostras: imidazol neutro ou hidroxamatos ( $k_{Nu}$ ). As curvas vermelhas na FIGURA 47 correspondem ao ajuste pela equação (3) dos dados experimentais de cada amostra funcionalizada. É possível observar que o modelo proposto descreve de forma adequada os dados experimentais ( $r^2 > 0,94$  para todas as amostras), corroborando assim os mecanismos de hidrólise assumidos na hipótese inicial.

$$k_{obs} = k_0 + k_{OH^-} * [OH^-] + k_{O^-} * [O^-] + k_{Nu} * [Nu] \quad (3)$$

FIGURA 48 – CAMINHOS DE HIDRÓLISE PARA O SUBSTRATO DEDNPP NA REAÇÃO COM AS AMOSTRAS ICAIMZ E SCAIMZ (A) E PARA AS AMOSTRAS ICAAHD E SCAAHD (B) EM MEIO AQUOSO.



FONTE: O Autor (2019).

Os valores das constantes de equilíbrio bem como as constantes cinéticas obtidas pela equação (3) do ajuste dos perfis de pH apresentados na FIGURA 47 são apresentados na TABELA 7. Os valores das constantes de equilíbrio obtidas estão de acordo com os resultados das titulações potenciométricas, o que comprova a coerência do modelo proposto. Já as constantes cinéticas de segunda ordem obtidas do ajuste e devido à reação catalisada pelos nucleófilos ancorados ( $k_{Nu}$ ) e fenóis ( $k_{O^-}$ ) estão entre os maiores valores já relatadas na literatura<sup>139</sup>. Esses valores são normalizados e apresentados em relação à massa total de catalisador, assim como o incremento em relação à hidrólise não-catalisada, como forma de facilitar a comparação entre as amostras. Ao comparar com a CCAIMZ ( $k_{cat}=3,33 \times 10^{-3} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>16</sup>, a goma arábica funcionalizada com imidazol ( $k_{cat}=3,33 \times 10^{-4} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>17</sup>, grafeno funcionalizado com imidazol ( $k_{cat}=1,83 \times 10^{-3} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>139</sup> e a própria molécula de imidazol ( $k_{cat}=2,64 \times 10^{-4} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>139</sup> todos na reação com o organofosforado DEDNPP, os biocatalisadores sintetizados aqui apresentam as maiores constantes de segunda ordem já reportadas na literatura ( $k_{cat}=3,33 \times 10^{-3} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )<sup>16</sup>. A TABELA 7 apresenta também o incremento catalítico ( $k_{cat}/k_{n\grave{a}o}$ ) que é a razão entre a soma das constantes catalíticas de segunda ordem ( $k_{Nu}+k_{O^-}$ ) e a constante catalítica da reação não catalisada, ambas sob as mesmas condições (temperatura, pressão, etc.).

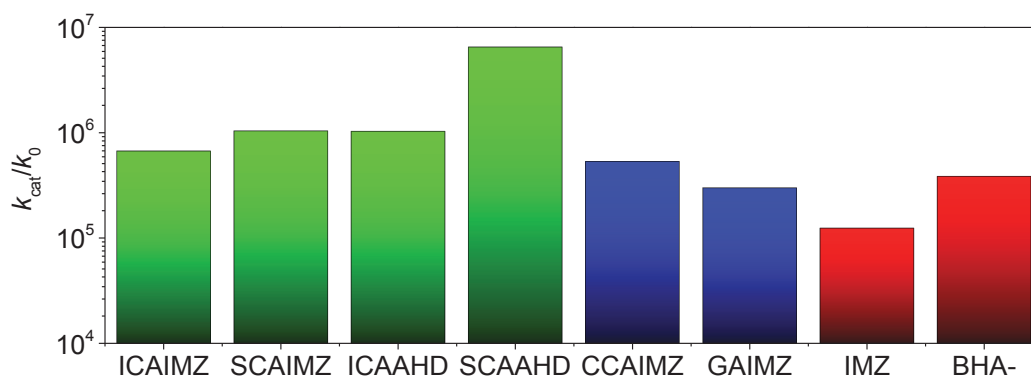
TABELA 7 – CONSTANTES CINÉTICAS E  $pK_a$ 'S OBTIDOS DO AJUSTE DOS PERFIS DE PH DAS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD NA REAÇÃO COM DEDNPP A 21°C E O INCREMENTO CATALÍTICO EM RELAÇÃO A REAÇÃO NÃO CATALISADA

Amostra	$k_{Nu}$ ( $g^{-1}s^{-1}$ )	$pK_a$ (Nu)	$k_o^-$ ( $g^{-1}s^{-1}$ )	$pK_a$ (o)	$k_{cat}/k_{n\grave{a}o}$
ICAIMZ	$3,57 \times 10^{-3}$	6,05	$6,14 \times 10^{-4}$	8,57	$8,76 \times 10^2$
SCAIMZ	$6,26 \times 10^{-3}$	6,18	$2,49 \times 10^{-4}$	9,46	$3,13 \times 10^3$
ICAAHD	$5,99 \times 10^{-3}$	7,88	$4,19 \times 10^{-4}$	9,22	$1,95 \times 10^3$
SCAAHD	$3,93 \times 10^{-3}$	6,80	$3,67 \times 10^{-2}$	9,09	$3,28 \times 10^4$

FONTE: O Autor (2019).

Se levado em consideração o fato dessas constantes serem normalizadas pela massa total de biocatalisador e que o grau de funcionalização em relação à massa total de biocatalisador é baixo (0,1-1 mmols de nucleófilo por g de biocatalisador), o desempenho dos biocatalisadores fica na ordem de  $10^6$ - $10^7$  vezes maior que a reação não catalisada. A FIGURA 49 mostra os incrementos catalíticos absolutos (por grupo funcional) dos biocatalisadores sintetizados neste trabalho comparado com o de outros catalisadores reportados na literatura. É possível observar que os biocatalisadores deste trabalho (em verde) obtiveram desempenho superior ao da casca de arroz carboximetilada com imidazol<sup>16</sup> e a goma arábica com imidazol<sup>17</sup> (em azul) e das moléculas de imidazol<sup>139</sup> e benzohidroxamato<sup>80</sup> (em vermelho).

FIGURA 49 – INCREMENTO CATALÍTICO DOS BIOCATALISADORES DESTE TRABALHO E OUTROS CATALISADORES REPORTADOS NA LITERATURA COM O DEDNPP



FONTE: O Autor (2019).

NOTA: O incremento da GAIMZ<sup>16</sup> e do IMZ<sup>139</sup> foram estimados à 21°C através de seus valores reportados a 25°C. O incremento do BHA<sup>-</sup> foi estimado à 21°C a partir do valor reportado à 25°C e somente para o ataque ao fósforo<sup>80</sup>.

Quando comparado o incremento catalítico das amostras coloidais SCAIMZ e SCAAHD em relação a suas análogas heterogêneas ICAIMZ e ICAAHD, percebe-se que as amostras coloidais tiveram desempenho superior. Isso já é esperado, uma vez que a catálise heterogênea tem certas limitações, como por exemplo a difusão de reagentes até os nucleófilos onde ocorre a reação. Isso não ocorre na catálise com amostras coloidais, uma vez que reagente e catalisador não tem seu contato no meio reacional limitado por processos difusivos.

Comparando as amostras funcionalizadas com imidazol *versus* ácido hidroxâmico, percebe-se que os valores dos incrementos catalíticos já normalizados pela quantidade de grupos ancorados (FIGURA 49) são maiores para as amostras SCAAHD e ICAAHD em relação as suas análogas SCAIMZ e ICAIMZ, respectivamente. Esse comportamento é esperado por dois motivos: (i) as constantes de dissociação dos ácidos hidroxâmicos são maiores que as dos imidazóis quando comparadas amostras de mesma natureza, o que resulta em uma maior basicidade de Brønsted (maior nucleofilicidade) dos ácidos hidroxâmicos em relação aos imidazóis; e (ii) os ácidos hidroxâmicos, ao contrário dos imidazóis, apresentam ainda o efeito alfa, ou seja, apresentam uma nucleofilicidade maior que um nucleófilo que não apresenta este efeito e tem mesmo  $pK_a$ .

Quando comparada a constante catalítica normalizada pela massa total de amostra na reação com o DEDNPP da amostra ICAIMZ ( $k_{cat}=3,57 \times 10^{-3} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) com a amostra CCAIMZ ( $k_{cat}=3,33 \times 10^{-3} \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), aquela obteve um desempenho ligeiramente superior. Entretanto ao normalizar a constante catalítica pela quantidade de imidazóis ancorados em cada amostra, a ICAIMZ ( $k_{cat}=0,82 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) quando comparada com a CCAIMZ ( $k_{cat}=0,43 \text{ g}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ), apresenta um desempenho quase duas vezes maior.

Os resultados catalíticos promissores obtidos entre os biocatalisadores e o substrato DEDNPP motivaram então o estudo com o pesticida Paraoxon, cerca de  $10^3$  vezes mais estável em meio aquoso que o DEDNPP. O Paraoxon em meio aquoso é desfosforilado levando ao diéster dietil fosfato e ao 4-nitrofenolato (FIGURA 50). O produto 4-nitrofenolato tem uma banda de absorção em 400 nm, possibilitando o acompanhamento da reação por UV-vis. Foi então avaliada a atividade catalítica dos biocatalisadores com o pesticida Paraoxon no pH 8,5. Não foram realizados testes cinéticos de forma a construir um perfil de pH como o apresentado na FIGURA 47 devido a grande estabilidade do Paraoxon ( $\sim 10^3$  vezes

mais estável e mais tóxico que o DEDNPP em meio aquoso). A equação (3) foi utilizada para a obtenção dos incrementos catalíticos, uma vez que a hidrólise espontânea ( $k_0 = 1,88 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ ) e a hidrólise alcalina ( $k_{\text{OH}^-} = 1,79 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) do Paraoxon já foram reportadas<sup>140,141</sup>. A TABELA 8 apresenta os valores de  $k_{\text{obs}}$  e os incrementos catalíticos para a reação entre os biocatalisadores e o pesticida Paraoxon.

FIGURA 50 – REAÇÃO DE DESFOSFORILAÇÃO DO PESTICIDA PARAOXON EM DIETIL FOSFATO E 4 NITROFENOLATO



FONTE: O Autor (2019).

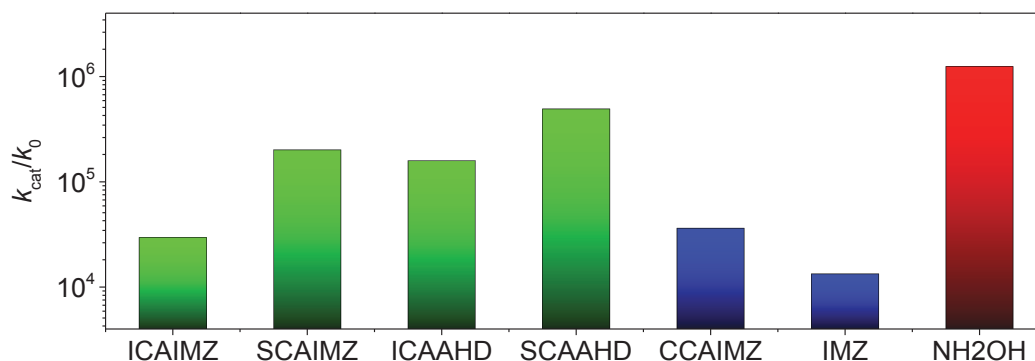
TABELA 8 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM E INCREMENTOS CATALÍTICOS PARA A REAÇÃO ENTRE AS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD E O PESTICIDA PARAOXON A 21°C.

Amostra	$k_{\text{obs}} \text{ (g}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$	$k_{\text{cat}}/k_{\text{não}}$
ICAIMZ (pH 8,46)	$4,80 \times 10^{-5}$	$3,05 \times 10^1$
SCAIMZ (pH 8,47)	$1,16 \times 10^{-3}$	$7,68 \times 10^3$
ICAAHD (pH 8,47)	$7,60 \times 10^{-5}$	$2,40 \times 10^2$
SCAAHD (pH 8,51)	$9,89 \times 10^{-4}$	$5,89 \times 10^3$

FONTE: O Autor (2019).

A FIGURA 51 apresenta os incrementos catalíticos absolutos (por grupo funcional) dos biocatalisadores com o Paraoxon comparados com valores de outros catalisadores reportados na literatura<sup>16,72,140</sup>. Esses resultados são impressionantes pois a quantidade de grupos nucleofílicos nos biocatalisadores é 0,1-1 mmol g<sup>-1</sup> e são empregadas condições brandas de reação (30 °C, pH próximo ao neutro, meio aquoso). Ao comparar com outros sistemas reportados, como por exemplo o de Perera e colaboradores<sup>142</sup> em que um complexo organometálico de molibdênio à 40 °C obteve incrementos da ordem de 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> em relação a reação espontânea, os biocatalisadores desse trabalho além de terem desempenho superior empregam condições mais brandas e são mais “verdes”.

FIGURA 51 – INCREMENTO CATALÍTICO ABSOLUTO DAS AMOSTRAS ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD E SCAAHD NA REAÇÃO COM O PESTICIDA PARAOXON A 30°C.



FONTE: O Autor (2019).

NOTA: O incremento catalítico do imidazol à 30 °C foi estimado de seu valor reportado à 25°C<sup>72</sup>. O incremento catalítico do NH<sub>2</sub>OH foi estimado de seu valor reportado à 27°C para um pH acima de 13<sup>140</sup>.

Com relação ao desempenho das amostras comparadas entre si, como observado na reação das amostras com o substrato DEDNPP, novamente as amostras com ácido hidroxâmico apresentaram atividades catalíticas superiores as análogas com imidazol na reação com o Paraoxon (FIGURA 51). Esse comportamento novamente já era esperado e é explicado pela maior basicidade dos ácidos hidroxâmicos em relação aos imidazóis e a presença do efeito alfa naqueles e ausente nestes. Assim como observado na reação com o DEDNPP, as amostras coloidais também obtiveram incrementos superiores as suas análogas sólidas na reação com o Paraoxon. Esse comportamento, na reação com o DEDNPP, já era esperado e de forma análoga é atribuído a alta difusão de reagentes até os nucleófilos onde ocorre a reação na catálise heterogênea.

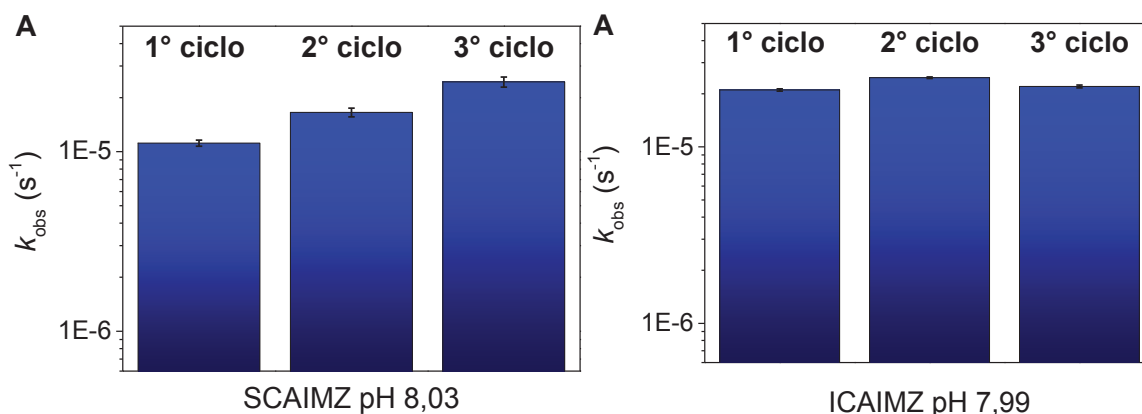
Além disso, a alta atividade catalítica observada dos biocatalisadores sintetizados na desfosforilação dos organofosforados DEDNPP e Paraoxon sugere que as amostras podem apresentar incrementos da mesma ordem de grandeza com outros organofosforados.

### 5.3.2 Reciclagem dos catalisadores

A fim de avaliar se realmente se tratava de uma catálise autêntica, a reação entre as amostras funcionalizadas com imidazol ICAIMZ e SCAIMZ, e as amostras funcionalizadas com ácidos hidroxâmicos ICAAHD e SCAAHD foram avaliadas em

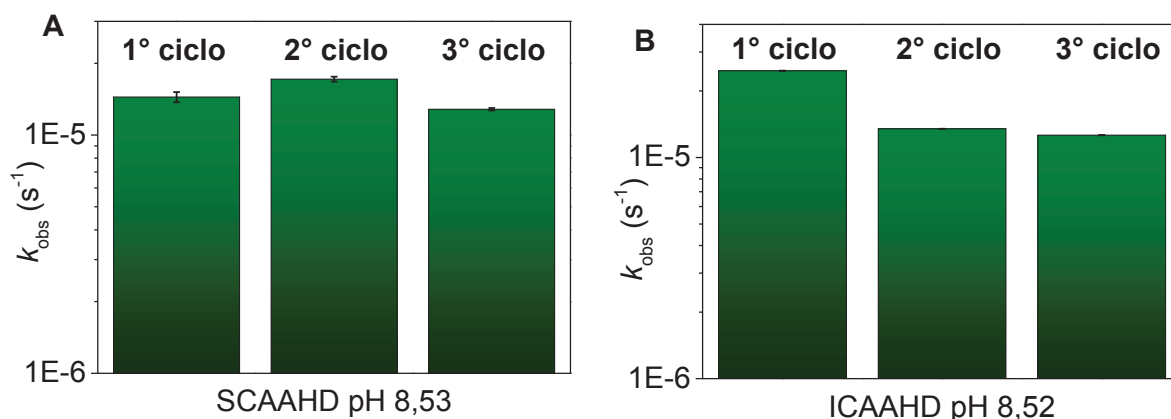
estudos de reciclagem com o substrato DEDNPP (FIGURA 52 e FIGURA 53, respectivamente). Os ciclos de catálise, como já descrito na literatura, não devem ser influenciados pelo acúmulo de DNP e dietil fosfato no meio reacional<sup>17</sup>. É possível observar que após 3 ciclos de reação entre os biocatalisadores e o substrato DEDNPP os valores de  $k_{obs}$  dos 4 biocatalisadores não diminuiu consideravelmente, havendo assim a regeneração dos grupos nucleofílicos após a clivagem do substrato DEDNPP. Apesar da variação observada para as amostras SCAIMZ e ICAIHD, a atividade catalítica permaneceu superior à reação alcalina e espontânea em todos os ciclos, ou seja, houve catálise. Isso é condição essencial para a caracterização das amostras como catalisadores, pois indica que não houve lixiviação, envenenamento do catalisador ou a ocorrência de reação entre o biocatalisador e o substrato de forma “suicida”<sup>80,81</sup>.

FIGURA 52 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM PARA AS AMOSTRAS SCAIMZ (A) E ICAIMZ (B) DURANTE 3 CICLOS DE CATÁLISE COM O SUBSTRATO DEDNPP À 21°C.



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 53 – CONSTANTES CATALÍTICAS DE PSEUDO-PRIMEIRA ORDEM PARA AS AMOSTRAS SCAAHD (A) E ICAAHD (B) DURANTE 3 CICLOS DE CATÁLISE COM O SUBSTRATO DEDNPP À 21°C.



FONTE: O Autor (2019).

Portanto, os experimentos de reciclagem revelaram que os biocatalisadores SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD mantiveram sua atividade catalítica durante 3 ciclos de catálise. Apesar de ser um comportamento esperado para as amostras funcionalizadas com imidazol<sup>17</sup>, para as amostras com ácidos hidroxâmicos nem sempre ocorre a reciclagem ao final da reação, atuando assim como um nucleófilo “suicida”<sup>80,81,143-146</sup>. Assim, a reciclagem dos biocatalisadores com o substrato DEDNPP é uma característica fundamental e imprescindível que os qualifica como catalisadores autênticos.

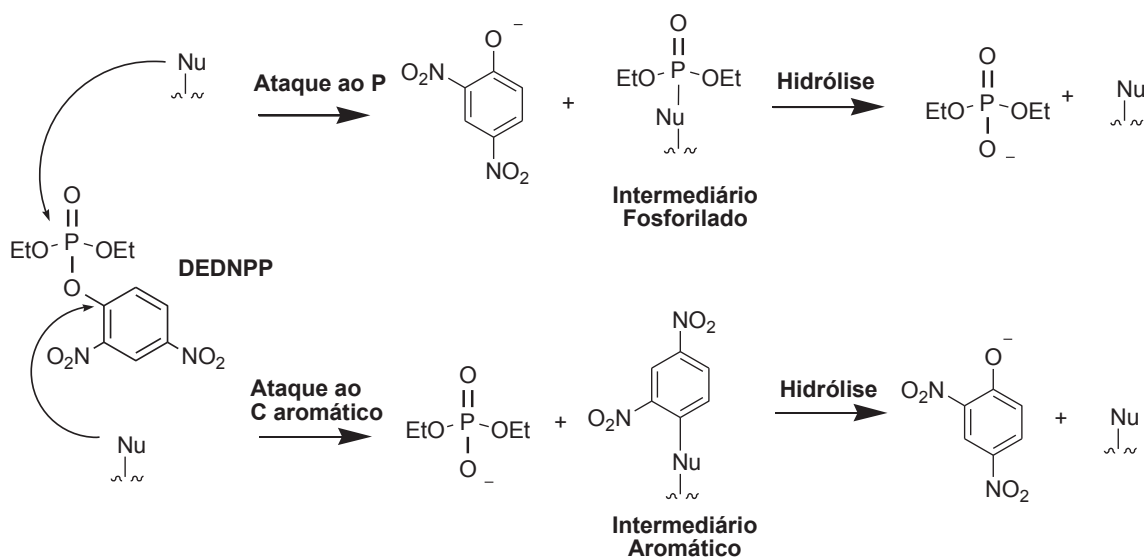
### 5.3.3 Elucidação do mecanismo

As reações de desfosforilação entre imidazóis e organofosforados via de regra leva a reciclagem do imidazol (atua como catalisador), estando os dados de acordo com a literatura<sup>15,17,70</sup>. Entretanto, as reações de desfosforilação entre ácidos hidroxâmicos<sup>35,44,95,96</sup> ou outros alfa-nucleófilos<sup>147,148</sup> e organofosforados como discutido na seção 1.4.2 nem sempre é uma catálise. Podem ocorrer rearranjos do alfa-nucleófilo formando espécies pouco nucleofílicas ou ainda a formação de compostos fosforilados altamente estáveis entre o alfa-nucleófilo e o organofosforado, ambas situações ataques “suicidas” que não regeneram o catalisador.

Como forma de comprovar que de fato se trata de uma catálise e que o mecanismo de ataque dos nucleófilos se dá ao fósforo nos organofosforados, foram

realizados estudos cinéticos com o substrato CDNB e os biocatalisadores. O mecanismo das reações dos biocatalisadores sintetizados com o DEDNPP, como apresentado na FIGURA 54, pode ocorrer por um ataque dos nucleófilos ao substrato DEDNPP por dois caminhos preferenciais: (i) ataque ao fósforo, formando um intermediário fosforilado que é hidrolisado gerando o diéster menos tóxico e regenerando o nucleófilo, ou (ii) ataque ao carbono aromático, formando um produto aromático que não regenera o nucleófilo, inutilizando-o como catalisador.

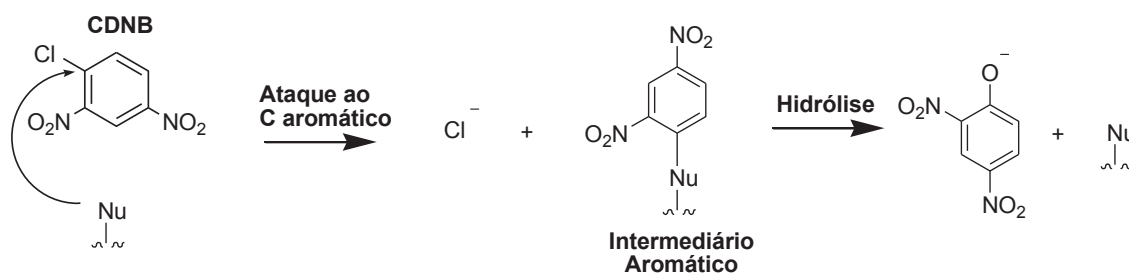
FIGURA 54 – ATAQUES NUCLEOFÍLICOS POSSÍVEIS À MOLÉCULA DE DEDNPP POR UM NUCLEÓFILO NU.



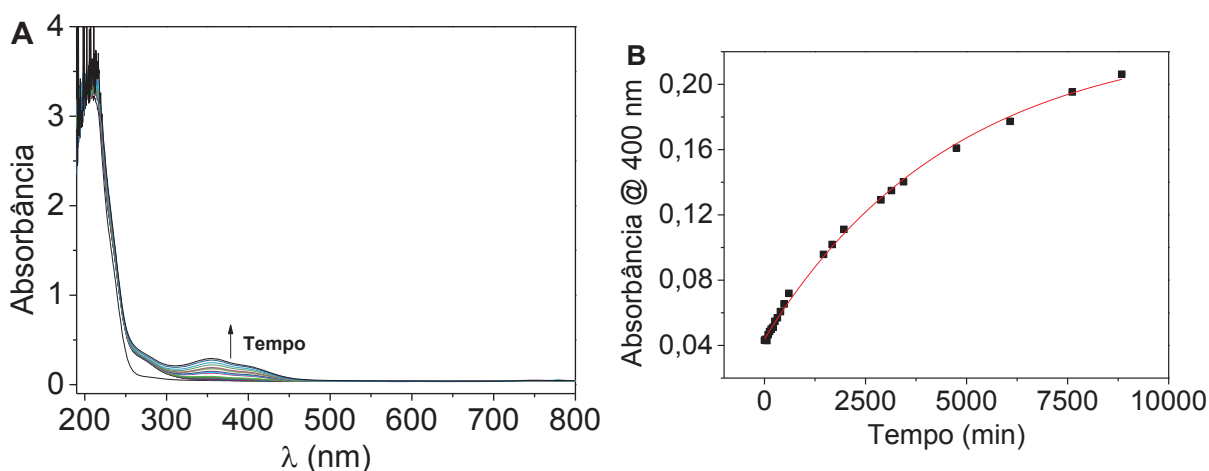
FONTE: O Autor (2019).

Como forma de elucidar qual foi efetivamente o mecanismo de ataque foi proposta a reação entre os biocatalisadores e o substrato CDNB em que só é possível um ataque nucleofílico ao carbono aromático e leva ao DNP (FIGURA 55). Assim, é esperado que se forme o mesmo intermediário aromático entre os nucleófilos e os substratos CDNB e DEDNPP caso realmente ocorra um ataque do nucleófilo ao carbono aromático (FIGURA 54 e FIGURA 55). As reações entre os biocatalisadores e o substrato CDNB foram acompanhadas pelo aparecimento do produto DNP em 400 nm, como exemplificado para a amostra ICAHD na FIGURA 56.

FIGURA 55 – ATAQUE NUCLEOFÍLICO A MOLÉCULA CDNB POR UM NUCLEÓFILO NU.



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA 56 – **A** ESPECTROS UV-VIS DE 190-800 NM PARA A REAÇÃO ENTRE ICAAHD E CDNB EM PH 10 E **B** ABSORBÂNCIA EM 400 NM VERSUS TEMPO PARA A MESMA REAÇÃO

FONTE: O Autor (2019).

Pelo ajuste das curvas cinéticas pela equação (1) foram obtidas as constantes cinéticas observadas de pseudo-primeira ordem que são apresentadas na TABELA 9. Pode-se observar que os valores não são superiores a hidrólise na ausência dos biocatalisadores<sup>149</sup>, ou seja, as amostras não catalisam a hidrólise desse substrato. Ainda, comparando essas constantes com as constantes das reações dos biocatalisadores com DEDNPP, percebe-se que as primeiras são pelo menos uma ordem de grandeza inferiores as últimas. Logo, cineticamente essa rota de ataque nucleofílico via carbono aromático não é favorável com os biocatalisadores.

TABELA 9 – CONSTANTES CINÉTICAS OBSERVADAS PARA A REAÇÃO COM O SUBSTRATO CDNB EM PH 10 A 21°C.

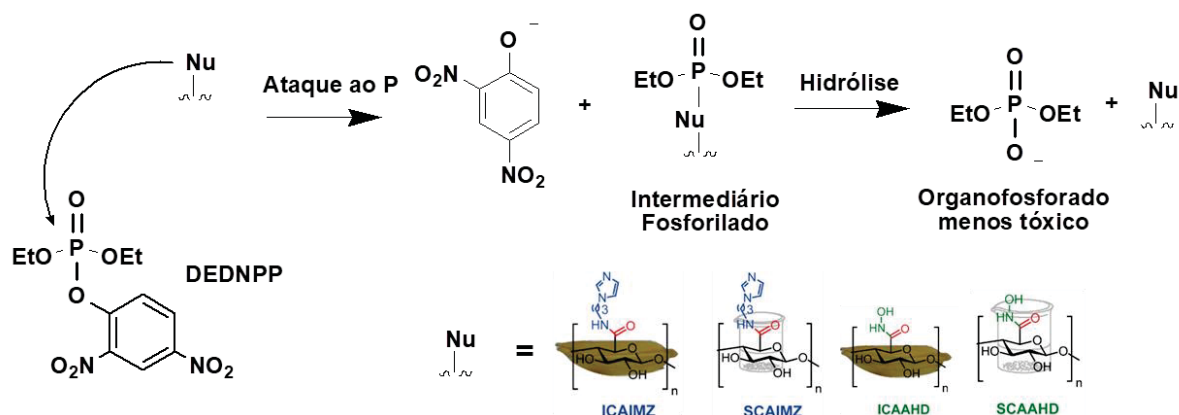
Amostra	Hidrólise Alcalina e espontânea <sup>149</sup>	ICACOOH	SCACOOH	ICAAHD	SCAAHD	ICAIMZ	SCAIMZ
$k_{obs} (s^{-1})$	$6,89 \times 10^{-5}$	$2,56 \times 10^{-6}$	$9,27 \times 10^{-6}$	$3,58 \times 10^{-6}$	$1,36 \times 10^{-6}$	$2,33 \times 10^{-6}$	*

NOTA: Constante não determinada devido à reação extremamente lenta.

FONTE: O Autor (2019).

Isso prova que o mecanismo de ataque dos biocatalisadores na reação com o organofosforado DEDNPP se dá ao fósforo exclusivamente, formando um intermediário fosforilado e conseqüentemente pela hidrólise deste ocorre a regeneração do catalisador e liberação do diéster, como mostrado na FIGURA 57. Esse mecanismo já era esperado para materiais com imidazol na clivagem de organofosforados, como elucidado na literatura pela presença do intermediário fosforilado e ausência do intermediário aromático com o imidazol<sup>72,80</sup>. Entretanto para alfa-nucleófilos já foi reportada a hidrólise não-seletiva de organofosforados por oximatos<sup>150</sup> e hidroxamatos<sup>80,81,151</sup>. De fato, como discutido na seção 1.4.2, as reações de desfosforilação catalisadas por ácidos hidroxâmicos nem sempre ocorrem pelo ataque ao centro de fósforo. Inclusive, sob certas condições e dependendo dos organofosforados, o ataque é preferencial ou ocorre em certo grau ao carbono aromático. Essa promiscuidade do ataque nucleofílico pode levar a produtos de desfosforilação diferentes e inclusive com toxicidade superior a do organofosforado precursor. Assim, o fato das amostras funcionalizadas com ácidos hidroxâmicos SCAAHD e ICAAHD apresentarem seletividade no ataque nucleofílico ao centro de fósforo é uma característica excelente nesses materiais e um dos poucos relatos na literatura.

FIGURA 57 – MECANISMO DE ATAQUE PROPOSTO PARA A REAÇÃO ENTRE O SUBSTRATO DEDNPP E OS BIOCATALISADORES SINTETIZADOS NESTE TRABALHO



FONTE: O Autor (2019).

Dessa forma, os biocatalisadores ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD e SCAAHD se mostraram seletivos enquanto nucleófilos, não atacando ao carbono aromático do CDNB. Isso é um forte indício de sua seletividade no ataque ao átomo de fósforo no DEDNPP, uma vez que tanto CDNB quanto DEDNPP em um ataque ao carbono aromático levariam ao mesmo intermediário aromático. Essa seletividade é uma característica crucial em um catalisador e ainda mais importante em se tratando de organofosforados em que dependendo do organofosforado e catalisador, podem surgir vários mecanismos de clivagem e inclusive os produtos podem ser mais tóxicos que os precursores.

#### 5.3.4 Conclusões parciais do estudo cinético

As amostras funcionalizadas com imidazol SCAIMZ e ICAIMZ e as amostras funcionalizadas com ácido hidroxâmico SCAAHD e ICAAHD foram estudadas na reação de desfosforilação do substrato DEDNPP, sendo as constantes de segunda ordem obtidas dessa reação entre os maiores valores já relatados na literatura. Além disso, ao se analisar o incremento catalítico absoluto, os biocatalisadores alcançaram incrementos catalíticos na ordem de  $10^6$ - $10^7$  vezes superior à reação não catalisada em meio aquoso. Quanto a reciclabilidade dos biocatalisadores, estes não apresentaram variabilidade significativa ao longo de 3 ciclos de catálise consecutivos, ou seja, as amostras não perdem a atividade catalítica após sucessivos ciclos de catálise. Em relação à seletividade das amostras SCAIMZ,

ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD no mecanismo de ataque nucleofílico, as reações com o substrato CDNB não mostraram ataque ao carbono aromático dessa molécula, um forte indício de que os biocatalisadores sintetizados não atacam nucleofilicamente o carbono aromático do DEDNPP. Esses resultados surpreendentes com o substrato DEDNPP motivaram o estudo com o pesticida Paraoxon, cerca de  $\sim 10^3$  vezes mais estável e mais tóxico que o DEDNPP em meio aquoso. Os incrementos catalíticos dos biocatalisadores com o Paraoxon ficaram na ordem de  $10^4$ - $10^5$  vezes superior à reação não catalisada, resultados entre os maiores já reportados na literatura.

Além disso, esse desempenho surpreendente das amostras funcionalizadas nas reações com os organofosforados DEDNPP e Paraoxon sugere ainda que as amostras devem apresentar atividade catalítica na desfosforilação de outros organofosforados. Nesse sentido, os catalisadores desenvolvidos são promissores pois além do desempenho catalítico eles atendem a muitos aspectos da química verde, pois as reações podem ser realizadas em meio aquoso, a temperatura ambiente, pH pouco drástico  $\sim 8$ , são seletivos e seguem um caminho reacional levando assim apenas a 2 produtos e ainda podem ser facilmente separados e reutilizados no caso dos catalisadores heterogêneos.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho foi proposta a funcionalização covalente de um resíduo agrícola em um catalisador para a degradação de pesticidas. Uma abordagem inovadora e ainda pouco explorada na literatura.

Pelo *design* de rotas de síntese seguindo princípios da Química Verde foram sintetizadas 7 amostras derivadas da CA, sendo 4 delas amostras sólidas (CANaOH, ICACOOH, ICAIMZ e ICAAHD) e 3 amostras coloidais (SCACOOH, SCAIMZ e SCAAHD). Dessa forma, pelo tratamento alcalino da CA, foi gerado uma amostra sólida (CANaOH) com grande área superficial de celulose exposta. Através da oxidação de parte das hidroxilas da celulose na amostra CANaOH por duas rotas pelo método TEMPO/NaBr/NaClO gerou-se uma amostra sólida (ICACOOH) contendo ácidos carboxílicos em sua superfície e uma amostra coloidal (SCACOOH), com ácidos carboxílicos nas cadeias do polímero celulósico. As amostras ICACOOH e SCACOOH tiveram parte de seus ácidos carboxílicos funcionalizados com grupos imidazol pelo método EDC/NHS/API, gerando a amostra sólida ICAIMZ e a amostra coloidal SCAIMZ, respectivamente. De forma análoga, as amostras ICACOOH e SCACOOH tiveram parte de seus ácidos carboxílicos funcionalizados com ácidos hidroxâmicos pelo método EDC/NHS/NH<sub>2</sub>OH, levando a amostra sólida ICAAHD e a amostra coloidal SCAAHD, respectivamente. Essas modificações químicas e físicas nas amostras foram comprovadas por uma série de técnicas de caracterização.

As amostras SCAIMZ, ICAIMZ, SCAAHD e ICAAHD foram avaliadas na catálise da reação de desfosforilação do substrato DEDNPP, estando os incrementos catalíticos entre as maiores já relatadas na literatura, sendo da ordem de  $10^6$ - $10^7$  vezes superiores à reação espontânea. Esses biocatalisadores mantiveram sua atividade catalítica aproximadamente constante ao longo de 3 ciclos de catálise com o DEDNPP, mostrando assim a reciclabilidade deles enquanto catalisadores autênticos. Quanto ao mecanismo de ataque nucleofílicos desses biocatalisadores ao DEDNPP, o estudo cinético com o substrato CDNB é um forte indício de um mecanismo de ataque preferencial ao centro de fósforo do DEDNPP em relação ao seu carbono aromático, sendo assim os biocatalisadores são seletivos em seu mecanismo de ataque nucleofílico. As amostras ICAIMZ, SCAIMZ, ICAAHD e SCAAHD foram estudados então na desfosforilação do pesticida

Paraoxon, cerca de  $\sim 10^3$  vezes mais tóxico e estável que o DEDNPP. Esses biocatalisadores obtiveram incrementos catalíticos da ordem de  $10^4$ - $10^5$  superiores a reação espontânea, entre os maiores valores relatados na literatura.

Concluindo, as amostras derivadas do resíduo agrícola CA funcionalizadas com grupos nucleofílicos por rotas de síntese empregando princípios da Química Verde apresentaram alta atividade catalítica, seletividade e reciclabilidade na degradação de organofosforados, que são utilizados inclusive na própria cultura do arroz. Assim, um resíduo agrícola teve valor agregado incorporado e foi utilizado como solução do problema de degradação de um pesticida tóxico e persistente, fechando um ciclo de consumo.

## 6.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Avaliar a atividade catalítica dos biocatalisadores sintetizados com outros organofosforados é altamente recomendável. Por terem apresentado alta atividade catalítica na reação com o substrato DEDNPP e o Paraoxon, reciclabilidade e seletividade com o DEDNPP, espera-se que apresentem desempenhos similares na catálise das reações de desfosforilação de outros organofosforados.

É possível vislumbrar a utilização de outros polissacarídeos como *template* para a modificação química (alginato, pectinas, quitosana, entre outros), materiais estes que são baratos e disponíveis em uma grande variedade de fontes renováveis e biodegradáveis. Além disso, os métodos de modificação química empregados neste trabalho (bem como tantos outros na literatura) possibilitam o ancoramento de uma infinidade de outros grupos funcionais (e por que não a combinação de grupos funcionais?). Aliando assim o material alvo da funcionalização com os grupos químicos que se deseja ancorar é possível sintetizar materiais com aplicações tão amplas quanto possível à imaginação humana e a química.

## REFERÊNCIAS

1. CHEN, H. **Biotechnology of lignocellulose: Theory and Practice**. Springer, v.Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose. 2014. 25 p.
2. DUMITRIU, S. **Polysaccharides: structural diversity and functional versatility**. CRC press. 2004. p.
3. KLEMM, D.; HEUBLEIN, B.; FINK, H. P.; BOHN, A. Cellulose: fascinating biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International Edition**, v.44, n.22, p.3358. 2005.
4. DUFRESNE, A. **Nanocellulose: from nature to high performance tailored materials**. Walter de Gruyter GmbH & Co KG. 2017. p.
5. PATEL, M.; KARERA, A.; PRASANNA, P. Effect of thermal and chemical treatments on carbon and silica contents in rice husk. **Journal of Materials Science**, v.22, n.7, p.2457. 1987.
6. LIM, J. S.; ABDUL MANAN, Z.; WAN ALWI, S. R.; HASHIM, H. A review on utilisation of biomass from rice industry as a source of renewable energy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.16, n.5, p.3084. 2012.
7. JACKSON, M. G. Rice Straw as Livestock Feed. **World Animal Review**, n.23, p.25. 1977.
8. FAOSTAT <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>, 2018; Vol. 2018.
9. TABATA, S.; IIDA, H.; HORIE, T.; YAMADA, S. Hierarchical porous carbon from cell assemblies of rice husk for in vivo applications. **MedChemComm**, v.1, n.2, p.136. 2010.
10. CHOWDHURY, S.; MISHRA, R.; SAHA, P.; KUSHWAHA, P. Adsorption thermodynamics, kinetics and isosteric heat of adsorption of malachite green onto chemically modified rice husk. **Desalination**, v.265, n.1-3, p.159. 2011.
11. GOUSSÉ, C.; CHANZY, H.; EXCOFFIER, G.; SOUBEYRAND, L.; FLEURY, E. Stable suspensions of partially silylated cellulose whiskers dispersed in organic solvents. **Polymer**, v.43, n.9, p.2645. 2002.
12. DU, X.; ZHANG, Z.; LIU, W.; DENG, Y. Nanocellulose-based conductive materials and their emerging applications in energy devices-A review. **Nano Energy**, v.35, p.299. 2017.
13. JODEH, S.; HAMED, O.; MELHEM, A.; SALGHI, R.; JODEH, D.; AZZAOU, K.; BENMASSAOUD, Y.; MURTADA, K. Magnetic nanocellulose from olive industry solid waste for the effective removal of methylene blue from wastewater. **Environmental Science and Pollution Research**, p.1. 2018.

14. EYLEY, S.; THIELEMANS, W. Imidazolium grafted cellulose nanocrystals for ion exchange applications. **Chemical Communications**, v.47, n.14, p.4177. 2011.
15. HOSTERT, L.; BLASKIEVICZ, S. F.; FONSACA, J. E.; DOMINGUES, S. H.; ZARBIN, A. J.; ORTH, E. S. Imidazole-derived graphene nanocatalysts for organophosphate destruction: Powder and thin film heterogeneous reactions. **Journal of Catalysis**, v.356, p.75. 2017.
16. FERREIRA, J. G. L.; ORTH, E. S. Degrading Pesticides with Waste Product: Imidazole-Functionalized Rice Husk Catalyst for Organophosphate Detoxification. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.28, p.1760. 2017.
17. FERREIRA, J. G. L.; GREIN-IANKOVSKI, A.; OLIVEIRA, M. A. S.; SIMAS-TOSIN, F. F.; RIEGEL-VIDOTTI, I. C.; ORTH, E. S. A tailored biocatalyst achieved by the rational anchoring of imidazole groups on a natural polymer: furnishing a potential artificial nuclease by sustainable materials engineering. **Chemical Communications**, v.51, n.28, p.6210. 2015.
18. MELLO, R. S.; ORTH, E. S.; LOH, W.; FIEDLER, H. D.; NOME, F. Polymers containing hydroxamate groups: Nanoreactors for hydrolysis of phosphoryl esters. **Langmuir**, v.27, n.24, p.15112. 2011.
19. BRANDHUBER, F.; ZENGERLE, M.; PORWOL, L.; BIERWISCH, A.; KOLLER, M.; REITER, G.; WOREK, F.; KUBIK, S. Tabun scavengers based on hydroxamic acid containing cyclodextrins. **Chemical Communications**, v.49, n.33, p.3425. 2013.
20. WANG, J.; NIU, J.; SAWADA, T.; SHAO, Z.; SERIZAWA, T. A bottom-up synthesis of vinyl-cellulose nanosheets and their nanocomposite hydrogels with enhanced strength. **Biomacromolecules**, v.18, n.12, p.4196. 2017.
21. SHODA, S.-I.; KAWASAKI, T.; OBATA, K.; KOBAYASHI, S. A facile enzymatic synthesis of cellooligosaccharide derivatives using  $\beta$ -lactosyl fluoride. **Carbohydrate research**, v.249, n.1, p.127. 1993.
22. ADHARIS, A.; PETROVIĆ, D. M.; ÖZDAMAR, I.; WOORTMAN, A. J.; LOOS, K. Environmentally friendly pathways towards the synthesis of vinyl-based oligocelluloses. **Carbohydrate polymers**, v.193, p.196. 2018.
23. LU, J.; ASKELAND, P.; DRZAL, L. T. Surface modification of microfibrillated cellulose for epoxy composite applications. **Polymer**, v.49, n.5, p.1285. 2008.
24. PANDEY, J.; CHU, W.; KIM, C.; LEE, C.; AHN, S. Bio-nano reinforcement of environmentally degradable polymer matrix by cellulose whiskers from grass. **Composites Part B: Engineering**, v.40, n.7, p.676. 2009.
25. LJUNGBERG, N.; BONINI, C.; BORTOLUSSI, F.; BOISSON, C.; HEUX, L.; CAVAILLÉ, J.-Y. New nanocomposite materials reinforced with cellulose whiskers in atactic polypropylene: effect of surface and dispersion characteristics. **Biomacromolecules**, v.6, n.5, p.2732. 2005.

26. MORANDI, G.; HEATH, L.; THIELEMANS, W. Cellulose nanocrystals grafted with polystyrene chains through surface-initiated atom transfer radical polymerization (SI-ATRP). **Langmuir**, v.25, n.14, p.8280. 2009.
27. YI, J.; XU, Q.; ZHANG, X.; ZHANG, H. Chiral-nematic self-ordering of rodlike cellulose nanocrystals grafted with poly (styrene) in both thermotropic and lyotropic states. **Polymer**, v.49, n.20, p.4406. 2008.
28. YU, J. L.; YANG, F.; LIU, Z. H.; LIU, Y. N.; LI, G. Preparation and Characterization of C10–C14 Alkyl Cellulose Ester Sulfate Surfactant. **Journal of Surfactants and Detergents**, v.17, n.4, p.647. 2014.
29. SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; DUFRESNE, A. Cellulose whiskers versus microfibrils: influence of the nature of the nanoparticle and its surface functionalization on the thermal and mechanical properties of nanocomposites. **Biomacromolecules**, v.10, n.2, p.425. 2008.
30. SIQUEIRA, G.; BRAS, J.; FOLLAIN, N.; BELBEKHOUCHE, S.; MARAIS, S.; DUFRESNE, A. Thermal and mechanical properties of bio-nanocomposites reinforced by *Luffa cylindrica* cellulose nanocrystals. **Carbohydrate polymers**, v.91, n.2, p.711. 2013.
31. ISOGAI, A.; KATO, Y. Preparation of polyuronic acid from cellulose by TEMPO-mediated oxidation. **Cellulose**, v.5, n.3, p.153. 1998.
32. EYHOLZER, C.; BORDEANU, N.; LOPEZ-SUEVOS, F.; RENTSCH, D.; ZIMMERMANN, T.; OKSMAN, K. Preparation and characterization of water-redispersible nanofibrillated cellulose in powder form. **Cellulose**, v.17, n.1, p.19. 2010.
33. HEYDARZADEH, H. D. N., G. D.; NAZARI-MOGHADDAM, A. A. Catalyst-Free Conversion of Alkali Cellulose to Fine Carboxymethyl Cellulose at Mild Conditions. **World Applied Sciences Journal**, v.6, n.4, p.564. 2009.
34. MOON, R. J.; MARTINI, A.; NAIRN, J.; SIMONSEN, J.; YOUNGBLOOD, J. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. **Chemical Society Reviews**, v.40, n.7, p.3941. 2011.
35. ASTRINI, N.; ANAH, L.; HARYONO, A. Crosslinking Parameter on the preparation of cellulose based hydrogel with divinylsulfone. **Procedia Chemistry**, v.4, p.275. 2012.
36. MARTINS, B. F.; DE TOLEDO, P. V.; PETRI, D. F. Hydroxypropyl methylcellulose based aerogels: Synthesis, characterization and application as adsorbents for wastewater pollutants. **Carbohydrate polymers**, v.155, p.173. 2017.
37. SHINODA, R.; SAITO, T.; OKITA, Y.; ISOGAI, A. Relationship between length and degree of polymerization of TEMPO-oxidized cellulose nanofibrils. **Biomacromolecules**, v.13, n.3, p.842. 2012.

38. FOLLAIN, N.; MONTANARI, S.; JEACOMINE, I.; GAMBARELLI, S.; VIGNON, M. R. Coupling of amines with polyglucuronic acid: Evidence for amide bond formation. **Carbohydrate polymers**, v.74, n.3, p.333. 2008.
39. FOLLAIN, N.; MARAIS, M.-F.; MONTANARI, S.; VIGNON, M. R. Coupling onto surface carboxylated cellulose nanocrystals. **Polymer**, v.51, n.23, p.5332. 2010.
40. SANANDIYA, N. D.; SIDDHANTA, A. Facile synthesis of a new fluorogenic metal scavenging interpolymeric diamide based on cellulose and alginic acids. **Carbohydrate research**, v.381, p.93. 2013.
41. BARAZZOUK, S.; DANEALU, C. Spectroscopic characterization of oxidized nanocellulose grafted with fluorescent amino acids. **Cellulose**, v.18, n.3, p.643. 2011.
42. BENKADDOUR, A.; JOURNOUX-LAPP, C.; JRADI, K.; ROBERT, S.; DANEALU, C. Study of the hydrophobization of TEMPO-oxidized cellulose gel through two routes: amidation and esterification process. **Journal of materials science**, v.49, n.7, p.2832. 2014.
43. HUANG, J.; CHANG, P. R.; LIN, N.; DUFRESNE, A. **Polysaccharide-based nanocrystals: chemistry and applications**. John Wiley & Sons. 2014. p.
44. GUPTA, R. C. In *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*; Academic Press: Burlington, 2006, p 5.
45. WEI, G.-L.; LI, D.-Q.; ZHUO, M.-N.; LIAO, Y.-S.; XIE, Z.-Y.; GUO, T.-L.; LI, J.-J.; ZHANG, S.-Y.; LIANG, Z.-Q. Organophosphorus flame retardants and plasticizers: sources, occurrence, toxicity and human exposure. **Environmental Pollution**, v.196, p.29. 2015.
46. WESTHEIMER, F. H. The Role of Phosphorus in Chemistry and Biochemistry - an Overview. **Acs Symposium Series**, v.486, p.1. 1992.
47. KIM, K.; TSAY, O. G.; ATWOOD, D. A.; CHURCHILL, D. G. Destruction and detection of chemical warfare agents. **Chemical reviews**, v.111, n.9, p.5345. 2011.
48. GUPTA, R. C. **Handbook of toxicology of chemical warfare agents**. Academic Press. 2015. p.
49. KARALLIEDDE, L.; SENANAYAKE, N. Organophosphorus insecticide poisoning. **British journal of anaesthesia**, v.63, n.6, p.736. 1989.
50. NEPOVIMOVA, E.; KUČA, K. Chemical warfare agent NOVICHOK-mini-review of available data. **Food and chemical toxicology**. 2018.
51. INSTITUTE, N. P. <https://www.nobelprize.org/prizes/peace/2013/opcw/facts/>, 2018; Vol. 2018.

52. OPCW <https://www.opcw.org/media-centre/opcw-numbers>, 2019.
53. DELFINO, R. T.; RIBEIRO, T. S.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Organophosphorus compounds as chemical warfare agents: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.20, n.3, p.407. 2009.
54. JOHN, H.; VAN DER SCHANS, M. J.; KOLLER, M.; SPRUIT, H. E.; WOREK, F.; THIERMANN, H.; NOORT, D. Fatal sarin poisoning in Syria 2013: forensic verification within an international laboratory network. **Forensic toxicology**, v.36, n.1, p.61. 2018.
55. ALAVANJA, M. C. Introduction: Pesticides use and exposure, extensive worldwide. **Reviews on environmental health**, v.24, n.4, p.303. 2009.
56. INTELLIGENCE, M. *Global Organophosphate Pesticide Market - Segmented by Active Ingredients, Product Type, Application, and Geography - Growth, Trends, and Forecast (2019 - 2024)*, 2018.
57. ANVISA RELATÓRIO DAS ANÁLISES DE AMOSTRAS MONITORADAS NO PERÍODO DE 2013 A 2015, ANVISA, 2016.
58. ORTH, E. S. **Reações nucleofílicas de desfosforilação com imidazol e hidroxamato: modelagem em sistemas intra- e intermolecular, polimérico e micelar**. Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011. p.
59. KIRBY, A. J.; NOME, F. Fundamentals of phosphate transfer. **Accounts of chemical research**, v.48, n.7, p.1806. 2015.
60. SCHROEDER, G. K.; LAD, C.; WYMAN, P.; WILLIAMS, N. H.; WOLFENDEN, R. The time required for water attack at the phosphorus atom of simple phosphodiester and of DNA. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, n.11, p.4052. 2006.
61. WOLFENDEN, R. Degrees of difficulty of water-consuming reactions in the absence of enzymes. **Chemical reviews**, v.106, n.8, p.3379. 2006.
62. MATUSZAK, C.; MATUSZAK, A. Imidazole-Versatile today, prominent tomorrow. **Journal of Chemical Education**, v.53, n.5, p.280. 1976.
63. LENARCIK, B.; OJCZENASZ, P. The influence of the size and position of the alkyl groups in alkylimidazole molecules on their acid-base properties. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v.39, n.2, p.287. 2002.
64. GREEN, H.; DAY, A. R. The Tautomeric Character of the Imidazole Ring. **Journal of the American Chemical Society**, v.64, n.5, p.1167. 1942.
65. SUNDBERG, R. J.; MARTIN, R. B. Interactions of histidine and other imidazole derivatives with transition metal ions in chemical and biological systems. **Chemical reviews**, v.74, n.4, p.471. 1974.

66. SMILLIE, L. B.; HARTLEY, B. S. Histidine Sequences in Active Centres of Some Serine Proteinases. **Biochemical Journal**, v.101, n.1, p.232. 1966.
67. WONG, K.-Y.; GAO, J. The reaction mechanism of paraoxon hydrolysis by phosphotriesterase from combined QM/MM simulations. **Biochemistry**, v.46, n.46, p.13352. 2007.
68. BIGLEY, A. N.; RAUSHEL, F. M. Catalytic mechanisms for phosphotriesterases. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics**, v.1834, n.1, p.443. 2013.
69. KIRSCH, J. F.; JENCKS, W. P. Base Catalysis of Imidazole Catalysis of Ester Hydrolysis. **Journal of the American Chemical Society**, v.86, n.5, p.833. 1964.
70. ORTH, E. S.; WANDERLIND, E. H.; MEDEIROS, M.; OLIVEIRA, P. S. M.; VAZ, B. G.; EBERLIN, M. N.; KIRBY, A. J.; NOME, F. Phosphorylimidazole Derivatives: Potentially Biosignaling Molecules. **Journal of Organic Chemistry**, v.76, n.19, p.8003. 2011.
71. CAMPOS, R. B.; MENEZES, L. R. A.; BARISON, A.; TANTILLO, D. J.; ORTH, E. S. The Importance of Methyl Positioning and Tautomeric Equilibria for Imidazole Nucleophilicity. **Chemistry – A European Journal**, v.22, n.43, p.15521. 2016.
72. ORTH, E. S.; ALMEIDA, T. G.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, A. R.; OCAMPOS, F. M. M.; BARISON, A. Mechanistic insight on the catalytic detoxification of Paraoxon mediated by imidazole: Furnishing optimum scaffolds for scavenging organophosphorus agents. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, v.403, p.93. 2015.
73. FERREIRA, J. G.; RAMOS, L. M.; DE OLIVEIRA, A. L.; ORTH, E. S.; NETO, B. A. An Ionically Tagged Water-Soluble Artificial Enzyme Promotes the Dephosphorylation Reaction with Nitroimidazole: Enhanced Ionic Liquid Effect and Mechanism. **The Journal of organic chemistry**, v.80, n.11, p.5979. 2015.
74. ORTH, E. S.; FONSACA, J. E. S.; DOMINGUES, S. H.; MEHL, H.; OLIVEIRA, M. M.; ZARBIN, A. J. G. Targeted thiolation of graphene oxide and its utilization as precursor for graphene/silver nanoparticles composites. **Carbon**, v.61, p.543. 2013.
75. BROWN, D. A.; COOGAN, R. A.; FITZPATRICK, N. J.; GLASS, W. K.; ABUKSHIMA, D. E.; SHIELS, L.; AHLGRÉN, M.; SMOLANDER, K.; PAKKANEN, T. T.; PAKKANEN, T. A. Conformational behaviour of hydroxamic acids: ab initio and structural studies. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n.12, p.2673. 1996.
76. RAPPOPORT, Z.; LIEBMAN, J. F. **The chemistry of hydroxylamines, oximes and hydroxamic acids**. John Wiley & Sons, v.1. 2008. p.

77. KIRBY, A. J.; MANFREDI, A. M.; SOUZA, B. S.; MEDEIROS, M.; PRIEBE, J. P.; BRANDÃO, T. A.; NOME, F. Reactions of alpha-nucleophiles with a model phosphate diester. **ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry**. 2009.
78. KLOPMAN, G.; TSUDA, K.; LOUIS, J.; DAVIS, R. Supernucleophiles—I: The alpha effect. **Tetrahedron**, v.26, n.19, p.4549. 1970.
79. EXNER, O.; HRADIL, M.; MOLLIN, J. Dissociation of hydroxamic acids: solvent effects. **Collection of Czechoslovak chemical communications**, v.58, n.5, p.1109. 1993.
80. MEDEIROS, M.; ORTH, E. S.; MANFREDI, A. M.; PAVEZ, P.; MICKE, G. A.; KIRBY, A. J.; NOME, F. Dephosphorylation reactions of mono-, di-, and triesters of 2, 4-dinitrophenyl phosphate with deferoxamine and benzohydroxamic acid. **The Journal of organic chemistry**, v.77, n.23, p.10907. 2012.
81. ORTH, E. S.; DA SILVA, P. L.; MELLO, R. S.; BUNTON, C. A.; MILAGRE, H. M.; EBERLIN, M. N.; FIEDLER, H. D.; NOME, F. Suicide nucleophilic attack: Reactions of benzohydroxamate anion with bis (2, 4-dinitrophenyl) phosphate. **The Journal of organic chemistry**, v.74, n.14, p.5011. 2009.
82. CAO, X.; DING, B.; YU, J.; AL-DEYAB, S. S. Cellulose nanowhiskers extracted from TEMPO-oxidized jute fibers. **Carbohydrate polymers**, v.90, n.2, p.1075. 2012.
83. NDAZI, B. S.; KARLSSON, S.; TESHAI, J. V.; NYAHUMWA, C. W. Chemical and physical modifications of rice husks for use as composite panels. **Composites Part a-Applied Science and Manufacturing**, v.38, n.3, p.925. 2007.
84. JIN, B. S.; KANG, H. C.; KIM, D.; LEE, K. H.; BAE, Y. H. Synthesis of poly(cystine bisamide)-PEG block copolymers grafted with 1-(3-aminopropyl)imidazole and their phase transition behaviors. **Polymers for Advanced Technologies**, v.19, n.11, p.1558. 2008.
85. SAM, S.; TOUAHIR, L.; ANDRESA, J. S.; ALLONGUE, P.; CHAZALVIEL, J. N.; GOUGET-LAEMMEL, A. C.; DE VILLENEUVE, C. H.; MORAILLON, A.; OZANAM, F.; GABOUZE, N.; DJEBBAR, S. Semiquantitative Study of the EDC/NHS Activation of Acid Terminal Groups at Modified Porous Silicon Surfaces. **Langmuir**, v.26, n.2, p.809. 2010.
86. SHERVEDANI, R. K.; BAGHERZADEH, M. Hydroxamation of gold surface via in-situ layer-by-layer functionalization of cysteamine self-assembled monolayer: Preparation and electrochemical characterization. **Electrochimica Acta**, v.53, n.22, p.6293. 2008.
87. DE SOUZA, A. C.; RIETKERK, T.; SELIN, C. G.; LANKHORST, P. P. A robust and universal NMR method for the compositional analysis of polysaccharides. **Carbohydrate polymers**, v.95, n.2, p.657. 2013.

88. MARTELL, A. E.; MOTEKAITIS, R. J. **Determination and use of stability constants**. VCH publishers. 1992. p.
89. SHIBATA, I.; YANAGISAWA, M.; SAITO, T.; ISOGAI, A. SEC-MALS analysis of cellouronic acid prepared from regenerated cellulose by TEMPO-mediated oxidation. **Cellulose**, v.13, n.1, p.73. 2006.
90. KRAEMER, E.; DEXTER, S. The light-scattering capacity (tyndall effect) and colloidal behavior of gelatine sols and gels. **The Journal of Physical Chemistry**, v.31, n.5, p.764. 1927.
91. ISOGAI, A.; HÄNNINEN, T.; FUJISAWA, S.; SAITO, T. Catalytic oxidation of cellulose with nitroxyl radicals under aqueous conditions. **Progress in Polymer Science**. 2018.
92. DE NOOY, A.; BESEMER, A.; VAN BEKKUM, H. Highly selective TEMPO mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas**, v.113, n.3, p.165. 1994.
93. SPIER, V. C.; SIERAKOWSKI, M. R.; REED, W. F.; DE FREITAS, R. A. Polysaccharide depolymerization from TEMPO-catalysis: Effect of TEMPO concentration. **Carbohydrate polymers**, v.170, p.140. 2017.
94. SHIBATA, I.; ISOGAI, A. Depolymerization of cellouronic acid during TEMPO-mediated oxidation. **Cellulose**, v.10, n.2, p.151. 2003.
95. COSERI, S.; BERCEA, M.; HARABAGIU, V.; BUDTOVA, T. Oxidation vs. degradation in polysaccharides: Pullulan–A case study. **European Polymer Journal**, v.85, p.82. 2016.
96. SAM, S.; TOUAHIR, L.; SALVADOR ANDRESA, J.; ALLONGUE, P.; CHAZALVIEL, J.-N.; GOUGET-LAEMMEL, A.; HENRY DE VILLENEUVE, C.; MORAILLON, A.; OZANAM, F.; GABOUZE, N. Semiquantitative study of the EDC/NHS activation of acid terminal groups at modified porous silicon surfaces. **Langmuir**, v.26, n.2, p.809. 2009.
97. BATTEGAZZORE, D.; BOCCHINI, S.; ALONGI, J.; FRACHE, A. Rice husk as bio-source of silica: preparation and characterization of PLA–silica bio-composites. **RSC Advances**, v.4, n.97, p.54703. 2014.
98. FONSACA, J. E.; HOSTERT, L.; ORTH, E. S.; ZARBIN, A. J. Tailoring multifunctional graphene-based thin films: from nanocatalysts to SERS substrates. **Journal of Materials Chemistry A**, v.5, n.20, p.9591. 2017.
99. WAN, L.; WANG, X.; WANG, S.; LI, S.; LI, Q.; TIAN, R.; LI, M. Synthesis, characterization, and electrochemical properties of imidazole derivatives functionalized single-walled carbon nanotubes. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v.22, n.4, p.331. 2009.

100. HIGGINS, F. S.; MAGLIOCCO, L. G.; COLTHUP, N. B. Infrared and Raman spectroscopy study of alkyl hydroxamic acid and alkyl hydroxamate isomers. **Applied spectroscopy**, v.60, n.3, p.279. 2006.
101. BROMBERG, L.; SCHREUDER-GIBSON, H.; CREASY, W. R.; MCGARVEY, D. J.; FRY, R. A.; HATTON, T. A. Degradation of chemical warfare agents by reactive polymers. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.48, n.3, p.1650. 2008.
102. GÓMEZ, F.; COMBARIZA, M.; BLANCO-TIRADO, C. Facile cellulose nanofibrils amidation using a 'one-pot' approach. **Cellulose**, v.24, n.2, p.717. 2017.
103. AZZAM, F.; HEUX, L.; PUTAUX, J.-L.; JEAN, B. Preparation by grafting onto, characterization, and properties of thermally responsive polymer-decorated cellulose nanocrystals. **Biomacromolecules**, v.11, n.12, p.3652. 2010.
104. TRAN, C. D.; MUTUTUVARI, T. M. Cellulose, chitosan and keratin composite materials: facile and recyclable synthesis, conformation and properties. **ACS sustainable chemistry & engineering**, v.4, n.3, p.1850. 2016.
105. EDUOK, U.; FAYE, O.; SZPUNAR, J. Corrosion inhibition of X70 sheets by a film-forming imidazole derivative at acidic pH. **RSC Advances**, v.6, n.110, p.108777. 2016.
106. SEO, K.; KIM, D. Phase transition behavior of novel pH-sensitive polyaspartamide derivatives grafted with 1-(3-aminopropyl) imidazole. **Macromolecular bioscience**, v.6, n.9, p.758. 2006.
107. KACZOR, A.; SZCZEPANSKI, J.; VALA, M.; KOZŁOWSKI, H.; PRONIEWICZ, L. M. Infrared absorption spectra of 2-(hydroxyimino) propanohydroxamic and oxalodihydroxamic acids isolated in argon matrices. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v.5, n.11, p.2337. 2003.
108. HOIDY, W. H.; AHMAD, M. B.; AL-MULLA, E. A. J.; YUNUS, W. M. Z. W. Synthesis and characterization of fatty hydroxamic acids from triacylglycerides. **Journal of oleo science**, v.59, n.1, p.15. 2010.
109. MAITI, S.; DEY, S.; PURAKAYASTHA, S.; GHOSH, B. Physical and thermochemical characterization of rice husk char as a potential biomass energy source. **Bioresource Technology**, v.97, n.16, p.2065. 2006.
110. GUILBERT-GARCÍA, E.; SALGADO-DELGADO, R.; RANGEL-VÁZQUEZ, N.; GARCÍA-HERNÁNDEZ, E.; RUBIO-ROSAS, E.; SALGADO-RODRÍGUEZ, R. Modification of rice husk to improve the interface in isotactic polypropylene composites. **Latin American applied research**, v.42, n.1, p.83. 2012.
111. RAJESH, S.; MAHESWARI, P.; SENTHILKUMAR, S.; JAYALAKSHMI, A.; MOHAN, D. Preparation and characterisation of poly (amide-imide) incorporated cellulose acetate membranes for polymer enhanced ultrafiltration of metal ions. **Chemical Engineering Journal**, v.171, n.1, p.33. 2011.

112. ALY, A.; SOKKER, H.; HASHEM, A.; HEBEISH, A. Preparation of cellulosic membrane containing pyrrolidone moiety via radiation induced grafting and its application in wastewater treatment. 2005.
113. RILEY, S. R. R.; VICKERY, R. D.; NEMETH, G. A.; HAAS, M. J.; KASPRZAK, D. J.; MAURIN, M. B. Thermal decomposition of matrix metalloproteinase inhibitors: Evidence of solid state dimerization. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v.54, n.2, p.324. 2011.
114. OHTSUKA, N.; OKUNO, M.; HOSHINO, Y.; HONDA, K. A base-mediated self-propagative Lossen rearrangement of hydroxamic acids for the efficient and facile synthesis of aromatic and aliphatic primary amines. **Organic & biomolecular chemistry**, v.14, n.38, p.9046. 2016.
115. BIALIK, E.; STENQVIST, B. R.; FANG, Y.; ÖSTLUND, Å.; FURÓ, I. N.; LINDMAN, B. R.; LUND, M.; BERNIN, D. Ionization of cellobiose in aqueous alkali and the mechanism of cellulose dissolution. **The journal of physical chemistry letters**, v.7, n.24, p.5044. 2016.
116. MA, P.; FU, S.; ZHAI, H.; LAW, K.; DANEAUULT, C. Influence of TEMPO-mediated oxidation on the lignin of thermomechanical pulp. **Bioresource technology**, v.118, p.607. 2012.
117. ORTH, E. S.; FERREIRA, J. G.; FONSACA, J. E.; BLASKIEVICZ, S. F.; DOMINGUES, S. H.; DASGUPTA, A.; TERRONES, M.; ZARBIN, A. J. PKa determination of graphene-like materials: Validating chemical functionalization. **Journal of colloid and interface science**, v.467, p.239. 2016.
118. BRAUN, B.; DORGAN, J. R. Single-step method for the isolation and surface functionalization of cellulosic nanowhiskers. **Biomacromolecules**, v.10, n.2, p.334. 2008.
119. AONO, R. The poly- $\alpha$ -and- $\beta$ -1, 4-glucuronic acid moiety of teichuronopeptide from the cell wall of the alkalophilic *Bacillus* strain C-125. **Biochemical Journal**, v.270, n.2, p.363. 1990.
120. WALKER, T.; LONDON, R.; WHALEY, T.; BARKER, R.; MATWIYOFF, N. A. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of [1- $^{13}\text{C}$ ] enriched monosaccharides. Signal assignments and orientational dependence of geminal and vicinal carbon-carbon and carbon-hydrogen spin-spin coupling constants. **Journal of the American Chemical Society**, v.98, n.19, p.5807. 1976.
121. WATANABE, E.; TAMURA, N.; SAITO, T.; HABU, N.; ISOGAI, A. Preparation of completely C6-carboxylated curdlan by catalytic oxidation with 4-acetamido-TEMPO. **Carbohydrate polymers**, v.100, p.74. 2014.
122. LIU, Y.-H.; LIANG, W.-L.; LEE, C.-C.; TSAI, Y.-F.; HOU, W.-C. Antioxidant and semicarbazide-sensitive amine oxidase inhibitory activities of glucuronic acid hydroxamate. **Food chemistry**, v.129, n.2, p.423. 2011.

123. AL-FAIYZ, Y. S. Synthesis of New N-Alkyl-O-Acyl Hydroxamic Acid Derivatives. **Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)**, v.7, n.2, p.1427H. 2006.
124. GAUCHOT, V.; BRANCA, M.; SCHMITZER, A. Encapsulation of a catalytic imidazolium salt into avidin: Towards the development of a biohybrid catalyst active in ionic liquids. **Chemistry–A European Journal**, v.20, n.6, p.1530. 2014.
125. CHEN, C.-L.; ROBERT, D. In *Methods in enzymology*; Elsevier: 1988; Vol. 161, p 137.
126. DE LHONEUX, B.; GERLACHE, L.; CLEMENTE, A.; RODA-SANTOS, M.; MENAIA, J.; FERNANDES, T. Ultrastructural characterization of rice husk submitted to different pretreatments to optimize its fermentation. **Biological wastes**, v.23, n.3, p.163. 1988.
127. TAKAHASHI, N.; KATO, Y.; ISOGAI, A.; KURATA, K. Silica distribution on the husk epidermis at different parts of the panicle in rice (*Oryza sativa* L.) determined by X-ray microanalysis. **Plant production science**, v.9, n.2, p.168. 2006.
128. WATSON, C.; DIKEMAN, E. STRUCTURE OF THE RICE GRAIN SHOWN BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY" 2. **Cereal Chem**, v.54, n.1, p.120. 1977.
129. SOLTANI, N.; BAHRAMI, A.; PECH-CANUL, M.; GONZÁLEZ, L. Review on the physicochemical treatments of rice husk for production of advanced materials. **Chemical engineering journal**, v.264, p.899. 2015.
130. NAM, S.; FRENCH, A. D.; CONDON, B. D.; CONCHA, M. Segal crystallinity index revisited by the simulation of X-ray diffraction patterns of cotton cellulose I $\beta$  and cellulose II. **Carbohydrate polymers**, v.135, p.1. 2016.
131. SEGAL, L.; CREELY, J.; MARTIN JR, A.; CONRAD, C. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer. **Textile Research Journal**, v.29, n.10, p.786. 1959.
132. NASCIMENTO, P.; MARIM, R.; CARVALHO, G.; MALI, S. Nanocellulose produced from rice hulls and its effect on the properties of biodegradable starch films. **Materials Research**, v.19, n.1, p.167. 2016.
133. JOHAR, N.; AHMAD, I.; DUFRESNE, A. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. **Industrial Crops and Products**, v.37, n.1, p.93. 2012.
134. ZUGENMAIER, P. **Cellulose**. Springer. 2008. p.
135. EVERETT, D. Basic principles of colloid science The Royal Society of chemistry. **Cambridge, UK**. 1988.

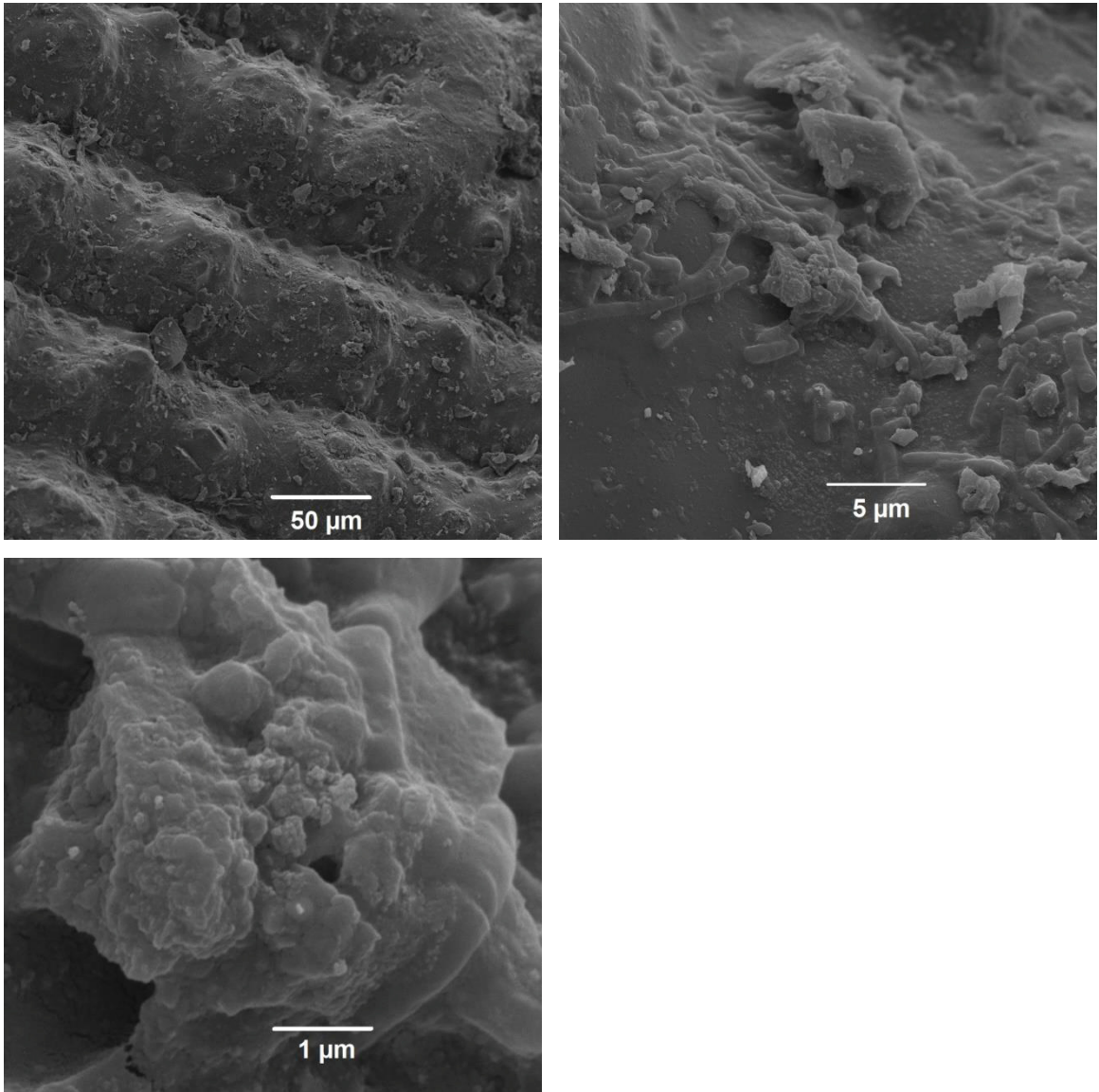
136. WATANABE, S.; HAYASHI, J.; AKAHORI, T. Molecular chain conformation and crystallite structure of cellulose. I. Fine structure of rayon fibers. **Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition**, v.12, n.5, p.1065. 1974.
137. MAEKAWA, E.; KOSHIJIMA, T. Preparation and characterization of hydroxamic acid derivative and its metal complexes derived from cellulose. **Journal of Applied Polymer Science**, v.40, n.9-10, p.1601. 1990.
138. WANDERLIND, E. H. Cinética e mecanismo de hidrólise do triéster dietil 2, 4-dinitrofenil fosfato. 2014.
139. HOSTERT, L.; CAMPOS, R. B.; FONSACA, J. E.; SILVA, V. B.; BLASKIEVICZ, S. F.; FERREIRA, J. G.; TAKARADA, W.; NAIDEK, N.; SANTOS, Y. H.; NASCIMENTO, L. L. Targeted catalytic degradation of organophosphates: pursuing sensors. **Pure and Applied Chemistry**. 2018.
140. LIMA, M. F.; DA CRUZ, P. A. U.; FERNANDES, M. E. C.; POLAQUINI, C.; MIGUEL, E. L.; PLIEGO JR, J. R.; SCORSIN, L.; OLIVEIRA, B. S.; NOME, F. Cleaving paraoxon with hydroxylamine: Ammonium oxide isomer favors a Frontside attack mechanism. **Journal of Physical Organic Chemistry**, p.e3866. 2018.
141. BARNARD, P.; BUNTON, C.; LLEWELLYN, D.; VERNON, C.; WELCH, V. 523. The reactions of organic phosphates. Part V. The hydrolysis of triphenyl and trimethyl phosphates. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, p.2670. 1961.
142. KUO, L. Y.; PERERA, N. M. Paraoxon and parathion hydrolysis by aqueous molybdenocene dichloride (Cp<sub>2</sub>MoCl<sub>2</sub>): first reported pesticide hydrolysis by an organometallic complex. **Inorganic chemistry**, v.39, n.10, p.2103. 2000.
143. SALOMON, C. J.; BREUER, E. Spontaneous lossen rearrangement of (Phosphonoformyl) hydroxamates. The migratory aptitude of the phosphonyl group. **The Journal of Organic Chemistry**, v.62, n.12, p.3858. 1997.
144. YALE, H. L. The Hydroxamic Acids. **Chemical Reviews**, v.33, n.3, p.209. 1943.
145. BACHMAN, G. B.; GOLDMACHER, J. E. Conversion of Carboxylic Acids to Amines and Their Derivatives<sup>1</sup>. **The Journal of Organic Chemistry**, v.29, n.9, p.2576. 1964.
146. BAUER, L.; EXNER, O. The chemistry of hydroxamic acids and N-hydroxyimides. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v.13, n.6, p.376. 1974.
147. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BRANDAO, T. A.; SANTOS, L. S.; EBERLIN, M. N.; BUNTON, C. A.; NOME, F. Reaction of bis (2, 4-dinitrophenyl) phosphate with hydrazine and hydrogen peroxide. Comparison of O- and N-phosphorylation. **The Journal of organic chemistry**, v.69, n.23, p.7898. 2004.

148. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BUNTON, C. A.; NOME, F. Reactions of bis (2, 4-dinitrophenyl) phosphate with hydroxylamine. **The Journal of organic chemistry**, v.68, n.18, p.7051. 2003.
149. EL-MALLAH, N.; SENIOR, S.; NABIL, G.; RAMADAN, M. S.; HAMED, E. Effect of acetonitrile–water mixtures on the reaction of dinitrochlorobenzene and dinitrochlorobenzotrifluoride with hydroxide ion. **International Journal of Chemical Kinetics**, v.42, n.8, p.453. 2010.
150. HAN, X.; BALAKRISHNAN, V. K.; VANLOON, G. W.; BUNCEL, E. Degradation of the pesticide fenitrothion as mediated by cationic surfactants and  $\alpha$ -nucleophilic reagents. **Langmuir**, v.22, n.21, p.9009. 2006.
151. GUPTA, B.; SHARMA, R.; SINGH, N.; KARPICHEV, Y.; SATNAMI, M. L.; GHOSH, K. K. Reactivity studies of carbon, phosphorus and sulfur-based acyl sites with tertiary oximes in gemini surfactants. **Journal of Physical Organic Chemistry**, v.26, n.8, p.632. 2013.

**APÊNDICE – FIGURAS E IMAGENS COMPLEMENTARES**

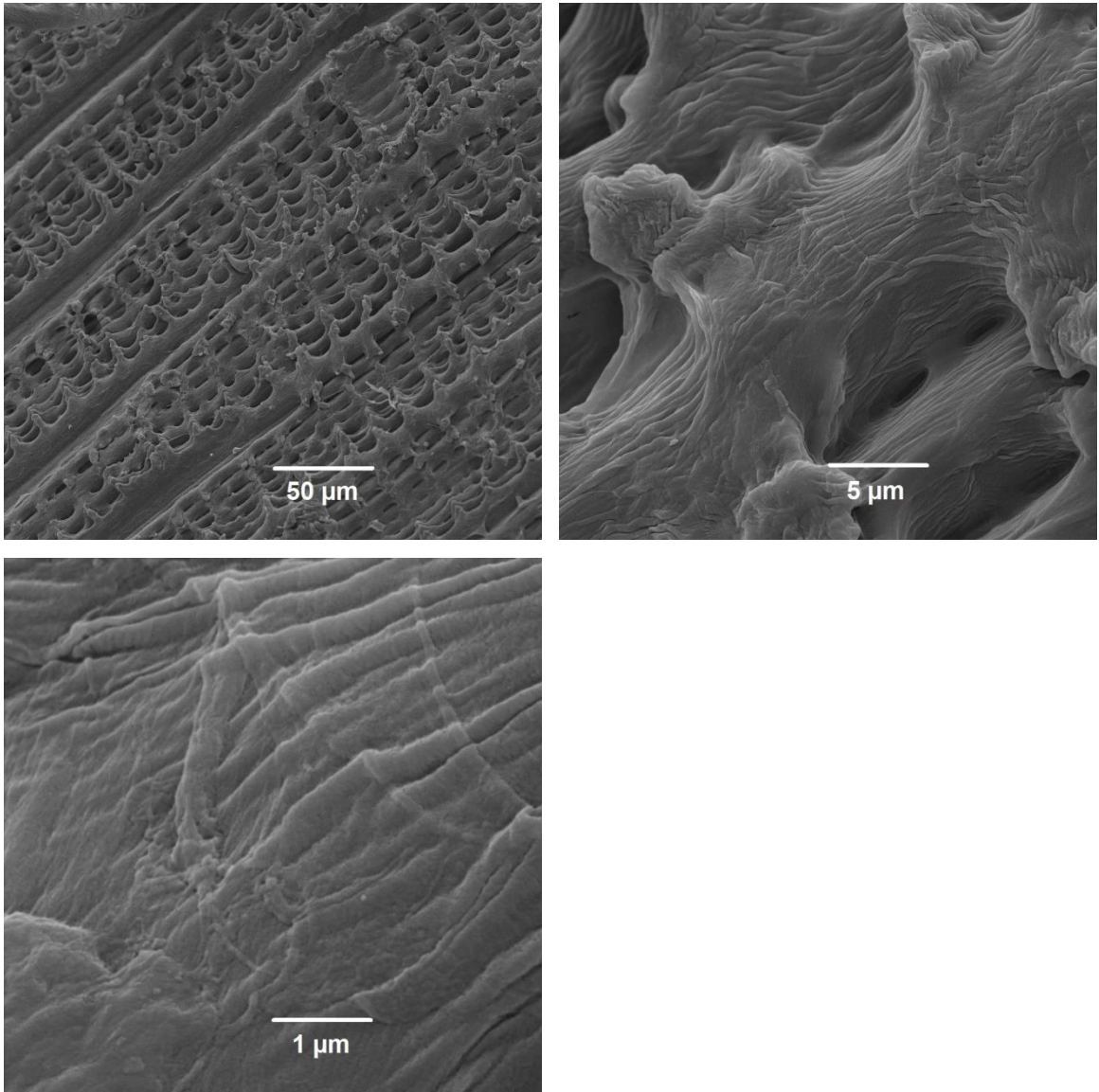
Sumário	Página
FIGURA A1 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA CA	123
FIGURA A2 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA CANAHOH	124
FIGURA A3 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICACOOH	125
FIGURA A4 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICAIMZ	126
FIGURA A5 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICAAHD	127
FIGURA A6 – ESPECTROS DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DAS AMOSTRAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ NA REGIÃO DE -5-205 PPM	128
FIGURA A7 – ESPECTROS DE RMN DE $^{13}\text{C}$ DAS AMOSTRAS SCACOOH, SCAAHD E SCAIMZ NA REGIÃO DE -5-205 PPM	128
FIGURA A8 – TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DA AMOSTRA SÓLIDA ICANAHOH	129

FIGURA A1 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA CA



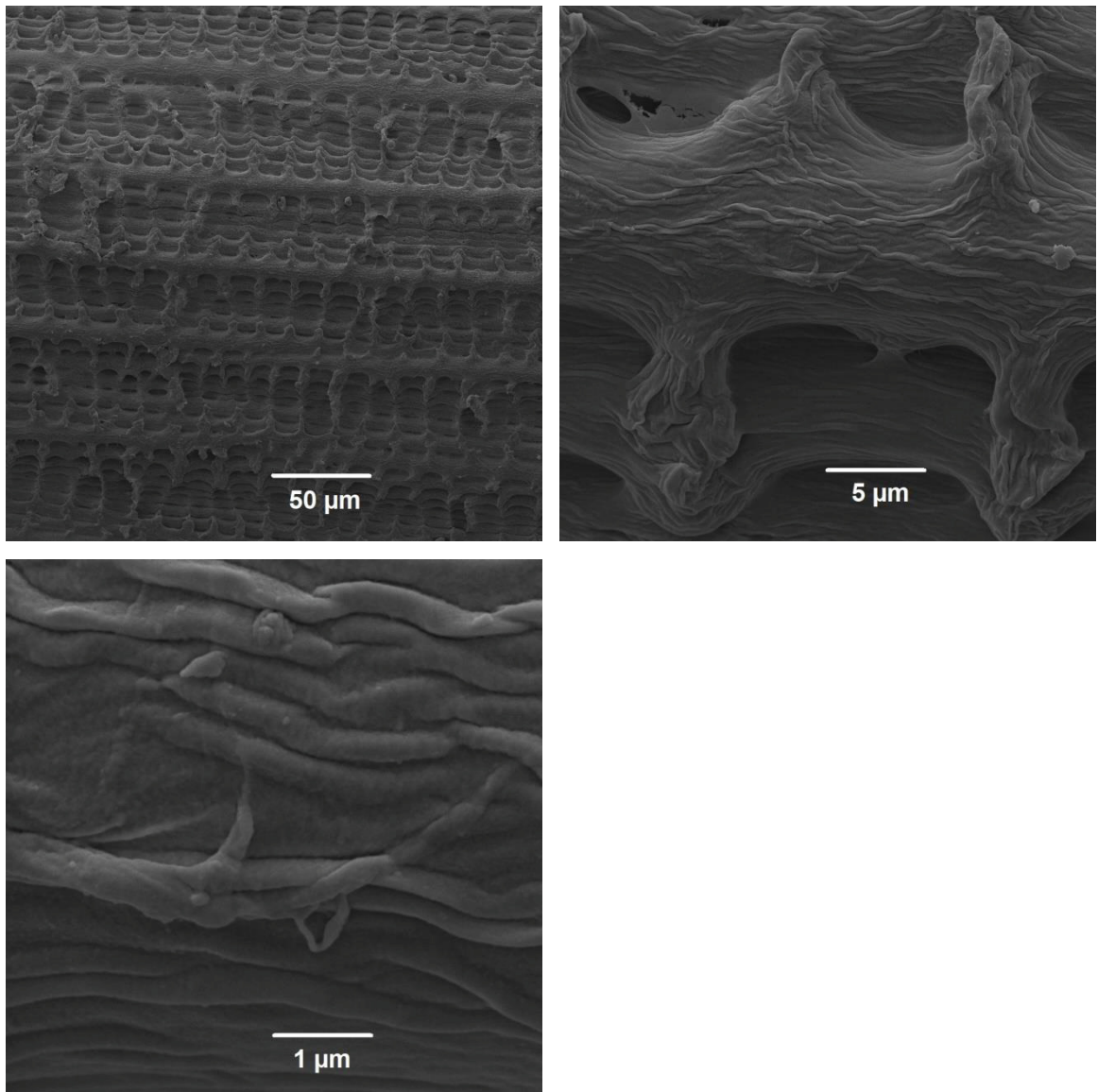
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A2 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA CANAOH



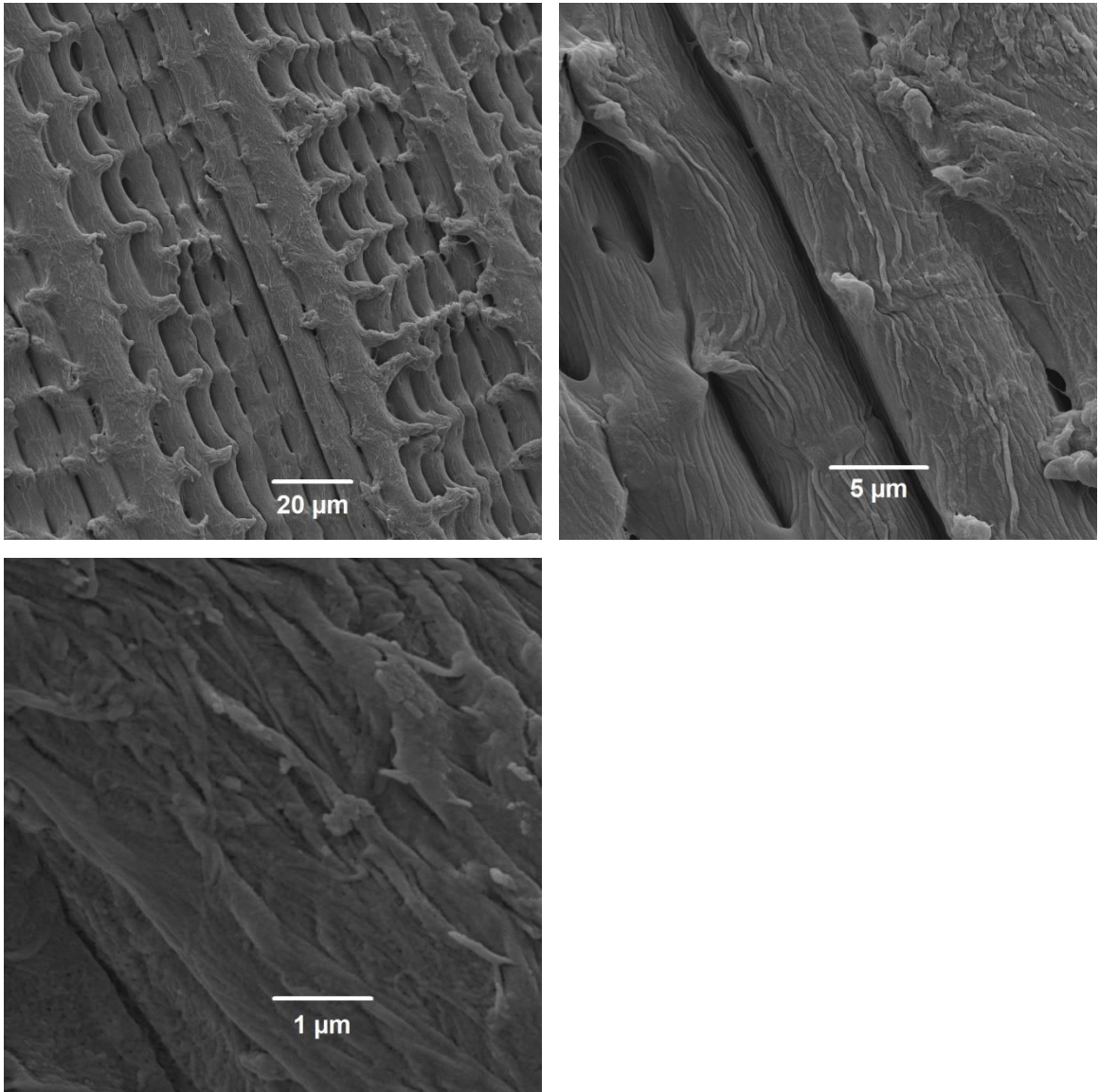
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A3 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICACOOH



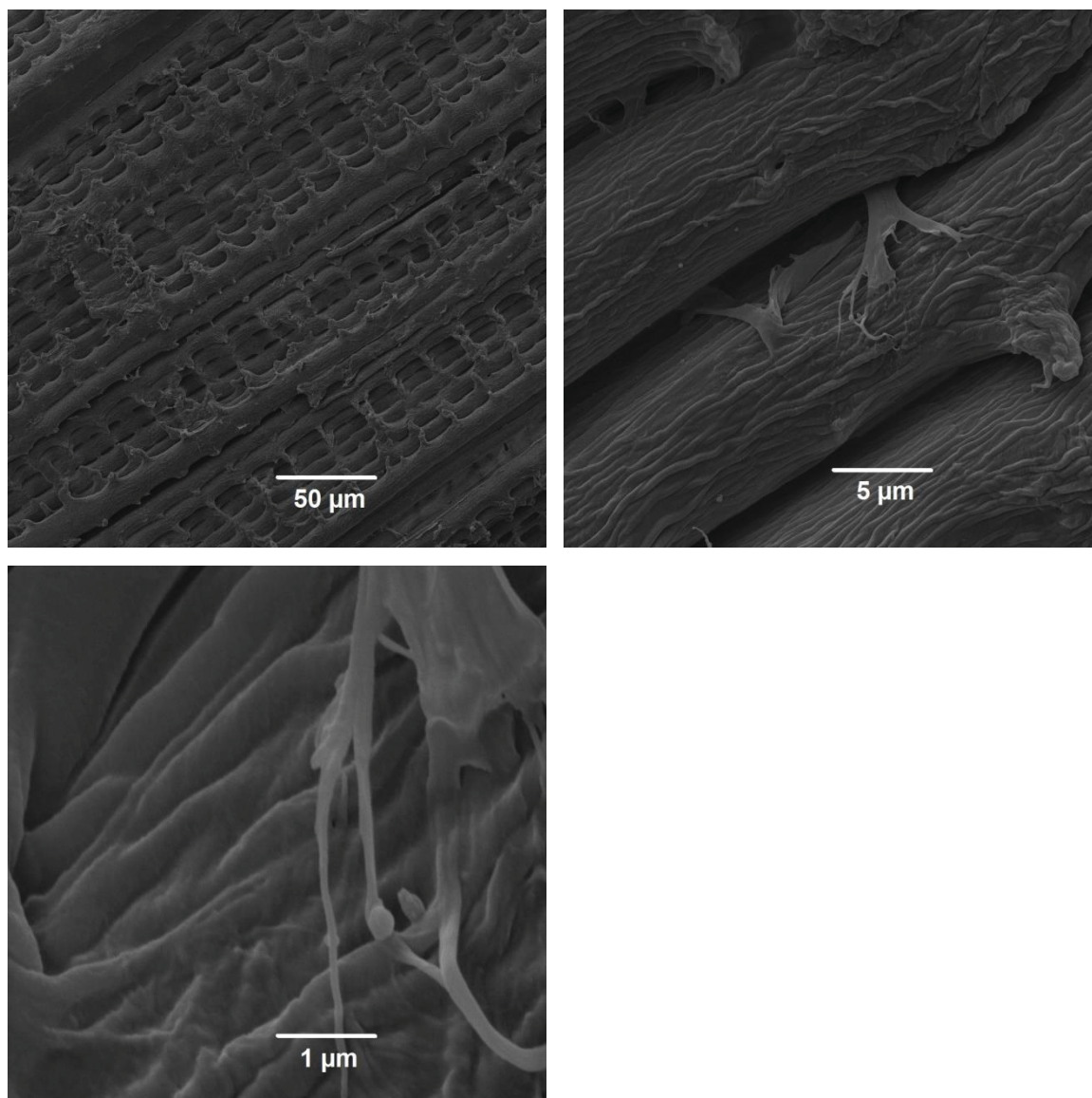
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A4 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICAIMZ



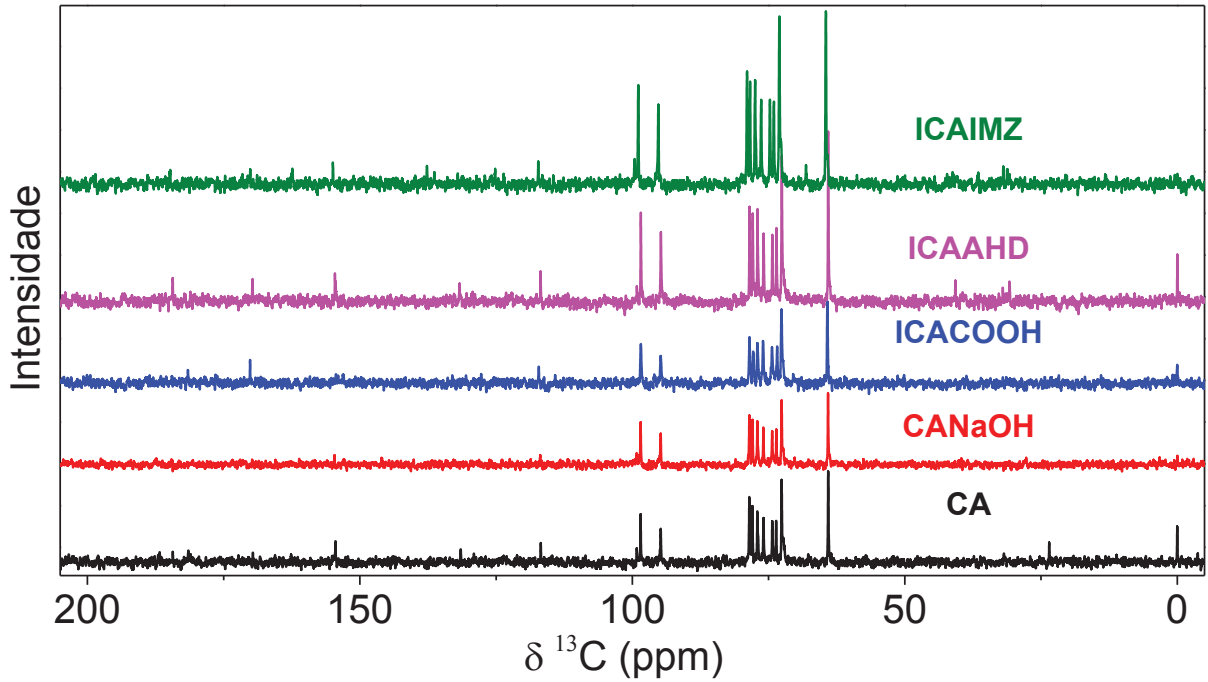
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A5 – IMAGENS DE MEV DA AMOSTRA ICAAHD



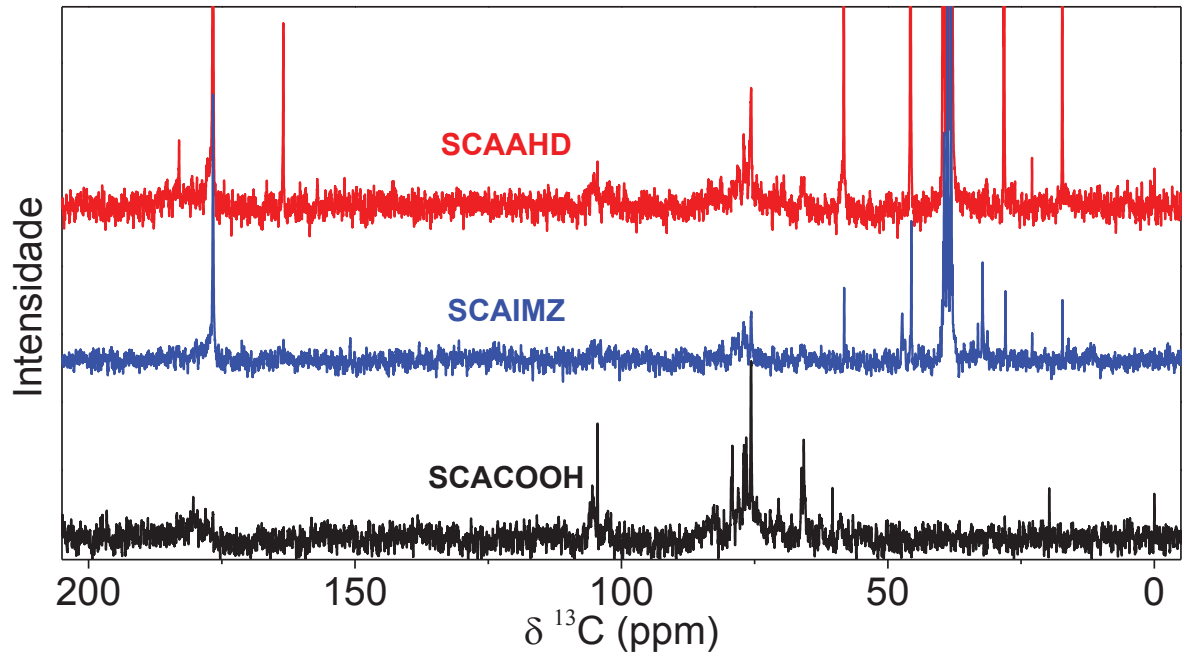
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A6 – ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DAS AMOSTRAS CA, CANAHOH, ICACOOH, ICAAHD E ICAIMZ NA REGIÃO DE -5-205 PPM



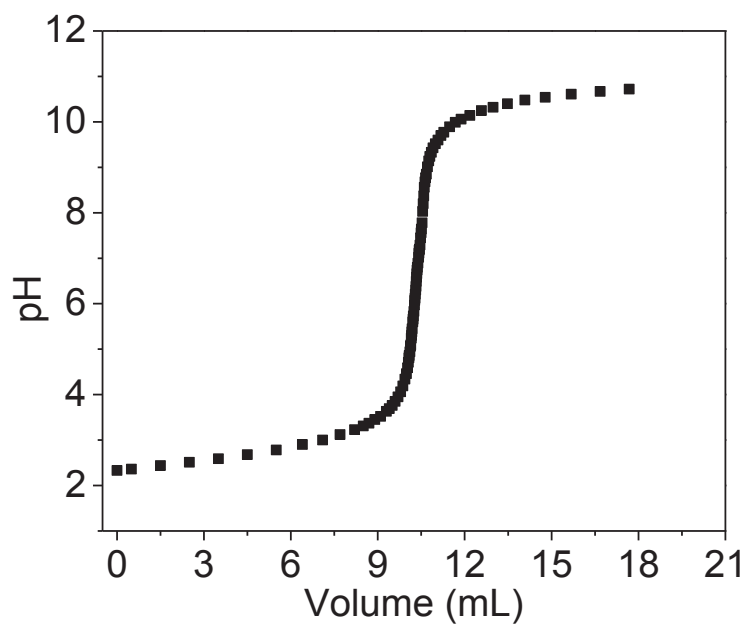
FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A7 – ESPECTROS DE RMN DE  $^{13}\text{C}$  DAS AMOSTRAS SCACOOH, SCAAHD E SCAIMZ NA REGIÃO DE -5-205 PPM



FONTE: O Autor (2019).

FIGURA A8 – TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA DA AMOSTRA SÓLIDA ICANAHO



FONTE: O Autor (2019).