

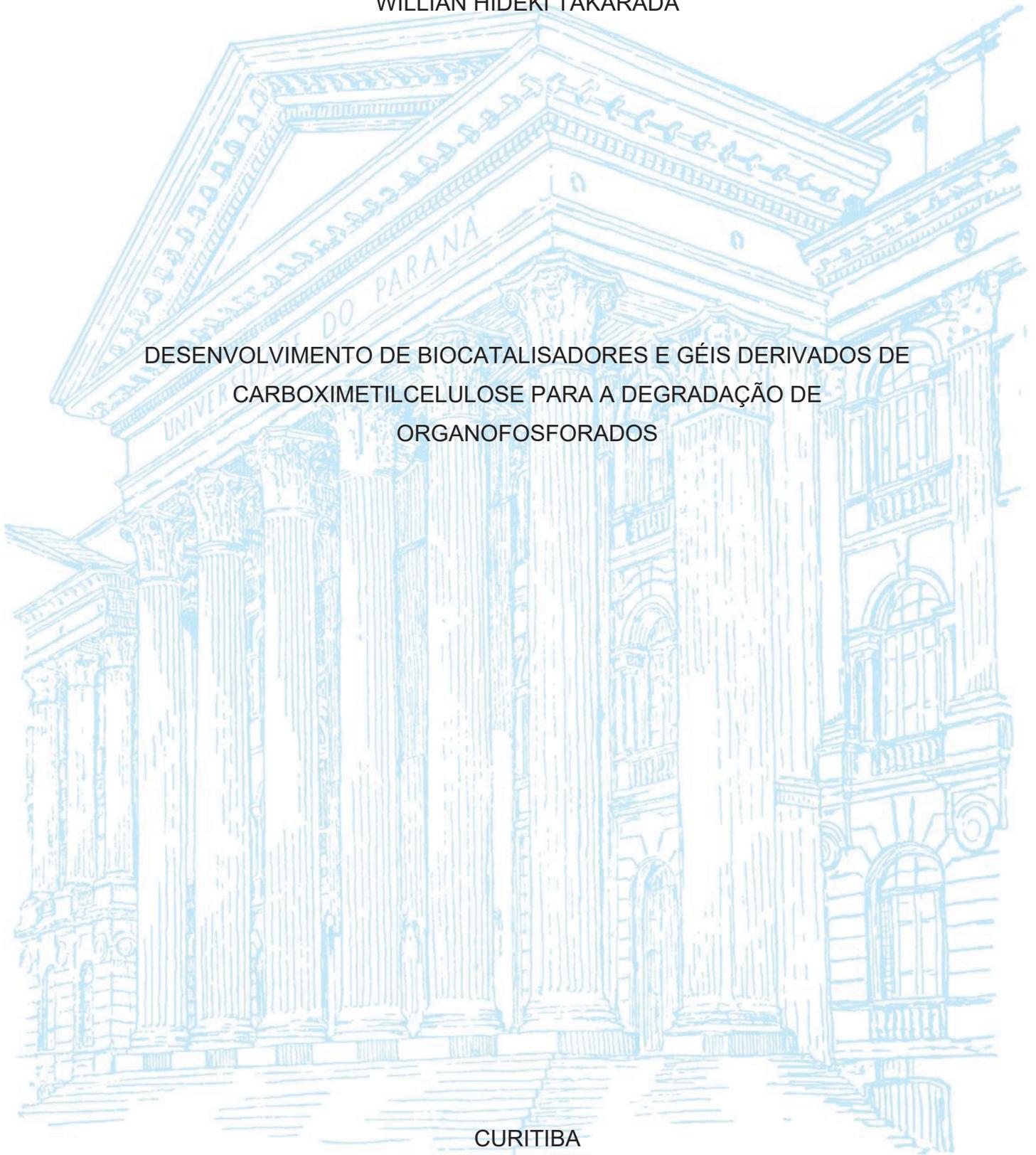
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

WILLIAN HIDEKI TAKARADA

DESENVOLVIMENTO DE BIOCATALISADORES E GÉIS DERIVADOS DE
CARBOXIMETILCELULOSE PARA A DEGRADAÇÃO DE
ORGANOFOSFORADOS

CURITIBA

2022



WILLIAN HIDEKI TAKARADA

DESENVOLVIMENTO DE BIOCATALISADORES E GÉIS DERIVADOS DE
CARBOXIMETILCELULOSE PARA A DEGRADAÇÃO DE
ORGANOFOSFORADOS

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^a. Dr^a. Elisa Souza Orth

Coorientador: Prof. Dr. Rilton Alves de Freitas

CURITIBA

2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Takarada, Willian Hideki

Desenvolvimento de biocatalisadores e géis derivados de carboximetilcelulose para a degradação de organofosforados / Willian Hideki Takarada. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientador: Elisa Souza Orth

Coorientador: Rilton Alves de Freitas

1. Imidazóis. 2. Ácidos Hidroxâmicos. 3. Catálise. 4. Pesticidas. 5. Géis Neutralizantes. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Orth, Elisa Souza. IV. Freitas, Rilton Alves de. V. Título.

Bibliotecário: Elias Barbosa da Silva CRB-9/1894



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
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 QUÍMICA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **WILLIAN HIDEKI TAKARADA** intitulada: **DESENVOLVIMENTO DE BIOCATALISADORES E GÊIS DERIVADOS DE CARBOXIMETILCELULOSE PARA A DEGRADAÇÃO DE ORGANOFOSFORADOS**, sob orientação da Profa. Dra. ELISA SOUZA ORTH, que após terem inquirido o aluno e realizada 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, 31 de Agosto de 2022.

Assinatura Eletrônica

15/09/2022 10:04:04.0

ELISA SOUZA ORTH

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

13/09/2022 15:18:39.0

IZABEL CRISTINA RIEGEL VIDOTTI MIYATA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

14/09/2022 18:02:32.0

WATSON LOH

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS)

CENTRO POLITÉCNICO - CURITIBA - Paraná - Brasil
CEP 81531-990 - Tel: (41) 3361-3006 - E-mail: cpgquim@ufpr.br

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 219197

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 219197

*Dedico este trabalho aos meus pais, Mônica e Edson,
que sempre confiam nas minhas escolhas mesmo
quando não concordam com elas.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, à minha família. À minha mãe Mônica, que sempre foi um pilar fundamental em toda a minha vida, pessoa que me serve de inspiração e sem a qual eu não seria metade da pessoa que sou hoje. Ao meu pai Edson, que aceitou de bom grado um filho químico e aos poucos foi convencido de que esse era o caminho que eu queria seguir. Ao meu irmão Henrique que foi uma boa companhia durante todo o tempo que tivemos que ficar isolados na pandemia e por me ajudar nas primeiras idas ao laboratório durante esse tempo incerto. Ao meu padrasto e novamente à minha mãe, por me ajudarem a encontrar novamente o rumo da minha vida durante a escrita dessa dissertação.

Em seguida, à minha orientadora Prof^a. Elisa Orth por ter me aceitado no GCC desde o ano de 2017, na iniciação científica, e por ter me aceitado também no mestrado. Sou muito grato a todo crescimento pessoal e profissional que me proporcionou; e por estar presente em todos os momentos-chave de minha trajetória, sendo sempre assertiva quando preciso e tão compreensiva quanto possível. Com certeza hoje eu enxergo o mundo com outros olhos graças a ela e a todas as experiências que o GCC me proporcionou!

Ao meu coorientador Prof. Rilton Alves de Freitas por ter aberto as portas do BIOPOL para mim em 2019, durante meu estágio final da graduação. Desde então aprendi a enxergar os biopolímeros de outra maneira e continuo aprendendo muitas coisas novas das quais nunca imaginei. Não posso deixar de agradecer também por todas as conversas descontraídas durante as pausas do café e confraternizações do grupo.

Às professoras Dr^a. Izabel Riegel-Vidotti e Dr^a. Caroline D'Oca pelas contribuições na banca de exame de qualificação.

Aos professores Dr^a. Izabel Riegel-Vidotti e Dr. Watson Loh pelo aceite em participar da avaliação de defesa deste trabalho.

A todos os meus colegas e amigos do GCC, grupo de pesquisa que é minha família científica: Alex, André, José, Lucas, Mary, Patrícia, Renata e Yane. Agradeço pelas inúmeras conversas e opiniões científicas e não-científicas (no laboratório ou no bar); ensinamentos e discussões de técnicas, dados e resultados; ajudas com experimentos; incentivos e apoios pessoais. Trabalhar com vocês – mesmo com eventuais desentendimentos – é uma experiência muito prazerosa e

levarei esse legado adiante. Em especial, gostaria de agradecer ao José que é meu amigo e parceiro de vertente – e pai científico – desde minha entrada no grupo: quase tudo que sei foi ele que me ensinou (inclusive ser menos ansioso). Também gostaria de agradecer especialmente à Renata, Yane, Valmir e André por terem sido minha base nesses últimos anos, transformando todos os furacões em minha vida em leves brisas.

A todos os colegas e amigos que fiz no BIOPOL, os quais não vou me atrever a citar todos os nomes para não esquecer nenhum. Agradeço por toda a ajuda em experimentos, técnicas e equipamentos; pelas discussões de trabalho enriquecedoras; pelas várias conversas sérias e outras nem tanto (por todas as informações trocadas); e claro, pelo café nosso de cada dia e pelas poucas vezes que conseguimos ir para um bar (dou valor a cada uma delas).

Aos grupos GPMIn e GQM, pela amizade, pelo convívio diário, pelas gargalhadas, pelas experiências e conhecimentos compartilhados, e por me permitirem registrar tudo isso por selfies.

A todos os meus amigos que fiz pelo curso de química (e na vida) e que aguentaram meus surtos e desabafos de trabalho, me dando suporte. Amo vocês mesmo que não nos falemos todos os dias. Agradeço em especial ao Otávio que sempre põe meus pés no chão, mas topa (quase) todas minhas loucuras; à Thaís e ao Luan que me conhecem há tanto tempo que sabem mais de mim do que eu mesmo; à Ana Paula, Lídia e Thayna que me salvaram tantas vezes em momentos decisivos; à Giselle e Washington que tornam todos os momentos mais engraçados.

Ao Departamento de Química da UFPR, minha casa desde 2015. A todos os professores, técnicos e funcionários que, todos os dias, auxiliam no funcionamento do departamento e contribuem para a formação profissional de inúmeros alunos.

À CAPES, pela concessão da minha bolsa de mestrado. Além disso, agradeço aos órgãos de fomento que possibilitam a nossa pesquisa: UFPR, CNPq, Fundação Araucária, L'Oréal-UNESCO-ABC e PHOSAGRO/UNESCO/IUPAC.

Deixo um agradecimento final a todos que, por algum motivo, eu tenha esquecido de mencionar, mas que foram importantes nessa caminhada.

Muito obrigado!

一期一会

“Ichi-go Ichi-e”

“Um momento, um encontro”

(Provérbio Japonês)

RESUMO

Organofosforados são compostos orgânicos contendo fósforo em sua estrutura cuja classe mais conhecida, a dos ésteres de fosfato, é amplamente empregada como pesticidas e armas químicas de guerra devido a sua alta toxicidade. Esses compostos são altamente estáveis, o que torna o processo de detoxificação química (*i.e.*, reações que levam a neutralização) bastante desafiador. Ainda, promover o processo de neutralização de maneira sustentável, eficiente, econômica e seletiva abrange um desafio ainda mais complexo. Dentro deste contexto, o uso de grupos nucleofílicos altamente reativos em reações de desfosforilação (*e.g.*, ácidos hidroxâmicos e imidazóis), funcionalizados covalentemente em *templates* poliméricos é uma proposta bastante promissora. Um biopolímero bastante versátil é a carboximetilcelulose (CMC), devido: baixo custo, fácil obtenção e manuseio, atoxicidade, biocompatibilidade e alta viscosidade em concentrações elevadas, possibilitando vários materiais com diferentes características (*e.g.*, géis e membranas). Desse modo, o objetivo deste trabalho foi desenvolver biocatalisadores e géis neutralizantes para organofosforados derivados de CMC com grupos ácidos hidroxâmicos ou imidazóis. Para isso, a CMC comercial foi funcionalizada covalentemente com grupos ácidos hidroxâmicos e imidazóis, de modo a obter três biocatalisadores usando precursores diferentes. Todas as amostras foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho, análises termogravimétricas, titulações potenciométricas, cromatografia de exclusão por tamanho, titulações de potencial zeta e testes colorimétricos. Através delas foi possível comprovar a modificação química e estimar o grau de funcionalização dos materiais. Além disso, a CMC comercial foi caracterizada reologicamente e os ensaios revelaram a formação de géis em altas concentrações de polímero. Géis neutralizantes foram confeccionados utilizando os biocatalisadores como aditivos em uma matriz de CMC. A atividade catalítica dos biocatalisadores foi avaliada frente à reação de neutralização dos organofosforados dietil-2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP, o substrato modelo) e Paraoxon (pesticida real). As amostras apresentaram incrementos catalíticos de até 10^4 vezes em comparação a reação na sua ausência, resultados entre os melhores reportados na literatura. Além disso, os biocatalisadores provaram ser recicláveis por pelo menos 3 ciclos de reações. Os estudos de mecanismo mostraram que os materiais são seletivos para ataque nucleofílico ao centro de fósforo dos organofosforados, caminho reacional preferível pois garante produtos menos tóxicos ao final da reação. Os géis neutralizantes foram avaliados em testes de permeação *in vitro* simulando um caso de prevenção à intoxicação por DEDNPP, por meio do aparato de Célula de Franz, revelando 80% de degradação do organofosforado após 12 horas. Desse modo, foram sintetizados três biocatalisadores altamente reativos na neutralização de organofosforados por meio de técnicas verdes de síntese, podendo ser utilizados tanto na forma coloidal como na forma de gel, estratégia ainda pouco explorada para promover a segurança química da população.

Palavras-chave: Imidazol. Ácido Hidroxâmico. Catálise. Géis Neutralizantes. Pesticidas. Química Verde. Permeação *in vitro*.

ABSTRACT

Organophosphates are organic compounds containing phosphorus in their structure and among them phosphate esters are widely used as pesticides and chemical weapons due to their high toxicity. These compounds are highly stable, which makes the process of chemical detoxification (*i.e.*, neutralization reactions) quite challenging. Furthermore, promoting the neutralization process in a sustainable, efficient, economical and selective encompasses an even more complex challenge. In this context, the use of highly reactive nucleophilic groups in dephosphorylation reactions (*e.g.*, hydroxamic acids and imidazoles), covalently functionalized in polymeric templates is a very promising proposal. A very versatile biopolymer is carboxymethyl cellulose (CMC), due to its low cost, easy obtaining and handling, non-toxicity, biocompatibility and high viscosity at high concentrations, allowing several materials with different characteristics (*e.g.*, gels and membranes). Thus, the objective of this work was to develop CMC-derived biocatalysts and neutralizing gels for organophosphates with hydroxamic acids or imidazoles groups. For this, commercial CMC was covalently functionalized with hydroxamic acid and imidazole groups, in order to obtain three biocatalysts using different precursors. All samples were characterized by infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis, potentiometric titrations, size exclusion chromatography, zeta potential titrations and colorimetric tests. The techniques allowed to prove the chemical modification and estimate the degree of functionalization. In addition, commercial CMC was rheologically characterized and the tests revealed the formation of gels at high polymer concentrations. Neutralizing gels were made using the biocatalysts as additives in a CMC matrix. The catalytic activity of the biocatalysts was evaluated against the neutralization reaction of the organophosphates diethyl-2,4-dinitrophenyl phosphate (DEDNPP, model substrate) and Paraoxon (real pesticide). The samples showed rate enhancements up to 10^4 -fold compared to the reaction in their absence, results among the best reported in the literature. Furthermore, the biocatalysts proved to be recyclable for at least 3 reaction cycles. Mechanistic studies showed that the materials are selective for nucleophilic attack on the phosphorus of organophosphates, a desirable reaction path which guarantees less toxic products. The neutralizing gels were evaluated in *in vitro* permeation tests simulating a case of intoxication prevention by DEDNPP, using the Franz Cell apparatus, revealing 80% of organophosphate degradation after 12 hours. Thus, three highly reactive biocatalysts were synthesized for the neutralization of organophosphates by means of green chemistry techniques, which can be used both in colloidal and gel forms, a strategy still poorly explored to promote the chemical safety of the population.

Keywords: Imidazole. Hydroxamic Acid. Catalysis. Neutralizing Gels. Pesticides. Green Chemistry. *In vitro* permeation.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – ESQUEMA DA CLASSIFICAÇÃO GERAL DE ORGANOFOSFORADOS E ALGUNS EXEMPLOS DE PROCESSOS BIOLÓGICOS, AGROTÓXICOS E ARMAS QUÍMICAS	22
FIGURA 2 – HISTÓRICO DE SÍNTESE DE COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS, EVIDENCIANDO ALGUNS EXEMPLOS.....	24
FIGURA 3 – MAPA ESQUEMÁTICO DO (A) USO MUNDIAL DE PESTICIDAS, EM TONELADAS POR ÁREA PLANTADA NO ANO DE 2017 (B) USO BRASILEIRO DE PESTICIDAS, POR REGIÃO, ENTRE 2012 E 2014	25
FIGURA 4 – ESQUEMA DE REAÇÃO DE DESATIVAÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE POR UM COMPOSTO ORGANOFOSFORADO.....	27
FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DAS FIBRAS VEGETAIS.....	31
FIGURA 6 – ALGUNS EXEMPLOS DE ORGANIZAÇÃO DAS CADEIAS POLIMÉRICAS NA ESTRUTURA DE UM GEL: (A) GEL FORMADO PELO CROSSLINKING ENTRE CADEIAS POLIMÉRICAS, (B) GEL FORMADO PELA INTERAÇÃO FÍSICA ENTRE AS CADEIAS, (C) GEL FORMADO POR ESTRUTURAS LAMELARES E (D) GEL FORMADO POR ESTRUTURAS DESORDENADAS DE V_2O_5	33
FIGURA 7 – EXEMPLOS DE TRABALHOS ENVOLVENDO CMC: (A) MEMBRANA GEL DE CMC DOPADA COM NANOPARTÍCULAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E (B) EXEMPLO DE MECANISMO PARA HIDROGÉIS ABSORVENTES DE CMC PARA O CONTROLE DE LIBERAÇÃO DE FORMULAÇÕES.....	35
FIGURA 8 – GEL DE QUITOSANA FUNCIONALIZADO COM OXIMAS PARA ...	35
FIGURA 9 – ESQUEMA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS SOBRE A QUÍMICA DO IMIDAZOL: (A) TAUTOMERISMO; (B) EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE;	

(C) REPRESENTAÇÃO DA HISTIDINA E (D) POSSÍVEIS CAMINHOS REACIONAIS PROMOVIDOS PELO IMIDAZOL	37
FIGURA 10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FUNCIONALIZAÇÃO COM GRUPAMENTOS IMIDAZOL EM (A) GOMA ARÁBICA E (B) CASCA DE ARROZ E (C) REAÇÃO DAS AMOSTRAS COM DEDNPP	38
FIGURA 11 – ALGUNS EXEMPLOS DE ALFA-NUCLEÓFILOS, ONDE R ₁ , R ₂ , R ₃ E R ₄ PODEM SER ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO, RADICAIS ALQUILA OU RADICAIS ARILA	39
FIGURA 12 – GRÁFICO ESQUEMATIZANDO A CORRELAÇÃO ENTRE REATIVIDADE E BASICIDADE DE BRONSTED PARA NUCLEÓFILOS NORMAIS E ALFA-NUCLEÓFILOS	40
FIGURA 13 – EXEMPLOS DE MATERIAIS CONTENDO ALFA-NUCLEOFÍLOS UTILIZADOS PARA (A) NEUTRALIZAÇÃO, (B) NEUTRALIZAÇÃO, (C) DETECÇÃO E (D) DETECÇÃO DE OP	41
FIGURA 14 – CAMINHOS REACIONAIS POSSÍVEIS PARA O ATAQUE NUCLEOFÍLICO DO BENZOHIROXAMATO COM ORGANOFOSFORADOS	43
FIGURA 15 – FUNCIONALIZAÇÃO DE (A) NANOMATERIAL E (B) DERIVADO DE CELULOSE COM GRUPOS HIROXAMATOS, ASSIM COMO O (C) MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO COM ORGANOFOSFORADOS	44
FIGURA 16 – ESQUEMATIZAÇÃO EVIDENCIANDO O OBJETIVO GERAL DESTE TRABALHO	46
FIGURA 17 – ESQUEMA DE FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM ÁCIDOS HIROXÂMICOS	48
FIGURA 18 – ESQUEMA DE FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM DERIVADOS DE IMIDAZOL	49
FIGURA 19 – ESQUEMATIZAÇÃO DO PROCESSO DE PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES COLOIDAIIS E GÉIS DE CARBOXIMETILCELULOSE COMERCIAL	52

FIGURA 20 – REAÇÕES DE DESFOSFORILAÇÃO ACOMPANHADAS POR UV-VIS	54
FIGURA 21 – ESQUEMATIZAÇÃO DA MONTAGEM DE UMA CÉLULA DE FRANZ	55
FIGURA 22 – FOTOS DAS DISPERSÕES COLOIDAIS DAS AMOSTRAS: (I) CMC; (II) CMC-HDA; (III) CMC-IMZ(A) E (IV) CMC-IMZ(H).....	56
FIGURA 23 – ESPECTROS DE FTIR PARA AS AMOSTRAS CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) PREPARADAS NA FORMA DE FILMES SOBRE SUBSTRATO DE ALUMÍNIO	57
FIGURA 24 – GRÁFICOS DE TG E DTG DAS AMOSTRAS: CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H), COM TAXA DE AQUECIMENTO DE 5°C MIN ⁻¹ , SOB ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO.....	58
FIGURA 25 – CURVAS DE TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA COM KOH 0,01 mol L ⁻¹ PARA AS AMOSTRAS (A) CMC E CMC-HDA E (B) CMC, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) DESTE TRABALHO. AS CURVAS DE AJUSTE EM VERMELHO FORAM OBTIDAS PELO SOFTWARE BEST7.....	62
FIGURA 26 – ESQUEMA DOS EQUILÍBRIOS ÁCIDO-BASE PROPOSTOS PARA OS GRUPOS IONIZÁVEIS PRESENTES NAS AMOSTRAS DESTE TRABALHO	63
FIGURA 27 – DADOS OBTIDOS NA ANÁLISE DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO: (A) DETERMINAÇÃO DAS ÁREAS DOS SINAIS E (B) CÁLCULO DE dn/dc	66
FIGURA 28 – CROMATOGRAMAS DE EXCLUSÃO POR TAMANHO OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS: (A) CMC, (B) CMC-HDA, (C) CMC-IMZ(A), (D) CMC-IMZ(H).....	67
FIGURA 29 – TITULAÇÕES DE POTENCIAL ZETA COM KOH 0,0750 mol L ⁻¹ PARA AS AMOSTRAS CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) DESTE TRABALHO EM: (A) KCl 0,01 mol L ⁻¹ E (B) KCl 0,05 mol L ⁻¹	69
FIGURA 30 – RESULTADOS DO TESTE COLORIMÉTRICO DE	

COMPLEXAÇÃO COM FERRO	71
FIGURA 31 – PREPARO DE AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM SOLVENTE ÁGUA PARA AVALIAÇÃO PELO <i>TILT-TEST</i>	72
FIGURA 32 – CURVAS DE FLUXO PARA AS SOLUÇÕES DE CMC À 25°C EM: (A) ÁGUA E (B) TAMPÃO FOSFATO 0,01 mol L ⁻¹ (pH 7,00).....	73
FIGURA 33 – GRÁFICOS OBTIDOS DE VISCOSIDADE ESPECÍFICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CMC EM (A) ÁGUA E (B) TAMPÃO FOSFATO	74
FIGURA 34 – REGIMES DE CONCENTRAÇÃO DA CMC EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO E VISCOSIDADE	76
FIGURA 35 – GRÁFICOS DE VARREDURA DE AMPLITUDE DE TENSÃO DE CISALHAMENTO (À 1,59 Hz E 25 °C) PARA AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	79
FIGURA 36 – GRÁFICOS DE VARREDURA DE FREQUÊNCIA (À 1 Pa E 25 °C) PARA AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	80
FIGURA 37 – PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A FORMULAÇÃO DOS GÉIS NEUTRALIZANTES E IMAGENS DOS GÉIS FORMADOS.....	83
FIGURA 38 – ENSAIOS DINÂMICO-OSCILATÓRIOS PARA OS GÉIS NEUTRALIZANTES: (A) VARREDURA DE AMPLITUDE (À 1,59 Hz E 25 °C) E (B) VARREDURA DE FREQUÊNCIA (À 1 Pa E 25 °C).....	83
FIGURA 39 – EXEMPLO DO ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO DE CMC- HDA E DEDNPP EM pH 9,5: (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO	85
FIGURA 40 – REAÇÕES COM DEDNPP: PERFIL CINÉTICO DE k_{obs} EM FUNÇÃO DO pH PARA TODAS AS AMOSTRAS EM COMPARAÇÃO À HIDRÓLISE (21°C).....	86
FIGURA 41 – REAÇÕES ENVOLVIDAS NA DEGRADAÇÃO DO DEDNPP POR	

(A) GRUPOS HIDROXAMATOS E (B) IMIDAZÓIS DAS AMOSTRAS SINTETIZADAS.....	87
FIGURA 42 – CAMINHOS POSSÍVEIS PARA ATUAÇÃO DOS GRUPOS CARBOXILATOS EM UMA CATÁLISE BÁSICA GERAL: ABSTRAÇÃO DE PRÓTON DA ÁGUA OU DE UM NUCLEÓFILO.	89
FIGURA 43 – INCREMENTOS CATALÍTICOS PROMOVIDOS (À 21 °C) POR ALGUNS BIOCATALISADORES E MOLÉCULAS ESTUDADAS EM REAÇÕES COM DEDNPP	90
FIGURA 44 – ANÁLISE DE RECICLAGEM DAS AMOSTRAS (A) CMC-HDA; (B) CMC-IMZ(A) E (C) CMC-IMZ(H) EM REAÇÕES CONSECUTIVAS COM DEDNPP	91
FIGURA 45 – EXEMPLO DO ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO DE CMC-HDA E PARAOXON EM pH 9,5: (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO	92
FIGURA 46 – INCREMENTOS CATALÍTICOS PROMOVIDOS POR ALGUNS BIOCATALISADORES E MOLÉCULAS ESTUDADAS EM REAÇÕES COM PARAOXON	94
FIGURA 47 – CAMINHOS REACIONAIS MAIS PROVÁVEIS DE ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO DEDNPP	96
FIGURA 48 – ESQUEMATIZAÇÃO DO ESTUDO COM CDNB: (A) REAÇÃO PROPOSTA PARA O CDNB COM GRUPOS NUCLEOFÍLICOS; (B) EXEMPLO DE PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (C) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA A REAÇÃO DE CMC-HDA E CDNB EM pH 10,0	97
FIGURA 49 – ATAQUE PREFERENCIAL DOS NUCLEÓFILOS DAS AMOSTRAS DESTE TRABALHO EM REAÇÕES COM ORGANOFOSFORADOS	98
FIGURA 50 – TESTES DE PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i> REALIZADOS COM DEDNPP (36°C): IMAGENS DOS GÉIS APÓS O ENSAIO (A) CMC E (B) CMC-IMZ(A); (C) RESULTADOS OBTIDOS NAS	

PERMEAÇÕES DE DEDNPP NA AUSÊNCIA DE GEL, COM CMC E COM CMC-IMZ(A)	100
--	-----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – FAIXAS DE TEMPERATURA E OS RESPECTIVOS EVENTOS DE PERDA DE MASSA PARA CADA AMOSTRA	61
TABELA 2 – VALORES DE pK_{as} E QUANTIDADE DE GRUPOS IONIZÁVEIS OBTIDOS NOS AJUSTES DAS TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS	63
TABELA 3 – PARÂMETROS MACROMOLECULARES OBTIDOS NA ANÁLISE DE SEC DAS AMOSTRAS.....	67
TABELA 4 – DADOS DE COEFICIENTE ANGULAR OBTIDOS PARA AS CURVAS DE VISCOSIDADE ESPECÍFICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO	75
TABELA 5 – DADOS OBTIDOS A PARTIR DOS AJUSTES DOS PERFIS DE pH DAS REAÇÕES DAS AMOSTRAS COM DEDNPP (21°C).....	88
TABELA 6 – DADOS OBTIDOS PARA AS REAÇÕES DAS AMOSTRAS CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) EM pH 9,5 COM PARAOXON (30°C).....	93
TABELA 7 – DADOS OBTIDOS PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO SUBSTRATO CDNB EM pH 10,0 (21 °C) E DAS REAÇÕES DAS AMOSTRAS CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) EM pH 10,0 COM O CDNB (21 °C).....	97

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

2,4-DNP	- 2,4-dinitrofenolato
4-NP	- 4-nitrofenolato
AChE	- Acetilcolinesterase
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API	- N-(3-aminopropil) imidazol
ATP	- Adenosina trifosfato
ATR	- Reflectância Total Atenuada
BHA	- Ácido benzohidroxâmico
c*	- Concentração de <i>overlap</i>
c**	- Concentração crítica
c _e	- Concentração de transição entre regime diluído e semi-diluído
CDNB	- Cloro-2,4-dinitrobenzeno
CMC	- Carboximetilcelulose
CMC-HDA	- Biocatalisador derivado de carboximetilcelulose e ácidos hidroxâmicos deste trabalho, obtido a partir de cloridrato de hidroxilamina
CMC-IMZ(A)	- Biocatalisador derivado de carboximetilcelulose e imidazóis deste trabalho, obtido a partir de API
CMC-IMZ(H)	- Biocatalisador derivado de carboximetilcelulose e imidazóis deste trabalho, obtido a partir de cloridrato de histamina
Đ	- Dispersão, na análise de SEC, dado por M _w / M _n
DCP	- Dietil-clorofosfato
DEDNPP	- 2,4-dietil-dinitrofenil fosfato
dn/dc	- Incremento de índice de refração devido ao incremento de concentração de um polímero
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DS	- Grau de substituição
DTG	- Derivada de %massa / °C
EDC	- 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida
FAO	- <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i> . Em português: Organização das Nações Unidas para Alimentos e Agricultura
FC	- Fator de correção
FTIR	- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
G'	- Módulo elástico ou de armazenamento
G''	- Módulo viscoso ou de perda
GAHDA	- Goma arábica funcionalizada com grupos ácidos hidroxâmicos
GAIMZ	- Goma arábica funcionalizada com grupos imidazóis
GCC	- Grupo de Catálise e Cinética da UFPR
GNFHDA	- Goma de acácia negra funcionalizada com grupos ácidos hidroxâmicos
IMZ	- Imidazol
ICAAHD	- Casca de arroz funcionalizada com ácidos hidroxâmicos (sólido)
IUPAC	- <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> . Em

	português: União Internacional de Química Pura e Aplicada
k_0	- Constante de velocidade de hidrólise espontânea
k_{cat}	- Constante de velocidade da reação catalisada
k_{COO^-}	- Constante de velocidade promovida por grupos carboxilatos
$k_{n\grave{a}o}$	- Constante de velocidade da reação não catalisada
k_{Nu}	- Constante de velocidade promovida por grupos nucleofílicos
k_{obs}	- Constantes cinéticas observadas
k_{OH}	- Constante de velocidade de hidrólise alcalina
LALS	- Espalhamento de luz à ângulos baixos
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
M_n	- Massa molar numérica
M_w	- Massa molar média ponderal
NHS	- N-hidroxisuccinimida
η_0	- Viscosidade da menor taxa de cisalhamento
η_s	- Viscosidade do solvente
η_{sp}	- Viscosidade específica
OP	- Organofosforados
OPCW	- <i>Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons</i> . Em português: Organização para a Proibição das Armas Químicas
RALS	- Espalhamento de luz à ângulo reto
RHIMZ	- Casca de arroz funcionalizada com grupos imidazóis
RNA	- Ácido oxirribonucleico
SCAAHD	- Casca de arroz funcionalizada com grupos ácidos hidroxâmicos (coloide)
SEC	- Cromatografia de Exclusão por Tamanho
SINAN	- Sistema de Informação de Agravos e Notificação
TG	- Termogravimetria
TGA	- Análises termogravimétricas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 ORGANOFOSFORADOS	22
1.2 DETOXIFICAÇÃO CATALÍTICA DE ORGANOFOSFORADOS: UMA ESTRATÉGIA VERSÁTIL PARA A NEUTRALIZAÇÃO, TRATAMENTO E MONITORAMENTO	27
1.3 BIOPOLÍMEROS: POLISSACARÍDEOS E SUAS POTENCIALIDADES	30
1.3.1 Géis baseados em polissacarídeos.....	32
1.4 IMIDAZOL	36
1.5 ALFA-NUCLEÓFILOS	39
2 JUSTIFICATIVA	44
3 OBJETIVO GERAL DO PROJETO	46
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO PROJETO	46
4 MATERIAIS E MÉTODOS	47
4.1 REAGENTES	47
4.2 FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM GRUPOS ÁCIDOS HIDROXÂMICOS .	48
4.3 FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM GRUPOS IMIDAZÓIS	48
4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS.....	50
4.5 FORMULAÇÃO DE SOLUÇÕES E GÉIS DE CMC	52
4.6 ESTUDOS COM ORGANOFOSFORADOS.....	53
4.6.1 Estudos cinéticos com os biocatalisadores	53
4.6.2 Estudos de permeação <i>in vitro</i> com os géis neutralizantes.....	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
5.1 SÍNTESE DAS AMOSTRAS.....	56
5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	56
5.3 ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS.....	58
5.4 TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS.....	62
5.5 DETERMINAÇÃO DE INCREMENTO DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO (dn/dc)..	65
5.6 CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO.....	66
5.7 TITULAÇÕES DE POTENCIAL ZETA.....	68
5.8 TESTE COLORIMÉTRICO DE COMPLEXAÇÃO COM FERRO(III).....	70
5.9 ENSAIOS DE REOLOGIA PARA CMC COMERCIAL	72
5.9.1 <i>Tilt-test</i> com amostras de CMC comercial.....	72
5.9.2 Ensaio Rotacionais com CMC: curvas de fluxo em função da concentração	

de polímero e efeito de solvente	73
5.9.3 Ensaio dinâmico-oscilatório com CMC: avaliação dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da tensão de cisalhamento e frequência	78
5.10 FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GÉIS NEUTRALIZANTES....	81
5.11 ESTUDOS CINÉTICOS COM ORGANOFOSFORADOS.....	84
5.11.1 Estudos cinéticos com DEDNPP	84
5.11.2 Reciclagem das amostras	91
5.11.3 Estudos cinéticos com Paraoxon.....	92
5.11.4 Proposta do caminho reacional da detoxificação química e validação utilizando CDNB	95
5.12 ENSAIOS DE PERMEAÇÃO <i>IN VITRO</i> COM OS GÉIS NEUTRALIZANTES: PREVENÇÃO À INTOXICAÇÃO POR ORGANOFOSFORADOS	99
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO TRABALHO.....	102
6.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	103
REFERÊNCIAS.....	105
APÊNDICE – MATERIAL COMPLEMENTAR	117

1 INTRODUÇÃO

Os organofosforados constituem uma classe de compostos de importante papel na manutenção da vida em nosso planeta. Na forma de monoésteres e diésteres de fosfato, são imprescindíveis em inúmeros processos biológicos, como na transmissão genética e no metabolismo energético. No entanto, a classe dos triésteres de fosfato, desenvolvidas pelo ser humano, apresentam alta toxicidade e são empregados como pesticidas e gases de guerra. Uma vez que estes compostos apresentam também alta estabilidade química, o estudo e desenvolvimento de sistemas e materiais que promovam as reações de desfosforilação, ou seja, de neutralização desses compostos se torna desafiador e uma grande necessidade.

Um desafio ainda maior é elaborar e desenvolver propostas mais sustentáveis para a detoxificação química, como o uso de reagentes de baixa toxicidade, de menor custo e que possam ser obtidos em condições brandas de síntese (*e.g.*, temperatura ambiente e pH próximo ao neutro). Nesse contexto, o uso de polissacarídeos é uma tática bastante promissora pois além de atenderem aos princípios de sustentabilidade, são encontrados em grande abundância no planeta, sendo biocompatíveis e biodegradáveis.

A modificação química desses polissacarídeos pode promover outras propriedades ao material e permite que grupos nucleofílicos (como imidazóis e ácidos hidroxâmicos) sejam ancorados ao esqueleto polimérico para que o material final seja capaz de catalisar reações, como as de desfosforilação. Derivados de celulose, como a carboximetilcelulose, são bastante promissores para este fim, pois apresentam características adicionais quando comparadas a sua precursora (*e.g.*, solubilidade em água) ao mesmo tempo que mantém suas propriedades de baixa toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Além disso, as soluções concentradas desse polímero apresentam alta viscosidade, podendo formar estruturas gelificadas, encorajando a criação de membranas e géis, que ampliam o campo de possibilidade de aplicação desses materiais.

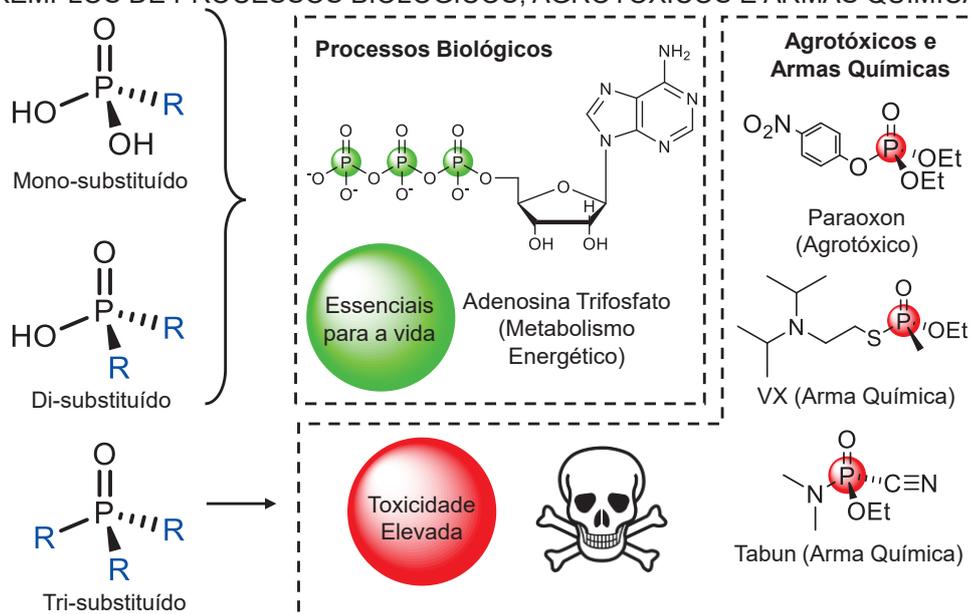
Conforme o contexto apresentado, a proposta desse trabalho foi realizar a modificação química da carboximetilcelulose com grupos nucleofílicos, verificar a atividade catalítica dos materiais desenvolvidos como detoxificante nas reações de desfosforilação e desenvolver géis neutralizantes para prevenir a intoxicação por

organofosforados. A estratégia sugerida no trabalho é bastante promissora e inovadora, com poucos estudos a respeito, além de agregar outros pontos importantes: i) uso de polissacarídeos: materiais baratos, com baixa toxicidade, biocompatíveis e biodegradáveis, tornando o processo mais verde; ii) utilização de metodologias de sínteses mais brandas, como temperatura ambiente e pH neutro; iii) destruição de organofosforados, que são altamente tóxicos e estáveis; iv) propor aplicação como um produto final na forma de gel.

1.1 ORGANOFOSFORADOS

Organofosforados (OP) constituem uma ampla classe de compostos químicos orgânicos fosforilados, onde comumente o fósforo pentavalente possui ligação dupla com um átomo de oxigênio ($P=O$)¹⁻³. Conforme ilustra a FIGURA 1, esses compostos podem ser classificados como mono, di ou trissubstituídos dependendo do grau de substituição do ácido fosfórico, onde o fósforo pode estar ligado a átomos, como oxigênio, nitrogênio, carbono, enxofre, flúor, entre outros^{2,3}.

FIGURA 1 – ESQUEMA DA CLASSIFICAÇÃO GERAL DE ORGANOFOSFORADOS E ALGUNS EXEMPLOS DE PROCESSOS BIOLÓGICOS, AGROTÓXICOS E ARMAS QUÍMICAS



FONTE: Autor (2020)

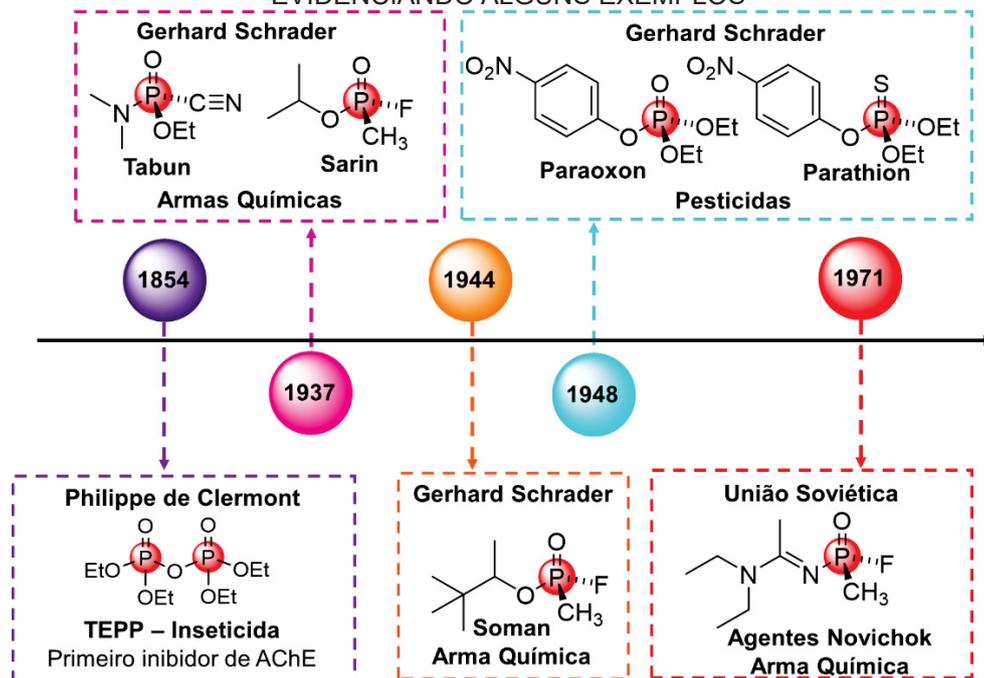
Os OP são amplamente conhecidos devido ao seu uso no controle de pragas na agricultura e armas químicas, como o pesticida Paraoxon e o gases neurotóxicos VX e Tabun (estruturas mostradas na FIGURA 1). No entanto, esses

compostos fosforilados também são utilizados como retardantes de chama, agentes plastificantes e parasiticidas em medicina veterinária; além de serem naturalmente responsáveis por diversos processos biológicos essenciais para o ser humano^{1,2,4}.

Como consequência de sua alta estabilidade química, os monoésteres e diésteres de fosfato são essenciais na estrutura química e na manutenção de inúmeros processos biológicos: são constituintes dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), responsáveis pelo armazenamento e transmissão de informações genéticas. Além disso, são responsáveis pela estruturação de diversas lipoproteínas do plasma sanguíneo, enzimas (como as transferases e fosforilases) e reserva e liberação de energia celular (*e.g.* fosfocreatina, fosfoarginina e adenosina trifosfato (ATP))⁵. Por outro lado, os OPs trissubstituídos são produzidos artificialmente para os mais diversos fins. O histórico desses compostos fosforilados é bastante interessante, uma vez que revela uma íntima relação estrutural entre os pesticidas e as armas químicas de guerra, conforme mostra a FIGURA 2. Embora há relatos de OPs sintetizados desde os anos 1837, é comum atribuir a síntese de primeiro organofosforado ao químico francês Philippe de Clermont. Em 1854, Clermont publicou a síntese do tetraetilpirofosfato (ou TEPP), primeiro inseticida OP inibidor da acetilcolinesterase (AChE) (vide FIGURA 2)^{1,3,4,6,7}. Esse agroquímico foi vendido comercialmente e apresentou bastante eficácia devido sua alta toxicidade³.

Mais tarde, em torno de 1937 (no contexto da Segunda Guerra Mundial), o químico alemão Gerhard Schrader foi incumbido de desenvolver OPs para uso como pesticidas. Dentro do projeto, centenas de compostos foram sintetizados e avaliados, dentre eles alguns que apresentaram alta neurotoxicidade – como o Tabun, Sarin (1937) e o Soman (1944)^{1-4,7}, cujas estruturas estão apresentadas na FIGURA 2). Desse modo, esses últimos três compostos foram classificados como armas químicas de guerra. Schrader obteve êxito em seu projeto e também desenvolveu os pesticidas Parathion, Paraoxon (registrados em torno de 1948) e outras classes de compostos organofosforados contendo flúor^{1,3,4,7}. Desde então a síntese de OPs foi amplamente estudada e aprimorada: em meados de 1992, o químico Mirzayanov revelou a existência e síntese dos agentes Novichok (exemplo na FIGURA 2) na União Soviética entre 1971 e 1993. Essa classe de organofosforados é mais letal que as armas químicas sintetizadas pelos alemães na Segunda Guerra.

FIGURA 2 – HISTÓRICO DE SÍNTESE DE COMPOSTOS ORGANOFOSFORADOS, EVIDENCIANDO ALGUNS EXEMPLOS



Fonte: Autor (2022)

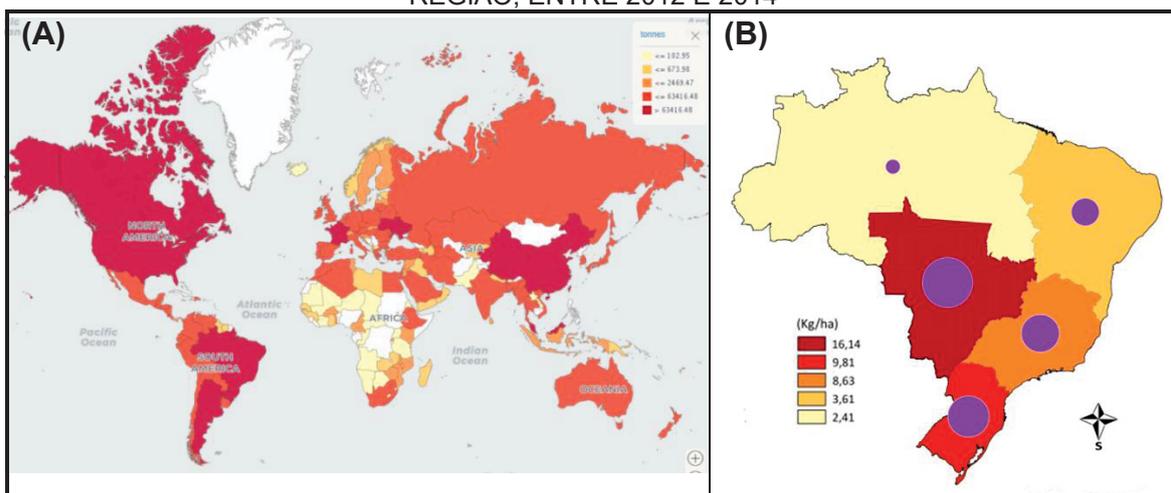
Embora a utilização de armas químicas seja proibida mundialmente, há algumas problemáticas relacionada a esses compostos: como os estoques e os riscos de atentados terroristas. Embora não utilizadas na Segunda Guerra, as armas químicas foram sintetizadas em larga escala desde aquele período e hoje há muitos estoques tóxicos remanescentes. A Organização para a Proibição das Armas Químicas (OPCW), ganhadora do Prêmio Nobel da Paz em 2013, estima que 99% dos estoques declarados de armas químicas foram neutralizados, mas esse percentual ainda se converte em mais de 500 mil toneladas de armas químicas que devem ser tratadas⁸.

Outro problema está relacionado ao risco de atentados terroristas envolvendo gases de guerra, casos presentes em vários momentos da história, mesmo com a proibição de utilização desses compostos. Em 1995, houve um famoso ataque terrorista ao metrô de Tóquio (Japão), onde o gás Sarin foi responsável pela morte de cerca de 12 pessoas e milhares de feridos pela exposição^{9,10}. Mais recentemente, em 2013 e 2017, armas químicas foram utilizadas na guerra civil da Síria mesmo após o país assinar um tratado de renúncia a essa prática¹¹. Depois disso, em 2018, os agentes Novichok entraram em cena após serem utilizados numa tentativa de assassinato a um opositor do governo

russo e sua filha, na Inglaterra¹². A ocorrência desses ataques levanta um importante alerta para a necessidade de segurança química da população e respostas rápidas e eficientes a estas ocorrências, uma vez que além de altamente tóxicos, os OPs possuem ligações bastante estáveis quimicamente, dificultando as reações que levam a sua degradação.

Já na temática dos agrotóxicos, somada à elevada toxicidade e alta estabilidade química, há problemas relacionados ao uso de grandes quantidades (inclusive acima do determinado na legislação, possibilitando que estes compostos cheguem à mesa do consumidor), persistência no meio ambiente e os casos de intoxicações decorrentes da exposição, manuseio ou ingestão desses organofosforados. Segundo os dados de 2017 da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), o Brasil é um dos países que mais consomem agrotóxicos no mundo todo¹³, conforme mostra o gráfico da FIGURA 3A, onde os países marcados com a cor vermelha mais intensa indicam um maior consumo de pesticidas (em toneladas) por área agricultada. Quando analisamos somente o Brasil (vide FIGURA 3B), é possível verificar uma média anual de 900 mil toneladas de agrotóxicos utilizados no país entre 2012 e 2014, onde o maior consumo por área agricultável é da região Centro-Oeste do país¹⁴.

FIGURA 3 – MAPA ESQUEMÁTICO DO (A) USO MUNDIAL DE PESTICIDAS, EM TONELADAS POR ÁREA PLANTADA NO ANO DE 2017 (B) USO BRASILEIRO DE PESTICIDAS, POR REGIÃO, ENTRE 2012 E 2014



Fonte: Adaptado de FAO¹³ e Bombardi¹⁴ (2022).

Além disso, a tendência do uso é ascendente ao longo dos anos e segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), somente no ano de 2021 foram registrados 562 defensivos agrícolas, número recorde em relação aos

anos anteriores^{13,15}. Esses números de consumo se refletem em casos de uso acima dos permitidos na legislação, que levam a presença desses compostos nos alimentos e podem ocasionar casos de intoxicação.

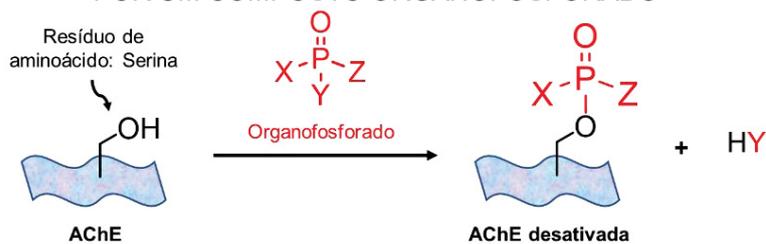
Em relação ao monitoramento do uso e presença de agrotóxicos nos alimentos, há relatórios sistematizados como o do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, da ANVISA, onde os dados de 2018 revelaram que 51% das amostras de alimentos estavam contaminadas com agrotóxicos – inclusive OPs como Acefato, Etefom e Clorpirifós – sendo 23% delas com limites acima do permitido pela legislação brasileira¹⁶. Apesar de elucidar um pouco do panorama, é necessário lembrar que o relatório apresenta algumas limitações: são analisados apenas pesticidas específicos (geralmente os de maior uso) e alguns alimentos (geralmente os vegetais de maior safra ou consumo pela população).

Seguindo a lógica de raciocínio e os dados apresentados até o momento, há um aumento na exposição da população aos pesticidas, tornando casos de intoxicação mais comuns. Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde do Brasil, entre os anos de 2007 e 2017, foram quase 38 mil casos confirmados de intoxicação por agrotóxicos no país (excluindo casos de exposição)¹⁷. As intoxicações majoritariamente são por pesticidas de uso agrícola^{14,17} e somam quase 28 mil casos confirmados no período analisado^{14,17}. Dentre estes pesticidas de uso agrícola, a classe dos OPs é bastante presente, segundo estudos realizados em diversas regiões do país em anos diferentes: em todos os estudos de caso brasileiros, os organofosforados foram a principal causa de intoxicação, seja por risco ocupacional ou em tentativas de suicídio¹⁸⁻²¹. Estudos de caso internacionais a respeito de intoxicação por OPs também já foram realizados ao longo dos anos²²⁻²⁴, indicando que o problema de intoxicação por essa classe de pesticidas é de magnitude global.

Dessa forma, é necessário realizar o monitoramento de uso destes compostos e desenvolver e aprimorar mecanismos rápidos e eficientes de ação em casos de intoxicação. Para isso, é necessário e importante ressaltar que não há apenas um mecanismo de ação dos OPs nos seres vivos. De uma maneira geral, os pesticidas e armas químicas OPs agem como inibidores competitivos e irreversíveis da AChE, enzima responsável por funções neurológicas somáticas e autonômicas^{1,2,25}. Na reação, exemplificada na FIGURA 4, o resíduo de serina da

AChE reage com o organofosforado de maneira irreversível, desativando-a. Esse processo é conhecido também como envelhecimento da enzima²⁵. Sendo assim, estudos mostram a alta toxicidade aguda desses compostos em mamíferos, onde baixas concentrações de OP podem levar o indivíduo à óbito devido a acumulação do neurotransmissor acetilcolina em seus receptores^{25,26}. Por outro lado, alguns compostos da classe dos OPs apresentam mecanismo de intoxicação distinto, como é o caso do herbicida glifosato: não há toxicidade aguda pela inibição de AChE, mas os estudos de toxicidade crônica apontam a danificação de células endócrinas, placentárias, epiteliais e do próprio DNA²⁷. Desse modo, é de extrema importância o estudo das reações de desfosforilação (*i.e.*, neutralização química desses compostos), de forma a promover a detoxificação, possibilitar o monitoramento de uso e preencher a lacuna por tratamentos e prevenções eficientes a intoxicações (de uso tópico, por exemplo).

FIGURA 4 – ESQUEMA DE REAÇÃO DE DESATIVAÇÃO DA ENZIMA ACETILCOLINESTERASE POR UM COMPOSTO ORGANOFOSFORADO



Fonte: Autor (2022)

1.2 DETOXIFICAÇÃO CATALÍTICA DE ORGANOFOSFORADOS: UMA ESTRATÉGIA VERSÁTIL PARA A NEUTRALIZAÇÃO, TRATAMENTO E MONITORAMENTO

De uma maneira geral, a descontaminação dos OPs pode ser realizada por três processos: incineração, explosão ou neutralização. No processo de incineração, como o nome sugere, os compostos são queimados à alta temperatura e depois tratados. Já no processo de explosão, o OP é detonado em um reator específico e desenvolvido para capturar e possibilitar tratamento de todos os produtos após a detonação. Já a neutralização ou detoxificação química dos OPs são processos ou reações que levam à degradação ou decomposição química destes compostos em outros de menor toxicidade (*e.g.*, hidrólise, oxidação)^{28,29}. Devido à emissão de gases poluentes ou consumo elevado de energia, os métodos

de incineração e explosão são menos atrativos do ponto de vista da Química Verde, que leva em consideração processos menos extremos: pH, temperatura, e pressão controlados; economia de reagentes; garantia de produtos com menor toxicidade; e outros²⁸⁻³⁰.

Além disso, a Química Verde inclui outro acessório bastante versátil: a Catálise. Dentro das reações de neutralização, estão incluídas as reações de hidrólise. O processo de hidrólise espontânea geralmente é bastante lento para os OPs, devido às ligações químicas bastante estáveis entre o fósforo e seus substituintes^{5,28,30}. Utilizando a catálise, é possível desenvolver processos e materiais que acelerem tais reações (*i.e.*, catalisadores). Essas estratégias envolvendo a catálise das reações de neutralização são versáteis e podem ser utilizadas (i) no tratamento de intoxicações por OPs; (ii) no tratamento e processamento de resíduos e estoques de pesticidas e armas químicas; e também poderiam ser exploradas para o (iii) sensoriamento e monitoramento do uso desses compostos.

Uma vez que a maioria dos OPs apresentam alta toxicidade aguda, podendo levar a óbito em poucos minutos, o tratamento de neutralização deve acontecer no menor tempo possível. Desse modo, um dos primeiros tratamentos para intoxicação por OPs foi desenvolvido pensando em um efeito combinado da atropina e pralidoxima, onde um age evitando o efeito da acetilcolina e outro age na neutralização do OP. A atropina é um antagonista competitivo das ações da acetilcolina, ou seja, ela se liga ao receptor da acetilcolina evitando que esta, acumulada, fique ligada ao seu receptor. Já o uso de oximas, como a pralidoxima, apresentam bons resultados na reativação de colinesterases desativadas e neutralização do OP, sendo tratamento eficaz para a maioria das intoxicações pois é uma molécula reativa em reações de desfosforilação que levam à neutralização do OP^{4,31,32}.

No entanto, é necessário lembrar que nem todos os OP possuem o mesmo mecanismo de ação no organismo, fazendo com que a eficácia do tratamento também varie e possua limitações^{32,33}. A eficiência é verificada somente nos casos de intoxicação aguda em adultos, sendo ineficaz no tratamento de intoxicações crônicas. Em adição, durante o tratamento com a atropina associado à oximas, pode ocorrer um quadro de atropinização, e o uso prolongado de atropina pode causar efeitos adversos: boca seca, agitação, taquicardia, aumento da temperatura

corporal, sendo estes mais severos em crianças e lactantes³³. Além disso, a pralidoxima é uma molécula reativa nas reações de neutralização, mas não é regenerada ao final do processo, não sendo considerado um processo catalítico, necessitando administrações adicionais com o passar do tempo.

Quando o tratamento é pensado no caso de ataques químicos, a situação é ainda mais agravante pois é o fator tempo é crucial. A resposta à exposição e intoxicação deve ser rápida e eficiente, pois o indivíduo pode ser levado a óbito em apenas alguns minutos (o que justifica ainda mais o uso de sistemas e materiais catalíticos)³⁴.

Mas o estudo da catálise de reações de desfosforilação e do desenvolvimento de novos materiais catalíticos não se justifica somente pelos casos de intoxicações, mas também para o tratamento de resíduos de OPs. Conforme discutido no item anterior, tanto no Brasil (como no resto do mundo), o uso de defensivos agrícolas está em constante regulamentação a respeito de aprovação, fiscalização e comércio dessas substâncias. Desse modo, é comum a apreensão de pesticidas ilegais por órgãos de fiscalização e também da acumulação de estoques de pesticidas que antes eram permitidos e passaram a ser proibidos na agricultura. Além disso, números da OPCW mostram que isso acontece também para o contexto das armas químicas⁸: embora proibidas em todo o mundo, há ainda estoques de armas químicas e ogivas nucleares esperando para serem neutralizadas e destruídas. Em busca de processos econômicos e eficientes, o desenvolvimento de catalisadores para neutralização de organofosforados ainda possibilita um caminho seguro para o processo de detoxificação química de pesticidas e armas químicas, promovendo bem-estar e segurança química para a população.

Outra vertente que também poderia ser explorada a partir das reações de neutralização de OPs é o desenvolvimento de sensores para esses compostos. Como resultado da degradação de alguns organofosforados (como os pesticidas Paraoxon e Parathion), são gerados produtos fenólicos que possuem absorvância no UV-VIS. Desse modo, há possibilidade do desenvolvimento de plataformas e sensores para a detecção dessas moléculas, e conseqüentemente de OPs^{35,36}. Além disso, esses sensores podem ser combinados com materiais catalíticos, unindo a capacidade de neutralização catalítica dos OPs ao mesmo tempo que podem efetuar a detecção e monitoramento do uso desses compostos.

Em busca de processos catalíticos, há resultados promissores no uso, modificação e funcionalização de moléculas nucleofílicas, como o imidazol^{35,37-42}, e alfa nucleófilos, como o ácido hidroxâmico^{34,43-48}. Atualmente, outras alternativas mais eficientes são propostas e potenciais sistemas são estudados para promover neutralização dos OPs, como: enzimas microbiológicas⁴⁹, nanomateriais⁴⁰, líquidos iônicos⁵⁰, macromoléculas⁴⁶, agentes oxidantes⁵¹ e biopolímeros^{39,42}.

1.3 BIOPOLÍMEROS: POLISSACARÍDEOS E SUAS POTENCIALIDADES

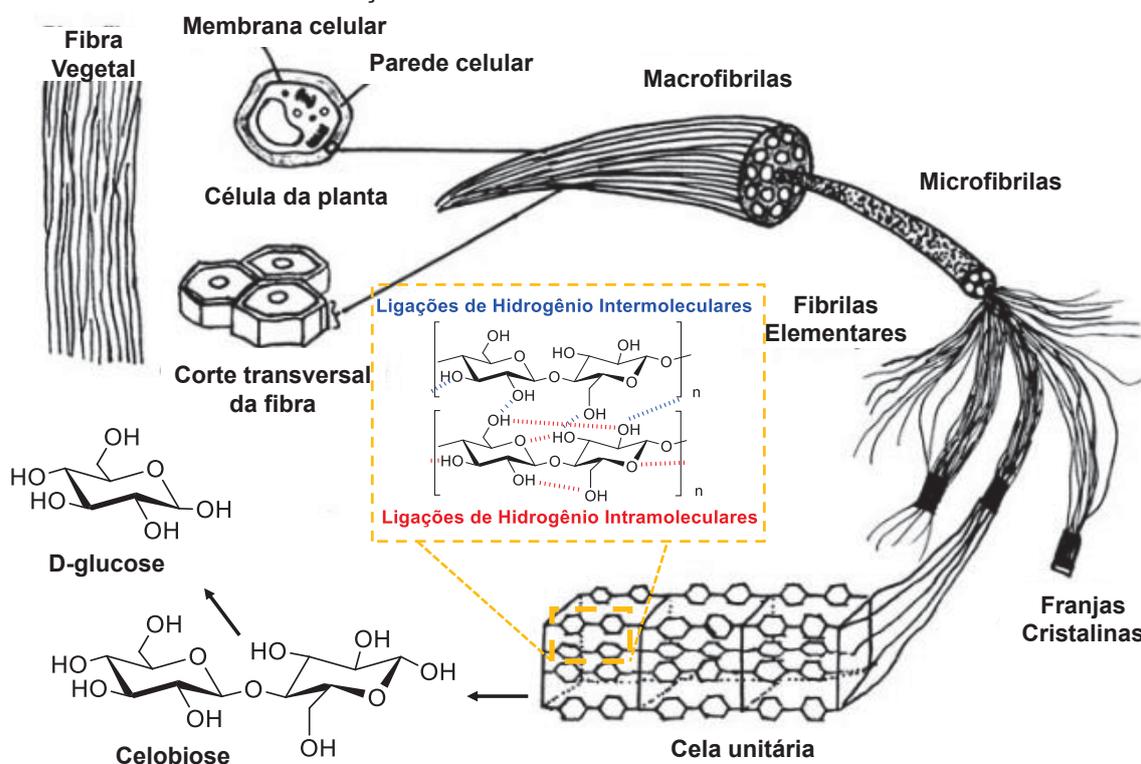
Segundo as recomendações de terminologia oficial da IUPAC, o termo biopolímero se refere à biomacromoléculas formadas por organismos vivos (incluindo proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos)^{52,53}. Devido a revisão do termo ao longo dos anos e de seu uso por diferentes áreas (e.g., biotecnologia, química, engenharias), é possível encontrar na literatura casos onde biopolímeros são relacionados ou utilizados como sinônimos para polímeros naturais ou macromoléculas⁵⁴. Quanto a classificação, os biopolímeros podem ser divididos quanto a sua função (biológica ou comercial), origem (biológica ou fóssil), tipo (biodegradável ou não-biodegradável), entre outros^{52,54}. Dentre os polímeros importantes para funções biológicas, podemos incluir as proteínas (compostas por aminoácidos), ácidos nucleicos (compostos por nucleotídeos) e polissacarídeos (compostos por açúcares)⁵²⁻⁵⁴.

Os polissacarídeos atraem grande interesse de estudos devido à sua grande abundância, obtenção em fontes renováveis, baixo custo, biocompatibilidade, baixa toxicidade e versatilidade de aplicações^{39,42,55-59}. A celulose, por exemplo, é o polissacarídeo mais abundante no planeta e pode ser obtida de diversas fontes, principalmente nas células vegetais, onde tem função estrutural (conforme a FIGURA 5). Há grande disponibilidade desse biopolímero inclusive na forma de resíduos, como no caso de subprodutos da indústria de papel e celulose, restos florestais e resíduos de produções agrícolas (e.g., farelos e cascas de cereais sem exploração comercial), cujo principal destino é a queima para produção de adubo ou de energia elétrica^{39,47,60,61}.

Do ponto de vista químico, a celulose é um polissacarídeo de estrutura linear cujo monômero é majoritariamente considerado como a celobiose. No entanto, há estudos que refutam e reivindicam a β -D-glucose como o monômero,

uma vez que – dentre outros argumentos – para se obter a celulose, é necessário apenas moléculas de β -D-glucose unidas por ligações glicosídicas do tipo (1 \rightarrow 4)⁶². A celulose natural, encontrada na natureza, é o polimorfo do tipo I, possuindo baixa hidrofiliabilidade, uma vez que as funções oxigenadas em sua estrutura formam ligações de hidrogênio tanto intra como intercadeias (conforme ilustrado na FIGURA 5). Essas estruturas formam celas unitárias que se organizam como franjas cristalinas, microfibrilas e posteriormente como macrofibrilas. Essas macrofibrilas estão presentes na parede celular das células vegetais e conferem à fibra vegetal bastante rigidez⁶¹. Apesar de apresentar características bem definidas, reações químicas (e.g., hidrólise e oxidação) envolvendo a modificação da estrutura química da celulose possibilitam que diversos derivados sejam sintetizados e inúmeras propriedades sejam moduladas para os mais diversos fins. Por exemplo, ésteres de celulose são utilizados como filmes ultrafinos de filtração⁶³ e celuloses carboxi-alkiladas solúveis (e.g., carboximetilcelulose) são utilizadas industrialmente como espessantes.

FIGURA 5 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTRUTURA DAS FIBRAS VEGETAIS



Fonte: Adaptado de WÜSTENBERG⁶¹ (2014)

A carboximetilcelulose (CMC) é um derivado da celulose que pode ser produzido com diversos graus de substituição (DS): razão entre o número médio

de hidroxilas modificadas (com ácidos carboxílicos) e o número médio de hidroxilas não-modificadas na unidade de D-glucose. Desse modo, os valores de DS podem variar de $DS = 0$, onde há a celulose natural até o valor teórico máximo de $DS = 3,0$, indicando as três hidroxilas do monômero modificadas⁶¹. A modificação da celulose de maneira a obter CMC, mantém algumas características da precursora, ao mesmo tempo que promove novas propriedades: o biopolímero é semissintético, aniônico, biodegradável, biocompatível e com baixa toxicidade, de cadeia linear e solúvel em água (ao contrário de sua precursora). Desse modo, a CMC é utilizada em larga escala na indústria alimentícia como agente estabilizante e espessante e em outras indústrias na produção de materiais de construção, detergentes, excipientes de fármacos, pasta de dente, cosméticos, cerâmicas, adesivos, produtos têxteis e formulação de solventes^{56,64}. Outra característica interessante da CMC, é que em meio aquoso há aumento na viscosidade do sistema com o aumento da concentração do polímero, podendo haver formação de materiais com características de fluidos newtonianos e não-newtonianos, e até mesmo géis⁶⁴⁻⁶⁶.

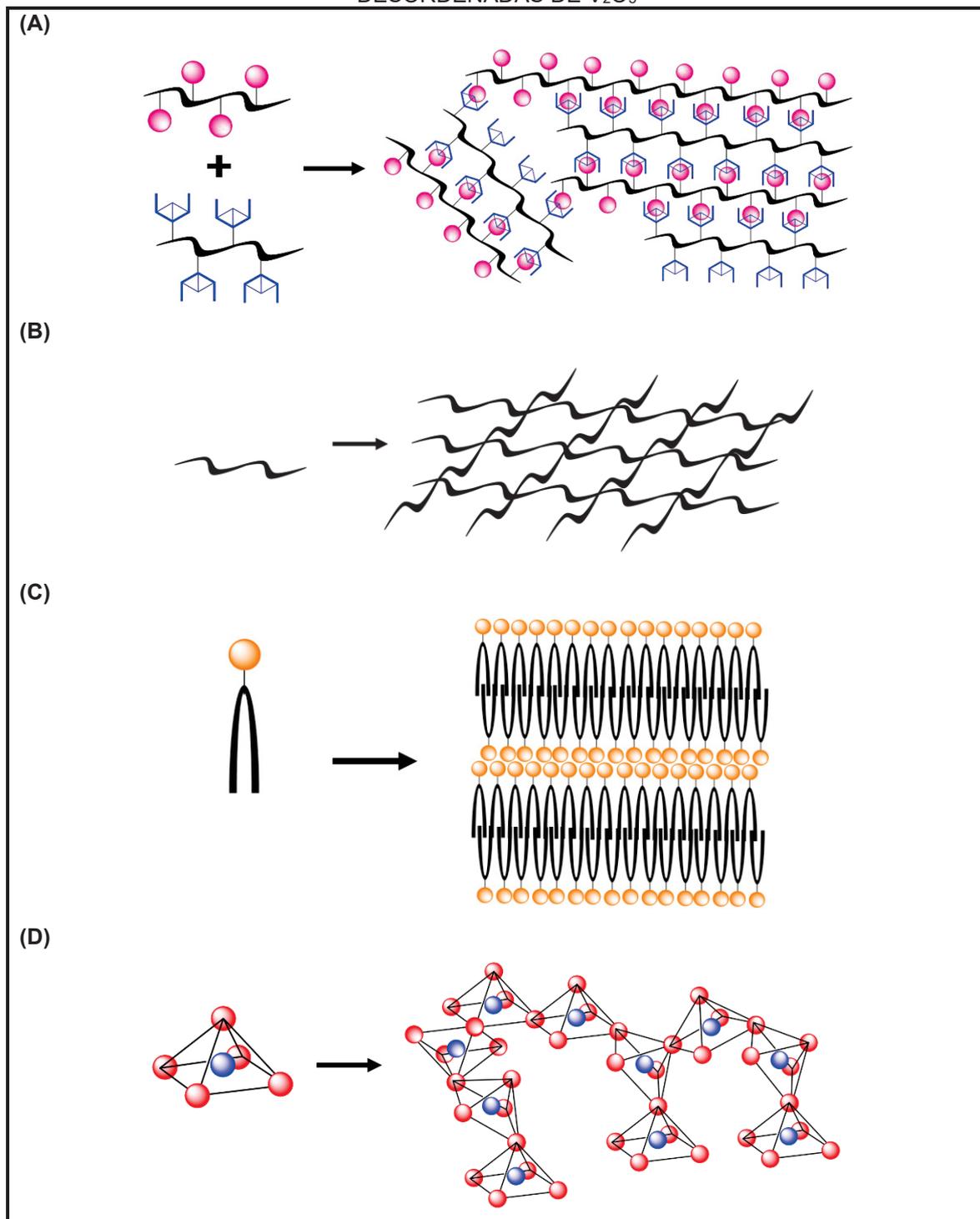
1.3.1 Géis baseados em polissacarídeos

Polissacarídeos dispersos em um líquido podem ter comportamento de fluidos newtonianos ou não-newtonianos, podendo até mesmo formar dispersões coloidais (soluções coloidais) viscoelásticas e géis quando há aumento da concentração de biopolímero. De acordo com a terminologia oficial da IUPAC, um gel é definido como uma rede coloidal ou polimérica expandida por todo o seu volume por um fluido. Além disso, apresenta uma tensão de escoamento finita e geralmente pequena, o que significa que o gel é comumente um material não fluido⁶⁷.

O documento da IUPAC⁶⁷ ainda cita alguns exemplos de como as cadeias poliméricas podem estar organizadas ou distribuídas para a formação da rede estrutural do gel, conforme ilustrado na FIGURA 6. O gel pode ser formado: (i) por uma rede polimérica covalente (FIGURA 6A), como ocorre quando há o *crosslinking* entre as cadeias de polímero; (ii) por uma rede física (FIGURA 6B), onde as cadeias poliméricas interagem fisicamente nos pontos de junção (seja por ligações de hidrogênio, cristalização ou complexação); (iii) a partir da organização de estruturas lamelares (FIGURA 6C), como fosfolipídios e argilominerais; e (iv) pela agregação

de estruturas ou partículas desordenadas anisotrópicas, como pentóxido de vanádio (FIGURA 6D) ou fibrilas de proteínas.

FIGURA 6 – ALGUNS EXEMPLOS DE ORGANIZAÇÃO DAS CADEIAS POLIMÉRICAS NA ESTRUTURA DE UM GEL: (A) GEL FORMADO PELO CROSSLINKING ENTRE CADEIAS POLIMÉRICAS, (B) GEL FORMADO PELA INTERAÇÃO FÍSICA ENTRE AS CADEIAS, (C) GEL FORMADO POR ESTRUTURAS LAMELARES E (D) GEL FORMADO POR ESTRUTURAS DESORDENADAS DE V_2O_5

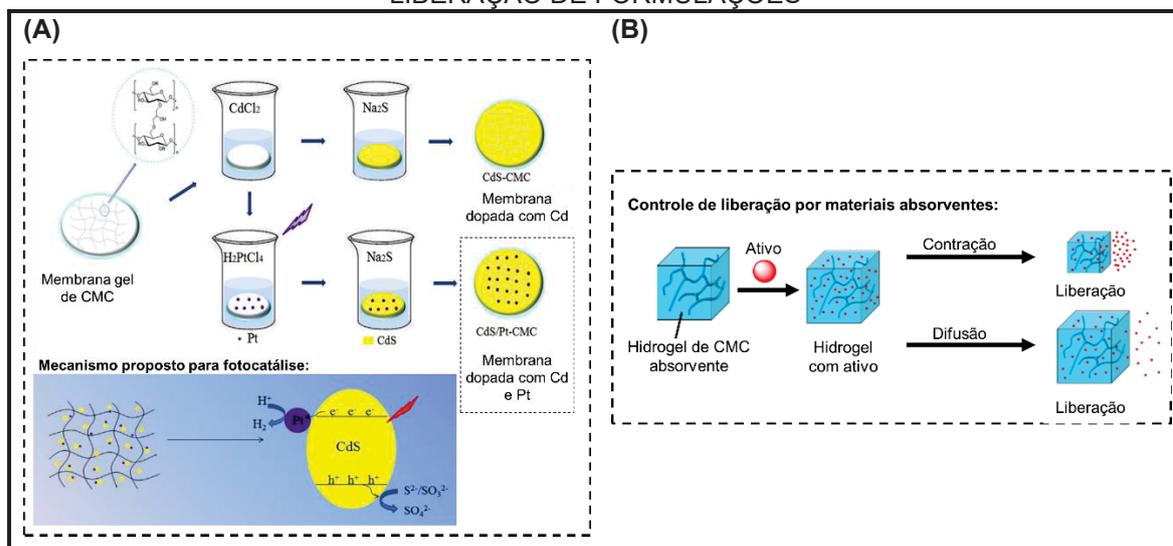


Fonte: Autor (2022)

Apesar da definição conceitual, o termo gel é utilizado indiscriminadamente (principalmente no campo industrial), tornando-o ambíguo ou dificultando ainda mais o entendimento do que deve ou não ser considerado um gel^{68,69}. Geralmente a resistência de uma amostra ao fluxo já pode ser utilizada para dizer que há uma estrutura gelificada. No entanto, há trabalhos que sugerem algumas características para definir um hidrogel, como: (i) ser formado por dois componentes, onde um deles é a água em quantidade apreciável (independente do material final ter características sensoriais parecidas com um sólido ou aspecto mais maleável); (ii) apresentar um platô entre os módulos elástico (G') e o módulo viscoso (G'') em relação ao tempo na ordem de segundos, com $G' > G''$ durante esse platô⁶⁸. De uma maneira resumida, o módulo G' reflete as características elásticas (ou de armazenamento) de um material (refletindo seu comportamento associado ao componente sólido), enquanto o módulo G'' reflete as características viscosas (ou de perda) de um material (refletindo seu comportamento associado ao componente líquido). Quando há $G' > G''$, há indícios de que o material tem comportamento mais próximo de um sólido do que de um líquido.

Desse modo, géis baseados em polissacarídeos apresentam uma gama muito extensa de áreas em que podem ser aplicados, uma vez que as propriedades de reologia podem ser exploradas em conjunto com outras propriedades dos biopolímeros, como biocompatibilidade, atoxicidade e biodegradabilidade. Por exemplo, géis de CMC são comumente utilizados na área da medicina, como lubrificantes de articulações quando há desgaste das cartilagens entre os ossos e em cirurgias oculares, cardíacas e na região torácica⁵⁶. Além disso, há desenvolvimento de tecnologias e novos materiais baseados em CMC para outros campos de aplicação. No trabalho de Kang e colaboradores, membranas géis de CMC foram desenvolvidas por *crosslinking* das cadeias e depois dopadas com cádmio e platina para produção de hidrogênio por meio de fotocatalise⁶⁵ (FIGURA 7A). Além disso, o review de Pang e colaboradores faz o levantamento de uma série de materiais derivados de celulose com potenciais aplicações para a liberação controlada de formulações (*e.g.*, pesticidas e fármacos), onde há menção de vários hidrogéis capazes de atuar como absorventes de ativos e depois liberá-los controladamente por contração do material ou difusão por um gradiente de concentração (conforme ilustrado no mecanismo da FIGURA 7B).

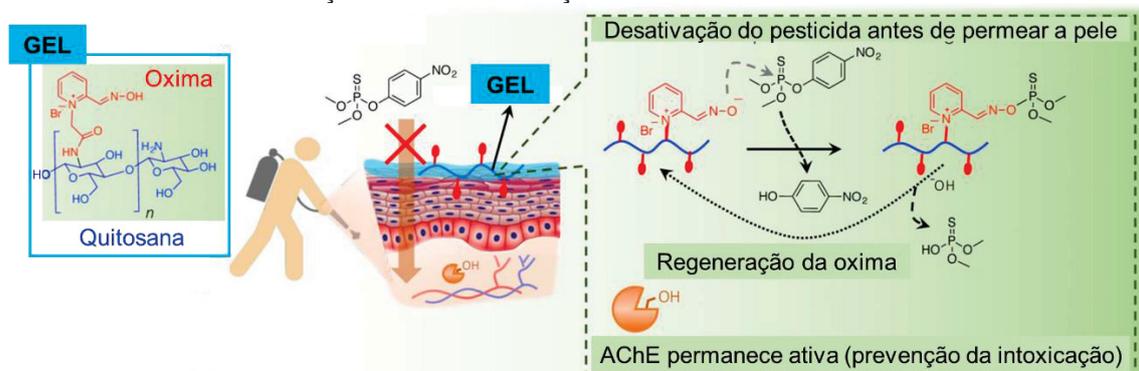
FIGURA 7 – EXEMPLOS DE TRABALHOS ENVOLVENDO CMC: (A) MEMBRANA GEL DE CMC DOPADA COM NANOPARTÍCULAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROGÊNIO E (B) EXEMPLO DE MECANISMO PARA HIDROGÊIS ABSORVENTES DE CMC PARA O CONTROLE DE LIBERAÇÃO DE FORMULAÇÕES



Fonte: Adaptado dos trabalhos de Kang⁶⁵ e Pang⁵⁷ e colaboradores (2022)

Outra área onde géis derivados de polissacarídeos podem ser utilizados é na destruição de OPs. No trabalho de Thorat e colaboradores (resumido na FIGURA 8), foi possível o desenvolvimento de géis derivados de quitosana e grupos oximas altamente reativos para reações de desfosforilação. O gel foi capaz de prevenir a intoxicação do pesticida metil-parathion, tanto em testes *in vitro* como em testes *in vivo* utilizando ratos – o pesticida foi destruído antes que este permeasse os tecidos, sendo o grupo oxima regenerado ao final do processo⁷⁰.

FIGURA 8 – GEL DE QUITOSANA FUNCIONALIZADO COM OXIMAS PARA PREVENÇÃO DE INTOXICAÇÃO DO OP METIL-PARATHION



Fonte: Adaptado de THORAT⁷⁰ (2018)

Nesse contexto, o uso de biopolímeros funcionalizados são de grande interesse devido às características como atoxicidade e biocompatibilidade,

proporcionando mais facilmente seu estudo em seres vivos. Além disso, há uma gama variada de polissacarídeos e de grupos nucleofílicos que podem ser utilizados no desenvolvimento desses catalisadores. Dentre os grupos nucleofílicos interessantes para a proposta, podemos citar o imidazol e os alfa-nucleófilos.

1.4 IMIDAZOL

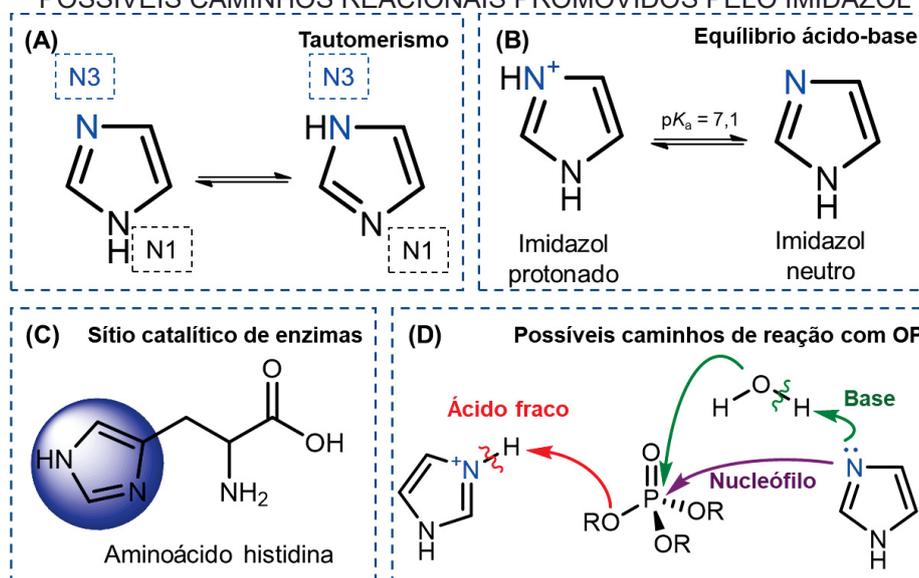
O imidazol (IMZ) é uma molécula orgânica que consiste em um heterociclo aromático de cinco membros, conforme ilustrado na FIGURA 9. Na estrutura há dois nitrogênios que ocupam as posições 1 (N1) e 3 (N3) do ciclo e apresentam fenômeno de tautomeria (conforme apresentado em FIGURA 9A)⁷¹. No IMZ propriamente dito, este fenômeno leva a duas estruturas idênticas, mas em derivados substituídos de IMZ (e.g., 4(5)-metil-imidazol) podem levar a populações tautoméricas diferentes com propriedades químicas também distintas⁷²⁻⁷⁴. Além disso, os dois nitrogênios na estrutura possuem diferentes propriedades químicas: um deles, ligado ao hidrogênio, possui o par de elétrons comprometido para manter a aromaticidade do heterociclo; enquanto o outro possui o par de elétrons livres^{71,73}.

O IMZ apresenta alta solubilidade em solventes polares (como a água) e pK_a em torno de 7, que permite facilmente quantidades proporcionais tanto da forma protonada como desprotonada do imidazol (representadas na FIGURA 9B) em meio fisiológico, bastante recorrentes na forma do resíduo de aminoácido histidina, representada na FIGURA 9C, onde o grupo imidazol está destacado na cor azul.

A versatilidade do IMZ é bastante estudada e explorada devido a quantidade de reações que pode promover, vide FIGURA 9D, exemplificada para reações com OPs: o nitrogênio com par de elétrons livres pode atuar de forma eficiente como ácido (quando protonado), base ou nucleófilo (quando desprotonado) promovendo a catálise de diversas reações, como as de desacilação⁷⁵ e as de desfosforilação^{37,39,42}. Enquanto ácido fraco (representado em vermelho na FIGURA 9D), o IMZ protonado pode doar um próton ao grupo de exemplo -OR, tornando-o um melhor grupo de saída para a reação, na forma H-OR. Já na atuação como base (rota em verde na FIGURA 9D), o IMZ desprotonado recebe um próton de uma espécie química, melhorando a nucleofilicidade da última (exemplificada para a água tendo seu próton doado e formando a espécie OH⁻, mais nucleofílica). E nas reações nucleofílicas (mostrada em roxo na FIGURA 9D),

o IMZ desprotonado ataca diretamente um sítio eletrofílico do OP (exemplificado com o ataque direto no átomo de fósforo eletrofílico).

FIGURA 9 – ESQUEMA DOS PRINCIPAIS ASPECTOS SOBRE A QUÍMICA DO IMIDAZOL: (A) TAUTOMERISMO; (B) EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE; (C) REPRESENTAÇÃO DA HISTIDINA E (D) POSSÍVEIS CAMINHOS REACIONAIS PROMOVIDOS PELO IMIDAZOL



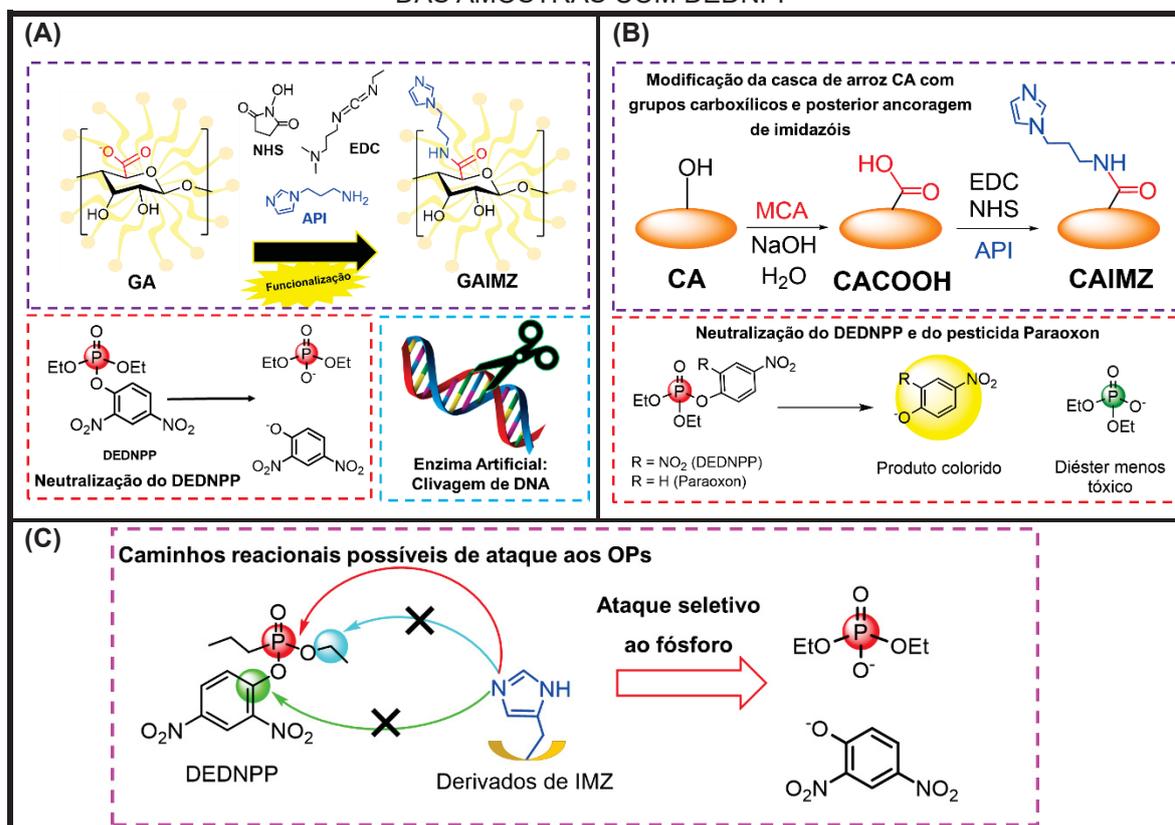
Fonte: Autor (2022)

Desse modo, devido às possibilidades reacionais e facilidade de ocorrência das formas protonada e desprotonada em meio fisiológico, o anel imidazólico está presente na estrutura do resíduo de aminoácido histidina em funções estruturais de proteínas, como no grupo heme da mioglobina e da hemoglobina⁷⁶, em processos de metabolismo, como na glicólise e neoglicogênese⁷⁶. Além disso, é recorrente sua presença na tríade catalítica de diversas enzimas, como as da família das serinoproteases (e.g. quimotripsina, tripsina, hepsina), responsáveis pela quebra de proteínas⁷⁷.

Nos últimos anos, vários estudos tem investigado a propriedade catalítica do IMZ e seus derivados em reações químicas de interesse biológico, tanto em moléculas livres como no desenvolvimento de materiais que possibilitassem uma catálise mais eficiente e/ou seletiva^{37-40,42,72,78}. Uma das classes de reações estudadas com fins de catálise são as reações de desfosforilação, ou seja, de neutralização de OP. Nesse contexto, o desenvolvimento de catalisadores derivados de IMZ por meio de funcionalização química tornou-se um amplo campo de pesquisa com resultados bastante promissores. Em estudos anteriores de nosso grupo de pesquisa (Grupo de Catálise e Cinética – GCC-UFPR), foi possível

verificar o ancoramento de grupos imidazol em biopolímeros (mostrado na FIGURA 10), utilizando-os como *templates* poliméricos, onde a funcionalização dos polissacarídeos apresentou atividade catalítica em reações de desfosforilação^{39,42}.

FIGURA 10 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA FUNCIONALIZAÇÃO COM GRUAMENTOS IMIDAZOL EM (A) GOMA ARÁBICA E (B) CASCA DE ARROZ E (C) REAÇÃO DAS AMOSTRAS COM DEDNPP



Fonte: Adaptado de FERREIRA et. al (2015, 2017)^{39,42}

Dentre esses polissacarídeos, a funcionalização da goma arábica (exsudato extraído das árvores *Acacia*) com imidazol (FIGURA 10A) apresentou elevados incrementos catalíticos em relação à degradação espontânea do organofosforado 2,4-dinitrofenil fosfato (DEDNPP), além de ter mostrado bons resultados em testes de clivagem de DNA, podendo este biomaterial ser considerado um biocatalisador para OP e uma nuclease artificial⁴². Outro material desenvolvido trata-se da casca de arroz funcionalizada com imidazol (FIGURA 10B), partindo da modificação química parcial da celulose presente neste resíduo industrial: os incrementos catalíticos na reação de hidrólise do DEDNPP foram bastante elevados e o catalisador também apresentou resultados promissores na detoxificação química do Paraoxon, um pesticida real³⁹. Além disso, ambos estudos mostraram a reciclagem dos materiais derivados de IMZ após as reações,

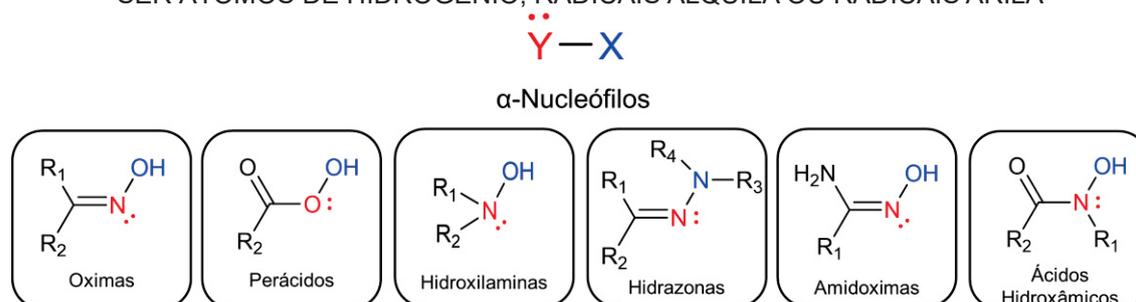
configurando esses biomateriais como catalisadores autênticos, uma vez que apresentam incrementos catalíticos nas reações de neutralização de OPs sem perda da atividade catalítico após vários ciclos de reação.

Outro fator importante é esclarecer o mecanismo pelo qual ocorre a reação de neutralização, uma vez que caminhos seletivos e que garantam os produtos menos tóxicos e reciclagem do nucleófilo ao final da reação são mais desejáveis em detrimento de outros^{28,35}. Embora o DEDNPP possua três centros eletrofilicos (vide FIGURA 10C), – átomo de fósforo, carbono alifático e carbono aromático – nos trabalhos discutidos os catalisadores derivados de IMZ promovem o ataque nucleofílico seletivo ao centro de fósforo, caminho desejável por levar a produtos menos tóxicos e garantir que o grupo IMZ seja regenerado ao final da reação^{35,39,42}. Esses trabalhos revelam uma pequena parcela de potencialidades e da alta relevância do estudo e do design de biocatalisadores para a degradação de OPs.

1.5 ALFA-NUCLEÓFILOS

Alfa-nucleófilo (ou α -nucleófilo) é o nome dado a espécies químicas nucleofílicas que apresentam um átomo adjacente com um ou mais pares de elétrons livres – ou seja, em posição alfa – ao átomo que de fato age como o nucleófilo de uma reação química⁷⁹⁻⁸¹. A FIGURA 11 mostra alguns exemplos de alfa-nucleófilos e representa esquematicamente em azul o átomo nucleofílico e em vermelho o átomo adjacente contendo par de elétrons livres. É necessário lembrar que esses átomos podem permutar a nucleofilicidade: ácidos hidroxâmicos e hidroxilaminas, por exemplo, podem ser nucleofílicos tanto pelo átomo de oxigênio como pelo átomo de nitrogênio, dependendo do volume dos radicais R_{1-4} ou solvente que estão inseridos, conforme descrito na literatura^{45,82}.

FIGURA 11 – ALGUNS EXEMPLOS DE ALFA-NUCLEÓFILOS, ONDE R_1 , R_2 , R_3 E R_4 PODEM SER ÁTOMOS DE HIDROGÊNIO, RADICAIS ALQUILA OU RADICAIS ARIILA

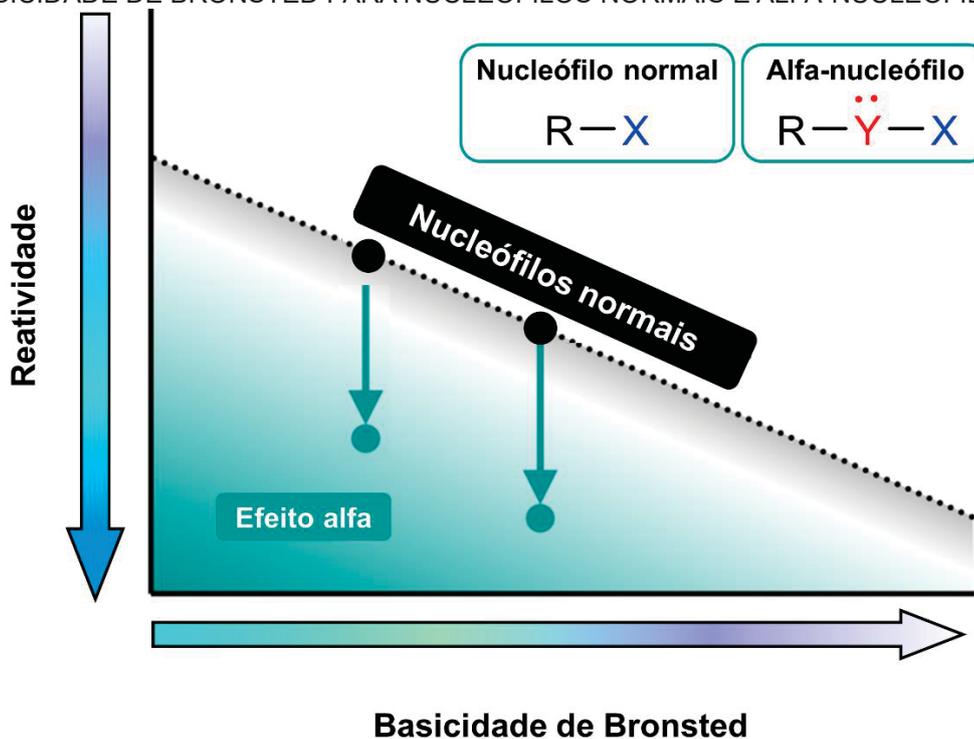


Fonte: Autor (2022)

O efeito alfa pode ser correlacionado e entendido com a basicidade de Bronsted (conforme ilustra o gráfico da FIGURA 12). No gráfico, estão apresentados o comportamento de um nucleófilo normal (caracterizado por R-X) e de um alfa-nucleófilo (representado por R- \ddot{Y} -X), com relação à reatividade em função da basicidade de Bronsted. Desse modo, é possível verificar, para nucleófilos normais, que quanto maior a basicidade (da esquerda pra direita) há um aumento da reatividade (de cima para baixo) e essa relação segue uma linha de tendência linear. No caso dos alfa-nucleófilos, essa tendência de comportamento se mantém, mas é possível verificar que quando comparados a nucleófilos normais de mesma basicidade, a reatividade é superior. A reatividade superior do que o esperado pela basicidade de Bronsted é consequência do efeito alfa.

Devido a uma gama muito variada de α -nucleófilos, o estudo dessas espécies químicas é interessante devido a possibilidade de promoção de catálise de diversas reações, tais como as de desfosforilação^{45,48,79,83}. Além disso, podem ser utilizados no intuito de desenvolver fármacos⁸⁴, na adsorção de metais pesados⁸⁵⁻⁸⁸ e como sensores^{89,90}.

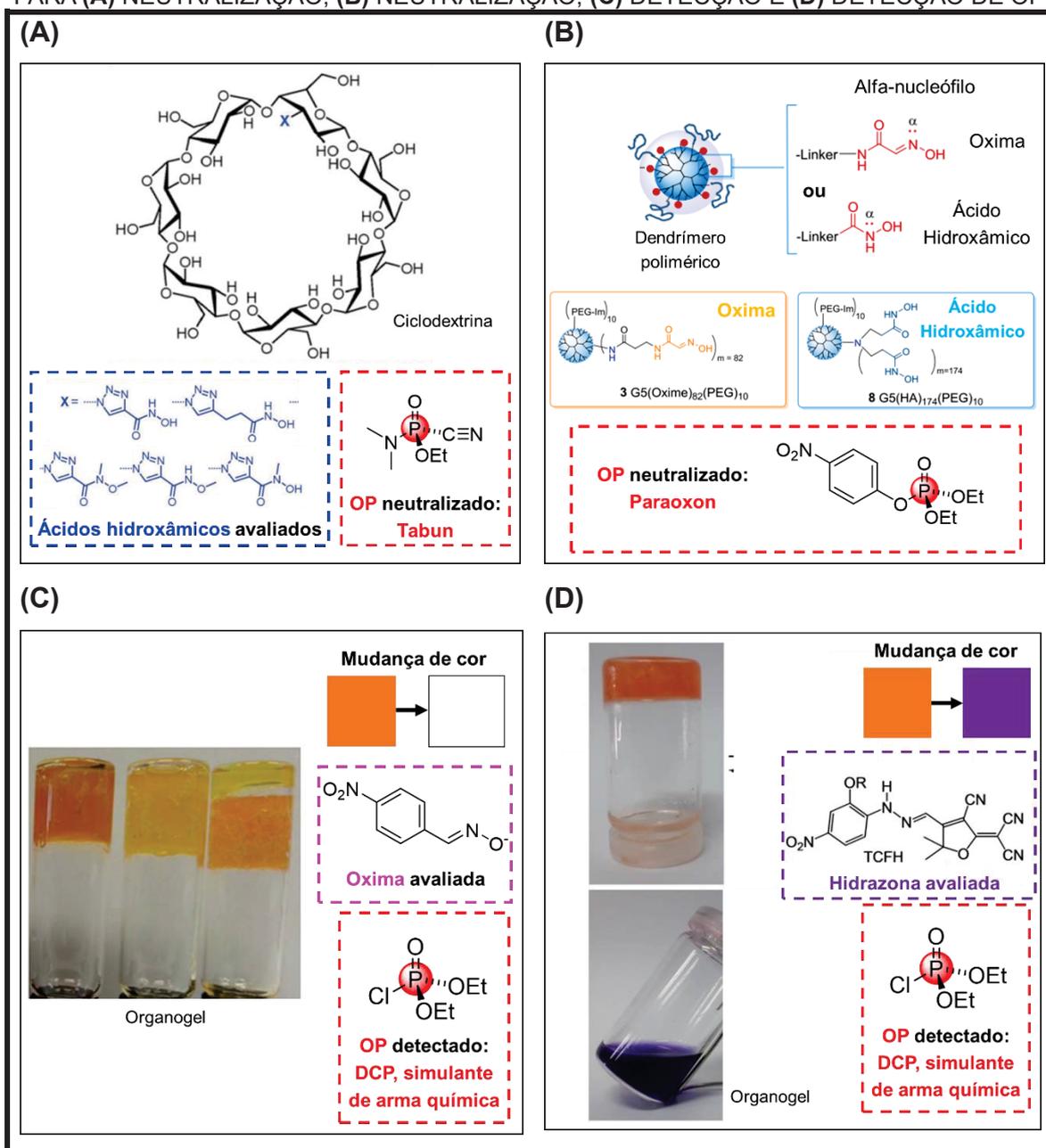
FIGURA 12 – GRÁFICO ESQUEMATIZANDO A CORRELAÇÃO ENTRE REATIVIDADE E BASICIDADE DE BRONSTED PARA NUCLEÓFILOS NORMAIS E ALFA-NUCLEÓFILOS



Fonte: Adaptado de Hansen *et. al*⁹¹ (2021)

Diversos estudos já foram realizados e sugerem o potencial e resultados promissores de diversos alfa-nucleófilos na detoxificação química ou até mesmo na detecção de armas químicas e pesticidas OPs^{34,43-46,79,83,89,90,92-95} (conforme exemplos na FIGURA 13).

FIGURA 13 – EXEMPLOS DE MATERIAIS CONTENDO ALFA-NUCLEÓFILOS UTILIZADOS PARA (A) NEUTRALIZAÇÃO, (B) NEUTRALIZAÇÃO, (C) DETECÇÃO E (D) DETECÇÃO DE OP



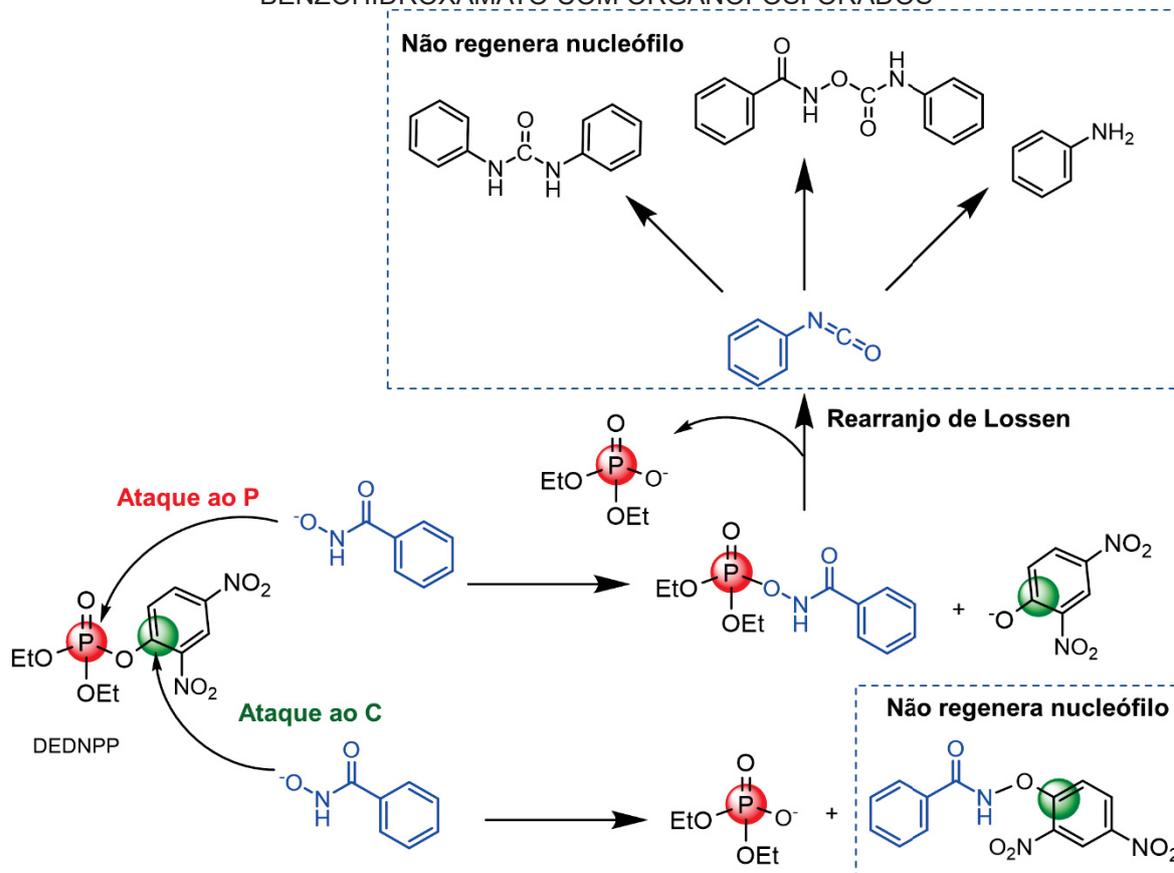
Fonte: Adaptado dos trabalhos de Brandhuber (2013)⁴⁶, Wong (2020)⁹⁵, Hiscock (2015)⁹⁰ e Abdelrahman (2021)⁸⁹ e seus respectivos colaboradores

Como exemplos de neutralização, é possível citar trabalhos como o de Brandhuber *et. al*⁴⁶, onde foram desenvolvidas ciclodextrinas contendo diferentes

ácidos hidroxâmicos que foram eficientes na neutralização do agente de guerra Tabun com tempo de meia-vida inferior a 3 minutos, à 37°C e pH fisiológico (FIGURA 13A). Além disso, no trabalho de Wong e colaboradores (FIGURA 13B), foram propostos dendrímeros poliméricos de uso tópico, derivados de oximas ou ácidos hidroxâmicos que foram bastante eficientes na neutralização do pesticida etil-parathion⁹⁵. Já nos trabalhos de Hiscock e colaboradores⁹⁰ e Abdelrahman *et. al*⁸⁹, os alfa-nucleófilos foram utilizados para o desenvolvimento de organogéis capaz de detectar OPs, fazendo o emprego de oximas e hidrazonas, respectivamente. Em ambos os trabalhos, o foco principal foi a detecção do DCP, um substrato modelo simulante de armas químicas. Sendo assim, os organogéis desenvolvidos apresentaram características cromóforas, onde a detecção do DCP se deu pela mudança de coloração: de laranja para incolor no organogel derivado de oximas e de laranja para roxo no organogel derivado de hidrazonas.

No entanto, um desafio ainda maior é desenvolver catalisadores para neutralização de OPs, uma vez que esses grupos químicos nem sempre promovem um mecanismo seletivo e uma possibilidade de regeneração do nucleófilo^{46,48}. Um exemplo é a pralidoxima, conforme discutido anteriormente, molécula da classe das oximas (*i.e.*, um alfa-nucleófilo) que é eficiente na aceleração da reação de neutralização e reativação das colinesterases envelhecidas, mas não é recuperada ao final do processo, fazendo-se necessário a administração de doses adicionais para o tratamento de intoxicação por OPs^{25,26}. Outro exemplo, conforme já reportado na literatura, é a neutralização de um organofosforado realizada por ácido benzohidroxâmico, molécula da classe dos ácidos hidroxâmicos (*i.e.*, um alfa-nucleófilo) que promove altos incrementos catalíticos, mas permite inúmeros caminhos reacionais, como o ataque nucleofílico tanto ao fósforo como ao carbono aromático (segundo a FIGURA 14). O ataque nucleofílico ao átomo de fósforo leva a um intermediário fosforilado que pode sofrer Rearranjo de Lossen, onde há formação de isocianatos que levam a espécies química finais menos nucleofílicas, como aminas e amidas. Já o ataque nucleofílico ao carbono leva à formação de um intermediário aromático, que geralmente é estável no meio ou é sujeito também ao Rearranjo de Lossen. Nesses dois casos, o grupo hidroxamato age em um “ataque suicida” sem recuperação do grupo nucleofílico, não configurando então um sistema catalítico^{48,96}.

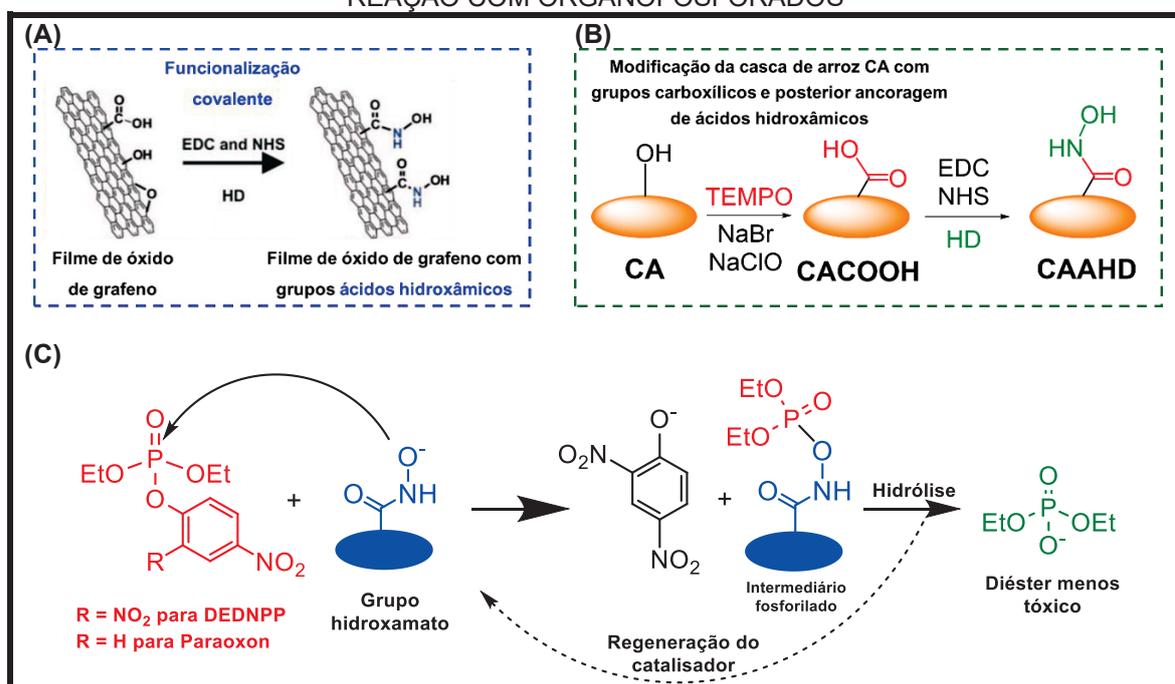
FIGURA 14 – CAMINHOS REACIONAIS POSSÍVEIS PARA O ATAQUE NUCLEOFÍLICO DO BENZOHIPOXAMATO COM ORGANOFOSFORADOS



Fonte: Adaptado de Orth *et. al* (2009) e de Medeiros *et. al* (2011)^{48,96}

Estudos mais recentes no GCC-UFPR, conforme apresentados na FIGURA 15, reportaram o desenvolvimento de catalisadores autênticos derivados de ácidos hidroxâmicos ancorados em grafeno na forma de filme⁹² e em celulose carboxilada⁴⁷, por meio de ligações covalentes (conforme ilustrado na FIGURA 15). Esses materiais apresentaram altos incrementos catalíticos na degradação do DEDNPP e do pesticida Paraoxon. Ainda, foi possível estudar e elucidar o mecanismo da reação (segundo a proposta da FIGURA 15C) que mostrou ser seletivo para o ataque nucleofílico ao centro de fósforo dos OPs, levando ao intermediário fosforilado que sofre hidrólise no meio e leva a reciclagem do grupo hidroxamato, sendo este comportamento diferente do reportado em trabalhos anteriores com esses alfa-nucleófilos. Dessa forma, é possível inferir que além do tamanho dos substituintes R₁₋₄ dos alfa-nucleófilos (conforme mostrado na FIGURA 11), outros fatores são capazes de modular o mecanismo e torná-lo mais seletivo, como o *template* (*i.e.*, suporte) onde estes grupos são ancorados.

FIGURA 15 – FUNCIONALIZAÇÃO DE (A) NANOMATERIAL E (B) DERIVADO DE CELULOSE COM GRUPOS HIDROXAMATOS, ASSIM COMO O (C) MECANISMO PROPOSTO PARA A REAÇÃO COM ORGANOFOSFORADOS



Fonte: Adaptado de HOSTERT et al. (2020) e de FERREIRA et. al (2022)⁴⁷

Outros estudos em andamento no GCC-UFPR com a funcionalização de grupos hidroxamatos em outros suportes, como derivados de goma arábica (polissacarídeos extraídos de árvores do gênero *Acacia*) tem demonstrado resultados semelhantes: altos incrementos catalíticos em reações de desfosforilação e mecanismo seletivo de neutralização. Desse modo, o uso de *templates* poliméricos para o ancoramento de grupos α -nucleofílicos se torna uma proposta interessante para o design de biocatalisadores genuínos, uma vez que podem modular o caminho reacional que leva a detoxificação química de OPs, tornando-o seletivo, e auxiliar na promoção da reciclagem dos grupos alfa-nucleófilos.

2 JUSTIFICATIVA

Os OP são amplamente empregados na forma de agrotóxicos e armas químicas. Esse contexto é preocupante pois esta classe de compostos químicos está cada vez mais presente em nossa sociedade, seja pelo aumento acelerado do uso de pesticidas OP ou pelo uso de armas químicas em atentados terroristas – inclusive em ataques muito recentes. Sendo assim, o estudo das reações de

desfosforilação torna-se necessário, levando em consideração ainda o grande número de exposições e intoxicações por OPs no contexto doméstico e ocupacional (e.g., nas lavouras).

Desse modo, são necessárias estratégias para a detoxificação química, onde o design de materiais para esse fim torna-se um grande desafio. Dentre as inúmeras propostas para a destruição desses compostos fosforilados, o uso de polissacarídeos tem demonstrado resultados bastante promissores. A grande vantagem desses materiais é a sua capacidade de tornar o processo bastante sustentável, uma vez que a maioria desses biopolímeros apresenta baixo custo, biodisponibilidade, baixa toxicidade, biodegradabilidade e biocompatibilidade. Ainda, a modificação química desses polímeros é capaz de modular propriedades e de ancorar grupos reativos em sua matriz, possibilitando que estes materiais sejam desenvolvidos nas mais diversas formas (sólido, líquido, em gel) e utilizados para diversos fins, inclusive para a catálise das reações de desfosforilação.

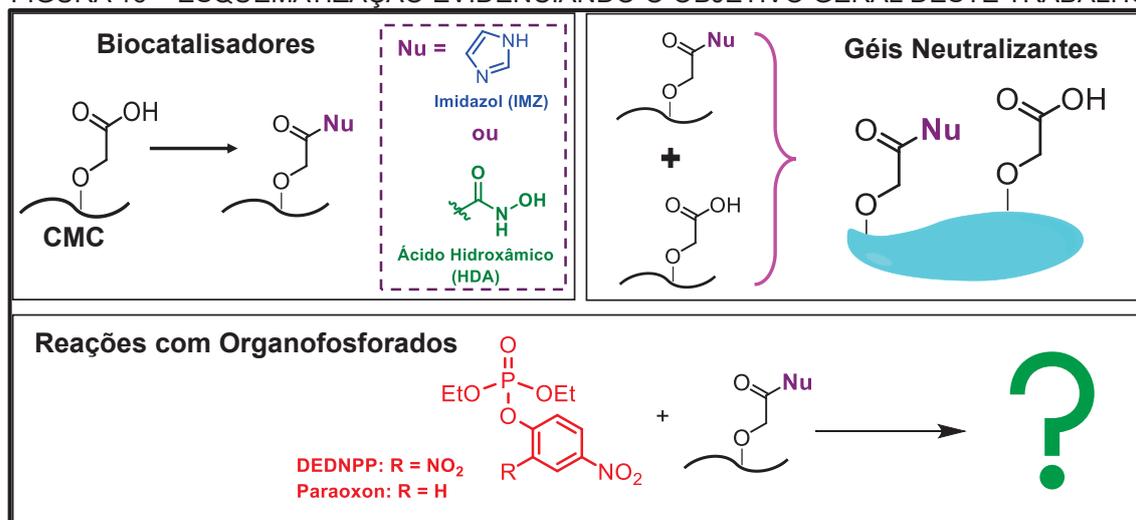
A funcionalização de polissacarídeos para fins de catálise ainda é um campo em desenvolvimento, mas já são reportados alguns estudos envolvendo polissacarídeos como goma arábica e casca de arroz funcionalizados com imidazol que tiveram eficácia na destruição de OP, promovendo um caminho de reação seletivo e promovendo a reciclagem do grupo responsável pela catálise. Com o intuito de produzir os mais diferentes tipos e formas de materiais, inúmeras variáveis podem ser alteradas, como grau de funcionalização, grupos nucleofílicos, variedade e fonte do polissacarídeo, e outros.

Assim, a proposta desse trabalho é explorar a funcionalização de polissacarídeos para o desenvolvimento de materiais para a catálise de reações de neutralização de OPs, com o ancoramento de alfa-nucleófilos e a formulação de géis de CMC que possam prevenir casos de intoxicação. Vale salientar que, até o momento, a demanda mundial por alimentos também demanda agrotóxicos, inviabilizando sua proibição. Sendo assim, é necessário proporcionar a segurança química das pessoas que fazem o manuseio ou que são expostas aos OPs, disponibilizando formas eficazes, baratas e sustentáveis para proteção. Por fim, o trabalho proposto possibilita novos campos de pesquisa abrangendo a síntese de biocatalisadores mais eficientes, funcionalização de outros polissacarídeos e materiais, além do estudo da catálise de outros tipos de reações, proporcionando segurança química, bem estar social, crescimento econômico e sustentabilidade.

3 OBJETIVO GERAL DO PROJETO

O objetivo geral desse projeto (vide FIGURA 16) é desenvolver biocatalisadores e géis neutralizantes derivados de CMC, realizando a modificação química do polímero com grupos imidazóis ou ácidos hidroxâmicos. Além disso, busca-se avaliar esses materiais na neutralização de organofosforados, como o substrato modelo DEDNPP e o pesticida real Paraoxon.

FIGURA 16 – ESQUEMATIZAÇÃO EVIDENCIANDO O OBJETIVO GERAL DESTA TRABALHO



Fonte: Autor (2022)

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS DO PROJETO

Como forma de atingir o objetivo geral, foram estabelecidas as seguintes estratégias:

1. Sintetizar as amostras:
 - Funcionalização da CMC comercial com grupos imidazóis.
 - Funcionalização da CMC comercial com grupos ácidos hidroxâmicos.
2. Caracterizar as amostras por meio de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TGA), cromatografia de exclusão por tamanho (SEC), titulações potenciométricas e de potencial zeta, e outras metodologias.
3. Realizar os estudos de reologia da CMC comercial:
 - Avaliar macroscopicamente o comportamento reológico por meio de *tilt-test*.

- Realizar ensaios de viscosidade em diferentes concentrações de polímero e diferentes solventes.
 - Realizar ensaios dinâmico-oscilatórios das amostras, avaliando os módulos G' e G'' em função da amplitude e frequência.
4. Formular e caracterizar reologicamente os géis neutralizantes.
 5. Realizar os estudos cinéticos das amostras sintetizadas por meio de espectrofotometria UV-VIS:
 - Avaliar a atividade catalítica em reações com o organofosforado modelo DEDNPP. Condições reacionais foram alteradas para construir um perfil de pH.
 - Avaliar a reciclagem das amostras após vários ciclos de reações com DEDNPP.
 - Avaliar a atividade catalítica em reações com o pesticida real Paraoxon.
 - Avaliar e validar o mecanismo de neutralização por meio de reações das amostras com o substrato CDNB.
 6. Avaliar a ação dos géis neutralizantes em uma simulação de caso de prevenção à intoxicação por organofosforados. Para isso, foram realizados estudos de permeação *in vitro* utilizando um aparato de célula de Franz.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

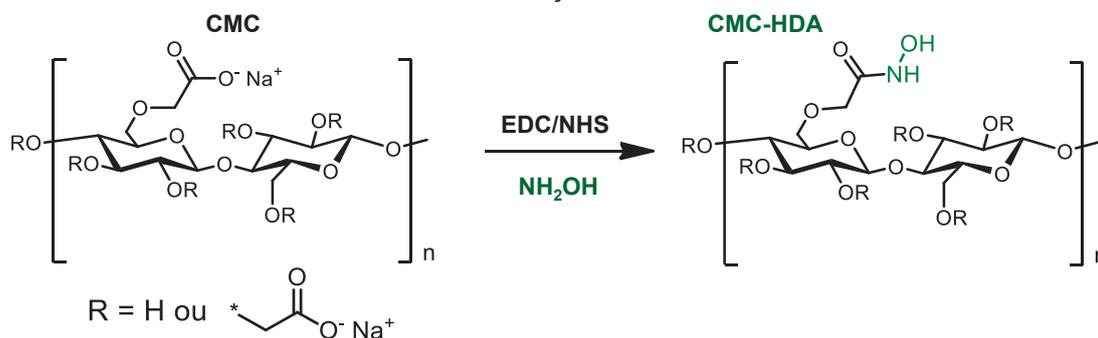
4.1 REAGENTES

Os reagentes CMC (250 kg mol^{-1} ; DS = 0,9), N-hidroxisuccinimida (NHS), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC), N-(3-aminopropil) imidazol (API), cloridrato de histamina, cloridrato de hidroxilamina, azida sódica (NaN_3), ácidos, sais e bases foram obtidos comercialmente e purificados quando necessário. Em todos os experimentos foi utilizada água ultrapura (tipo 1), disponível no GCC. O organofosforado DEDNPP foi sintetizado no GCC, conforme procedimento descrito na literatura⁷⁴ e o pesticida Paraoxon foi obtido comercialmente e purificado.

4.2 FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM GRUPOS ÁCIDOS HIDROXÂMICOS

A funcionalização da CMC comercial com grupos ácidos hidroxâmicos foi realizada através de método adaptado da literatura^{39,42}, conforme esquematizado na FIGURA 17: em um balão de fundo redondo (100 mL), 0,5 g de CMC foram dispersados em 70 mL de água deionizada ultrapura e a solução foi deixada sob agitação magnética por 24 horas. Depois, o balão foi acondicionado em banho de gelo e foram adicionados 4,54 g de EDC (23,7 mmol, forma cloridrato) e 2,72 g de NHS (23,7 mmol) ao meio reacional. A mistura foi deixada sob agitação por 2 horas: 1 hora em banho de gelo e 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, foram adicionados ao balão 30 mL de solução de hidroxilamina (54,9 mg mL⁻¹, 23,7 mmol, 1,647 g na forma cloridrato) previamente ajustada em pH 7,00. O meio reacional também foi ajustado em pH 7,00 e mantido sob agitação por mais 24 horas. Após o final da reação, a amostra foi dialisada em água deionizada utilizando membrana de celulose regenerada com poros nominais de 14 kg.mol⁻¹, com trocas até que a condutividade permanecesse próxima da água e constante por 2 dias. Por fim, foi adicionada NaN₃ na concentração de 200 ppm para evitar o crescimento de micro-organismos e a amostra foi armazenada em frasco âmbar sob refrigeração. A concentração da solução estoque de CMC-HDA foi estimada em 2,3 mg mL⁻¹, secando 1 mL de amostra em estufa (à 50 °C durante 3h) e pesando o sólido restante.

FIGURA 17 – ESQUEMA DE FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM ÁCIDOS HIDROXÂMICOS



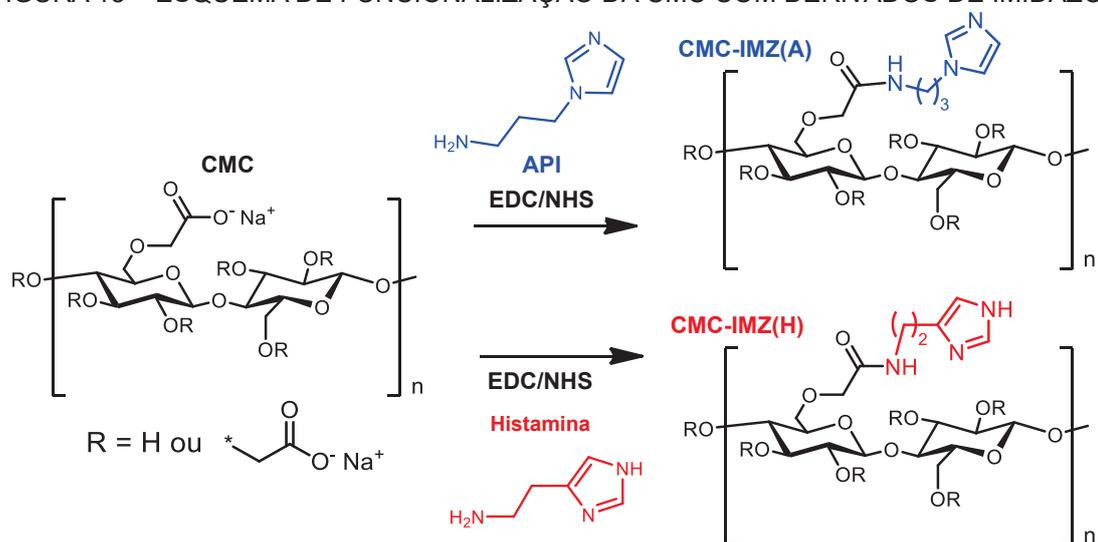
Fonte: Autor (2022)

4.3 FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM GRUPOS IMIDAZÓIS

A funcionalização da CMC comercial com grupos imidazóis foi realizada através de método já descrito na literatura^{39,42}, adaptando para obtenção de 2

amostras com derivados diferentes de imidazol (FIGURA 18): a partir de API (CMC-IMZ(A)) e a partir da histamina (CMC-IMZ(H)). Inicialmente, em um balão de fundo redondo (100 mL), 0,5 g de CMC foram dispersados em 70 mL de água ultrapura e a solução foi deixada sob agitação magnética por 24 horas. Depois, o balão foi acondicionado em banho de gelo e foram adicionados 4,54 g de EDC (23,7 mmol, forma cloridrato) e 2,72 g de NHS (23,7 mmol) ao meio reacional. A mistura foi deixada sob agitação por 2 horas: 1 hora em banho de gelo e 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, foi adicionado o derivado de imidazol de forma a obter cada uma das amostras. Para obtenção da CMC-IMZ(A), foram adicionados 2,85 mL de API (23,7 mmol) e água deionizada até completar o volume total do balão. Já para a amostra CMC-IMZ(H), foram adicionados 30 mL de solução de histamina (145,42 mg mL⁻¹, 23,7 mmol, 4,3625 g na forma cloridrato) previamente ajustada em pH 7,00. Após a adição, em cada síntese, o meio reacional foi ajustado para pH 7,00 e mantido sob agitação magnética por mais 24 horas. Após o final da reação, as amostras obtidas foram dialisadas em água deionizada utilizando membrana de celulose regenerada com poros nominais de 14 kg.mol⁻¹, com trocas até que a condutividade permanecesse próxima da água e constante por 2 dias. Por fim, foi adicionada NaN₃ na concentração de 200 ppm a cada amostra para evitar o crescimento de micro-organismos e ambas foram armazenadas em frasco âmbar sob refrigeração. A estimativa da concentração da solução estoque foi realizada de maneira semelhante a anterior: sendo determinada a concentração de 3,8 mg mL⁻¹ para CMC-IMZ(A) e 2,8 mg mL⁻¹ para a CMC-IMZ(H).

FIGURA 18 – ESQUEMA DE FUNCIONALIZAÇÃO DA CMC COM DERIVADOS DE IMIDAZOL



Fonte: Autor (2022)

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS MATERIAIS

FTIR-ATR: Os espectros de FTIR foram obtidos por um espectrofotômetro Bruker Invenio-R no modo de Reflectância Total Atenuada (ATR) com varredura de 400 a 4000 cm^{-1} , utilizando resolução de 2 cm^{-1} e 256 acumulações. As amostras foram previamente secas em substrato de alumínio na estufa à 50 °C, de forma a obter filmes.

TGA: os espectros de termogravimetria (TG) foram adquiridos em um aparelho TA Instruments, modelo SDT Q600 sob atmosfera de ar sintético com fluxo de 100 mL min^{-1} . Foi determinada uma rampa de temperatura com os seguintes parâmetros: (i) aquecimento à 10 °C por minuto até atingir 70 °C, seguido de (ii) uma isoterma por 60 minutos, e por fim (iii) uma taxa de aquecimento de 5 °C por minuto, variando de 70 °C a 1000 °C. Os sólidos das amostras funcionalizadas foram obtidos por prévia liofilização e todas as amostras foram secas em estufa à 50 °C por pelo menos 2 horas antes da realização das análises.

Titulações potenciométricas: As titulações potenciométricas foram realizadas em célula de vidro de 150 mL com parede dupla e controle de temperatura (25 °C). Cada titulação foi realizada levando em conta aproximadamente 25 mg de amostra em concentração inicial de 1 mg mL^{-1} na célula de vidro. Inicialmente, o meio foi acidificado com uso de HCl padronizado (0,44 mol L^{-1}) e as titulações se deram por adições de pequenas alíquotas de KOH padronizado (0,0119 mol L^{-1}). Os ajustes das curvas de titulação foram realizados no software BEST7.

Incremento de índice de refração (dn/dc): a determinação de dn/dc para posterior análise de SEC acoplada a multi-detectores foi realizada em equipamento detector de índice de refração (VE3580). Foram preparadas 7 soluções de CMC em concentrações entre 0,2 a 2,0 mg mL^{-1} em solvente NaNO_3 0,1 mol L^{-1} + NaN_3 200 ppm. Foi utilizado como padrão uma solução de poli-(óxido de etileno) ($M_w = 250 \text{ kg mol}^{-1}$; 1,03 mg mL^{-1}).

SEC: As análises de SEC foram realizadas em um sistema cromatográfico composto por injetor manual, bomba de fluxo, pré coluna Shodex OH-pack SB-G Opera e coluna de polimetacrilato Shodex-OH 806HQ (limite de detecção $2 \times 10^7 \text{ g mol}^{-1}$ e dimensão 8mm x 300 mm). O sistema é acoplado a multi-detectores de

índice de refração (VE3580), espalhamento de luz (270 dual detector) de ângulo baixo de 7° (LALS) e ângulo reto 90° (RALS). As amostras foram preparadas em concentração de 1 mg mL^{-1} no solvente utilizado como fase móvel (NaNO_3 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ + NaN_3 200 ppm), filtradas previamente em membranas de éster de celulose com poros de tamanho nominal de $0,22 \mu\text{m}$. A temperatura da coluna foi mantida à 40°C e fluxo de $0,4 \text{ mL min}^{-1}$. O software utilizado para a aquisição e análise dos dados foi o OmniSec 4.7 (Viscotek).

Titulações de potencial zeta: As titulações de potencial zeta foram realizadas em um equipamento Stabino Particle Charge Mapping. As amostras foram preparadas para análise por meio de 1 mL de solução estoque de cada uma delas em 14 mL de água ultrapura, totalizando o volume total de 15 mL do copo de titulação. As titulações foram processadas em condições de força iônica de KCl $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e em KCl $0,05 \text{ mol L}^{-1}$. Inicialmente o meio foi acidificado com uso de HCl padronizado ($0,0789 \text{ mol L}^{-1}$) e as titulações se deram por adições de pequenas alíquotas de KOH padronizado ($0,0750 \text{ mol L}^{-1}$).

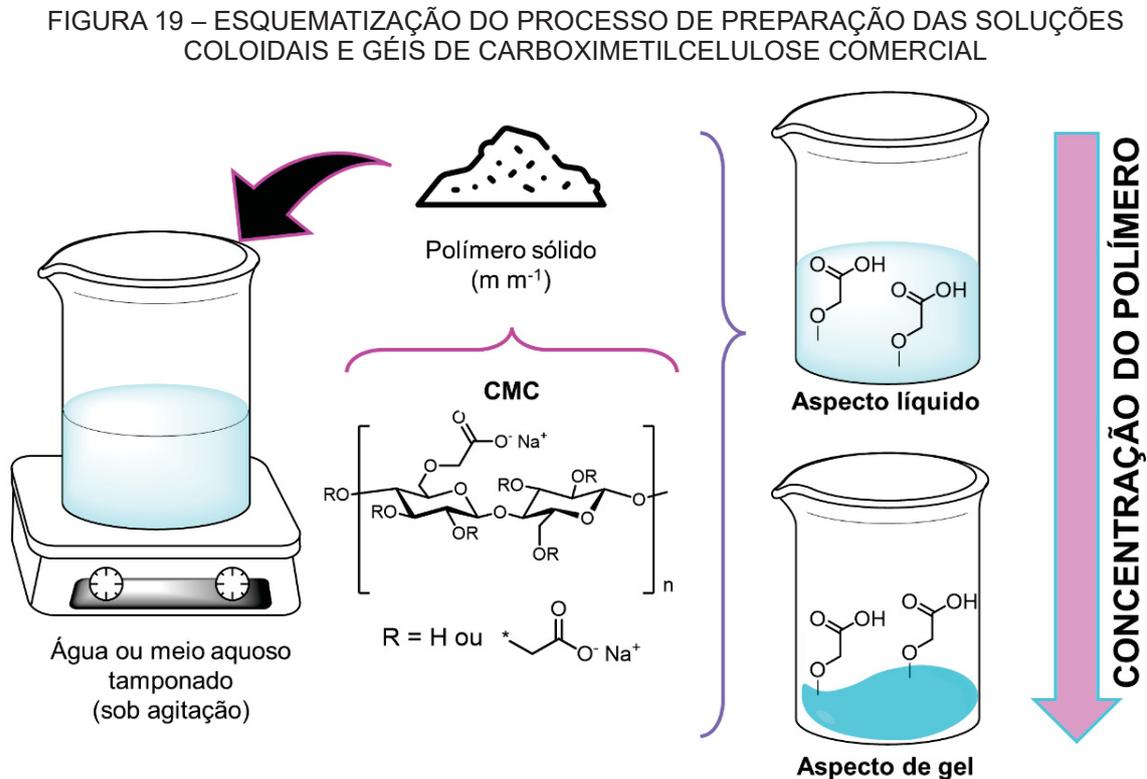
Ensaio de reologia: As análises de viscosidade em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) das amostras foram realizadas em um equipamento Reômetro RheoStress 1, com sistema Cone-Placa C60/2°, acoplado a um banho termostático (25°C), em diferentes concentrações de CMC em água ou em tampão fosfato ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ajustado em pH 7,0). Os ensaios dinâmico-oscilatórios de análise dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da amplitude de tensão de cisalhamento e frequência de oscilação foram realizados em um equipamento Reômetro TA Instruments, modelo HR10, com sistema Cone-Placa de 40 mm de diâmetro e 2° de ângulo, sob controle de temperatura por um sistema Peltier (25°C).

Teste qualitativo para complexação de ferro com grupos hidroxamatos: o teste foi realizado utilizando solução acidificada de 3 mmol L^{-1} de $\text{FeCl}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Em uma cubeta de vidro, 1 mL de cada uma das amostras foi testada com 1 mL da solução de Fe(III) e analisada por meio da técnica de espectroscopia UV-Vis.

4.5 FORMULAÇÃO DE SOLUÇÕES E GÉIS DE CMC

Os géis de CMC foram confeccionados a partir da amostra comercial. Devido à possibilidade de a CMC formar soluções bastante viscosas (inclusive de formar géis), optou-se por não utilizar nenhum tipo de agente gelificante ou estabilizante adicional. Inicialmente foram confeccionados e avaliados soluções e géis de CMC comercial em uma faixa de concentração entre 0,1 e 10% (m m^{-1}), em dois solventes: meio aquoso contendo NaN_3 200 ppm e meio aquoso tamponado em pH 7,0 (tampão PO_4^{3-} 0,01 mol L^{-1}) contendo NaN_3 200 ppm.

As amostras foram confeccionadas em frascos de acrílico ou plástico, onde o polímero foi adicionado lentamente sobre o meio aquoso sob constante agitação magnética (conforme FIGURA 19). Para as amostras mais concentradas cuja viscosidade observada era bastante elevada, foi necessário o uso de agitação mecânica e aquecimento até um máximo de 60 °C. Antes de realizar as análises, todas as soluções e géis confeccionados foram deixados em repouso por pelo menos 1 semana ou até que as bolhas de ar fossem retiradas naturalmente.



Fonte: Autor (2022)

No estudo inicial foi analisada a viscosidade em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) das amostras nos solventes selecionados para entender o comportamento do polímero em solução coloidal (dispersão coloidal). Em seguida, foram analisados os módulos: elástico (G') e viscoso (G'') das amostras, em função da tensão de cisalhamento e frequência, para determinar e utilizar o regime viscoelástico linear. O critério de aceitabilidade para o gel foi um valor de $G' > G''$ em toda a faixa de frequência avaliada.

Após a verificação das melhores condições de processo, foram formulados os géis neutralizantes. Esses géis foram confeccionados pela incorporação de CMC funcionalizada em uma matriz de CMC não-modificada. Desse modo, foi determinada uma concentração total de polímero de 7% ($m\ m^{-1}$) em meio aquoso tamponado, constituindo 10% de CMC funcionalizada e 90% de CMC comercial. Os géis neutralizantes também foram caracterizados reologicamente analisando os módulos G' e G'' em função da tensão e frequência.

4.6 ESTUDOS COM ORGANOFOSFORADOS

4.6.1 Estudos cinéticos com os biocatalisadores

Os estudos cinéticos foram realizados utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-1900 sob temperatura controlada (21 °C). O volume de 1 mL da solução estoque de cada amostra foi preparado com 4 mL de solução de água deionizada de forma a obter um meio tamponado de 0,01 mol L⁻¹ de KHCO₃ ou KH₂PO₄ para manter o pH constante e 200 ppm de NaN₃ para inibir o crescimento de micro-organismos. Dessa solução, 3 mL foram colocados em uma cubeta de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

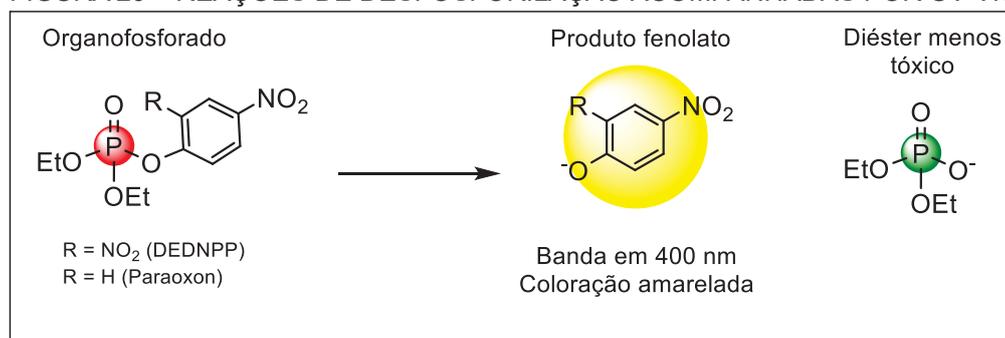
A atividade catalítica foi avaliada com a adição de 10 µL do substrato modelo DEDNPP (solução estoque de 10⁻³ mol L⁻¹ em solvente acetonitrila) ao meio reacional, iniciando assim a reação e induzindo uma cinética de pseudo-primeira ordem, sendo a concentração da amostra muito maior que a do organofosforado. O acompanhamento da reação se deu pelo aparecimento de bandas em 400 nm nos espectros (conforme FIGURA 20), correspondentes ao produto 2,4-dinitrofenolato (2,4-DNP), que absorve luz nesse comprimento de onda.

A reciclagem das amostras também foi realizada com DEDNPP, como

forma de verificar se as amostras atuam de fato como catalisadores. Desse modo, reações das amostras com DEDNPP em pH 8,5 foram acompanhadas por até três ciclos, onde cada ciclo extra se iniciou pela adição de mais 10 μL de solução do organofosforado ao meio reacional.

Para os estudos com o pesticida real Paraoxon, os testes foram realizados na temperatura de 30 $^{\circ}\text{C}$ e mantidos em frascos selados. Uma alíquota de 10 μL do pesticida (solução estoque de 10^{-2} mol L^{-1} em solvente acetonitrila) foi adicionado a um frasco contendo 3 mL de amostra (diretamente da solução estoque) em meio tamponado na concentração de 0,01 mol L^{-1} , induzindo uma cinética de pseudo-primeira ordem. A reação também foi acompanhada pelo aparecimento de bandas em 400 nm correspondentes ao 4-nitrofenolato, conforme mostra a FIGURA 20.

FIGURA 20 – REAÇÕES DE DESFOSFORILAÇÃO ACOMPANHADAS POR UV-VIS



Fonte: Autor (2022)

O estudo mecanístico foi realizado com a adição de 10 μL do composto cloro-2,4-dinitrobenzeno (solução estoque de 5×10^{-3} mol L^{-1} em solvente acetonitrila) ao meio reacional preparado de maneira análoga aos testes com DEDNPP, induzindo também uma cinética de pseudo-primeira ordem para a reação. As reações foram realizadas com controle de temperatura em 21 $^{\circ}\text{C}$ e o acompanhamento das reações foi realizado por meio de espectrofotometria UV-VIS, analisando o crescimento das bandas em 400 nm.

Os parâmetros cinéticos das reações das amostras com DEDNPP, pesticida Paraoxon e substrato CDN B foram determinados por meio de gráficos dos valores de absorvância em 400 nm *versus* tempo utilizando o software Origin 8.0 e ajustados pela seguinte equação 1:

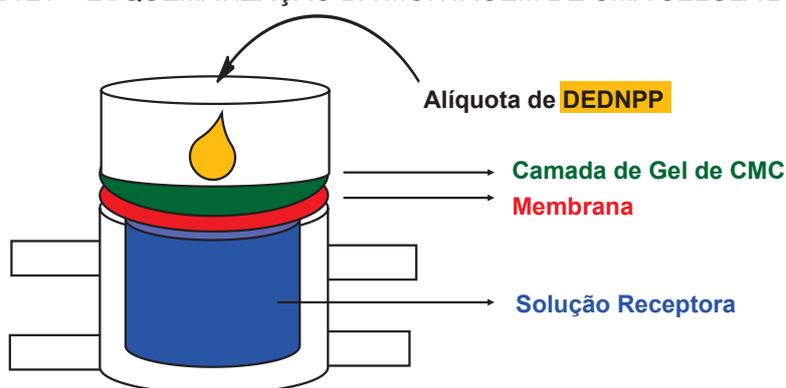
$$A = A_0 + [(A_{\infty} - A_0) * (1 - e^{-k_{obs} * t})] \quad (1)$$

Onde: A é a absorvância no tempo t ; A_0 é a absorvância em $t = 0$; A_∞ é a absorvância no infinito e k_{obs} é a constante de velocidade observada para a cinética de pseudo-primeira ordem.

4.6.2 Estudos de permeação *in vitro* com os géis neutralizantes

Como forma de verificar a eficácia dos géis de CMC na prevenção de intoxicação por OP, foram realizados estudos de permeação *in vitro* utilizando o aparato da Célula de Franz, equipamento que mimetiza a difusão de ativos por via cutânea. O aparato consiste em vidrarias (chamadas células) sob controle de temperatura, contendo meio receptor (simulando o meio fisiológico), onde é possível fazer a coleta de alíquotas desse meio em diferentes intervalos de tempo. Para realizar a análise, o meio receptor utilizado foi tampão fosfato ajustado em pH 7,00 e a temperatura foi ajustada para 36°C. Acima das células foram alocadas membranas de diálise de éster de celulose com diâmetro médio de 2,01 cm² (utilizadas para simular a pele) onde foi depositado 1 g de gel. Em seguida, uma alíquota de 50 µL de DEDNPP (solução estoque de $6,1 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em solvente acetonitrila) foi alocada sobre a camada de gel para verificar seu comportamento. Desse modo, alíquotas de 1 mL foram retiradas do meio receptor em diferentes intervalos de tempo e posteriormente analisadas por UV-VIS.

FIGURA 21 – ESQUEMATIZAÇÃO DA MONTAGEM DE UMA CÉLULA DE FRANZ



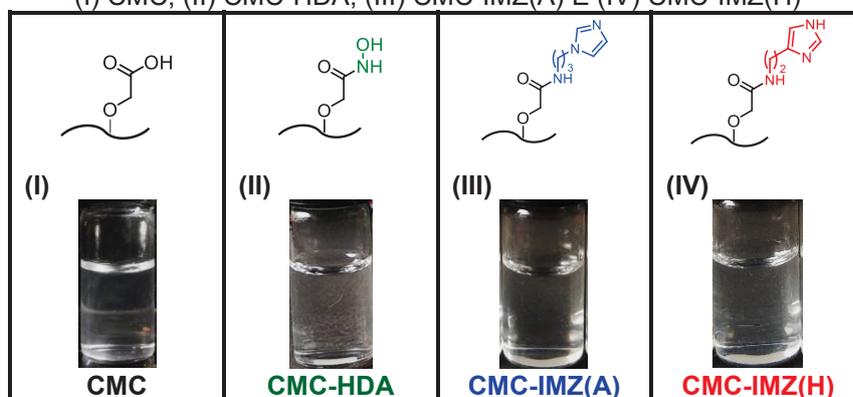
Fonte: Autor (2022)

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 SÍNTESE DAS AMOSTRAS

As amostras foram funcionalizadas e dialisadas com base na metodologia proposta. Analisando o aspecto visual, não foram observadas mudanças macroscópicas ou formação de precipitados após as sínteses, conforme ilustra a FIGURA 22. Esse comportamento sugere uma rota sintética não-destrutiva e que permite a modificação parcial da CMC sem perda de suas características iniciais (e.g., solubilidade).

FIGURA 22 – FOTOS DAS DISPERSÕES COLOIDAIS DAS AMOSTRAS: (I) CMC; (II) CMC-HDA; (III) CMC-IMZ(A) E (IV) CMC-IMZ(H)

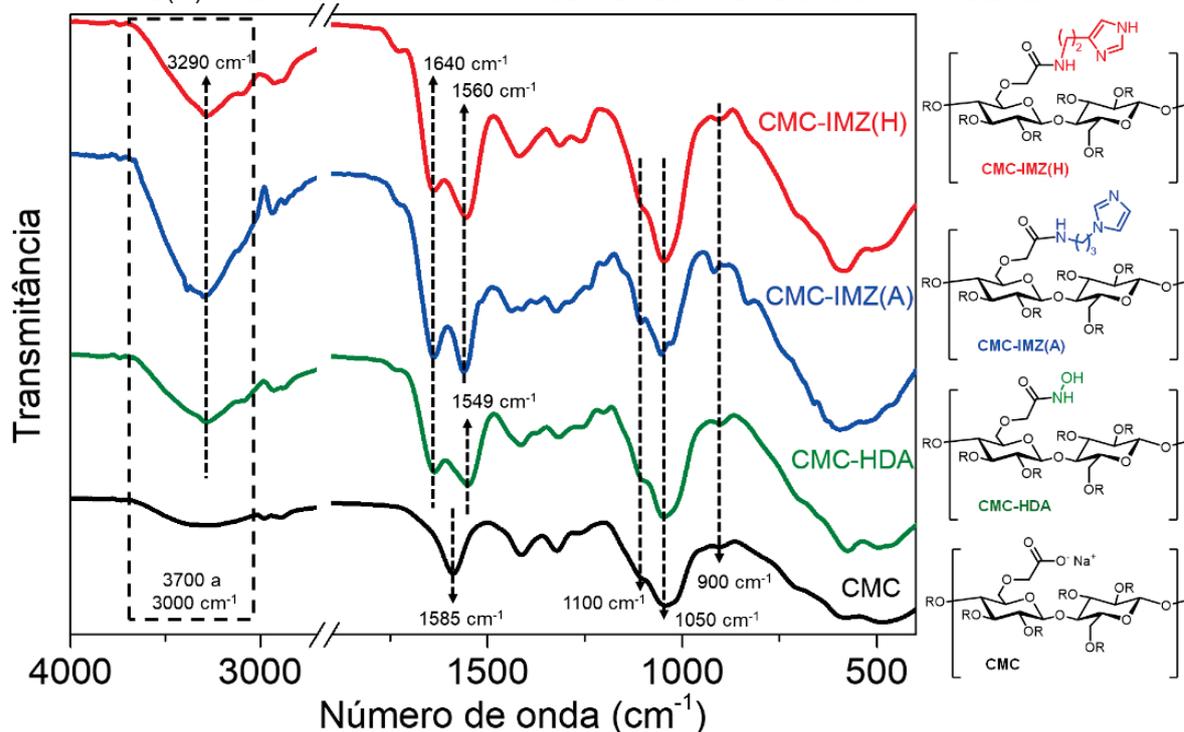


Fonte: Autor (2022)

5.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

As análises de FTIR das amostras (vide FIGURA 23) foram realizadas na forma de filme, secando-as previamente em substrato de alumínio. Todas as amostras apresentaram bandas características e alargadas na região de 3700 a 3000 cm^{-1} , correspondentes a $\nu(\text{O-H})$ de ácidos carboxílicos, hidroxilas e água adsorvida na amostra^{39,97-101}. Há outras bandas inerentes das amostras entre 500 e 1300 cm^{-1} que refletem a manutenção do esqueleto polimérico após a síntese: em 1100 cm^{-1} há uma banda que pode ser atribuída a $\nu(\text{C-O-C})$ ou $\nu(\text{C}(5)\text{-C}(6))$ presente nas unidades glicosídicas da cadeia principal da CMC⁹⁸⁻¹⁰¹. Em 1050 cm^{-1} , as bandas são atribuídas a $\delta(\text{C-O-C})$ das ligações glicosídicas $\beta\text{-(1}\rightarrow\text{4)}$ ^{99,101}. Já em 900 cm^{-1} , é possível observar uma banda característica referente a $\nu(\text{C-H})$ em β do carbono anomérico (C1)^{98,101}. Exclusivamente para a amostra CMC, há uma banda em 1585 cm^{-1} referente às vibrações $\nu(\text{C=O})$ de carboxilatos de sódio^{98,102}.

FIGURA 23 – ESPECTROS DE FTIR PARA AS AMOSTRAS CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) PREPARADAS NA FORMA DE FILMES SOBRE SUBSTRATO DE ALUMÍNIO



Fonte: Autor (2022)

Para as amostras funcionalizadas, há bandas em 1640 cm^{-1} devido ao $\nu(\text{C}=\text{O})$ de carbonila de amidas^{92,98,103,104}. Como essa banda em geral é atribuída também aos carboxilatos de sódio, foram realizados FTIR das amostras também em meio ácido (vide Figura 1 do Apêndice), que evidenciam aumento das bandas em 1735 cm^{-1} para todas as amostras, devido à $\nu(\text{C}=\text{O})$ de ácidos carboxílicos. No entanto, a banda em 1640 cm^{-1} diminui de intensidade apenas para a amostra CMC (devido à protonação dos carboxilatos), enquanto que para todas as amostras funcionalizadas, há intensificação do sinal da banda, o que sugere a funcionalização covalente das amostras pelas ligações amida.

Há outras bandas que indicam a funcionalização das amostras de maneira mais assertiva. Para a amostra CMC-HDA, a banda presente em 1549 cm^{-1} é atribuída às vibrações $\nu(\text{C}-\text{N})$, $\delta(\text{O}-\text{H})$, $\delta(\text{N}-\text{H})$ de ácidos hidroxâmicos^{92,97}, indicando o sucesso da funcionalização covalente do material com o grupo alfa-nucleófilo proposto. Para as amostras derivadas de imidazol, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), há uma banda presente em 1560 cm^{-1} atribuída à $\nu(\text{C}-\text{N})$ e $\delta(\text{N}-\text{H})$ de amidas, indicando também a funcionalização covalente após a síntese^{39,104}.

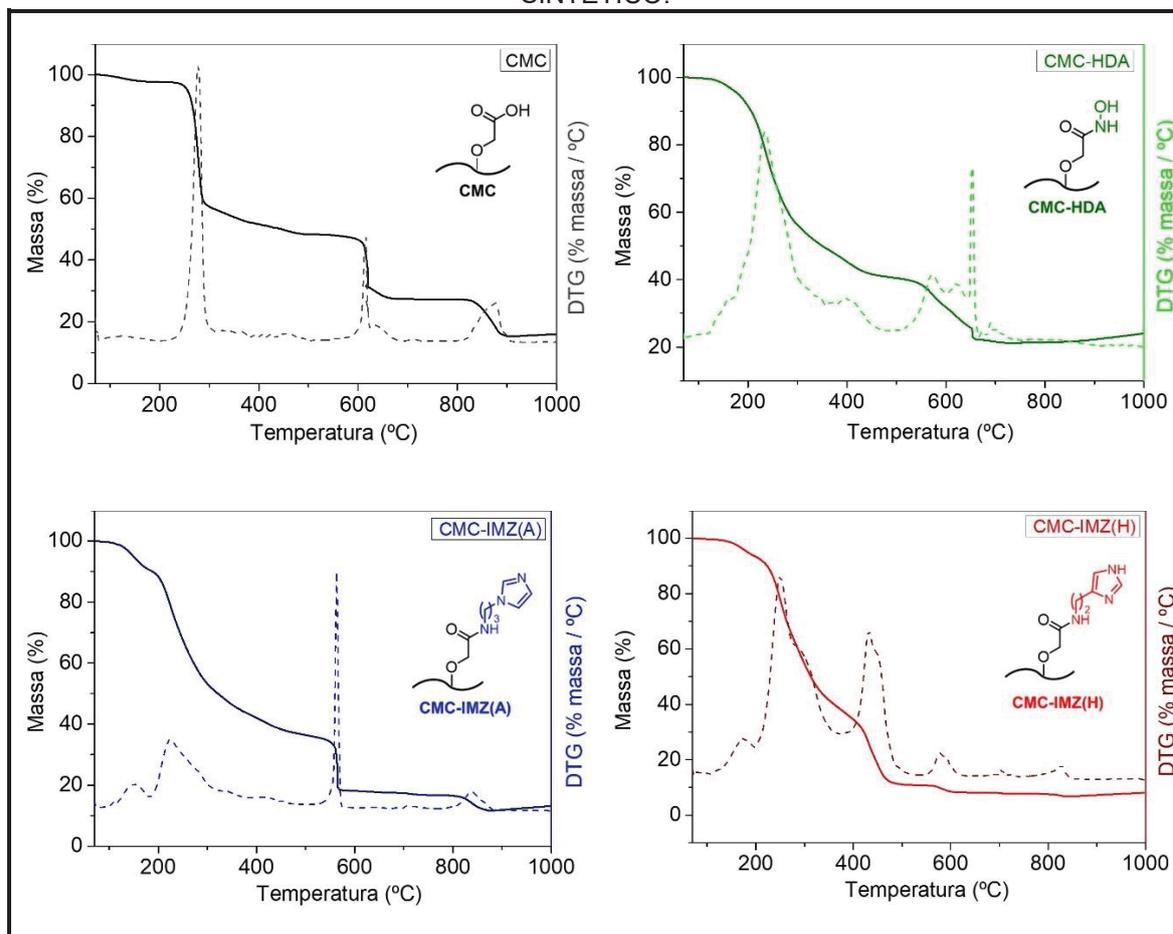
Outra banda presente em todas as amostras funcionalizadas e que sugere

a modificação química está assinalada em 3290 cm^{-1} e é atribuída ao $\nu(\text{N-H})$ em ácidos hidroxâmicos para a amostra CMC-HDA e aos grupos imidazol nas amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H)^{40,92,97,103,105,106}. Essa banda com característica mais achatada também foi atribuída a essa ligação de ácidos hidroxâmicos e imidazóis em materiais funcionalizados de outros trabalhos^{40,92,106}. Desse modo, os espectros de FTIR indicam o sucesso nas propostas de modificação química do material.

5.3 ANÁLISES TERMOGRAVIMÉTRICAS

As análises termogravimétricas (TGA) foram realizadas para todos os materiais do trabalho. Os gráficos de TG e DTG (% massa / °C) das amostras obtidos em fluxo de ar sintético (100 mL min^{-1}) estão apresentados na FIGURA 24 e um resumo dos dados obtidos na análise estão presentes na TABELA 1.

FIGURA 24 – GRÁFICOS DE TG E DTG DAS AMOSTRAS: CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H), COM TAXA DE AQUECIMENTO DE $5^{\circ}\text{C MIN}^{-1}$, SOB ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO.



Fonte: Autor (2022)

Foram considerados 6 fenômenos de degradação térmica típicos para as amostras: 1) perda de água adsorvida; 2) degradação de grupos funcionais da modificação química com ácidos hidroxâmicos ou imidazóis (exceto para a CMC comercial); 3) degradação de grupos oxigenados; 4) degradação do esqueleto polimérico em um esqueleto carbonáceo; 5) oxidação do esqueleto carbonáceo restante; e 6) novamente oxidação do esqueleto carbonáceo.

Para a amostra não-funcionalizada CMC, a decomposição total na faixa de temperatura analisada aconteceu com 4 eventos de perda de massa referente a 5 fenômenos de degradação térmica, todos de acordo com a literatura para materiais derivados de carboximetilcelulose: (i) devido à água adsorvida na amostra (2,4%)^{104,107,108}, (ii) descarboxilação de grupos oxigenados e degradação do esqueleto polimérico até a formação de um esqueleto carbonáceo (49,4%)^{104,107,108}, (iii) oxidação do esqueleto restante com consequente liberação de voláteis oxigenados (21,1%)¹⁰⁹, (iv) oxidação, ocasionando a liberação de mais voláteis (11,9%)¹⁰⁹ e levando ao resíduo final contendo carbonatos e óxidos estáveis (*e.g.*, Na₂CO₃) formados durante as oxidações (15,4% de resíduo)¹⁰⁹.

Para as amostras funcionalizadas, há três aspectos principais que foram observados em relação à análise da CMC precursora e que sugerem uma modificação química sucedida. O primeiro se trata da aparente diminuição de estabilidade térmica da amostra: esse comportamento pode estar relacionado à degradação dos grupos funcionais ancorados, onde as ligações desses grupos com a cadeia principal são rompidas, ocasionando perdas de massa em menores temperaturas, conforme reportado em literatura¹⁰⁴. O segundo aspecto, ainda consequência do primeiro, abrange eventos de perda de massa adicionais que acontecem concomitantemente com os eventos (i) e (ii) determinados na análise da CMC (perda de água, descarboxilação e degradação da cadeia polimérica), que também podem ser atribuídos à decomposição dos grupos funcionais ancorados após a síntese¹⁰⁴.

O terceiro aspecto a ser observado, é a porcentagem de esqueleto carbonáceo presente em 500 °C após a decomposição térmica da cadeia principal (CMC = 48,2%, CMC-HDA = 40,7%, CMC-IMZ(A) = 36,5%; CMC-IMZ(H) = 10,7%). Devido à inserção de outros grupos funcionais, as interações intermoleculares podem ser enfraquecidas, contribuindo não somente para a diminuição aparente da estabilidade térmica, como também para a aceleração da reação de degradação

térmica e conseqüentemente maior perda de massa, conforme observado em trabalhos anteriores avaliando propriedades térmicas de derivados de celulose com diferentes substituintes^{104,110,111}.

Analisando cada uma das amostras funcionalizadas separadamente e detalhadamente: **(a)** A amostra CMC-HDA se decompôs totalmente em 3 perdas de massa na faixa de temperatura analisada, referente a 5 fenômenos de degradação térmica. Ainda, há overlap entre as 2 primeiras perdas (entre 70 °C e 486 °C), devido: (i) e (ii) perda de água adsorvida na amostra, em conjunto com decomposição dos grupos da funcionalização, descarboxilação dos grupos oxigenados e degradação do esqueleto polimérico em um esqueleto carbonáceo (59,3%). Em seguida, há (iii) oxidação do esqueleto restante e liberação de voláteis oxigenados (19,5%), resultando em um resíduo de 21,2% devido a presença de óxidos. Essa amostra, diferente das demais, apresentou apenas um fenômeno de degradação referente à oxidação; **(b)** Já a amostra CMC-IMZ(A) se decompôs totalmente apresentando 4 eventos de perda de massa referente aos 6 fenômenos de degradação, havendo intersecção nas 2 primeiras perdas de massa (entre 70 °C e 500 °C), devido: (i) e (ii) água adsorvida, concomitante a decomposição dos grupos da funcionalização, descarboxilação dos grupos oxigenados e degradação da cadeia principal (63,5%). Em sequência, há duas oxidações (iii) e (iv) do esqueleto carbonáceo com conseqüente liberação de voláteis (com 19,0% e 5,8% de perda de massa, respectivamente), resultando em um resíduo de 11,7% contendo carbonatos de sódio.; **(c)** Por fim, a amostra CMC-IMZ(H) se decompôs totalmente apresentando 5 eventos de perda de massa, correspondente aos 6 fenômenos de degradação, havendo intersecção entre as 3 primeiras perdas de massa (entre 70 °C e 536 °C) devido a: (i), (ii) e (iii) água adsorvida, em conjunto com grupos funcionais ancorados na modificação química, descarboxilação dos grupos oxigenados e degradação do esqueleto carbônico (89,3%). Em seguida são observadas as perdas de massa (iv) e (v) devido às oxidações desse esqueleto carbonáceo (somando 4% de perda de massa), resultando em um resíduo de 6,8%, provavelmente contendo sais de carbonato.

Desse modo, as TGAs das amostras revelaram alguns aspectos a respeito da estabilidade e decomposição térmica. As amostras funcionalizadas CMC-HDA, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H) se degradaram termicamente com perdas de massa adicionais em relação à CMC comercial, sugerindo a inserção de outros grupos

funcionais na cadeia do polímero, e então, o sucesso na modificação química sugerida. Além disso, foi possível verificar diferenças na estabilidade térmica das amostras funcionalizadas em relação à sua precursora, comportamento já esperado na literatura devido a inserção de novos grupos funcionais.

TABELA 1 – FAIXAS DE TEMPERATURA E OS RESPECTIVOS EVENTOS DE PERDA DE MASSA PARA CADA AMOSTRA

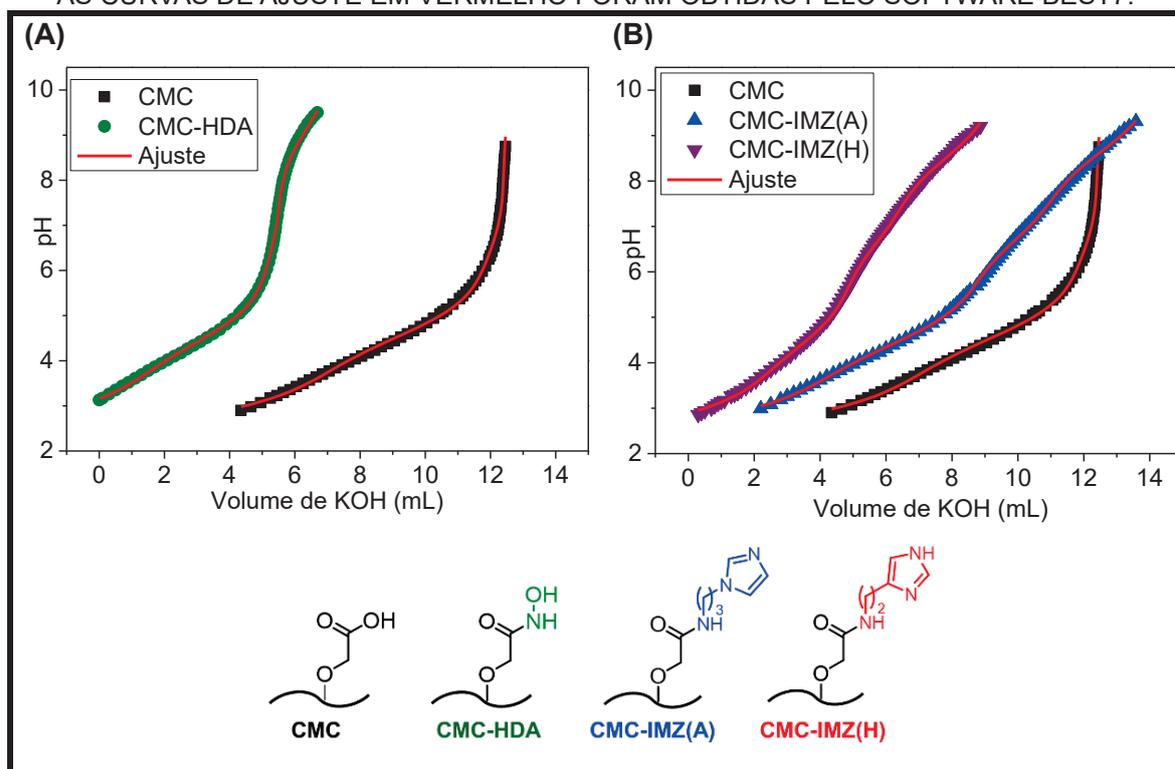
Amostra	Faixa de temperatura	Fenômenos de degradação	Perda de massa	Resíduo
CMC	70 °C a 190 °C	1) Água adsorvida.	2,4%	15,4% em 923°C
	190 °C a 500 °C	2) Descarboxilação de grupos oxigenados; e 3) Decomposição do esqueleto polimérico.	49,4%	
	500 °C a 738 °C	4) Oxidação do esqueleto restante.	21,1%	
	738 °C a 923 °C	5) Oxidação do esqueleto restante.	11,9%	
CMC-HDA	70 °C a 167 °C	1) Água adsorvida; e 2) Perda de grupos da funcionalização.	3,4%*	21,2% em 731°C
	167 °C a 486 °C	3) Perda de grupos oxigenados; e 4) Decomposição do esqueleto polimérico.	55,9% *	
	486 °C a 731 °C	5) Oxidação do esqueleto restante.	19,5%	
CMC-IMZ(A)	70 °C a 182 °C	1) Água adsorvida; e 2) Perda de grupos da funcionalização.	9,3%*	11,7% em 878°C
	182 °C a 500 °C	3) Perda de grupos oxigenados; e 4) Decomposição do esqueleto polimérico.	54,2% *	
	500 °C a 695 °C	5) Oxidação do esqueleto restante.	19,0%	
	695 °C a 878 °C	6) Oxidação do esqueleto restante.	5,8%	
CMC-IMZ(H)	70°C a 196 °C	1) Água adsorvida; e 2) Perda de grupos da funcionalização.	6,3%*	6,8% em 867°C
	196 °C a 376 °C	3) Perda de grupos oxigenados; e 4) Início da decomposição do esqueleto polímero.	55,85*	
	376 °C a 536 °C	4) Decomposição do esqueleto polimérico.	27,2% *	
	536 °C a 674 °C	5) Oxidação do esqueleto restante.	2,7%	
	674 °C a 867 °C	6) Oxidação do esqueleto restante.	1,3%	

* Houve *overlap* entre as perdas de massa

5.4 TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS

Como forma de entender e avaliar os equilíbrios ácido-base dos grupos ionizáveis nas amostras e também estimar o grau de funcionalização dos materiais funcionalizados, foram realizadas titulações potenciométricas. A FIGURA 25 ilustra os dados experimentais obtidos para cada uma das amostras.

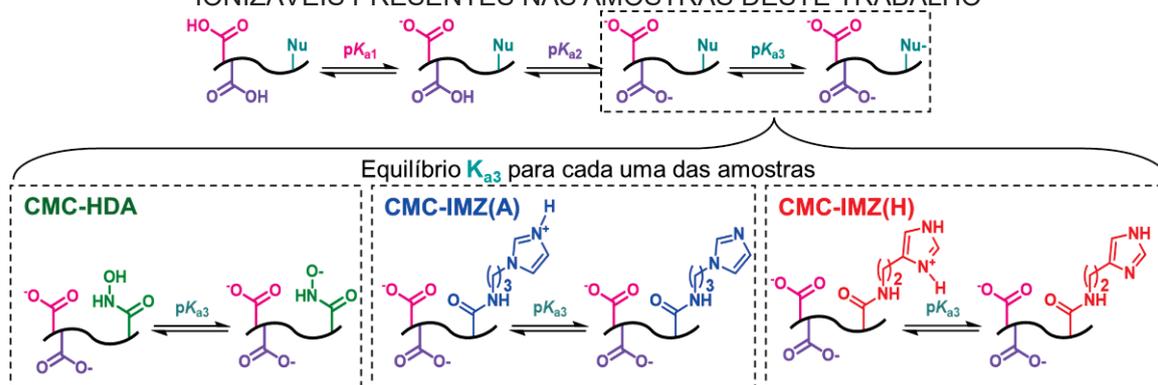
FIGURA 25 – CURVAS DE TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA COM KOH 0,01 mol L⁻¹ PARA AS AMOSTRAS (A) CMC E CMC-HDA E (B) CMC, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) DESTE TRABALHO. AS CURVAS DE AJUSTE EM VERMELHO FORAM OBTIDAS PELO SOFTWARE BEST7.



Fonte: Autor (2022)

A FIGURA 25 mostra, além das curvas de titulação, os ajustes obtidos por cálculos iterativos realizados no software BEST7 (linhas vermelhas), que permitem a estimativa dos valores de pK_a s dos grupos ionizáveis e suas quantidades mesmo em pequenas proporções, como já utilizado em outras moléculas e sistemas complexos¹¹². Foram propostos três equilíbrios ácido-base (FIGURA 26) para as amostras, onde os dois primeiros valores foram atribuídos a grupos ácidos carboxílicos presentes na CMC e o terceiro atribuído ao grupo nucleofílico ancorado (imidazol ou ácido hidroxâmico). Desse modo, os dados obtidos pelas análises das titulações potenciométricas estão presentes na TABELA 2.

FIGURA 26 – ESQUEMA DOS EQUILÍBRIOS ÁCIDO-BASE PROPOSTOS PARA OS GRUPOS IONIZÁVEIS PRESENTES NAS AMOSTRAS DESTES TRABALHOS



Fonte: Autor (2022)

TABELA 2 – VALORES DE pK_{a3} E QUANTIDADE DE GRUPOS IONIZÁVEIS OBTIDOS NOS AJUSTES DAS TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS

Amostra	pK_{a1} (COOH)	mmol g ⁻¹ de amostra (espécie 1)	pK_{a2} (COOH)	mmol g ⁻¹ de amostra (espécie 2)	pK_{a3} (Nu)	mmol g ⁻¹ de amostra (espécie 3)
CMC	4,53±0,06	3,71	6,55±0,06	0,46	Ausente	
CMC-HDA	4,47±0,03	1,79	6,46±0,03	0,19	8,94±0,03	0,59
CMC-IMZ(A)	4,45±0,04	2,25	6,67±0,04	1,12	8,63±0,04	1,41
CMC-IMZ(H)	4,44±0,04	1,13	6,59±0,04	0,71	8,50±0,04	1,20

Fonte: Autor (2022)

Os valores de pK_{a1-2} foram atribuídos à ácidos carboxílicos em todas as amostras e estão de acordo com a faixa esperada dessas espécies iônicas em outros materiais funcionalizados^{39,42,47}. Além disso, a determinação de dois valores de ácidos carboxílicos para as amostras é reflexo das elevadas quantidades destes grupos nos polímeros. A CMC de partida utilizada neste trabalho tem especificação de DS = 0,9 pelo fabricante e já foi verificada por método de retrotitulação no BIOPOL no trabalho de Jacumazo *et. al*¹¹³, cujo valor experimental obtido foi de DS = 0,84. Levando em consideração que a CMC possui unidades de anidroglicose substituídas por ácidos metil-carboxílicos, o valor de DS da amostra reflete em cerca de 23% (m/m) de grupos ácidos carboxílicos¹¹⁴. Já com os dados da titulação da CMC realizada neste trabalho, foram determinados 23,8% (m/m) desses grupos na amostra, com DS = 0,88, valores coerentes aos indicados pelo fabricante e pelo trabalho de Jacumazo *et. al*¹¹³.

Devido a quantidade de grupos ácidos ionizáveis, quando se processa a titulação, a desprotonação dos grupos ácidos carboxílicos (COOH) a grupos

carboxilatos (COO^-) acarreta em mudanças nas cargas de suas vizinhanças: o aumento de COO^- ocasiona o aumento da intensidade do campo elétrico e como consequência, há um aumento da concentração local de H^+ (*i.e.*, cargas positivas) próximas aos carboxilatos. Desse modo, o equilíbrio químico configurado por $\text{COOH} \leftrightarrow \text{COO}^- + \text{H}^+$ fica deslocado para a forma protonada. Em outras palavras, há estabilização da espécie protonada COOH , dificultando a ionização nas espécies COO^- e H^+ , resultando em espécies aparentemente menos ácidas (com maior valores de $\text{p}K_a$)⁶⁰. Esse comportamento já foi observado e discutido em outros trabalhos com carboximetilcelulose^{60,106,115} e pode ser usado para outros polímeros aniônicos em solução.

Assim, os valores de $\text{p}K_{a1-2}$ determinados pelo software nas amostras deste trabalho estão coerentes com a literatura^{60,106}, sendo que na faixa de desprotonação dos ácidos carboxílicos, a maioria dos grupos apresentou caráter mais ácido ($\text{p}K_{a1}$ médio entre 4,44 e 4,53) e uma menor quantidade apresentou-se como espécies menos ácidas ($\text{p}K_{a2}$ médio entre 6,46 e 6,67). A determinação dessas espécies nas amostras funcionalizadas indica a manutenção dos ácidos carboxílicos, reflexo de uma modificação apenas parcial destes em nucleófilos. Além disso, é possível analisar as quantidades de grupos referentes às espécies 1 e 2 (vide TABELA 2) e verificar que há uma diminuição desses grupos nas amostras funcionalizadas em relação à CMC precursora, indicando novamente a modificação parcial após a funcionalização.

Além disso, foram determinados valores de $\text{p}K_{a3}$ exclusivamente para as amostras funcionalizadas, um forte indicativo do sucesso na modificação química com os grupos nucleofílicos propostos. Para a amostra CMC-HDA, o valor de $\text{p}K_{a3} = 8,9$ é atribuído aos grupos ácidos hidroxâmicos e está de acordo com a literatura^{46,47,92,116}. Além disso, considerando a quantidade de grupos determinada para a espécie 3 nesta amostra, estima-se um grau de funcionalização de 23,1% de grupos ácidos carboxílicos convertidos a ácidos hidroxâmicos. Já para as amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), os valores de $\text{p}K_{a3}$ iguais a 8,6 e 8,5, respectivamente, são associados aos grupos imidazóis ancorados no polímero. Além disso, o ajuste das titulações revela um grau de funcionalização de 29,5% e 39,3% para as amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), respectivamente.

A grande diferença de $\text{p}K_a$ dos grupamentos imidazóis deste trabalho em comparação a molécula livre de imidazol (cujo $\text{p}K_a$ encontra-se em torno de 7),

pode ser justificada pelo ambiente químico em que esses imidazóis se encontram, uma vez que espécies vizinhas podem contribuir na estabilização da forma protonada do imidazol (conforme discutido acima). E de fato, para outros materiais do GCC funcionalizados com imidazol, a goma arábica e casca de arroz também apresentaram valores superiores de pK_a para o imidazol mesmo com baixo grau de funcionalização (em torno de 7,5)^{39,42}. Já para polímeros com maior grau de funcionalização e maior quantidade de grupos ionizáveis, onde entender as constantes de ionização é mais complexo, já foram determinados valores de pK_a mais elevados, como é o caso do polivinil-imidazol¹¹⁷, cujo pK_a é 8,25.

Dessa forma, as titulações potenciométricas permitiram: (i) propor e caracterizar os grupos ionizáveis presentes nas amostras; (ii) confirmar o grau de substituição DS na amostra CMC comercial; (iii) determinar valores adicionais de pK_a s nas amostras funcionalizadas coerentes com a literatura, indicando sucesso na ancoragem dos nucleófilos propostos e (iv) estimar o grau de modificação química dos polímeros deste trabalho.

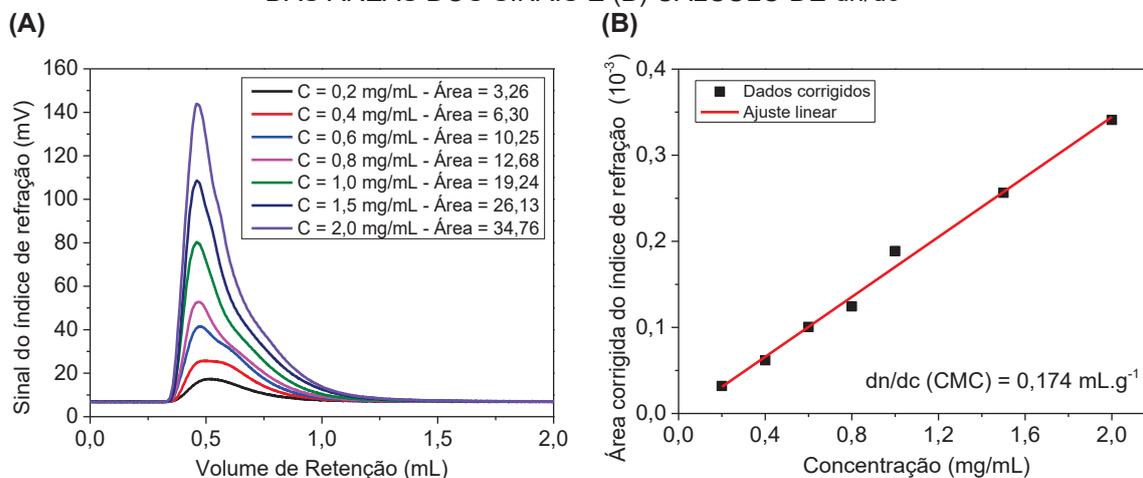
5.5 DETERMINAÇÃO DE INCREMENTO DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO (dn/dc)

Para realizar as análises por SEC, é necessário a informação do incremento de índice de refração devido a um incremento de concentração (dn/dc) do polímero estudado. Desse modo, foram utilizadas soluções de CMC de 0,2 a 2,0 mg mL⁻¹ em solvente NaNO₃ 0,1 mol L⁻¹ com 200 ppm de NaN₃, onde foi medida a área do sinal de índice de refração (conforme FIGURA 27A). Os valores de área foram corrigidos em relação à área do padrão PEO, que possui dn/dc e concentração conhecida, por meio de um fator de correção (FC calculado = $9,81 \times 10^{-3}$ mL⁻¹ L⁻¹). O dn/dc é dado pelo coeficiente angular do gráfico de sinal da área corrigido em relação ao padrão *versus* concentração, conforme mostra a FIGURA 27B.

Assim, foi determinado um valor experimental de $dn/dc = 0,174$ mL g⁻¹ para a amostra de CMC deste trabalho, comparável ao da literatura ($dn/dc = 0,163$ mL g⁻¹)¹¹⁸, com um desvio de 6,7%. Apesar de muitos trabalhos discutirem a independência do valor de dn/dc em relação a massa molar e de DS nesse solvente, pequenos desvios já foram reportados e podem ser atribuídos ao método de preparo do solvente e método de produção da CMC¹¹⁸⁻¹²¹. Desse modo, optou-se

por utilizar o valor obtido experimentalmente para as posteriores análises de SEC.

FIGURA 27 – DADOS OBTIDOS NA ANÁLISE DE ÍNDICE DE REFRAÇÃO: (A) DETERMINAÇÃO DAS ÁREAS DOS SINAIS E (B) CÁLCULO DE dn/dc



Fonte: Autor (2022)

5.6 CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO POR TAMANHO

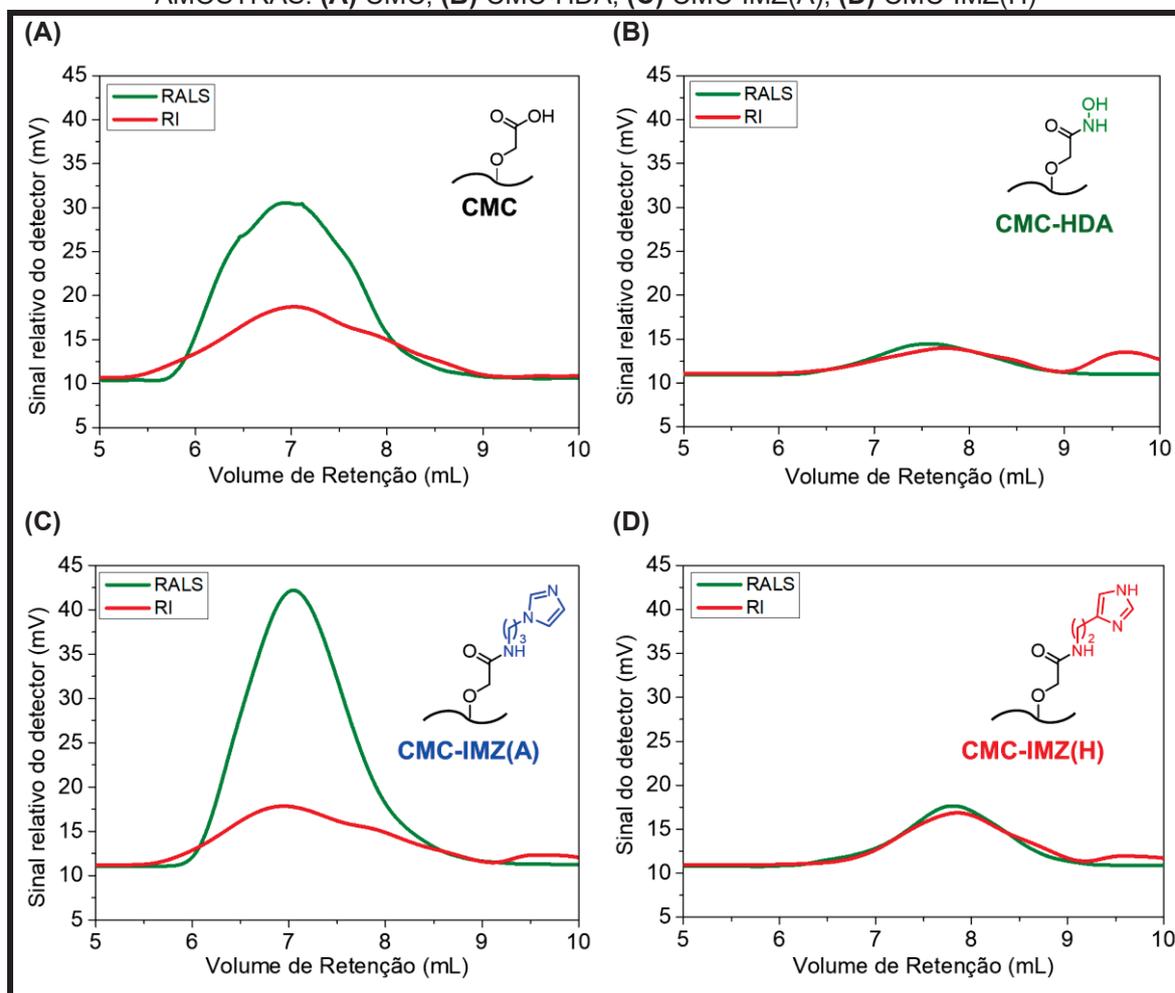
Os estudos por meio da técnica de SEC foram realizados para verificar informações de massa molar e dispersão através de detectores de índice de refração (RI) e espalhamento de luz laser a ângulos baixo (LALS) e reto (RALS). Os cromatogramas obtidos estão apresentados FIGURA 28 e os dados calculados para massa molar média ponderal (M_w), dispersão (\mathcal{D}), volume de retenção e recuperação estão organizados na TABELA 3.

A análise dos cromatogramas revela que todas as amostras apresentaram um evento de eluição principal com sinais alargados. Esse comportamento de eluição indica características de sistemas com \mathcal{D} (M_w/M_n) maior que 1, refletindo a existência de uma população polimérica com diferentes massas. Os valores de \mathcal{D} (vide TABELA 3) calculados a partir das massas molares corrobora o comportamento de eluição observado.

A massa molar determinada para a CMC comercial foi de $M_w = 218.000 \text{ g mol}^{-1}$, coerente com a especificação do fabricante ($M_w = 250.000 \text{ g mol}^{-1}$), com um desvio de 12,8%. Deve-se ressaltar que a técnica de SEC acoplada a multi-detectores possui alguns fatores que influenciam na análise (e.g., fonte e grau de substituição, preparo de amostra e tipo de fase móvel utilizada, valor de dn/dc), promovendo pequenos desvios entre os valores^{118,120,122,123}. Além disso, os valores de massa molar fornecidos pelos fabricantes de matérias primas são obtidos por

meio de outros métodos relativos de determinação de massa molar (e.g., viscosidade), o que pode aumentar o desvio em relação ao método utilizado neste trabalho.

FIGURA 28 – CROMATOGRAMAS DE EXCLUSÃO POR TAMANHO OBTIDOS PARA AS AMOSTRAS: (A) CMC, (B) CMC-HDA, (C) CMC-IMZ(A), (D) CMC-IMZ(H)



Fonte: Autor (2022)

TABELA 3 – PARÂMETROS MACROMOLECULARES OBTIDOS NA ANÁLISE DE SEC DAS AMOSTRAS

Amostra	M_w ($g\ mol^{-1}$)	Dispersão \bar{D} (M_w/M_n)	Volume de Retenção (mL)	Recuperação (%)
CMC	218.000	2,8	7,5	68,6
CMC-HDA	142.000	3,2	8,4	21,0
CMC-IMZ(A)	358.000	3,1	7,4	55,1
CMC-IMZ(H)	110.000	2,6	8,3	37,0

FONTE: Autor (2022)

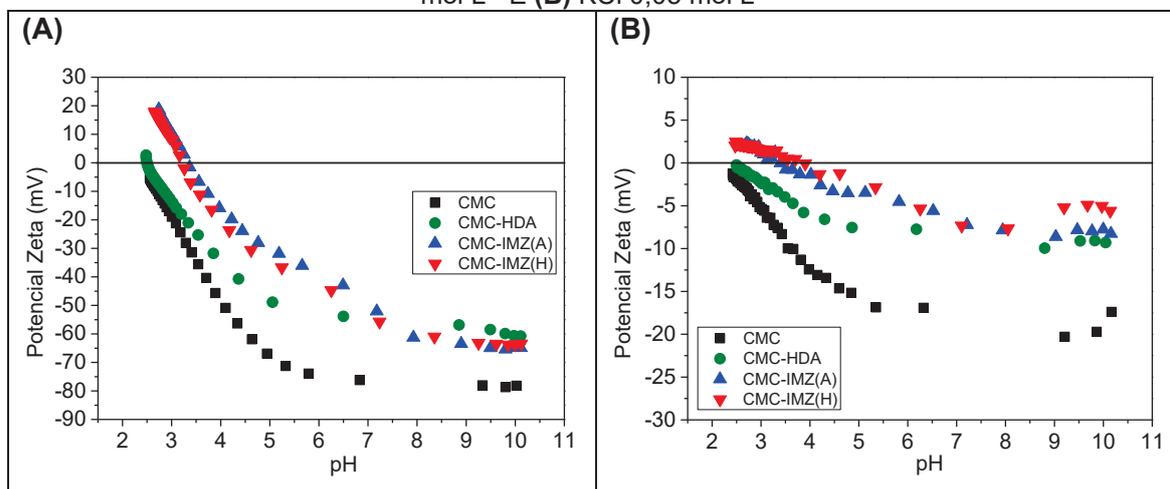
Analisando o valor de M_w determinado e o volume de retenção para as amostras funcionalizadas, também é possível notar algumas diferenças quando comparadas à CMC. As amostras CMC e CMC-IMZ(A) apresentaram maiores valores de M_w e menores volumes de retenção quando comparadas à CMC-HDA e CMC-IMZ(H). Como durante as sínteses realizadas foram empregados métodos brandos de reação (pH próximo ao neutro e temperatura ambiente), possíveis reações de despolimerização foram descartadas e a diferença entre esses valores foi atribuído ao estado de agregação das amostras e a filtração no preparo de amostra, também corroborados pela porcentagem de recuperação. Para a amostra CMC-IMZ(A), durante a filtração, os agregados passaram pelo filtro e foram detectados por SEC, resultando em maiores valores de M_w e porcentagem de recuperação. Já para as amostras CMC-HDA e CMC-IMZ(H), durante a filtração, os agregados foram retidos pelo filtro, passando apenas as cadeias de menores massas molares que foram detectadas pelo SEC, diminuindo o valor de M_w e a porcentagem de recuperação. O comportamento de agregação dos materiais foi investigado e caracterizado por outras técnicas, como as titulações de potencial zeta.

5.7 TITULAÇÕES DE POTENCIAL ZETA

Como forma de entender a estabilidade coloidal das amostras, assim como obter algumas informações sobre o seu estado de agregação, foram realizadas titulações de potencial zeta. De uma forma geral, os polímeros em solução são considerados dispersões coloidais e apresentam cargas elétricas superficiais. Assim, quando há cargas elétricas de mesma natureza, há então um fenômeno de repulsão que mantém as cadeias poliméricas afastadas e então o coloide apresenta estabilidade. A delimitação da interface e do plano hidrodinâmico de cisalhamento devem ser analisadas com cautela em dispersões coloidais poliméricas, e assim, as medidas de potencial zeta devem ser avaliadas de forma mais qualitativa que quantitativa. Caso haja cargas elétricas opostas, o sistema estará sujeito a forças de atração que culminam na formação de agregados. Uma vez que as cargas elétricas em solução também afetam a medida de potencial zeta, as titulações deste trabalho foram realizadas com um *background* de força iônica de KCl 0,01 mol L⁻¹ e KCl 0,05 mol L⁻¹ para avaliar o efeito de sal na estabilidade coloidal do polímero.

As titulações de potencial zeta das amostras deste trabalho estão apresentadas na FIGURA 29.

FIGURA 29 – TITULAÇÕES DE POTENCIAL ZETA COM KOH 0,0750 mol L⁻¹ PARA AS AMOSTRAS CMC, CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) DESTE TRABALHO EM: (A) KCl 0,01 mol L⁻¹ E (B) KCl 0,05 mol L⁻¹



Fonte: Autor (2022)

As titulações realizadas em KCl 0,01 mol L⁻¹ estão apresentadas na FIGURA 29A. É possível verificar que o potencial zeta é negativo na maioria da faixa de pH analisada para todas as amostras, reflexo das formas desprotonadas das espécies iônicas. Ainda, é consenso na literatura que um potencial de pelo menos ± 30 mV reflete estabilidade coloidal de um sistema. Desse modo, vemos que a amostra CMC é a amostra mais estável de todas, com potencial zeta ~ -80 mV entre pH 6,0 e pH 10,0 e encontra-se dentro desse critério de estabilidade até aproximadamente pH 3,5. Já as amostras funcionalizadas apresentam valores de potencial zeta mais positivos em relação à CMC, conforme esperado na literatura, uma vez que são inseridos grupos ácidos hidroxâmicos e imidazóis que apresentam seus próprios equilíbrios ácido-base que refletem na estabilidade coloidal e nas cargas elétricas⁴⁷. No entanto, todas as amostras modificadas encontram-se dentro do critério de estabilidade coloidal na faixa de pH entre 4,5 e 10,0 (faixa que abrange as condições de uso das amostras neste trabalho e também o seu armazenamento em torno de pH 7,0).

Por outro lado, na FIGURA 29B estão apresentadas as titulações realizadas alterando a força iônica do meio com KCl 0,05 mol L⁻¹. O principal aspecto observado é a diminuição da estabilidade coloidal das amostras, com todas apresentando potencial zeta superior a -30 mV em toda a faixa de pH analisada.

Esse comportamento é observado pois quando a força iônica do meio aumenta, há a diminuição da camada difusa de íons em torno do polímero, fazendo com que o potencial zeta também seja afetado.

Além disso, é possível verificar que em ambas as concentrações de eletrólitos onde as titulações foram realizadas, os valores de ponto isoelétrico coincidiram: em torno de pH 2,5 para as amostras CMC e CMC-HDA e em torno de 3,5 para as amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H). Outros trabalhos da literatura revelaram que o ponto isoelétrico de biopolímeros tende a diminuir com o aumento de força iônica^{124,125}. O fato desse comportamento não ter sido constatado para as amostras desse trabalho indica que a mudança de força iônica do meio de 0,01 mol L⁻¹ para 0,05 mol L⁻¹ não foi suficiente para que o fenômeno seja observado, resultado também coerente com a literatura quando as alterações de força iônica são pequenas¹²⁵.

Por fim, as análises de potencial zeta revelaram informações sobre a estabilidade coloidal e indícios sobre a agregação das amostras. Além disso, as titulações de potencial zeta realizadas em KCl 0,05 mol L⁻¹ apresentaram valores superiores a -30 mV em toda a faixa de pH analisada, indicando o favorecimento da formação de agregados, corroborando com os dados de SEC, onde a fase móvel utilizada possui o dobro da concentração salina.

5.8 TESTE COLORIMÉTRICO DE COMPLEXAÇÃO COM FERRO(III)

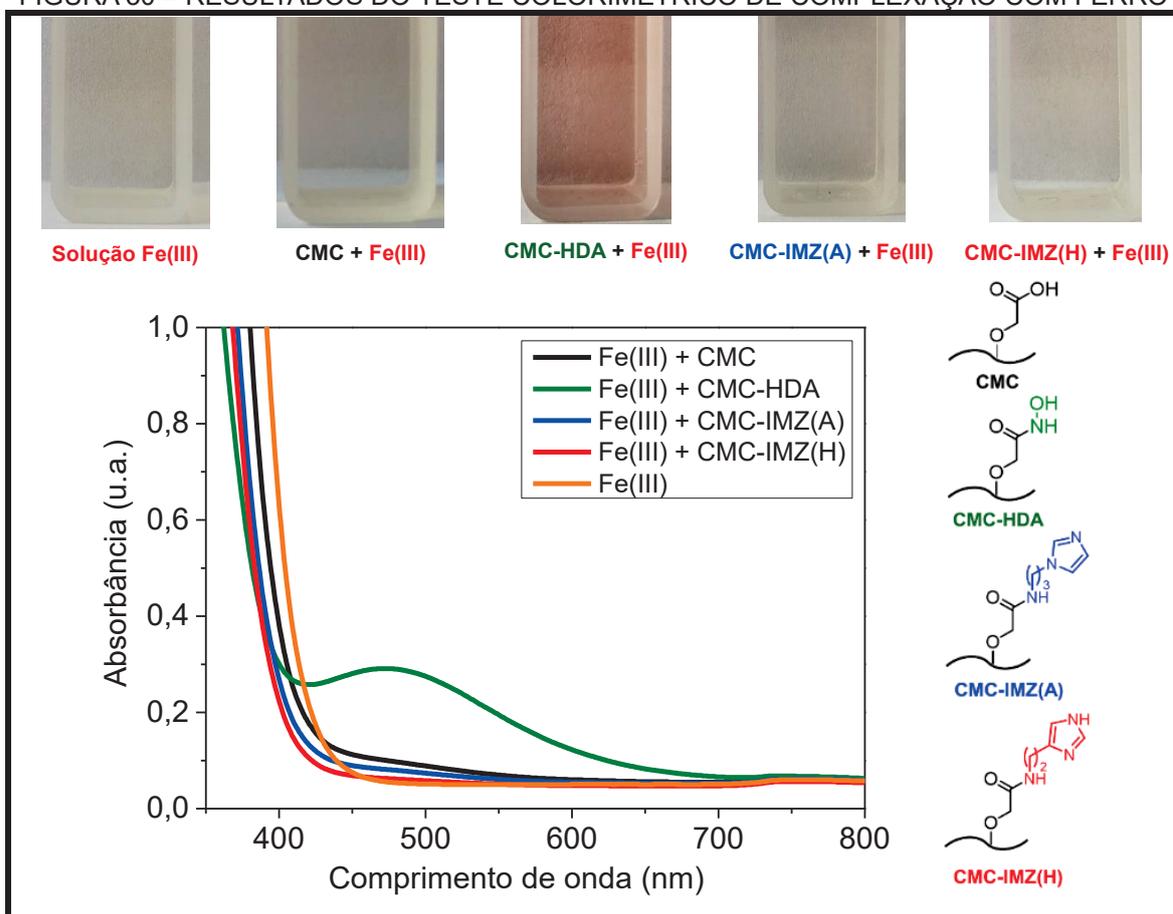
Os grupos ácidos hidroxâmicos são conhecidos na literatura como agentes sideróforos, ou seja, possuem habilidades de complexação de ferro (principalmente o ferro III)^{84,88}. Uma vez que esses complexos causam alteração na coloração de solução, eles podem ser utilizados em nosso estudo como um indicativo complementar da presença de ácidos hidroxâmicos⁸⁸. Desse modo, para todas as amostras funcionalizadas (CMC-HDA, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H)), foi realizado um teste colorimétrico qualitativo para a complexação com Fe(III) de acordo com o sugerido na metodologia. Foram utilizadas como amostras de controle: (1) solução de Fe(III) sem amostra e (2) solução de Fe(III) com CMC. As imagens do ensaio e os espectros de UV-Vis estão apresentados na FIGURA 30.

Após a adição de solução de cloreto férrico (conforme observado na FIGURA 30), a amostra CMC-HDA apresentou a mudança de coloração para uma

solução avermelhada, indicando a complexação do Fe(III) pelos grupos ácidos hidroxâmicos, refletindo o sucesso da funcionalização química com o grupo proposto. Além disso, pela análise do espectro UV-VIS, é possível verificar uma banda em torno de 472 nm, referente ao complexo formado, também coerente a outros trabalhos na literatura⁸⁸.

Já as amostras CMC, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H) não apresentaram mudança de coloração após a adição da solução de cloreto férrico, comportamento já esperado uma vez que os grupos ácidos carboxílicos do material de partida e os derivados de imidazol utilizados como funcionalizantes não promovem a formação do complexo em questão.

FIGURA 30 – RESULTADOS DO TESTE COLORIMÉTRICO DE COMPLEXAÇÃO COM FERRO



Fonte: Autor (2022)

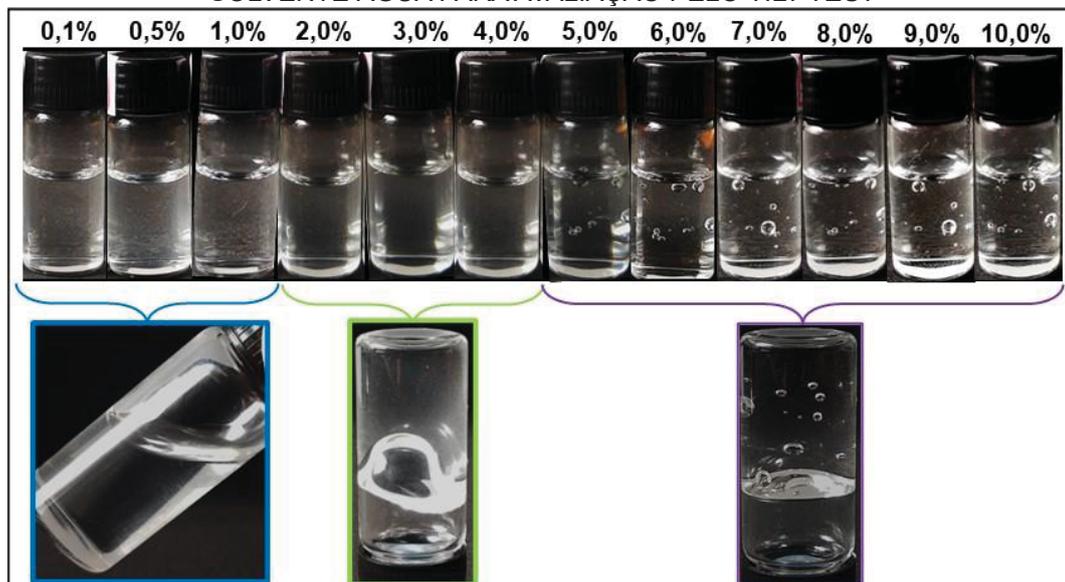
5.9 ENSAIOS DE REOLOGIA PARA CMC COMERCIAL

5.9.1 *Tilt-test* com amostras de CMC comercial

O *tilt-test* foi utilizado como um teste macroscópico qualitativo para avaliar a possibilidade de formular géis de CMC, avaliando visualmente a viscosidade das amostras. Assim, foram preparadas soluções de CMC em uma faixa de concentração entre 0,1% e 10,0% (m m^{-1}), conforme ilustra a FIGURA 31.

Todas as amostras de CMC preparadas revelaram aspecto de translucidez e concentrações acima de 5,0% apresentaram bolhas de ar presas na estrutura física gelificada. As amostras de 0,1% a 4,0% foram preparadas com adição de polímero na água sob agitação magnética e quando necessário, leve aquecimento à 60 °C em banho térmico. As amostras de 5,0% a 10,0% foram preparadas inicialmente sob agitação magnética e aquecimento à 60 °C, mas devido ao aumento da viscosidade, foram finalizadas com agitação mecânica com auxílio de uma espátula.

FIGURA 31 – PREPARO DE AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES EM SOLVENTE ÁGUA PARA AVALIAÇÃO PELO *TILT-TEST*



Fonte: Autor (2021)

O *tilt-test* revelou que as amostras com concentração de CMC até 1,0% apresentaram mudanças quase imperceptíveis na viscosidade, sendo esta observada apenas pelo escoamento ligeiramente menos rápido da solução nas paredes do recipiente. A partir de 2,0%, as amostras tornaram-se visualmente mais viscosas embora ainda com rápido escoamento quando inclinadas. Em

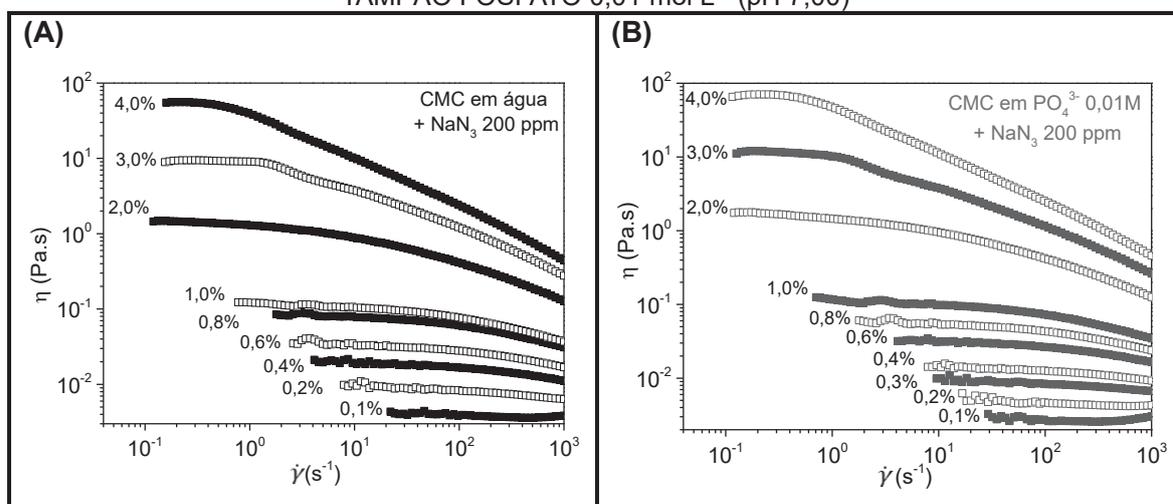
concentrações entre 3,0% e 5,0%, foi possível inverter o frasco e visualizar o escoamento mais lento pelas paredes do recipiente. Em concentrações acima de 6,0%, foi possível inverter os recipientes, deixando-os por vários minutos, sem observar o escoamento das amostras.

Desse modo, os ensaios realizados evidenciaram a viabilidade de formular géis de CMC sem a ajuda de outros adjuvantes, como cálcio, possibilitando uma ideia da faixa de concentração adequada. Foram preparadas as mesmas concentrações de CMC em meio aquoso de tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ + NaN₃ 200 ppm ajustado previamente em pH 7,00, mas os resultados do *tilt-test* foram semelhantes, sugerindo que pequenas concentrações de tampão não influenciam na viscosidade dessas soluções de CMC.

5.9.2 Ensaios Rotacionais com CMC: curvas de fluxo em função da concentração de polímero e efeito de solvente

Os ensaios de viscosidade foram realizados utilizando diversas concentrações de CMC e analisando o comportamento da viscosidade em função da taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$). Foram também analisados dois solventes: (i) água + NaN₃ 200 ppm e (ii) tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹ em pH 7,00 + NaN₃ 200 ppm para avaliar o efeito de pequenas concentrações de tampão na viscosidade das amostras (vide FIGURA 32).

FIGURA 32 – CURVAS DE FLUXO PARA AS SOLUÇÕES DE CMC À 25°C EM: (A) ÁGUA E (B) TAMPÃO FOSFATO 0,01 mol L⁻¹ (pH 7,00)

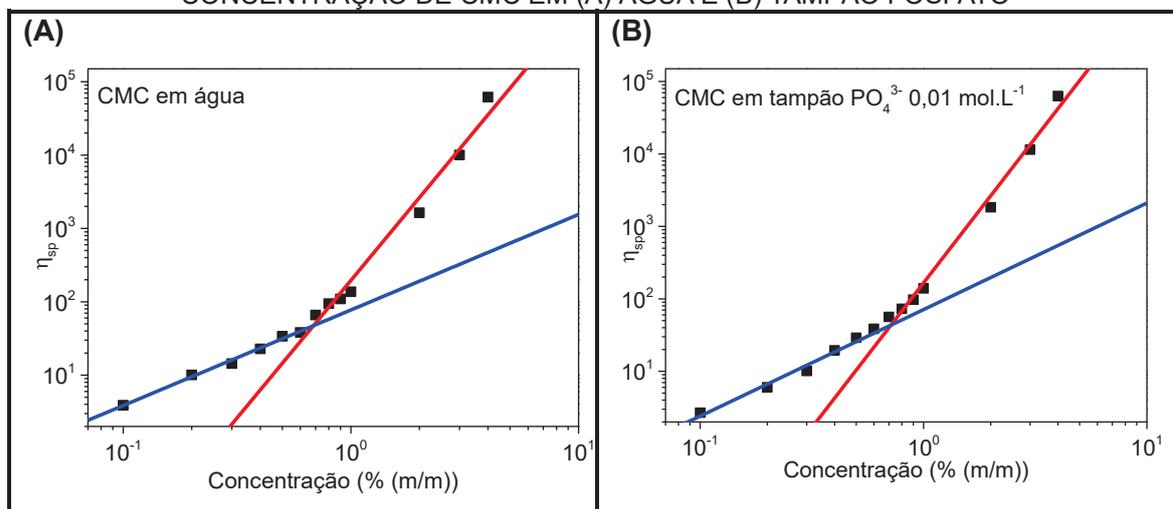


FONTE: Autor (2022)

Os dados obtidos, apresentados na FIGURA 32, revelam o comportamento de fluido Newtoniano apresentado pelas amostras em baixas concentrações de polímero para ambos os solventes (0,1% em água e até 0,2% em meio tamponado), caracterizado pela viscosidade constante em função da taxa de cisalhamento aplicada. No entanto, em soluções de concentrações a partir de 0,2% em solvente água e 0,3% em solvente tamponado, é observado um comportamento de pseudoplasticidade em maiores taxas de cisalhamento para cada concentração de CMC, identificado pela queda da viscosidade nessas regiões. Ainda, para as maiores concentrações, o comportamento de pseudoplasticidade se iniciou à menores taxas de cisalhamento quando comparadas às soluções menos concentradas.

Com base nos dados apresentados na FIGURA 32, também foi possível calcular e analisar a viscosidade específica ($\eta_{sp} = (\eta_0 - \eta_s) / \eta_s$) em função das concentrações das soluções e géis de CMC nos solventes propostos, utilizando η_0 como a viscosidade na mais baixa taxa de cisalhamento medida e η_s como viscosidade do solvente ($\eta(\text{H}_2\text{O}) = 0,89 \text{ mPa s à } 25 \text{ }^\circ\text{C}$)¹²⁶. Os gráficos obtidos estão apresentados na FIGURA 33.

FIGURA 33 – GRÁFICOS OBTIDOS DE VISCOSIDADE ESPECÍFICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CMC EM (A) ÁGUA E (B) TAMPÃO FOSFATO



FONTE: Autor (2021)

De acordo com os gráficos e dados representados na FIGURA 33 e TABELA 4, é possível verificar que há uma mudança na inclinação da reta que relaciona a viscosidade específica com a concentração de CMC, tanto em água como em meio tamponado. Em ambos os solventes essa mudança de inclinação

ocorre em uma concentração estimada de 0,6%, na qual há mudança do regime conformacional das cadeias do polímero e sua relação com o solvente. Isso indica que em concentrações acima de 0,6%, há um maior aumento da viscosidade das soluções em relação a concentração de polímero.

TABELA 4 – DADOS DE COEFICIENTE ANGULAR OBTIDOS PARA AS CURVAS DE VISCOSIDADE ESPECÍFICA EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO

Solvente	Coeficiente angular da curva em azul	Coeficiente angular da curva em vermelho
Água	1,3±0,1	3,8±0,2
Solução-tampão fosfato	1,5±0,1	4,0±0,2

FONTE: Autor (2021)

Os dados dos coeficientes angulares das curvas (disponível na TABELA 4) possibilitam também acessar informações importantes pois revelam aspectos do entrelaçamento de um polieletrólito em solução em diferentes regimes de concentração por meio de leis de potência (mais comum no inglês, *power laws*).

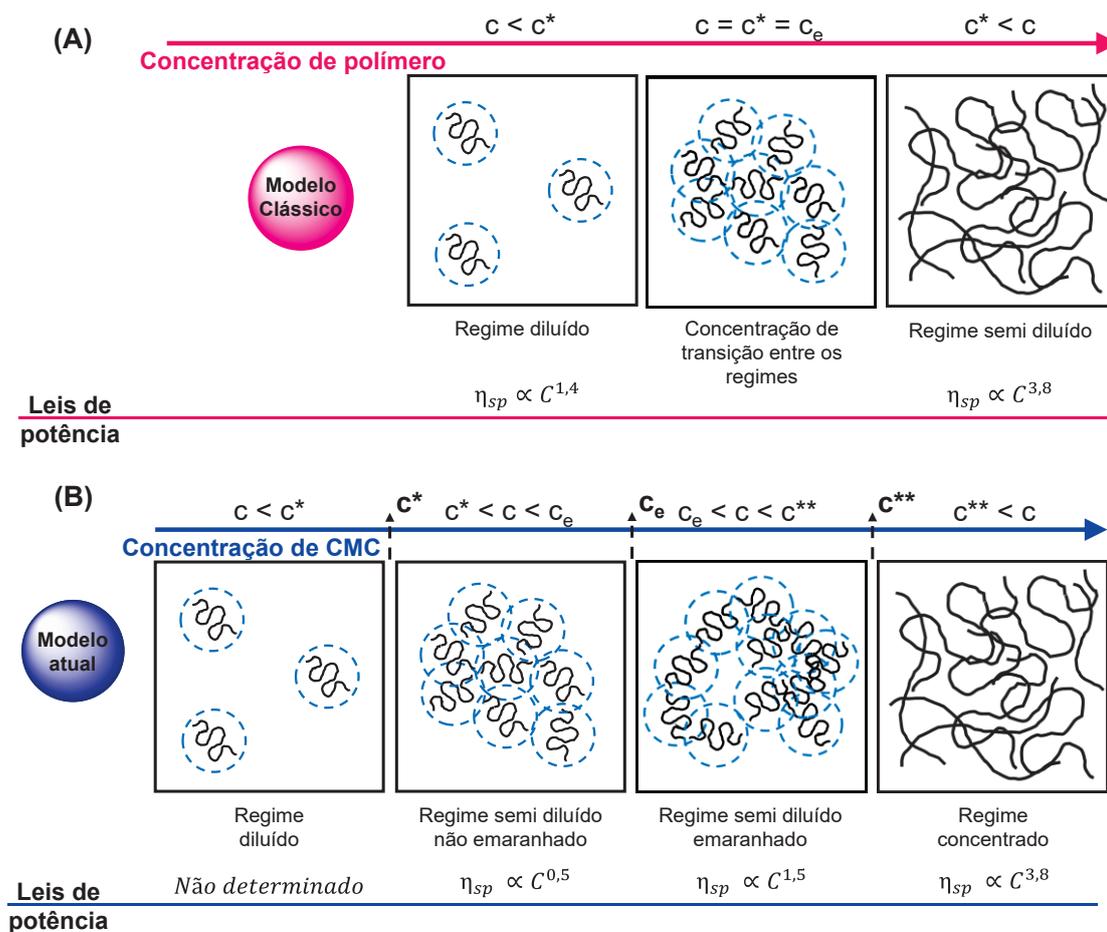
Conforme ilustra a FIGURA 34, as soluções de polieletrólitos (incluindo a CMC) passam por diversos regimes de concentração^{121,127,128}, onde suas cadeias em solução podem ser representadas por círculos chamados “blobs” e seu comportamento pode ser descrito por leis de potência. Tais leis estão estabelecidas, mas há pequenas divergências nas teorias e nomenclaturas clássicas e recentes^{121,127-131}.

As teorias mais clássicas (conforme FIGURA 34A) fazem a previsão de três regimes de concentração¹³⁰⁻¹³²: (i) no regime diluído, abaixo da concentração de *overlap* (c^*), esses *blobs* estão completamente separados, mostrando que não há percolação entre as cadeias do polímero; quando a concentração é igual a c^* , podemos dizer que há uma concentração de transição (c_e) entre o regime diluído e semi diluído, sem que os emaranhamentos se iniciem; em seguida, há (ii) um regime semi diluído emaranhado onde as cadeias de polímero percolam umas nas outras, formando redes puramente físicas. E por último, (iii) há um regime concentrado previsto (não representado na FIGURA 34A), mas dificilmente acessado por se tratar de concentrações elevadas de polímero onde o solvente não consegue solubilizar e inchar as cadeias poliméricas.

No entanto, modelos mais recentes envolvendo a CMC (FIGURA 34B) trazem outras nomenclaturas e também fazem a previsão desses regimes de

concentração^{121,128,133}. Nas soluções de menor concentração, abaixo da concentração de *overlap* (c^*), há um regime diluído, onde esses *blobs* estão completamente separados. Conforme há aumento da concentração de CMC, em quantidades superiores à c^* , a solução passa para um regime semidiluído não emaranhado, onde começam as sobreposições desses *blobs*, mas sem ocorrer emaranhamento entre as cadeias. O emaranhamento no regime semidiluído começa a ocorrer somente quando a concentração é superior à concentração de emaranhamento (c_e), onde já se iniciam as formações das redes físicas entre as cadeias do polímero. Então, prosseguindo com o aumento da concentração de polímero, a solução passa então do regime semidiluído para o concentrado: em soluções acima da concentração crítica c^{**} , o emaranhamento das cadeias de polímero é mais intenso.

FIGURA 34 – REGIMES DE CONCENTRAÇÃO DA CMC EM FUNÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE POLÍMERO E VISCOSIDADE



Fonte: Autor (2022)

A principal diferença entre a abordagem dos modelos reside no emaranhamento das cadeias poliméricas: no modelo clássico, a c_e é fixa e igual à concentração de *overlap* entre os regimes diluído e semidiluído. Já para o modelo mais recente da CMC, foi possível verificar uma faixa de concentração onde ocorre um regime semidiluído não-emaranhado ou emaranhado com determinação de uma c_e , justificada também pela obtenção de leis de potência distintas. Essa diferença pode estar relacionada às características de dispersão da CMC: devido a elevada dispersão da amostra (conforme verificado na análise de SEC), a concentração de polímero para promover uma viscosidade adequada para o sistema se encaixar nas leis pode variar devido à presença de cadeias de diferentes massas molares. Apesar dessa característica, os estudos de diferentes amostras de CMC, com diferentes M_w ou DS apresentaram os mesmos regimes de concentração propostos.

A outra diferença reside no acesso ou não do regime concentrado. No modelo mais atual de regimes de concentração da CMC, os autores utilizam a nomenclatura de regime concentrado para as concentrações descritas pela lei de potência $\eta_{sp} \propto C^{3,8}$, pois há claramente uma mudança no comportamento de viscosidade das amostras. No entanto, os próprios autores reconhecem que o acesso ao regime concentrado de polieletrólitos ainda não é consenso e ainda questionado em literatura¹²⁸. Desse modo, optou-se pela abordagem da nomenclatura clássica para a análise dos dados obtidos.

Analisando os valores de coeficientes angulares das retas calculados na TABELA 4, podemos relacioná-los aos regimes de concentração presentes na FIGURA 34A. Por exemplo, as inclinações das retas em azul foram determinadas como 1,3 em água e 1,5 em tampão fosfato e estão coerentes com o valor de 1,5 para CMC em um regime conformacional diluído^{121,127,128,133} descrito pela lei das potências $\eta_{sp} \propto C^{1,5}$. Nestas condições de concentração, não há emaranhamento das cadeias poliméricas em solução. Já para as curvas em vermelho, cujas inclinações são de 3,8 em água e 4,0 em tampão, os valores estão coerentes a um regime semi diluído, cujo valor é 3,8 segundo a lei das potências $\eta_{sp} \propto C^{3,8}$ proposto em literatura^{121,127,128}. Aqui, há percolação entre as cadeias poliméricas e os resultados, para ambos os solventes, demonstram que uma cadeia polimérica interage apenas fisicamente nos pontos de junção.

Desse modo, o comportamento das amostras em ambos os solventes foi

semelhante, indicando que não há efeito da concentração do tampão utilizado (PO_4^{3-} 0,01 mol L⁻¹ em pH 7,00) na viscosidade das amostras na faixa de concentração de polímero analisada. No entanto, o controle da concentração dos eletrólitos presentes é importante para o manuseio da CMC em solução, uma vez que as titulações de potencial zeta e análises de SEC mostraram que com o aumento da força iônica do meio (*i.e.*, aumento da concentração salina), as amostras tendem a perder estabilidade coloidal e formar agregados.

Em resumo, os dados obtidos nos ensaios preliminares de reologia permitiram observar e entender alguns aspectos conformacionais do polieletrólito e sua influência na viscosidade, tanto em solvente aquoso como em solvente aquoso tamponado. Esses aspectos encorajam a formulação dos biocatalisadores derivados de CMC deste trabalho também na forma de gel, uma vez que as soluções concentradas são viscosas, promovendo uma rede física gelificada. Além disso, o controle do pH (utilizando solvente tamponado) viabiliza também a aplicação desses géis em sistemas biológicos, visando aplicação tópica, por exemplo.

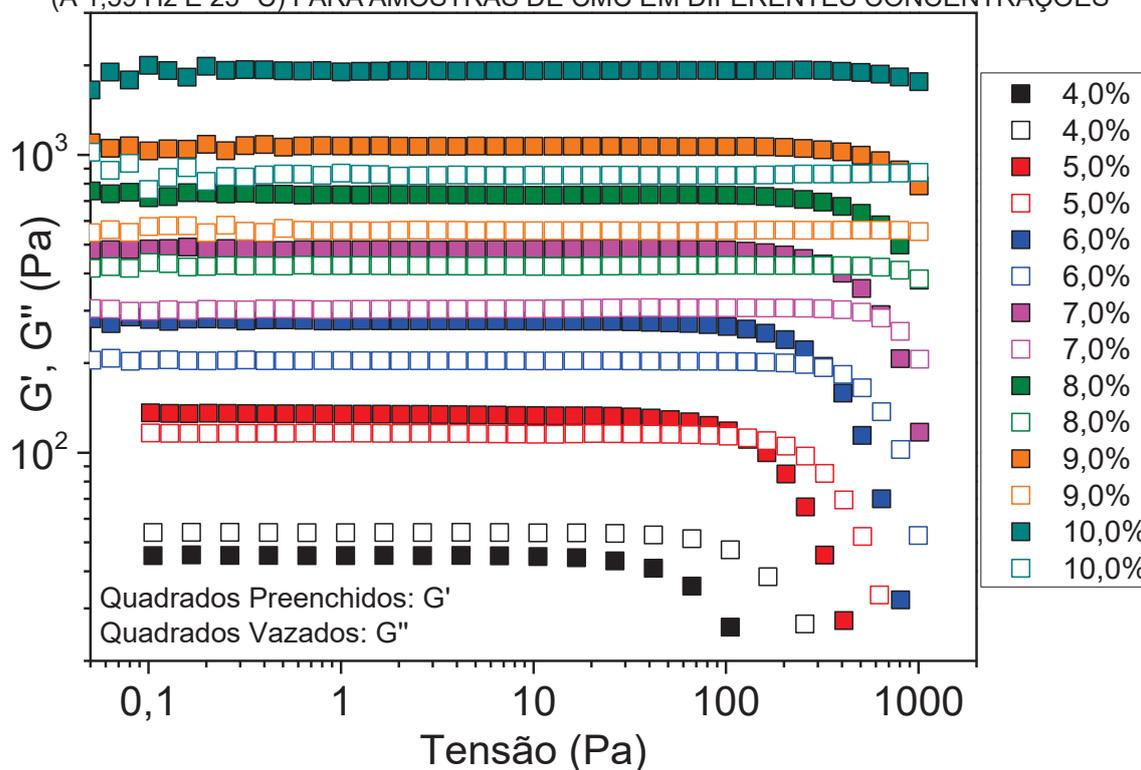
5.9.3 Ensaios dinâmico-oscilatórios com CMC: avaliação dos módulos elástico (G') e viscoso (G'') em função da tensão de cisalhamento e frequência

De acordo com os ensaios e análises anteriores, foi possível entender alguns comportamentos das soluções de CMC. Por meio dos ensaios de *tilt-test*, foi possível verificar que soluções de CMC a partir de 3,0% (m m⁻¹) apresentam aumento na viscosidade e visualmente demoram a escoar. Já pelas análises das curvas de fluxo, foi possível verificar que, tanto em solvente aquoso ou aquoso tamponado, o aumento da concentração de CMC nas soluções promove a percolação totalmente física das cadeias poliméricas. Logo, como o objetivo do trabalho é formular um gel utilizando a CMC como matriz, ensaios dinâmico-oscilatórios foram realizados em soluções mais concentradas de CMC, para verificar seu comportamento reológico e caracterizar o material.

Desse modo, inicialmente foram avaliados os módulos G' e G'' em função da tensão de cisalhamento aplicada, em ensaios de amplitude, de forma a determinar a região viscoelástica linear. O módulo G' , também chamado de módulo elástico ou de armazenamento, reflete o comportamento sólido do material;

enquanto o módulo G'' , também chamado de módulo viscoso ou de perda, reflete a característica do material enquanto sólido. A região viscoelástica linear é dada pela faixa onde os módulos G' e G'' são constantes em função da tensão de cisalhamento ou da deformação aplicada. Os gráficos de varredura de tensão de cisalhamento para amostras de CMC entre 4,0% e 10,0% (m m^{-1}) realizados a 1 Hz estão apresentados na FIGURA 35, onde os módulos G' e G'' são representados por quadrados preenchidos e vazados, respectivamente.

FIGURA 35 – GRÁFICOS DE VARREDURA DE AMPLITUDE DE TENSÃO DE CISCALHAMENTO (À 1,59 Hz E 25 °C) PARA AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES



Fonte: Autor (2022)

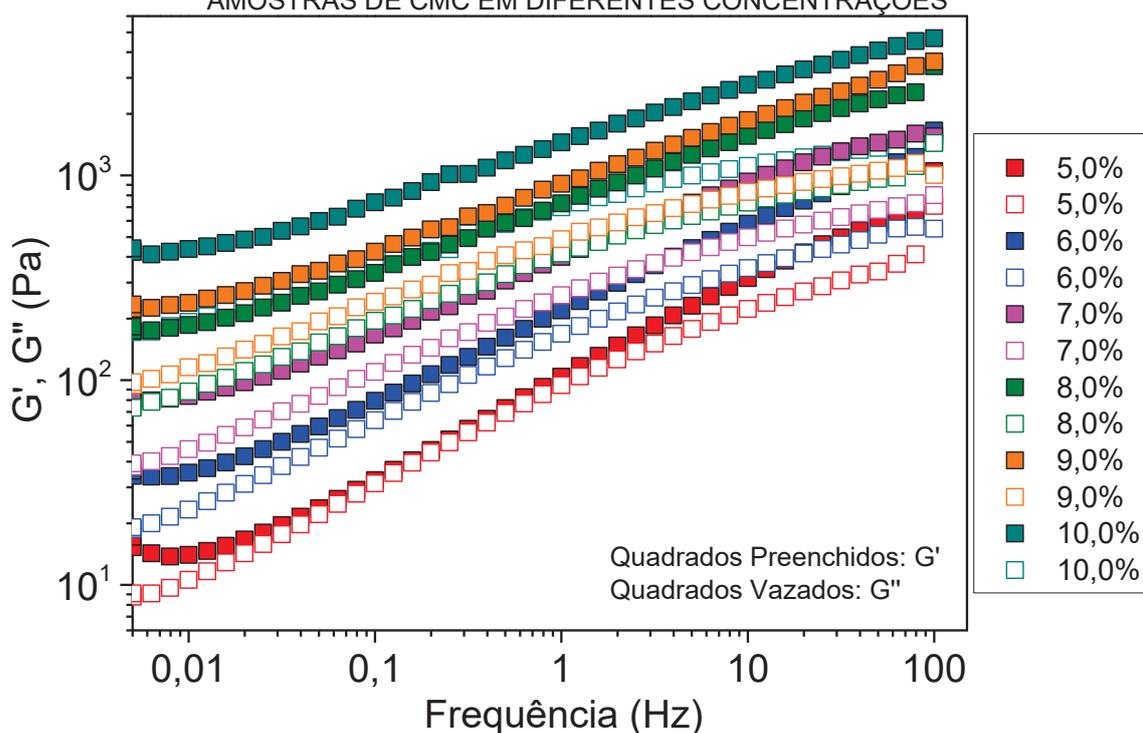
Os dados do gráfico da FIGURA 35 revelam que todas as concentrações de amostra possuem uma faixa viscoelástica linear, ou seja, faixas de amplitude de tensão onde os módulos G' e G'' são constantes. Para a amostra de CMC 4,0%, é possível verificar que $G'' > G'$ em toda a faixa de tensão aplicada, revelando que esta amostra possui comportamento mais próximo ao de um líquido viscoelástico, uma vez que a viscosidade da solução é visualmente elevada (pelo *tilt-test*). Já para as amostras de CMC 5,0% a 10,0%, é verificado $G' > G''$ em toda a faixa viscoelástica linear, revelando que estas amostras possuem comportamento mais semelhante ao de um sólido viscoelástico. Logo, soluções de CMC com

concentrações superiores a 5,0% atendem o critério de $G' > G''$ sugerido na metodologia.

Outro aspecto que pode ser verificado também a partir do gráfico é a tensão de ruptura, ou seja, a tensão crítica aplicada onde é destruída a estrutura física da amostra. Essa tensão é caracterizada pela queda dos módulos G' e G'' conforme a amplitude da tensão aumenta. Assim, analisando as amostras, é possível verificar que o valor da tensão de ruptura cresce gradualmente conforme a concentração de CMC aumenta, variando de aproximadamente 100 Pa para a CMC 5,0% até perto de 1000 Pa para a amostra CMC 10,0%. Esses resultados revelam que conforme há um incremento na concentração do polímero há formação de redes físicas mais fortes, ou seja, necessitam uma maior tensão aplicada para que se rompam e para que ocorra o fluxo viscoso.

Uma vez determinada a faixa viscoelástica linear das diferentes concentrações de CMC, os módulos G' e G'' foram novamente avaliados, mas dessa vez em uma varredura de frequência, utilizando arbitrariamente 1 Pa de tensão de cisalhamento no sistema (valor dentro da faixa viscoelástica linear determinada). Os gráficos de varredura de frequência estão apresentados na FIGURA 36.

FIGURA 36 – GRÁFICOS DE VARREDURA DE FREQUÊNCIA (À 1 Pa E 25 °C) PARA AMOSTRAS DE CMC EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES



Fonte: Autor (2022)

Os dados do gráfico da FIGURA 36 revelam uma dependência dos módulos G' e G'' em função da frequência, com a diminuição destes módulos em regiões de baixa frequência. No entanto, foi verificado o comportamento de $G' > G''$ em toda a faixa de frequência analisada, sem pontos de *crossing* entre os dois módulos. Possíveis influências do *gap* da geometria nas análises foram avaliados e descartados (conforme mostra Figura 2 do Apêndice).

Com os ensaios reológicos dinâmico-oscilatórios, é possível entender e caracterizar o comportamento de soluções coloidais concentradas, e viscosas, de CMC. Ainda não há um consenso universal na literatura sobre a definição ou características específicas para um sistema ser considerado um gel. Uma vez que a definição também inclui o fator visual e sensorial em conta (como o não-escoamento), o termo “gel” é utilizado indiscriminadamente (principalmente na indústria) e discussões a respeito dessa prática já foram discutidas em outros trabalhos^{68,69}. Há trabalhos que, além do aspecto visual e sensorial, também consideram os ensaios de reologia e caracterizam um sistema gelificado quando há módulo $G' > G''$ na faixa viscoelástica linear da varredura de amplitude de tensão⁷⁰ (como acontece no gráfico da FIGURA 35 deste trabalho). No entanto, é possível ser ainda mais criterioso na definição e incluir as varreduras de frequências para a caracterização de um sistema gelificado, o gel é um sistema que apresenta módulo $G' > G''$ e os valores dos módulos não se alteram na faixa de frequência aplicada^{68,69}.

Como as amostras analisadas nessa parte do trabalho apresentaram os módulos $G' > G''$ na faixa viscoelástica linear da varredura de amplitude e dependência dos valores dos módulos G' e G'' em função da frequência, é possível abranger este material dentro da classificação de gel, mas conceitualmente o material possui as características de um sólido viscoelástico^{68,69,134}.

5.10 FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GÉIS NEUTRALIZANTES

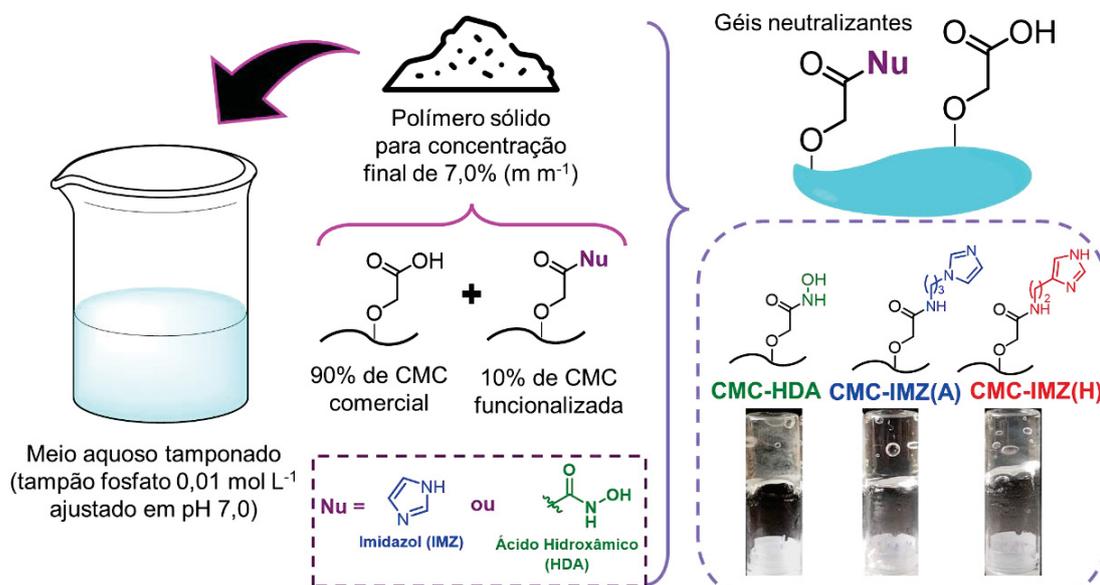
Para realizar a formulação dos géis neutralizantes contendo a CMC funcionalizada com ácidos hidroxâmicos ou imidazóis, inicialmente buscou-se obter as amostras no estado sólido. Assim, a técnica de liofilização e também de precipitação por etanol foram utilizadas nesse processo. Durante a obtenção

dessas amostras no estado sólido, alguns comportamentos interessantes foram observados.

Após a liofilização das amostras funcionalizadas, estas apresentaram pouca solubilidade em meio aquoso. Em seguida, a técnica de precipitação em um contra solvente e força iônica de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (nesse caso, etanol e cloreto de sódio) foi utilizada, mas também sem sucesso na redispersão das amostras em meio aquoso. Um estudo recente mostrou que a liofilização da CMC em meio ácido resultava em membranas não redispersíveis em água devido à intensificação das ligações de hidrogênio no processo; enquanto que no meio neutro/básico a liofilização levou a amostras redispersíveis em água pois os íons carboxilatos não promoveram ligações de hidrogênio¹³⁵. Todas as amostras funcionalizadas foram armazenadas após a síntese e liofilizadas aproximadamente em pH 7,0, onde os grupos imidazóis e ácidos hidroxâmicos estavam majoritariamente protonados, podendo promover o mesmo comportamento. Desse modo, antes do processo de obtenção dos sólidos das amostras, estas tiveram um ajuste para o pH 9,5, como forma de garantir majoritariamente grupos desprotonados no meio. Ao final do processo, as amostras funcionalizadas obtidas na forma sólida e em meio básico apresentaram redispersão em meio aquoso, possibilitando a posterior formulação dos géis neutralizantes. Esse comportamento revela que com o controle de pH é possível obter materiais com características distintas e que podem ser moduladas para diferentes aplicações.

Após a liofilização das amostras garantindo sua redispersão em meio aquoso e analisando os estudos anteriores de reologia, foram determinados os parâmetros para a formulação dos géis neutralizantes (conforme ilustra a FIGURA 37). Desse modo, foi escolhida a concentração de 7,0% (m m^{-1}) de polímero em meio aquoso tamponado para a formulação dos géis, onde 10% (m m^{-1}) é constituído de CMC funcionalizada com grupos nucleofílicos e 90% (m m^{-1}) abrange uma matriz de CMC comercial. Na FIGURA 37 são mostradas também as imagens dos géis neutralizantes após a sua preparação.

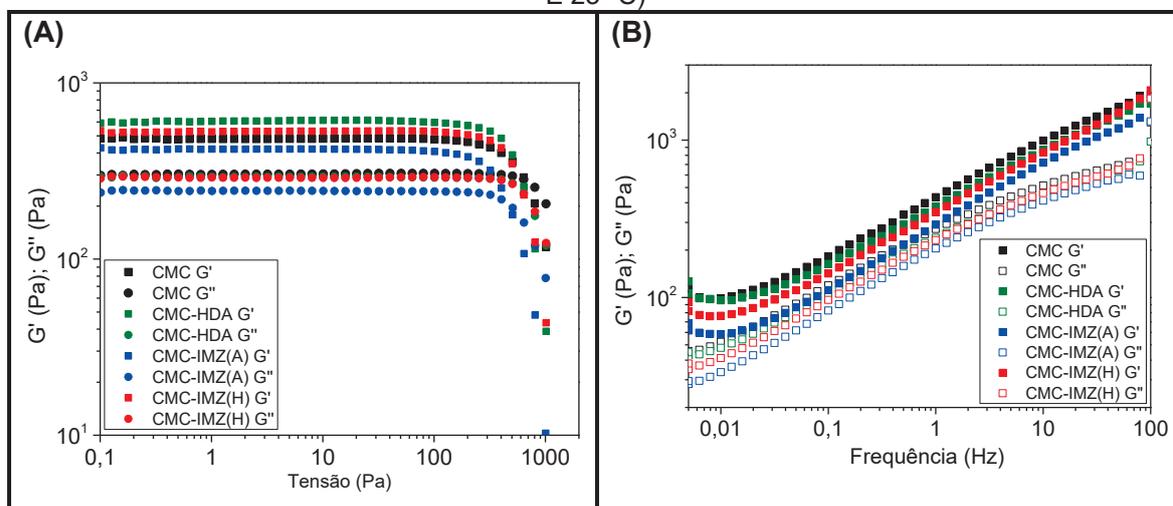
FIGURA 37 – PARÂMETROS UTILIZADOS PARA A FORMULAÇÃO DOS GÉIS NEUTRALIZANTES E IMAGENS DOS GÉIS FORMADOS



Fonte: Autor (2022)

Os géis neutralizantes também passaram por etapas de caracterização reológica, como a avaliação dos módulos G' e G'' em função da amplitude de tensão de cisalhamento aplicada e frequência de oscilação para verificar se a característica de gel é mantida após a inserção das CMCs modificadas (com ácidos hidroxâmicos ou imidazóis) na matriz de CMC não-modificada. Os dados obtidos por meio dos ensaios de reologia estão apresentados nos gráficos da FIGURA 38.

FIGURA 38 – ENSAIOS DINÂMICO-OSCILATÓRIOS PARA OS GÉIS NEUTRALIZANTES: (A) VARREDURA DE AMPLITUDE ($\dot{\gamma}$ 1,59 Hz E 25 °C) E (B) VARREDURA DE FREQUÊNCIA ($\dot{\gamma}$ 1 Pa E 25 °C)



FONTE: Autor (2021)

Os dados obtidos para as varreduras de amplitude e frequência dos géis neutralizantes mostram o mesmo perfil de comportamento para o gel de CMC comercial. Nas curvas de varredura de amplitude, todas as amostras apresentaram faixa viscoelástica linear com módulos $G' > G''$ até aproximadamente 300 Pa, determinada como a tensão de ruptura do material. Já nas curvas de frequência, foi verificado para todas as amostras que $G' > G''$ em toda a faixa analisada, sem pontos de *crossing* e que esses módulos variam em função da frequência de oscilação. Em ambos os ensaios foram verificados pequenos desvios dos valores absolutos dos módulos G' e G'' entre as amostras, mas a diferença entre o módulo G' e o módulo G'' para cada amostra separadamente foi semelhante, indicando que não houveram mudanças bruscas na reologia do material. Esse comportamento já era esperado, uma vez que 90% ($m\ m^{-1}$) do polímero utilizado nos géis neutralizantes constitui a CMC comercial e apenas 10% ($m\ m^{-1}$) de polímero utilizado corresponde às CMCs modificadas.

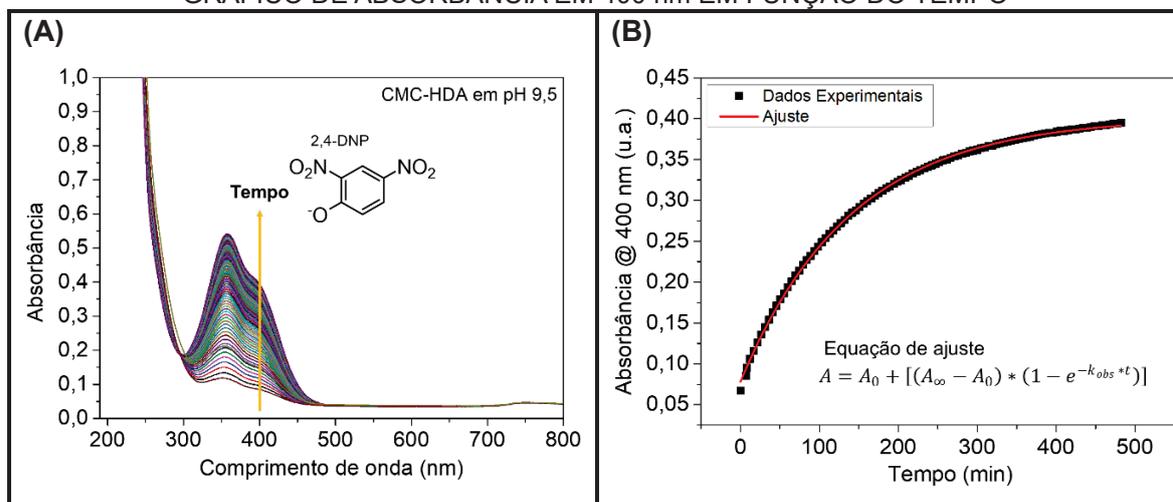
5.11 ESTUDOS CINÉTICOS COM ORGANOFOSFORADOS

Após os resultados de caracterização das amostras que evidenciou o sucesso na funcionalização química, a atividade catalítica dos materiais foi avaliada na reação com organofosforados e ainda se buscou investigar o mecanismo da reação.

5.11.1 Estudos cinéticos com DEDNPP

O preparo das amostras para os estudos cinéticos foi realizado de acordo com o descrito na seção de metodologia. O acompanhamento da reação foi realizado por espectroscopia UV-VIS, por meio do aparecimento e crescimento das bandas em 400 nm em função do tempo, referente ao produto 2,4-DNP (vide FIGURA 39A).

FIGURA 39 – EXEMPLO DO ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO DE CMC-HDA E DEDNPP EM pH 9,5: (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO

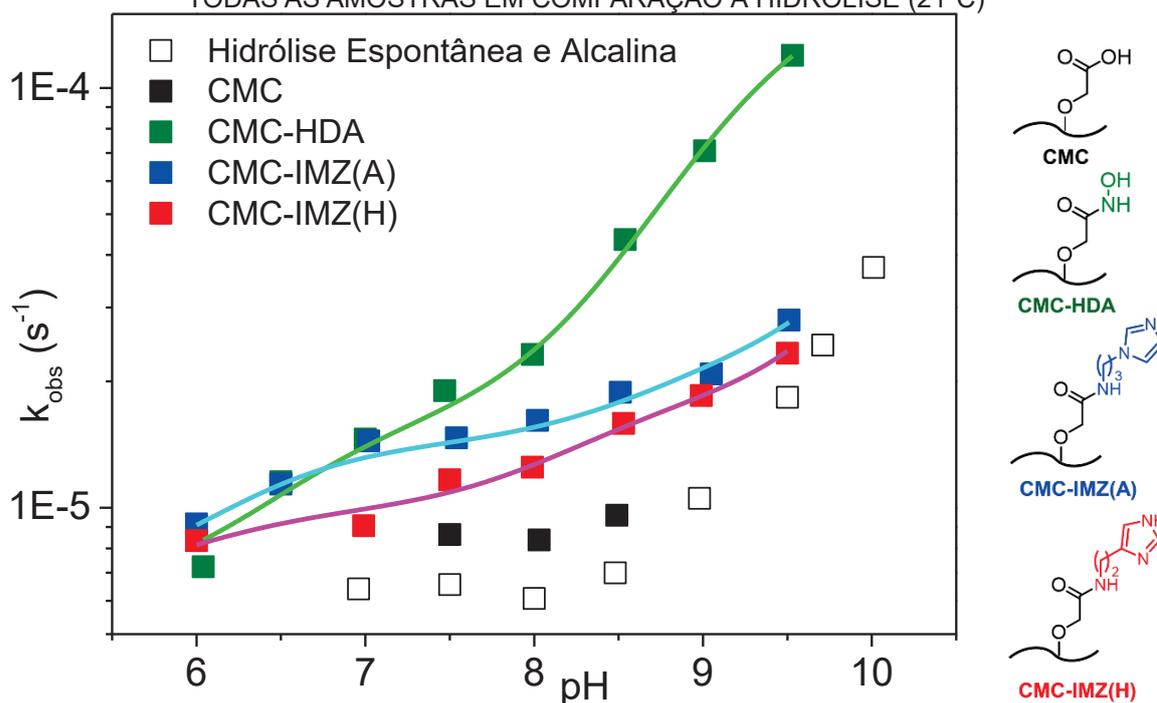


Fonte: Autor (2022)

Em seguida, os valores de absorvância em 400 nm foram plotados em função do tempo e a curva foi ajustada com a equação 1 para determinação dos parâmetros cinéticos (FIGURA 39B).

Assim, foram realizadas reações de todas as amostras com DEDNPP em diferentes pHs de modo a construir um perfil e analisar se há atividade catalítica nas reações de desfosforilação desse substrato. O gráfico das constantes observadas (k_{obs}) dessas reações em função do pH está apresentado na FIGURA 40. Os dados da hidrólise do DEDNPP à 21°C em diferentes pHs foi calculado com base na literatura⁴¹.

FIGURA 40 – REAÇÕES COM DEDNPP: PERFIL CINÉTICO DE k_{obs} EM FUNÇÃO DO pH PARA TODAS AS AMOSTRAS EM COMPARAÇÃO À HIDRÓLISE (21°C)



Fonte: Autor (2022)

Os dados do gráfico da FIGURA 40 mostram o aumento de k_{obs} em toda a faixa de pH analisada para as amostras funcionalizadas quando comparadas à hidrólise espontânea e alcalina do DEDNPP, refletindo a atividade catalítica promovida pelos grupos nucleofílicos ancorados nas amostras. Também é possível observar que a amostra não-modificada CMC possui pouca contribuição para a catálise de degradação do DEDNPP, principalmente quando se aumenta o pH das reações.

Ainda, ao analisar cada amostra separadamente conforme o aumento de pH, é possível observar um aumento dos valores de k_{obs} promovido quando comparado à hidrólise, sugerindo que as espécies desprotonadas de ácido hidroxâmico (*i.e.*, hidroxamato) e imidazol (*i.e.*, imidazol neutro) são as que agem de maneira efetiva como nucleófilos dessa reação, conforme amplamente discutido na literatura^{39,40,42,46,79,92}.

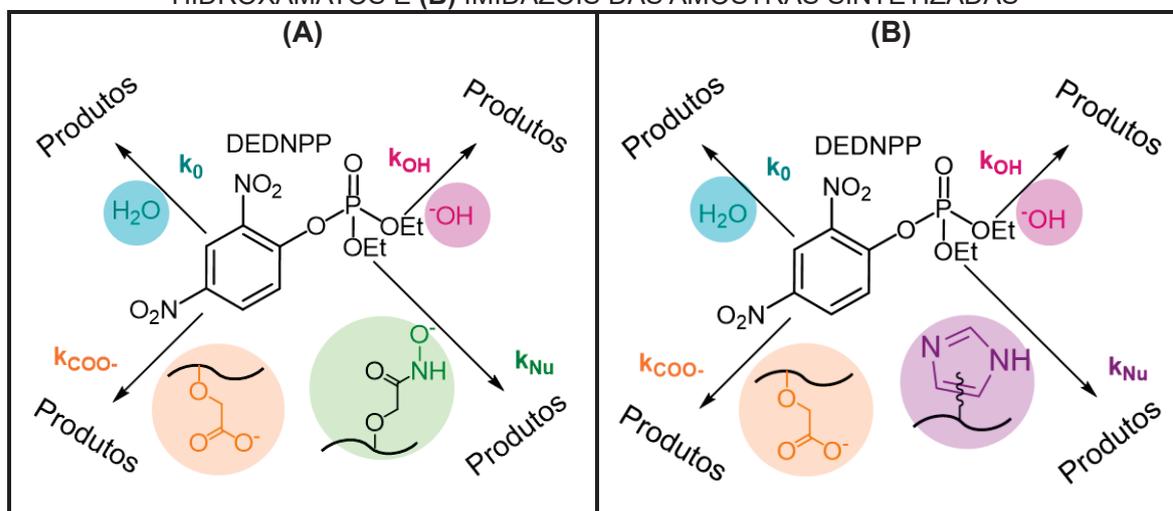
Por fim, ainda é possível comparar a amostra funcionalizada com ácido hidroxâmico (CMC-HDA) com as derivadas de imidazol (CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H)) e verificar que com o aumento do pH, em condições mais extremas, os valores de k_{obs} são bem mais expressivos para a CMC-HDA, consequência da característica de alfa-nucleofilicidade dos hidroxamatos, que apresentam

reatividade superior em reações de desfosforilação quando comparados a outros grupos nucleofílicos comuns.

Além da análise dos valores brutos de k_{obs} , é possível sugerir uma equação de ajuste para cada perfil de pH para cada uma das amostras, uma vez que o valor de k_{obs} abrange uma série de reações paralelas. Desse modo, a equação (2) foi proposta para ajustar os perfis de pH, levando em consideração quatro reações (ilustradas na FIGURA 41): (i) hidrólise espontânea do DEDNPP ($k_0 = 6,24 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$)⁴¹; (ii) hidrólise alcalina promovida pelo meio ($k_{OH} = 0,195 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)¹³⁶; (iii) catálise básica geral promovida por grupos carboxilatos (k_{COO^-}); (iv) reação nucleofílica promovida pelos grupos funcionalizados: ácido hidroxâmico ou imidazol (k_{Nu}). Os ajustes dos perfis de pH estão representados pelas linhas contínuas na FIGURA 40 e o modelo proposto apresentou $r^2 > 0,98$ para todas as amostras, indicando coerência com os dados experimentais.

$$k_{obs} = k_0 + k_{OH} * [OH^-] + k_{COO^-} * [COO^-] + k_{Nu} * [Nu] \quad (2)$$

FIGURA 41 – REAÇÕES ENVOLVIDAS NA DEGRADAÇÃO DO DEDNPP POR (A) GRUPOS HIDROXAMATOS E (B) IMIDAZÓIS DAS AMOSTRAS SINTETIZADAS



Fonte: Autor (2022)

Os ajustes dos perfis de pH também permitiram determinar os valores das constantes cinéticas relacionadas a cada uma das reações que compõem k_{obs} . Além disso, os valores de pK_a s determinados cineticamente pelos ajustes de perfil de pH (TABELA 5) são coerentes aos determinados pelas titulações potenciométricas (TABELA 2), indicando novamente o sucesso no modelo proposto. Para facilitar as comparações entre as amostras desse trabalho, as constantes

cinéticas foram normalizadas pela massa total de amostra na reação e foram calculados valores de incremento catalítico dados por k_{cat} / k_0 , onde k_{cat} é a soma das constantes de velocidade da reação catalisada ($k_{COO^-} + k_{Nu}$) e k_0 representa a constante de velocidade de segunda ordem da hidrólise espontânea do DEDNPP⁴¹. Os resultados obtidos estão apresentados na TABELA 5:

TABELA 5 – DADOS OBTIDOS A PARTIR DOS AJUSTES DOS PERFIS DE pH DAS REAÇÕES DAS AMOSTRAS COM DEDNPP (21°C)

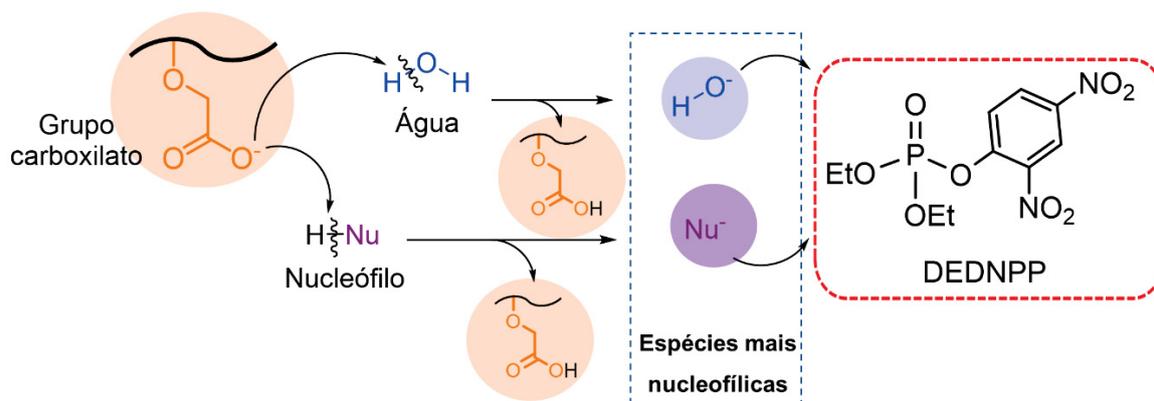
Amostra	pK _a (COOH)	k _{COO⁻} (s ⁻¹ g ⁻¹)	pK _a (Nu)	k _{Nu} (s ⁻¹ g ⁻¹)	k _{cat} / k ₀
CMC-HDA	6,6	7,01x10 ⁻³	9,2	1,1x10 ⁻¹	5,6x10 ⁴
CMC-IMZ(A)	6,2	3,50x10 ⁻³	8,7	3,65x10 ⁻³	3,4x10 ³
CMC-IMZ(H)	6,0	2,14x10 ⁻³	8,3	4,82x10 ⁻³	3,3x10 ³

Fonte: Autor (2022)

É importante notar que os grupos carboxilatos possuem contribuição na reação catalisada, assim como os grupos nucleofílicos ancorados, pois não é possível propor uma equação de ajuste sem levá-los em consideração. Outros biomateriais derivados de celulose e funcionalizados com ácidos carboxílicos, imidazóis e ácidos hidroxâmicos já foram desenvolvidos no GCC-UFPR e avaliados com DEDNPP, mas a contribuição dos carboxilatos na catálise era insignificante na equação de ajuste.

Uma vez que a amostra CMC de partida deste trabalho apresenta um maior grau de carboxilatos do que os materiais anteriores do GCC-UFPR, é possível propor a ação desses grupos na catálise das reações de desfosforilação. Uma das propostas mais viáveis é a atuação do carboxilato como catalisador básico geral (conforme ilustra a FIGURA 42). Outros estudos com materiais complexos contendo grupos ionizáveis (carboxilato e imidazol, por exemplo) apontam que o carboxilato age como um catalisador básico geral abstraindo um próton da água e aumentando a nucleofilicidade da espécie que atua no ataque ao organofosforado (*i.e.*, a hidroxila)¹³⁷⁻¹⁴⁰. No entanto, quando há o devido posicionamento e proximidade entre os grupos, há possibilidade do carboxilato agir abstraindo um próton de um grupo vizinho (*e.g.*, como o ácido hidroxâmico, imidazol ou hidroxila), o que ainda configura uma catálise básica geral¹⁴⁰.

FIGURA 42 – CAMINHOS POSSÍVEIS PARA ATUAÇÃO DOS GRUPOS CARBOXILATOS EM UMA CATÁLISE BÁSICA GERAL: ABSTRAÇÃO DE PRÓTON DA ÁGUA OU DE UM NUCLEÓFILO

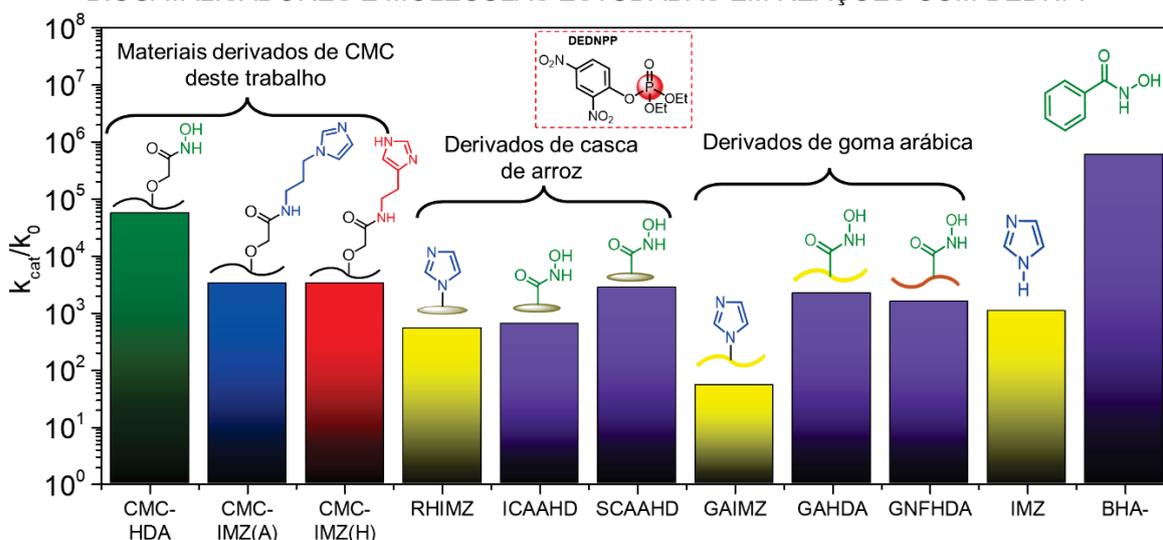


Fonte: Autor (2022)

Além disso, os ajustes dos perfis de pH permitiram realizar o cálculo do incremento catalítico em relação à reação com DEDNPP na ausência de catalisador (com constante de velocidade k_0). Desse modo, os valores de k_{cat} / k_0 revelam que os materiais deste trabalho apresentaram incrementos catalíticos surpreendentes na ordem de 10^4 vezes para CMC-HDA e 10^3 vezes para CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H) em relação à hidrólise espontânea do DEDNPP, valores entre os mais altos reportados na literatura para biopolímeros funcionalizados. O gráfico da FIGURA 43 permite a comparação de alguns dos biocatalisadores e moléculas estudados em nosso grupo de pesquisa, como os derivados de casca de arroz com imidazol (RHIMZ)³⁹ e ácidos hidroxâmicos (ICAAHD e SCAAHD)¹⁰⁶; os derivados de goma arábica com imidazol (GAIMZ)⁴² e ácidos hidroxâmicos (GAHDA e GNFHDA); e também com as moléculas de imidazol (IMZ)⁴¹ e ácido benzohidroxâmico (BHA)⁴⁸.

Na comparação entre todos os derivados de imidazol, as amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H) apresentam os maiores incrementos catalíticos até o momento quando comparados aos outros biocatalisadores desenvolvidos no grupo (barras amarelas no gráfico da FIGURA 43), inclusive quando comparados à própria molécula de imidazol. Apesar de não ser uma regra, esse comportamento é esperado uma vez que o esqueleto polimérico pode promover efeitos sinérgicos e estéricos de vizinhança que auxiliam na aproximação e desfosforilação do DEDNPP.

FIGURA 43 – INCREMENTOS CATALÍTICOS PROMOVIDOS (À 21 °C) POR ALGUNS BIOCATALISADORES E MOLÉCULAS ESTUDADAS EM REAÇÕES COM DEDNPP



Fonte: Autor (2022)

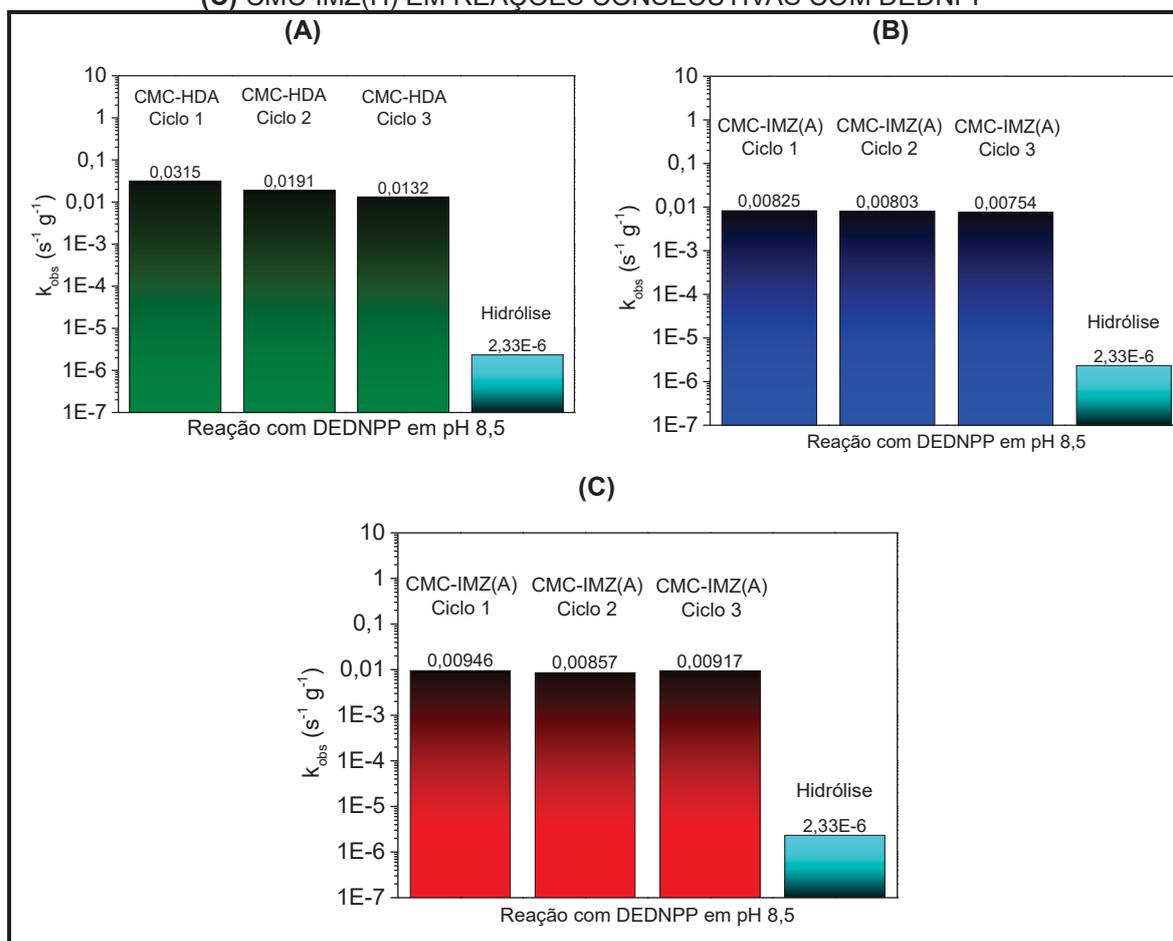
Quando comparamos a CMC-HDA (barra verde na FIGURA 43) a outros derivados de ácidos hidroxâmicos (barras roxas na FIGURA 43), podemos perceber que o material deste trabalho também apresentou os maiores incrementos catalíticos dentre os demais já reportados no grupo. Embora a molécula de ácido benzohidroxâmico apresente reatividade superior, é necessário lembrar que suas reações com DEDNPP não são seletivas e não levam à sua regeneração, inviabilizando seu uso como catalisador⁴⁸.

Embora os resultados sejam bastante impressionantes, é necessário lembrar que a atividade catalítica está normalizada para a massa total de amostra. Caso as constantes de velocidade fossem normalizadas em função da massa de nucleófilo (isto é, grupo funcional reativo), esses resultados seriam ainda mais surpreendentes, uma vez que, conforme reportado na literatura e conforme proposto em nossa metodologia^{39,42,106}, o grau de modificação química pelos funcionalizantes é moderado, para evitar mudanças bruscas nas características físico-químicas dos materiais de partida. Desse modo, os valores de incremento catalítico para a molécula de imidazol e ácido benzohidroxâmico estão superestimados, uma vez que são materiais considerados 100% funcionalizados.

5.11.2 Reciclagem das amostras

A análise de reciclagem das amostras foi realizada para todas as amostras funcionalizadas e os resultados revelaram a manutenção da atividade catalítica nas reações de desfosforilação do DEDNPP em até 3 ciclos (vide FIGURA 44). Logo, os resultados obtidos sugerem pouca ou ausência de lixiviação ou envenenamento dos catalisadores entre os ciclos de reação.

FIGURA 44 – ANÁLISE DE RECICLAGEM DAS AMOSTRAS (A) CMC-HDA; (B) CMC-IMZ(A) E (C) CMC-IMZ(H) EM REAÇÕES CONSECUTIVAS COM DEDNPP



Fonte: Autor (2022)

Para a amostra CMC-HDA, funcionalizada com ácidos hidroxâmicos, é possível observar um pequeno decaimento da atividade catalítica entre os ciclos, mas ao final da última reação, a catálise promovida ainda é superior ao da hidrólise do DEDNPP (FIGURA 44A). Esse comportamento é bastante inusitado, uma vez que ácidos hidroxâmicos livres são alfa-nucleófilos conhecidos pela não-seletividade e não-regeneração na catálise das reações de desfosforilação⁴⁸.

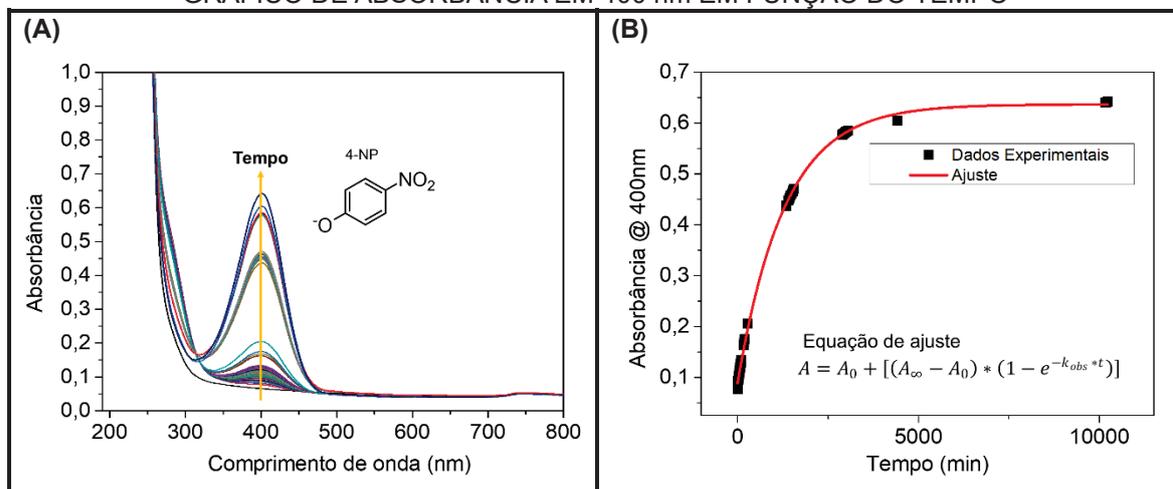
Desse modo, há indícios também de que o mecanismo de ataque nucleofílico ao fósforo pelo qual ocorre a reação de destruição do OP é favorecido, tendo como consequência também a regeneração do grupo ácido hidroxâmico ao final da reação, conforme observado também em trabalhos anteriores de ancoramento desses alfa-nucleófilos em *templates*^{47,92}.

Os estudos de reações das amostras com DEDNPP mostraram o potencial destes materiais enquanto biocatalisadores em reações de desfosforilação, uma vez que apresentaram altos incrementos catalíticos quando comparados à reação de hidrólise espontânea, além de revelarem reciclagem dos grupos nucleofílicos ancorados, promovendo a manutenção da catálise por até 3 ciclos consecutivos de reações. Os resultados promissores com DEDNPP incentivaram testes com o pesticida real Paraoxon, bem menos reativo nos processos que levam à sua neutralização.

5.11.3 Estudos cinéticos com Paraoxon

Os resultados promissores na neutralização do DEDNPP encorajaram os testes cinéticos de neutralização do pesticida Paraoxon. Os ensaios foram realizados conforme descrito na seção de metodologia. As reações foram acompanhadas por espectroscopia UV-VIS, por meio do aparecimento e crescimento das bandas em 400 nm em função do tempo, relacionadas ao produto de degradação 4-NP (vide FIGURA 45A).

FIGURA 45 – EXEMPLO DO ACOMPANHAMENTO DA REAÇÃO DE CMC-HDA E PARAOXON EM pH 9,5: (A) PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (B) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO



Fonte: Autor (2022)

Devido à menor reatividade em reações de desfosforilação do Paraoxon quando comparado ao DEDNPP, as amostras foram testadas apenas em pH 9,5 e sob temperatura de 30°C. Os dados de k_{obs} obtidos foram normalizados levando em consideração a massa total de catalisador e foram calculados os incrementos catalíticos $k_{obs} / k_{não}$ da reação catalisada em comparação à reação não catalisada, que compreende a hidrólise espontânea e alcalina do Paraoxon ($k_0 = 1,88 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ e $k_{OH} = 1,79 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$)^{47,106,141} (vide TABELA 6).

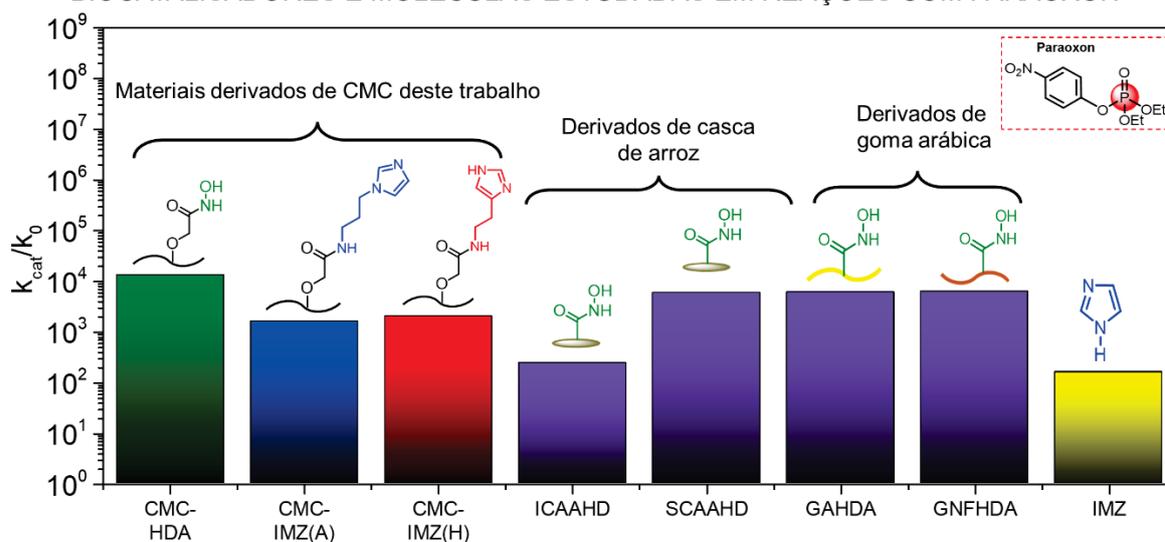
TABELA 6 – DADOS OBTIDOS PARA AS REAÇÕES DAS AMOSTRAS CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) EM pH 9,5 COM PARAOXON (30°C)

Amostra	$k_{obs} (\text{s}^{-1} \text{ g}^{-1})$	$k_{cat}/k_{não}$
CMC-HDA	$8,52 \times 10^{-4}$	$1,3 \times 10^4$
CMC-IMZ(A)	$1,02 \times 10^{-4}$	$1,6 \times 10^3$
CMC-IMZ(H)	$1,29 \times 10^{-4}$	$2,0 \times 10^3$

Fonte: Autor (2022)

Os dados obtidos para as reações com Paraoxon revelaram incrementos catalíticos na ordem de 10^4 vezes para o derivado de hidroxamato e 10^3 vezes para os derivados de imidazol em comparação com a reação de hidrólise espontânea e alcalina do pesticida. Novamente, o maior incremento catalítico promovido pela amostra CMC-HDA reflete o comportamento de alfa-nucleófilo dos grupos hidroxamatos ancorados na cadeia polimérica. Ainda, verificando e comparando as amostras CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), é possível perceber que mesmo os derivados de imidazóis ancorados serem distintos, o incremento catalítico promovido é bastante semelhante. Os valores de k_{cat} / k_0 calculados para as reações com Paraoxon também podem ser comparados com outros biomateriais sintetizados no grupo, conforme ilustra a FIGURA 46.

FIGURA 46 – INCREMENTOS CATALÍTICOS PROMOVIDOS POR ALGUNS BIOCATALISADORES E MOLÉCULAS ESTUDADAS EM REAÇÕES COM PARAOXON



Fonte: Autor (2022)

Nesse gráfico, é possível verificar que o incremento catalítico promovido nessas reações de desfosforilação pela CMC-HDA encontra-se na mesma ordem de grandeza para outros derivados de ácidos hidroxâmicos, como a SCAAHD (derivada de casca de arroz), GAHDA (derivado de goma arábica) e GNFHDA (derivada de goma de acácia negra), que possuem os maiores valores reportados na literatura para essa classe de materiais^{47,106}. Já para os derivados de imidazol, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), os valores de incremento catalítico foram superiores à própria molécula de imidazol livre, indicando o potencial da funcionalização química na obtenção de materiais catalíticos mais eficientes.

Ainda, o Paraoxon é um pesticida real e por muito tempo foi utilizado como inseticida na agricultura, além de ser um metabólito ativo da degradação do Parathion etílico, um pesticida organotiofosforado¹⁴². Embora ambos sejam proibidos no Brasil, os estudos desses compostos de elevada toxicidade seguem relevantes devido aos casos de apreensões e uso incorreto de pesticidas, fazendo-se necessário o conhecimento do mecanismo das reações de neutralização para que seja possível desenvolver estratégias e materiais eficientes para promovê-las. Desse modo, foi possível verificar a alta reatividade demonstrada pelos biocatalisadores deste trabalho na neutralização de organofosforados, resultados promissores para o desenvolvimento de novas estratégias de detoxificação química e promoção da segurança química da população.

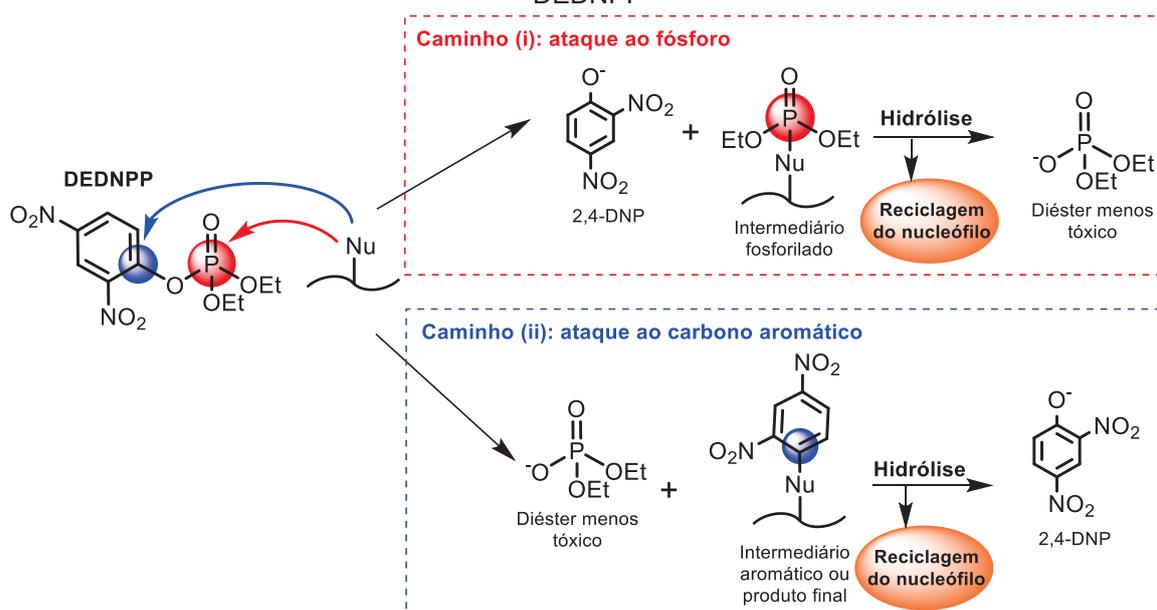
5.11.4 Proposta do caminho reacional da detoxificação química e validação utilizando CDNB

Nas reações de desfosforilação, tanto os nucleófilos normais como os alfa-nucleófilos podem promover ataques nucleofílicos a centros eletrofílicos distintos dos organofosforados – como ao fósforo, ao carbono alifático e ao carbono aromático – conforme exemplificado na FIGURA 10C e na FIGURA 14 para moléculas livres de imidazol e ácido benzohidroxâmico, respectivamente. Essa diversidade de caminhos reacionais faz com que a detoxificação catalítica desses compostos seja desafiadora: primeiro porque é necessário entender o mecanismo da reação de desfosforilação e garantir que os produtos de reação sejam menos tóxicos que os seus precursores; segundo porque é preciso desenvolver métodos e materiais catalíticos eficientes e recicláveis; e ainda é desejável que o mecanismo de reação seja seletivo, com o menor número de subprodutos possíveis para garantir o sucesso das etapas anteriores.

Desse modo, estudos da literatura mostram que as reações de ataque ao carbono alifático não são favorecidas em organofosforados do tipo P=O (como o DEDNPP e o Paraoxon) e ocorrem mais comumente em organofosforados do tipo P=S (como o Parathion)^{28,37,73,143}.

Assim, as reações ainda podem seguir por dois caminhos preferenciais de ataque⁴⁸, conforme representado na FIGURA 47 para o DEDNPP: **(i)** no primeiro, o nucleófilo ataca o centro eletrofílico de fósforo, liberando o produto 2,4-DNP e formando um intermediário fosforilado que é rapidamente hidrolisado no meio, resultando na liberação de um diéster de fosfato menos tóxico e regenerando o catalisador ao final da reação; já no caminho **(ii)** o nucleófilo ataca o carbono aromático do organofosforado, liberando diretamente o diéster menos tóxico e formando um intermediário aromático, que pode ser estável no meio (configurando o produto final e não reciclando o nucleófilo) ou sofrendo hidrólise, liberando o produto 2,4-DNP e regenerando o catalisador. Os caminhos reacionais para o DEDNPP podem ser estendidos para o Paraoxon, com a diferença que o produto é o 4-NP.

FIGURA 47 – CAMINHOS REACIONAIS MAIS PROVÁVEIS DE ATAQUE NUCLEOFÍLICO AO DEDNPP



Fonte: Autor (2022)

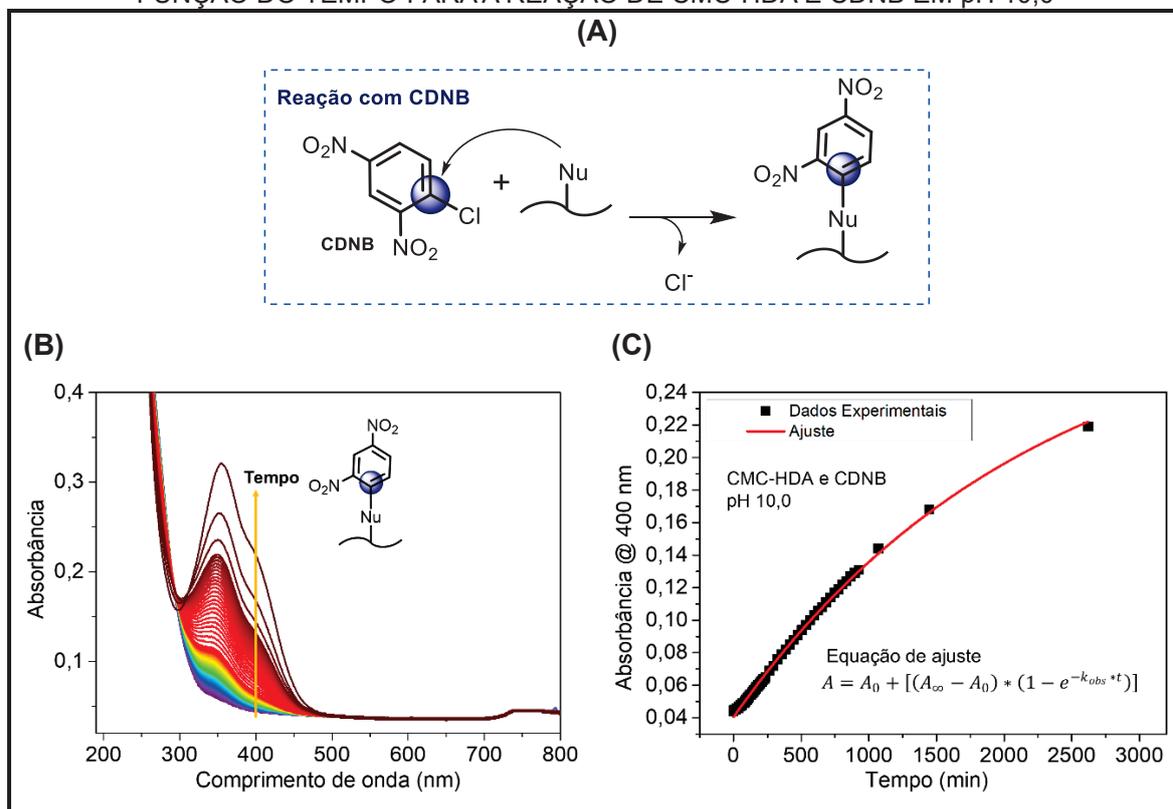
Dentro desse contexto, o caminho reacional preferível e que geralmente garante um menor número de subprodutos e produtos menos tóxicos que seus precursores, é o ataque nucleofílico ao átomo de fósforo²⁸. Uma vez que a reação pode seguir inúmeros caminhos, é necessário entender por qual mecanismo ela se processa, para verificar e buscar seletividade em promover uma detoxificação eficiente do triéster de fosfato (uma vez que há possibilidade de caminhos reacionais que levam a produtos com maior toxicidade em relação ao OP original); e também para verificar a reciclabilidade do nucleófilo, requisito para caracterizá-los como verdadeiros biocatalisadores.

Como forma de estudar qual o mecanismo preferencial da reação, as amostras foram testadas com o substrato CDNB, uma molécula que permite o ataque nucleofílico somente ao carbono aromático (vide FIGURA 48A). O CDNB é reativo nessas reações, uma vez que possui um centro eletrofílico no carbono e um cloreto como grupo de saída (considerado um bom grupo abandonador).

Essa reação também já foi utilizada em trabalhos anteriores como forma de avaliar o mecanismo em reações de desfosforilação do DEDNPP e em outros triésteres de fosfato^{47,48}. Isso porque o caminho reacional do CDNB (FIGURA 48A) e o caminho (ii) de reação do DEDNPP (FIGURA 47) levam ao mesmo produto nas reações com nucleófilos. Sendo assim, o acompanhamento da reação foi realizado conforme descrito na seção de metodologia, por meio das bandas em 400 nm em

função do tempo, referente ao composto aromático formado na reação (vide FIGURA 48B e FIGURA 48C).

FIGURA 48 – ESQUEMATIZAÇÃO DO ESTUDO COM CDNB: (A) REAÇÃO PROPOSTA PARA O CDNB COM GRUPOS NUCLEOFÍLICOS; (B) EXEMPLO DE PERFIL DE ABSORBÂNCIA EM FUNÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA E (C) GRÁFICO DE ABSORBÂNCIA EM 400 nm EM FUNÇÃO DO TEMPO PARA A REAÇÃO DE CMC-HDA E CDNB EM pH 10,0



Fonte: Autor (2022)

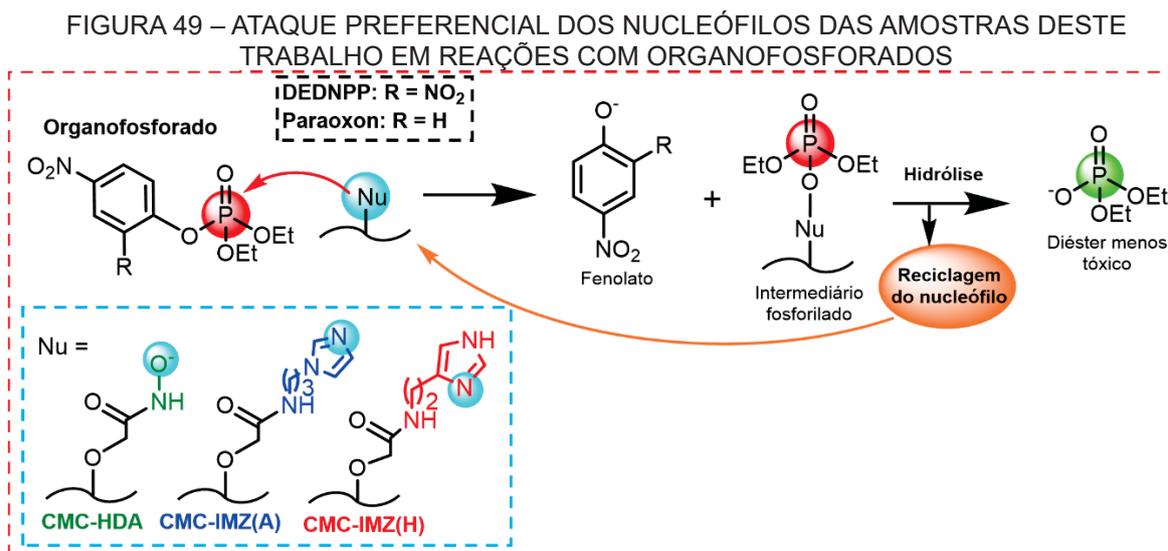
As amostras foram testadas apenas em pH 10,0 e sob temperatura de 21°C. Os dados de k_{obs} (vide TABELA 7) foram comparados com valores de hidrólise espontânea e alcalina do CDNB em pH 10,0, obtidos na literatura^{47,144}.

TABELA 7 – DADOS OBTIDOS PARA A REAÇÃO DE HIDRÓLISE DO SUBSTRATO CDNB EM pH 10,0 (21 °C) E DAS REAÇÕES DAS AMOSTRAS CMC-HDA, CMC-IMZ(A) E CMC-IMZ(H) EM pH 10,0 COM O CDNB (21 °C)

Amostra	k_{obs} (s ⁻¹)
Hidrólise em pH 10,0	$6,89 \times 10^{-5}$
CMC-HDA	$7,58 \times 10^{-6}$
CMC-IMZ(A)	Não determinada devido reação muito lenta
CMC-IMZ(H)	Não determinada devido reação muito lenta

Fonte: Autor (2022)

É possível verificar que as reações das amostras com CDNB são extremamente lentas. Foi determinado k_{obs} apenas para a amostra CMC-HDA e o valor ficou inferior à reação na ausência da amostra (*i.e.*, hidrólise). As reações de CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H) com CDNB também foram realizadas, mas não foi possível ajustar as curvas cinéticas devido ao processamento lento da reação. Dessa forma, foi possível verificar que as amostras funcionalizadas desde trabalho, tanto com ácidos hidroxâmicos como com imidazóis, não promovem ataque nucleofílico preferencial ao carbono aromático. Assim, é possível propor que os grupos nucleofílicos das amostras promovem o ataque nucleofílico preferencialmente ao átomo de fósforo nos triésteres de fosfato, sendo seletivas, conforme ilustrado na FIGURA 49. Esse caminho reacional é o desejável para a detoxificação química, pois geralmente leva aos produtos menos tóxicos após o ataque nucleofílico e permite a reciclagem dos grupos catalisadores.



Fonte: Autor (2022)

Para a amostra funcionalizada com ácidos hidroxâmicos, a seletividade obtida nessas reações é surpreendente, uma vez que estudos anteriores com moléculas de ácidos hidroxâmicos livres levam a ataques nucleofílicos suicidas com organofosforados⁴⁸. Sendo assim, esse ataque seletivo permite que este grupo bastante reativo nas reações de desfosforilação não siga caminhos alternativos onde pode ser envenenado e inutilizado após a reação de detoxificação.

A seletividade ou não desses nucleófilos nas reações de desfosforilação ainda não é totalmente desvendada, mas algumas propostas já foram realizadas

para explicá-la. Um dos fatores ao qual se atribui esse comportamento, também já observado em outros trabalhos^{47,92,106,140}, é o fato dessas espécies nucleofílicas estarem ancoradas covalentemente em *templates* (e.g., biopolímeros ou nano-derivados de grafeno): isso dificulta a lixiviação dos nucleófilos ao mesmo tempo que promove efeitos estéricos que podem restringir pontos de aproximação ao organofosforado, evitando reações paralelas. Outro fator importante é o ambiente químico onde estes grupos estão ancorados: devido a outros grupos funcionais presentes nos materiais utilizados como *template* (como ácidos carboxílicos ou hidroxilas) e em diferentes quantidades, estes podem promover efeitos de vizinhança, que podem atuar de maneira sinérgica ou inibitória com os grupos nucleofílicos, promovendo um caminho reacional em detrimento de outro, levando a reações nucleofílicas seletivas.

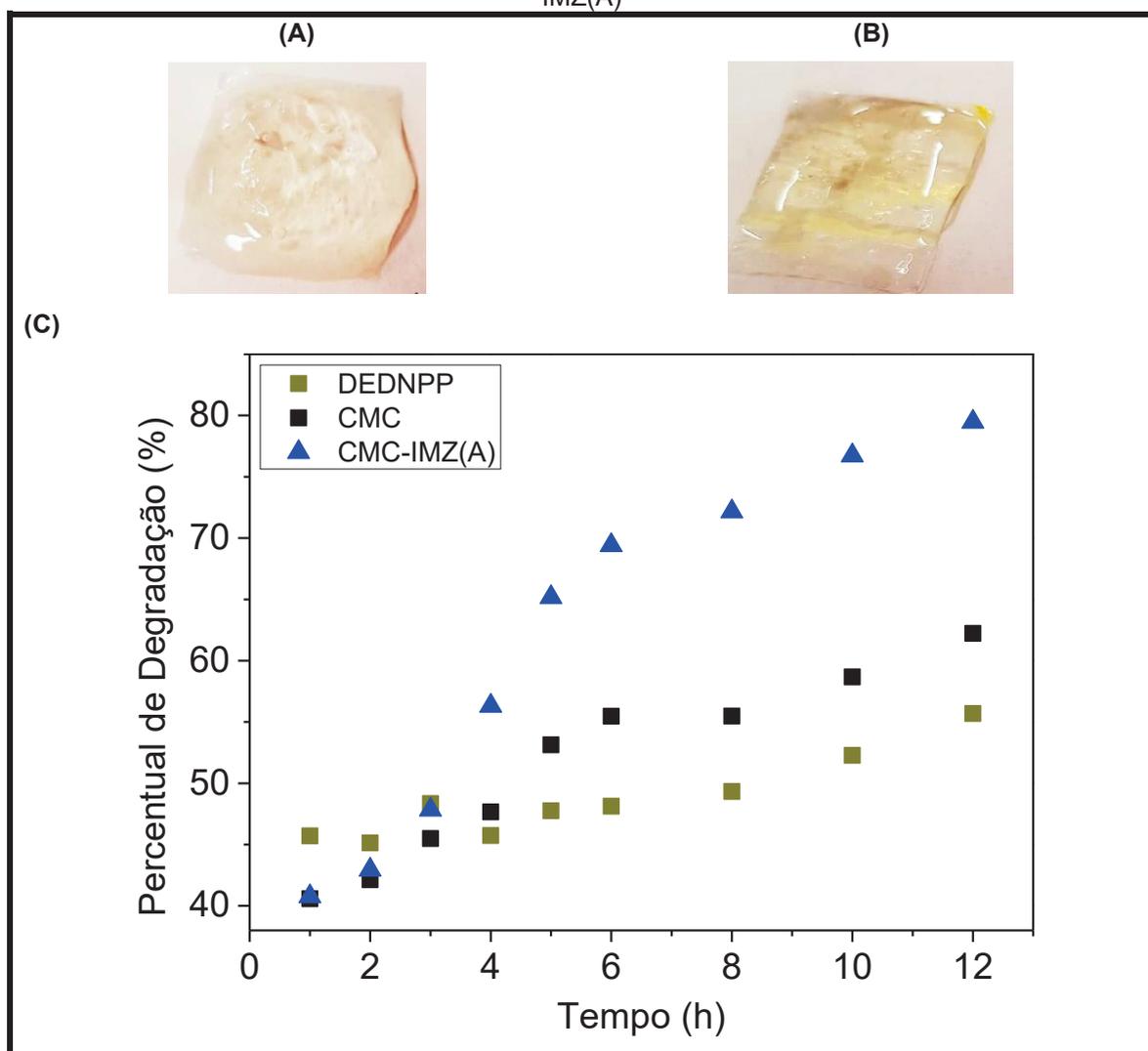
5.12 ENSAIOS DE PERMEAÇÃO *IN VITRO* COM OS GÉIS NEUTRALIZANTES: PREVENÇÃO À INTOXICAÇÃO POR ORGANOFOSFORADOS

Como forma de avaliar a eficácia dos géis neutralizantes, foram realizados ensaios de permeação *in vitro* utilizando o aparato da célula de Franz, que permite a avaliação do transporte de compostos ou ativos por meio de uma membrana. Para este trabalho, o intuito do ensaio foi realizar uma simulação de prevenção à intoxicação, onde os géis tiveram o papel de neutralizar o organofosforado DEDNPP. Desse modo, a solução receptora (*i.e.*, a solução que simula o meio fisiológico) consistiu em meio aquoso tamponado em pH 7,0 (tampão fosfato 0,01 mol L⁻¹); sobre a qual foram utilizadas membranas de diálise com poros nominais de tamanho de 14 kg mol⁻¹ para simular a pele. Em seguida, foram colocados o gel e a alíquota de DEDNPP sobre a membrana, dando início ao ensaio.

A avaliação da degradação do DEDNPP se deu pela quantidade de produto fenólico de degradação na célula receptora. Foram realizados testes de permeação do DEDNPP na ausência de gel em pH 7,0 como forma de entender a degradação e difusão deste composto no sistema. Em seguida, foram realizados testes de permeação do DEDNPP sobre 1 g de géis de CMC comercial e de CMC-IMZ(A) preparados em pH 7,0 para verificar a degradação do organofosforado e difusão do produto de degradação no sistema. As análises foram acompanhadas por até 12 horas. Imagens dos géis de CMC e CMC-IMZ(A) estão apresentadas na FIGURA

50A e FIGURA 50B, respectivamente. Os resultados dos testes de permeação *in vitro* realizados estão apresentados na FIGURA 50C.

FIGURA 50 – TESTES DE PERMEAÇÃO *IN VITRO* REALIZADOS COM DEDNPP (36°C): IMAGENS DOS GÉIS APÓS O ENSAIO (A) CMC E (B) CMC-IMZ(A); (C) RESULTADOS OBTIDOS NAS PERMEAÇÕES DE DEDNPP NA AUSÊNCIA DE GEL, COM CMC E COM CMC-IMZ(A)



Fonte: Autor (2022)

Os ensaios se iniciam com porcentagem de produto de degradação em torno de 40% e 45% devido à solução estoque. Mesmo guardada sob refrigeração, o uso cotidiano faz com que haja hidrólise do DEDNPP, levando ao produto 2,4-DNP. Analisando e comparando todos os ensaios nas primeiras 2 horas, é possível verificar que há maior permeação do produto 2,4-DNP para o ensaio na ausência de gel, sugerindo que tanto o 2,4-DNP quanto o DEDNPP permeiam com maior facilidade a célula receptora (configurando um caso onde há intoxicação pelo OP). Já para os ensaios com os géis de CMC e CMC-IMZ(A), os valores percentuais de

2,4-DNP são similares entre si e menores do que o ensaio na ausência de gel, sugerindo que os géis agem como uma barreira, evitando a permeação. A partir de 4 horas de ensaio, é possível verificar a diferença entre as porcentagens de 2,4-DNP que permearam até a célula receptora, sendo o ensaio com CMC-IMZ(A) o que mais apresenta permeação do 2,4-DNP até o final do experimento.

Ao final das 12 horas, o ensaio contendo DEDNPP na ausência de gel apresentou 55,6% de 2,4-DNP degradado na célula receptora, uma variação de apenas 10% de degradação desde o início do ensaio. Já o ensaio de permeação de DEDNPP sobre CMC apresentou 62,2% de 2,4-DNP na célula receptora, indicando uma variação de 22% de degradação desde o início do experimento. Por fim, para o ensaio de permeação de DEDNPP sobre CMC-IMZ(A), foi verificado 79,5% de 2,4-DNP na célula receptora, indicando uma variação de 39% de degradação desde o início do ensaio.

Os ensaios realizados permitem *insights* sobre o comportamento dos géis neutralizantes: até 3 horas de experimento, os géis tanto de CMC como de CMC-IMZ(A) agem como barreiras físicas, impedindo a permeação de 2,4-DNP (e também DEDNPP) para a célula receptora. Após esse tempo de experimento, a permeação desses ativos é facilitada pelo sistema, mas é possível verificar que para o ensaio contendo CMC-IMZ(A), houve maior permeação de produto 2,4-DNP do que para os outros ensaios, indicando que o gel age neutralizando o OP antes que esse seja permeado para a solução receptora, indicando o sucesso da ação do gel neutralizante. O gel de CMC-IMZ(A) é eficaz devido aos grupos imidazóis reativos em reações de desfosforilação e que fazem parte da estrutura gelificada. Ainda, quando comparamos o ensaio na ausência de gel e com gel de CMC, é possível notar uma diferença percentual no comportamento de permeação que pode estar relacionado à catálise promovida pelos grupos carboxilatos presentes na estrutura do gel. No entanto, a atividade catalítica do gel de CMC-IMZ(A) é quase o dobro em relação ao gel de CMC.

Os ensaios para as amostras CMC-HDA e CMC-IMZ(H) não foram realizados devido o equipamento de Célula de Franz estar inoperante. No entanto, os resultados apresentados para os ensaios de permeação *in vitro* permitiram avaliar e confirmar a eficácia dos géis neutralizantes na simulação de caso de intoxicação com DEDNPP. Foi possível observar que o gel neutralizante de CMC-IMZ(A) apresentou quase o dobro de produto 2,4-DNP em relação ao gel de CMC,

indicando que este realiza a neutralização do DEDNPP antes que este permeie a célula receptora. Os resultados apresentados são promissores e os géis ainda podem ser formulados em outros parâmetros (como um pH mais elevado, por exemplo). Além disso, o estudo em questão mostra o potencial para que novos materiais sejam desenvolvidos com o intuito de realizar a detoxificação química de compostos organofosforados, inclusive para aplicação tópica.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS DO TRABALHO

Neste trabalho foi proposto o desenvolvimento de biomateriais derivados de CMC (na forma de solução e de gel) por meio de funcionalização química, assim como sua aplicação na detoxificação catalítica de compostos organofosforados, uma estratégia ainda pouco explorada na literatura.

Quanto à síntese, foram obtidos 3 materiais: CMC-HDA, CMC-IMZ(A) e CMC-IMZ(H), sendo o primeiro funcionalizado com grupos ácidos hidroxâmicos e os dois últimos modificados com derivados diferentes de imidazóis. As sínteses foram realizadas em condições brandas – pH neutro, pressão e temperatura ambientes e solvente aquoso – levando em consideração aspectos ecológicos e tornando o processo mais verde. Ainda, a proposta inclui moderada taxa de modificação química da amostra de partida, de modo a evitar mudanças bruscas nas propriedades físico-químicas do polímero, mas ao mesmo tempo promovendo características singulares a estes materiais.

Analisando os resultados de caracterização, várias técnicas apontaram e confirmaram a modificação química bem-sucedida das amostras com os grupos nucleofílicos de interesse. Além disso, foi possível estimar o grau de funcionalização das amostras e também de entender o comportamento desses materiais em solução. Os ensaios de reologia com a amostra de CMC permitiram entender melhor o comportamento do material em solução, confirmaram a viabilidade de formular géis físicos de CMC por meio de soluções concentradas e possibilitaram a formulação de géis neutralizantes de CMC contendo as amostras funcionalizadas como aditivos. Por meio das curvas de fluxo e dos ensaios dinâmico-oscilatórios foi observado que pequenas quantidades de tampão não afetam as características desses géis, viabilizando o controle de pH das amostras e aplicação em meio biológico. Os ensaios dinâmico-oscilatórios também revelaram

que os géis caracterizados nestes trabalhos possuem comportamento de sólidos viscoelásticos.

Levando em consideração os estudos cinéticos, os resultados das reações das amostras funcionalizadas com DEDNPP foram bastante promissores, com incrementos catalíticos na ordem de 10^4 e 10^3 vezes maior que a reação de hidrólise do organofosforado para ácidos hidroxâmicos e imidazóis, respectivamente. Foi possível também realizar os ajustes de perfis cinéticos de pH de cada uma das amostras que revelaram a contribuição dos grupos carboxilatos e dos grupos nucleofílicos na catálise de reações de desfosforilação do DEDNPP. Baseados nos bons resultados das reações com DEDNPP, os biocatalisadores desenvolvidos também foram avaliados na detoxificação química do pesticida real Paraoxon, novamente com resultados bastante encorajadores, com incrementos catalíticos obtidos na ordem de 10^4 e 10^3 vezes para ácidos hidroxâmicos e imidazóis, respectivamente. Os resultados obtidos para DEDNPP e Paraoxon estão entre os mais elevados reportados na literatura para essa classe de materiais. Os estudos de mecanismos evidenciaram que as amostras são majoritariamente seletivas e promovem ataque nucleofílico ao centro de fósforo dos organofosforados, assim como apresentam reciclabilidade por pelo menos 3 ciclos de reação, caracterizando-os como verdadeiros catalisadores. Além disso, o mecanismo proposto de ataque nucleofílico ao fósforo é o caminho de detoxificação mais eficiente, pois leva aos produtos de menor toxicidade. Além disso, os ensaios de permeação *in vitro* com géis neutralizantes confeccionados em pH 7,0 confirmaram a eficácia desses materiais na degradação do DEDNPP antes que esse permeasse a membrana, resultados superiores aos apresentados pelo gel somente de CMC.

6.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os estudos e materiais desenvolvidos neste trabalho encorajam o desenvolvimento de novos materiais e estratégias para a neutralização química de organofosforados. Primeiramente, é possível utilizar as amostras deste trabalho e estudar a neutralização química utilizando outros organofosforados, com o intuito de verificar se há manutenção ou mudanças na reatividade e/ou seletividade da detoxificação catalítica. Além disso, é possível explorar outros grupos nucleofílicos interessantes para a catálise das reações de desfosforilação: os hidroxamatos

deste trabalho são alfa-nucleofílicos, classe que abrange também outros grupos (e.g., amidoximas, hidrazonas e hidroxilaminas) de bastante interesse e também promissores para tal fim. Por fim, é possível também variar o *template* nos quais os grupos são ancorados – que auxiliam na modulação do caminho das reações: outros biopolímeros como os derivados de alginato e quitina possuem sítios de grande interesse para a funcionalização química e também permitem a obtenção do produto final em diferentes formas (e.g., coloidal, gel ou sólida). Sendo assim, é processo variar, combinar e explorar uma série de fatores para buscar por processos catalíticos mais eficazes, com menos custos associados e menos agressivos à natureza, sempre priorizando e promovendo a segurança química da população.

REFERÊNCIAS

1. CHAMBERS, J. E.; LEVI, P. E. **Organophosphates: Chemistry, Fate and Effects**. Academic Press, 1992.
2. GUPTA, R. C. **Toxicology of organophosphate and carbamate compounds**. Academic Press, 2011.
3. ABUBAKAR, Y.; TIJJANI, H.; EGBUNA, C.; ADETUNJI, C. O.; KALA, S.; KRYEZIU, T. L.; IFEMEJE, J. C.; PATRICK-IWUANYANWU, K. C. **Pesticides, history, and classification**. Academic Press, 2020.
4. KARALLIEDDE, L.; FELDMAN, S.; HENRY, J.; MARRS, T. **Organophosphates and health**. Imperial College Press, 2001.
5. CORBRIDGE, D. E. **Phosphorus: chemistry, biochemistry and technology**. CRC press, 2013.
6. 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, p.407. 2009.
7. SOLTANINEJAD, K.; SHADNIA, S. **Basic and Clinical Toxicology of Organophosphorus Compounds**. Springer, 2014.
8. OPCW. **OPCW by the Numbers**. Disponível em: <http://www.opcw.org/media-centre/opcw-numbers>. Acesso: 31/07/2022.
9. OKUMURA, T.; TAKI, K.; SUZUKI, K.; YOSHIDA, T.; KUROIWA, Y.; SATOH, T. **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents**. Academic Press, 2015.
10. OKUMURA, T.; SUZUKI, K.; FUKUDA, A.; KOHAMA, A.; TAKASU, N.; ISHIMATSU, S.; HINOHARA, S. The Tokyo subway sarin attack: disaster management, Part 1: Community emergency response. **Academic Emergency Medicine**, v.5, n.6, p.613. 1998.
11. CHAPMAN, G.; ELBAHTIMY, H.; MARTIN, S. B. The future of chemical weapons: Implications from the Syrian civil war. **Security Studies**, v.27, n.4, p.704. 2018.
12. CHAI, P. R.; HAYES, B. D.; ERICKSON, T. B.; BOYER, E. W. Novichok agents: a historical, current, and toxicological perspective. **Toxicology Communications**, v.2, n.1, p.45. 2018.
13. FAO. **FAOSTAT (Pesticides Use)**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>. Acesso: 21/05/2020.
14. BOMBARDI, L. M. **Geografia do uso de agrotóxicos no Brasil e conexões com a União Europeia**. FFLCH - USP, 2017.
15. BRASIL, M. D. A., PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Registro de Agrotóxicos, Componentes e Afins**. Disponível em:

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/RegistrosConcedidos200020222.xlsx>. Acesso: 06/06/2022.

16. ANVISA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (2017 e 2018)**. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-de-agrotoxicos-relatorio-2017-e-2018.pdf/view>. Acesso: 31/07/2022.

17. SINAN. **DATASUS (INTOXICAÇÃO EXÓGENA - NOTIFICAÇÕES REGISTRADAS NO SINAN NET - BRASIL)**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/Intoxbr.def>. Acesso: 21/05/2020.

18. PIRES, D. X.; CALDAS, E. D.; RECENA, M. C. P. Intoxicações provocadas por agrotóxicos de uso agrícola na microrregião de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, no período de 1992 a 2002. **Cadernos de Saúde Pública**, v.21, p.804. 2005.

19. MEYER, T. N.; RESENDE, I. L. C.; ABREU, J. C. D. Incidência de suicídios e uso de agrotóxicos por trabalhadores rurais em Luz (MG), Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v.32, p.24. 2007.

20. DELGADO, I. F.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do Município de Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.20, p.180. 2004.

21. PEREIRA, J. N.; DE JESUS CORRÊA, J. A. Análise das intoxicações por agrotóxicos de uso agrícola no Brasil entre 2009 e 2014. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.159. 2018.

22. LIN, T. J.; WALTER, F. G.; HUNG, D. Z.; TSAI, J. L.; HU, S. C.; CHANG, J. S.; DENG, J.-F.; CHASE, P. B.; DENNINGHOFF, K.; CHAN, H. M. Epidemiology of organophosphate pesticide poisoning in Taiwan. **Clinical Toxicology**, v.46, n.9, p.794. 2008.

23. JOHNSTON, T.; BRICKMAN, K.; SHRESTHA, R.; SHRESTHA, A.; AOUTHMANY, S. Organophosphate poisoning and suicide in Nepal: A reflection on the limitations of behavioral health resources. **International Journal of Critical Care and Emergency Medicine**, v.6, p.097. 2020.

24. DONG, X.; SIMON, M. A. The epidemiology of organophosphate poisoning in urban Zimbabwe from 1995 to 2000. **International Journal of Occupational Environmental Health**, v.7, n.4, p.333. 2001.

25. RAUSHEL, F. M. Catalytic detoxification. **Nature**, v.469, n.7330, p.310. 2011.

26. MISIK, J.; PAVLIKOVA, R.; CABAL, J.; KUCA, K. Acute toxicity of some nerve agents and pesticides in rats. **Drug and chemical toxicology**, v.38, n.1, p.32. 2015.

27. GILL, J. P. K.; SETHI, N.; MOHAN, A.; DATTA, S.; GIRDHAR, M. Glyphosate toxicity for animals. **Environmental Chemistry Letters**, v.16, n.2, p.401. 2018.

28. SILVA, V. B.; SANTOS, Y. H.; HELLINGER, R.; MANSOUR, S.; DELAUNE, A.; LEGROS, J.; ZINOVIEV, S.; NOGUEIRA, E. S.; ORTH, E. S. Organophosphorus chemical security from a peaceful perspective: sustainable practices in its synthesis, decontamination and detection. **Green Chemistry**. 2022.
29. 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.
30. ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green chemistry: principles and practice. **Chemical Society Reviews**, v.39, n.1, p.301. 2010.
31. KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. AMGH Editora, 2013.
32. STEPHEN, S.; LAURA, J.; GREGORY, K.; HENRY, F. The pharmacokinetics of continuous infusion pralidoxime in children with organophosphate poisoning. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v.36, n.6, p.549. 1998.
33. BALALI-MOOD, M.; SHARIAT, M. Treatment of organophosphate poisoning. Experience of nerve agents and acute pesticide poisoning on the effects of oximes. **Journal of Physiology-Paris**, v.92, n.5-6, p.375. 1998.
34. ANDRE, G.; KLIACHYNA, M.; KODEPELLE, S.; LERICHE, L.; GILLON, E.; RENARD, P.; NACHON, F.; BAATI, R.; WANGER, A. Design, synthesis and evaluation of new α -nucleophiles for the hydrolysis of organophosphorus nerve agents: application to the reactivation of phosphorylated acetylcholinesterase. **Tetrahedron**, v.67, p.6352. 2011.
35. 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**, v.90, n.10, p.1593. 2018.
36. HOSTERT, L.; BLANC, C.; ZARBIN, A. J.; ANGLARET, E.; ORTH, E. S. SERS detection and comprehensive study of p-nitrophenol: towards pesticide sensing. **New Journal of Chemistry**, v.45, n.8, p.3886. 2021.
37. SILVA, V. B.; ORTH, E. S. Are Imidazoles Versatile or Promiscuous in Reactions with Organophosphates? Insights from the Case of Parathion. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.30, n.10, p.2114. 2019.
38. NIERI, P.; CARPI, S.; FOGLI, S.; POLINI, B.; BRESCHI, M. C.; PODESTÀ, A. Cholinesterase-like organocatalysis by imidazole and imidazole-bearing molecules. **Scientific reports**, v.7, p.45760. 2017.
39. FERREIRA, J. G.; ORTH, E. S. Degrading Pesticides with Waste Product: Imidazole-Functionalized Rice Husk Catalyst for Organophosphate Detoxification. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.28, n.9, p.1760. 2017.
40. 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.
41. ORTH, E. S.; WANDERLIND, E. H.; MEDEIROS, M.; OLIVEIRA, P. S.; VAZ, B. G.; EBERLIN, M. N.; KIRBY, A. J.; NOME, F. J. T. J. O. O. C. Phosphorylimidazole derivatives: potentially biosignaling molecules. **Journal of Organic Chemistry**, v.76, n.19, p.8003. 2011.
42. FERREIRA, J. G.; GREIN-IANKOVSKI, A.; OLIVEIRA, M. A.; 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.
43. 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. 2009.
44. CASSAGNE, T.; CRISTAU, H. J.; DELMAS, G.; DESGRANGES, M.; LION, C.; MAGNAUD, G.; TORREILLES, E.; VIRIEUX, D. Destruction of chemical warfare agents VX and soman by α - nucleophiles as oxidizing agents. **Heteroatom Chemistry: An International Journal of Main Group Elements**, v.12, n.6, p.485. 2001.
45. SINGH, N.; KARPICHEV, Y.; SHARMA, R.; GUPTA, B.; SAHU, A. K.; SATNAMI, M. L.; GHOSH, K. K. From α -nucleophiles to functionalized aggregates: exploring the reactivity of hydroxamate ion towards esterolytic reactions in micelles. **Organic & biomolecular chemistry**, v.13, n.10, p.2827. 2015.
46. 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.
47. FERREIRA, J. G.; TAKARADA, W. H.; ORTH, E. S. Waste-derived biocatalysts for pesticide degradation. **Journal of Hazardous Materials**, v.427, p.127885. 2022.
48. 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.
49. SIDHU, G. K.; SINGH, S.; KUMAR, V.; DHANJAL, D. S.; DATTA, S.; SINGH, J. Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: A review. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, p.1. 2019.
50. MORALES, J. I.; FIGUEROA, R.; ROJAS, M.; MILLÁN, D.; TAPIA, R. A.; PAVEZ, P. Dual function of amino acid ionic liquids (Bmim [AA]) on the degradation of the organophosphorus pesticide, Paraoxon®. **Organic & biomolecular**

chemistry, v.16, n.40, p.7446. 2018.

51. LIU, H.; CHEN, J.; WU, N.; XU, X.; QI, Y.; JIANG, L.; WANG, X.; WANG, Z. Oxidative degradation of chlorpyrifos using ferrate (VI): Kinetics and reaction mechanism. **Ecotoxicology and environmental safety**, v.170, p.259. 2019.

52. VERT, M.; DOI, Y.; HELLWICH, K.-H.; HESS, M.; HODGE, P.; KUBISA, P.; RINAUDO, M.; SCHUÉ, F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). **Pure and Applied Chemistry**, v.84, n.2, p.377. 2012.

53. NAGEL, B.; DELLWEG, H.; GIERASCH, L. Glossary for chemists of terms used in biotechnology (IUPAC Recommendations 1992). **Pure and Applied Chemistry**, v.64, n.1, p.143. 1992.

54. NIAOUNAKIS, M. **Biopolymers: applications and trends**. William Andrew, 2015.

55. NEGM, N. A.; HEFNI, H. H.; ABD-ELAAL, A. A.; BADR, E. A.; ABOU KANA, M. T. Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. 2020.

56. PETTIGNANO, A.; CHARLOT, A.; FLEURY, E. Carboxyl-functionalized derivatives of carboxymethyl cellulose: Towards advanced biomedical applications. **Polymer Reviews**, v.59, n.3, p.510. 2019.

57. PANG, L.; GAO, Z.; FENG, H.; WANG, S.; WANG, Q. Cellulose based materials for controlled release formulations of agrochemicals: A review of modifications and applications. **Journal of Controlled Release**. 2019.

58. LIU, G.; LIN, G.; TAN, M.; ZHOU, H.; CHEN, H.; XU, H.; ZHOU, X. Hydrazone-linked soybean protein isolate-carboxymethyl cellulose conjugates for pH-responsive controlled release of pesticides. **Polymer Journal**, v.51, n.11, p.1211. 2019.

59. DOS SANTOS, R. M.; NETO, W. P. F.; SILVÉRIO, H. A.; MARTINS, D. F.; DANTAS, N. O.; PASQUINI, D. Cellulose nanocrystals from pineapple leaf, a new approach for the reuse of this agro-waste. **Industrial Crops and Products**, v.50, p.707. 2013.

60. VAN DE VEN, T. G.; GODBOUT, L. **Cellulose: fundamental aspects**. McGill University, Canada: Books on Demand, 2013.

61. WÜSTENBERG, T. **Cellulose and cellulose derivatives in the food industry: fundamentals and applications**. John Wiley & Sons, 2014.

62. FRENCH, A. D. Glucose, not cellobiose, is the repeating unit of cellulose and why that is important. **Cellulose**, v.24, n.11, p.4605. 2017.

63. JUNTER, G.-A.; LEBRUN, L. Cellulose-based virus-retentive filters: a review. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v.16, n.3, p.455. 2017.

64. DACRORY, S.; ABOU-YOUSEF, H.; KAMEL, S.; ABOU-ZEID, R. E.; ABDEL-AZIZ, M. S.; ELBADRY, M. Functionalization and cross-linkin of carboxymethyl cellulose in aqueous media. **Cellulose Chemistry and Technology**, v.53, n.1-2, p.23. 2019.
65. KANG, H.; GAO, J.; XIE, M.; SUN, Y.; WU, F.; GAO, C.; LIU, Y.; QIU, H. Carboxymethyl cellulose gel membrane loaded with nanoparticle photocatalysts for hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v.44, n.26, p.13011. 2019.
66. BENCHABANE, A.; BEKKOUR, K. Rheological properties of carboxymethyl cellulose (CMC) solutions. **Colloid and Polymer Science**, v.286, n.10, p.1173. 2008.
67. ALEMÁN, J.; CHADWICK, A. V.; HE, J.; HESS, M.; HORIE, K.; JONES, R. G.; KRATOCHVÍL, P.; MEISEL, I.; MITA, I.; MOAD, G. Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007). **Pure and Applied Chemistry**, v.79, n.10, p.1801. 2007.
68. ALMDAL, K.; DYRE, J.; HVIDT, S.; KRAMER, O. Towards a phenomenological definition of the term 'gel'. **Polymer Gels Networks**, v.1, n.1, p.5. 1993.
69. NISHINARI, K. **Gels: Structures, properties, and functions**. Springer, 2009.
70. THORAT, K.; PANDEY, S.; CHANDRASHEKHARAPPA, S.; VAVILTHOTA, N.; HIWALE, A. A.; SHAH, P.; SREEKUMAR, S.; UPADHYAY, S.; PHUNTSOK, T.; MAHATO, M. Prevention of pesticide-induced neuronal dysfunction and mortality with nucleophilic poly-Oxime topical gel. **Science advances**, v.4, n.10, p.eaau1780. 2018.
71. HOFMANN, K. **Imidazole and its derivatives**. Interscience Publishers Ltd., 1953.
72. CAMPOS, R. B.; SILVA, V. B.; MENEZES, L. R.; OCAMPOS, F. M.; FERNANDES, J. M.; BARISON, A.; OLIVEIRA, A. R.; TANTILLO, D. J.; ORTH, E. S. Competitive reactivity of tautomers in the degradation of organophosphates by imidazole derivatives. **Chemistry–A European Journal**. 2020.
73. SILVA, V. B.; ORTH, E. S. IMIDAZOL E CATÁLISE: UM PAR PERFEITO. **Química Nova**, v.44, p.318. 2021.
74. CAMPOS, R. B.; MENEZES, L. R.; 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.
75. BRUICE, T. C.; SCHMIR, G. L. Imidazole catalysis. I. The catalysis of the hydrolysis of phenyl acetates by imidazole. **Journal of the American Chemical Society**, v.79, n.7, p.1663. 1957.
76. NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Artmed

Editora, 2018.

77. BLAY, V.; PEI, D. Serine proteases: how did chemists tease out their catalytic mechanism? **ChemTexts**, v.5, n.4, p.19. 2019.

78. WANDERLIND, E. H.; LIZ, D. G.; GEROLA, A. P.; AFFELDT, R. F.; NASCIMENTO, V.; BRETANHA, L. C.; MONTECINOS, R.; GARCIA-RIO, L.; FIEDLER, H. D.; NOME, F. Imidazole-functionalized pillar [5] arenes: highly reactive and selective supramolecular artificial enzymes. **ACS Catalysis**, v.8, n.4, p.3343. 2018.

79. 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.

80. FIKES, L. E.; WINN, D. T.; SWEGER, R. W.; JOHNSON, M. P.; CZARNIK, A. W. Preassociating α -nucleophiles. **Journal of the American Chemical Society**, v.114, n.4, p.1493. 1992.

81. FINA, N. J.; EDWARDS, J. O. The alpha effect. A review. **International Journal of Chemical Kinetics**, v.5, n.1, p.1. 1973.

82. DOMINGOS, J. B.; LONGHINOTTI, E.; BRANDAO, T. A.; BUNTON, C. A.; SANTOS, L. S.; EBERLIN, M. N.; NOME, F. Mechanisms of nucleophilic substitution reactions of methylated hydroxylamines with bis (2, 4-dinitrophenyl) phosphate. Mass spectrometric identification of key intermediates. **The Journal of Organic Chemistry**, v.69, n.18, p.6024. 2004.

83. 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.

84. GUPTA, S. P. **Hydroxamic Acids: A Unique Family of Chemicals with Multiple Biological Activities**. Springer, 2013.

85. YIN, Z.; XIONG, J.; CHEN, M.; HU, S.; CHENG, H. Recovery of uranium (VI) from aqueous solution by amidoxime functionalized wool fibers. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.307, n.2, p.1471. 2016.

86. KAVAKLI, P. A.; GÜVEN, O. Removal of concentrated heavy metal ions from aqueous solutions using polymers with enriched amidoxime groups. **Journal of applied polymer science**, v.93, n.4, p.1705. 2004.

87. KUBOTA, H.; SHIGEHISA, Y. Introduction of amidoxime groups into cellulose and its ability to adsorb metal ions. **Journal of applied polymer science**, v.56, n.2, p.147. 1995.

88. XIAO, S.; PAUKSTELIS, P. J.; ASH, R. D.; ZAVALIJ, P. Y.; DAVIS, J. T. Drawing with Iron on a Gel Containing a Supramolecular Siderophore. **Angewandte Chemie**, v.131, n.51, p.18605. 2019.

89. ABDELRAHMAN, M. S.; KHATTAB, T. A.; KAMEL, S. Hydrazone - Based

Supramolecular Organogel for Selective Chromogenic Detection of Organophosphorus Nerve Agent Mimic. **ChemistrySelect**, v.6, n.9, p.2002. 2021.

90. HISCOCK, J. R.; SAMBROOK, M. R.; WELLS, N. J.; GALE, P. A. Detection and remediation of organophosphorus compounds by oximate containing organogels. **Chemical Science**, v.6, n.10, p.5680. 2015.

91. HANSEN, T.; VERMEEREN, P.; BICKELHAUPT, F. M.; HAMLIN, T. A. Origin of the α - Effect in SN2 Reactions. **Angewandte Chemie**, v.60, n.38, p.20840. 2021.

92. HOSTERT, L.; ZARBIN, A. J. G.; ORTH, E. S. Hydroxamic acid-functionalized graphene thin films as nanocatalysts towards organophosphate degradation. **Journal of Physics: Materials**. 2020.

93. CHEN, M.; KANG, H.; GONG, Y.; GUO, J.; ZHANG, H.; LIU, R. Bacterial cellulose supported gold nanoparticles with excellent catalytic properties. **ACS applied materials & interfaces**, v.7, n.39, p.21717. 2015.

94. FYLAKTAKIDOU, K.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; LITINAS, K.; VARELLA, E.; NICOLAIDES, D. Recent developments in the chemistry and in the biological applications of amidoximes. **Current pharmaceutical design**, v.14, n.10, p.1001. 2008.

95. WONG, P. T.; TANG, S.; CANNON, J.; YANG, K.; HARRISON, R.; RUGE, M.; O'KONEK, J. J.; CHOI, S. K. Shielded α -nucleophile nanoreactor for topical decontamination of reactive organophosphate. **ACS Applied Materials Interfaces**, v.12, n.30, p.33500. 2020.

96. 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.

97. 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**, n.12, p.2673. 1996.

98. GÓMEZ, F. N.; COMBARIZA, M. Y.; BLANCO-TIRADO, C. Facile cellulose nanofibrils amidation using a 'one-pot' approach. **Cellulose**, v.24, n.2, p.717. 2017.

99. IBRAHIM, A. A.; ADEL, A. M.; ABD EL-WAHAB, Z. H.; AL-SHEMY, M. T. Utilization of carboxymethyl cellulose based on bean hulls as chelating agent. Synthesis, characterization and biological activity. **Carbohydrate polymers**, v.83, n.1, p.94. 2011.

100. LII, C.-Y.; TOMASIK, P.; ZALESKA, H.; LIAW, S.-C.; LAI, V. M.-F. Carboxymethyl cellulose-gelatin complexes. **Carbohydrate Polymers**, v.50, n.1, p.19. 2002.

101. XIONG, J.; LI, Q.; SHI, Z.; YE, J. Interactions between wheat starch and

cellulose derivatives in short-term retrogradation: Rheology and FTIR study. **Food Research International**, v.100, p.858. 2017.

102. AHMAD, N. H.; ISA, M. Structural and ionic conductivity studies of CMC based polyelectrolyte doped with NH₄Cl. **Advanced Materials Research**, v.1107, p.247. 2015.

103. 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.

104. PETTIGNANO, A.; CHARLOT, A.; FLEURY, E. Solvent-free synthesis of amidated carboxymethyl cellulose derivatives: Effect on the thermal properties. **J Polymers**, v.11, n.7, p.1227. 2019.

105. SARKAR, S. M.; RAHMAN, M. L.; CHONG, K. F.; YUSOFF, M. M. Poly (hydroxamic acid) palladium catalyst for heck reactions and its application in the synthesis of Ozagrel. **Journal of Catalysis**, v.350, p.103. 2017.

106. FERREIRA, J. G. L. **Catalisadores sustentáveis para degradação de organofosforados: funcionalização de resíduos celulósicos**. Dissertação (Mestrado em Química) - Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2019..

107. RAJEH, A.; MORSI, M. A.; ELASHMAWI, I. S. Enhancement of spectroscopic, thermal, electrical and morphological properties of polyethylene oxide/carboxymethyl cellulose blends: combined FT-IR/DFT. **J Vacuum**, v.159, p.430. 2019.

108. DE BRITTO, D.; ASSIS, O. B. G. Thermal degradation of carboxymethylcellulose in different salty forms. **Thermochimica Acta**, v.494, n.1-2, p.115. 2009.

109. BASTA, A. H.; EL-SAIED, H.; EL-DEFTAR, M. M.; EL-HENAWY, A. A.; EL-SHEIKH, H. H.; ABDEL-SHAKOUR, E. H.; HASANIN, M. S. Properties of modified carboxymethyl cellulose and its use as bioactive compound. **Carbohydrate polymers**, v.153, p.641. 2016.

110. ZOHURIAAN, M. J.; SHOKROLAHI, F. Thermal studies on natural and modified gums. **J Polymer Testing**, v.23, n.5, p.575. 2004.

111. LI, X. G.; HUANG, M. R.; BAI, H. Thermal decomposition of cellulose ethers. **Journal of Applied Polymer Science**, v.73, n.14, p.2927. 1999.

112. MARTELL, A. E.; HANCOCK, R. D. **Metal complexes in aqueous solutions**. Springer Science & Business Media, 2013.

113. JACUMAZO, J.; DE CARVALHO, M. M.; PARCHEN, G. P.; CAMPOS, I. M.; GARCIA, M. J. B.; BRUGNARI, T.; MACIEL, G. M.; MARQUES, F. A.; DE FREITAS, R. A. Development, characterization and antimicrobial activity of sodium dodecyl sulfate-polysaccharides capsules containing eugenol. **Carbohydrate polymers**, v.230, p.115562. 2020.

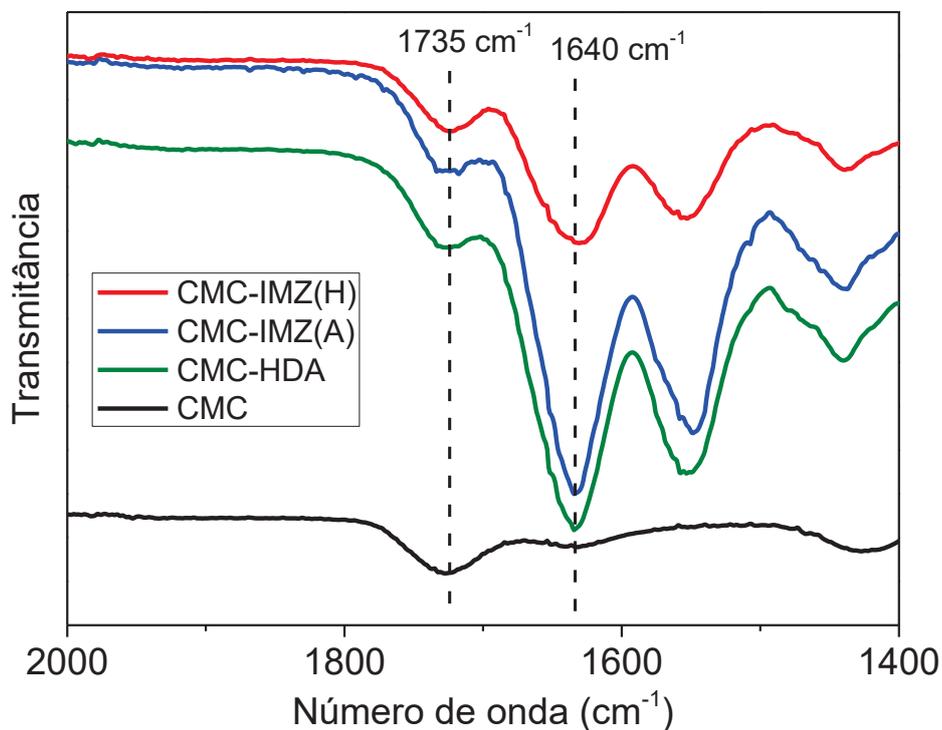
114. MARK, H.; GAYLORD, N.; BIKALES, N. In *Encyclopedia of Polymer Science*; 4ª Edição ed.; Wiley, J., Sons, I. N. Y., NY, USA, Eds. New York, United States, 2002; Vol. 4, p 697..
115. CARASCHI, J. C.; CAMPANA FILHO, S. P. Influência do grau de substituição e da distribuição de substituintes sobre as propriedades de equilíbrio de carboximetilcelulose em solução aquosa. **Polímeros**, v.9, p.70. 1999.
116. FAZARY, A. E. Thermodynamic studies on the protonation equilibria of some hydroxamic acids in NaNO₃ solutions in water and in mixtures of water and dioxane. **Journal of Chemical Engineering Data**, v.50, n.3, p.888. 2005.
117. ORTH, E. S.; CAMPOS, R. B. Multifunctional imidazole-derived polymeric catalyst for dephosphorylation reactions potentiated by cationic and anionic micelles. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.27, p.285. 2016.
118. HOOGENDAM, C.; DE KEIZER, A.; COHEN STUART, M.; BIJSTERBOSCH, B.; SMIT, J.; VAN DIJK, J.; VAN DER HORST, P.; BATELAAN, J. Persistence length of carboxymethyl cellulose as evaluated from size exclusion chromatography and potentiometric titrations. **Macromolecules**, v.31, n.18, p.6297. 1998.
119. THEISEN, A. **Refractive increment data-book for polymer and biomolecular scientists**. Nottingham University Press, 2000.
120. SHAKUN, M.; MAIER, H.; HEINZE, T.; KILZ, P.; RADKE, W. Molar mass characterization of sodium carboxymethyl cellulose by SEC-MALLS. **Carbohydrate polymers**, v.95, n.1, p.550. 2013.
121. LOPEZ, C. G.; COLBY, R. H.; GRAHAM, P.; CABRAL, J. T. Viscosity and scaling of semiflexible polyelectrolyte NaCMC in aqueous salt solutions. **Macromolecules**, v.50, n.1, p.332. 2017.
122. SOLIEVICH, B. A.; SHAVKAT, S.; SABIRKHOVICH, T. A. Secondary effects in aqueous size-exclusion chromatography of polysaccharides. **Химия растительного сырья**, n.2. 2013.
123. BOYMIRZAEV, A. S.; TURAEV, A. S. Non-Exclusion Effects in Aqueous Size-Exclusion Chromatography of Polysaccharides. **Chinese Medicine**, v.1, n.01, p.28. 2010.
124. SALIS, A.; BOSTRÖM, M.; MEDDA, L.; CUGIA, F.; BARSE, B.; PARSONS, D. F.; NINHAM, B. W.; MONDUZZI, M. Measurements and theoretical interpretation of points of zero charge/potential of BSA protein. **Langmuir**, v.27, n.18, p.11597. 2011.
125. LIU, J.; CHAI, J.; ZHANG, T.; YUAN, Y.; SAINI, R. K.; XU, M.; LI, S.; SHANG, X. Phase behavior, thermodynamic and rheological properties of ovalbumin/dextran sulfate: Effect of biopolymer ratio and salt concentration. **Food Hydrocolloids**, v.118, p.106777. 2021.

126. IAPWS. **Release on the IAPWS Formulation 2008 for the Viscosity of Ordinary Water Substance**. Disponível em: <http://www.iapws.org/release.html>. Acesso: 02/09/2021.
127. LOPEZ, C. G.; ROGERS, S. E.; COLBY, R. H.; GRAHAM, P.; CABRAL, J. T. Structure of sodium carboxymethyl cellulose aqueous solutions: A SANS and rheology study. **Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics**, v.53, n.7, p.492. 2015.
128. BEHRA, J. S.; MATTSSON, J.; CAYRE, O. J.; ROBLES, E. S.; TANG, H.; HUNTER, T. N. Characterization of sodium carboxymethyl cellulose aqueous solutions to support complex product formulation: A rheology and light scattering study. **ACS Applied Polymer Materials**, v.1, n.3, p.344. 2019.
129. LIN, Y.-H. Unified molecular theories of linear and non-linear viscoelasticity of flexible linear polymers—explaining the 3.4 power law of the zero-shear viscosity and the slip-stick melt fracture phenomenon. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v.23, p.163. 1987.
130. DOI, M. Explanation for the 3.4 - power law for viscosity of polymeric liquids on the basis of the tube model. **Polymer Science: Polymer Physics Edition**, v.21, n.5, p.667. 1983.
131. DOBRYNIN, A. V.; RUBINSTEIN, M. Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. **Progress in Polymer Science**, v.30, n.11, p.1049. 2005.
132. RUBINSTEIN, M.; COLBY, R. H. **Polymer physics**. Oxford University Press, New York, 2003.
133. WAGONER, T. B.; ÇAKIR-FULLER, E.; DRAKE, M.; FOEGEDING, E. A. Sweetness perception in protein-polysaccharide beverages is not explained by viscosity or critical overlap concentration. **Food Hydrocolloids**, v.94, p.229. 2019.
134. LOPEZ, C. G.; RICHTERING, W. Oscillatory rheology of carboxymethyl cellulose gels: Influence of concentration and pH. **Carbohydrate Polymers**, v.267, p.118117. 2021.
135. WANG, M.; JIA, X.; LIU, W.; LIN, X. Water insoluble and flexible transparent film based on carboxymethyl cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v.255, p.117353. 2021.
136. WANDERLIND, E. H. Cinética e mecanismo de hidrólise do triéster dietil 2, 4-dinitrofenil fosfato. 2014.
137. MABBITT, P. D.; CORREY, G. J.; MEIRELLES, T.; FRASER, N. J.; COOTE, M. L.; JACKSON, C. Conformational disorganization within the active site of a recently evolved organophosphate hydrolase limits its catalytic efficiency. **Biochemistry**, v.55, n.9, p.1408. 2016.
138. JIANG, L.; SUN, Y.; CHEN, Y.; NAN, P. From DNA to nerve agents—the biomimetic catalysts for the hydrolysis of phosphate esters. **ChemistrySelect**, v.5, n.30, p.9492. 2020.

139. LYAGIN, I.; EFREMENKO, E. Enzymes, reacting with organophosphorus compounds as detoxifiers: diversity and functions. **International Journal of Molecular Sciences**, v.22, n.4, p.1761. 2021.
140. SANTOS, Y. H.; MARTINEZ, A. H.; VEIGA, A. G.; ROCCO, M. L. M.; ZARBIN, A. J.; ORTH, E. S. Neighboring Effects on the Selective Bifunctionalization of Graphene Oxide for Nanocatalytic Organophosphate Neutralization. **ACS Applied Nano Materials**, v.5, n.5, p.6001. 2022.
141. 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**, v.32, n.1, p.e3866. 2019.
142. LORKE, D. E.; PETROIANU, G. A. Reversible cholinesterase inhibitors as pretreatment for exposure to organophosphates. A review. **Journal of Applied Toxicology**, v.39, n.1, p.101. 2019.
143. SILVA, V. B.; CAMPOS, R. B.; PAVEZ, P.; MEDEIROS, M.; ORTH, E. S. Nucleophilic Neutralization of Organophosphates: Lack of Selectivity or Plenty of Versatility? **The Chemical Record**, v.21, n.10, p.2638. 2021.
144. 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.

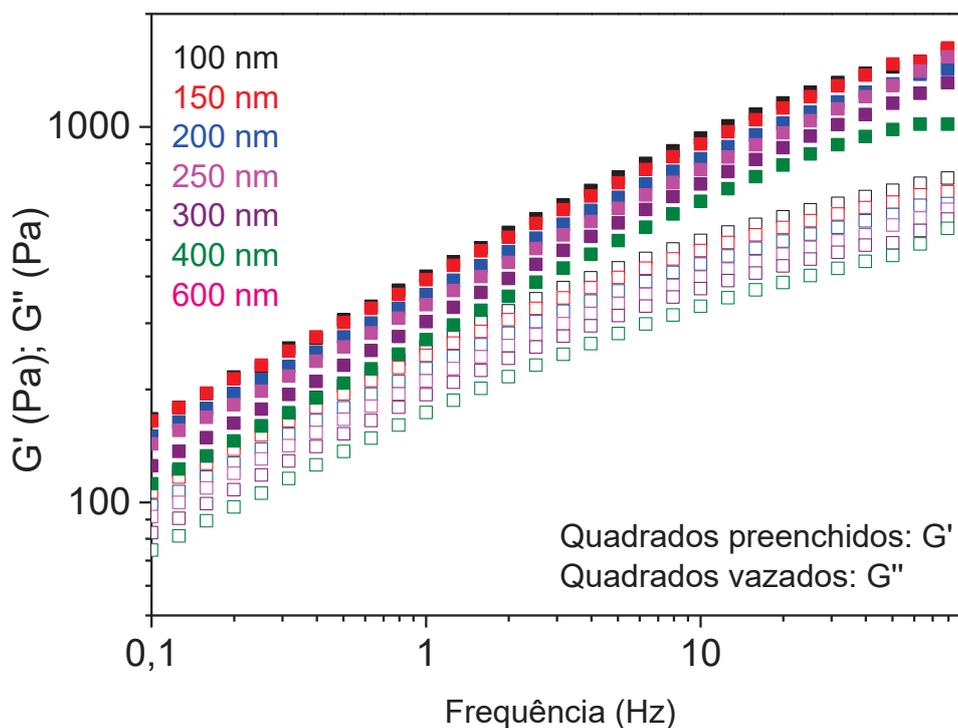
APÊNDICE – MATERIAL COMPLEMENTAR

FIGURA 1 – ESPECTROS DE FTIR DAS AMOSTRAS PREPARADAS EM pH 1,0



Fonte: Autor (2022)

FIGURA 2 – AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO GAP DA GEOMETRIA NAS ANÁLISES DE VARREDURA DE FREQUÊNCIA UTILIZANDO AMOSTRA CMC 7,0%



Fonte: Autor (2022)