



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – RIO CLARO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
– MICROBIOLOGIA APLICADA

AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO
ADSORVENTE DO CORANTE ACID BLUE 25

CAROLINA ROSAI MENDES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada.

Fevereiro
2019

CAROLINA ROSAI MENDES

**AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA COMO
ADSORVENTE DO CORANTE ACID BLUE 25**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas - Microbiologia Aplicada.

Orientador: Prof. Dr. Renato Nallin Montagnoli

Co-orientador: Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia

Fevereiro

2019

M538a Mendes, Carolina Rosai
 AVALIAÇÃO DE ESFERAS DE QUITOSANA
 COMO ADSORVENTE DO CORANTE ACID BLUE 25
 / Carolina Rosai Mendes. -- Rio Claro, 2019
 57 p. : il., tabs., fotos

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
 (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro
 Orientador: Renato Nallin Montagnolli
 Coorientador: Ederio Dino Bidoia

 1. Toxicidade. 2. Cinética. 3. Biopolímero. 4. Isotermas.
 5. *Saccharomyces cerevisiae*. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Rio Claro



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: ESTUDOS ADSORTIVOS DO CORANTE ACID BLUE 25 PELOS MATERIAIS SINTETIZADOS: ESFERAS QUATERNÁRIA, ESFERAS DE QUITOSANA E ESFERAS COM *Saccharomyces cerevisiae* IMOBILIZADA

AUTORA: CAROLINA ROSAI MENDES

ORIENTADOR: RENATO NALLIN MONTAGNOLLI

COORIENTADOR: EDERIO DINO BIDOIA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), área: Microbiologia Aplicada pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. RENATO NALLIN MONTAGNOLLI

Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação / UFSCar

Profa. Dra. DEJANIRA DE FRANCESCHI DE ANGELIS

Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro

Profa. Dra. ROSELENA FAÉZ

Departamento de Ciências da Natureza, Matemática e Educação / UFSCar

Rio Claro, 19 de fevereiro de 2019

Título alterado para: "Avaliação de esferas de quitosana como adsorvente do corante Acid Blue 25"

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu amado Guilherme Dilarri que me ajudou em todos os momentos. Obrigada por estar comigo e me fazer feliz.

Dedico igualmente esse trabalho aos meus pais, Antônio Eduardo Wolff Mendes e Paula Rosai Wolff Mendes, que eu amo muito e sempre torceram pela minha felicidade.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço aos meus pais, Antônio Eduardo Wolff Mendes e Paula Rosai Wolff Mendes, todo o amor, educação, carinho e apoio nas horas que eu mais precisei. Vocês sempre estiveram ao meu lado. Obrigada pelo amor e proteção, amo vocês!

- Agradeço ao Guilherme Dilarri, por estar sempre de mãos dadas comigo e nunca me deixou tropeçar, amo você!

- Aos meus familiares que eu amo muito: Minha querida e muito amada Vó nina e Tia Judith, Vovô, José João do Bom Fim, Flávia, Guilherme, Giovanna, Jun, Emanuela, Éder, Maurício, Tia Nadir, Tio Zezo, Aline, Felipe, Luiza, Ian.

- Aos orientadores, Prof. Dr. Renato Nallin Montagnolli e Prof. Dr. Ederio Dino Bidoia por confiar em mim e me ajudar a crescer como pesquisadora.

- Aos técnicos do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da Unesp de Rio Claro.

- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento fornecido através da bolsa de estudos.

“Se detivesse diante dos percalços da jornada, o humilde filete de água que principia a correr entre as frinchas da rocha não alcançaria o oceano.”

(Odilon Fernandes).

RESUMO

O aumento da relação produção e consumo exigem uma maior exploração dos recursos naturais e com isso a indústria têxtil gera grandes quantidades de efluentes contendo resíduos de corantes que são descartados no ambiente. Por consequência gera poluição visual no corpo do rio, além de desequilíbrio na microbiota e macrobiota. A *Saccharomyces cerevisiae* é considerado um biocatalizador de baixo custo e não patogênico. A parede da *S. cerevisiae* é descrita como capaz de adsorver as moléculas de corante. Outro material com possíveis sítios de interação com o corante é a quitosana um biopolímero derivado da desacetilação da quitina de crustáceos um resíduo pesqueiro. Uma das vantagens do uso da quitosana é a possibilidade de introduzir grupos amino quaternário na cadeia do polímero que garantem aumentar a capacidade adsortiva. Esse trabalho propõe o uso da quitosana para sintetizar esferas de quitosana, quitosana com levedura e quitosana quaternária para o uso nos tratamentos adsortivos do corante têxtil Acid Blue 25. Foram feitos estudos cinéticos, isotermas, termodinâmica, comportamento reológico da matéria, FT-IR, MEV e toxicidade. Os resultados mostraram que os adsorventes respeitaram o modelo de pseudo-segunda ordem, porém pode-se constatar também a ocorrência de difusão intrapartícula nos materiais. A aplicação da esfera de quitosana quaternária produziu melhores resultados nos estudos adsortivos e se ajustou ao modelo de Freundlich em todos os pH. Os outros adsorventes ajustaram no modelo de Langmuir em pH ácido e Freundlich em pH alcalino. Os estudos termodinâmicos confirmaram que a adsorção é uma reação endotérmica e espontânea. As análises em FT-IR confirmaram que para os materiais de esfera de quitosana e quitosna com levedura está ocorrendo quimiossorção em pH ácido devido a protonação do meio, já no pH alcalino estava ocorrendo uma físiossorção. O material de quitosana quaternária ocorre quimiossorção para ambos os pH. Os materiais apresentaram alterações no volume após a adsorção. Esse resultado se deve a hidrofiliabilidade dos materiais, principalmente as esferas de quitosana quaternária que apresentou um inchamento de $S= 5,300\%$. O MEV indicou que a quitosana quaternária possui uma superfície de contato muito maior do que os outros materiais devido à porosidade. Os materiais de quitosana com levedura e quitosana quaternária apresentaram redução da toxicidade após a adsorção. A esfera de quitosana quaternária mostrou capacidade adsortiva superior, sendo um possível material para o uso nos tratamentos adsortivos na indústria têxtil.

Palavra-chave: Toxicidade, Cinética, Biopolímero, Isotermas, *Saccharomyces cerevisiae*.

ABSTRACT

The increased production and consumption ratio require a greater exploitation of the natural resources and thus the textile industry generates large amounts of effluents containing residues of dyes that are discarded in the environment. Consequently it generates visual pollution in the body of the river, besides imbalance in the microbiota and macrobiota. *Saccharomyces cerevisiae* is considered a low-cost, non-pathogenic biocatalyst. The *S. cerevisiae* wall is described as capable of adsorbing the dye molecules. Another material with possible sites of interaction with the dye is chitosan a biopolymer derived from the deacetylation of chitin from crustaceans a fishery residue. One of the advantages of the use of chitosan is the possibility of introducing groups of quaternary ammonium in the polymer chain that confirms to increase the adsorptive capacity. This study proposes the use of chitosan to synthesize beads of chitosan, chitosan with yeast and quaternary chitosan for use in adsorptive treatments of Acid Blue 25 dye. Kinetic studies, isotherms, thermodynamics, rheological behavior of matter, FT-IR, MEV and toxicity were performed. The results showed that the adsorbents indicated the pseudo-second order model, but also the occurrence of intraparticle diffusion in the materials. The quaternary chitosan beads obtained the best results in the adsorption studies and adjusted to the Freundlich model at all pH. The other adsorbents were adjusted in the Langmuir model in acid pH and Freundlich in alkaline pH. Thermodynamic studies have confirmed that adsorption is an endothermic and spontaneous reaction. FT-IR analyzes confirmed that for chitosan and yeast chitosan beads materials chemisorption is occurring at acid pH due to protonation of the medium, already at the alkaline pH a physisorption was occurring. The quaternary chitosan material is occurring chemisorption for both pH. The materials presented changes in the volume after the adsorption. This result is due to the hydrophilicity of the materials, especially the quaternary chitosan beads which presented a 5,300% swelling. SEM indicated that quaternary chitosan has a much larger contact surface than other materials due to porosity. The chitosan materials with yeast and quaternary chitosan showed reduction in toxicity after adsorption. The quaternary chitosan beads showed superior adsorptive capacity, being a possible material for use in adsorptive treatments in the textile industry.

Keywords: Toxicity, Kinetics, Biopolymer, Isotherms, *Saccharomyces cerevisiae*.

1. INTRODUÇÃO

As atividades industriais têxteis consomem e liberam grandes volumes de água ao longo dos processos de tingimento (SALLES et al., 2006). O principal problema gerado ao utilizar todo esse volume é a contaminação dos corpos d'água.

A produção total de corantes no mundo é estimada em mais de 800.000 toneladas ao ano conforme a análise global mais recente por Revankar & Lele (2008) e cerca de 280.000 toneladas de corante excedente seguem na forma de efluente na indústria em corpos hídricos. (BRILLAS & MARTÍNEZ-HUTTLE, 2015).

Além da poluição visual, os corantes possuem compostos orgânicos tóxicos em sua molécula, tais como, BTEX (GONG et al., 2011). Esses compostos são mutagênicos e carcinogênicos. Além disso, a carga orgânica liberada junto ao efluente gera modificações no ecossistema devido ao aumento na turbidez da água, o que diminui a penetração do espectro de luz (THINAKARAN et al., 2009). Isso modifica a atividade fotossintética, o regime de solubilidade dos gases e diminui a taxa de oxigênio disponível.

A ausência de cor no efluente da indústria não resulta em uma baixa toxicidade. Isso, porque alguns processos degradam apenas o grupo cromóforo da molécula do corante, característico por alcançar um comprimento de onda referente à cor do corante no espectro visível. Portanto, a degradação parcial pode gerar subprodutos mais tóxicos do que o corante inicial como aminas primárias (MITTER et al., 2012). Sendo assim, é necessária a remoção completa da molécula do corante ou sua mineralização por processos químicos ou biológicos.

Por isso, muitos estudos associados ao tratamento de efluentes têxteis foram propostos: fotocatalise (RIBEIRO et al., 2015), eletrólise (MORAES & BIDOIA, 2015), processos microbiológicos de degradação (DELLAMATRICE et al., 2017) e adsorção (BOARDMAN et al., 2017).

O método de adsorção propõe a remoção completa das moléculas de corante a partir de uma ligação favorável com um material adsorvente. Esse método é vantajoso pela reutilização do material adsorvente, curtos períodos de tratamento, produção nula de compostos secundários tóxicos e alta seletividade (FÁVERE et al., 2010). Dentre os materiais adsorventes propostos para o tratamento de efluentes têxteis estão os lignocelulósicos (LOW et al., 2013); nanocompostos de sílicofosfato (GUPTA et al., 2014); e hidrogel de quitosana (BOARDMAN et al., 2017).

A obtenção da quitosana é dada pela desacetilação da quitina e pode ser obtida em cascas de crustáceos proveniente de resíduo pesqueiro. A presença do grupo amino também

confere à quitosana afinidade por íons das moléculas de corantes, seja por mecanismos de quelação para cátions em soluções próximas a neutralidade ou pela atração eletrostática e troca iônica para ânions em soluções ácidas. (GUIBAL, 2005). Logo, os grupamentos amino da quitosana podem ser quaternizados por uma adição de um grupo de amino quaternário. Isso permite elevar os sítios disponíveis de interação ânion-iônicas no polímero para melhorar os processos adsortivos.

A adição desse grupo indica a presença de uma carga positiva no biopolímero e por consequência um aumento no número de sítios disponíveis de interação com o corante (SZYMAŃSKA & WINNICKA, 2015).

Material com elevada capacidade adsorvente diminui o número de etapas no processo de remoção dos corantes dos efluentes. Isso conduz a um menor consumo de reagentes químicos nos tanques de equalização, facilitando o reciclo destas águas e diminuindo os custos de tratamento (FÁVERE et al., 2010).

Atualmente, é possível encontrar pesquisas envolvendo a levedura não patogênica *Saccharomyces cerevisiae* nos métodos de adsorção pela parede celular do micro-organismo, as quais possuem sítios disponíveis de interação com corantes (DILARRI et al., 2016). A quitina presente na parede celular de *S. cerevisiae* possui em torno de 10% de grupos amino livres (FLEET, 1985). Desse modo, se torna efetivamente favorável em processos adsortivos.

S. cerevisiae é uma levedura versátil e de baixo custo, não patogênica, de fácil manuseio, amplamente utilizada em vários setores industriais.

A levedura pode ser imobilizada no polímero de quitosana a fim de sintetizar um material adsortivo, com características superiores às encontradas nesses materiais separadamente. A imobilização garante a separação do material adsorvente do meio com maior facilidade em processos de tratamento, possibilitando um maior controle das células nos tanques.

A utilização de novos materiais a partir da quitosana é de grande interesse para tratamentos por adsorção em efluentes têxteis. Portanto, esse estudo visa sintetizar três tipos de materiais adsorventes na forma esférica a partir de: quitosana, quitosana imobilizadas com a levedura *S. cerevisiae* e quitosana quaternária. Os materiais foram avaliados quanto à efetividade em remover o corante Acid Blue 25.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A existência dos corantes na humanidade é datada desde o período paleolítico a cerca de 40,000 a. C. Nesse período, o homem utilizava substâncias naturalmente coloridas para criar desenhos e representações do cotidiano em gravuras rupestres encontradas nas paredes e tetos de cavernas.

A disponibilidade de cores era limitada, os principais pigmentos usados eram sangue, carvão, extratos de algumas plantas e minerais. Muitos minerais de diferentes classes e propriedades químicas eram utilizados, dentre eles os óxidos, sulfetos, carbonatos, cromatos, sulfatos, fosfatos e silicatos de metais (PEREIRA et al., 2007).

Os mais diversos tipos de corantes naturais são relatados ao longo da história da humanidade na Índia, Pérsia, Fenícia, Egito, Grécia e Roma.

Há relatos históricos que Alexandre o Grande fez uso do corante vermelho ao enganar os Persas, fazendo-os acreditar que seu exército estava ferido (DELAMARE & GUINEAU, 2000).

No antigo Egito as cores eram usadas em abundância em vestes, ornamentos, decorações e até mesmo nas mumificações com intuito de demonstrações religiosas e poder econômico.

Uma lenda grega conta que Hércules descobriu a cor púrpura, quando seu cão mordeu um caracol, o qual tingiu sua mandíbula. Essa lenda simboliza a origem da extração da coloração púrpura pelo caracol marinho *Purpura patula Pansa*, do qual era extraída uma substância que se fixava as fibras do algodão e quando oxidada produzia uma frequência de onda no espectro visível característico da cor roxo (BENDER, 1997).

No Brasil colonial o corante vermelho proveniente da madeira Pau-Barsil foi intensamente extraído e levado para ser comercializado na Europa (PINTO, 2006). Assim como o corante índigo extraído da planta *Indigofera tinctoria*, originária da Índia.

Os corantes naturais tinham um elevado valor monetário devido à difícil extração e a necessidade de grandes quantidades de matéria prima para a produção de poucas gramas de corante. Além disso, as cores eram limitadas quando comparadas com a disponibilidade de tons dos corantes sintéticos.

À medida que o algodão se tornou uma mercadoria importante na Inglaterra, também cresceu muito a demanda de tintureiros e a necessidade de corantes mais baratos. O mercado começou a crescer e as mudanças de uma economia agrária para uma economia industrial forçou a demanda por produtos químicos para branquear e tingir os tecidos.

Em 1856 foi sintetizado o primeiro corante orgânico pelo inglês William Perkin a partir do alcatrão, o produto foi batizado de Mauve (MILLS, 1987).

A descoberta de Perkin motivou uma corrida entre os químicos para conseguir sintetizar outros corantes. Em pouco tempo o uso e produção de corantes em vários países da Europa já supriam as necessidades das indústrias de tecidos.

O uso de corantes sintéticos garante custos mais baixos, cor mais intensa nos tecidos tingidos, além disso, não desbotavam facilmente.

Atualmente mais de 10.000 corantes diferentes são usados industrialmente, com uma produção mundial 800.000 toneladas anuais (REVANKAR & LELE, 2008). Entretanto representam 2% do total de vendas de produtos químicos orgânicos no mundo (ROBINSON et al., 2001). Mas isto não mostra a real importância dos corantes na vida cotidiana e na indústria química. Nas últimas décadas foram criadas novas classes de corantes para atender as necessidades atuais do mercado.

Os corantes têxteis são subdivididos em classes de acordo com a sua estrutura molecular, dentre eles estão os corantes ácidos, alcalinos, dispersivos, azóicos, diazóicos, metálicos, reativos e branqueadores (CATANHO et al., 2006).

Em geral, a cor de um corante é o resultado da interação dos grupos funcionais cromóforos e grupos aromáticos (GALINDO et al., 1999). Os grupos funcionais, denominados auxocromos, em corantes podem ser cloro, hidroxila, bromo, nitro, sulfônico, amino, metóxi, etóxi e etila (KIMURA et al., 2000). Desse modo, permitem alcançar diferentes frequências de onda no espectro visível, por conseguinte, diferentes tonalidades de cores.

Alguns corantes possuem em sua molécula um grupo eletrofílico capaz de formar ligação covalente com interações aniônicas e catiônicas (GUARATINI et al., 2000). Essas ligações garantem uma maior estabilidade entre as moléculas do corante com as fibras do tecido após os processos de tingimentos.

Apesar dos avanços realizados no setor de produção de corantes ainda existem problemas que devem ser superados no futuro para que haja um aproveitamento total das moléculas de corantes. O principal problema está nas etapas de tingimentos, onde grande parte do corante utilizado não se fixa favoravelmente as fibras do tecido e permanecem nas águas da indústria. Portanto, o setor têxtil é responsável pela geração de um grande volume de água residual industrial, com elevada carga orgânica e forte coloração (KUNZ et al., 2002).

A carga orgânica liberada altera o ecossistema, devido ao aumento de turbidez na água, dificulta a penetração da radiação solar o que gera modificações na atividade

fotossintética e o regime de solubilidade dos gases (THINAKARAN et al., 2009). Ademais, os descartes de águas residuárias têxteis, causam perigo de bioacumulação e riscos de ecotoxicidade para o meio ambiente (CONTRERAS et al., 2012).

Muitos corantes são compostos recalcitrantes e podem permanecer por mais de 50 anos na biota terrestre e aquática (GUARATINI et al., 2000). Para que o ambiente não sofra contaminação os tratamentos industriais devem ser escolhidos com cuidado.

Os tratamentos podem ser divididos em tratamentos de degradação, filtração, floculação, precipitação e adsorção. O método de adsorção é vantajoso pela reutilização do material adsorvente, curtos períodos de tratamento, produção nula de compostos secundários tóxicos e alta seletividade (FÁVERE et al., 2010).

Um dos materiais descritos na literatura como um material com ótimas qualidades para ser utilizado na adsorção é a quitosana. A quitosana é um biopolímero formado a partir da desacetilação da quitina o segundo polímero mais abundante na natureza, depois da celulose (KUMAR & SINHA, 2004). É um produto natural, de baixo custo, renovável e biodegradável. As carapaças de crustáceos são resíduos da indústria pesqueira. Portanto, seria vantajoso tratar um resíduo da indústria têxtil com um resíduo da indústria de processamentos de frutos do mar.

Este biopolímero possui uma estrutura molecular quimicamente similar à da quitina, diferenciando-se somente nos grupos funcionais.

A principal diferença entre eles é a presença de grupos amino (NH_2) na estrutura da quitosana. A quitosana é solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação do grupo amino gerando o íon NH_3^+ que confere propriedades especiais diferenciadas para a remoção de corantes (BOARDMAN et al., 2017).

Os grupos amino livres possibilitam muitas modificações químicas na estrutura da quitosana, viabilizando a introdução de novos grupos funcionais na matriz polimérica e, conseqüentemente, melhorando suas características adsorventes (CESTARI *et al.*, 2005).

Os grupos da quitosana podem ser quaternizados, o que permite aumentar os sítios ativos de interação ânion-iônicas disponíveis no polímero e desse modo, aumentar a capacidade de adsorção. Essa capacidade se deve a diversos fatores como a alta hidrofiliabilidade dos grupos hidroxilas e a estrutura flexível da cadeia na qual é capaz de adotar configurações adequadas para a complexação com íons do meio (GUIBAL, 2000). Portanto, a introdução de certos grupos funcionais em uma matriz polimérica poderá propiciar uma maior interação com o corante, melhorar sua seletividade e especificidade e conseqüentemente aumentar a sua capacidade de adsorção (KUNZ et al., 2002).

Outro material utilizado para o tratamento adsorptivo de efluentes têxteis é a levedura não patogênica *Saccharomyces cerevisiae*. Pode ser obtido em grandes quantidades na forma de produto residual da fermentação industrial a baixo custo (BRANDY, & DUNCAN, 1994). Nessa perspectiva, temos um produto adsorvente que também pode ser encontrado na forma de um resíduo com grande potencial para o uso no tratamento de efluentes têxteis.

A remoção de corantes de efluentes têxteis utilizando leveduras ocorre principalmente através de três mecanismos: Adsorção, bioacumulação e biodegradação.

A adsorção pode ser definida como uma ligação do soluto à biomassa através de um processo que não envolve transporte de energia metabólica. *S. cerevisiae* possui em sua parede celular composta de quitina muitos sítios de interações com várias moléculas de corantes, portanto o seu uso é muito vantajoso (KAUSHIK & MALIK, 2009).

A bioacumulação nos processos de tratamento utilizando a levedura ocorre a partir do acúmulo das moléculas de corantes no interior da célula (AKSU & DONMEZ, 2005). Quando a biomassa viva é utilizada a levedura tenta remover as moléculas de corante com gasto de energia pelo sistema redox, quando a molécula de corante não tem interesse metabólico.

A biodegradação é um processo dependente de energia e envolve a quebra dos corantes através da ação de várias enzimas (KAUSHIK & MALIK, 2009). A quebra completa das moléculas orgânicas com a produção de água, dióxido de carbono ou outros produtos inorgânicos é chamado de mineralização.

Por tanto, investigar novos materiais para os tratamentos adsorptivos de corante têxtil pode ampliar as perspectivas de aperfeiçoar o método de adsorção.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Sintetizar três tipos de materiais adsorventes com forma esférica a partir do biopolímero quitosana e avaliar a capacidade adsortiva dos materiais.

3.2. Específicos

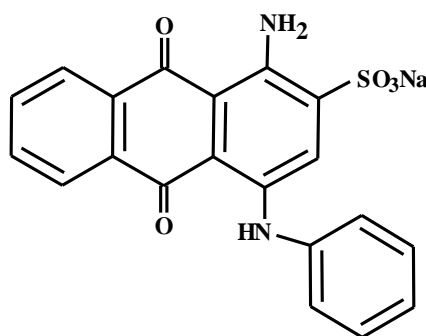
- Sintetizar três adsorventes esféricos a partir do pó de quitosana;
- Quantificar a capacidade adsortiva dos materiais em remover o corante têxtil Acid Blue 25;
- Avaliar as principais características físicas e químicas dos materiais;
- Avaliar a toxicidade do corante e após os tratamentos.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Corante

O corante Acid Blue 25 (Sigma Aldrich[®], com 40% de pureza conforme o fabricante) utilizado nesse estudo pertence ao grupo dos corantes ácidos com número de registro no banco de dados do Chemical Abstract Service (CAS) 6408-78-2, massa molar 416,38 g mol⁻¹ (Figura 1).

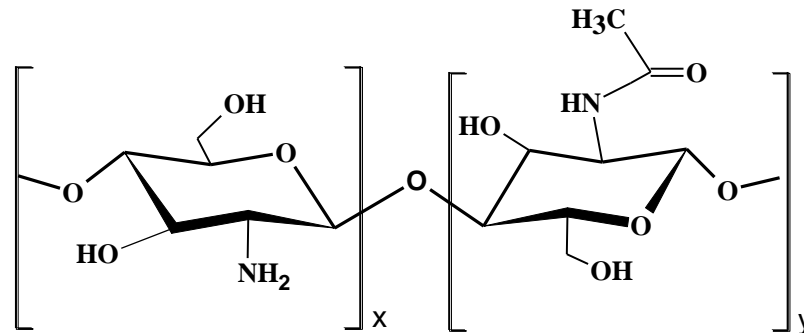
Figura 1. Estrutura química do corante Acid Blue 25. Fonte: Sigma Aldrich[®].



4.2. Quitosana

A quitosana foi adquirida da empresa Sigma Aldrich[®], sendo derivada de cascas de camarão com 90% de grau de desacetilação. Isso corresponde a 5×10^{-3} mols de grupo amino por grama. O material tem granulometria de 80 mesh, densidade de 0,38 g mL⁻¹, conteúdo máximo de 1% de cinza e pH entre 7 e 8.

Figura 2. Estrutura química da quitosana. Fonte: Sigma Aldrich®.



Grau de desacetilação $x = 90$ e $y = 10$

4.3. Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

A levedura *S. cerevisiae* foi obtida a partir do fermento biológico liofilizado comercializado pela empresa Fermix®, Ltd, Lote 507657.

4.4. Estudo do efeito do pH no corante Acid Blue 25

Foi verificado o efeito do pH a partir de possíveis alterações dos espectros em relação aos deslocamentos batocrômico (deslocamento da banda espectral para a direita) ou hipsocrômico (deslocamento da banda espectral para a esquerda) no comprimento de onda. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo com caminho óptico de 5 mm no espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu®, modelo 2401 PC), com varredura entre 300 a 800 nm.

4.5. Curva de calibração do corante Acid Blue 25

Foram realizadas diluições a partir da solução de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, cujos valores de absorvância foram estabelecidos por leituras no espectrofotômetro UV-Vis entre 300 a 800 nm. Um gráfico da reta padrão com os valores de absorvância de cada concentração foi confeccionado em *software* Origin® 6.0.

4.6. Esferas de Quitosana

Para a síntese das esferas de quitosana foi adicionado 1 g de quitosana em pó em 35 mL de solução de ácido acético a 5% (v/v). Após a formação do gel o material foi gotejado em uma solução de 250 mL de NaOH a 2,5 mol. As esferas gelificadas foram lavadas com

água destilada para neutralizar o pH. Em seguida foram secas em estufa a temperatura de 50° C por 12 horas de acordo com o método usado por Silva et al. (2015).

4.7. Esferas de quitosana quaternária

Para a quaternização foi adicionado 1 g de esfera de quitosana dispersa em 10 mL de água deionizada a 60° C com adição de 2 mL de cloreto de trimetil glicidil amônio (Sigma Aldrich®), de acordo com o método modificado a partir de Tang et al. (2016). A mistura permaneceu a mesma temperatura por 24 horas. O produto da reação foi filtrado e lavado com água destilada e seco a 50° C por 12 horas em estufa.

4.8. Esferas de quitosana com levedura imobilizada

Para a imobilização de *S. cerevisiae* na superfície da esfera foi adicionado 1 g de esferas de quitosana em 10 mL de solução salina a 0,85% e 1% de *S. cerevisiae*. A solução foi agitada por 24 horas. Uma alíquota da solução inicial e final foi retirada e analisada em espectrofotômetro UV-Vis para determinar a quantidade de células imobilizadas pelo método de transmitância. Os valores de imobilização foram calculados a partir da Equação 1.

$$Im(\%) = \frac{[Abi - (Abf - Abw)].100}{Abi} \quad (1)$$

onde, $Im(\%)$ é a percentagem de células imobilizadas, Abi é a absorvância da solução de levedura inicial, Abw é a amostra de controle contendo apenas absorvância da solução salina, e Abf é a absorvância da solução de levedura após o período de contato com as esferas.

4.9. Cinética de Adsorção

Os estudos foram realizados a pH 2,5 para que os sítios de interação do material adsorvente estivessem altamente protonados. Uma solução de 10 mL na concentração de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de corante Acid Blue 25 foi preparada e 50 mg de cada material esférico sintetizado foi adicionado em sistema de duplicata.

A cada 30 minutos uma alíquota da solução foi retirada e analisada em espectrofotômetro UV-Vis ajustado para varredura entre 300 e 800 nm. O corante adsorvido foi calculado na Equação 2.

$$qe = \frac{V.(Co - Ce)}{wi} \quad (2)$$

onde, W_i é a massa do adsorvente (mg), C_o são as concentrações inicial e C_e concentração no equilíbrio ($\mu\text{g mL}^{-1}$), V é volume (mL) e q_e é a concentração adsorvida ($\mu\text{g mg}^{-1}$).

Para uma melhor interpretação dos dados, os modelos matemáticos de pseudo-primeira ordem (Lagergren, 1898) e pseudo-segunda ordem (Ho & McKay, 1998) foram utilizados conforme as Equações 3 e 4, respectivamente.

$$\ln(q_e - qt) = \ln q_e - k_1 \cdot t \quad (3)$$

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{1}{q_e} \cdot t \quad (4)$$

onde, t é o tempo (min), qt é a quantidade de corante adsorvido no tempo t ($\mu\text{g mg}^{-1}$), k_1 é a constante da pseudo primeira-ordem (min^{-1}) e k_2 é a constante da pseudo-segunda ordem ($\text{mg } \mu\text{g}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

Para encontrar os valores das constantes k_1 , k_2 e q_e (cal), foi realizada a regressão linear de pseudo-primeira ordem ($\ln(q_e - qt) \times t$) e pseudo-segunda ordem (t/qt vs. t).

A Equação 5 proposta por Weber & Morris (1963) foi utilizada para determinar a ocorrência de difusão intrapartícula nas camadas de macroporos, mesoporos e microporos.

$$qt = Kdi \cdot t^{0.5} + C \quad (5)$$

onde, C é uma constante relacionada à espessura das camadas de difusão ($\mu\text{g mg}^{-1}$) e Kdi é a taxa de difusão intrapartícula constante ($\text{mg } \mu\text{g}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$).

A Equação 6 desenvolvida por Boyd et al. (1947) foi usada para determinar se a difusão intrapartícula é o processo controlador da adsorção.

$$Bt = -0.4977 - \ln\left(1 - \frac{qt}{q_e}\right) \quad (6)$$

onde, F é a fração de soluto adsorvido e Bt é uma função matemática de F .

Utilizando o segundo modelo matemático de Boyd (Equação 7), os coeficientes de difusão intrapartícula de cada material esférico foram calculados para avaliar se a difusão intrapartícula é um processo dominante da adsorção.

$$Di = \frac{Bb.r^2}{\pi^2} \quad (7)$$

onde, Bb é calculado a partir do gráfico de Bt em função de t ; Di é o coeficiente de difusão efetivo ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$) do corante Acid Blue 25 em na esfera e r é o raio de cada esfera (0,075 cm).

4.10. Estudo de Isoterma de Adsorção

Soluções do corante Acid Blue 25 a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram ajustadas para os valores de pH 2,5; 4,5; 6,5 e 8,5. A partir dessas soluções, os ensaios foram realizados em duplicatas para cada pH, nos quais foram adicionados 20, 30, 40, 50 ou 60 mg de cada material sintetizado esférico em diferentes frascos. Após o período de equilíbrio as alíquotas foram lidas em espectrofotômetro de UV-Vis, ajustado para a varredura entre 300 a 800 nm.

Os valores de absorbância de cada espectro foram correlacionados para avaliar a concentração de corante remanescente em solução.

O modelo matemático da equação de Langmuir (1918) (Equação 8) foi utilizado para calcular a capacidade máxima (qm) de adsorção de cada material esférico.

$$\frac{Ce}{qe} = \frac{l}{(l.qm)} + \frac{Ce}{qm} \quad (8)$$

onde, Ce é a concentração no equilíbrio, l é a afinidade entre o adsorbato e o adsorvente (mL mg^{-1}) e qm é a quantidade máxima de adsorbato removido pela adsorção ($\mu\text{g mg}^{-1}$). O Ce / qe vs. Ce permite determinar os valores de qm e l .

A Equação 9 proposta por McKay et al. (1982) foi usada para determinar o fator de separação da equação de Langmuir (Rl) e para determinar se a adsorção é favorável.

$$Rl = \frac{1}{(1+l.Co)} \quad (9)$$

Quando $Rl = 0$ a adsorção é irreversível, enquanto em $Rl = 1$ a adsorção é linear. Se $Rl > 1$ a adsorção é desfavorável e se $0 < Rl < 1$ a adsorção é favorável (McKay et al., 1982).

O modelo de Freundlich (1906) propõe que os sítios de ligação são ocupados exponencialmente, formando múltiplas camadas. Portanto, assume-se que a superfície do adsorvente seja heterogênea, com vários sítios de ligação ocupados de acordo com a intensidade da interação com o adsorbato. Nesse sentido a Equação 10 foi utilizada.

$$\ln qe = \ln Kf + \frac{1}{nf} \cdot \ln Ce \quad (10)$$

onde, nf é a constante de adsorção, Kf é a constante da capacidade adsortiva de um sólido (mL/mg^{-1}). Os valores de nf e Kf foram determinados por regressão linear ($\ln qe$ vs. $\ln Ce$).

4.11. Termodinâmica

As equações 11 e 12 de van't Hoff foram usadas para calcular os valores de entalpia e entropia nas diferentes temperaturas (10°C ; 20°C ; 30°C e 50°C). A solução do corante Acid Blue 25 na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi utilizada nos estudos em pH 4,50 com 50 mg de cada material sintetizado esférico.

$$Kts = \frac{qe}{Ce} \quad (11)$$

$$\ln Kts = \frac{\Delta S}{Rg} - \frac{\Delta H}{Rg} \cdot \frac{1}{T} \quad (12)$$

onde, Rg é a constante universal de gás ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T é a temperatura requerida em Kelvin (K) dada na equação, Kts é a constante de equilíbrio durante mudança de temperatura (mol g^{-1}), ΔS é entropia e ΔH é entalpia. O $\ln Kts$ vs. $(1/T)$ permite determinar os valores de entalpia e entropia.

A Equação 13 da energia livre de Gibbs (ΔG) (VAN'T HOFF, 1874) foi usada para calcular a espontaneidade da adsorção.

$$\Delta G = \Delta H - (\Delta S \cdot T) \quad (13)$$

4.12. Estudo do Intumescimento da Matéria

Foi realizado um estudo do intumescimento da matéria para medir a taxa de deformação dos materiais adsorventes após os processos de adsorção.

As esferas foram pesadas antes e após o contato com a solução do corante a $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, pH próximo da neutralidade, temperatura ambiente e na ausência de luz. A porcentagem de ganho de massa $S\%$ da esfera foi calculada usando a Equação 14 (GEE, 1942).

$$S\% = \frac{W - W_0}{W_0} \cdot 100 \quad (14)$$

onde, $S\%$ é o intumescimento no equilíbrio; W o peso final da esfera e W_0 o peso inicial seco.

O grau de intumescimento do material no equilíbrio é expresso pelo coeficiente de intumescimento (Q) e é determinado na Equação 15 (GEE, 1942).

$$Q = \frac{W - W_0}{W_0} \cdot \rho \quad (15)$$

onde, M_0 é a massa da esfera seca, M a massa da esfera intumescida, ρ a densidade da solução.

4.13. Espectrofotometria no Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR)

Os materiais adsorventes foram caracterizados em espectrofotômetro FT-IR (Shimadzu[®], Model IR Prestige21) antes e após contato com o corante Acid Blue 25 nos pH 2,5 e 8,5.

O equipamento foi ajustado para varredura em comprimentos de onda entre 4000 e 400 cm^{-1} . As leituras das bandas foram feitas a partir da preparação de um pellet contendo 149 mg de KBr e 1 mg de amostra do material a ser caracterizado sob compressão de 40 kN. Os pellets foram analisados no FT-IR e as bandas lidas com 4 cm^{-1} de resolução e um total de 32 scanning.

4.14. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As micrografias em MEV foram realizadas em parceria com o Departamento da Geologia UNESP de Rio Claro, SP. Cada material esférico foi fixado a um *stub* usando uma fita adesiva de carbono. A amostra foi recoberta com uma camada de 20 nm de ouro por sistema de deposição por pulverização catódica em metalizadora (BalTec[®], modelo SCD50 *sputter coater*).

A morfologia da superfície dos materiais foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (JEOL[®], modelo JSM-6360LV). O equipamento conta com detector de elétrons retro espalhado e um detector secundário acoplado a um analisador de energia dispersiva (EDS) operando em alto vácuo com uma bomba mecânica para o vácuo primário (10^{-3} Torr) e vácuo secundário (10^{-6} Torr).

As imagens foram obtidas utilizando tensão de aceleração de 5 KV e aumento médio de 400x.

4.15. Teste de Toxicidade

4.15.1. *Daphnia similis*

Para o teste de toxicidade aguda utilizou-se uma espécie de microcrustáceo de água doce *Daphnia similis* na fase jovem (6 a 24 horas de idade). Os organismos na fase de crescimento permaneceram em pH 6,70 na incubadora de temperatura controlada a 20° C, iluminação de 1000 Lux e fotoperíodo de 16 h de luz e 8 h de escuridão.

A alimentação neste período foi uma suspensão de 2 mL da microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* na concentração de 3×10^7 /mL (determinada por contagem microscópica em placa de Petroff-Hausser) e 1 mg de ração para peixes.

D. similis foi exposto a diferentes concentrações do corante Acid Blue 25 por um período de 48 horas para determinar a concentração letal média (CL₅₀) e a concentração letal máxima (CL₁₀₀) determinada pelo método Trimmed Spearman-Kärber descrito por Corso e Almeida (2009). Uma amostra de concentração conhecida de dodecilsulfato de sódio (NaC₁₂H₂₅SO₄) foi usada como controle.

O teste de toxicidade foi também realizado após tratamento com os três materiais adsorvente. Assim, 10, 20 e 30 mg de cada adsorvente esférico foram adicionados em 100 mL de corante à mesma concentração dada pela CL₅₀ a pH 6,70 no tempo de equilíbrio determinado no estudo cinético. O material adsorvente foi separado da solução e *D. similis* permaneceu em contato com as soluções por 48 h a 20° C. Após, o número de organismos vivos foi contado.

Os testes foram realizados com três repetições e submetidos a dados estatísticos não paramétricos utilizando o método de Kruskal-Wallis no programa BioEstat 4.

4.15.2. *Lactuca sativa*

Para o teste foram utilizadas sementes *Lactuca sativa* da marca Isla Park® Lote 21302 sem defensivos agrícolas, índice de 98% de desempenho germinativo e 100% de pureza. As sementes não possuem melhoramento genético ou transgênico.

As placas de Petri foram preparadas com papel de filtro recortado e colocado em seu fundo e estas foram esterilizadas antes do uso.

O papel de filtro de cada placa foi embebido através da adição de 3 mL de cada amostra a ser testada nas placas de Petri e em seguida alocadas as 20 sementes em triplicata.

Após período de 72 horas foram realizadas medidas das radículas com régua, o valor anotado em centímetros, e verificado quantas sementes germinaram para realização do cálculo

(MONTEIRO & DELLAMATRICE, 2006). Como controle positivo foi utilizado sulfato de zinco 0,05 mol/L e como controle negativo, água deionizada.

O procedimento segue de acordo com o teste descrito por Sobrero & Ronco (2008) e Monteiro & Dellamatrice (2006) com modificações e visa através dos cálculos de Germinação Relativa (Equação 5) e Elongação Radicular Relativa (Equação 6). O fator entre a alongação da radícula e germinação de sementes é avaliado pelo Índice de Germinação (Equação 7) (ARAUJO, 2010).

$$\text{Germinação Relativa (\%)} = \frac{\text{Número de Sementes Germinadas na Amostra}}{\text{Número de Sementes Germinadas no Controle}} * 100 \quad (5)$$

$$\text{Elongação Radicular Relativa (\%)} = \frac{\text{Elongamento Médio na Amostra}}{\text{Elongamento Médio no Controle}} * 100 \quad (6)$$

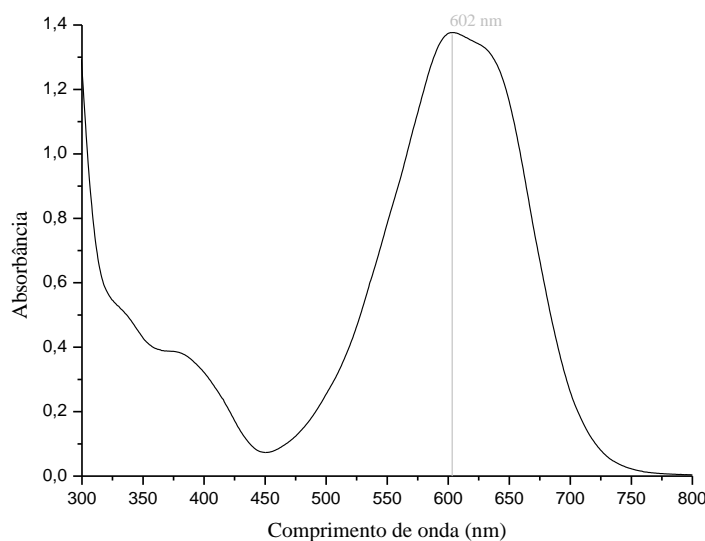
$$\text{Índice de Germinação (\%)} = \frac{\text{Germinação Relativa(\%)*Elongação Radicular Relativa(\%)}}{100} \quad (7)$$

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudos do corante

O corante Acid Blue 25, não apresentou variações de absorvância ou deslocamento no comprimento de onda, característicos de efeitos batocrômico ou hipsocrômico em função do pH. O comprimento de onda máxima da solução do corante se estabeleceu em 602 nm (Figura 3).

Figura 3. Espectro de absorvância do corante Acid Blue 25. Fonte: O autor.



Na curva de calibração os parâmetros para a equação da reta foram $R=0,9984$, coeficiente linear (a) $-2,61204$; o coeficiente angular (b) $84,33734$; as leituras de absorvância (y) nos estudos de isoterma e cinética; e os valores da concentração do corante (x).

5.2. Imobilização de *S. cerevisiae* por contato

O índice de imobilização celular na superfície do suporte esférico mostrou-se bastante favorável sendo $Im = 74,24\%$.

Esse resultado se deve ao mecanismo de adesão celular que ocorre a partir da atração eletrostática da área superficial e da composição química do suporte de quitosana (WENDHAUSEN, 2001).

A carga da superfície da célula pode ser avaliada com base no potencial zeta ou carga líquida superficial (ζ) que é o potencial elétrico da região de interface entre a superfície da levedura e o ambiente aquoso (ARAUJO et al., 2010).

Células de levedura possuem uma carga de superfície eletrostática negativa quando estão em pH fisiológicos (ROUXHET & MOZES, 1990). Além disso, a parede celular da *S.*

cerevisiae é composta de mananoproteínas, β -(1,6)-glucan, β -(1,3)-glucan e grupos fosfóricos localizados na membrana celular que influenciam a electronegatividade da superfície celular (MAGNELLI et al., 2002).

Com relação à atração eletrostática, o ζ relacionado tanto ao suporte de quitosana quanto à superfície celular, desempenham importante papel na imobilização (WENDHAUSEN, 2001). Essa atração mútua desenvolve uma interação de longo alcance, indispensável para a imobilização.

As células são atraídas pelo ζ oposto encontrado na superfície da esfera de quitosana. Desse modo, a competição entre os íons encontrados na superfície celular resulta no estabelecimento de uma dupla camada elétrica interfacial, sendo uma camada externa e uma interna.

A camada externa se projeta para o ambiente aquoso de solução salina e consiste em uma distribuição mais difusa de ânions e cátions que participam de interações eletrostáticas entre a célula e a superfície carregada da esfera de quitosana (WENDHAUSEN, 2001).

Mesmo que a superfície da esfera de quitosana e a célula de levedura tenham o ζ de mesmo sinal, ainda sim, pode ocorrer à aproximação pela quantidade de células já aderidas ao suporte esférico de quitosana. Além disso, a atração gravitacional devido à diferença de massa da esfera em relação à célula pode ser relacionada como uma grande força de adesão.

A molécula de quitosana é um copolímero composto por N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose e 2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose, onde os dois tipos de unidades de repetição estão ligadas por (1 \rightarrow 4)- β -glicosídica, estas unidades estão distribuídas em diferentes graus, dependendo do grau das porções acetiladas (FLEET, 1985). Assim como a maioria dos polissacarídeos e proteínas, a quitosana é constituída de cadeias poliméricas individuais que são mantidas juntas por ligações dipolo-dipolo e forças de van der Waals.

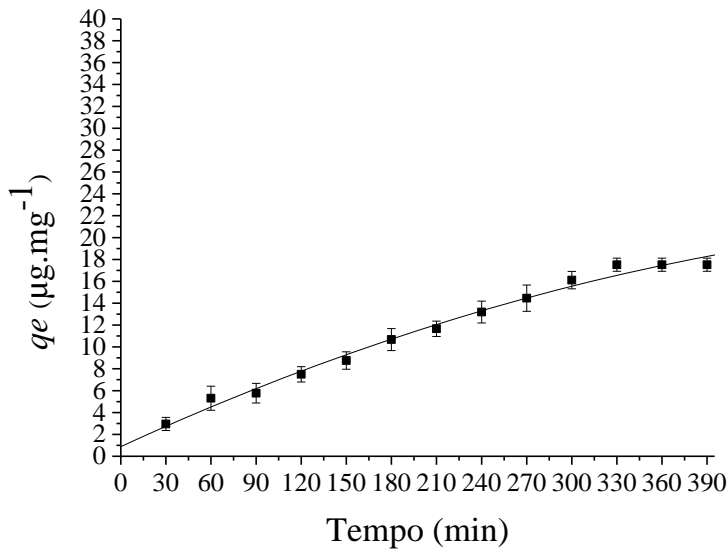
A quitosana possui cargas positivas na estrutura da cadeia do biopolímero principalmente pelos grupamentos amina NH_2 que estão presentes em grande quantidade e são facilmente protonados a NH_3^+ .

Portanto, a imobilização por contato de células de *S. cerevisiae* no suporte esférico de quitosana é viável e nesse estudo obteve resultado favorável com alto índice de adesão no suporte esférico de quitosana.

5.3. Estudo Cinético de Adsorção

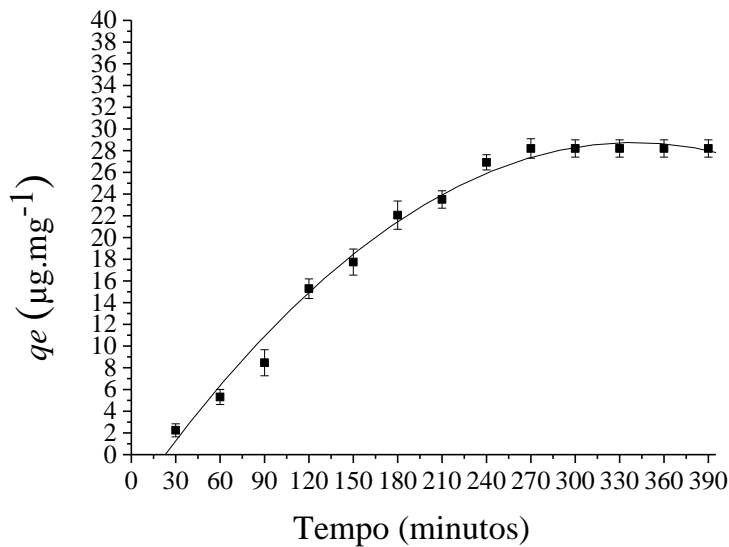
O estudo cinético indicou que as esferas de quitosana atingiram o equilíbrio de adsorção em 330 min de acordo com os últimos três pontos em estabilização, sendo $q_{e(\text{exp})}=17,518 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R=0,980$ (Figura 4).

Figura 4. Cinética de adsorção das esferas de quitosana. Fonte: O autor.



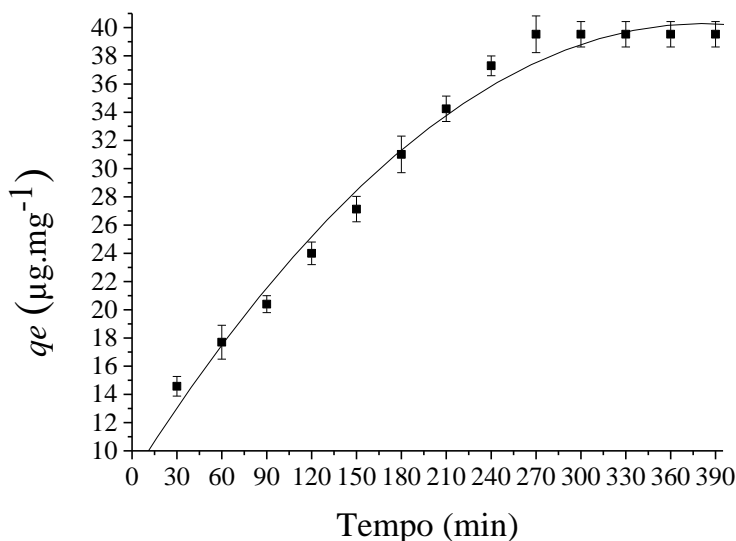
As esferas de quitosana com levedura atingiram o equilíbrio de adsorção em 300 minutos e teve um $q_{e(\text{exp})}= 28,207 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,989$ (Figura 5).

Figura 5. Cinética de adsorção das esferas de quitosana com levedura. Fonte: O autor.



As esferas de quitosana quaternária atingiram o equilíbrio de adsorção em 300 minutos e teve um $q_{e(\text{exp})} = 39,527 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R = 0,985$ (Figura 6).

Figura 6. Cinética de adsorção das esferas de quitosana quaternária. Fonte: O autor.



Os modelos matemáticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem de cada material foram aplicados para uma análise mais detalhada dos resultados.

Os valores de $q_{e(\text{cal})}$ no modelo de pseudo-segunda ordem também foram mais próximos dos valores de $q_{e(\text{exp})}$ de todos os materiais esféricos utilizados nesse estudo. Esse resultado confirma o melhor ajuste a esse modelo. Além disso, os valores de R também tiveram os melhores ajustes no modelo de pseudo-segunda ordem (Tabela 1).

Esse resultado indica a ocorrência de quimiossorção, uma vez que o modelo de pseudo-segunda ordem assume que a adsorção é controlada por processos de interações químicas (YAN et al., 2012).

É possível que o corante penetre nas camadas dos materiais adsorventes, com a ocorrência de difusão intrapartícula.

A ligação química do corante no sítio de interação do material esférico ocorre rapidamente, conforme os valores de k_2 do modelo de melhor ajuste.

Tabela 1. Valores dos parâmetros cinéticos. Fonte: O autor.

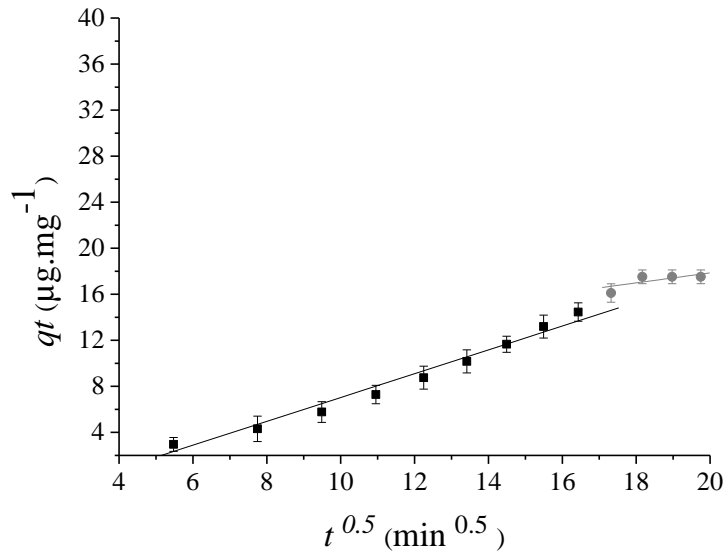
Material esférico	Pseudo-primeira ordem				Pseudo-segunda ordem			
	k_1 (min^{-1})	$q_{e(\text{cal})}$ ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	R	SD	k_2 ($\text{mg } \mu\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$)	$q_{e(\text{cal})}$ ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	R	SD
Quitosana	0,00459	28,378	0,945	0,879	0,00012	25,248	0,969	0,612
Quitosana Levedura	0,00694	25,789	0,970	0,779	0,00025	31,753	0,985	0,651
Quitosana Quaternária	0,00707	28,833	0,970	0,948	0,00023	43,078	0,982	0,525

Os processos cinéticos são frequentemente controlados por difusão. A transferência da massa externa pode ocorrer durante os processos de adsorção em um sistema sólido-líquido, nos quais o adsorbato é difundido internamente no adsorvente (MCKAY et al., 1982).

As Figuras 7,8 e 9 mostram as duas camadas de penetração adsortiva que confirmam a ocorrência de difusão intrapartícula. Sendo que a primeira reta é a camada limite na região de macroporo seguida da próxima reta que preenche a camada de mesoporo. Nesse caso, os materiais só alcançaram a adsorção de equilíbrio quando o corante atinge a camada de mesoporo.

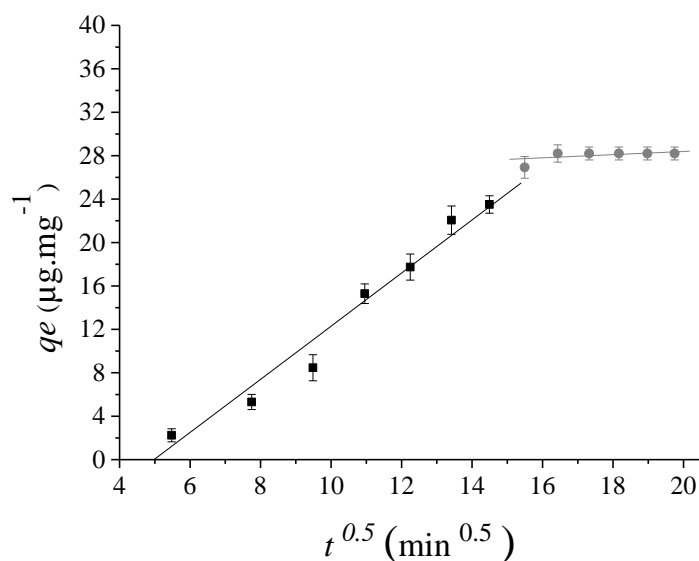
No gráfico de difusão intrapartícula do material esferas de quitosana (Figura 7), os valores da camada de macroporo são $Kdi= 1,034 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 3,320 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,982$, $SD= 0,882$ e os valores da camada de mesoporo são $Kdi= 0,433 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 9,186 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,710$, $SD= 0,804$.

Figura 7. Modelo cinético de difusão intrapartícula do corante Acid Blue 25 em contato com o material de esferas de quitosana. Fonte: O autor.



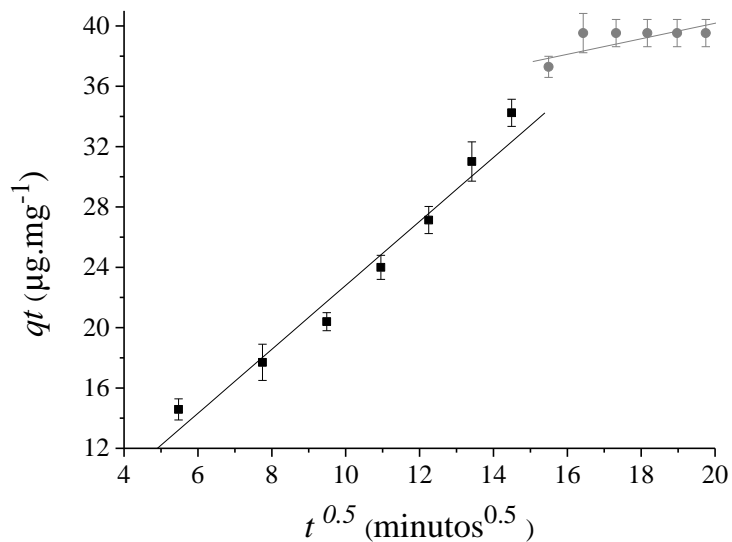
No gráfico de difusão intrapartícula do material esferas de quitosana com levedura, o valor da camada de macroporo é $Kdi= 2,446 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 12,175 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0.989$, $SD= 1,651$ e o valor da camada de mesoporo é $Kdi= 0.147 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 25,446 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,756$, $SD= 0,805$ (Figura 8).

Figura 8. Modelo cinético de difusão intrapartícula do corante Acid Blue 25 com o material adsorvente de esferas de quitosana com levedura. Fonte: O autor.



No gráfico de difusão intrapartícula do material esferas de quitosana quaternária, o valor da camada de macroporo é $Kdi= 2,119 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 1,607 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,980$, $SD= 1,022$ e o valor da camada de mesoporosa é $Kdi= 0,513 \mu\text{g mg}^{-1} (\text{min}^{0.5})^{-1}$, $C= 29,899 \mu\text{g mg}^{-1}$, $R= 0,806$, $SD= 1,807$ (Figura 9).

Figura 9. Modelo cinético de difusão intrapartícula do corante Acid Blue 25 com o material adsorvente esferas de quitosana quaternária. Fonte: O autor.



Todos os valores de Kdi na camada de macroporo foram maiores que os valores de Kdi na camada de mesoporo. Isso indica que o corante é adsorvido primeiro na superfície (macroporo), seguido de difusão intrapartícula (mesoporo).

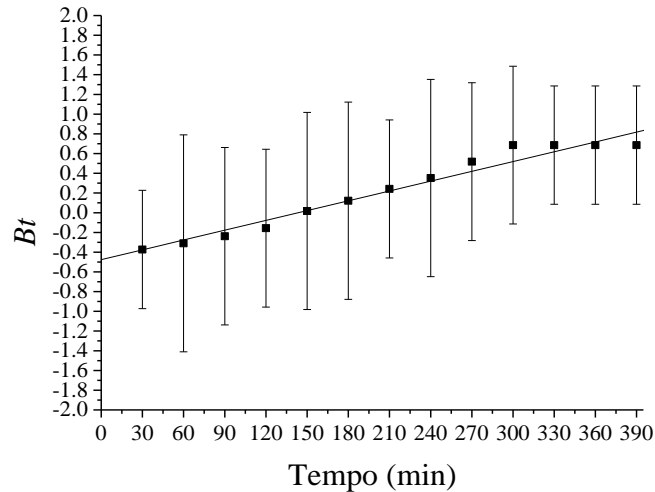
A difusão intrapartícula termina na camada de mesoporos e não segue para a próxima camada de microporo devido os valores de C que indicam que a espessura na camada de mesoporo é maior que a primeira camada de macroporo. Portanto, a difusão intrapartícula sofre maior resistência na segunda camada e limita o alcance da próxima camada interna.

As Figuras 10, 11 e 12 mostram o gráfico da equação de Boyd (Bt vs. t). Todos apresentam como resultado a pendente do ajuste da reta que atravessa o valor 0 no eixo Y. Este resultado sugere que o processo de adsorção é controlado pela difusão intrapartícula e há existência de sítios de interação interna para os três materiais adsorventes.

Mediante a análise do gráfico da equação de Boyd (Bt vs. t), foi possível determinar o valor de $Bb= 0,00332$. O $Di= 1,8921 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, o que significa que apenas um sítio de

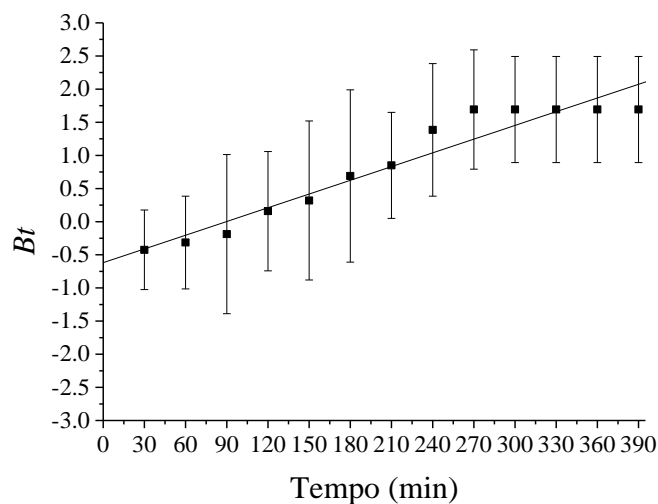
ligação externa está interagindo com o adsorvente, descrito por Crini & Badot (2008) (Figura 10).

Figura 10. Gráfico da equação de Boyd do corante Acid Blue 25 em contato com o material esférico de quitosana. Fonte: O autor.



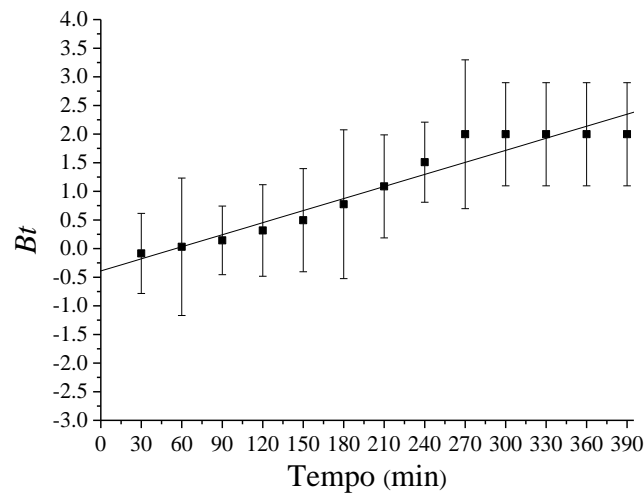
Quando os valores de D_i permanecem no máximo em $10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ o processo de adsorção é controlado pela difusão intrapartícula. Porém, valores de D_i superiores a $10^{-11} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ significam que provavelmente a adsorção ocorreu em maior parte na superfície do adsorvente (SINGH et al., 2003). Na Figura 11 foi calculado o valor de $Bb= 0,00690$ e $D_i= 3,9325 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Figura 11. Gráfico da equação de Boyd do corante Acid Blue 25 com o material adsorvente esferas de quitosana com levedura. Fonte: O autor.



Na Figura 12 foi calculado o valor de $Bb=0,00702$ e $Di= 4,0009 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

Figura 12. Gráfico da equação de Boyd do corante Acid Blue 25 com o material adsorvente esferas de quitosana quaternária. Fonte: O autor.



5.4. Estudo de isotermas de adsorção

As isotermas de Langmuir e Freundlich foram capazes de determinar a capacidade de adsorção dos materiais esféricos em relação às mudanças de pH e verificar as afinidades de cada material. Além disso, também foi possível determinar o tipo de interação química ou física, seja por monocamadas ou multicamadas (Tabela 2).

As esferas de quitosana e quitosana com levedura mostraram isotermas características de Freundlich nos pH 6,5 e 8,5 de acordo com o coeficiente R . Esse resultado indica que mais de um sítio adsorvente com interações laterais por múltiplas camadas são formados durante os processos de adsorção. Os sítios interagem com o corante por fisiosorção.

Nos pH 2,5 e 4,5, as esferas apresentaram características de isoterma de Langmuir de acordo com o coeficiente R . Este resultado indica que sítios específicos no adsorvente estão disponíveis durante os processos de adsorção. Logo, ocorreram interações de monocamadas por quimiosorção.

Os valores de qm de todos os materiais foram superiores em pH mais ácidos. Esse resultado confirma que a adsorção é mais eficiente em um pH ácido, pois aumenta a interação entre o corante e o material adsorvente devido ao aumento da protonação de sítios específicos. Os valores de Rl mostraram que a adsorção ocorre em todos os pH para todos os materiais.

Nas esferas de quitosana quaternária, os resultados se ajustaram em isotermas de Freundlich para todos os pH de acordo com o coeficiente R . Este resultado mostra que as interações são por múltiplas-camadas.

A capacidade de adsorção K_f diminuiu com o aumento do pH devido à diminuição de sítios de ligação em pH alcalinos, o que desfavorece a adsorção.

Os valores de nf se estabeleceram entre $0 < 1$ nos pH 2,5 a 6,5 para as esferas de quitosana e esferas de quitosana com levedura, indicando que as interações adsorbato/adsorvente ocorreram por quimior sorção. Em pH 8,5, $nf > 1$, indicando que as interações ocorreram por fisior sorção.

Tabela 2. Valores das isotermas de Langmuir e Freundlich para os estudos de isotermas de adsorção.

Fonte: O autor.

pH	Material esférico	Isoterma de Langmuir					Isoterma de Freundlich			
		Rl	qm	l	R	SD	K_f	nf	R	SD
Esferas quitosana										
2,5		0,173	19,61	0,173	0,987	1,9	8,469	0,487	0,931	0,20
4,5		0,490	3,583	0,010	0,988	0,94	3,596	0,226	0,984	0,16
6,5		0,500	1,001	0,009	0,985	2,81	4,719	0,776	0,997	0,18
8,5		0,495	0,511	0,010	0,970	4,36	1,419	1,001	0,977	2,97
Esferas quitosana Levedura										
2,5		0,252	50,33	0,029	0,988	2,01	19,279	0,358	0,981	1,32
4,5		0,664	21,61	0,005	0,950	1,04	6,379	0,797	0,905	0,95
6,5		0,505	1,258	0,009	0,861	3,81	1,643	0,148	0,922	0,86
8,5		0,380	1,400	0,016	0,974	1,25	1,296	1,758	0,976	0,93
Esferas quitosana quaternária										
2,5		0,425	116,5	0,023	0,914	2,12	42,100	0,862	0,964	0,95
4,5		0,467	96,74	0,011	0,957	1,10	5,124	0,345	0,969	0,95
6,5		0,444	45,78	0,012	0,908	2,07	2,255	0,542	0,972	1,09
8,5		0,434	12,54	0,012	0,789	2,93	1,332	0,747	0,970	2,09

5.5. Estudos Termodinâmicos

Os experimentos não foram realizados no valor de pH de melhor desempenho adsorativo devido à instabilidade da esfera de quitosana quaternária quando submetida à 50° C. Desse modo, optou-se pelo pH 4,5 que apresentou estabilidade do material em todas as temperaturas.

As características de um material adsorvente podem ser expressas por parâmetros termodinâmicos, como a variação da energia livre de Gibbs (ΔG); entalpia (ΔH); entropia (ΔS) mostrada na Tabela 3.

Tabela 3. Valores das constantes termodinâmica dos diferentes materiais adsorventes testados
Fonte: O autor.

Material Adsorvente (esferas)	ΔS (cal.mol ⁻¹)	ΔH (cal.mol ⁻¹)	ΔG (kcal.mol ⁻¹)			
			283,15 K (10 °C)	293,15 K (20 °C)	303,15 K (30 °C)	323,15 K (50 °C)
Quitosana	0,188	59,565	6,332	4,452	2,572	-1,187
Quitosana Levedura	0,118	39,015	5,603	4,423	3,243	0,883
Quitosana Quaternária	0,201	57,969	1,055	-0,954	-2,964	-6,984

Todos os materiais tiveram valores de ΔS positivos, o que indica adsorção. Os valores de ΔH podem também ser usados como medida de interação de força entre adsorbato e adsorvente, dando uma indicação de força de ligação (CRINI & BADOT, 2008).

Como resultado, as esferas de quitosana e quitosana quaternária possuíam força de ligação entre o corante e o material adsorvente maior do que as esferas de quitosana com levedura.

Os valores positivos de entropia indicam uma aleatoriedade nas ligações da interface sólido-líquido, mostrando a existência de mais de um local onde ocorre ligação do adsorbato (DILARRI et al., 2016).

O valor de ΔG foi calculado a partir da suposição que a adsorção de uma molécula é reversível. Além disso, quanto mais negativo ΔG a altas temperaturas, maior é a força motriz

da adsorção. Como resultado, as esferas de quitosana quaternária possuíam uma força motriz de adsorção superior à dos demais materiais.

A energia livre de Gibbs diminuiu conforme o aumento da temperatura dos ensaios, confirmando que a adsorção entre o adsorbato/adsorvente foi uma reação espontânea. Além disso, os decréscimos dos valores demonstraram uma alta afinidade com os materiais sintetizados.

Os estudos termodinâmicos indicaram que os três materiais sofreram influência da temperatura. Ao elevar a temperatura promove uma maior agitação molecular do adsorbato, o que permite aumentar a probabilidade de colisões entre os sítios ativos disponíveis no adsorvente. Portanto, os resultados indicaram que os processos de adsorção do corante nos três materiais esféricos são de natureza espontânea e endotérmica.

5.6. Estudo do Intumescimento da Matéria

Os polímeros sofrem diversos tipos de deformações em virtude da complexidade da geometria molecular, e respondem com um comportamento da matéria (BRILLAS et al., 2015).

Quando uma pequena tensão é aplicada a um material polimérico, uma deformação se inicia. O material irá continuar a se deformar até que as tensões moleculares (internas) se estabeleçam e se equilibrem com as tensões externas (FLORY, 1953).

Quando a tensão é removida, parte da deformação se recupera instantaneamente, outra parte se recupera com o tempo e em alguns materiais ocorre uma deformação permanente (GUERRA et al., 2004). Neste estudo, os materiais adsorventes apresentaram variações nos parâmetros mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros do comportamento reológico da matéria. Fonte: O autor.

Material esférico	Diâmetro inicial (mm)	<i>SD</i>	Diâmetro final (mm)	<i>SD</i>	Massa inicial (mg)	<i>SD</i>	Massa final (mg)	<i>SD</i>	<i>S</i> %	<i>Q</i> (mg/cm ³)
Quitosana	0,75	0,10	1,00	0,25	1,15	0,10	3,50	0,55	204,34	2,04
Quitosana Levedura	0,75	0,10	0,85	0,20	1,30	0,25	3,00	0,70	130,76	1,30
Quitosana Quaternária	0,75	0,20	6,50	0,80	1,75	0,30	94,50	3,80	5.300,00	53.000,00

Os processos de deformação dos materiais adsorventes ocorrem em duas etapas: a primeira etapa consiste no intumescimento do polímero e a segunda na imobilidade das moléculas no equilíbrio (MONASH & PUGAZHENTI, 2009).

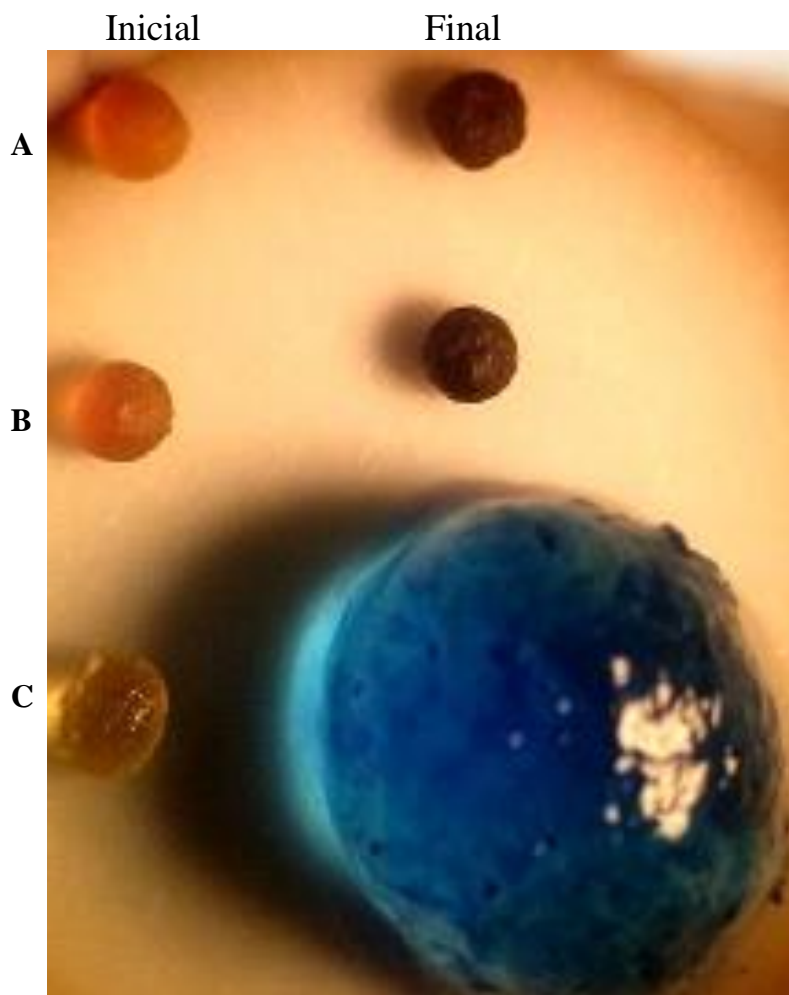
O ganho de volume desproporcional da esfera quaternária se deve a hidroflicidade do material. As moléculas de água são atraídas por interações eletrostáticas entre os grupos reativos hidroxila e o íon do grupo amino substituído presentes no polímero e resulta no intumescimento do material.

O volume aprisionado de água entre a rede do polímero força a mesma a se distender. A elevada pressão interna gera o aumento do volume da esfera até que as forças internas e externas se equilibrem. Desse modo, pode-se dizer que as ligações estruturais do polímero estão estendidas ao máximo, sendo a pressão de água insuficiente para romper as ligações da cadeia do polímero. Esse equilíbrio de forças garante o formato esférico do polímero.

Após remover a esfera da solução, as tensões de deformação cessam e a esfera volta a sua massa e diâmetro inicial.

No caso das esferas de quitosana e quitosana com levedura, seus materiais também apresentam o mesmo comportamento hidrofílico, entretanto os sítios de interação disponíveis estão em menor número. Desse modo, o número de moléculas de água dentro do polímero não resulta em uma pressão capaz de distender as cadeias do polímero igual aos da esfera de quitosana quaternária (Figura 13).

Figura 13. Fotografia dos materiais esféricos no tempo inicial com o final dos processos adsortivos: (A) esfera de quitosana; (B) esfera de quitosana com levedura; (C) esfera de quitosana quaternária. Fonte: O autor.



5.7. Estudo espectrofotométrico em FT-IR

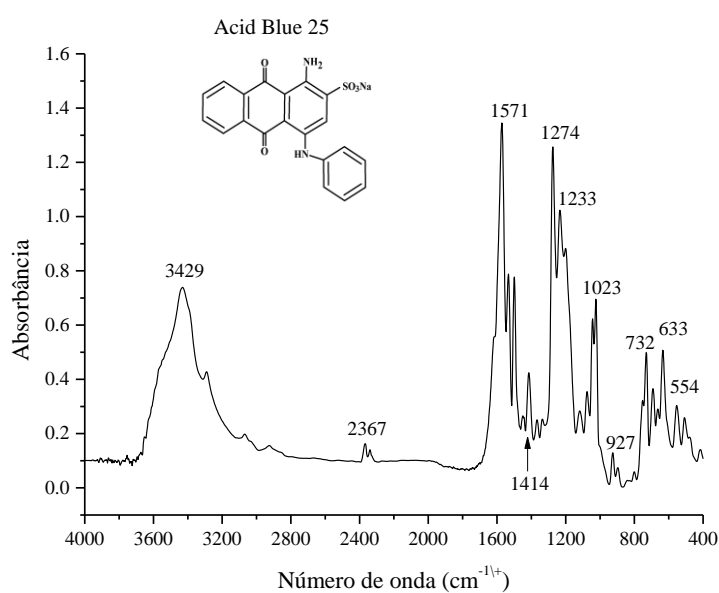
Os espectros de FT-IR são como impressões digitais de moléculas, qualquer alteração nas bandas é devido a uma conexão ou interação com outra molécula (DILARRI et al., 2016). Desse modo, as análises em FT-IR revelam quais grupos químicos estão influenciando nos processos adsortivos.

A Figura 14 indica a caracterização espectrofotométrica de FT-IR do corante Acid Blue 25. O corante exibiu uma banda intenso a 1571 cm^{-1} , isto representa o grupo carboxílico $-\text{COOH}$. Outra banda intensa foi em 1274 cm^{-1} que indica a presença do epóxi de estiramento $-\text{C}-\text{O}$. O pico 1414 cm^{-1} pode ser atribuído à curvatura de $\text{N}=\text{O}$ que sugere que algum

hidrogênio do grupo hidróxi transformado no grupo nitro correspondente. A banda em 1233 cm^{-1} representa vibração de carbono em anéis aromáticos.

As bandas 1023 e 633 cm^{-1} representam a vibração e o estiramento dos grupos sulfônicos no corante. As bandas 2367 e 3429 cm^{-1} são resíduos de CO_2 presente no ar e aminas primárias presente na amostra, respectivamente.

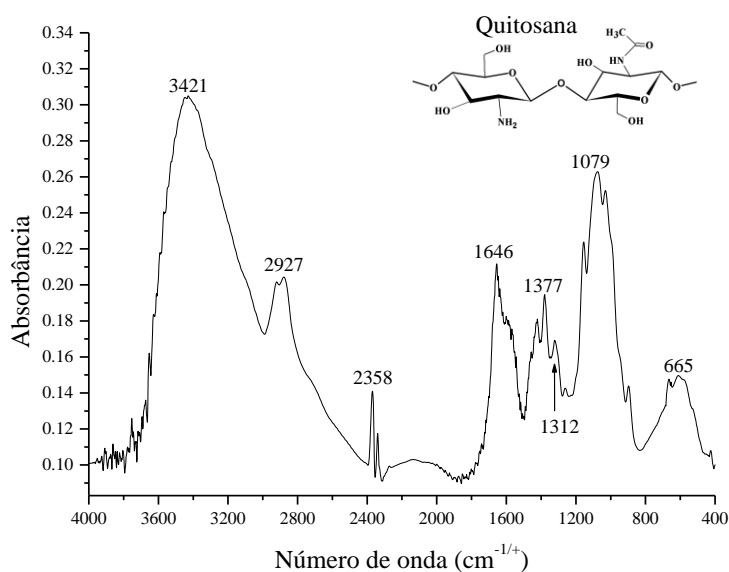
Figura 14. Espectro de FT-IR do corante Acid Blue 25. Fonte: O autor.



Na figura 15 mostra o espectro de FT-IR do material quitosana antes dos processos adsorptivos. Foram observados bandas nas regiões em 2927 , 1646 , 1377 , 1079 e 665 cm^{-1} foram identificados respectivamente como $-\text{OH}$, $-\text{NH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{C-O}$ e $-\text{C-OOH}$, todos grupos característicos da molécula de quitosana.

O pico de 1312 cm^{-1} indica vibrações nas ligações de carbono em grupos cíclicos. As regiões de 2358 e 3421 cm^{-1} indicaram resíduos da atmosfera carbono e amina primária.

Figura 15. Espectro de FT-IR da esfera de quitosana. Fonte: O autor.



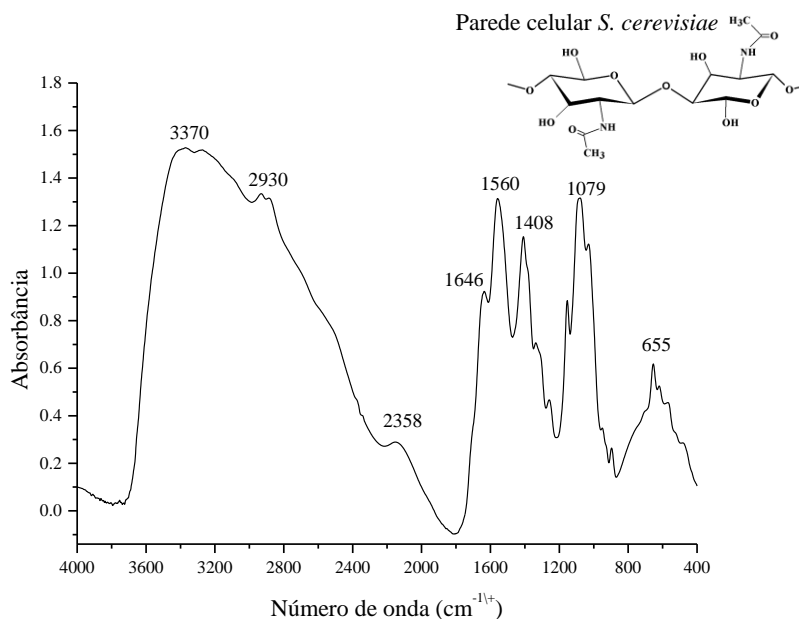
A Figura 16 mostra o espectro do material de quitosana com imobilização celular. É possível ver muitos picos semelhantes aos encontrados no espectro de quitosana, isso ocorre devido aos grupos químicos presentes na parede celular composta de quitina.

A banda em 655 cm^{-1} representa a vibração do grupo $-\text{C}-\text{NH}_2$, presente tanto no material suporte como na parede celular.

As bandas em 1646 e 1560 cm^{-1} correspondente a $-\text{NH}$ e $-\text{C}-\text{O}-\text{CH}_3$ presentes na parede celular. A banda 1408 cm^{-1} é a vibração do alongamento simétrico de $-\text{COOH}$. As bandas em 2358 e 3370 cm^{-1} são resíduos de carbono e aminas primárias da amostra.

Figura 16. Espectro de FT-IR da esfera de quitosana com levedura imobilizada.

Fonte: O autor.

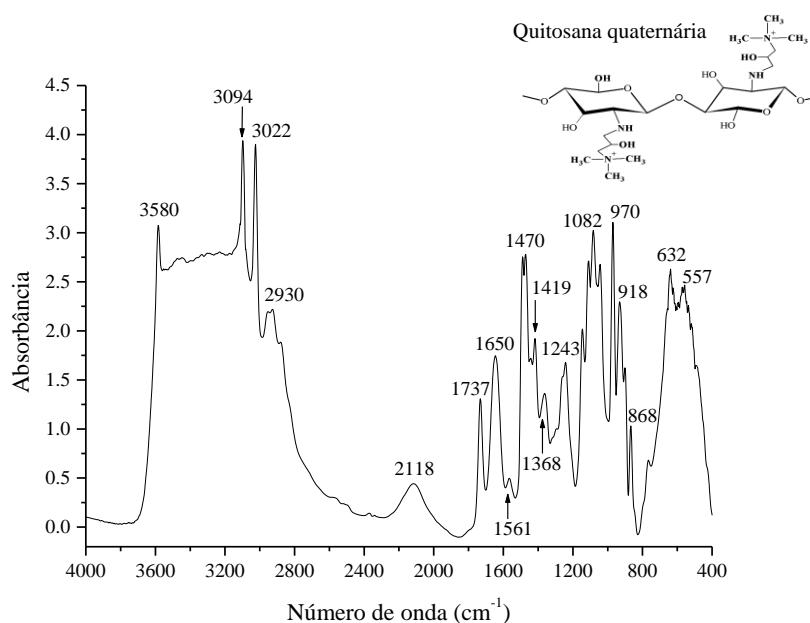


A Figura 17 mostra o espectro do material de quitosana quaternária, a banda 3580 cm⁻¹ demonstra a estrutura da ligação entre o oxigênio e o hidrogênio (grupo hidroxila) presente na estrutura do material. As bandas em 3094 e 3022 cm⁻¹ são carbono e aminas primárias. A banda 2930 cm⁻¹ está associado a vibrações por estiramento do -CH e na região 2118 cm⁻¹ são leituras residuais de carbono do ambiente.

Em 1419 cm⁻¹ aparece um pico referente à deformação axial do -C-N. A banda 1368 cm⁻¹ é atribuído a vibração de pequena intensidade de -C-H (grupo CH₃) em relação ao grupo acetamido restante presente na cadeia polimérica.

Isso ocorre porque a quitosana não é completamente desacetilada. A banda 1082 cm⁻¹ está associado à vibração do grupo -C-O. A banda 918 cm⁻¹ representa a deformação das ligações -C-H no anel aromático. A banda 633 cm⁻¹ representa a vibração e a deformação angular do anel aromático.

Figura 17. Espectro de FT-IR da esfera de quitosana quaternária. Fonte: O autor.



O FT-IR foi uma ferramenta útil nesse estudo para identificar possíveis ligações ou deformações no material devido os processos adsorptivos.

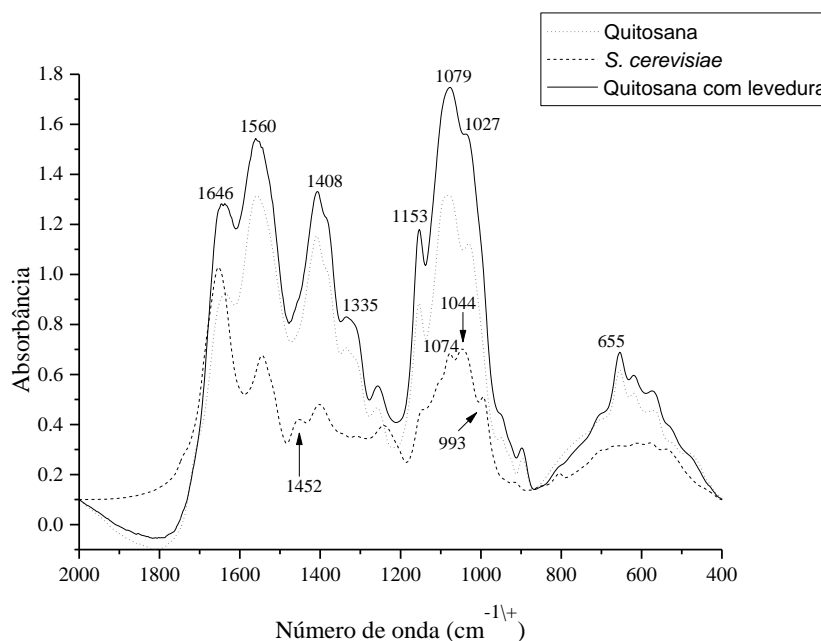
Portanto foi possível indicar a ocorrência de modificações química ou ligações físicas baseadas nas alterações dos espectros antes e após a adsorção.

A figura 18 mostra as alterações no espectro referentes ao processo de imobilização celular no suporte. A banda 1452 cm^{-1} característico de vibração do grupo $\text{C}=\text{C}$ no anel aromático presente na quitina da parede celular desaparece após o contato com a quitosana. Assim como a banda 993 cm^{-1} de forte intensidade característica do grupo $\text{C}=\text{CH}_2$ que também desaparece após contato com a quitosana.

As bandas em 1074 cm^{-1} e 1044 cm^{-1} ocorrem deformações e diminuições na intensidade. Essas regiões representam as vibrações do grupo $-\text{C}-\text{O}$, característico da configuração molecular β ($1 \rightarrow 3$) glucano presente na parede celulares da levedura (PEAT et al., 1958).

É possível afirmar que as deformações indicam alteração eletrostática, portanto, o processo de imobilização por contato se dá por ligação química. Os dados de FT-IR indicam que a imobilização se dá principalmente pelos grupos presentes no anel aromático da quitina da parede celular. Esse dado confirma a imobilização eletrostática pelo potencial ζ devido à diferença de carga na superfície da parede celular que permite a adesão favorável ao suporte.

Figura 18. Espectro de FT-IR do processo de imobilização da *S. cerevisiae* na esfera de quitosana. Fonte: O autor.



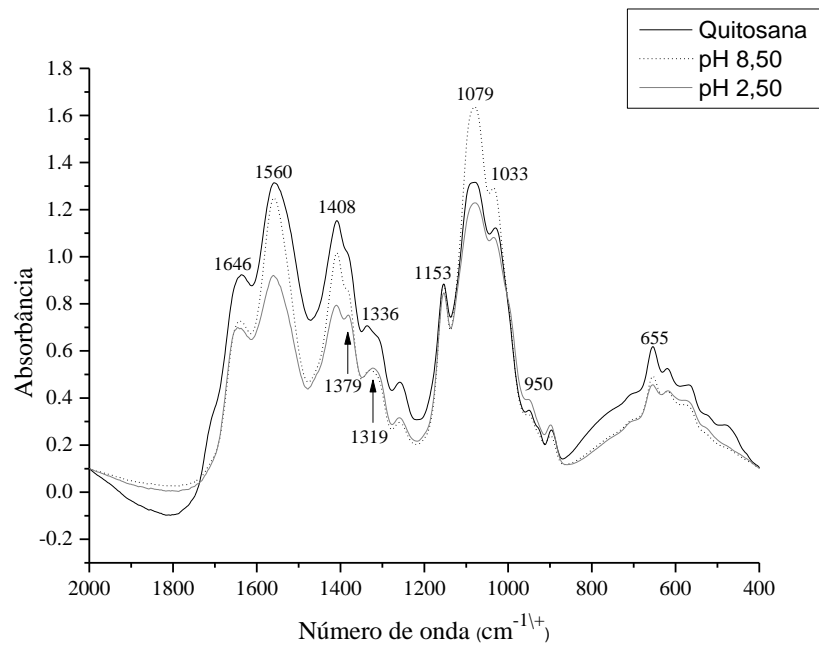
A Figura 19 compara os espectros em FT-IR da adsorção utilizando o material quitosana em pH ácido e alcalino. As bandas em pH 8,50 não apresentaram deformação quando comparada com o adsorvente antes da adsorção. As bandas em 1079 e 1033 cm⁻¹ apresentam uma alta intensidade e representam vibrações do grupo –C–O.

Esse dado indica uma possível interação física do corante com o adsorvente. É sugerida uma interação dos elétrons da dupla π planar que orbitam o anel aromático do corante sendo atraídos pelos grupos da cadeia cíclica da quitosana. Portanto, o corante é adsorvido por leves deslocamentos de carga, sendo uma atração de fraca intensidade. Pode-se afirmar que está ocorrendo uma físiissorção durante os processos adsortivos em pH alcalino.

As bandas em pH 2,50 apresentaram deformação e deslocamento em 1379, 1319 cm⁻¹, respectivamente –NH₂, –COOH. As alterações no espectro indicam uma interação química entre o corante e o adsorvente em pH ácido.

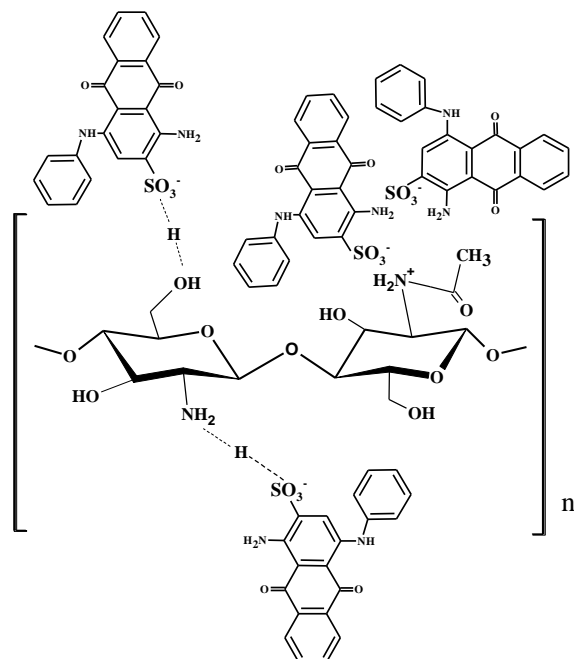
O corante Acid Blue 25, possui um grupo sulfônico reativo (–SO₃Na) que confere solubilidade em meio aquoso. Em solução o íon sódio (Na⁺) dissocia-se e propicia o aparecimento do grupo sulfônico (–SO₃⁻), capaz de formar ligações de caráter iônicas. Além disso, quando o pH da solução é acidificado aumenta as quantidades de íons H⁺ que interfere na protonação dos grupos amino e hidroxila presente na quitosana e aumenta as interações adsorbato/adsorvente.

Figura19. Espectros de FT-IR da esfera de quitosana após adsorção do corante em diferentes pH. Fonte: O autor.



A Figura 20 mostra as interações entre os grupos funcionais da quitosana e o corante Acid Blue 25 de acordo com os resultados obtidos no estudo de FT-IR.

Figura 20. Possível ligação entre o grupo amino da quitosana e o grupo sulfônico da molécula do corante Acid Blue 25. Fonte: O autor.



Foi observado na Figura 21 deformações no espectro do material quitosana com levedura imobilizada após adsorção em pH ácido e modificações na intensidade das bandas em pH alcalino.

Em pH 2,5 ocorre uma deformação nas bandas em 1646 e 1560 cm^{-1} correspondentes aos grupos $-\text{NH}$ e $-\text{CO}-\text{CH}_3$ que estão presentes na quitina da parede celular da levedura e no biopolímero. Foi observado um deslocamento na banda 1333 cm^{-1} e um o alongamento da ligação $-\text{C}-\text{NH}$, o que reforça o mecanismo de interação desse grupo com o corante.

A banda 1253 cm^{-1} mostra a vibração da ligação $-\text{C}=\text{O}$, outro grupo químico presente na quitina e em várias outras moléculas da estrutura da parede celular da levedura. A banda 655 cm^{-1} característico de estiramento $-\text{C}-\text{N}-\text{C}$ presente nas proteínas das células de *S. cerevisiae*, apresenta deformações leves no espectro. A banda 612 cm^{-1} apresenta deformação, esse região representa o alongamento dos grupos sulfônicos $-\text{SO}_3$ pertencentes ao corante. É possível que esse grupo esteja interagindo por troca ou compartilhamento de elétrons com o material adsorvente.

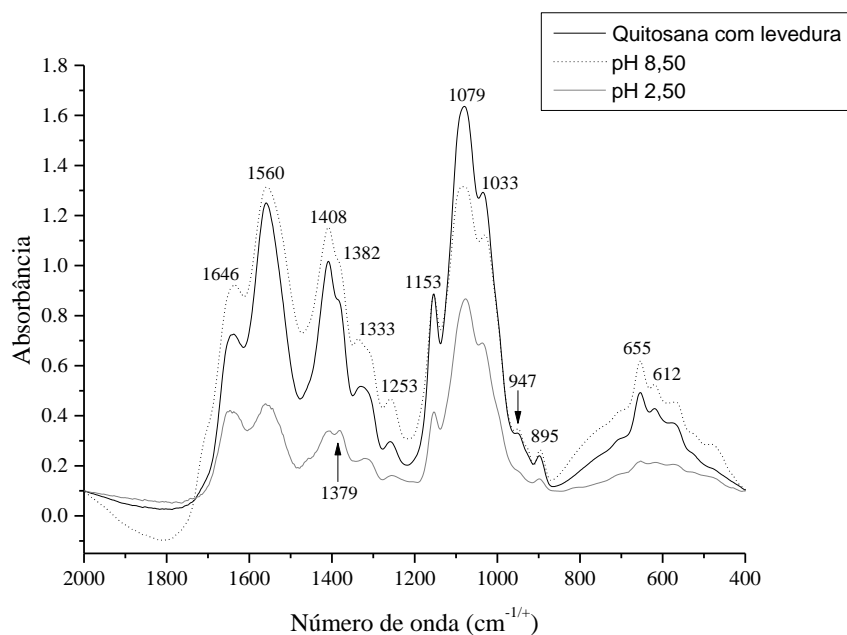
A banda 993 cm^{-1} de intensidade fraca no grupo $\text{C}=\text{CH}_2$ desaparece, sendo outro grupo de interação com o corante. A banda 1408 cm^{-1} é a vibração do estiramento simétrico do grupo $-\text{COOH}$. Também ocorre o aparecimento da banda 1379 cm^{-1} característico do grupo $-\text{CH}_3$ o que indica fortes interações nessa região.

Em pH acidificado ocorre uma interação química com vários grupos presente na quitina e na parede celular da levedura. Esse resultado confirma a ocorrência de quimiossorção indicado pelo modelo de Langmuir no estudo de isotermas.

O espectro de adsorção FT-IR a pH 8,5 não mostrou qualquer alteração.

No entanto ocorre aumento da intensidade de algumas bandas que indica maior presença desses grupos químicos. Este resultado confirma a ocorrência de físiossorção, assim como os resultados obtidos nos estudos das isotermas de Freundlich.

Figura 21. Espectros de FT-IR da esfera de quitosana com levedura imobilizada após adsorção do corante em diferentes pH. Fonte: O autor.



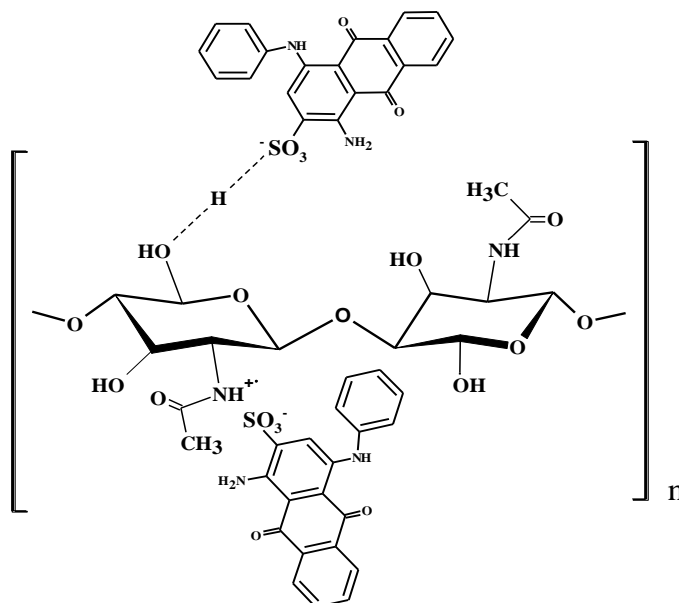
De maneira geral, a parede celular da levedura é considerada o local de prevalência de sítios de ligação de corantes, tais como os grupos químicos acetamido, amido, fosfato, amino, amina, sulfidril, carboxila e hidroxila (VOLESKY et al., 1995). Desse modo, argumentam-se junto as bandas do espectro de FTIR as interações com o corante e a parede celular.

A figura 22 mostra os possíveis mecanismos de interações do corante com a superfície da parede celular de *S. cerevisiae* representando as possíveis interações do material de quitosana com levedura imobilizada.

Em meio ácido os grupos funcionais presente na parede celular permite uma interação mais eficiente com o corante. Portanto, o meio ácido induz as interações eletrostáticas que resultam na protonação dos grupos amino e hidroxila presentes tanto na quitosana como na parede da levedura.

Os grupos funcionais são carregados positivamente causando o surgimento de fortes interações entre as valências livres dos grupos amino (NH_3^+) com os ânions dos grupos radicais sulfônico ($-\text{SO}_3^-$) pertencentes no corante (Figura 16).

Figura 22. Possível ligação de hidrogênio do grupo hidroxila da quitina presente na parede celular de *S. cerevisiae* e o grupo sulfônico da molécula do corante. Fonte: O autor.



A Figura 23 mostra a diferença da adsorção do material de quitosana quaternária nos pH 2,50 e 8,50. Em ambos os pH, a banda 1650 cm^{-1} relacionado com o alongamento C=O e 1561 cm^{-1} vibrações do grupo R-NH têm os picos reduzidos. Isto ocorre devido às ligações do corante ao grupo amino.

Em pH ácido, as bandas em 1082 e 1032 cm^{-1} desaparecem, referentes ao estiramento -C-O devido ao alto número de bandas sobrepostas, o que dificulta sua identificação nessa região.

Nesta região também aparecem as bandas de deformação angular -CH, referente ao ciclohexano do biopolímero.

Em ambos os pHs as bandas em 766 e 557 cm^{-1} desapareceram. A banda 557 cm^{-1} é a vibração do grupo -C-NH₂ que indica fortes ligações químicas com o grupamento sulfônico pertencente ao corante. O que explica o pico nessa região desaparecer após os processos adsorptivos.

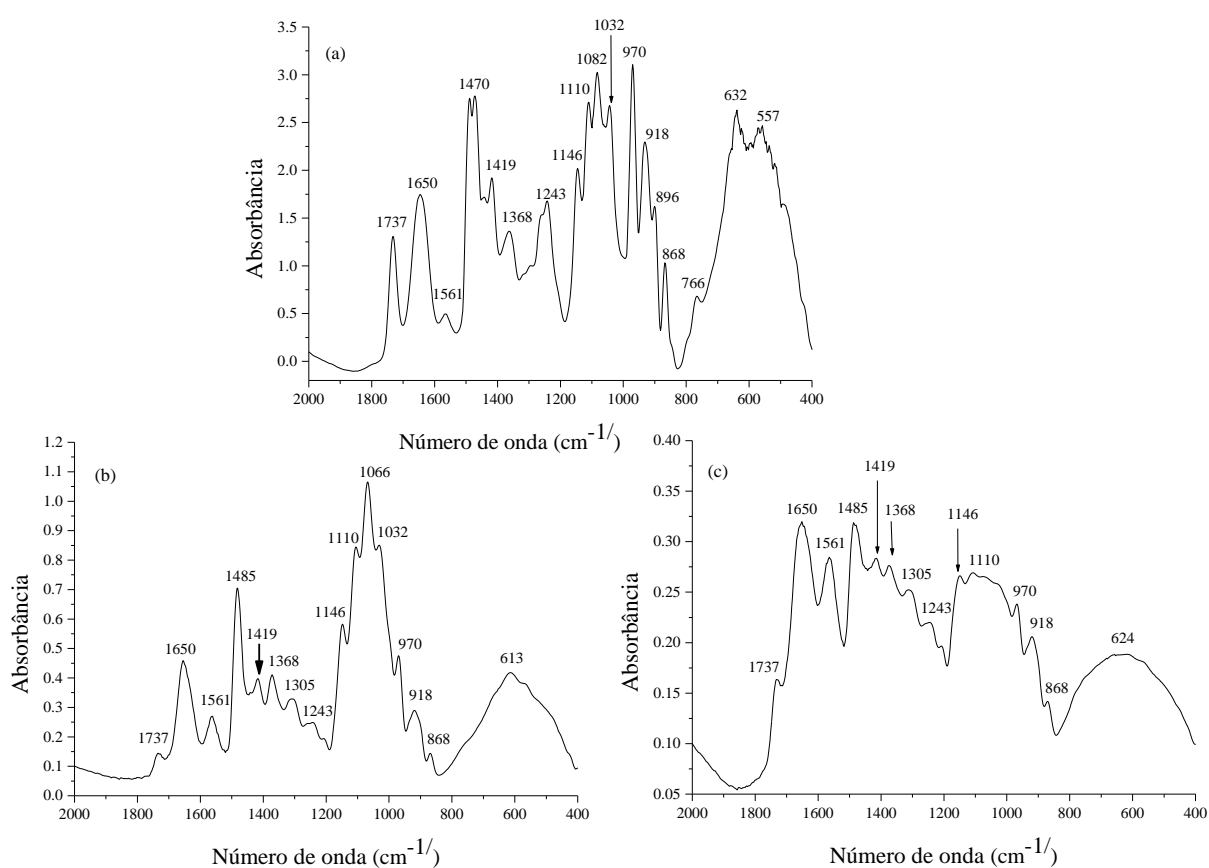
A região de 632 cm^{-1} representa a vibração angular e o estiramento do anel aromático do polímero devido às interações do corante nos radicais do anel.

Observou-se um deslocamento de frequência na faixa 1470 cm^{-1} para 1485 cm^{-1} correspondente às vibrações dos grupos amida em pH 8,50 e 2,50. Além disso, também ocorre deslocamento na região de 632 cm^{-1} para 613 cm^{-1} em pH 8,5 e um deslocamento para 624

cm^{-1} em pH 2,5. O desaparecimento da banda 766 cm^{-1} a ambos os pH representam uma deformação $-\text{C}-\text{H}$ tipicamente encontrado em anel monossustituído.

O aparecimento da banda 1305 cm^{-1} em ambos os pH está relacionado com a deformação angular assimétrica no plano dos grupos sulfônicos, o que indica a forte presença de corante Acid Blue 25 quimicamente ligado a biopolímero.

Figura 23. Espectros de FT-IR da esfera de quitosana quaternária (a) após adsorção do corante em pH alcalino (b) e pH ácido (c). Fonte: O autor.

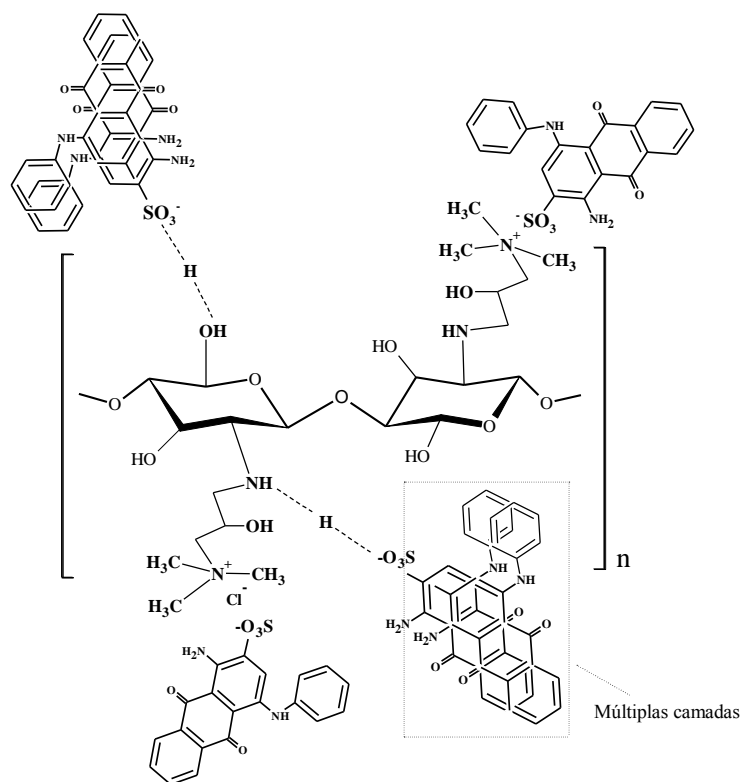


A Figura 24 mostra a possível formação de múltiplas camadas entre o corante e o material de quitosana quaternária. A presença de muitos grupos funcionais amino e hidroxila permitem ligações químicas e interações catiônicas com a molécula do corante.

As moléculas de corante podem sofrer sobreposição de uma ligação eletrostática na região π planar do anel aromático presente em outra molécula de corante. Essa formação gera múltiplas camadas.

Quando o processo de adsorção ocorre na superfície de um sólido, pode haver ligações químicas entre a valência livre do sólido e o corante.

Figura 24. Possíveis ligações entre o corante e o material de quitosana quaternária com formação de múltiplas camadas. Fonte: O autor.

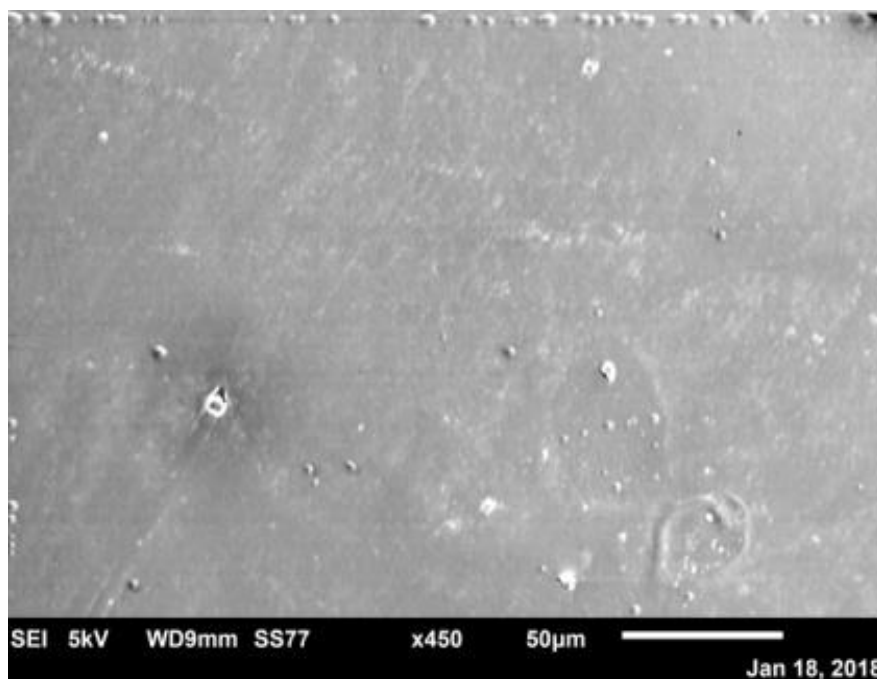


5.8. Estudos de MEV

A figura 25 mostra a micrografia da superfície do material esférico de quitosana. A superfície não apresenta irregularidades ou poros.

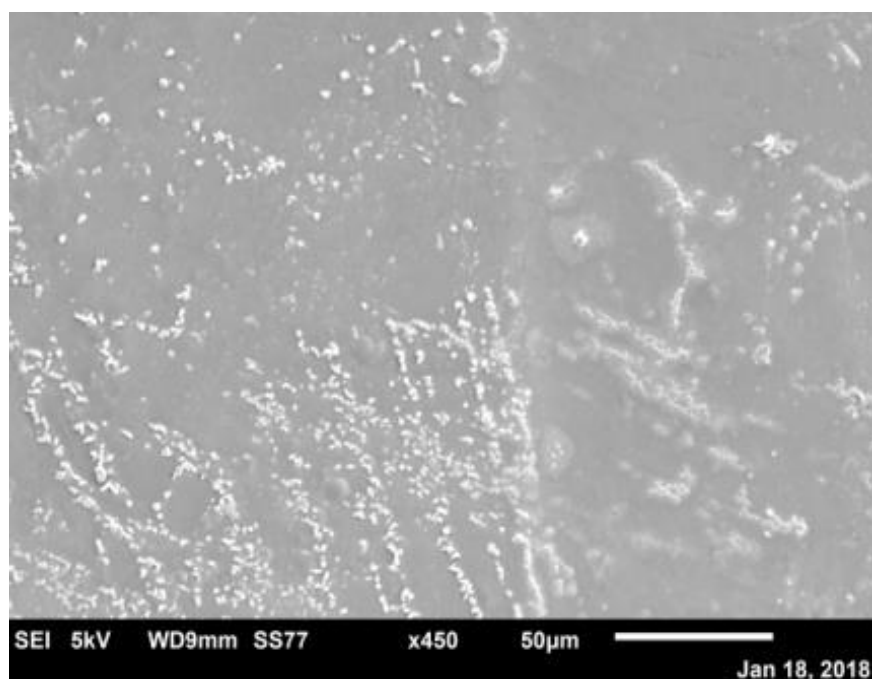
Figura 25. Microscopia eletrônica de varredura da esfera de quitosana.

Fonte: O autor.



A figura 26 mostra a micrografia da superfície da quitosana com levedura imobilizada. É possível visualizar as células de levedura no material, esse resultado confirma a imobilização.

Figura 26. Microscopia eletrônica de varredura da esfera de quitosana com levedura imobilizada. Fonte: O autor.

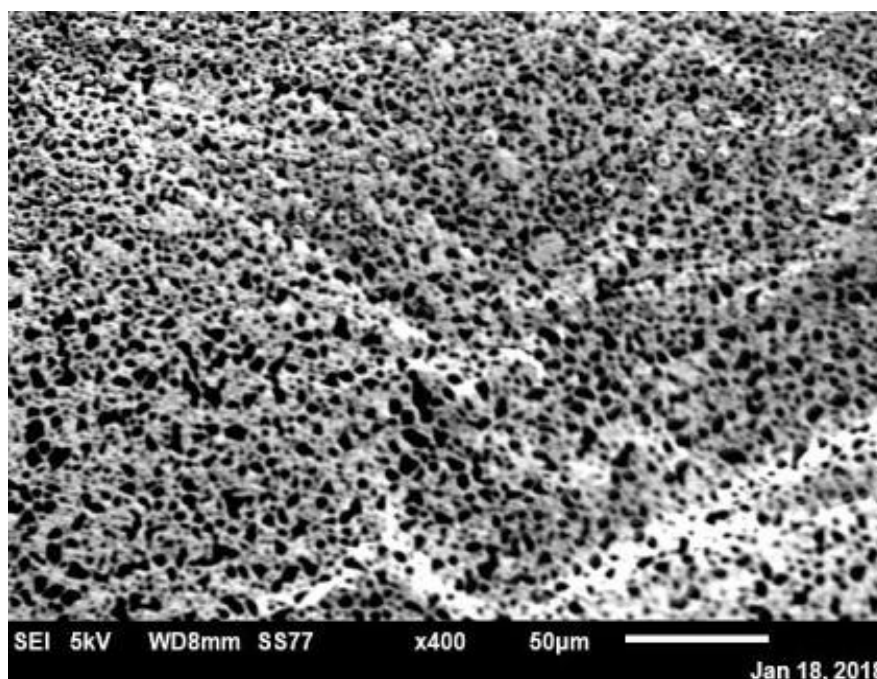


Na figura 27 mostra a micrografia da superfície da esfera de quitosana quaternária apresentou a formação de muitos poros na superfície. Os poros aumentam a superfície de contato do material para maior interação entre o adsorvente e o corante.

Essa característica confirma a ocorrência de difusão intrapartícula e permite uma maior interação com as moléculas de água no estudo de comportamento reológico da matéria.

Figura 27. Microscopia eletrônica de varredura da esfera de quitosana quaternária.

Fonte: O autor.



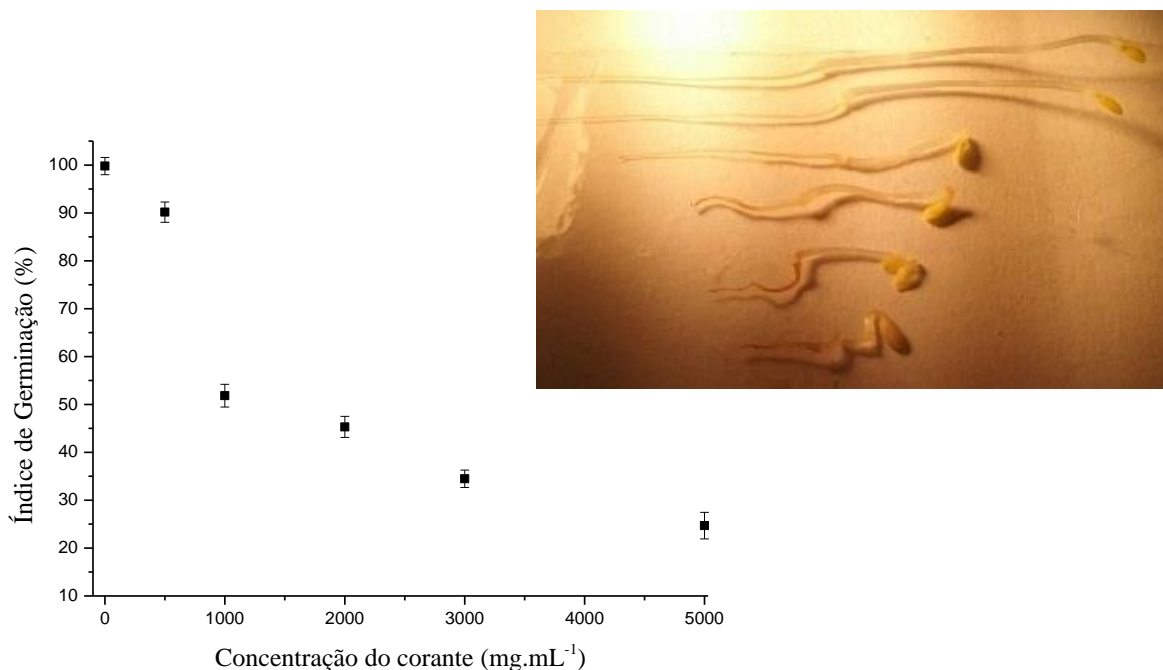
5.8. Teste de toxicidade

As sementes de *L. sativa* são frequentemente utilizadas para avaliar os efeitos tóxicos de compostos por meio do processo de germinação e desenvolvimento radicular (SOBRERO & RONCO, 2008). Durante o período germinativo ocorrem diversos processos fisiológicos para o desenvolvimento da planta. A presença de substâncias tóxicas no meio prejudica o desenvolvimento completo do vegetal e dessa forma, pode ser avaliado através da redução da taxa germinativa e redução do corpo radicular.

Após contato com o corante Acid Blue 25 as sementes de *L. sativa* apresentaram desenvolvimento incompleto quando comparadas com as sementes controle. A imagem da figura 28 mostra o decréscimo do crescimento da raiz. Esse resultado mostra que o corante apresenta toxicidade a ponto de comprometer o crescimento adequado do vegetal.

Todas as sementes apresentaram germinação mesmo em contato com concentração alta de corante, portanto, não foi possível encontrar a CL_{50} e CL_{100} . No gráfico da figura 27 mostra o decréscimo dos valores referentes ao índice de germinação em razão do aumento da concentração de corante.

Figura 28. Índice de germinação de *Lactuca sativa* em contato com o corante Acid Blue 25 (imagem lateral mostra a redução no tamanho da raiz). Fonte: O autor.



Para avaliar mais profundamente a toxicidade do corante foi realizado um segundo teste utilizando um organismo de diferente nível trófico.

O microcrustáceo *D. similis*, utilizado no teste, mostrou alta sensibilidade quando em contato com o corante Acid Blue 25. Como resultado a CL_{100} foi $120 \mu\text{g mL}^{-1}$ e CL_{50} foi $108 \mu\text{g mL}^{-1}$. Foi observada uma redução da toxicidade após os tratamentos com os três materiais adsorventes (Tabela 5).

Embora o pH utilizado não tenha sido o de melhor desempenho adsorativo, visto nos estudos de isotermas de adsorção, teve resultados com significativa redução da toxicidade da solução para os materiais esféricos de quitosana com levedura imobilizada e quitosana quaternária.

Em relação ao material de esferas de quitosana quaternária, o grupo adicionado de amônio quaternário não apresentou possíveis resíduos excedentes em solução. Visto que, não houve indicativos de mortalidade de *D. similis* após o contato apenas com o material adsorvente e comparados com o controle.

Tabela 5. Teste de toxicidade com *D. similis* após tratamentos com os materiais adsorventes.

Fonte: O autor.

Material adsorvente	Massa de adsorvente (mg)	Concentração de corante inicial CL ₅₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração de corante final($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Mortalidade (%)	Kruskal-Wallis (Dunn)
Controle	0	108,00	108,00	50	-
Quitosana					
	20	108,00	96,31	43	N.S.
	30	108,00	90,95	34	N.S.
	40	108,00	83,56	26	N.S.
Quitosana Levedura					
	20	108,00	80,39	27	$p < 0,05$
	30	108,00	76,16	17	$p < 0,05$
	40	108,00	72,57	15	$p < 0,05$
Quitosana quaternária					
	20	108,00	66,38	7	$p < 0,05$
	30	108,00	53,17	4	$p < 0,05$
	40	108,00	39,62	4	$p < 0,05$

* N.S. não significativo

6. CONCLUSÃO

Os materiais adsorventes sintetizados nesse estudo foram capazes de remover o corante Acid Blue 25 em solução, podendo ser facilmente aplicado para outros corantes com grupamento sulfônico na molécula.

O corante foi adsorvido nas camadas internas dos materiais adsorventes e o processo de adsorção foi controlado pela difusão intrapartícula. Foi observada a formação de múltiplas camadas e interações laterais camadas múltiplas nos estudos de isoterma de adsorção para os materiais de quitosana e quitosana com levedura imobilizada quando em pH alcalino. Para esses materiais quando em pH ácido ocorreu a formação de monocamadas.

O material de quitosana quaternária indicou a formação de monocamadas independentemente do valor de pH. Mostrando que o grupo quaternário adicional aumentou a disponibilidade de locais de interação em uma ampla faixa de pH.

Todos os materiais atingiram o equilíbrio de adsorção em períodos de no máximo 330 min.

A capacidade de adsorção dos materiais estudados aumentou com a acidificação da solução devido à protonação dos sítios de interação com o corante. A temperatura proporciona aumento das colisões moleculares que influencia a adsorção. Verificou-se que a capacidade adsorptiva dos materiais pode variar dependendo da temperatura do meio.

Os estudos de MEV comprovaram que a superfície do material de quitosana quaternária permite maior interação com o corante devido os poros que aumentam a superfície de contato. Essa característica do material resulta em uma capacidade adsorptiva superior quando comparada aos outros materiais. Além disso, indica o real motivo da deformação da esfera após a adsorção, uma vez que a superfície de contato aumenta a entrada de moléculas de água e corante que são atraídas pelos grupos amino.

Os espectros de FT-IR revelaram alterações nos grupos químicos do material adsorvente após adsorção em pH ácido em todos os materiais adsorventes, o que indica a ocorrência de ligação química (quimiossorção).

Apenas as esferas de quitosana quaternária apresentou indicativos de quimiossorção em pH alcalino. Isso ocorre, devido a presença de grupos de amônio quaternário na cadeia do polímero que garantem a presença de uma carga positiva independentemente do pH da solução. Portanto esse material pode ser usado como adsorvente mesmo em meio com valor de pH alcalino, sem ter os problemas de desprotonação que ocorrem com os outros materiais. Desse modo, as esferas de quitosana quaternária é considerado um material de melhor desempenho adsorptivo, podendo ser usado no tratamento de efluentes independente do pH dos tanques de tratamentos. Isso diminui os custos e o uso de outros insumos químicos para alterar o pH do meio.

O tratamento com o material de esferas de quitosana com levedura imobilizada e quitosana quaternária diminuiu significativamente a toxicidade com tempo de tratamento determinado do estudo cinético.

O material de esferas de quitosana quaternária destacam-se em relação aos outros materiais desse estudo, devido a maior capacidade de remoção de corante, tempo de contato cinético adequado para o uso industrial e independência do pH. Portanto, esse material é uma possível alternativa no tratamento do corante Acid Blue 25 usado na indústria têxtil.

7. BIBLIOGRAFIA

AKSU, Z., DONMEZ, G. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*, **Process Biochemistry**, v.40, p. 2443-2454, 2005.

ARAÚJO, E. A.; ANDRADE N. J.; CARVALHO A. F.; RAMOS A. M.; SILVA, C. A. S.; SILVA L. H. M. Aspectos coloidais da adesão de micro-organismos. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p.1940-1948, 2010.

BRADY, D.; DUNCAN, J. R. Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.41, n.1, p.149-154, 1994.

BENDER, M., Color for textiles. **Journal of Chemical Education**, v.24, p.2-10, 1997.

BEVERIDGE, T. J. Structures of Cell Walls and their Derived Membrane. **Journal of Microbiology**. v. 181, p. 4725-4733, 1999.

BOARDMAN, S. J.; LAD, R.; GREEN, D. C.; THORNTON, P. D. Chitosan hydrogels for targeted dye and protein adsorption. **Journal Applied Polymer Science**, v. 133, p. 40-48, 2017.

BOYD, G. E.; A.W. ADAMSON, L.S. MYERS. The exchange adsorption of ions from aqueous solution by organic zeolites Kinetics. **Journal of the American Chemical Society**, v. 69, p. 2836-2848, 1947.

BRILLAS, E.; MARTÍNEZ-HUTTLE, C.A. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. **Applied Catalysis B: Environmental**, v.166-167, p. 603-613, 2015.

CATANHO, M.; MALPASS, G. R. P.; MOTHEO, A. J. Avaliação dos Tratamentos Eletroquímico e Fotoeletroquímico na Degradação de Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 29, p. 983-989, 2006.

CESTARI, A.R.; VIEIRA E. F.S.; VIEIRA G. S.; Almeida L. E. The removal of anionic dyes from aqueous solutions in the presence of anionic surfactant using aminopropylsilica - A kinetic stud. **Journal of Hazardous Materials**. v.138, n. 2, p. 133-141, 2006.

CONTRERAS, L.; SEPULVEDA, L.; PALMA, C. Valorization of Agro-industrial Wastes as Biosorbent for the Removal of Textile Dyes from Aqueous Solutions. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 679352, p. 9-18, 2012.

CORSO C.R.; ALMEIDA A. C. M. Bioremediation of dyes in textile effluents by *Aspergillus oryzae*. **Microbial Ecology**, v.57, p. 384, 2009.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solution by adsorption process using batch studies. **Journal Progress in Polymer Science**, v.33, p. 399-447, 2008.

DELAMARE, F.; GUINEAU , B. Making and using dyes and pigments, **Thames and Hudson Ltd, London**, 2000.

DELLAMATRICE P. M.; SILVA-STENICO, M. E.; MORAES, L. A. B.; FIORE, M. F.; MONTEIRO, R. T. R. Degradation of textile dyes by cyanobacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 25-31, 2017.

DILARRI, G.; ALMEIDA, E. J. R.; PECORA, H. B.; CORSO, C. R. Removal of Dye Toxicity from an Aqueous Solution Using an Industrial Strain of *Saccharomyces Cerevisiae* (Meyen). **Water, Air and Soil Pollution**, v. 227, p. 269-283, 2016.

DILARRI, G.; CORSO, C.R. *Saccharomyces cerevisiae* immobilized onto crosslinked chitosan beads: application of a novel material for the removal of dye toxicity. **Environmental Technology**, v.09/08, p. 1-18, 2017.

FÁVERE, V. T.; RIELLA, H. G.; ROSA, S. Cloreto de N-(2-hidroxil) propil-3-trimetil amônio quitosana. **Química Nova**, vol. 33, n. 7, p. 1476-1481, 2010.

FLEET, G. H. Composition and structure of yeast cell walls. **Current Topics in Medical Mycology**, v.1, n.1, pp.24-24, 1985.

FLORY, P.J. Principles of Polymer Chemistry. **Cornell Univ. Press**, Ithaca and London, N.Y. 1953.

FLORY, P.J.; REHNER, J.J. Effect of Deformation on the Swelling Capacity of Rubber. **Journal of Chemical Physics**, v.12 pp.412-430, 1944.

FREUNDLICH, H. Adsorption in solution. **Journal of Physical Chemistry**, v. 40, p. 1361-1368, 1936.

GALINDO, C. e KALT, A. UV/H₂O₂ oxidation of azodyes in aqueous media: evidence of a structure – degradability relationship. **Dyes and Pigments**, v.42, p.199-207, 1999.

GEE, G. The interaction between rubber and liquids. III. The swelling of vulcanised rubber in various liquids, **Transactions of the Faraday Society**, v.38, p. 418-431, 1942

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, M.V. B., Corantes têxteis. **Química Nova**, v. 23, n.1, p.71-78, 2000.

GUERRA B. B.; FURTADO R. G.; COUTINHO F. M. B. Rheological evaluation of elastomers and their compositions. **Polymer**, v. 14, n. 4, p. 289-294, 2004.

GUIBAL, E.; VAN VOOREN, M.; DEMPSEY, B. A.; ROUSSY, J. A review of the use of chitosan for the removal of particulate and dissolved contaminants. **Separation science and technology**, v.41, n.11, p. 2487-2514, 2000

GUIBAL, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials. **Progress in Polymer Science**, v.30, p. 71-109, 2005.

GUPTA, V. K.; JABRAIL, F. H. Behavior of chitosan microspheres. **Carbohydrate Polymer**. v.66, n.43,p. 1-16, 2006.

GUPTA, V. K.; PATHANIA, D.; KOTHIYAL, N. C.; SHARMA, G. Polyaniline zirconium (IV) silicophosphate nanocomposite for remediation of methylene blue dye from waste water. **Journal of Molecular Liquids**, v. 190, p. 139-145, 2014.

GONG, R.; LI, C.; ZHU, S.; ZHANG, Y.; DU, Y. & JIANG, J., A novel pH-sensitive hydrogel based on dual crosslinked alginate/N- α -glutaric acid chitosan for oral delivery of protein, **Carbohydrate Polymers**, v. 85, p. 869–874, 2011.

HO, Y.S.; MCKAY, G. Sorption of dye from aqueous Solution by peat. **Chemical Engineering Journal**, v.70, p. 115-124, 1998.

KAUSHIK, P., MALIK, A., Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. **Environment International** v. 35, p. 127-141, 2009.

KIMURA, I. Y.; FÁVERE, V. T.; LARANJEIRA, M. C. M.; JOSUÉ, A.; NASCIMENTO, A. Avaliação da capacidade de adsorção do corante reativo laranja 16 pela quitosana. **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 5, p. 1161-1166, 2000.

KUMAR, J. K. ; SINHA, A. K. Resurgence of natural colourants, a holistic view. **Natural Product Letters**. v. 18, n. 1, p.59-84, 2004.

KUNZ, A.; PERALTA-ZAMORA, P.; MORAES, S. G.; DURAN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p.78-82, 2002.

LAGERGREN, S. The theory of adsorption of substances. **Handlingar**, v.24, p. 1-39, 1898.

LANGMUIR. The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1361-1368, 1918.

LOW, L. W.; TENG, T. T.; RAFATULLAH, M.; MORAD, N.; AZAHARI, B. Adsorption Studies of Methylene Blue and Malachite Green From Aqueous Solutions by Pretreated Lignocellulosic Materials. **Jornal Separation Science and Technology**, v. 48, ed. 11, p. 1688-1698, 2013.

MAGNELLI, P.; CIPOLLO, J. F.; ABEIJON, A. A refined method for the determination of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall composition and β -1,6-glucan fine structure analytical. *Biochemistry*, **Washington**, v. 301, n. 1, p. 136-150, 2002.

MCKAY, G.; BLAIR, H.S.; GARDNER, J.R. Adsorption of dyes on chitin: equilibrium studies. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 27, p.30-43, 1982.

MILLS, J. S.; WHITE, R., *The Organic Chemistry of Museum Objects*, **Butterworth and Co**, London, 1987.

MITTER, E. K.; SANTOS, G. C.; ALMEIDA, E. J. R.; RODRIGUES, H. D. P.; CORSO, C. R. Analysis of acid Alizarin Violet N Dye Removal Using Sugarcane bagasse as adsorbent. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 223, n. 2, p. 765-770, 2012.

MONASH, P.; PUGAZHENTI, G. Adsorption of crystal violet dye from aqueous solution using mesoporous material synthesized at room temperature. *Adsorption*, v.15, p. 390-405, 2009.

MONTEIRO, R. T. R.; DELLAMATRICE P. M. Toxicidade de Resíduos Têxteis Tratados por Microrganismos. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*, v. 1, n. 1, p.63-66. 2006.

MORAES, J. R. ; BIDOIA, E. D. Colour Degradation of Simulated Textile Effluent by Electrolytic Treatment and Ecotoxicological Evaluation. *Water, Air and Soil Pollution*, v. 226, p. 402-407, 2015.

PEAT, S.; WHELAN, W.J.; EDWARDS, T.E. Polysaccharides of beaker yeast. *Journal of the Chemical Society*, v.38, p.3868-3872, 1958.

PEREIRA, A. R. P.; SILVA, M. J. DE S. F.; OLIVEIRA, J. A. Análise Química de pigmentos minerais de Itabirito (MG). *Cerâmica*, v. 53, n. 325, p. 35-41, 2007.

PINTO, A. C. O Pau-brasil e um pouco da história brasileira. *Sociedade Brasileira de Química*, v. 6, p. 15-24, 2006.

REVANKAR, M.S., LELE, S.S. Synthetic dye decolorization by *Ganoderma* sp. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 775-780, 2008.

RIBEIRO, M. A.; CRUZ, J. M.; MONTAGNOLLI, R. N.; BIDOIA, E. D.; LOPES, P. R. M. Photocatalytic and photoelectrochemical inactivation. **Water Science and Technology: Water Supply**, v.15, p.107-113, 2015.

ROBINSON, T.; MCMULLAN G.; MARCHANT R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 3, p. 247-255, 2001.

ROUXHET, P. G.; MOZES N. Physical chemistry of the interface between attached micro-organisms and their support. **Water Science Technology**. v. 22, n. 112, p. 1-16, 1990.

SALLES, P. T. F.; PELEGRINI, N. N. B.; PELEGRINI, R. T. Tratamento eletroquímico de efluente industrial contendo corantes reativos. **Engenharia Ambiental**, v. 3, n. 2, p. 25-40, 2006.

SILVA, M. C.; FIDELES, T. B.; FOOK, M. V. L. Esferas de quitosana e quitosana/curcumina pelo método de gelificação ionotrópica: Influência da incorporação do fármaco. **Materiais e Processos**, v. 10, n 1, p.1-14, 2015.

SINGH, K.P.; MOHAN, D.; SINHA, S.; TONDON, G.S.; GOSH, D. Color removal from wastewater using low-cost activated carbon derived from agricultural waste material. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.42, p.1965-1976, 2003.

SOBRERO, M. C. & RONCO, A. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. p. 55-67. IN: ROMERO, P. R. & CANTÚ, A. M. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. La experiencia en México. **Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales Instituto Nacional de Ecología**, México, D.F., 2008.

SZYMANSKA, E.; WINNINCKA, K. Stability of chitosan: A challenge for pharmaceutical and applications. **Marine Drugs**, v. 13, n. 4, p. 1819-1846, 2015.

TANG, R.; ZHANG, Y.; ZHANG, Y. ; YU, Z. Synthesis and characterization of chitosan based dye containing quaternary ammonium group. **Carbohydrate Polymers**, v. 139, n. 30, p. 191-196, 2016.

THINAKARAN, N.; PANNEERSELVAM, P.; BASKARALINGAM, P.; ELANGO, D.; SIVANESAN, S. Equilibrium and kinetic studies on the removal of Acid Red 114 from aqueous solutions using activated carbons prepared from seed shells. **Journal of Hazardous Materials**, v. 158, n. 1, p. 142-150, 2009.

VANT HOFF, J. H. A suggestion looking to the extension into space of the structural formulas at present used in chemistry. And a note upon the relation between the optical activity and the chemical constitution of organic compounds. **Archives Neerlandaises des Sciences Exactes et Naturelles**, v.9, p. 445-454, 1874.

VOLESKY, B.; HOLAN, Z. R. Biosorption of Heavy Metals. **Biotechnology**, v. 11, p. 235-250, 1995.

WEBER, W.J.; MORRIS. J.C.; Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of the Sanitary Engineering Division**, v.89, p. 31-60, 1963.

WENDHAUSEN, R. Continuous fermentation of sugar cane syrup using immobilized yeast cells. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.91, n.1, p. 48-52, 2001.

YAN, H.; YANG, L.; YANG, Z.; YANG, H.; LI, A.; CHENG R. Preparation of chitosan/poly(acrylic acid) magnetic composite microspheres and applications in the removal of copper(II) ions from aqueous solutions. **Journal of Hazardous Materials**, v.229, p. 371-380, 2012.