

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

MATHEUS ARAÚJO SEMIÃO

**USO DE TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA EM
TECNOLOGIAS AVANÇADAS DE REMOÇÃO DE CORANTES E TRATAMENTO
DE EFLUENTE TÊXTIL**

CURITIBA

2021

MATHEUS ARAÚJO SEMIÃO

**USO DE TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA EM
TECNOLOGIAS AVANÇADAS DE REMOÇÃO DE CORANTES E TRATAMENTO
DE EFLUENTE TÊXTIL**

**Use of residual diatomaceous earth from the brewing industry in
advanced Technologies for the dye removal and treatment of textile
wastewater**

Dissertação apresentada como requisito para
obtenção do título de Mestre em Ciência e
Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná (UTFPR)
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Giselle Maria Maciel

CURITIBA

2021



Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, **desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original.**

[4.0 internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Curitiba**



MATHEUS ARAUJO SEMIAO

**USO DE TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL DA INDÚSTRIA CERVEJEIRA EM TECNOLOGIAS
AVANÇADAS DE REMOÇÃO DE CORANTES E TRATAMENTO DE EFLUENTE TÊXTIL**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Ciência E Tecnologia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologias E Processos Ambientais.

Data de aprovação: 03 de Setembro de 2021

Prof.a Giselle Maria Maciel, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Cristina Giatti Marques De Souza, Doutorado - Universidade Estadual de Maringá (Uem)

Prof.a Luciana Igarashi Mafra, Doutorado - Universidade Federal do Paraná (Ufpr)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 03/09/2021.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me abençoado com as oportunidades para meu desenvolvimento pessoal e profissional e por ter me fornecido os dons e as habilidades para realizar um trabalho relevante e que possa ajudar um pouco a tornar esse mundo um lugar melhor.

Agradeço especialmente aos meus pais por terem me apoiado incondicionalmente nas minhas escolhas profissionais e por terem provido o suporte emocional e financeiro que me permitiram desenvolver minha pesquisa nos últimos anos.

Agradeço imensamente à professora Giselle por ter me acompanhado em boa parte do meu crescimento profissional e acadêmico, por me guiar e me ensinar a ser um profissional cada vez mais responsável e esforçado ao longo desses quase cinco anos de orientação e por inspirar a todos no grupo de pesquisa sendo um exemplo de comprometimento e dedicação. Agradeço também ao professor Charles por também estar presente nos meus trabalhos nos últimos anos e me auxiliar em todos os aspectos possíveis com sua sabedoria e experiência profissional.

Gostaria de deixar um agradecimento mais que especial ao Willian por ter me acompanhado na maior parte dessa minha jornada acadêmica, por ter sempre demonstrado interesse ao ouvir todas as partes da minha pesquisa.

Agradeço à Tatiane pelas orientações, por estar sempre disposta a nos ajudar, a se preocupar com a qualidade de nossos projetos e a nos ajudar a tornar-nos ótimos pesquisadores.

Agradeço a todos os meus amigos da UTFPR, especialmente ao Eduardo e ao Alberto, pelos ótimos momentos e conversas nesses últimos anos, assim como meus colegas pesquisadores do LaBiotec, Dayane, Tatiani, Camila, Débora, Isabella, Raquel e Bruno, e um agradecimento especial à Maria Gabriela pela companhia, pelos cafés e pelas conversas sobre escotismo.

Agradeço ao Yorrans pelo auxílio no trabalho na parte de ecotoxicologia, já que sem a sua ajuda essa parte importantíssima do projeto não poderia ser feita, assim como à professora Wanessa por ajudar na orientação.

Agradeço à Rúbia e ao LAMAQ por contribuírem com a ciência ao auxiliar não apenas com as minhas análises, mas ao ajudarem com os trabalhos de todos os pesquisadores da Universidade.

Agradeço à professora Marlene pelo carinho, por muitas oportunidades de crescimento ao longo da minha formação e pelo exemplo de dedicação profissional.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Agradeço ao PPGCTA e a todos os servidores da UTFPR por promoverem um ensino e infraestrutura de qualidade e contribuírem positivamente para o crescimento da educação no nosso país.

Agradeço à banca pelo tempo disponível para contribuir com meu trabalho e meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Agradeço a todos que, direta ou indiretamente, fizeram com que esse trabalho fosse possível.

Por fim, gostaria de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado (número 88882.432145/2019-01).

As criaturas que habitam esta terra em que vivemos, sejam elas seres humanos ou animais, estão aqui para contribuir, cada uma com sua maneira peculiar, para a beleza e a prosperidade do mundo.

- Dalai Lama

RESUMO

SEMIÃO, Matheus A. **Uso de terra diatomácea residual da indústria cervejeira em tecnologias avançadas de remoção de corantes e tratamento de efluente têxtil.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

Tecnologias avançadas para remoção de contaminantes têm atraído interesse de pesquisadores para tratamento de água e efluentes, principalmente as que utilizam materiais de baixo custo, como resíduos agroindustriais. Em estudos prévios, a terra diatomácea residual (TDR) da indústria cervejeira apresentou potencial para a biossorção de corantes têxteis, indicando que esse material pode ser aplicado em tecnologias avançadas para tratamento de efluentes têxteis. Neste estudo, a TDR foi: (i) utilizada para biossorção dos corantes têxteis Azul Ácido 277 (AB277) e Vermelho Ácido 361 (AR361) em soluções simples e binárias e sob a interferência de sais e metais; (ii) modificada quimicamente por tratamento ácido (TDR-A) e por silanização com APTES (TDR-S) para biossorção do corante têxtil Preto Ácido 172 (AB172) em condições de pH ideais e no valor de pH de efluentes têxteis reais (5,0); e (iii) utilizada como biossorvente e como suporte para imobilização de lacases (TDR-LA) para tratamento de efluente têxtil. A capacidade de biossorção da TDR em soluções binárias foi de 4,26 e 8,35 mg g⁻¹ para AB277 e AR361 respectivamente, resultando em uma soma de 12,61 mg g⁻¹ de corante biossorvido, superior em comparação a soluções simples (8,29 mg g⁻¹ para AR361 e 6,86 mg g⁻¹ para AB277). A presença de sais e metais interferiu negativamente na biossorção em soluções simples, mas os sais interferiram positivamente em soluções binárias. A TDR-S apresentou uma capacidade de biossorção maior que a TDR-A e TDR em pH do efluente têxtil. Todos os testes de biossorção foram representados pelas isotermas de Langmuir e Sips e pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem. Estudos termodinâmicos demonstraram que a biossorção dos corantes pela TDR com e sem modificação química é espontânea e sofre interferência da temperatura. A imobilização de lacases em TDR-LA foi otimizada pelo planejamento fatorial de três níveis e conseguiu preservar 79,0% da atividade enzimática nas melhores condições estudadas (200 U L⁻¹ de lacase e 1,5% de glutaraldeído). A imobilização enzimática aumentou a estabilidade das enzimas ao pH e à temperatura em função do tempo, além de preservar com maior eficiência a atividade em armazenamento por congelamento. A TDR-LA conseguiu remover 66,2% da DQO do efluente têxtil e a TDR-S conseguiu remover 55,0%, e houve redução de 24,0% e 27,9% na cor do efluente por TDR-LA e TDR-S respectivamente em análise espectrofotométrica. O tratamento do efluente com TDR-LA e TDR-S apresentou redução de ecotoxicidade em ensaio com *Artemia salina*. A análise no infravermelho por MIR-ATR possibilitou o estabelecimento dos grupos funcionais responsáveis pela biossorção dos corantes têxteis e indicou a presença dos corantes e do efluente têxtil e de subprodutos de degradação enzimática no material.

PALAVRAS CHAVE: Biossorção; Aproveitamento de resíduos; Modificação química; Imobilização enzimática.

ABSTRACT

SEMIÃO, Matheus A. **Use of residual diatomaceous earth from brewing industry in advanced technologies for the removal of dyes and textile wastewater treatment.** Dissertation Project presented to the Post Graduation Program of Environmental Science and Technology – Academic Department of Chemistry and Biology, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2021.

Advanced Technologies designed for the removal of environmental pollutants have attracted the interest of researchers for application in water and wastewater treatments, mostly those using low-cost materials, such as agroindustrial wastes. Previous studies showed that residual diatomaceous earth (RDE) from brewing industry showed a potential for biosorption of textile dyes, indicating that this material can be applied in advanced technologies for wastewater treatment. In this study, RDE was: (i) used for the biosorption of the textile dyes Acid Blue 277 (AB277) and Acid Red361 (AR361) in single and binary solutions and under the interference of salts and metals. (ii) chemically modified by acid treatment (RDE-A) and silanized with APTES (RDE-S) for the biosorption of the textile dye Acid Black 172 (AB172) in ideal conditions of pH and at the real effluent pH value (5.0). and (iii) used as a biosorbent and a support for the immobilization of laccases (RDE-LA) for the treatment of industrial wastewater. Biosorption capacity of RDE in binary solutions was of 4.26 and 8.35 mg g⁻¹ respectively for AB277 and AR361, with a sum of 12.61 mg g⁻¹ of dyes biosorbed, higher than the capacity in single solutions (8.29 mg g⁻¹ for AR361 and 6.86 mg g⁻¹ for AB277). The presence of salts and metals interfered negatively on biosorption in single solutions, but salts interfered positively in binary solutions. RDE-S showed a higher biosorption capacity than RDE and RDE-A in the pH of textile effluent. All biosorption tests were well represented by Langmuir and Sips isotherm models and by pseudo-second order kinetic model. Thermodynamic studies showed that biosorption of the dyes by RDE with or without chemical modifications is spontaneous and influenced by temperature. The immobilization of laccases in RDE-LA was optimized by factorial planning with three levels and successfully preserved 79.0% of enzyme activity at the best studied conditions (200 U L⁻¹ and 1.5% of glutaraldehyde). Enzyme immobilization increased the stability of the enzymes at pH and temperature through time and preserved better enzyme activity after storage by freezing. RDE-LA could remove 66.2% of COD from the textile effluent and RDE-S could remove 55.0%, and there was a reduction of 24.0% and 27.9% in the effluent color for RDE-LA and RDE-S respectively when analyzed by UV-Vis. Wastewater treatment with RDE-LA and RDE-S reduced ecotoxicity in a test with *Artemia salina*. Infrared analysis by MIR-ATR contributed for elucidating the functional groups responsible for biosorption of textile dyes and indicated the presence of dyes and textile effluent components on the material surface.

KEYWORDS: Biosorption; Waste reuse; Chemical modification; Enzyme immobilization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura dos corantes têxteis (a) Azul Ácido 277, (b) Vermelho Ácido 361 e (c) Preto Ácido 172.....	19
Figura 2: Espectro eletromagnético de comprimentos de onda e classificações	23
Figura 3: Representação esquemática do mecanismo de ligação do APTES a uma superfície carregada com radicais hidroxila	24
Figura 4: Estrutura molecular da quitina.....	25
Figura 5: Diferentes formatos que a Terra Diatomácea pode apresentar	27
Figura 6: Técnicas de imobilização enzimática.	33
Figura 7: Diagrama esquemático de imobilização simultânea enzimática e processos de adsorção e biodegradação de contaminantes ambientais.	34
Figura 8: Infográfico de preparo da TDR e partes do projeto	36
Figura 9: Biossorvente de TDR preparado.....	37
Figura 10: Infográfico descrevendo as etapas dos testes de biossorção em batelada para a parte I do projeto	39
Figura 11: Capacidade de biossorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR com variação do pH inicial de solução.	41
Figura 12: TDR seca após a biossorção de (A) AB277, (B) AR361 e (C) AB277+AR361 em solução binária	42
Figura 13: Efeito do tempo de contato na capacidade de biossorção dos corantes AB277 e AR361 em soluções simples e binárias.....	43
Figura 14: Efeito da concentração inicial na capacidade de biossorção dos corantes em solução binária. a) Capacidade de adsorção do corante AB277 na presença de diferentes concentrações iniciais de AR361 e b) Capacidade de adsorção do corante AR361 na presença de diferentes concentrações iniciais de AB277.	47
Figura 15: Efeito da concentração inicial na capacidade de biossorção dos corantes têxteis em TDR em diferentes temperaturas, sendo a) capacidade de biossorção do corante AB277 e b) capacidade de biossorção do corante AR361.	49
Figura 16: Efeito da concentração inicial na capacidade de biossorção dos corantes têxteis AB277 e AR361 em solução binária em TDR com variação de temperatura e $C_{iAB277} = C_{iAR361}$	49
Figura 17: Eficiência de dessorção dos corantes AB277 e AR361 após adsorção com	

TDR através de NaOH 0,1 M, NaCl 0,1 M e H ₂ O pH 7,0.	54
Figura 18: MIR-ATR dos corantes AB277 e AR361 e de TDR antes e depois da biossorção dos corantes em soluções simples e binárias.	55
Figura 19: Infográfico descrevendo as etapas para o preparo da TDR modificada quimicamente por tratamento ácido e silanização com APTES e testes de biossorção do corante AB172.	58
Figura 20: Caracterização de TDR, TDR-A e TDR-S através do pH _{pzc}	61
Figura 21: Efeito do pH inicial na remoção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S	62
Figura 22: Efeito do tempo de contato da remoção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S	63
Figura 23: Efeito da concentração de NaOH na dessorção após a biossorção de AB172 por TDR, TDR-A, TDR-S.	68
Figura 24: Espectros de MIR-ATR da TDR modificada quimicamente (A) antes e (B) após a biossorção do corante AB172.	69
Figura 25: Infográfico descrevendo as etapas para a imobilização de lacase na TDR-S, etapas da caracterização e do tratamento de efluente têxtil	71
Figura 26: Efeito do tempo de imobilização na recuperação de atividade de lacase após imobilização em TDR.	77
Figura 27: Efeito do pH inicial na recuperação de atividade lacase livre e imobilizada.	78
Figura 28: Efeito da temperatura na recuperação de atividade de lacase livre e imobilizada em TDR-S.	79
Figura 29: Estabilidade ao pH ao longo do tempo por (A) enzima livre e (B) enzima imobilizada.	80
Figura 30: Estabilidade à temperatura em 30°C e 50°C para as enzimas livres e imobilizadas.	81
Figura 31: Atividade enzimática da lacase livre e imobilizada em TDR-S ao longo do tempo após congelamento a -5°C em solução tampão.	82
Figura 32: Demanda química de oxigênio (DQO) do efluente têxtil antes e após tratamento	83
Figura 33: Espectroscopia de varredura do efluente antes e após o tratamento com TDR-S, TDR-LA e Lacases livres, na faixa de comprimento de onda de 450 a 700 nm	84

Figura 34: MIR-ATR da TDR-S e TDR-LA antes e depois do tratamento do efluente têxtil.....	86
Figura 35: Gráfico de superfície de resposta correspondente ao modelo ajustado do planejamento fatorial	103
Figura 36: Gráfico de Pareto indicando a significância das variáveis envolvidas na imobilização de lacase	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Informações sobre os corantes Azul Ácido 277, Vermelho Ácido 361 e Preto Ácido 172	19
Tabela 2: Equações dos modelos de isotermas de adsorção, modelos cinéticos e equações termodinâmicas	29
Tabela 3: Parâmetros cinéticos da bioadsorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em solução simples e binária.	44
Tabela 4: Parâmetros das isotermas de equilíbrio para a bioadsorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em soluções puras em diferentes temperaturas.....	46
Tabela 5: Parâmetros da Isoterma expandida de Langmuir para a bioadsorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em solução binária.....	48
Tabela 6: Parâmetros termodinâmicos da bioadsorção dos corantes AB277 e AR361 em solução simples e binária.	50
Tabela 7: Efeito da concentração de sais inorgânicos na remoção dos corantes AB277 e AR361 através da bioadsorção por TDR. S = Solução simples e B = Solução Binária.	51
Tabela 8: Efeito da concentração de metais na remoção dos corantes AB277 e AR361 através da bioadsorção por TDR.	53
Tabela 9: Parâmetros cinéticos para a bioadsorção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S.	64
Tabela 10: Parâmetros de isotermas para a bioadsorção de AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S em diferentes temperaturas.....	65
Tabela 11: Dados termodinâmicos para a bioadsorção de AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S	66
Tabela 12: Variáveis e níveis avaliados no planejamento fatorial	72
Tabela 13: Matriz de planejamento fatorial de três níveis para a otimização da imobilização de lacase em TDR-S	72
Tabela 14: Resultado do planejamento fatorial para a avaliação de eficiência de recuperação de atividade de lacase após imobilização em TDR com o auxílio de Glutaraldeído.....	76
Tabela 15: Número de organismos imóveis após exposição ao efluente têxtil antes e após tratamento para avaliação ecotoxicológica com <i>Artemia salina</i>	85

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- AB172 – Corante têxtil Preto Ácido 172 (*Acid Black 172*)
- AB277 – Corante têxtil Azul Ácido 277 (*Acid Blue 277*)
- ABTS – Ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)
- APTES – 3-(aminopropil)triétoxissilano
- AR361 – Corante têxtil Vermelho Ácido 361 (*Acid Red 361*)
- BET – Método de Brunauer–Emmett–Teller
- DQO – Demanda química de oxigênio
- FT – Fator de toxicidade
- GLU - Glutaraldeído
- LA - Lacase
- MEV – Microscopia eletrônica de varredura
- MFA – Microscopia de força atômica
- MIR-ATR – *Mid-Infrared Attenuated Total Reflection*
- pcz – Ponto de carga zero
- PFO – Modelo cinético de pseudo-primeira ordem
- PSO – Modelo cinético de pseudo-segunda ordem
- TDR – Terra diatomácea residual
- TDR-A – Terra diatomácea residual modificada quimicamente com ácido
- TDR-LA – Terra diatomácea residual silanizada com lacases imobilizadas
- TDR-S – Terra diatomácea residual silanizada com APTES

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral	17
2.2 Objetivos específicos	17
3 REVISÃO BILIOGRÁFICA AMPLIADA	18
3.1 Corantes Têxteis Ácidos.....	18
3.2 Efluentes têxteis	19
3.3 Adsorção	21
3.3.1 Biossorção.....	21
3.3.2 Caracterização de adsorventes.....	22
3.3.3 Modificação química de adsorventes	23
3.3.4 Dessorção	24
3.3.5 Leveduras como biossorventes.....	25
3.4 Terra Diatomácea.....	26
3.4.1 Terra Diatomácea residual	27
3.5 Isotermas de adsorção, modelos cinéticos e termodinâmica de adsorção.....	28
3.6 Enzimas oxidoredutases e biodegradação enzimática	30
3.6.1 Lacases.....	30
3.6.2 Imobilização enzimática	31
3.6.3 Adsorção e degradação simultâneas	34
4. PARTE I – EFEITO DE SAIS INORGÂNICOS E METAIS NA BIOSSORÇÃO BINÁRIA DOS CORANTES ÁCIDO AZUL 277 E ÁCIDO VERMELHO 361 COM TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL.....	36
4.1 Metodologia.....	37
4.1.1 Preparo do biossorvente e reagentes	37

4.1.2	Análise de concentração de corantes	37
4.1.3	Testes de bioissorção de corantes em batelada	39
4.1.4	Obtenção dos parâmetros cinéticos e das isotermas de adsorção	40
4.1.5	Caracterização do bioissorvente e corantes por MIR-ATR	41
4.2	Resultados e Discussão	41
4.2.1	Efeito do pH inicial.....	41
4.2.2	Efeito do Tempo de Contato e cinética de adsorção	42
4.2.3	Efeito da concentração inicial e isotermas	45
4.2.4	Efeito da temperatura e termodinâmica de adsorção	48
4.2.5	Efeito da concentração de sais	51
4.2.6	Efeito da presença de metais	53
4.2.7	Estudos de dessorção	54
4.2.8	FT-IR	55
5.	PARTE II – BIOSSORÇÃO DO CORANTE PRETO ÁCIDO 172 POR TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL MODIFICADA QUIMICAMENTE ATRAVÉS DE TRATAMENTO ÁCIDO E SILANIZAÇÃO COM APTES	58
5.1	Metodologia	58
5.1.1	Modificação química do bioissorvente	58
5.1.2	Avaliação do pH_{pcz}	59
5.1.3	Testes de bioissorção em batelada.....	59
5.2	Resultados e discussão.....	60
5.2.1	Efeito do pH inicial de pH_{PCZ}	60
5.2.2	Efeito do tempo de contato e cinética de bioissorção	63
5.2.3	Efeito da concentração inicial e isotermas de bioissorção em pH ideal e de efluente têxtil	64
5.2.4	Efeito da temperatura e termodinâmica de bioissorção	66
5.2.5	Estudos de dessorção com NaOH	67

5.2.6 Caracterização por ATR-MIR	68
6 PARTE III – IMOBILIZAÇÃO DE LACASES EM TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL E TRATAMENTO DE EFLUENTE TÊXTIL.....	71
6.1 Metodologia	71
6.1.1 Materiais e reagentes	71
6.2 Resultados e discussão.....	76
6.2.1 Planejamento fatorial e otimização da imobilização enzimática	76
6.2.2 Condições ideais de pH e Temperatura	77
6.2.3 Estabilidade ao pH e à temperatura	79
6.2.4 Armazenamento	81
6.2.5 Tratamento enzimático de efluente têxtil	82
6.2.6 Avaliação ecotoxicológica através de ensaio com <i>Artêmia salina</i>	84
6.2.7 Caracterização por ATR-MIR	85
7. CONCLUSÕES	87
PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS	89
Referências	90
APÊNDICE I – Metodologia para eclosão de cistos de <i>Artemia salina</i> e teste de sensibilidade.....	102
APÊNDICE II – Ajuste de dados estatísticos do planejamento fatorial da imobilização da lacase em TDR-S	103

1 INTRODUÇÃO

Existe uma grande preocupação a respeito da presença em ecossistemas aquáticos de efluentes têxteis provenientes da indústria. Esses poluentes bloqueiam a passagem de luz interferindo negativamente na fotossíntese dos organismos produtores e causando uma depleção na concentração de oxigênio, o que reduz a capacidade de autodepuração de corpos hídricos (BANAT et al., 1996). Estabilidade à luz, ao aquecimento e à oxidação dificultam a remoção de corantes têxteis em ambientes aquáticos (FARAH; EL-GENDY; FARAHAT, 2007; SEN et al., 2016). Não obstante, esses efluentes comumente apresentam elevados valores de demanda química de oxigênio (PRIGIONE et al., 2008a).

Processos físico-químicos como coagulação e floculação utilizando polieletrólitos e sais de alumínio ou ferro são utilizados para tratamento de efluentes têxteis, mas possuem desvantagens como a geração de grandes quantidades de lodo tóxico que trazem problemas de manuseamento e armazenamento associados a custos elevados (AKSU; DÖNMEZ, 2003).

A adsorção é um processo alternativo vantajoso no tratamento de efluentes industriais para remoção de contaminantes orgânicos e inorgânicos. Carvão ativado é o adsorvente mais utilizado para a remoção de cor e para o tratamento de efluentes têxteis, entretanto, devido ao seu valor elevado, existe uma demanda por adsorventes mais baratos e com capacidade de adsorção equivalente (AFSHARIANI; ROOSTA, 2019). Resíduos agroindustriais destacam-se como bioadsorventes promissores em substituição ao uso do carvão ativado em processos de tratamento de águas e efluentes (GUPTA et al., 2019).

Além da bioadsorção, o uso de enzimas para efetuar reações oxidativas para a degradação de inúmeros compostos é visto como uma tecnologia promissora para ser incorporada aos processos de tratamento de efluentes, com destaque às lacases, enzimas oxirredutases com alto potencial de aplicação (ZDARTA et al., 2018a).

A terra diatomácea é um mineral utilizada por diversas indústrias em seus processos, sendo aplicada principalmente nas etapas de filtração e clarificação na indústria cervejeira, tornando-se terra diatomácea residual (TDR). Cerca de 17 kg de TDR podem ser gerados por metro cúbico de cerveja produzida, criando uma grande

quantidade deste resíduo sólido que normalmente é despejado em aterros industriais (GOULART et al., 2011), apesar de poder ser utilizada na construção civil sendo incorporada à composição de tijolos de argila (BETSUYAKU; DELGADO; VALADÃO, 2017).

Um estudo prévio mostrou que a TDR é um bioissorvente barato e com potencial para a remoção do corante Azul Reativo 160 de soluções simples (SEMIÃO; HAMINIUK; MACIEL, 2020). Além disso, considerando que efluentes têxteis são matrizes complexas compostas por uma diversidade de compostos orgânicos e inorgânicos, estudos devem buscar uma aproximação com a composição real de efluentes têxteis, avaliando-se a mistura de corantes e a interferência de sais e metais no processo de adsorção (DIL et al., 2017; YASEEN; SCHOLZ, 2019). Existe o interesse em efetuar a modificação química dos adsorventes com o fim de alterar ou aumentar a quantidade de sítios de ligação na superfície do material e permitir que eles atuem de forma eficiente em condições menos favoráveis. Também podem ser feitos estudos que avaliem o potencial dos adsorventes em servirem como suportes para a imobilização de enzimas lignocelulíticas para a degradação de contaminantes ambientais recalcitrantes.

Portanto, este trabalho foi dividido em três etapas: a parte I contou com o objetivo de avaliar a bioissorção de corantes têxteis em soluções simples e binárias utilizando TDR como bioissorvente, na presença de sais inorgânicos e metais; a parte II teve como objetivo de estudar o efeito da modificação química da TDR por tratamento ácido e silanização com APTES na bioissorção de um corantes têxtil; e a parte III teve como objetivo avaliar e caracterizar a imobilização de enzimas lacases para tratamento de efluente da indústria têxtil.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o potencial da terra diatomácea residual antes e após modificação química para atuar como bioissorvente na remoção de corantes têxteis de soluções aquosas e como suporte para a imobilização de lacases para tratamento de efluentes têxteis.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar um bioissorvente de terra diatomácea residual (TDR) para atuar na remoção dos corantes AB277 e AR361 em soluções simples e binárias;
- Avaliar a interferência da presença de sais inorgânicos e metais na bioissorção em soluções simples e binárias dos corantes AB277 e AR361 por TDR;
- Modificar quimicamente a TDR com tratamento ácido (TDR-A) e silanização com APTES (TDR-S) para a bioissorção do corante AB172;
- Aplicar os modelos de cinética de bioissorção e isotermas e avaliar a termodinâmica de bioissorção;
- Estabelecer as condições ideais para imobilização de lacase em TDR-S (TDR-LA) e comparar a estabilidade com as enzimas livres;
- Caracterizar o efluente tratado com TDR-S e TDR-LA e enzimas livres por redução de DQO, cor e toxicidade;
- Caracterizar os materiais por infravermelho em refletância total atenuada (MIR-ATR).

3 REVISÃO BILIOGRÁFICA AMPLIADA

3.1 Corantes Têxteis Ácidos

Os corantes são moléculas pequenas utilizadas com o objetivo de alterar a cor de um substrato. Corantes têxteis contêm dois componentes principais: o cromóforo, responsável pela cor e o grupo funcional, que liga o corante à fibra de tecido. Podem ser classificados de acordo com sua estrutura química (antraquinona, azo e etc.) ou de acordo com o método pelo qual ele é fixado à fibra.

Os principais grupos de corantes têxteis, classificados de acordo com sua fixação são: Corantes Diretos, Azóicos, Ácidos, à Cuba, de Enxofre, Dispersivos, Pré-metalizados, Branqueadores e Reativos (SHINDY, 2017).

O termo corante ácido corresponde a um grande grupo de corantes aniônicos portadores de um a três grupos sulfônicos, que são grupos substituintes ionizáveis e tornam o corante solúvel em água, e têm vital importância no método de aplicação do corante em fibras proteicas (lã, seda) e em fibras de poliamida sintética. Quase todos os corantes ácidos contêm o grupo ácido sulfônico que causa adsorção por atração iônica aos grupos funcionais básicos da fibra têxtil. Corantes ácidos podem ser de dois tipos, de nivelamento que se difunde através da fibra e do tipo de milhagem que não o faz, sendo aplicados na presença de ácido sulfúrico em pH 2,5 – 3,0 e ácido acético em pH 4,5 – 5,5, respectivamente (SUN et al., 2019).

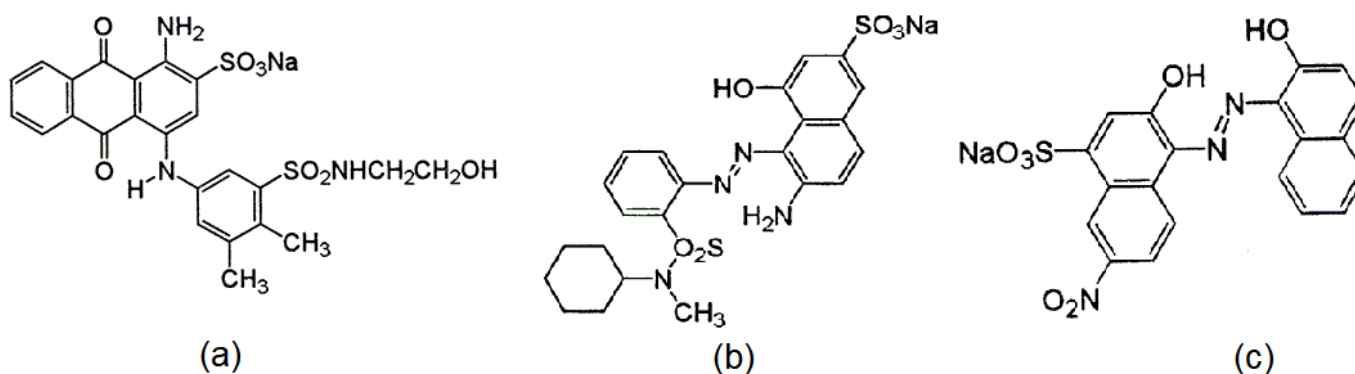
Os corantes têxteis Azul Ácido 277 (AB277), Vermelho Ácido 361 (AR361) e Preto Ácido 172 (AB172) foram os escolhidos para o desenvolvimento deste trabalho em virtude de serem empregados frequentemente em indústrias têxteis mundialmente (DU et al., 2012). Algumas de suas propriedades estão apresentadas na Tabela 1 e suas estruturas moleculares estão apresentadas na Figura 1.

Tabela 1: Informações sobre os corantes Azul Ácido 277, Vermelho Ácido 361 e Preto Ácido 172

Corante	Azul Ácido 277	Vermelho Ácido 361	Preto Ácido 172
λ_{\max} (nm)	612	511	576
Peso molecular (g mol ⁻¹)	567.6	540.6	511,4
Fórmula Química	C ₂₄ H ₂₂ N ₃ NaO ₈ S ₂	C ₂₃ H ₂₅ N ₄ NaO ₆ S ₂	C ₂₀ H ₁₀ CrN ₃ NaO ₇ S

Fonte: (DU et al., 2012)

Figura 1 - Estrutura dos corantes têxteis (a) Azul Ácido 277, (b) Vermelho Ácido 361 e (c) Preto Ácido 172



Fonte: (DU et al., 2012)

No processo de tintura, o corante previamente neutralizado (solução contendo cloreto, acetato, hidrogenossulfato, entre outros) se liga à fibra através de uma troca iônica envolvendo o par de elétrons livres dos grupos amino e carboxilato das fibras protéicas, na forma não-protonada. Estes corantes caracterizam-se por substâncias com estrutura química baseada em compostos azo, antraquinona, triarilmetano, azina, xanteno, ketonimina, nitro e nitroso, que fornecem uma ampla faixa de coloração e grau de fixação (GUARATINI; ZANONI, 1999).

3.2 Efluentes têxteis

Grandes quantidades de corantes são produzidas anualmente e aplicadas em inúmeras indústrias, sendo que a indústria têxtil participa de dois terços de todo

comércio de corantes a nível mundial, consumindo uma enorme quantidade de corantes sintéticos. Mais de 7×10^5 toneladas de aproximadamente 10.000 variedades de corantes são produzidas todos os anos mundialmente, sendo que cerca de 10% pode ser encontrada em efluentes (DEVECI; UNYAYAR; MAZMANCI, 2004).

Uma média de 300 mg L^{-1} tem sido reportada em efluentes de processos de manufatura têxtil e mesmo uma pequena quantidade de corantes em água ($10 - 50 \text{ mg L}^{-1}$) afeta o valor estético, transparência e de solubilidade de íons em corpos hídricos (SAFARIKOVA et al., 2005). O pH médio encontrado em efluentes têxteis provenientes de tingimento com corantes ácidos é de 5,0 e possuem temperatura média de cerca de 30°C (LEDAKOWICZ; SOLECKA; ZYLLA, 2001). Além de corantes, uma série de sais e metais podem ser encontradas em águas residuais do processo de tingimento de tecidos.

Uma vez que possuem alta capacidade de absorção de luz, a contaminação com corantes diminui a fotossíntese em ambientes aquáticos, inibindo o crescimento de produtores primários e gerando uma depleção de oxigênio e interferindo na capacidade de autodepuração (BANAT et al., 1996). Corantes sintéticos são estáveis e permanecem no ambiente por bastante tempo, e em resposta a degradação parcial em condições naturais, inúmeros subprodutos tóxicos e carcinogênicos são produzidos, como benzidina ou outros compostos aromáticos (RODRÍGUEZ COUTO, 2009; NOUREN et al., 2017).

A remoção de corantes têxteis de efluentes ainda é uma grande preocupação ambiental porque os corantes sintéticos utilizados apresentam baixa remoção por sistemas convencionais de tratamento de efluentes. Processos como coagulação e floculação utilizando polieletrólitos e sais de ferro ou alumínio produzem um grande volume de lodo tóxico que possui problemas de manuseio e armazenamento associados a custos elevados (AKSU; DÖNMEZ, 2003).

O carvão ativado é o adsorvente mais utilizado para a remoção de cor e para o tratamento de efluentes têxteis, porém, em virtude de seu preço elevado, não é usado em larga escala. O custo elevado de matérias-primas para adsorção de corantes faz com que exista uma demanda por adsorventes que sejam mais baratos, mas que mantenham a eficiência de remoção (AFSHARIANI; ROOSTA, 2019).

Além dos corantes, a presença de metais pesados pode significar um aumento na toxicidade do efluente gerado. O cobre e o zinco podem ser utilizados no tingimento de

tecidos com corantes ácidos e podem-se apresentar em concentrações que variam de 6 a 330 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de 60 a 270 $\mu\text{g L}^{-1}$ em efluentes têxteis, respectivamente (HUSSAIN; HUSSAIN; ARIF, 2004; YASEEN; SCHOLZ, 2019) .

3.3 Adsorção

Adsorção pode ser definida como a aderência física ou química de íons e moléculas na superfície de um material sólido, de forma que o material acumulado na interface é o adsorbato e o sólido é o adsorvente. Uma vez que os componentes adsorvidos concentram-se sobre a superfície externa, quanto maior esta for por unidade de massa sólida, tanto mais favorável será a adsorção. Por isso, geralmente os adsorventes são sólidos porosos (GADD, 2009).

A adsorção é um dos processos mais eficientes de tratamento de águas de abastecimento e águas residuais, sendo empregado nas indústrias a fim de reduzir dos seus efluentes os níveis de compostos tóxicos ao meio ambiente (FOMINA; GADD, 2014).

3.3.1 Biossorção

Biossorção pode ser definida como a remoção de substâncias presentes em soluções aquosas com o uso de material biológico através do processo de adsorção. Tais substâncias podem ser orgânicas e apresentarem-se tanto na forma solúvel quanto insolúvel (MICHALAK; CHOJNACKA; WITEK-KROWIAK, 2013). O termo Biossorção é usado para indicar uma série de processos independentes de metabolismo que ocorre principalmente na superfície da biomassa. Tais processos podem ser adsorção físico-química, interações eletrostáticas, troca iônica, complexação, quelação, microprecipitação, dentre outros (AKSU, 2005).

Desde o início dos anos 70 o uso de células de microrganismos para adsorção de corantes tem sido estudado por diversos pesquisadores. Zhou e Banks (1991) foram os primeiros a estudar a adsorção com microrganismos quando utilizaram *Rhizopus arrhizus* para adsorver ácidos húmicos presentes em esgoto. Por meio de análises de espectro infravermelho eles concluíram que não ocorreu reação química, apenas adsorção física (ZHOU; BANKS, 1991).

A partir de então, inúmeros estudos foram conduzidos com diferentes espécies de microrganismos com o objetivo de investigar as diversas propriedades da bioadsorção. Dentre estes destacam-se os estudos de Brahim et al. (1992) que utilizaram células intactas e rompidas de *Myrothecium verrucaria* para investigar o possível papel da compartimentação intracelular de corantes (BRAHIMI-HORN et al., 1992). Outro estudo de Zhou e Zimmermann (1993) reportou que a quitina e a quitosana eram os principais compostos responsáveis pela adsorção de ácidos húmicos pelo *Rhizopus arrhizus* (ZHOU; ZIMMERMANN, 1993).

3.3.2 Caracterização de adsorventes

3.3.2.1 pH_{pcz}

O ponto de carga zero de um material é um parâmetro importante a ser considerado quando se estuda fenômenos de superfície como o processo de adsorção. Visto que, fornece informações úteis sobre o comportamento de cargas na superfície adsorvente, em função do pH do meio, o pH_{pcz} representa o valor do pH em que o número de cargas positivas se iguala ao número de cargas negativas resultando em um sólido com superfície eletricamente neutra.

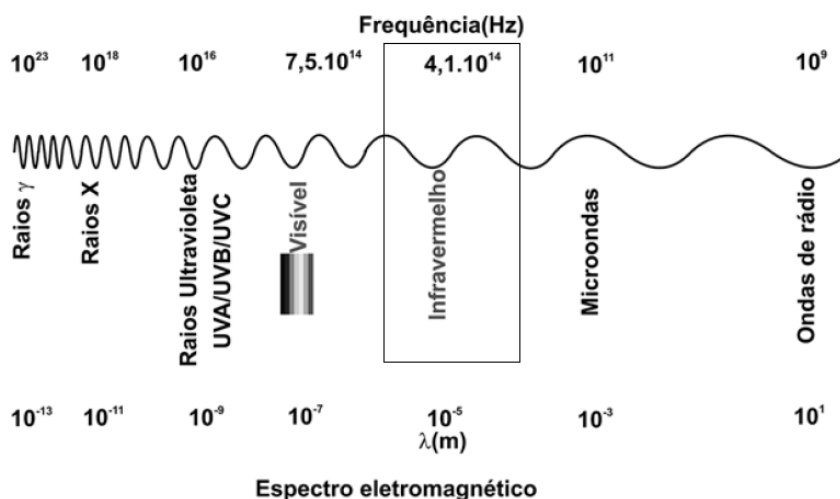
Um valor de pH menor que o pH_{pcz} indica que a carga superficial é positiva e, portanto, a adsorção dos ânions é favorecida. Valores de pH maiores que o pH_{pcz} favorecem a adsorção de cátions, pois a superfície estará carregada negativamente (ZYOUNG et al., 2019).

3.3.2.2 MIR-ATR (*Attenuated Total Reflection Mid-Infrared*)

A identificação dos grupos funcionais presentes nos materiais adsorventes é importante para ajudar a desvendar os mecanismos de adsorção. Através da análise de infravermelho é possível identificar compostos que contenham ligações covalentes, sejam eles orgânicos ou inorgânicos. A radiação infravermelha se refere àquela do espectro eletromagnético, situada entre a região do visível e a região de micro-ondas, como pode ser observado na Figura 2. As regiões do infravermelho mais utilizadas na caracterização de adsorvente é o infravermelho médio que está situado no intervalo

de comprimento de onda de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Nesta faixa, ocorrem mudanças nas energias vibracionais e rotacionais das moléculas, gerando um espectro (KROON-BATENBURG; KROON, 1997).

Figura 2 - Espectro eletromagnético de comprimentos de onda e classificações



Fonte: (SOUZA et al., 2003)

A partir da análise de infravermelho é possível identificar grupamentos funcionais orgânicos que podem atuar como sítios de adsorção (SOUSA et al., 2010, 2011).

3.3.3 Modificação química de adsorventes

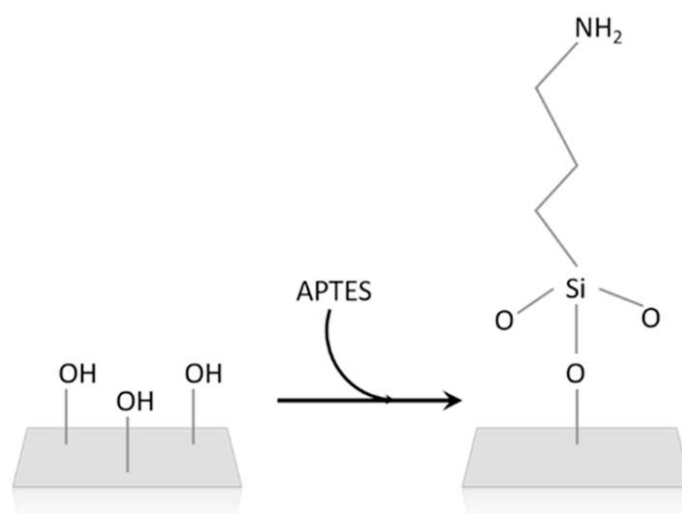
A modificação química de adsorventes com ácidos, bases, sais e compostos orgânicos têm sido estudada com o objetivo de aumentar o número de grupos funcionais na superfície, assim como eliminar compostos orgânicos solúveis que impedem a interação com as moléculas de adsorbato (NGUYEN; HUANG; JUANG, 2016).

Ácido Clorídrico (HCl) é comumente empregado para melhorar as propriedades de biossorventes como durabilidade estrutural, reatividade e capacidade de troca iônica (SONG et al., 2017). A resistência mecânica e a ácidos pode ser melhorada através da modificação com agentes reticulantes como epiclorigina e glutaraldeído (HUANG et al., 2016).

A modificação de superfícies inorgânicas com agentes de ligação pode aumentar

a interação com moléculas orgânicas, de forma que pode aumentar a natureza e a concentração de sítios de ligação. 3-Aminopropiltriethoxissilano (APTES), é um amino-silano amplamente utilizado para a funcionalização de superfícies de sílica, já que possui uma natureza bifuncional onde, na presença de agentes hidrolizantes como água, os grupos alcoxi são hidrolizados a silanóis (Si-OH) (Figura 3), promovendo reatividade das novas espécies formadas (MOUSAVI; FINI, 2020). Isso permite que a superfície silanizada seja utilizada para adsorção de moléculas orgânicas como corantes (AN et al., 2020) ou ainda para a imobilização de proteínas como enzimas (NAYAK; HUERTAS; CRESPO, 2019).

Figura 3 - Representação esquemática do mecanismo de ligação do APTES a uma superfície carregada com radicais hidroxila



Fonte: Adaptado de NAYAK; HUERTAS; CRESPO, 2019

3.3.4 Dessorção

Em estudos de adsorção, a regeneração do adsorvente é muito importante. Por este motivo, são feitos testes de dessorção, com o objetivo de remover o adsorbato do adsorvente para que este possa ser utilizado novamente, além de haver a possibilidade de recuperação do adsorbato quando este apresenta valor econômico (MAURYA; MITTAL, 2013).

A eficiência da dessorção é diretamente afetada pelo pH, comumente em uma condição diferente da ideal para que a adsorção ocorra. Por esse motivo, testes de dessorção costumam ser feitos com a adição de um ácido forte, como ácido clorídrico

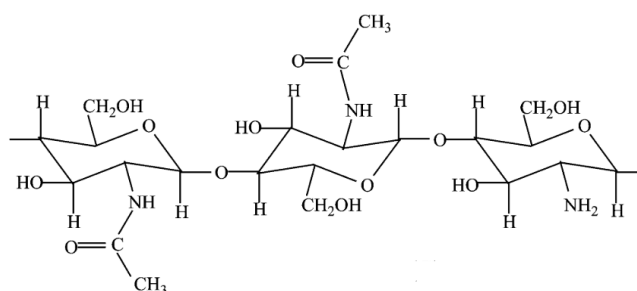
(HCl) ou ácido sulfúrico (H_2SO_4), ou uma base forte, como hidróxido de sódio (NaOH). Para reduzir custos operacionais, também podem ser feitos testes com água em pH neutro ou com a adição de sais como cloreto de sódio (NaCl) (VIJAYARAGHAVAN; YUN, 2008a).

3.3.5 Leveduras como biossorventes

Inúmeros estudos indicam a eficiência da biomassa de leveduras na adsorção de adsorbatos de interesse. A Tabela 2 apresenta alguns estudos de biossorção de metais e corantes com biomassa de leveduras, assim como suas respectivas capacidades de adsorção.

AKSU et al., (2003) reportaram as taxas de biossorção do corante Azul de Remazol em soluções aquosas por nove diferentes espécies de leveduras. A capacidade de biossorção do corante pelas diferentes espécies depende das propriedades das leveduras, porém, no geral, foi proposto que suas paredes celulares contém polissacarídeos com propriedades de troca iônica, principalmente a quitina (Figura 4), assim como proteínas e lipídios, que oferecem uma série de grupos funcionais capazes de promoverem ligações com moléculas de corantes (AKSU; DÖNMEZ, 2003; PRADO et al., 2004).

Figura 4 - Estrutura molecular da quitina



Fonte: (GALLAGHER; HEALY; ALLEN, 1997)

No estudo de FARAH et al., (2007), leveduras residuais do processo de panificação foram usadas para adsorção do corante *Astrazone Blue* em meio aquoso e apresentaram valores de adsorção acima dos valores obtidos com carvão ativado. Isso indica que resíduos industriais, destacando-se leveduras utilizadas na indústria

alimentícia, podem vir a ser uma alternativa viável e eficiente às formas de tratamento convencionais para remoção de corantes presentes em efluentes (FARAH; EL-GENDY; FARAHAT, 2007).

Tabela 2: Diferentes estudos de adsorção de contaminantes ambientais utilizando leveduras e capacidades de adsorção.

Tipo de adsorbato	Adsorbato	q (mg g ⁻¹)	Referência
Corantes	Astrazone Blue	70,0	(FARAH; EL-GENDY; FARAHAT, 2007)
	Remazol Blue	300,0	(AKSU; DÖNMEZ, 2003)
	Basic Blue 41	23,5	(EL-GENDY et al., 2015)
	Aniline Blue	228,0	
	Congo Red	93,1	
	Crystal Violet	41,7	(SAFARIKOVA et al., 2005)
	Naphtol Blue Black	11,6	
	Safranine O	46,6	
Metais	Cobre	1,45	(HAN et al., 2006)
	Chumbo	5,74	
	Manganês	41,3	(FADEL et al., 2017)

Fonte: Vários autores.

SALIH 2019, Modificou fisicamente quitosana ao dispersá-la em terra diatomácea com o objetivo de desenvolver um adsorvente para do Arsênio (SALIH et al., 2019)

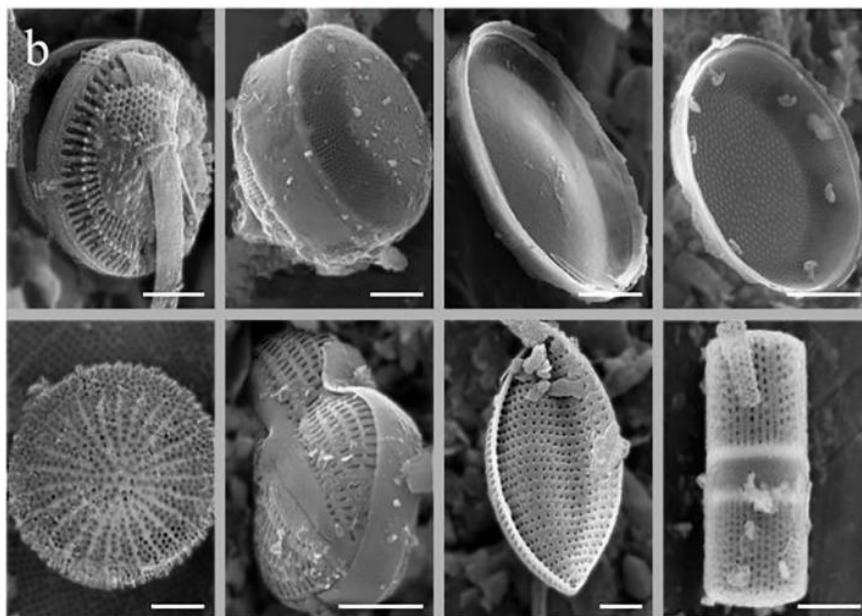
3.4 Terra Diatomácea

A partir do início do século XXI, o interesse no uso de minerais como bentonas, caulinitas e diatomitos como adsorventes aumentou graças a capacidade em adsorver moléculas orgânicas e inorgânicas (PLUMIER et al., 2019).

A Terra Diatomácea (Figura 4) é um mineral composto essencialmente por sílica hidratada opalina (SiO₂), oriunda principalmente de esqueletos de plantas aquáticas chamadas diatomos. Possui inúmeras aplicações industriais, sendo majoritariamente

utilizada para absorver agentes químicos perigosos, como metais pesados e para o refinamento de vários ácidos (ERDEM; ÇÖLGEÇEN; DONAT, 2005).

Figura 5 - Diferentes formatos que a Terra Diatomácea pode apresentar



Fonte: (ERDEM; ÇÖLGEÇEN; DONAT, 2005)

Possui uma combinação única de propriedades físico-químicas, como alta permeabilidade e porosidade, o que permite que seja utilizada como meio filtrante para inúmeras operações industriais, apresentando-se como um substituto barato ao carvão ativado (YUAN et al., 2019).

No Sudeste do Brasil (Campos dos Goytacazes-RJ) existe um importante depósito de material diatomáceo. Entretanto, este depósito tem sido pouco caracterizado a despeito da importância industrial deste material. As propriedades deste material permitem sua aplicação em distintas áreas como auxiliar de filtração, isolante térmico e acústico, como carga ou enchimento, absorvente, entre outras (SOUZA et al., 2003).

3.4.1 Terra Diatomácea residual

A Terra Diatomácea é utilizada na indústria cervejeira como um filtro para clarificação da cerveja. Os resíduos preenchem rapidamente os poros da estrutura morfológica da terra diatomácea durante o processo de filtração, o que impede seu

uso posterior como filtro (WILLE et al., 2019). Após o uso para este fim, a terra diatomácea tipicamente aumenta seu peso em mais de três vezes, em virtude da presença de água, compostos orgânicos e biomassa de leveduras. Cerca de 1,7 kg de resíduo são gerados por hectolitro de cerveja produzido, de forma que grandes quantidades de terra diatomácea são descartadas pela indústria cervejeira. A recuperação desse resíduo é possível com tratamento térmico, o que pode gerar um custo adicional elevado (GOULART et al., 2011).

De acordo com a norma NBR 10.004 da ABNT, a terra diatomácea residual é classificada como um resíduo Classe II, que corresponde aos resíduos que podem apresentar características de combustibilidade, biodegradabilidade ou solubilidade, com possibilidade de acarretar riscos à saúde ou ao meio ambiente, o que faz com que seja descartada em grandes quantidades em aterros industriais (DE MELLO; PAWLOWSKY, 2003).

3.5 Isotermas de adsorção, modelos cinéticos e termodinâmica de adsorção

A capacidade de adsorção (q_e) no equilíbrio pode ser calculada através da Equação 1:

$$q_e = \frac{(C_o - C_e)V}{m} \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde C_o (mg g^{-1}) e C_e (mg g^{-1}) são as concentrações inicial e de equilíbrio do adsorbato em solução, respectivamente; m (g) é a massa seca utilizada de adsorvente e V (L) é o volume da solução contendo o adsorbato.

Uma ampla variedade de modelos de isotermas de equilíbrio são aplicados na literatura para obter dados importantes sobre os mecanismos de adsorção (KUMAR; PORKODI, 2007). Dentre eles, destacam-se os modelos de Langmuir, Freundlich e Sips, descritos na Tabela.

Tabela 2: Equações dos modelos de isotermas de adsorção, modelos cinéticos e equações termodinâmicas

Modelo	Equação	Referência
Modelos de adsorção		
Langmuir	$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	Eq. (2) (LANGMUIR, 1918)
	$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_o}$	Eq. (3)
Freundlich	$q_e = K_F C_e^n$	Eq. (4) (QUIÑONES; GUIOCHON, 1998)
Sips	$q_e = \frac{q_{\max}(K_S C_e)^n}{1 + (K_S C_e)^n}$	Eq. (5) (TRAN et al., 2017)
Modelos cinéticos		
Pseudo-primeira ordem	$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$	Eq. (6) (MAURYA; MITTAL, 2014)
Pseudo-segunda ordem	$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + k_2 q_e t}$	Eq. (7) (HO; MCKAY, 1998)
Difusão intrapartícula	$q_t = k_p \sqrt{t} + C$	Eq. (8) (MOHAN; RAMANAIAH; SARMA, 2008)
Modelos termodinâmicos		
Termodinâmica de adsorção	$\Delta G^{\circ} = -RT \ln(K_L)$	Eq. (9) (ASFARAM et al., 2017).
	$\ln(K_L) = -\frac{\Delta G^{\circ}}{RT} = \frac{\Delta H^{\circ}}{RT} + \frac{\Delta S^{\circ}}{R}$	Eq. (10)

Fonte: Vários autores.

A isoterma de Langmuir (Equação 2) assume que um número fixo de sítios de ligação está disposto na superfície do adsorvente e que todos possuem a mesma energia. De acordo com este modelo, a adsorção é reversível e uma vez que um

adsorbato ocupe um sítio ativo, adsorção posterior não ocorre uma vez que não há interação entre as espécies de adsorbato (TRAN et al., 2017). O valor da constante de Langmuir (K_L) é relacionada à energia de ativação (HUANG et al., 2016).

Uma das principais características da isoterma de Langmuir é o fator adimensional de separação R_L , dado pela Equação 3, que define o processo de adsorção como favorável ($R_L < 1$), não favorável ($R_L > 1$), linear ($R_L = 1$) ou irreversível ($R_L = 0$), ao utilizar o valor de C_0 na concentração experimental mais elevada (ASFARAM et al., 2017).

O modelo proposto por Freundlich (Equação 4) pode ser aplicado a sistemas não ideais, em superfícies heterogêneas e adsorção multicamada (MOKHTAR et al., 2017), onde é aplicada uma distribuição exponencial para caracterizar os diferentes sítios de adsorção, que apresentam diferentes energias de adsorção (FEBRIANTO et al., 2009). Neste modelo, n é o parâmetro de intensidade de Freundlich, relacionado à heterogeneidade da superfície do adsorvente.

O modelo de Sips (Equação 5) incorpora as propriedades dos modelos de Langmuir e Freundlich em uma única equação (DENIZ; KEPEKCI, 2016).

Dados de cinética de adsorção nos períodos iniciais de tempo possuem um papel importante na modelagem e no desenvolvimento de conclusões válidas. Uma série de modelos são utilizados para compreender o desenvolvimento dos mecanismos de adsorção em função do tempo, destacando os modelos de Pseudo Primeira e Segunda Ordem e de Difusão Intra-partícula, descritos pelas Equações 6, 7 e 8, respectivamente.

Parâmetros termodinâmicos como energia livre padrão de Gibbs (ΔG°), entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°) de adsorção podem ser calculados utilizando a Equação 14. A partir da Equação 9, através de uma plotagem dos valores das constantes de Langmuir (K_L) em diferentes temperaturas versus $1/T$ é possível obter os parâmetros termodinâmicos.

3.6 Enzimas oxidoredutases e biodegradação enzimática

3.6.1 Lacases

Lacases são enzimas oxidoredutases multi-cobre extracelulares e pertencem a um pequeno grupo de enzimas denominadas oxidases azuis de cobre (BALDRIAN,

2006; COPETE et al., 2015). Essas enzimas efetuam a oxidação eletrônica de compostos fenólicos com concomitante redução de oxigênio para água sem o uso de peróxido de hidrogênio (DURÁN et al., 2002). Apresentam baixa especificidade com substrato, o que permite a oxidação de substratos como orto e para fenóis, fenóis metoxi-substituídos, benzenotióis, polifenóis, etc (POLAINA; MACCABE, 2007) e podem oxidar compostos não fenólicos na presença de moléculas mediadoras transferidoras de elétrons (KUNAMNENI et al., 2007; POLAINA; MACCABE, 2007; BA et al., 2013). Atuam em uma ampla faixa de pH (de 3,0 a 9,0) e em temperaturas de 20 a 60°C (MOGHARABI; FARAMARZI, 2014).

Lacases de fungos da podridão branca vem sendo amplamente estudadas e caracterizadas graças ao seu papel na biodegradação da lignina. São utilizadas em inúmeras indústrias, como alimentícia, têxtil e de papel, assim como para biorremediação, atuando na biodegradação de contaminantes orgânicos (BEZERRA et al., 2015; LEGERSKÁ; CHMELOVÁ; ONDREJOVIČ, 2018; ZHU et al., 2018; BILAL; IQBAL, 2019; DESKA; KOŃCZAK, 2019). O uso em escala industrial de lacases ainda sofre resistência principalmente pelos custos de produção (ZDARTA et al., 2019) e de dificuldades operacionais, já que as enzimas em sua forma livre podem apresentar baixa estabilidade em determinadas condições (DESKA; KOŃCZAK, 2019).

3.6.2 Imobilização enzimática

A imobilização de enzimas pode contribuir para o reuso e aumento da estabilidade, ajudando a torna-las mais acessíveis para emprego em escala industrial ao reduzir custos em aproximadamente 50% (ZDARTA et al., 2019). Após a imobilização ocorre um aumento de estabilidade ao armazenamento, química e térmica, pois há interações com o suporte que estabilizam a estrutura peptídica do biocatalisador (ZDARTA et al., 2018b).

Comparado com lacase livre, o reforço da estabilidade térmica e ao pH pode ser explicado da seguinte forma:

a) as interações multipontos entre lacases e suportes, especialmente por ligações covalentes, reduz a flexibilidade conformacional das lacases (CELIKBIČAK et al., 2014);

b) limita a mudança conformacional das lacases, aumentando sua rigidez após

imobilização (WANG et al., 2010);

c) altas temperaturas diminuem a resistência de transferência de massa entre suporte e lacase, impedindo a mudança conformacional e a atividade enzimática (XU et al., 2017).

Métodos de imobilização enzimática podem ser físicos ou químicos (Figura 6). Os métodos físicos envolvem a criação de interações não específicas via ligações de hidrogênio, interações iônicas ou hidrofóbicas. Eles reduzem as chances de ocorrerem alterações químicas das enzimas (DURÁN et al., 2002; DATTA; CHRISTENA; RAJARAM, 2013; ZDARTA et al., 2018b)

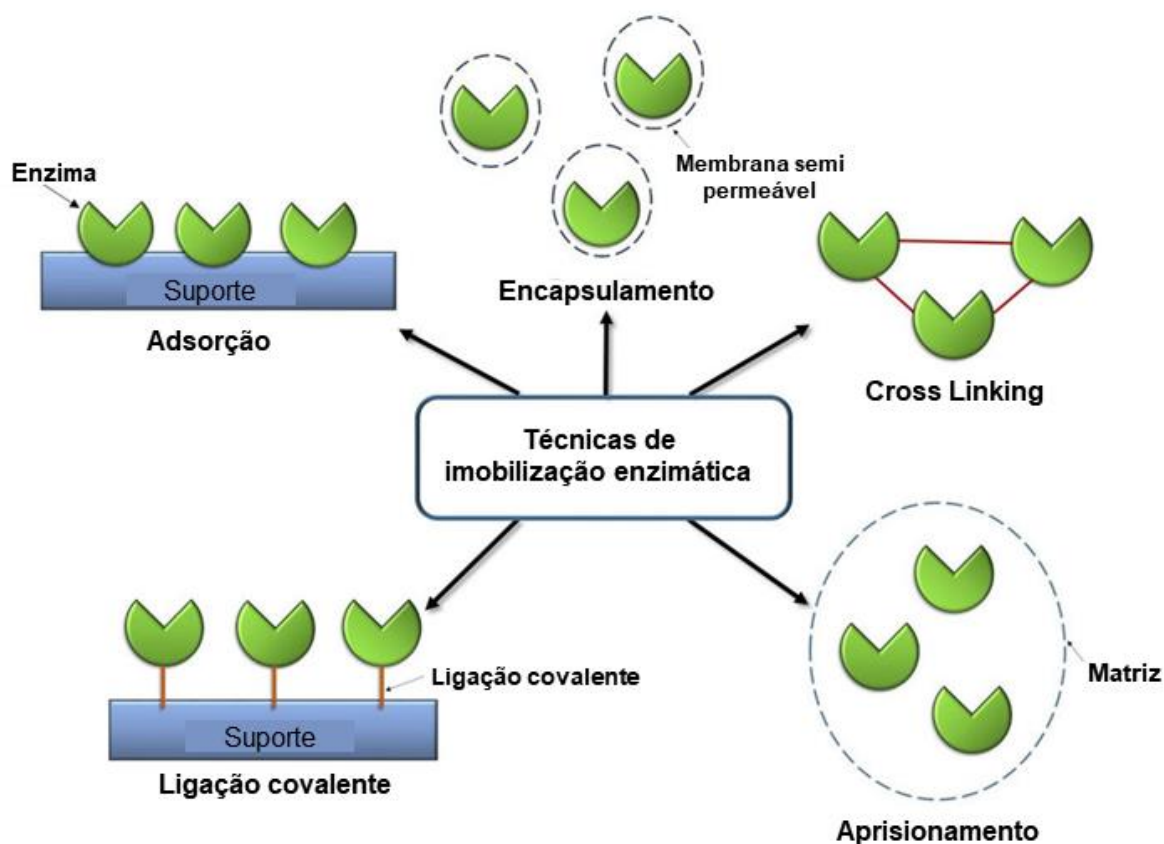
Um método físico comumente empregado é a adsorção, que comparada a outros métodos, possui inúmeras vantagens, como operação facilmente aplicável, baixo custo operacional e possibilidade de reuso. Porém, após inúmeros usos, lacases se desprendem facilmente, graças à perda de força de ligação entre lacases e suportes (FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ; SANROMÁN; MOLDES, 2013).

Suportes orgânicos e inorgânicos porosos, como kaolinita, diatomita, bentonita, sílica gel e celulose, são suportes comumente utilizados para imobilização enzimática por adsorção física (WEN et al., 2019).

Métodos químicos incluem interações por ligações covalentes, o que reduz a perda de enzimas na solução e aumenta suas chances de reuso (HERNANDEZ; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2011; ZDARTA et al., 2018b). Alguns métodos incluem silanização, condensação aldimina, ativação com bromida e diazotização (ZHOU; ZHANG; CAI, 2021).

Outros métodos de imobilização envolvem encapsulação, aprisionamento e *cross-linking*.

Figura 6 - Técnicas de imobilização enzimática.



Fonte: Adaptado de JUN et al., 2019

3.6.2.1 Materiais utilizados como suporte

Ao imobilizar enzimas, deve-se levar em consideração que o material de suporte deve ter química de superfície adequada, que define a química da ligação da enzima (SHELDON; VAN PELT, 2013). Além disso, o suporte adequado deve ser de baixo custo e ambientalmente amigável, ser inerte após a imobilização, apresentar resistência térmica e mecânica, aumentar a especificidade da enzima, ser capaz de acomodar uma grande quantidade de enzima, prevenir adsorção indesejável de proteínas, assim como desnaturação e ser capaz de ampliar a faixa de pH e temperatura ótimos para a atividade enzimática (RODRIGUES et al., 2013; SIRISHA; JAIN; JAIN, 2016).

A funcionalização de suportes para imobilização enzimática pode ser feita com inúmeros compostos, cuja escolha é feita com base nos tipos de grupos funcionais

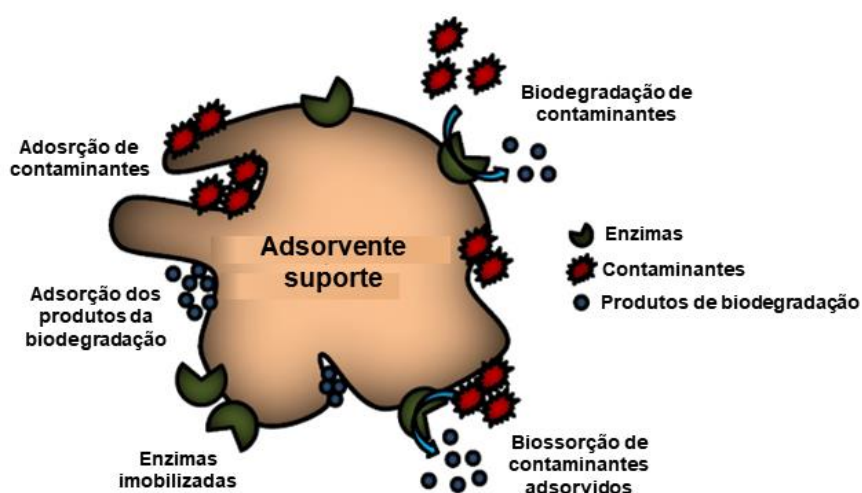
presentes na superfície e dos grupos presentes na enzima que irão efetuar a imobilização. Alguns dos modificantes mais utilizados são o APTES, EDC (1-ethyl-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida), APMS ((3-aminopropil) trimetoxisilano) e EDAC (N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etil-carbodiimida) (MOGHARABI; FARAMARZI, 2014).

A imobilização enzimática comumente é feita com a adição de um agente modificante com um agente reticulante, sendo que este fará a ligação entre a enzima e o grupo funcional da substância de funcionalização. O agente reticulante mais utilizado para imobilização de lacases em superfícies funcionalizadas com agentes silanizantes como o APTES é o glutaraldeído (DE MELO et al., 2017).

3.6.3 Adsorção e degradação simultâneas

A combinação de adsorção e degradação enzimática por enzimas imobilizadas no adsorvente oferece inúmeras vantagens, incluindo aumento na eficiência de remediação, redução do tempo de processo ao evitar acúmulo de produto e potencial inibição e efluentes mais limpos. Adsorção é notavelmente relevante como tecnologia em que ocorre a sorção de produtos da conversão enzimática. Adicionalmente o controle operacional é mais simples, e redução de custos pode ser alcançada, o que é importante para a produtividade biocatalítica e nas aplicações de enzimas imobilizadas (HOMEM; SANTOS, 2011).

Figura 7 - Diagrama esquemático de imobilização simultânea enzimática e processos de adsorção e biodegradação de contaminantes ambientais.



Adaptado de ZDARTA et al., 2019

A adsorção de poluentes com a degradação enzimática simultânea pode ocorrer de duas formas: I – Adsorção dos poluentes nocivos (substrato enzimático); e II – adsorção dos produtos da conversão enzimática (produtos de biodegradação). No primeiro caso, a adsorção não apenas aumenta a eficiência da remoção de compostos tóxicos, mas também aumenta o suprimento contínuo de substratos para a atividade enzimática. Contudo, a adsorção também é utilizada para a eliminação dos produtos de biodegradação, que normalmente são menos tóxicos, mas ainda assim são indesejados na mistura (ALI; ASIM; KHAN, 2012).

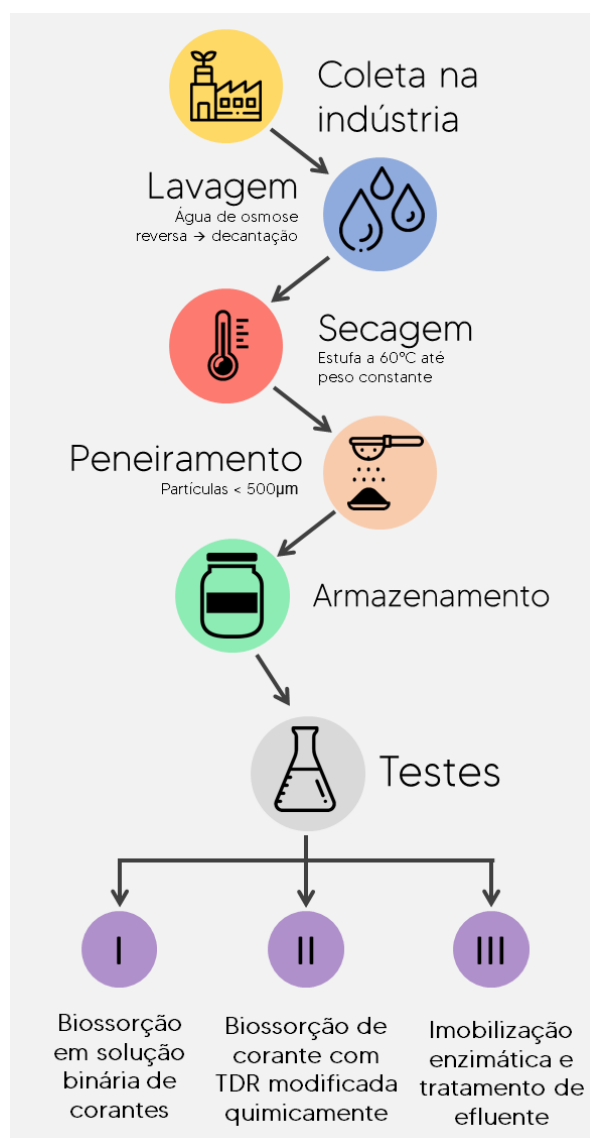
O uso simultâneo de adsorção e degradação enzimática requer que os grupos funcionais do material não apenas sejam compatíveis com os grupos funcionais da biomolécula, mas também devem apresentar afinidade com o poluente ou seus produtos de biodegradação (CRINI, 2006).

4. PARTE I – EFEITO DE SAIS INORGÂNICOS E METAIS NA BIOSSORÇÃO BINÁRIA DOS CORANTES ÁCIDO AZUL 277 E ÁCIDO VERMELHO 361 COM TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL

A

Figura 8 mostra o infográfico de preparo da TDR como bioissorvente e as partes em que o projeto se divide. O detalhamento das demais partes é feito nas seções 5 e 6.

Figura 8 - Infográfico de preparo da TDR e partes do projeto



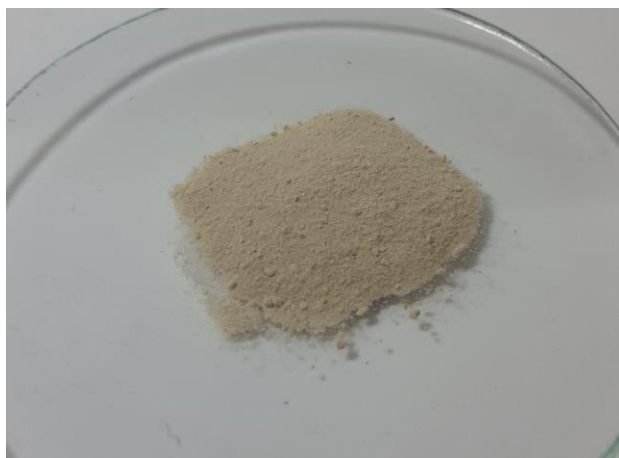
Fonte: Autoria própria

4.1 Metodologia

4.1.1 Preparo do bioissorvente

A terra diatomácea residual (TDR) foi coletada em uma cervejaria localizada no município de Campo Largo, Brasil. A TDR foi lavada para a remoção de impurezas como resto de cerveja, açúcares e lúpulo através de um processo de lavagem que consistia em etapas repetidas de adição de água destilada, decantação e descarte do sobrenadante, até a observação de um sobrenadante bastante translúcido. Após a lavagem, a TDR foi seca em uma estufa convectiva em temperatura de 60°C até atingir peso constante, peneirada com o objetivo de se obter um material em forma de pó com partículas menores que 500 μm (Figura 9) e armazenada em um recipiente de vidro hermeticamente fechado.

Figura 9 - Bioissorvente de TDR preparado



Fonte: Autoria própria

4.1.2 Preparo e análise de concentração de corantes

Os corantes Azul Ácido 277 (AB277) e Vermelho Ácido 361 (AR361) foram gentilmente cedidos por uma indústria têxtil localizada na cidade de Curitiba, Brasil. Foram preparadas soluções estoque com concentração de 1,0 g L⁻¹.

O comprimento de onda de absorbância máxima dos corantes Azul Ácido 277 e Vermelho Ácido 361 foram de 612 nm e 511 nm, respectivamente, determinados em um espectrofotômetro UV-Vis (BEL Engineering, model UV-M51). Uma curva padrão

para diferentes concentrações de solução de corante (10 - 200 mg L⁻¹) foi estabelecida.

Para se estabelecer a concentração de um corante em uma mistura, uma relação linear entre a absorvância (*Abs*) e concentração de corante (*C*) (mg L⁻¹) é dado na lei de Beer-Lambert (IDAN et al., 2017):

$$Abs = k * C + E \quad \text{Equação 11}$$

onde *Abs* é a absorvância da luz no comprimento de onda máximo (λ_{max}); *k* é o coeficiente de absorvância (inclinação da relação linear); *C* é a concentração de corante na solução (mg/L) e *E* é o intercepto na relação linear.

Para um Sistema binário a absorvância total, *Abs* será a soma da absorvância dos componentes individuais AB277 e AR361, o que pode ser descrito por:

$$Abs_1 = k1_{AB277} * C_{AB277} + k1_{AR361} * C_{AR361} \quad \text{Equação 12}$$

A combinação da Equação 12 aplicada para os comprimentos máximos de absorvância em cada corante resulta nas Equações 13 e 14, que fornecem, respectivamente, as concentrações de AB277 (C_{AB277}) e de AR361 (C_{AR361}):

$$C_{AB277} = \frac{k2_{AB277} * Abs_1 - k1_{AR361} * Abs_2}{k1_{AB277} * k2_{AR361} - k2_{AB277} * k1_{AR361}} \quad \text{Equação 13}$$

$$C_{AR361} = \frac{k1_{AB277} * Abs_2 - k2_{AR361} * Abs_1}{k1_{AB277} * k2_{AR361} - k2_{AB277} * k1_{AR361}} \quad \text{Equação 14}$$

Onde $k1_{AB277}$ e $k2_{AB277}$ são as constantes de calibração para AB277 em $\lambda = 612$ nm e 511 nm respectivamente e $k1_{AR361}$ e $k2_{AR361}$ são as constantes de calibração para AR361 em $\lambda = 612$ nm e 511 nm, respectivamente.

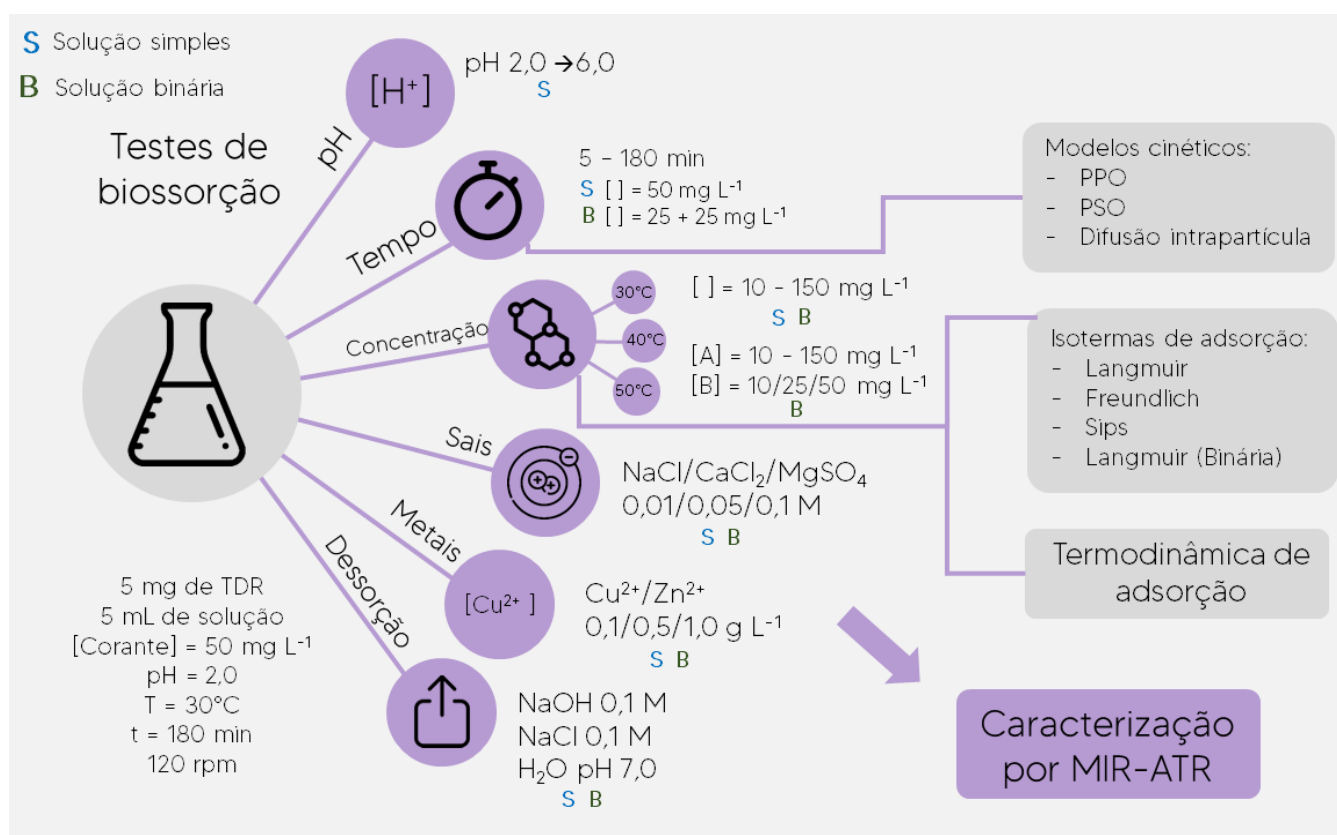
Portanto, para calcular a concentração de cada corante em soluções binárias, quatro curvas de calibração foram construídas para determinar os quatro coeficientes de calibração utilizando soluções puras dos corantes AB277 e AR361, como ilustrado na Figura 13, presente no Anexo 1. Assim, os valores das constantes de calibração para AB277 e AR361 são $k1_{AB277} = 0.014$, $k2_{AB277} = 0.0037$, $k1_{AR361} = 0.0006$ e $k2_{AR361}$

= 0.0208.

4.1.3 Testes de bioadsorção de corantes em batelada

Testes de bioadsorção de corantes foram feitos em batelada através da adição de 50 mg de TDR em 5 mL de soluções de corante. O infográfico com as etapas dos testes de bioadsorção em batelada estão apresentados na **Figura 10**. As condições escolhidas para os testes foram: concentração de corante de 50 mg L^{-1} em pH 2,0, em temperatura de 30°C por 180 minutos com agitação de 120 rpm. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante analisado em espectrofotômetro. Os parâmetros foram alterados conforme o tipo e objetivo do teste. Todos os testes foram feitos com um branco para controle a ser analisado junto com as demais amostras.

Figura 10 - Infográfico descrevendo as etapas dos testes de bioadsorção em batelada para a parte I do trabalho



Fonte: Autoria própria

O efeito do pH inicial foi avaliado em soluções preparadas com variação de pH de 2,0 a 6,0, ajustado com a adição de HCl 0,1 mol L⁻¹ e NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Para estudar o tempo de contato, foram preparadas soluções simples dos corantes com 50 mg L⁻¹ e uma solução binária com 25 mg L⁻¹ de cada corante, com amostras removidas em intervalos de tempo de 5 a 180 minutos.

Para o teste de concentração inicial, foram preparadas soluções com concentrações entre 10 e 150 mg L⁻¹ de cada corante em soluções simples e binárias. Os testes foram feitos em três diferentes temperaturas, 30, 40 e 50°C para avaliação do efeito da temperatura e obtenção de parâmetros termodinâmicos.

Para avaliar a interferência dos corantes em solução binária, foi feita a bioadsorção com soluções com um dos corantes em concentrações fixas de 10, 25 e 50 mg L⁻¹ e com a variação de concentração do segundo.

Para avaliar o efeito da concentração de sais na bioadsorção em soluções simples e binárias, experimentos foram conduzidos com a adição de três sais diferentes (NaCl, CaCl₂ e MgSO₄) em concentrações de 0,01, 0,05 e 0,1 mol L⁻¹. Da mesma forma, o efeito da interferência de metais foi estudado a partir da adição de cobre e zinco na forma de CuSO₄·5H₂O e ZnSO₄·7H₂O nas concentrações de 0,1, 0,5 e 1,0 g L⁻¹.

Para os testes de dessorção, após a bioadsorção dos corantes em solução simples e binária, o bioadsorvente foi ressuspensionado com 5 mL de três diferentes soluções: NaOH a 0,1 mol L⁻¹, água de osmose reversa em pH 7,0 e solução contendo NaCl a 0,1 mol L⁻¹. As amostras foram postas sob agitação por 4h e centrifugadas novamente para análise do sobrenadante via espectrofotometria. A eficiência de dessorção pôde ser calculada da seguinte forma:

$$\text{Eficiência de dessorção (\%)} = \frac{\text{sorbato dessorvido (mg L}^{-1}\text{)}}{\text{sorbato adsorvido (mg L}^{-1}\text{)}} \quad \text{Equação 15}$$

4.1.4 Obtenção dos parâmetros cinéticos e das isotermas de adsorção

Para o estudo dos parâmetros cinéticos e das isotermas de adsorção foram utilizadas as equações apresentadas na Seção 3.5 no Referencial Teórico. Os dados foram analisados com os *softwares* Excel e Origin 8.5.

4.1.5 Caracterização do biossorvente e corantes por MIR-ATR

Os corantes em estado sólido e a TDR seca antes e após a biossorção em soluções simples e binária foram caracterizadas por infravermelho através de um espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1 MIR-ATR na faixa de 4000–500 cm^{-1} .

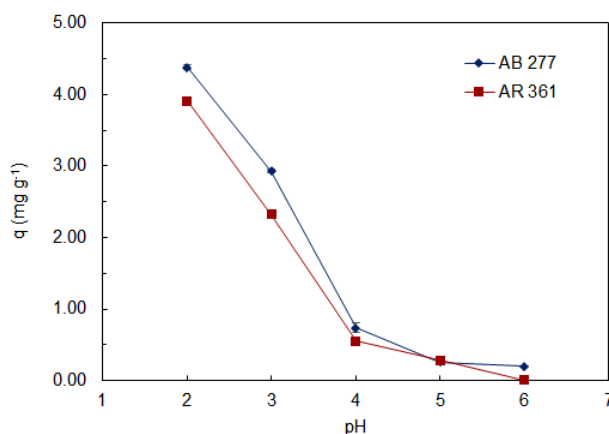
4.2 Resultados e Discussão

4.2.1 Efeito do pH inicial

Apesar dos dois corantes utilizados nos testes serem do tipo ácido, diferenças em estrutura e massa molecular podem interferir nos mecanismos de biossorção de forma distinta, resultando em diferenças na capacidade de remoção destes pela TDR.

O valor de q_e para os dois corantes foi maior em valores mais ácidos de pH (Figura 11), sendo que apresentaram pH ideal como 2,0. Por se tratarem de corantes ácidos, os grupos funcionais vinil sulfona ficam carregados negativamente em solução aquosa. Esses ânions apresentam atração eletrostática com os grupos amina positivamente carregados na superfície da biomassa, de forma que as aminas protonadas podem atuar como sítios de ligação entre o biossorvente e os corantes (WON; HAN; YUN, 2008; YANG et al., 2011).

Figura 11 - Capacidade de biossorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR com variação do pH inicial de solução. (V = 10 mL; m = 0,1 g; Ci = 50 mg L⁻¹; T = 30°C; Agitação = 120 rpm; t = 240 min)



Fonte : Autoria própria

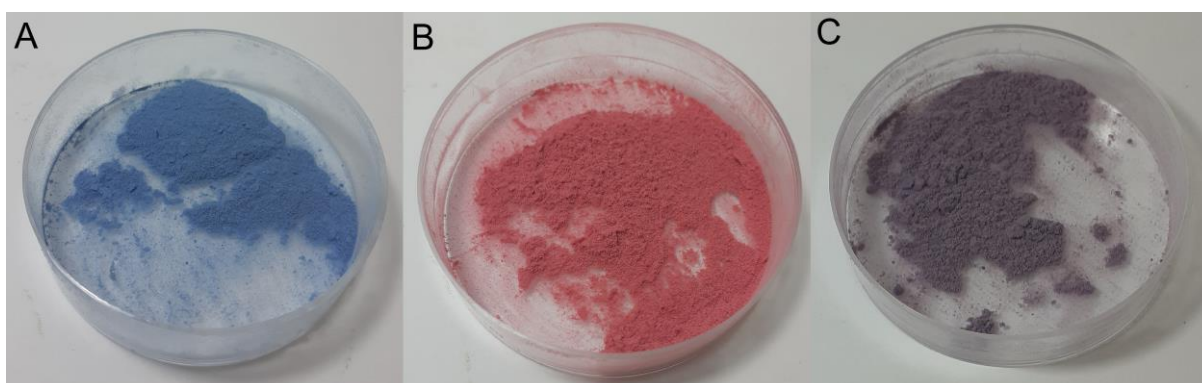
O corante AR361 apresentou menor capacidade de bioadsorção do que o AB277 em TDR no pH 2,0 ($3,91 \text{ mg g}^{-1}$), uma vez que apresenta dois grupos funcionais vinil-sulfona, mas com um deles em uma posição de difícil acesso aos grupos carregados positivamente na biomassa, podendo apresentar baixa interação por conta de impedimento estérico.

4.2.2 Efeito do Tempo de Contato e cinética de adsorção

Experimentos cinéticos foram conduzidos com soluções simples e binárias na mesma concentração para determinar afinidade com o bioadsorvente, assim como verificar se existe algum tipo de interação entre os dois sorbatos. A **Figura 12** mostra a TDR seca após a bioadsorção dos corantes em soluções simples e binária.

A **Figura 13** mostra que os corantes são rapidamente adsorvidos, alcançando capacidades de bioadsorção de $4,19$ e $4,03 \text{ mg g}^{-1}$, respectivamente para AB277 e AR361, nos primeiros cinco minutos de reação em soluções simples. Para soluções binárias, a capacidade de bioadsorção no mesmo tempo de reação foi de $2,52$ e $2,62 \text{ mg g}^{-1}$ respectivamente para AB277 e AR361, com uma quantidade total adsorvida de $4,46 \text{ mg g}^{-1}$. O equilíbrio foi alcançado em 60 minutos de reação tanto em soluções simples como em soluções binárias.

Figura 12 - TDR seca após a bioadsorção de (A) AB277, (B) AR361 e (C) AB277+AR361 em solução binária



Fonte: Autoria própria

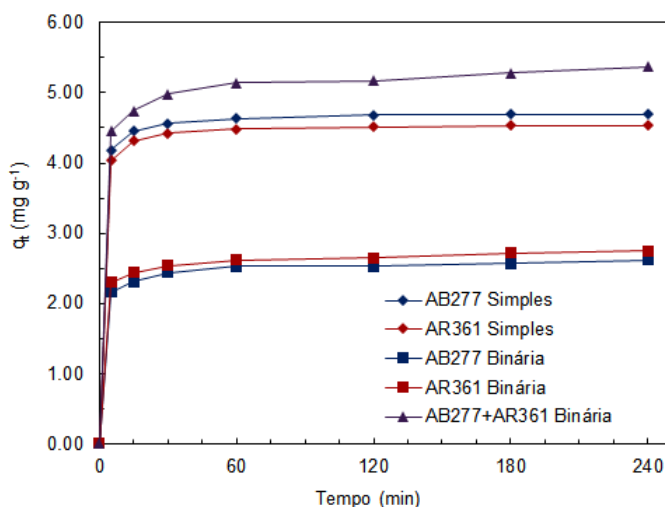
A rápida velocidade de bioadsorção no começo dos experimentos pode ser atribuída à alta disponibilidade de moléculas de corante nos primeiros minutos, enquanto a concentração de moléculas dispersas na solução diminui com o tempo,

reduzindo a probabilidade de colisão dos corantes têxteis com os sítios ativos na superfície do biossorvente (GUERRERO-CORONILLA; MORALES-BARRERA; CRISTIANI-URBINA, 2015).

A capacidade de biossorção do corante AR361 foi maior que a capacidade do AB277 em soluções binárias, enquanto em soluções simples, o oposto ocorreu, podendo indicar que uma interação sinérgica favorece a adsorção deste corante quando o outro está presente.

A capacidade de biossorção total no equilíbrio em solução binária ($5,37 \text{ mg g}^{-1}$) foi superior que em soluções simples, indicando que interações entre os corantes têxteis aumentam significativamente a capacidade de biossorção por TDR. O oposto foi reportado por NGUYEN et al, (2016), onde a capacidade de adsorção de corantes sulfônicos por pellets de quitosana era menor em solução binária que em solução simples (NGUYEN; FU; JUANG, 2016). Isso indica a particularidade de cada corante têxtil com os demais em processos de adsorção, uma vez que adsorção é um processo que envolve diversos parâmetros relacionados com as características do adsorvente (área superficial específica, distribuição e tamanho de poros, etc.) ou das propriedades estruturais do sorbato (peso molecular, formato, grupos funcionais, etc.) (VIJAYARAGHAVAN; YUN, 2008b).

Figura 13 - Efeito do tempo de contato na capacidade de biossorção dos corantes AB277 e AR361 em soluções simples e binárias. (V = 10 mL; m = 0,1 g; $C_i = 50 \text{ mg L}^{-1}$; T = 30°C; pH = 2,0; Agitação = 120 rpm)



Fonte: Autoria própria.

As constantes k_1 e k_2 das equações de pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem, apresentados na **Tabela 3**, indicam a velocidade de adsorção. Valores maiores significam que o equilíbrio é alcançado mais rapidamente (ALBADARIN et al., 2017).

Para experimentos em soluções simples, o modelo de PSO descreveu melhor a cinética de adsorção, de acordo com os valores do coeficiente de determinação (R^2) que são mais próximos de uma unidade para este modelo. Ademais, os valores de q_{e2} estão mais próximos dos valores experimentais da capacidade de biossorção no equilíbrio (q_{exp}) que os valores de q_{e1} .

O modelo de PSO é amplamente reportado como o que melhor descreve cinéticas de adsorção de corantes e sugere que a taxa de ocupação dos sítios de ligação na superfície do adsorvente é proporcional ao quadrado do número de sítios não ocupados (AKAR; ARSLAN; AKAR, 2013).

Para biossorção em solução binária, ambos os modelos de PPO e PSO possuíram um bom coeficiente de determinação, com valores próximos de k_1 e k_2 entre si e valores de q_{e1} e q_{e2} próximos dos valores experimentais. O modelo de PPO normalmente descreve bem a cinética de adsorção nos primeiros 60 minutos, indicando a predominância de interações de fisiossorção, enquanto o modelo de PSO indica a presença de interações de quimiossorção com a biomassa (AZARI et al., 2019).

Interações entre AB277 e AR361 aumentam a velocidade de biossorção, já que atração eletrostática entre os dois corantes faz com que mais moléculas sejam adsorvidas simultaneamente, tornando a reação mais veloz e aumentando a capacidade máxima de adsorção.

Tabela 3: Parâmetros cinéticos da biossorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em solução simples e binária.

		$q_{e\ exp}$	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem			Difusão Intra-partícula		
			q_1	k_1	R^2	q_2	k_2	R^2	k_p	C	R^2
Simples	AB277	4.69	4.60	0.48	0.74	4.68	0.35	0.97	0.04	4.25	0.74
	AR361	4.53	4.45	0.47	0.78	4.52	0.35	0.99	0.04	4.11	0.70
Binária	AB277	2.57	2.45	0.42	0.99	2.53	0.43	1.00	0.03	2.18	0.78
	AR361	2.72	2.56	0.45	0.99	2.63	0.48	1.00	0.03	2.29	0.88

Fonte: Autoria própria.

Em soluções binárias, AR361 apresentou constantes maiores, comprovando que sua adsorção ocorre mais rapidamente, favorecendo-o em uma competição entre os corantes para interação nos sítios de ligação, o que também pode ajudar a explicar a maior capacidade de bioadsorção para este corante em solução binária.

Os valores das constantes do modelo de PSO para os corantes tanto em sistemas simples quanto binários, entre 0,346 a 0,483 g mg⁻¹ min⁻¹, foram maiores do que outros bioadsorventes, como por exemplo, $k_2 = 0,21$ g mg⁻¹ min⁻¹ para a adsorção de azul de metileno em biomassa de alga latok (*C. lentillifera*) (MARUNGRUENG; PAVASANT, 2007) e $k_2 = 0.01$ g mg⁻¹ min⁻¹ para a adsorção do corante Preto Reativo 5 em grãos de cevada residuais da indústria cervejeira (CONTRERAS; SEPÚLVEDA; PALMA, 2012).

O modelo de difusão intra-partícula pode ser útil para identificar os caminhos de reação e os mecanismos de adsorção e prever a etapa limitante (SARUCHI; KUMAR, 2019).

O coeficiente de relação (R^2) deste modelo foi menor que o dos modelos de PPO e PSO, indicando que este modelo não descreve os mecanismos de bioadsorção. Além disso, o coeficiente linear da taxa de difusão (C) mostrou valores positivos, indicando que a difusão não é a etapa limitante do processo e que o bioadsorvente interage com os sorbatos majoritariamente com grupos funcionais presentes na sua superfície externa. A presença de uma superfície com grupos funcionais facilmente acessíveis pode indicar o motivo do alcance rápido do equilíbrio de adsorção.

4.2.3 Efeito da concentração inicial e isotermas

A Isoterma de Langmuir (Tabela 4) apresentou coeficientes de relação próximos da unidade, em todas as temperaturas estudadas para ambos os corantes, sugerindo que a superfície da biomassa apresenta um número finito de sítios de ligação que estão distribuídos de forma homogênea. A bioadsorção não é afetada por interações entre diferentes sítios e as moléculas de corante não interagem umas com as outras, resultando em uma monocamada (RANGABHASHIYAM; LATA; BALASUBRAMANIAN, 2018).

Tabela 4: Parâmetros das isotermas de equilíbrio para a bioissorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em soluções puras em diferentes temperaturas.

		AB277			AR361		
		30°C	40°C	50°C	30°C	40°C	50°C
Langmuir	q_{\max}	6.39	6.94	6.64	6.35	7.01	8.32
	k_L	0.37	0.47	0.52	0.30	0.24	0.17
	R^2	0.93	0.98	0.98	0.98	0.99	0.98
	R_L	0.02	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04
Freundlich	n	0.23	0.23	0.23	0.25	0.28	0.32
	k_F	2.40	2.69	2.65	2.20	2.14	2.06
	R^2	0.72	0.82	0.91	0.86	0.85	0.93
Sips	k_s	0.25	0.45	0.50	0.25	0.22	0.18
	q_{\max}	5.90	6.68	7.27	6.01	6.81	9.24
	n_s	0.54	0.80	1.38	0.77	0.90	1.25
	R^2	0.98	0.98	0.99	0.99	0.99	0.98

Fonte: Autoria própria.

A constante de Langmuir (k_L) está relacionada à energia de ligação na bioissorção. Com o aumento da temperatura, o valor aumenta para o corante AB277 e diminui para o corante AR361, indicando que o aumento da temperatura contribui positivamente para a bioissorção do AB277, mas negativamente para o AR361. Os valores de R_L para os dois corantes em todas as temperaturas estão entre 0 e 1, indicando que a adsorção foi favorável em todos os testes (TRAN et al., 2017).

A isoterma de Freundlich não apresentou uma correlação tão significativa com os dados como a de Langmuir, indicando que é improvável que ocorram interações entre moléculas de corante adsorvidas e moléculas livres na solução que possam resultar em uma camada heterogênea.

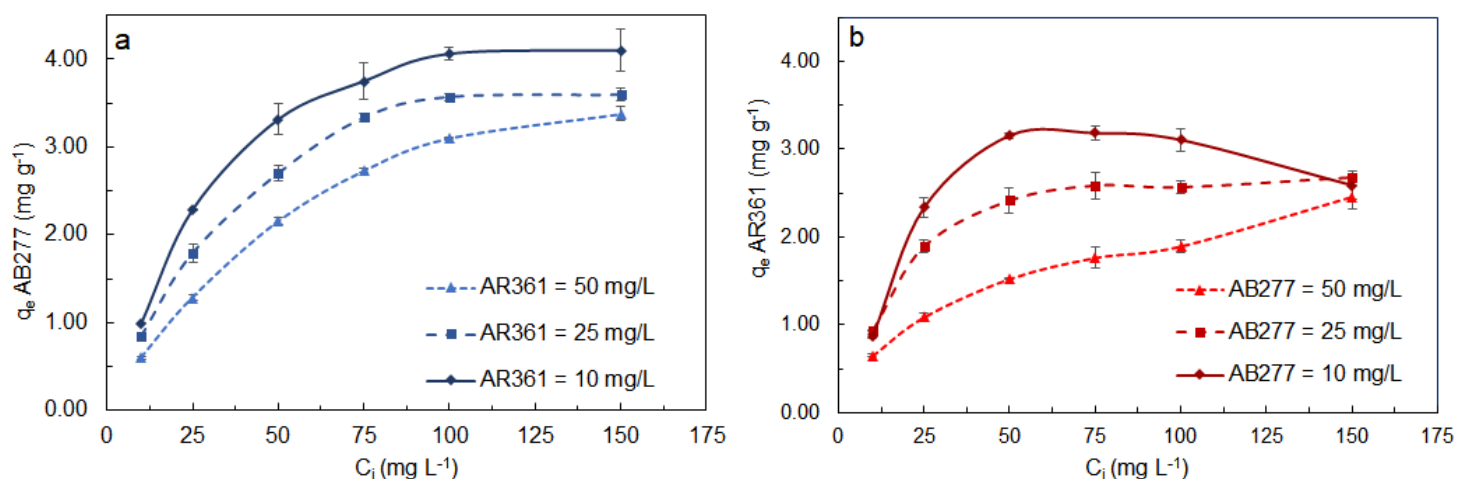
A isoterma de Sips, que considera elementos das isotermas de Langmuir e de Freundlich, teve valores de k_s próximos dos da isoterma de Langmuir, indicando que ambos os modelos podem representar bem a bioissorção. Além disso, a constante n_s , diretamente relacionada à homogeneidade da camada de sorbato no adsorvente, aumenta conforme o aumento da temperatura, indicando que em temperaturas mais elevadas as chances de ocorrer a formação de uma camada heterogênea na superfície do bioissorvente são maiores (BOURAS et al., 2017).

Foram feitos testes de variação de concentração inicial de um corante na presença do outro corante com concentração inicial constante de 10, 25 ou 50 mg L⁻¹.

A Figura 14 mostra que a presença de um segundo corante diminui a capacidade de adsorção do primeiro, demonstrando uma competição entre eles pelos sítios de ligação. Resultados parecidos foram observados por SHI e colab., 2018, na adsorção de tolueno e ciclohexano por macro-resinas e hiper-resinas poliméricas, onde o aumento da concentração de uma molécula orgânica causa a diminuição da capacidade de adsorção da outra (SHI et al., 2018).

A presença de um segundo corante na biossorção simultânea demonstrou resultados diferentes para os dois corantes. O aumento na concentração de AR361 causou uma interferência maior na adsorção de AB277, o que pode ser explicado pela constante cinética maior do corante AR361 em solução binária. A capacidade de adsorção de AB277 em solução simples é maior que a de AR361, indicando uma melhor interação com a biomassa, porém, quando os dois corantes estão presentes simultaneamente, o corante AR361 ocupa os sítios de ligação mais rapidamente, causando uma maior interferência.

Figura 14 - Efeito da concentração inicial na capacidade de biossorção dos corantes em solução binária. a) Capacidade de adsorção do corante AB277 na presença de diferentes concentrações iniciais de AR361 e b) Capacidade de adsorção do corante AR361 na presença de diferentes concentrações iniciais de AB277. (V = 10 mL; m = 0,1 g; t = 240 min; T = 30°C; pH = 2,0; Agitação = 120 rpm)



Fonte : Autoria própria

A isoterma expandida de Langmuir (Tabela 5) mostra um valor de k_L maior para o AB277, indicando que mesmo na presença de dois corantes, a interação é maior pelos sítios de ligação. Ainda assim, os valores de k_L com um segundo corante a 50 mg L^{-1} são menores que os valores da constante para isoterma simples, o que ajuda a propor uma competição pelos sítios de ligação.

Tabela 5: Parâmetros da Isoterma expandida de Langmuir para a bioadsorção dos corantes AB277 e AR361 em TDR em solução binária.

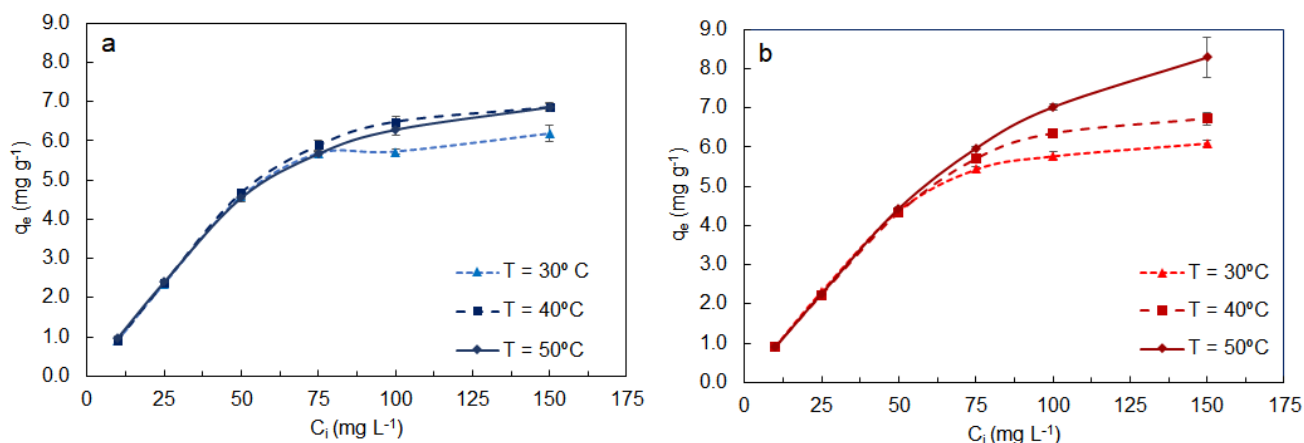
Langmuir - Binária	AB277		
	AR361=50 mg L^{-1}	AR361=25 mg L^{-1}	AR361=10 mg L^{-1}
q_m	2.14	2.70	3.14
K_L	0.08	0.33	0.59
R^2	0.98	0.99	0.95
	AR361		
	AB277=50 mg L^{-1}	AB277=25 mg L^{-1}	AB277=10 mg L^{-1}
q_m	4.24	3.96	4.12
K_L	0.04	0.10	0.30
R^2	0.99	0.99	0.98

Fonte: Autoria própria.

4.2.4 Efeito da temperatura e termodinâmica de adsorção

Em soluções simples, como mostra a Figura 15, o aumento da temperatura de 30°C a 50°C favoreceu a capacidade de bioadsorção de ambos os corantes, já que o aumento da temperatura aumenta a taxa de difusão das moléculas do sorbato em toda camada limite externa e interna nos poros da partícula do adsorvente, devido à diminuição na viscosidade da solução (DOGAN et al., 2006). Além disso, um aumento na temperatura pode ocasionar aumento de energia cinética e na mobilidade das espécies do sorbato, e ainda provocar um aumento na taxa de difusão intra-partícula do sorbato (JIMENEZ et al., 2004).

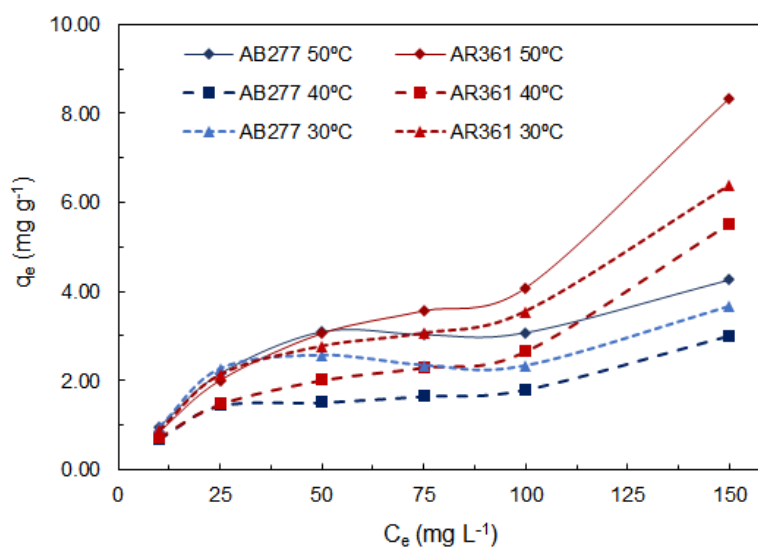
Figura 15 - Efeito da concentração inicial na capacidade de bioissorção dos corantes têxteis em TDR em diferentes temperaturas, sendo a) capacidade de bioissorção do corante AB277 e b) capacidade de bioissorção do corante AR361. ($V = 10 \text{ mL}$; $m = 0,1 \text{ g}$; $t = 240 \text{ min}$; $\text{pH} = 2,0$; Agitação = 120 rpm)



Fonte : Autoria própria.

Com o aumento da concentração inicial, a proporção entre AR361/AB277 aumenta, indicando que, além da velocidade de adsorção do AR361 ser maior em solução binária, possíveis interações sinérgicas entre os corantes surgem com uma provável atração de moléculas de AR361 com as moléculas de AB277 previamente adsorvidas. Essa interação é favorecida pelo aumento da temperatura.

Figura 16 - Efeito da concentração inicial na capacidade de bioissorção dos corantes têxteis AB277 e AR361 em solução binária em TDR com variação de temperatura e $C_{iAB277} = C_{iAR361}$. ($V = 10 \text{ mL}$; $m = 0,1 \text{ g}$; $t = 240 \text{ min}$; $\text{pH} = 2,0$; Agitação = 120 rpm).



Fonte: Autoria própria.

Os dados termodinâmicos (Tabela 6) fornecem informações sobre os mecanismos e o comportamento do processo de biossorção. Os valores negativos de energia livre de Gibbs (ΔG) para ambos os corantes em solução simples e binária indicam a espontaneidade da reação. Os valores menores de ΔG para os corantes em solução binária indicam que a presença de dois corantes em solução favorece a espontaneidade da reação. Porém, os valores de ΔG em solução binária aumentam com maiores temperaturas, indicando que a espontaneidade da adsorção diminui.

A biossorção de AB277 em solução simples apresentou entalpia com um valor positivo, indicando que existe um consumo de energia para que a reação ocorra, enquanto para o AR361 a entalpia apresentou um valor negativo, indicando que existe uma liberação de energia. Já em solução binária, os valores de ΔH são positivos e maiores que em solução simples, indicando que, na presença de dois corantes diferentes, ocorre um maior consumo de energia. Um fornecimento maior de energia através do aquecimento pode permitir que as interações sinérgicas ocorram mais facilmente, ou seja, o aumento da temperatura pode favorecer as interações entre os dois corantes (RANGABHASHIYAM; LATA; BALASUBRAMANIAN, 2018).

Tabela 6: Parâmetros termodinâmicos da biossorção dos corantes AB277 e AR361 em solução simples e binária.

		T (K)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔS (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)
Simples	AB 277	303.15			-0.93
		313.15	13.77	152.21	-1.22
		323.15			-1.39
	AR 361	303.15			-0.75
		313.15	-23.11	28.69	-0.62
		323.15			-0.45
Binária	AB 277	303.15			7.91
		313.15	53.99	152.55	5.86
		323.15			4.88
	AR 361	303.15			6.79
		313.15	34.68	92.45	5.44
		323.15			4.96

Fonte: Autoria própria.

A entropia de adsorção evidencia as mudanças na organização estrutural e energética do sistema. O aumento no valor deste parâmetro geralmente é atribuído ao fato de as moléculas do solvente, as quais envolviam sítios ativos e adsorvato, ficarem mais livres no meio (HOLANDA et al., 2013). A variação de entropia para AB277 não sofreu alterações marcantes em soluções simples ou binárias, porém, AR361 apresentou valores de ΔS mais elevados em solução binária que em solução simples, já que a presença do corante AB277 na reação gera possibilidades de interação entre AR361 com as moléculas previamente adsorvidas de AB277, além da possibilidade de ligação com os sítios ativos.

4.2.5 Efeito da concentração de sais

O processo de tingimento de tecidos envolve grandes quantidades de diferentes tipos de sais, que podem influenciar na capacidade de bioadsorção e seus mecanismos (AKSU, 2005). A influência de diferentes concentrações de NaCl, CaCl₂ e MgSO₄ na bioadsorção dos corantes (

Tabela 7) foi distinta em soluções simples.

Tabela 7: Efeito da concentração de sais inorgânicos na remoção dos corantes AB277 e AR361 através da bioadsorção por TDR. S = Solução simples e B = Solução Binária. (C_i 50 mg L⁻¹; pH 2,0; T 30°C; 120 rpm;)

Conc. de sal (mol L ⁻¹)	NaCl				CaCl ₂				MgSO ₄			
	AB277		AR361		AB277		AR361		AB277		AR361	
	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B	S	B
0.00	93.5%	40.3%	88.8%	61.2%	88.8%	40.3%	93.5%	61.2%	93.5%	40.3%	88.8%	61.2%
0.01	91.1%	49.5%	88.6%	60.2%	88.0%	59.8%	90.9%	68.8%	88.2%	53.7%	86.4%	60.9%
0.05	87.7%	51.4%	86.6%	61.1%	83.8%	62.0%	86.8%	70.9%	80.9%	51.5%	80.5%	61.3%
1.00	86.5%	51.4%	85.4%	63.3%	80.6%	64.7%	80.2%	71.7%	77.7%	49.9%	78.4%	62.2%

Fonte: Autoria própria.

O aumento na concentração de NaCl de 0,01 mol L⁻¹ para 0,1 mol L⁻¹ causou uma redução de 4,5% e 3,2% da remoção de AB277 e de AR361 respectivamente, enquanto o CaCl₂ reduziu a remoção dos corantes em 7,3% e 10,7% no mesmo

aumento de concentração. Existe um efeito competitivo entre os ânions de cloro e os ânions dos corantes ácidos pelos grupos funcionais positivamente carregados na superfície do bioissorvente e uma vez que os ânions Cl^- são menores que as moléculas de corante, eles conseguem ocupar os sítios de ligação mais rapidamente (DALLEL; KESRAOUI; SEFFEN, 2018). Uma vez que CaCl_2 possui uma maior quantidade de ânions de cloro, a competição por sítios ativos reduzem a probabilidade de moléculas de corante interagirem com a biomassa.

A presença de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de MgSO_4 reduziu a capacidade de bioissorção em 15,8% e 10,4% para o AB277 e AR361 respectivamente, uma redução maior que a causada pelos outros sais. Isso pode ser atribuído ao menor peso molecular de SO_4^{2-} que competem com as moléculas de corante pelos sítios de ligação carregados positivamente e pela presença de duas cargas negativas, já que enquanto uma interage com o bioissorvente, a outra pode permanecer exposta, contribuindo para a formação de uma camada negativamente carregada na superfície do bioissorvente e causando repulsão com as moléculas de corante que possuem cargas negativas. Portanto, diferentes ânions podem interferir distintamente na bioissorção de corantes ácidos (AO et al., 2019).

Em sistemas binários, A presença de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl aumentou a remoção de corantes em 11,1% e 2,1% para AB277 e AR361 respectivamente e a presença de CaCl_2 aumentou a remoção dos corantes têxteis em 24,4% para AB277 e 10,5% para AR361. As interações sinérgicas entre os dois corantes aumentam com a presença dos sais inorgânicos, porque a adsorção dos corantes na superfície pode causar uma camada de cargas negativas que pode atrair cátions dispersos na solução e formando uma segunda camada positiva, aumentando as interações por forças de Van der Waals (ZHOU; BANKS, 1991; ZHOU; ZIMMERMANN, 1993).

Uma vez que Ca^{+2} é divalente, essa segunda camada positiva é mais positivamente carregada, aumentando a atração eletrostática dos corantes aniônicos, por isso a capacidade de bioissorção é mais elevada na presença de Ca^{2+} do que na presença de Na^+ . Além disso, a remoção de AB277 em soluções binárias com a presença de sais foi maior que a remoção de AR361 por causa da sua maior afinidade com os grupos positivamente carregados no bioissorvente.

Por sua vez, MgSO_4 interferiu negativamente na bioissorção dos corantes em soluções binárias porque a competição dos ânions SO_4^{2-} ainda se faz presente e é

mais acentuada que a competição por ânions Cl^- , mesmo com as interações sinérgicas entre os dois corantes podendo ser favorecidas pela presença dos cátions Mg^{2+} .

4.2.6 Efeito da presença de metais

A Tabela 8 mostra a remoção dos corantes AB277 e AR361 após a bioadsorção na presença de Cobre e Zinco. Em solução simples houve uma pequena redução na capacidade de bioadsorção, onde o aumento da concentração de zinco de $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ para $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ provocou uma redução de 6,1% e de 1,8% para AB277 e AR361, respectivamente e o mesmo aumento para cobre provocou uma redução de 3,7% para AB277 e 3,0% para AR361. De acordo com o teste de Tukey com 95% de confiança, a presença dos metais e aumento de suas concentrações não é significativo.

Tabela 8: Efeito da concentração de metais na remoção dos corantes AB277 e AR361 através da bioadsorção por TDR. (C_i 50 mg L^{-1} ; pH 2,0; T 30°C ; 120 rpm;)

Conc. do íon metálico (mg L^{-1})	Cu				Zn			
	AB277		AR361		AB277		AR361	
	Simples	Binária	Simples	Binária	Simples	Binária	Simples	Binária
0.00	93.5%	40.3%	88.8%	61.2%	93.5%	40.3%	88.8%	61.2%
0.01	95.4%	33.5%	88.7%	47.2%	95.2%	42.7%	89.9%	65.1%
0.05	91.6%	35.1%	86.3%	47.4%	90.8%	46.2%	88.9%	63.4%
1.00	91.8%	36.5%	85.7%	45.7%	89.1%	49.8%	88.1%	63.7%

Fonte: Autoria própria.

Inúmeros estudos cujo objetivo é promover a adsorção de metais pesados, como cobre e zinco, explicam que a interação dos sorbatos com o material adsorvente é promovida com o aumento do pH, já que um ambiente com mais cargas negativas promove uma maior interação dos grupos funcionais com as cargas positivas dos metais (WAN MAZNAH; AL-FAWWAZ; SURIF, 2012). Uma vez que o pH ideal para a remoção dos corantes aniônicos é de 2,0, a solução apresentou concentrações muito elevadas de íons H^+ que favorecem a bioadsorção dos corantes e uma repulsão dos cátions metálicos Cu^{2+} e Zn^{2+} .

Ainda assim, podem ocorrer poucas interações entre os grupos funcionais negativamente carregados dos corantes e os cátions metálicos, havendo uma neutralização de cargas que impede a interação dos corantes ácidos com os grupos positivamente carregados do bioadsorvente. Essa interação é desfavorecida pelo pH,

porém pode ser favorecida pelo aumento da concentração dos metais, uma vez que a probabilidade de colisão entre as moléculas de corante e os íons metálicos aumenta (NGUYEN; HUANG; JUANG, 2016).

4.2.7 Estudos de dessorção

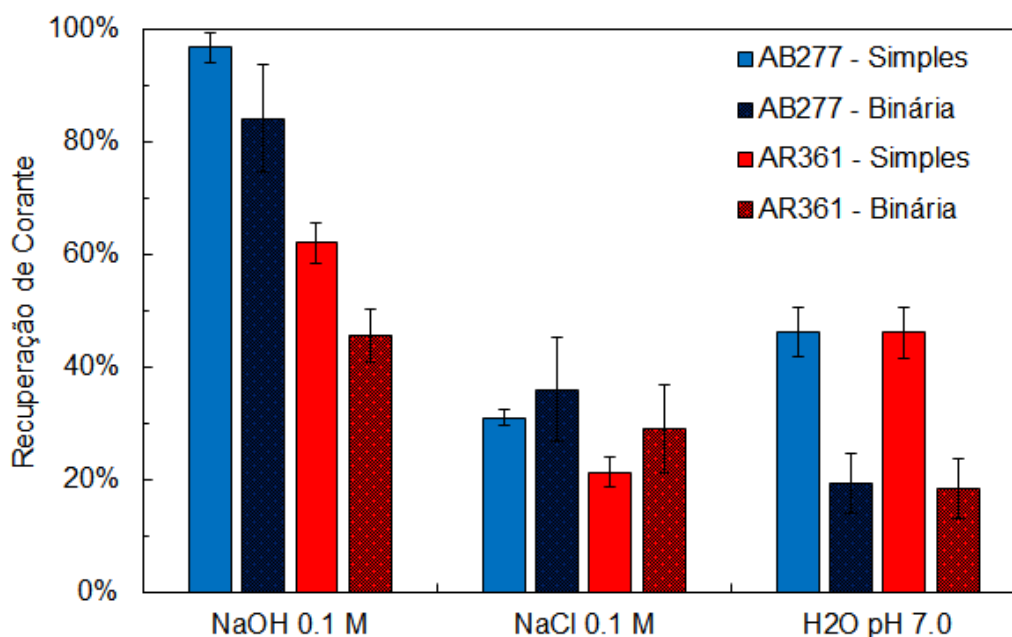
Em estudos de biossorção, é importante estudar o processo de dessorção para a regeneração do biossorbente para reuso e recuperação dos sorbatos caso possuam valor econômico. Na remoção de corantes têxteis a recuperação pode ser importante pois eles podem ser utilizados novamente no processo de tingimento.

O NaOH a 0,1 mol L⁻¹ mostrou uma maior eficiência de recuperação de AB277 e de AR361 após a biossorção

Figura 17) entre todos os dessorventes estudados em soluções simples (AB277 = 96.8% e AR361 = 62.1%) porque a alta concentração de ânions OH⁻ promove uma troca com as moléculas de corante interagindo com os grupos funcionais positivos na superfície do biossorbente, liberando os corantes têxteis novamente na solução (GUPTA et al., 2019).

Figura 17 - Eficiência de dessorção dos corantes AB277 e AR361 após adsorção com TDR através de NaOH 0,1 M, NaCl 0,1 M e H₂O pH 7,0. (V = 10 mL; m = 0,1 g; t = 240 min; T = 30°C; C_i

= 50 mg L⁻¹; Agitação = 120 rpm)



Fonte: Autoria própria.

Considerando que o uso de NaOH pode gerar custos adicionais ao processo, o efeito de NaCl a 0,1 mol L⁻¹ e água destilada em pH 7,0 como dessorventes também foi estudado. Água em pH neutro dessorveu 46,2% para os dois corantes em soluções simples, enquanto a solução de NaCl recuperou 31,0% e 21,3% de AB277 e AR361 respectivamente. Quando água destilada é capaz de recuperar uma quantidade considerável de sorbato, indica mecanismos de sorção físicos (MAURYA; MITTAL, 2013). A substituição de moléculas de corante com ânions OH⁻ presente na solução acontece, mas não promove uma recuperação tão eficiente quanto com o uso de NaOH. Os íons Cl⁻ da adição de NaCl podem competir com os corantes pelos sítios de ligação, porém não apresentam uma força significativa para atuarem como bom dessorvente (MAURYA et al., 2006).

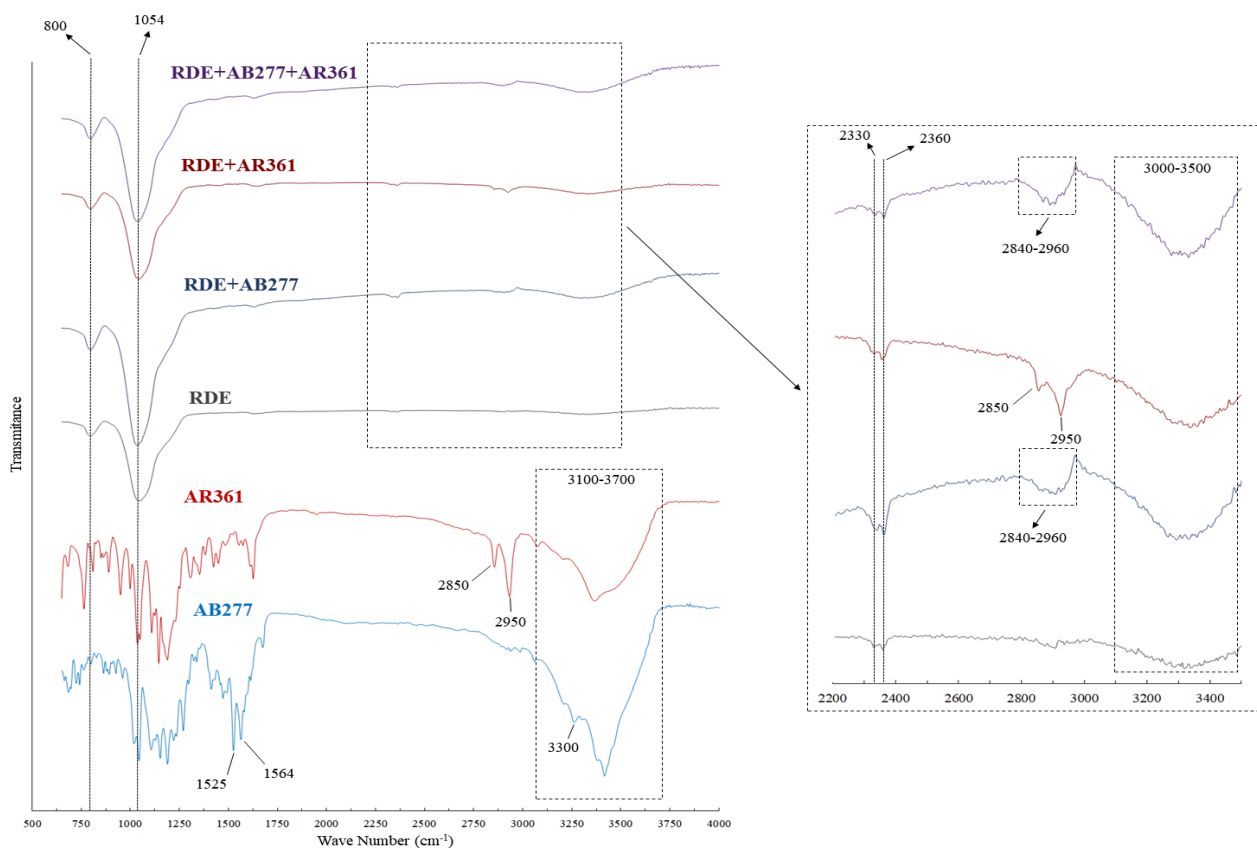
4.2.8 FT-IR

Os espectros de MIR-ATR para os corantes têxteis e TDR antes e após a biossorção estão apresentados na **Figura 18**. Os corantes apresentaram uma banda larga e intensa entre 3100 cm⁻¹ a 3700 cm⁻¹ que corresponde às ligações entre hidrogênio e oxigênio de álcoois e fenóis, além de uma banda particular em 3300 cm⁻¹

¹ que mostra a presença de ligações entre hidrogênio e nitrogênio de grupos amina. Essa banda possui uma intensidade maior para o AB277, que possui mais grupos amina que o AR361. Duas bandas em 2850 cm^{-1} e 2950 cm^{-1} para o AR361 mostram a presença de um radical cíclico saturado (ciclohexano) e uma das extremidades das moléculas (OWHASHI; ARITA; HAYAI, 2000). O corante AB277 também mostrou bandas em 1525 cm^{-1} e 1564 cm^{-1} , característicos dos grupos cetona ligados às cadeias aromáticas em uma estrutura similar à da antraquinona (MACK et al., 2015).

A análise de TDR indica bandas em 800 cm^{-1} que caracteriza as ligações entre oxigênio de silício, principal componente do material. Ligações de silício também são representadas por uma banda intensa em 1054 cm^{-1} , que pode sobrepor sinais de bandas do corante nas análises da TDR após a bio sorção (SHACKELTON; MANN; MILLIS, 1995). Além disso, uma banda mais fraca e larga de 3000 cm^{-1} a 3500 cm^{-1} indica a presença de ligações carbono-oxigênio de ácidos carboxílicos e ligações hidrogênio-nitrogênio de grupos amina, indicando a presença de proteínas e de n-acetilglucosamina que compõe a quitina, principal componente da parede celular das leveduras. Duas pequenas bandas em 2330 cm^{-1} e 2360 cm^{-1} também indicam a presença de ligações hidrogênio-oxigênio dos ácidos carboxílicos da quitina (VERHAGE et al., 1998).

Figura 18 - MIR-ATR dos corantes AB277 e AR361 e de TDR antes e depois da bio sorção dos corantes em soluções simples e binárias.



Fonte: Autoria própria.

A presença de uma banda larga entre 2840 cm^{-1} e 2960 cm^{-1} para a TDR após bioissorção de AB277 indica a presença do corante, assim como a intensidade mais alta das bandas em 2330 cm^{-1} e 2360 cm^{-1} causados pela presença de grupos hidroxila do corante. A presença de AR361 no bioissorvente se dá pelas bandas intensas e estreitas em 2950 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} que indicam o radical cíclico saturado do corante. O aumento na intensidade da banda entre 3000 cm^{-1} e 3500 cm^{-1} mostra o aumento na quantidade de aminas, álcoois e fenóis dos corantes, mostrando que a capacidade total de bioissorção em soluções binárias é maior que em soluções simples.

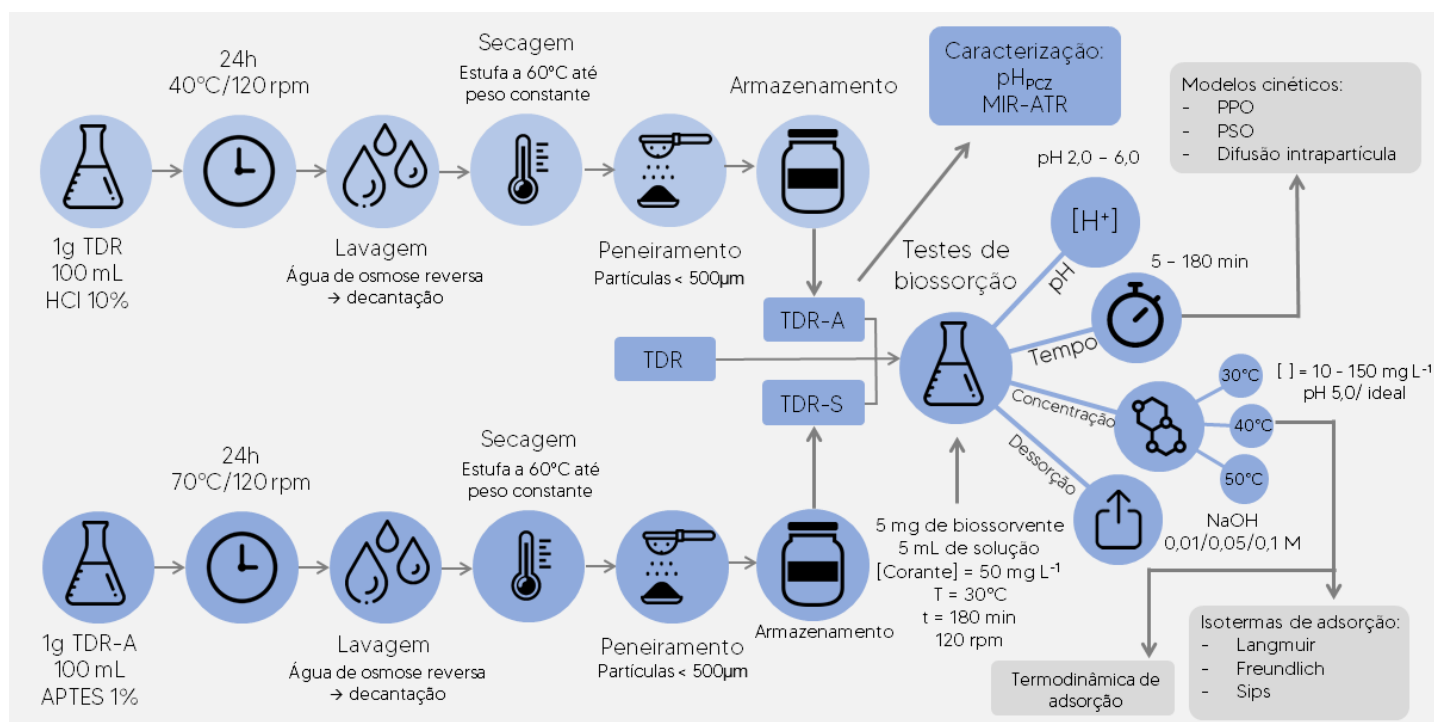
Nenhuma banda surgiu ou desapareceu, apoiando a ideia de que a bioissorção se dá majoritariamente por interações físicas e que não há formação de ligações químicas, o que ajuda a explicar as dinâmicas da adsorção binária na presença de íons de sais inorgânicos.

5. PARTE II – BIOSSORÇÃO DO CORANTE PRETO ÁCIDO 172 POR TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL MODIFICADA QUIMICAMENTE ATRAVÉS DE TRATAMENTO ÁCIDO E SILANIZAÇÃO COM APTESES

5.1 Metodologia

A Figura 19 apresenta o infográfico que descreve as etapas da Parte II do trabalho, indicando o método do preparo da TDR modificada quimicamente e dos testes de biossorção efetuados com o corante Acid Black 172 (AB172).

Figura 19 - Infográfico descrevendo as etapas para o preparo da TDR modificada quimicamente por tratamento ácido e silanização com APTESES e testes de biossorção do corante AB172.



Fonte: Autoria própria.

5.1.1 Modificação química do biossorvente

Para a obtenção do biossorvente com tratamento ácido (TDR-A), 1 g de TDR foi adicionada em 100 mL de uma solução de HCl 10% e foi posta em agitação por 24h a 40°C a 120 rpm. O sobrenadante foi descartado e foi feita uma lavagem com 100

mL de água destilada. O biossorvente foi seco em estufa a 60°C até peso constante e armazenado em um frasco hermeticamente fechado.

Para a obtenção do biossorvente silanizado, foi feita uma adaptação da metodologia proposta por Park et al. (2001), onde 1 g TDR-A foi adicionado em 100 mL de solução contendo APTES 1% diluído em água em agitação por 24h a 70°C a 120 rpm (PARK et al., 2001). O sobrenadante foi descartado e foi feita uma lavagem com 100 mL de água destilada. O biossorvente foi seco em estufa a 60°C até peso constante e armazenado em frasco hermeticamente fechado.

5.1.2 Avaliação do pH_{pcz}

O valor de pH_{pcz} foi determinado de acordo com a metodologia de Regalbuto e Robes (2004). Foi adicionado 5 g dos biossorbentes em frascos com 5 mL de solução aquosa com valor inicial de pH na faixa de 2,0 a 12,0 em agitação por 24h a 30°C e 120 rpm. As amostras foram centrifugadas e o valor do pH do sobrenadante foi medido. O pH_{pcz} corresponde ao valor em que a diferença entre o $pH_{inicial}$ e o pH_{final} é igual a zero.

5.1.3 Testes de biossorção em batelada

Para os testes de biossorção em batelada, 50 mg de biossorvente foram adicionadas em 5 mL de solução de corante. As condições escolhidas para os testes foram: concentração de corante de 50 mg L⁻¹ em pH ideal, em temperatura de 30°C por 180 minutos com agitação de 120 rpm. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante analisado em espectrofotômetro. Os parâmetros foram alterados conforme o tipo e objetivo do teste.

O efeito do pH inicial foi avaliado em soluções preparadas com variação de pH de 2,0 a 6,0, ajustado com a adição de HCl 0,1 mol L⁻¹ e NaOH 0,1 mol L⁻¹.

Para estudar o tempo de contato, foi utilizada uma solução de corante AB172 com 50 mg L⁻¹ no pH ideal escolhido para cada biossorvente, de acordo com o teste de pH inicial, com amostras sendo retiradas em intervalos de tempo de 5 a 180 minutos.

Para o teste de concentração inicial, foram preparadas soluções com

concentrações entre 10 e 150 mg L⁻¹ em três diferentes temperaturas, 30, 40 e 50°C. Os testes foram feitos com o pH ideal escolhido para cada bioissorvente e no valor de pH médio de efluentes têxteis (pH = 5,0) para avaliar o efeito do pH nos parâmetros de bioissorção.

Após a bioissorção do corante, o bioissorvente foi ressuspendido com 5 mL de soluções de NaOH em diferentes concentrações (0,01 mol L⁻¹, 0,05 mol L⁻¹ e 0,1 mol L⁻¹) para calcular a melhor concentração de dessorvente. As amostras foram postas sob agitação por 4h e centrifugadas novamente para análise do sobrenadante via espectrofotometria.

5.1.4 Obtenção dos parâmetros cinéticos e das isothermas de adsorção

Para o estudo dos parâmetros cinéticos e das isothermas de adsorção foram utilizadas as equações apresentadas na Seção 3.5 no Referencial Teórico. Os dados foram analisados com os *softwares* Excel e Origin 8.5.

5.1.5 Caracterização do bioissorvente e corantes por MIR-ATR

O corante em estado sólido e os bioissorventes secos antes e após a bioissorção foram caracterizados por infravermelho através de um espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1 MIR-ATR na faixa de 4000–500 cm⁻¹.

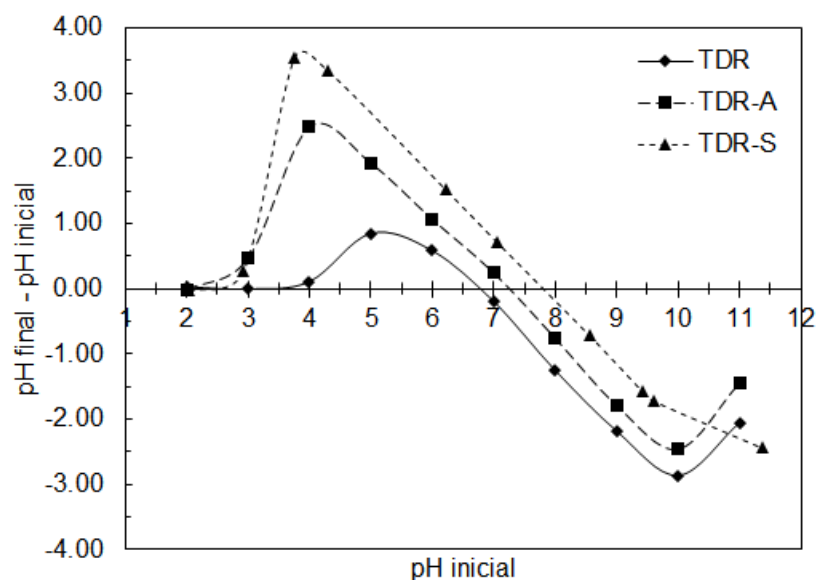
5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Efeito do pH inicial de pH_{PCZ}

A modificação química de adsorventes tem como objetivo alterar a distribuição de cargas em sua superfície para favorecer a adsorção em determinadas condições. A proporção de cargas positivas e negativas de um adsorvente pode ser avaliada pelo seu pH_{PCZ}, ou ponto de carga zero, que indica o valor de pH da solução onde as cargas do adsorvente são neutras. Quanto menor o valor do pH_{PCZ}, maior a quantidade de cargas negativas em sua superfície, e valores maiores de pH_{PCZ} indicam uma maior concentração de cargas positivas em sua superfície.

A modificação química da TDR provocou alterações em seu pH_{PCZ} (Figura 20). Os valores de pH_{PCZ} encontrados foram de 6,75 para a TDR, 7,25 para a TDR-A e 7,85 para a TDR-S.

Figura 20 - Caracterização de TDR, TDR-A e TDR-S através do pH_{PCZ} . ($V = 5 \text{ mL}$; $m = 50 \text{ mg}$; $T = 30^\circ\text{C}$; $t = 24\text{h}$; Agitação = 120 rpm)



Fonte: Autoria Própria

O aumento do pH_{PCZ} para a TDR-A se dá pela neutralização das cargas negativas da superfície da biomassa pelos íons H^+ do ácido utilizado (HCl). A TDR-S apresentou um aumento ainda maior em seu pH_{PCZ} , uma vez que a imobilização do APTES se dá por reações de substituição dos grupos hidroxilas presentes no biossorbente pelos grupos hidroxila da molécula de APTES. Essa troca neutraliza até três cargas negativas do biossorbente adiciona uma carga de amina disponível para interagir com os sorbatos (SLAGMAN; ZUILHOF; FRANSSEN, 2018).

A TDR apresentou boa eficiência de remoção de corante em valores de pH mais baixos

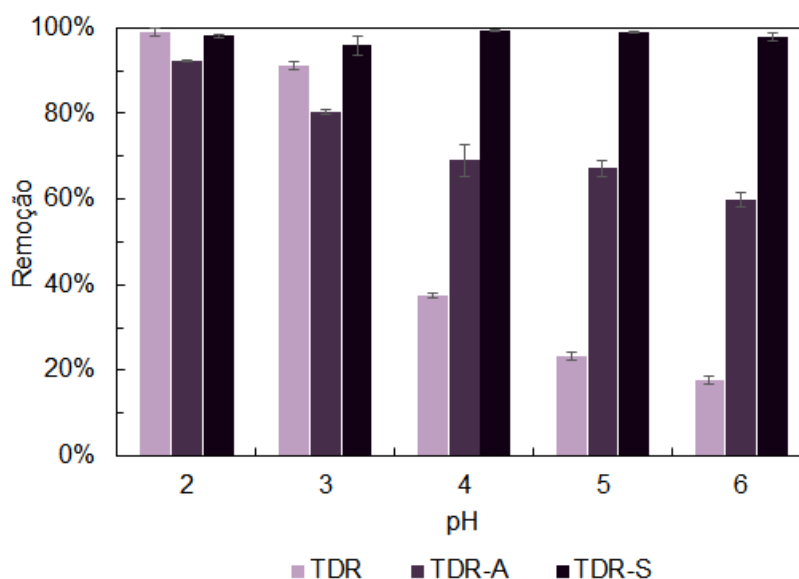
(Figura 21), sofrendo quedas consideráveis em eficiência conforme o aumento do pH. A TDR-A apresentou capacidade de biossorção um pouco inferior à TDR em pH 2,0 e também apresentou redução de eficiência com o aumento do pH, porém, com queda menos expressiva. O aumento no pH de 2,0 para 6,0 reduziu a eficiência de

remoção de corante em 81,3% para TDR e de 32,3% para TDR-A.

A maior remoção do corante em valores de pH mais ácidos implica em uma alta quantidade de grupos funcionais negativamente carregados na superfície da biomassa, o que implica uma maior concentração de cátions de hidrogênio necessária para neutralizar essas cargas e tornar a biossorção favorável pelos grupos funcionais positivos da TDR. O aumento do pH_{PCZ} representa uma diminuição na proporção de cargas negativas dos biossorbentes, o que explica melhores capacidades de remoção do corante em pHs mais próximos do neutro para TDR-A e TDR-S.

O tratamento ácido pelo qual a TDR-A foi submetida induz um aumento de cargas positivas na superfície e aumenta a eficiência de adsorção de corantes negativamente carregados (ABEGUNDE et al., 2020).

Figura 21 - Efeito do pH inicial na remoção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S. (V = 5 mL; m = 50 mg; C_i = 50 mg L⁻¹; T = 30°C; t = 180 min; Agitação = 120 rpm)



Fonte : Autoria própria.

A TDR-S, por sua vez, apresentou alta eficiência de remoção do corante em todos os valores de pH (de 96,0% a 99,3%). Isso se dá ao aumento de cargas positivas posicionadas de maneira mais favorável na superfície do biossorbente após a silanização. Em soluções com pH abaixo do valor de pK_a do APTES ($10,37 \pm 0,10$) o grupo amina encontra-se na forma protonada, favorecendo interações com os grupos funcionais negativos dos corantes ácidos. Isso indica que as interações entre as

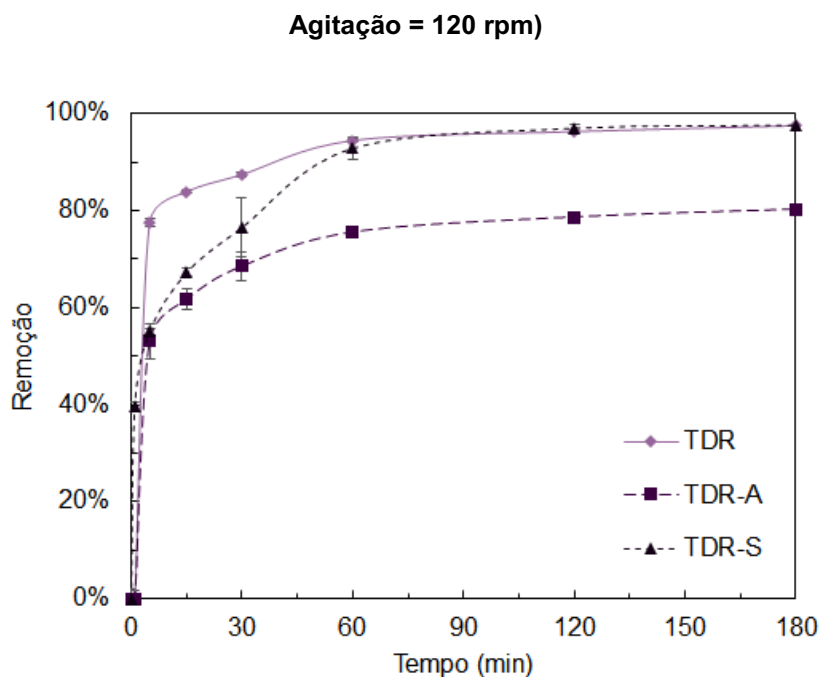
moléculas de corante e esses grupos positivos sofre pouca interferência do pH do meio. Além disso, a TDR-S apresenta a vantagem operacional de possuir alta eficiência em uma maior amplitude de valores de pH, o que facilita sua aplicação em efluentes industriais.

5.2.2 Efeito do tempo de contato e cinética de bioadsorção

A TDR removeu maiores quantidades do corante AB172 que os demais bioadsorventes nos primeiros 5 minutos de reação, porém, todos alcançaram o equilíbrio em cerca de duas horas. A alta taxa de remoção nos primeiros minutos se dá pela alta disponibilidade de grupos funcionais disponíveis na superfície do bioadsorvente.

A bioadsorção pela TDR em pH 2,0 possui uma quantidade muito maior de íons de hidrogênio em solução, que favorecem a formação de interações eletrostáticas na superfície, de forma que a bioadsorção ocorre rapidamente. A remoção do corante por TDR-S, por sua vez alcançou 39,8% em um minuto de reação, desacelerando em seguida, em virtude dos sítios de ligação mais disponíveis promovidos pela funcionalização com APTES. A desaceleração ocorre, pois, os sítios ocupados do APTES fazem com que a bioadsorção passe a ocorrer majoritariamente com os sítios ativos da superfície da biomassa.

Figura 22 - Efeito do tempo de contato da remoção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S. (V = 5 mL; m = 50 mg; C_i = 50 mg L⁻¹; T = 30°C; pH = 2,0 (TDR), 3,0 (TDR-A), 5,0 (TDR-S);



Fonte: Autoria própria.

O coeficiente de correlação dos modelos cinéticos mostra que o modelo de pseudo-segunda ordem descreve melhor a cinética de bioadsorção. A constante k_2 é maior para a TDR, que possui os sítios de ligação distribuídos em sua superfície que fica rapidamente carregados. A TDR-S apresentou um valor maior para essa constante que a TDR-A, já que apresenta alta eficiência de remoção no primeiro minuto de reação (cerca de 39,8%), graças à disponibilidade de grupos funcionais em posições mais favorecidas pela silanização.

An e colab. (2020) efetuaram a silanização de lignina aminada para a adsorção do corante *Congo Red* e Cobre (II) e observaram que o APTES favorece interações eletrostáticas com o corante e complexação com o metal. A cinética de adsorção observada também foi bem descrita pelo modelo de pseudo-segunda ordem (AN et al., 2020).

O modelo de difusão intra-partícula não apresentou valores significativos de correlação, indicando que a processo de difusão dos sorbatos não é um fator limitante para a bioadsorção. Isso se deve à disponibilidade dos sítios de ligação distribuídos na superfície e as moléculas de corante apresentam dificuldades em entrar em poros que podem existir nos bioadsorventes, por se tratarem de moléculas grandes.

Tabela 9: Parâmetros cinéticos para a bioadsorção do corante AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S.

	Q _{e exp}	Pseudo-primeira ordem			Pseudo-segunda ordem			Difusão Intra-partícula		
		q ₁	k ₁	R ²	q ₂	k ₂	R ²	k _p	C	R ²
TDR	4,64	4,49	0,03	0,94	4,48	0,21	0,99	10,63	-38,55	0,83
TDR-A	3,91	3,66	0,20	0,94	3,67	0,11	0,99	7,68	-18,83	0,88
TDR-S	4,94	4,49	0,27	0,87	4,86	0,15	0,98	3,77	-7,95	0,87

Fonte: Autoria própria.

5.2.3 Efeito da concentração inicial e isotermas de bioadsorção em pH ideal e de efluente têxtil

A boa correlação com o modelo de Isoterma de Langmuir em todos os testes em valores de pH ideal (Tabela 10) indica uma distribuição homogênea e equitativa energeticamente dos grupos funcionais na superfície dos bioadsorventes. Os valores de k_L maiores para TDR-S e TDR-A implicam em interações com mais afinidade com os grupos dos bioadsorventes, já que a bioadsorção se torna menos dependente de interações eletrostáticas que utilizam íons H^+ como ligantes e passam a utilizar prioritariamente os próprios grupos funcionais na superfície [7]. Os valores de R_L menores que 1 indicam que a bioadsorção é favorável em todos os testes realizados.

A isoterma de Sips também descreveu bem a bioadsorção em todos os casos. Os valores de n_s menores que 1,0 para todos os testes, com exceção da TDR em pH ideal e 30°C e 40°C, indica que a bioadsorção acontece em monocamada (DA ROSA et al., 2018)

O aumento da temperatura reduziu a capacidade de bioadsorção do corante por TDR e TDR-S, mas aumentou para TDR-A, o que implica em mecanismos de bioadsorção distintos.

Tabela 10: Parâmetros de isotermas para a bioadsorção de AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S

em diferentes temperaturas.

		TDR (pH = 2,0)			TDR-A (pH = 3,0)			TDR-S (pH = 5,0)			TDR (pH = 5,0)			TDR-A (pH = 5,0)		
		30°C	40°C	50°C	30°C	40°C	50°C	30°C	40°C	50°C	30°C	40°C	50°C	30°C	40°C	50°C
	q_{exp}	8.13	7.59	6.89	4.91	4.91	5.70	6.84	6.67	6.48	0.46	0.49	0.54	4.86	4.84	4.79
Langmuir	q_{max}	9.06	8.22	6.57	4.66	4.82	5.26	6.69	6.37	6.36	0.47	0.46	0.57	4.74	4.75	4.71
	k_L	0.23	0.30	0.36	2.12	1.49	0.84	1.34	0.81	0.55	0.43	0.30	0.33	1.14	1.72	1.54
	R^2	0.98	0.94	0.97	0.98	0.97	0.93	0.99	0.99	0.97	0.95	0.95	0.99	0.98	0.97	0.99
	R_L	0.08	0.06	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.07	0.05	0.05	0.09	0.01	0.01
Freundlich	n	0.32	0.25	0.17	0.17	0.18	0.20	0.14	0.14	0.18	0.12	0.16	0.14	0.18	0.13	0.17
	k_F	2.58	3.01	3.64	2.42	2.27	2.47	3.82	3.51	3.05	0.28	0.23	0.31	2.40	2.83	2.47
	R^2	0.80	0.75	0.87	0.95	0.89	0.93	0.96	0.94	0.95	0.99	0.96	0.91	0.88	0.91	0.85
Sips	k_S	0.28	0.37	1.15	1.23	1.24	0.40	1.31	0.81	0.52	0.25	0.23	0.80	1.00	1.89	1.40
	q_{max}	8.22	7.35	6.97	5.09	4.57	6.58	6.78	6.39	6.60	0.64	0.56	0.14	4.90	5.13	4.79
	n_s	1.45	1.88	0.75	0.61	3.06	0.51	0.88	0.98	0.81	0.33	0.51	0.37	0.82	0.56	0.88
	R^2	0.99	0.98	0.97	0.98	0.98	0.95	0.99	0.99	0.97	0.99	0.96	0.97	0.98	0.99	0.99

Fonte: Autoria própria.

No valor de pH de 5,0, a correlação da bioadsorção por TDR não foi muito adequada para os modelos utilizados em vários testes, uma vez que nessas condições a capacidade máxima de bioadsorção reduz consideravelmente, tornando os mecanismos difíceis de serem investigados.

A alteração do pH de 3,0 para 5,0 não apresentou diferenças consideráveis na capacidade máxima de bioadsorção pela TDR-A, indicando que a modificação química com ácido clorídrico tornou o material mais suscetível à utilização em um efluente real.

Deng e colab (2019) estudaram o efeito do tratamento ácido na adsorção de benzeno por halosita calcinada e chegaram a conclusão de que o tratamento ácido causa a formação de macroporos adicionais ao promover a alteração de grupos funcionais na superfície do adsorvente o que favoreceu a adsorção (DENG et al., 2019).

Ainda assim, a melhor capacidade de bioadsorção em pH 5,0 foi apresentada pela TDR-S, sugerindo que a silanização é o método de modificação química mais eficaz para permitir que o bioadsorvente seja utilizado em um efluente real.

5.2.4 Efeito da temperatura e termodinâmica de bioadsorção

A alteração na temperatura provocou mudanças na capacidade máxima de bioadsorção do corante AB172 pelos bioadsorventes. A Tabela 11 mostra que os valores

de ΔG são negativos em todos os testes, indicando a espontaneidade da bioadsorção. Esses valores aumentam com a elevação da temperatura. Os valores de entalpia positivos demonstram que a reação é endotérmica, ou seja, há um consumo de energia.

Tabela 11: Dados termodinâmicos para a bioadsorção de AB172 por TDR, TDR-A e TDR-S

		T (K)	ΔH (kJ mol ⁻¹)	ΔS (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	ΔG (kJ mol ⁻¹)
pH ideal	TDR	303.15			-2.20
		313.15	5.37	-32.94	-1.69
		323.15			-0.78
	TDR-A	303.15			-5.35
		313.15	4.54	-3.18	-3.87
		323.15			-2.25
	TDR-S*	303.15			-3.37
		313.15	4.33	-1.69	-2.10
		323.15			-1.48
pH efluente	TDR	303.15			-1.61
		313.15	7.38	-10.75	-1.46
		323.15			-0.38
	TDR-A	303.15			-2.87
		313.15	2.02	20.65	-4.01
		323.15			-4.62

Fonte: Autoria própria.

O aumento dos valores de ΔG correspondem aos valores positivos de ΔH , de forma que em maiores temperaturas a bioadsorção é menos espontânea graças ao consumo de energia (PADMESH et al., 2006). Quando o pH de reação é alterado de 2,0 para 5,0, a TDR exige um consumo maior de energia, assim como a reação se torna menos espontânea, já que a menor concentração de cátions de hidrogênio torna a bioadsorção menos favorável.

A alteração de pH de 3,0 para 5,0 fez com que a bioadsorção por TDR-A mostrou que a espontaneidade da reação aumenta com a diminuição dos valores de ΔG , o que indica que a alteração de pH gera uma mudança energética nas reações envolvidas no mecanismo de bioadsorção.

Valores negativos de entropia indicam que a reação ocorre de maneira mais ordenada. A modificação química provoca aumento na aleatoriedade da distribuição dos sítios de ligação, já que ΔS é maior para TDR-A e TDR-S em pH ideal. A TDR-A

em pH do efluente apresenta ΔS positivo, de forma que a biossorção nessas condições ocorre de maneira desordenada.

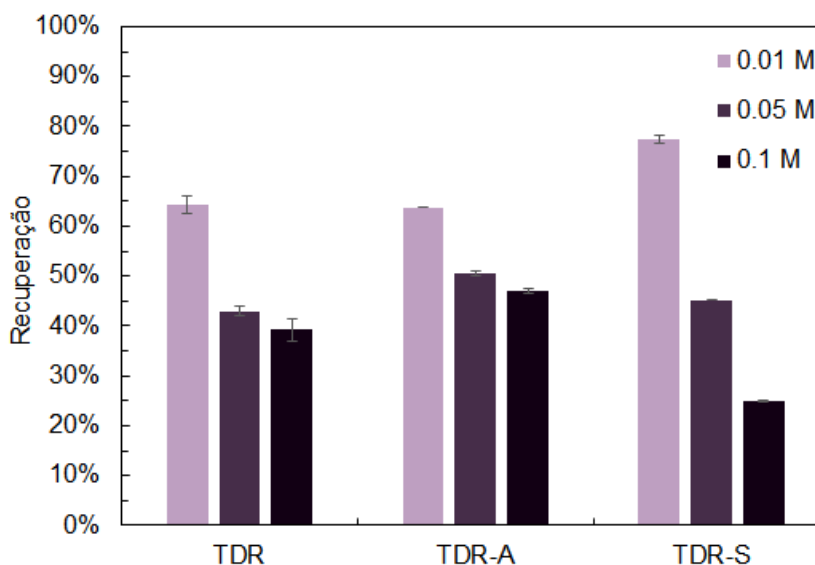
Lima e colab. (2019) avaliaram a adsorção do corante *sunset yellow* em quitosana silanizada com APTES e obtiveram parâmetros termodinâmicos semelhantes, com valores positivos para entalpia, indicando uma reação endotérmica e valores positivos de entropia, indicando que a silanização torna a adsorção de corantes mais ordenada (LIMA et al., 2019).

5.2.5 Estudos de dessorção com NaOH

Para efetuar a dessorção de corantes ácidos após a biossorção, reagentes alcalinos são comumente utilizados. Desta forma, o hidróxido de sódio foi escolhido como dessorvente por apresentar pH altamente alcalino (aproximadamente 12,0), já que o número de sítios de ligação negativamente carregados aumenta e favorecem a dessorção dos corantes ácidos por repulsão eletrostática (VIJAYARAGHAVAN; YUN, 2008c).

Para estabelecer qual a melhor concentração possível para remoção do corante dos biossorventes, três concentrações foram estabelecidas. Desta forma, é possível definir a quantidade mínima de reagente necessária para efetuar a dessorção e assim reduzir custos operacionais.

Figura 23 - Efeito da concentração de NaOH na dessorção após a bioadsorção de AB172 por TDR, TDR-A, TDR-S. (V = 5 mL; m = 50 mg; t = 180 min; T = 30°C; Ci = 50 mg L⁻¹; Agitação = 120 rpm).



Fonte: Autoria própria.

A solução na menor concentração apresentou a melhor taxa de dessorção do corante em todos os biossorbentes (recuperação de 63,8 a 77,4%). O oposto foi encontrado por Gupta e colab. (2010), que utilizaram glicerol para efetuar a dessorção de indigocamina de sementes de mostarda e obtiveram a melhor recuperação do sorbato com glicerol em 30%, a maior concentração estudada (GUPTA et al., 2010).

As soluções mais concentradas de NaOH não obtiveram uma recuperação tão expressiva, indicando que a dessorção dos corantes biossorbidos pode ser feita com concentrações mais baixas de dessorvente o que pode auxiliar na redução de custos.

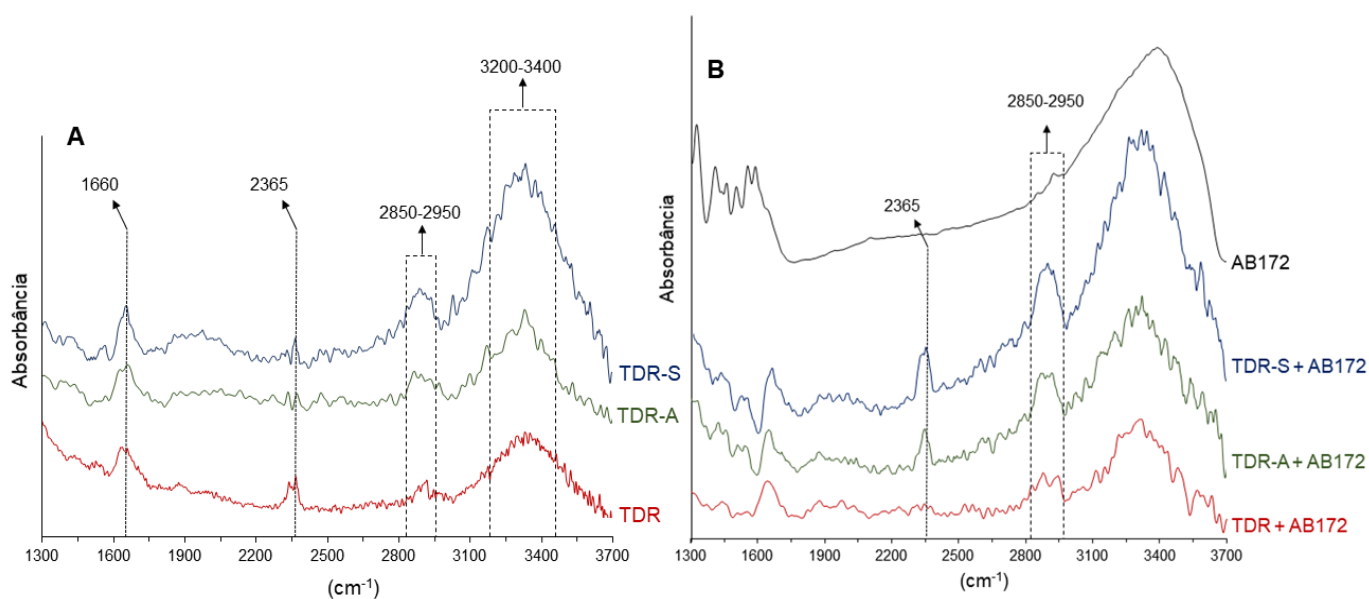
5.2.6 Caracterização por ATR-MIR

A Figura 24 mostra os espectros de infravermelho (MIR-ATR) para a TDR, TDR-A e TDR-S antes e após a bioadsorção do corante AB172, assim como o espectro do corante puro.

É possível observar uma similaridade das bandas dos biossorbentes, de forma que todos apresentaram bandas na região de 1660 cm⁻¹, característica das ligações N-H das aminas que compõem a parede celular das leveduras, assim como uma

banda entre 2850 e 2890 cm^{-1} correspondente às ligações C=O das cetonas presentes na molécula de quitina, componente principal da parede celular das leveduras. Além disso, é possível observar uma banda na região de 2365 cm^{-1} característica de iminas possivelmente presentes em pequena quantidade na superfície do material. A banda de alta intensidade entre 3200 e 3400 cm^{-1} é correspondente às hidroxilas que também estão presentes na quitina, assim como nas moléculas de APTES, o que explica o aumento da intensidade para a TDR-S.

Figura 24 - Espectros de MIR-ATR da TDR modificada quimicamente (A) antes e (B) após a biossorção do corante AB172.



Fonte: Autoria própria.

Não houve muita diferença expressiva nas bandas dos espectros de infravermelho após a biossorção, sendo que em todos biossorventes é possível observar as mesmas bandas do corante AB172, indicando a presença deste na superfície de todos os biossorventes.

O corante Acid Black 172 se apresenta em sua forma comercial em complexos de crômio formados por um íon de crômio (III) e duas moléculas de corante, sendo que interações de complexos entre moléculas orgânicas e íons de crômio apresentam uma banda na região próxima de 2360 cm^{-1} . É possível observar o surgimento de bandas em 2365 cm^{-1} na TDR-A e TDR-S, porém não no espectro da TDR sem tratamento, por a acidificação da solução para pH 2,0 na biossorção do corante pela

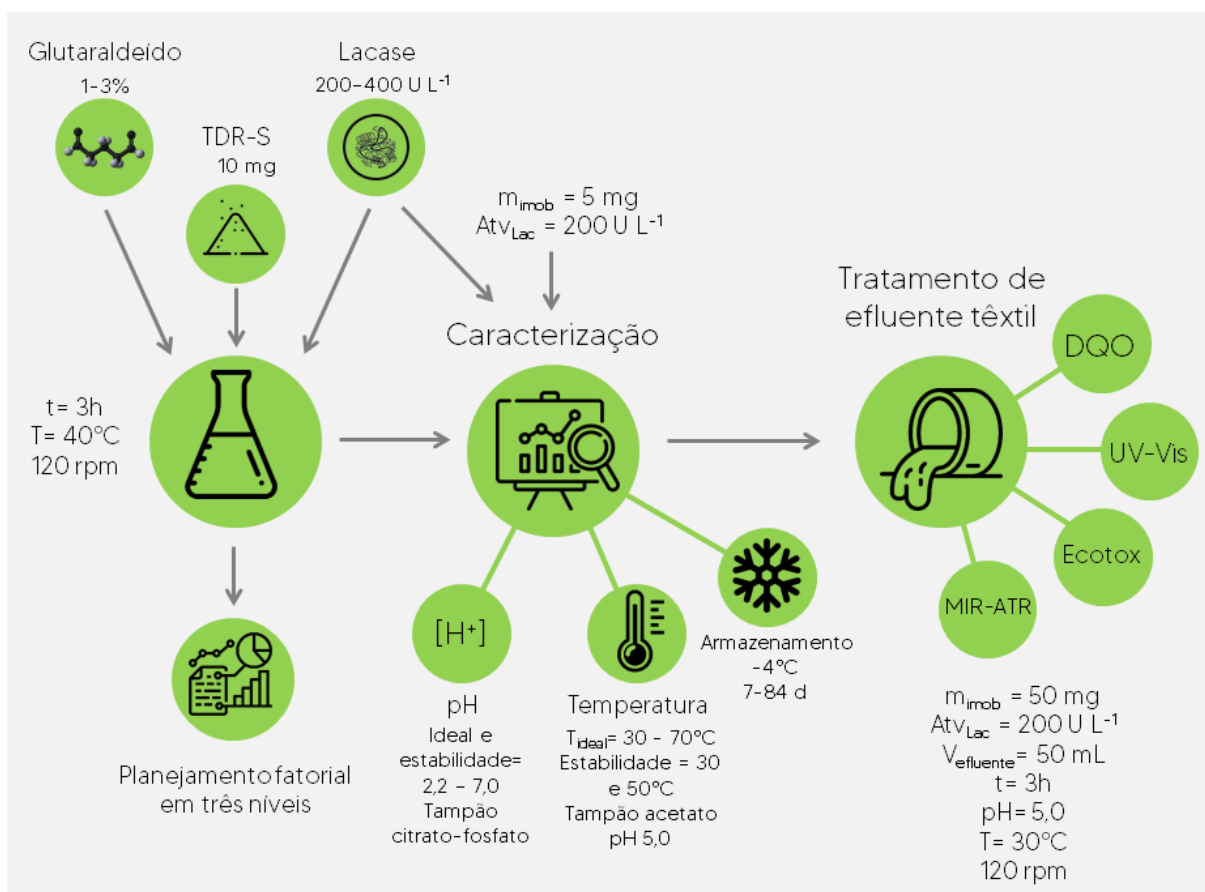
TDR pode desfazer a estrutura do complexo.

A redução da intensidade da banda entre 2850 a 2950 cm^{-1} na biossorção do corante pela TDR acontece pois a alta concentração de íons hidrogênio em um pH mais ácido causam a protonação das cetonas que fazem parte da estrutura molecular da quitina.

6 PARTE III – IMOBILIZAÇÃO DE LACASES EM TERRA DIATOMÁCEA RESIDUAL E TRATAMENTO DE EFLUENTE TÊXTIL

A Figura 25 apresenta o infográfico que descreve as etapas da Parte III do trabalho, indicando o método da imobilização da lacase em TDR-S, etapas da caracterização das enzimas livres e imobilizadas e do tratamento e caracterização de efluente têxtil.

Figura 25 - Infográfico descrevendo as etapas para a imobilização de lacase na TDR-S, etapas da caracterização e do tratamento de efluente têxtil



Fonte: Autoria própria.

6.1 Metodologia

6.1.1 Materiais e reagentes

Lacase comercial de *Trametes versicolor* foi adquirida pela Sigma Chemical Co

(Jurubatuba, SP, Brazil). O efluente industrial foi coletado em uma indústria têxtil na cidade de Curitiba-PR. As soluções de lacase foram preparadas com a diluição das enzimas em solução tampão acetato de sódio 50 mmol L⁻¹ em pH 5,0.

6.1.2 Imobilização de lacase em TDR-S

Para otimização da eficiência de imobilização de lacase, um planejamento fatorial de três níveis foi feito com as variáveis e níveis apresentados na Tabela 12 e na matriz apresentada na Tabela 13. Foi adicionado 100 mg de TDR silanizada com APTES (preparo na seção 5.1.1) em 10 mL de solução tampão com variação de concentração de lacase (de 200 a 400 U L⁻¹) e glutaraldeído (de 1 a 3%) de acordo com o planejamento experimental. As amostras foram postas sob agitação em 120 rpm por 3 horas a 40°C e em seguida, centrifugadas em 4000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e atividade foi avaliada para definição da eficiência de imobilização enzimática. O material foi lavado com 10 mL de tampão acetato de sódio e centrifugado novamente e o sobrenadante descartado. A terra diatomácea residual com lacases imobilizadas (TDR-LA) foi armazenada em frascos e congelada a -4°C.

Tabela 12: Variáveis e níveis avaliados no planejamento fatorial

Variáveis	Níveis		
	Inferior (-1)	Central (0)	Superior (+1)
Glutaraldeído (%)	1	2	3
Lacase (U/L)	200	300	400

Fonte: Autoria própria.

Tabela 13: Matriz de planejamento fatorial de três níveis para a otimização da imobilização de lacase em TDR-S

Ensaio	GLU (%)	Lacase (U/L)
1	-1	-1
2	-1	0
3	-1	1
4	0	-1
5	0	0
6	0	1
7	1	-1
8	1	0
9	1	1

Fonte: Autoria própria.

Para otimização do tempo de imobilização, o procedimento foi repetido nas condições ideais avaliadas pelo planejamento fatorial e amostras foram retiradas após 1, 2 e 3 horas de imobilização para análise da atividade enzimática.

A eficiência de imobilização é expressa como Eficiência de Imobilização (EI), Recuperação de Atividade (RA) e Atividade Imobilizada (AI) utilizando as seguintes equações:

$$EI(\%) = ((U_0 - U_S)/U_0) \times 100 \quad \text{Equação 16}$$

$$RA(\%) = (U_H/(U_0 - U_S)) \times 100 \quad \text{Equação 17}$$

$$AI (U/g) = U_H/m \quad \text{Equação 18}$$

Onde U_0 é a quantidade inicial de enzimas em solução, U_S é a quantidade de enzimas no sobrenadante após a imobilização, U_H é a quantidade de enzimas imobilizadas e m é a massa do suporte em gramas.

6.1.3 Determinação de atividade da lacase

A atividade da lacase foi medida com ABTS em solução tampão acetato de sódio pH 5,0 a 40°C após 5 minutos de reação. A oxidação do ABTS foi determinada pelo aumento na absorvância em 420 nm ($\epsilon = 36\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$). Uma unidade de lacase é definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar 1 μmol de substrato por minuto. (Mota et al., 2015).

Para a avaliação da atividade da lacase livre, 100 μL de extrato enzimático foi adicionado em solução contendo 200 μL de ABTS 10 mM e 1,7 mL de solução tampão. Para a avaliação da lacase imobilizada, foi adicionado em tubos de ensaio 5 mg de TDR-LA em solução contendo 400 μL de solução de ABTS e 3,6 mL de solução tampão. Os tubos foram agitados por 3 minutos e deixados em repouso por 2 minutos para a decantação do material. Uma amostra de 2 mL foi retirada para a análise.

6.1.4 Avaliação de condições ideais de temperatura e pH e estabilidade

Os testes de pH e de temperatura foram feitos com lacase livre na concentração

de 200 U L⁻¹ e 5 mg de lacase imobilizada na forma de TDR-LA em 5 mL de solução tampão.

O efeito do pH e da temperatura na atividade das enzimas livres e imobilizadas foi determinada utilizando o ensaio com ABTS em diferentes valores de pH (2,2 a 7,0) e de temperatura (30 a 70°C). As condições de pH foram estabelecidas com o uso de tampão ácido cítrico-fosfato (100 mmol L⁻¹).

Testes de estabilidade à temperatura foram feitos com as enzimas livres e imobilizadas em solução de tampão acetato e sódio 50 mM (pH 5,0), em agitação a 120 rpm em temperaturas de 30 e 50°C, com a avaliação da atividade em intervalos de tempo em até 2 horas.

Testes de estabilidade ao pH foram feitos através da adição das enzimas livres e imobilizadas em soluções tampão ácido cítrico-fosfato em diferentes valores de pH, em agitação a 120 rpm a 40°C, com avaliação de atividade feita em intervalos de tempo pelo período de 2 horas.

6.1.5 Armazenamento por congelamento

Para determinar a estabilidade ao armazenamento por congelamento a longo prazo, as enzimas livre e imobilizada foram armazenadas em tampão acetato de sódio pH 5,0 a 50 mmol L⁻¹ em congelador (-4° C) por até 3 meses. Para os testes de estabilidade, a atividade enzimática foi determinada por ensaio com ABTS em condições padrão.

6.1.6 Tratamento de efluente têxtil

Para determinar a eficiência do tratamento do efluente têxtil, foi adicionado 50 mg de TDR-S e TDR-LA em 50 mL de efluente industrial em pH corrigido para 5,0 com HCl 0,1 mol L⁻¹. Também foi feita a adição de solução de lacase a fim de obter a concentração enzimática de 200 U L⁻¹. As amostras foram postas sob agitação a 120 rpm a 30°C por 3 horas.

As amostras contendo TDR-S e TDR-LA foram centrifugadas e o sobrenadante foi coletado para análise de redução de DQO e toxicidade. A DQO foi avaliada por espectrofotometria após a digestão com dicromato de potássio na presença de sulfato

de prata como catalisador. As amostras contendo lacase livre foram postas em banho-maria a 100°C por 5 minutos para a desnaturação das enzimas.

6.1.7 Caracterização por MIR-ATR

Amostras de TDR-S e TDR-LA secas, antes e após o tratamento do efluente, foram caracterizadas por infravermelho através de um espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1 MIR-ATR na faixa de 4000–500 cm^{-1} .

6.1.8 Ensaio ecotoxicológico com *Artemia salina*

A avaliação da toxicidade do efluente têxtil antes e após o tratamento foi feita através de ensaio com *Artemia salina*. A metodologia para a eclosão dos cistos e ensaio de sensibilidade encontra-se no Apêndice I.

Os ensaios de toxicidade aguda foram realizados de acordo com a norma ABNT NBR 16530 (2016). A toxicidade das amostras de efluentes foi medida em fator de toxicidade (FT). O valor do FT é determinado através da observação direta da mobilidade dos neonatos na série de diluições-teste, não sendo necessário cálculo estatístico. O FT corresponde à menor diluição da amostra em que não ocorre imobilidade em mais de 10% dos organismos após 48hrs de exposição, o resultado é expresso em número inteiro e é igual ao fator de diluição da solução teste. Quanto maior o FT, maior é a toxicidade da amostra para os organismos.

Primeiramente foram realizadas diluições das amostras com a água do mar reconstituída em 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% e 3,15%. Os organismos foram distribuídos em microplacas de 96 poços, para cada diluição foram necessários 40 organismos. As microplacas contendo os organismos foram armazenadas em incubadoras B.O.D. por 48 horas no escuro a 25°C. Após a exposição, os organismos considerados imóveis foram contabilizados por diluição teste, sendo possível a determinação do fator de toxicidade.

6.2 Resultados e discussão

6.2.1 Planejamento fatorial e otimização da imobilização enzimática

A imobilização de lacase em TDR-S com o uso de glutaraldeído como suporte foi eficiente. De acordo com OSMA et al., 2010, os melhores valores de recuperação de atividade foram na menor concentração de enzima e todos os testes apresentaram uma variação baixa na atividade imobilizada, o que implica em uma quantidade limitada de sítios de ligação que permitem a imobilização de lacase (OSMA; TOCA-HERRERA; RODRÍGUEZ-COUTO, 2010). A condição com melhor recuperação de atividade enzimática utilizou glutaraldeído em concentração de 2% e enzima na concentração de 200 U L⁻¹, o que resultou em uma atividade imobilizada média de 167,6 U g⁻¹.

O glutaraldeído é um dos agentes de modificação de superfície mais empregados em imobilização enzimática e reage principalmente com os grupos amina primários na estrutura da enzima, podendo também interagir com tióis, fenóis e imidazóis, criando interações entre enzima e suporte estáveis e de um ou mais pontos (FERNÁNDEZ-LORENTE et al., 2006).

Tabela 14 - Resultado do planejamento fatorial para a avaliação de eficiência de recuperação de atividade de lacase após imobilização em TDR com o auxílio de Glutaraldeído. (V = 10 mL; m = 0,1 g; t = 180 min; T = 30°C; Agitação = 120 rpm)

Amostra	GLU (%)	Lacase (U L ⁻¹)	Eficiência de Imobilização	Atividade Imobilizada (U g ⁻¹)	Recuperação de Atividade
1	1	200	90,0%±0,89	160,2±8,5	75,5%±4,0
2	1	300	82,8%±0,16	148,9±5,1	47,4%±1,6
3	1	400	74,7%±0,62	195,5±13,6	46,8%±3,3
4	2	200	91,5%±0,56	167,6±9,5	79,0%±4,5
5	2	300	82,6%±1,21	155,3±9,1	49,4%±2,9
6	2	400	80,2%±1,82	176,1±19,4	42,2%±4,6
7	3	200	96,3%±1,07	145,8±8,7	68,8%±4,1
8	3	300	88,2%±0,26	180,5±12,3	57,5%±3,9
9	3	400	81,8%±0,28	143,3±10,2	34,3%±2,4

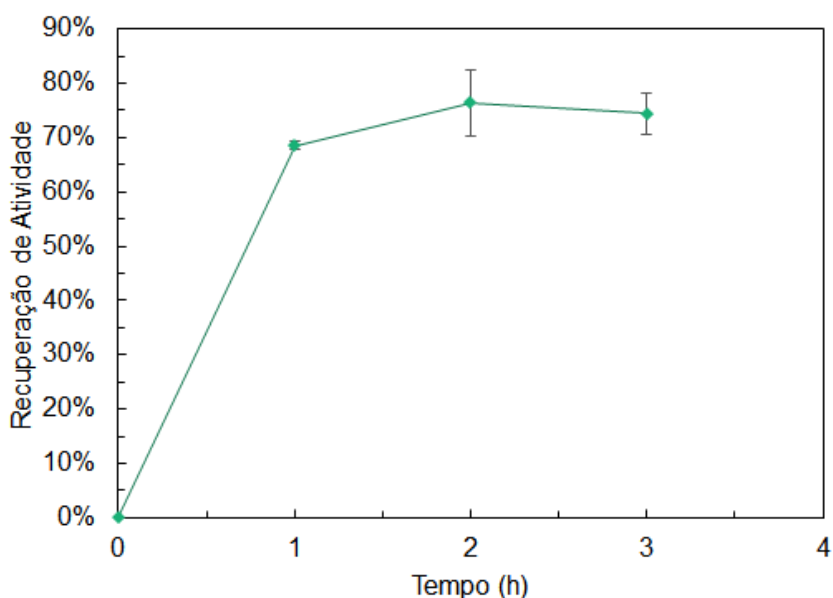
Fonte: Autoria própria.

Ainda assim, concentrações mais elevadas de glutaraldeído podem não corresponder a uma maior recuperação de atividade enzimática, como observado na recuperação de atividade imobilizada. O mesmo foi observado por (NGUYEN; FU; JUANG, 2016) e colaboradores que obtiveram um decaimento na atividade residual de lacase com o aumento da concentração de glutaraldeído na imobilização em pellets de quitosana.

A análise estatística do planejamento fatorial, cujos dados foram ajustados com modelo com duas interações (linear e quadrático), indicou que a melhor concentração de glutaraldeído para a imobilização é de 1,5% e a melhor concentração de lacase é de 200 U L⁻¹. Os dados estatísticos são apresentados no Apêndice 2.

A otimização do tempo de imobilização se deu com a análise da atividade enzimática após retirada de amostras em diferentes tempos. A Figura 26 mostra que a atividade imobilizada máxima se dá após 2 horas de reação.

Figura 26 - Efeito do tempo de imobilização na recuperação de atividade de lacase após imobilização em TDR. (V = 10 mL; m = 0,1 g; T = 30°C; C_{GLU} = 1,5%; Atividade de Lacase = 200 U L⁻¹; pH = 5,0; Agitação = 120 rpm)



Fonte: Autoria própria

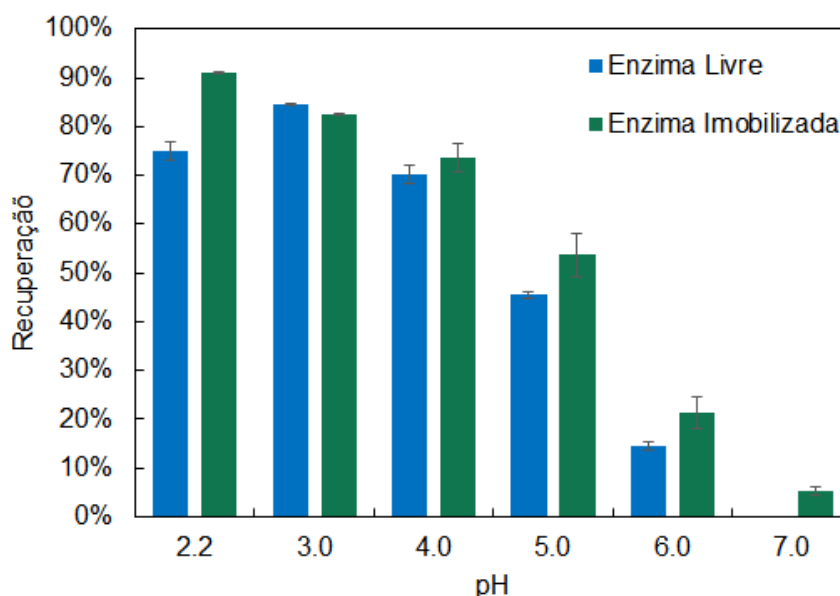
6.2.2 Condições ideais de pH e Temperatura

O efeito do pH da solução na atividade da lacase livre e imobilizada, mostrado na Figura 27, indica que o valor de pH ideal para a lacase livre é de 3,0 (84,4%±0,14)

e para a lacase imobilizada é de 2,2 (91,0%±0,07). A lacase imobilizada apresenta maior estabilidade com o aumento do pH na faixa de 4,0 a 7,0.

De Melo e colaboradores estudaram o uso de glutaraldeído para imobilização de inúmeras enzimas em diferentes suportes e concluiu que a estabilidade enzimática em valores de pH mais próximos de 7,0 pode ser favorecida com as ligações covalentes entre o glutaraldeído e as enzimas (DE MELO et al., 2017).

Figura 27 - Efeito do pH inicial na recuperação de atividade lacase livre e imobilizada. (T = 30°C)



Fonte: Autoria própria.

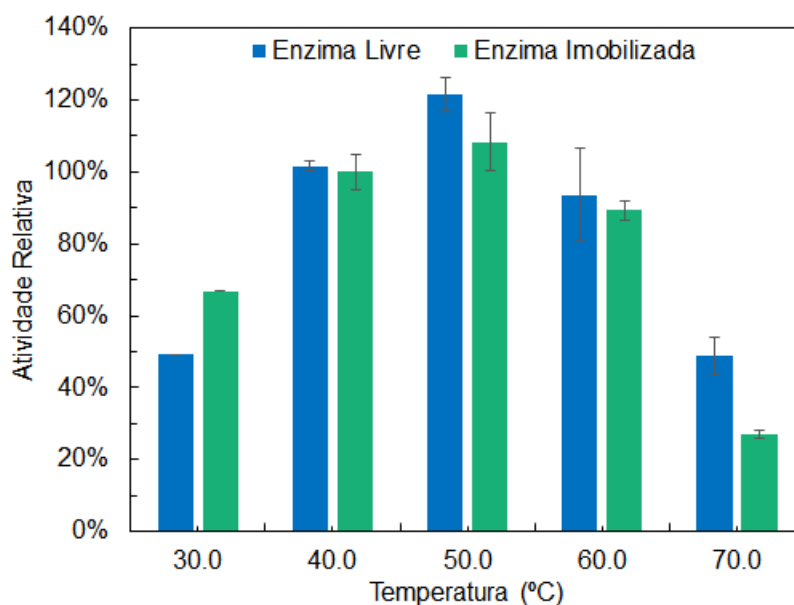
O efeito da temperatura na atividade da enzima livre e imobilizada, mostrado na **Figura 28**, mostra que a temperatura ideal para ambas foi de 50°C e que a recuperação de atividade enzimática foi próxima entre elas em uma faixa de temperatura de 40 a 60°C. A lacase imobilizada apresentou melhor recuperação de atividade em 30°C, porém a enzima livre obteve melhores resultados em 70°C.

O aumento da estabilidade pode ser explicado pela estabilidade da estrutura proteica e porque as enzimas imobilizadas estão menos sujeitas a agentes desnaturantes (GUZIK; HUPERT-KOCUREK; WOJCIESZYNSKA, 2014). Porém, o mecanismo envolvido na imobilização pode influenciar na atividade em condições menos favoráveis, uma vez que as enzimas imobilizadas através de adsorção física estão mais suscetíveis a desnaturarem em temperaturas mais elevadas em

comparação que enzimas imobilizadas no suporte por ligações covalentes (JIA et al., 2019).

A menor recuperação de atividade das enzimas imobilizadas em 70°C em comparação com as enzimas livres pode se dar pela desnaturação das lacases imobilizadas na biomassa através de interações físicas.

Figura 28 - Efeito da temperatura na recuperação de atividade de lacase livre e imobilizada em TDR-S. (pH = 5,0).

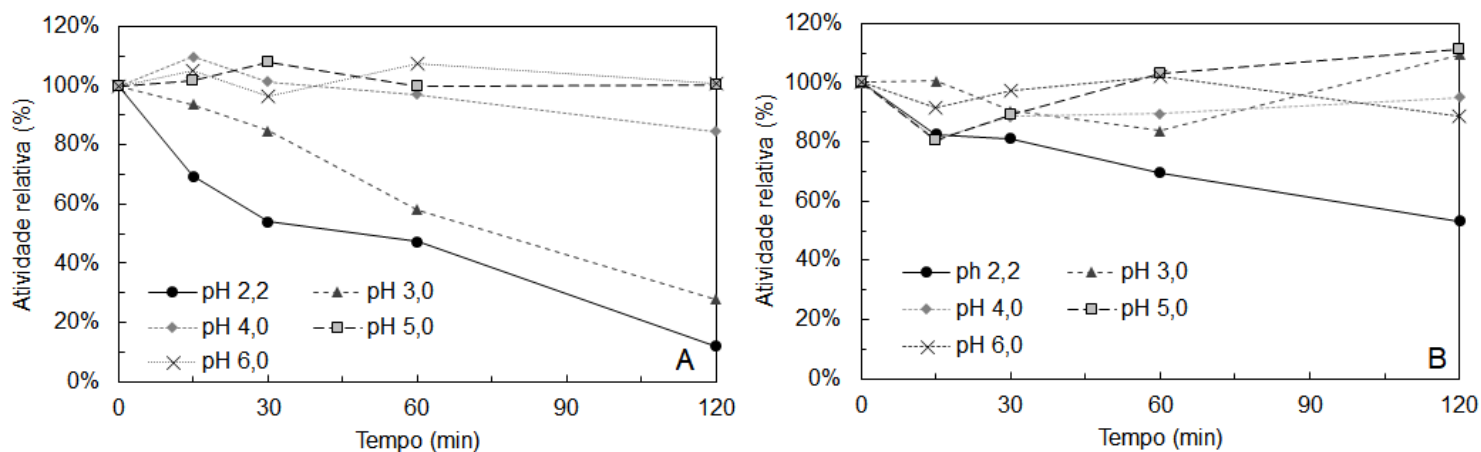


Fonte: Autoria própria.

6.2.3 Estabilidade ao pH e à temperatura

A estabilidade enzimática em diferentes valores de pH em função do tempo foi estudada para as enzimas livres e imobilizadas e é apresentada na Figura 29. A atividade da enzima livre se manteve estável em valores de pH de 5,0 e 6,0, porém caiu para 84,5% em pH 4,0, 28,0% em pH 3,0 e 11,9% em pH 2,2 após duas horas. A enzima imobilizada, por sua vez, mostrou maior estabilidade, apresentando apenas uma queda para 88,7% em pH 6,0 e para 53,1% em pH 2,2.

Figura 29 - Estabilidade ao pH ao longo do tempo por (A) enzima livre e (B) enzima imobilizada. (T = 40°C)



Fonte: Autoria própria.

A estabilidade ao pH pode ser explicada pelo efeito tampão do microambiente causado pelo agente ligante entre a enzima e o suporte, além das ligações covalentes entre eles que podem promover uma conformação mais estável e resistente a mudanças de pH (XU et al., 2017).

A estabilidade enzimática em diferentes temperaturas também foi estudada para as enzimas livres e imobilizadas. As temperaturas escolhidas foram a temperatura de maior atividade catalítica (50°C) e a temperatura média de efluentes de indústrias têxteis (30°C), e os resultados são mostrados na

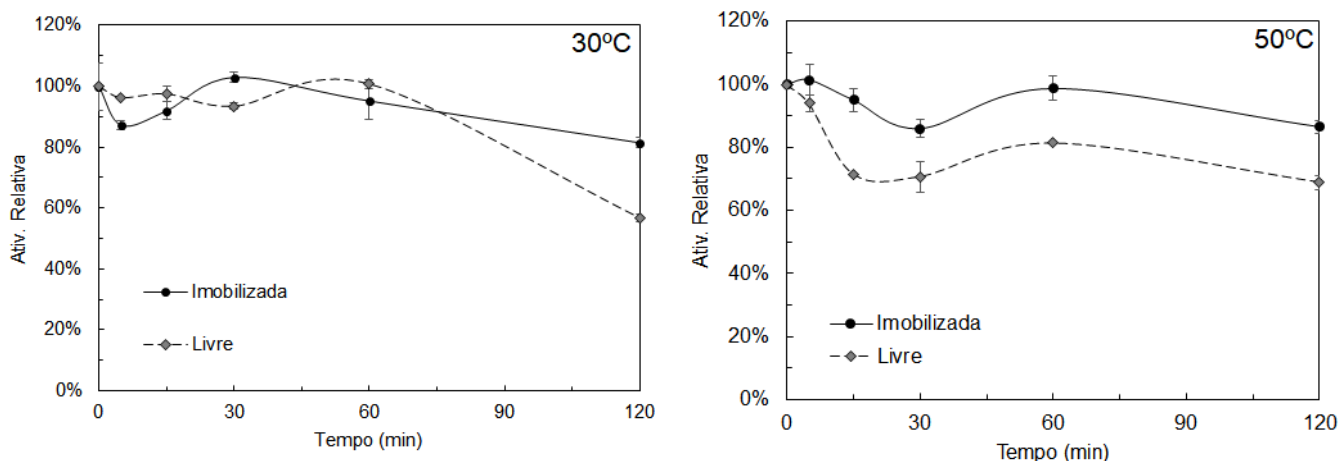
Figura 30.

Após duas horas em 30°C, as enzimas livres apresentaram atividade relativa de 56,7% e as imobilizadas de 81,5%. Em 50°C, as enzimas livres tiveram atividade relativa de 68,9% e as imobilizadas de 86,5%. Uma vez que a temperatura de 50°C é a temperatura de atividade catalítica máxima, as enzimas apresentaram melhor resistência que em 30°C. Em ambas as condições, as enzimas imobilizadas apresentaram melhor estabilidade que as livres.

A resistência à temperatura em função do tempo ocorre pois em fase líquida, pode ocorrer desnaturação da enzima em função do tempo pela destruição da sua estrutura tridimensional. Em enzimas imobilizadas, ligações covalentes protege as moléculas de lacase, aumentando a estabilidade térmica (NA et al., 2010). Além disso,

a molécula ligante pode aumentar a rigidez da enzima e protegê-la de desdobraimento e preservar a estrutura de transição conformacional da enzima (ZHAO et al., 2011).

Figura 30 - Estabilidade à temperatura em 30°C e 50°C para as enzimas livres e imobilizadas. (pH = 5,0)

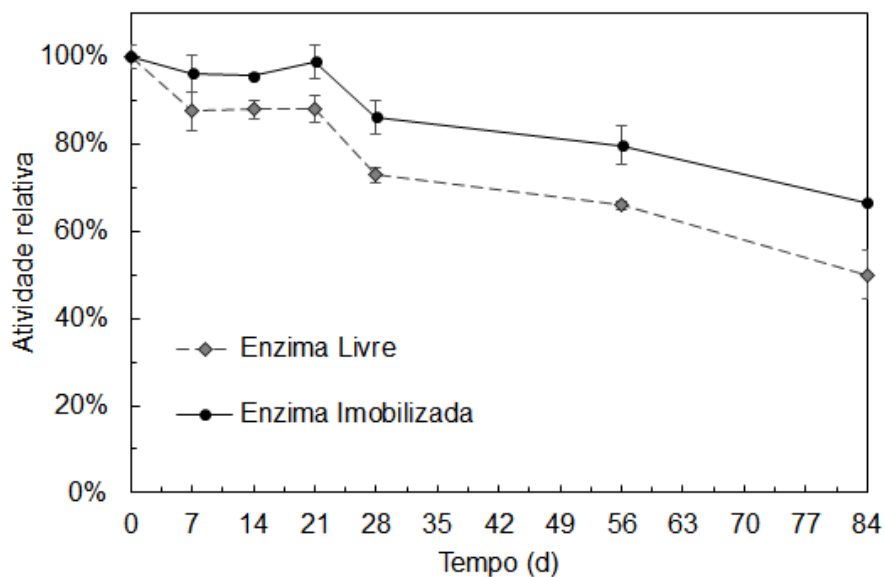


Fonte: Autoria própria.

6.2.4 Armazenamento

A capacidade de armazenamento das enzimas livres e imobilizadas foi feita a partir de congelamento a -4°C e é mostrada na **Figura 31**. Após 21 dias a enzima livre manteve 87,9% da sua atividade inicial, enquanto a enzima imobilizada manteve 98,8%. Após 3 meses, a lacase imobilizada preservou 66,5% de sua atividade inicial, enquanto a lacase livre preservou 49,9%, indicando que a imobilização enzimática favoreceu a estabilidade ao armazenamento após congelamento.

Figura 31 - Atividade enzimática da lacase livre e imobilizada em TDR-S ao longo do tempo após congelamento a -4°C em solução tampão. ($m_{\text{TDR-LA}} = 5\text{mg}$; Atividade inicial de lacase = 200 U L^{-1})

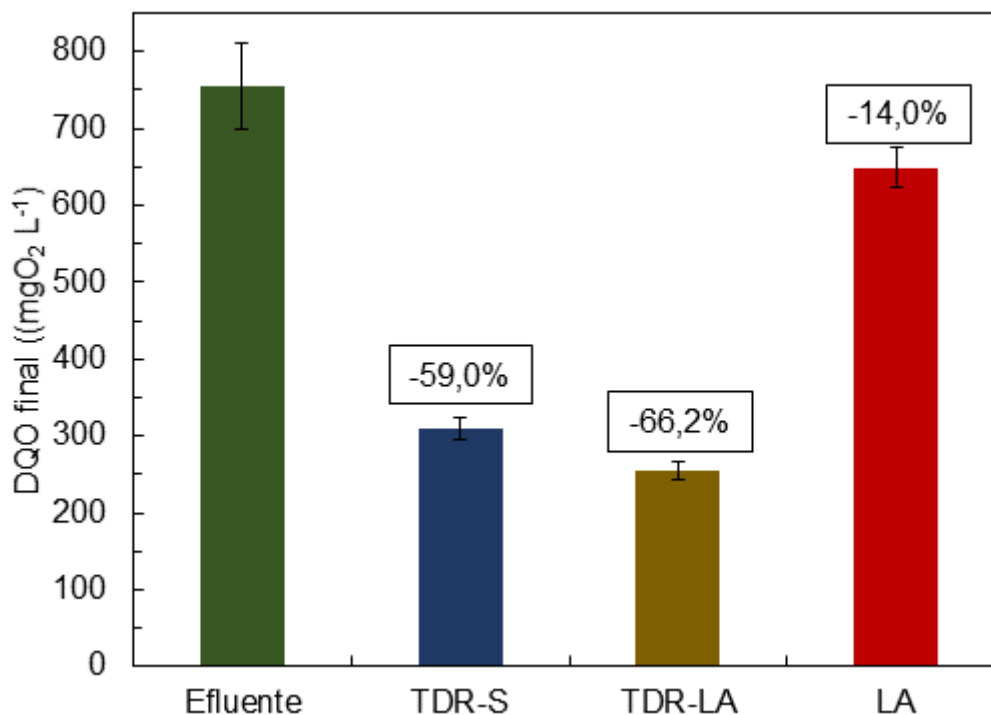


Fonte: Autoria própria.

6.2.5 Tratamento enzimático de efluente têxtil

Após o tratamento do efluente têxtil com TDR-S, TDR-LA e lacase livre, foi feita a análise de DQO cujos resultados estão na **Figura 32**. O efluente antes do tratamento apresentou DQO de $754,8 \pm 39,8\text{ mgO}_2\text{ L}^{-1}$, e após o tratamento com TDR-S e TDR-LA os valores foram de $309,2 \pm 14,4$ e $255,5 \pm 11,7\text{ mgO}_2\text{ L}^{-1}$ respectivamente. O efluente após tratamento com lacase livre apresentou o valor de DQO de $649,1 \pm 25,3\text{ mgO}_2\text{ L}^{-1}$. Os maiores valores de redução da DQO por TDR-S e TDR-LA podem ser explicados pela presença de diversos grupos funcionais na superfície das leveduras. A biomassa de fungos é eficiente para a tratamento de efluentes por adsorção já que atua melhor que adsorventes puros por apresentar uma grande variedade de componentes e de grupos funcionais que podem atrair a matéria orgânica e os contaminantes (PRIGIONE et al., 2008b). Os grupos funcionais na superfície pela funcionalização com APTES que não foram utilizados para imobilização enzimática também podem atuar na remoção de substâncias presentes no efluente.

Figura 32 - Demanda química de oxigênio (DQO) do efluente têxtil antes e após tratamento. (T=30°C; pH= 5,0; $m_{\text{TDR-S/TDR-LA}} = 50 \text{ mg}$; Atividade inicial de lacase = 200 U L^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

A menor redução de DQO pela lacase livre pode ser causada pela oxidação dos compostos orgânicos presentes no efluente em moléculas menores, mas não em sua mineralização (WESENBERG; KYRIAKIDES; AGATHOS, 2003).

O espectro de varredura UV-Vis é apresentado na

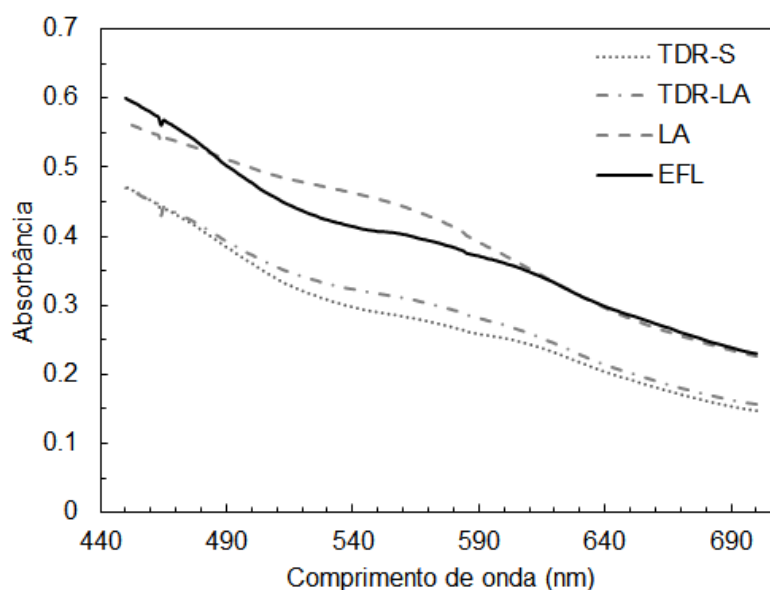
Figura 33 e indica que houve uma redução de cor no efluente de 27,9% após o tratamento com TDR-S e de 24,0% após o tratamento com TDR-LA, porém houve um aumento de 3,0% na cor após o tratamento com as lacases livres. A bioadsorção da matéria orgânica pode ser a responsável pela redução da intensidade no espectro de varredura. No tratamento com as enzimas livres, uma vez que não ocorre a bioadsorção dos subprodutos de degradação enzimática, a redução de cor não pôde ser observada.

A lacase pode gerar subprodutos que podem aumentar a quantidade de cor no efluente através da oxidação de compostos simples que podem se tornar compostos com cor, aumentando assim a intensidade da absorbância na varredura (MIKOLASCH; SCHAUER, 2009). Isso pode explicar o aumento na intensidade de absorbância entre os comprimentos de onda de 490 a 610 nm. O aumento na cor do

efluente tratado por lacase livre mesmo com a redução de cerca de 14,0% da DQO ajuda a corroborar a ideia de que redução de DQO e de cor não são necessariamente diretamente proporcionais (PRIGIONE et al., 2008a).

Pela presença de lacase immobilizada, a TDR-LA também pode gerar subprodutos que aumentem a intensidade da cor no efluente, porém esses subprodutos também podem ser bioissorvidos em sua superfície (ZDARTA et al., 2019). A sua redução de cor do efluente menor que após o tratamento com TDR-S indica que os subprodutos de degradação enzimática podem ser adsorvidos na biomassa, porém competem com o resto da matéria orgânica presente em solução, de forma que esses subprodutos que podem aumentar a coloração no efluente ainda podem estar presentes no efluente.

Figura 33 - Espectroscopia de varredura do efluente antes e após o tratamento com TDR-S, TDR-LA e Lacases livres, na faixa de comprimento de onda de 450 a 700 nm.



Fonte: Autoria própria.

6.2.6 Avaliação ecotoxicológica através de ensaio com *Artêmia salina*

Após 48 horas de exposição com as amostras do efluente antes e após o tratamento, foi contabilizado os organismos com capacidade natatória comprometida (imóveis) e calculou-se os valores de fator de toxicidade para as amostras. Para o efluente sem tratamento obteve-se $FT_{48h} = 32$, para os efluentes tratados com o

bioissorvente com e sem enzima imobilizada (TDR-LA e TDR-S) obteve-se $FT_{48h} = 16$ e para o efluente tratado com a lacase livre (LA) o FT_{48h} foi de 4. Através dos valores de fator de toxicidade para a *Artemia salina* pode-se observar uma redução na toxicidade do efluente em todos os tratamentos, porém o tratamento com a enzima livre foi o mais eficiente, pois 25% da amostra não causou imobilidade superior a 10% dos organismos.

A toxicidade do efluente têxtil pode estar relacionada à matéria orgânica e à presença de estruturas complexas (MA et al., 2018) que apresentam menor concentração após o tratamento com TDR-S e TDR-LA, uma vez que esses materiais adsorveram a matéria orgânica e reduziram significativamente a DQO.

Apesar de não reduzir a cor do efluente e reduzir a DQO em menor quantidade que a TDR-S e a TDR-LA, as lacases livres apresentaram maior redução de toxicidade. Isso se deve pela oxidação dos compostos orgânicos presentes no efluente em subprodutos que, apesar de aumentarem a cor e não serem altamente degradados, são menos tóxicos que as moléculas orgânicas que os originaram.

Tabela 15: Número de organismos imóveis após exposição ao efluente têxtil antes e após tratamento para avaliação ecotoxicológica com *Artemia salina*

Diluição (1/x)	Organismos imóveis			
	Efluente	TDR-S	TDR-LA	LA
1	98%	98%	100%	100%
2	58%	60%	95%	80%
4	58%	68%	65%	8%
8	13%	20%	30%	5%
16	13%	3%	8%	3%
32	5%	3%	3%	3%
FT	32	16	16	4

Fonte: Autoria própria.

6.2.7 Caracterização por ATR-MIR

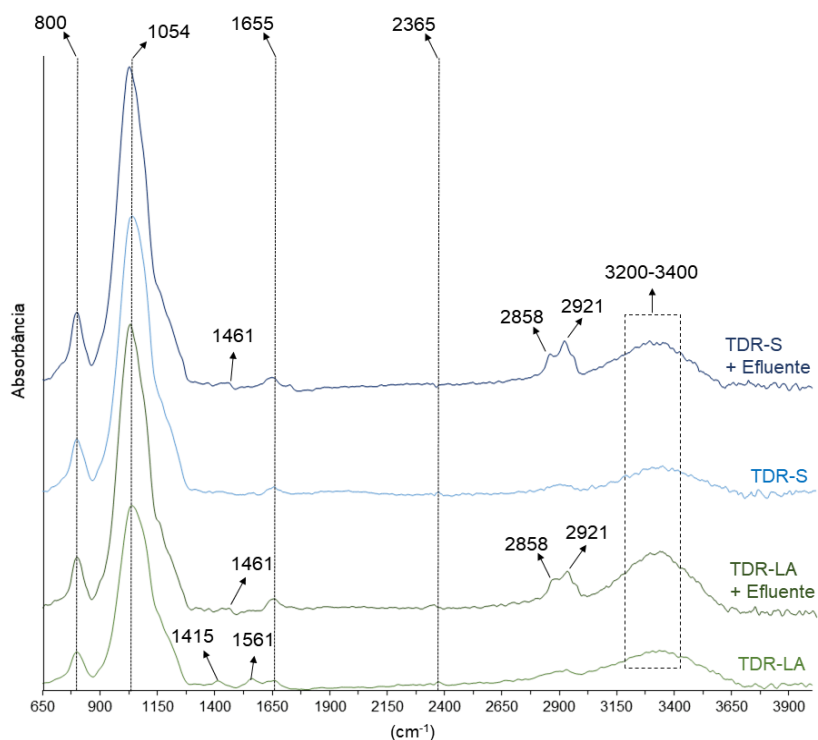
Em todos os espectros de infravermelho é possível observar bandas nos comprimentos de onda de 800 e 1054 cm^{-1} que caracterizam as ligações entre oxigênio de silício, e nos comprimentos de onda de 1655 e 2365 cm^{-1} , correspondentes às ligações N-H de amins primárias e O-H de ácidos carboxílicos, respectivamente, na superfície da biomassa. Também é possível observar uma banda larga com intensidade maior entre 3200 e 3400 cm^{-1} que indica a presença de ligações

carbono-oxigênio de ácidos carboxílicos e ligações hidrogênio-nitrogênio de grupos amina. Essas bandas indicam as proteínas e os demais componentes da quitina da parede celular das leveduras.

A TDR-LA apresentou picos nos comprimentos de onda de 1415 e 1561 cm^{-1} que demonstram ligações O=C-H de aldeídos e indicam o glutaraldeído envolvido na imobilização enzimática.

Após o tratamento, a TDR-S e a TDR-LA apresentaram bandas nos comprimentos de 1461 cm^{-1} , indicando a presença de grupamentos metil e de 2858 e 2921 cm^{-1} que indicam a presença de ligações duplas entre carbono de alcenos. Essas bandas mostram a presença de uma maior variedade de hidrocarbonetos constituintes da matéria orgânica adsorvida do efluente.

Figura 34 – MIR-ATR da TDR-S e TDR-LA antes e depois do tratamento do efluente têxtil.



Fonte: Autoria própria.

7. CONCLUSÕES

Este trabalho mostrou que a bioissorção de corantes têxteis em soluções simples e binárias é possível e mais eficiente no valor de pH de 2,0, sendo que a bioissorção dos corantes AB277 e AR361 foi favorecida em soluções binárias, já que os corantes, apesar de competirem pelos sítios de ligação do bioissorvente, interagem entre si. A adição de sais inorgânicos interfere negativamente na bioissorção em soluções simples, porém as soluções binárias apresentam aumento na capacidade de bioissorção com o aumento da concentração de NaCl e CaCl₂. Nas condições estudadas, a interferência dos metais Cu²⁺ e Zn²⁺ não é significativa. A dessorção dos corantes é mais eficiente com o uso de solução de NaOH com 0,1 M.

A modificação química por silanização com APTES permitiu que o bioissorvente modificado apresentasse maiores capacidades de remoção de corantes em pH menos ácidos. O equilíbrio de bioissorção é alcançado na primeira hora de reação e é descrito pelo modelo cinético de pseudo-segunda ordem e pelas isothermas de Langmuir e Sips para soluções simples e binárias e com a modificação química da TDR. Dados termodinâmicos mostram que a bioissorção do corante é favorável, espontânea, endotérmica e ordenada. A dessorção mostrou-se mais eficiente com o uso de concentrações menores de NaOH. Sobretudo, a modificação química do bioissorvente permite uma aplicação eficaz em uma faixa mais ampla de pH, de forma que a TDR-S apresentou uma melhor atuação na bioissorção do corante AB172 no pH do efluente.

A imobilização de lacase em TDR-S com o auxílio de glutaraldeído apresentou recuperação de atividade de 79,0%±4,5 (167,6±9,5 U g⁻¹) nas condições ideais. As enzimas imobilizadas apresentaram maior estabilidade a diferentes condições de pH e temperatura e preservaram sua atividade em maior quantidade após um período de armazenamento por congelamento, indicando vantagens operacionais do uso de lacases imobilizadas. A TDR-LA e a TDR-S conseguiram reduzir a DQO e a cor do efluente têxtil em maior quantidade que as lacases livres, além da redução do fator de toxicidade com *Artemia salina* de 32 para 16, indicando a viabilidade da aplicação desses materiais no tratamento de efluentes.

O uso da TDR como bioissorvente pode contribuir para o desenvolvimento sustentável, apresentando vantagens ambientais, ao se mostrar eficiente no tratamento de efluentes têxteis e reduzir os impactos causados por estes, e vantagens

social-econômicas, ao agregar valor a um resíduo industrial gerado em grandes quantidades assim como pela possibilidade do uso deste material para ser incorporado na construção civil.

Além disso, testes de novos materiais para remoção de contaminantes de água devem levar em consideração as condições reais de aplicação, de forma que poucos estudos são conduzidos em soluções mais complexas. Assim, este trabalho apresenta a contribuição científica de demonstrar que biossorbentes de baixo custo podem ter sua eficiência de biossorção ampliada através de processos químicos e biológicos e podem ser aplicados em condições mais próximas das de um efluente industrial. Portanto os resultados indicam o potencial da TDR para a aplicação em tecnologias avançadas de remoção de contaminantes e para tratamento de efluentes industriais.

PERSPECTIVAS PARA TRABALHOS FUTUROS

Com o objetivo de complementar os dados deste projeto, a caracterização dos materiais estudados também pode ser feita por microscopia de força atômica (MFA) ou microscopia eletrônica de varredura (MEV), assim como avaliação da área superficial com BET. Pode ser feita a avaliação da perda de atividade enzimática das enzimas livres e imobilizadas no efluente têxtil em função do tempo para estudar a estabilidade de atividade nas condições reais de aplicação.

Para ampliar o estudo desenvolvido neste projeto, trabalhos futuros poderão envolver o uso de TDR modificada quimicamente ou com lacases imobilizadas em reatores de leito fixo ou fluidizado com soluções de corante e efluentes reais. Dessa forma, será possível avaliar o número de ciclos necessários para a remoção de uma grande quantidade de contaminantes, assim como estudar a recuperação do material para reuso.

A TDR também pode ser utilizada para a remoção de outras classes de contaminantes, como metais pesados, fármacos, disruptores endócrinos, pesticidas, cianotoxinas, etc.

Uma vez que a biossorção e a imobilização enzimática mostraram-se eficientes, é possível incorporar a TDR em outras tecnologias avançadas para remoção de contaminantes, como efetuar a imobilização de moléculas de dióxido de titânio (TiO_2) para catálise heterogênea ou de outros catalisadores para processos oxidativos avançados. A TDR também pode ser utilizada como suporte para imobilização de nanopartículas de prata para descontaminação biológica de água.

Considerando a possibilidade de aplicação da TDR como componente de tijolos para a construção civil, testes podem ser feitos estudando as propriedades mecânicas de diversos materiais (cimento, argamassa, cerâmica, gesso, etc.) com a incorporação da TDR após biossorção de contaminantes ou tratamento de efluentes, assim como testes de lixiviação para avaliar se existe liberação dos contaminantes adsorvidos no ambiente.

REFERÊNCIAS

ABEGUNDE, S. M. et al. A review on the influence of chemical modification on the performance of adsorbents. **Resources, Environment and Sustainability**, v. 1, n. August, p. 100001, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.resenv.2020.100001>>.

AFSHARIANI, F.; ROOSTA, A. Experimental study and mathematical modeling of biosorption of methylene blue from aqueous solution in a packed bed of microalgae *Scenedesmus*. **Journal of Cleaner Production**, v. 225, p. 133–142, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.275>>.

AKAR, T.; ARSLAN, S.; AKAR, S. T. Utilization of *Thamnidium elegans* fungal culture in environmental cleanup: A reactive dye biosorption study. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 363–370, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.06.026>>.

AKSU, Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3–4, p. 997–1026, 2005.

AKSU, Z.; DÖNMEZ, G. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. **Chemosphere**, v. 50, n. 8, p. 1075–1083, 2003.

ALBADARIN, A. B. et al. Single, simultaneous and consecutive biosorption of Cr(VI) and Orange II onto chemically modified masau stones. **Journal of Environmental Management**, v. 204, p. 365–374, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.08.042>>.

ALI, I.; ASIM, M.; KHAN, T. A. Low cost adsorbents for the removal of organic pollutants from wastewater. **Journal of Environmental Management**, v. 113, p. 170–183, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.08.028>>.

AN, L. et al. One-step silanization and amination of lignin and its adsorption of Congo red and Cu (II) ions in aqueous solution. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 222–230, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.072>>.

AO, H. et al. Adsorption of Sulfate Ion from Water by Zirconium Oxide-Modified Biochar Derived from. **Science of the Total Environment**, p. 135092, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135092>>.

ASFARAM, A. et al. Application of experimental design and derivative spectrophotometry methods in optimization and analysis of biosorption of binary mixtures of basic dyes from aqueous solutions. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, n. January, p. 219–227, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.043>>.

AZARI, A. et al. Experimental design, modeling and mechanism of cationic dyes biosorption on to magnetic chitosan-lutaraldehyde composite. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 131, p. 633–645, 2019. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.058>>.

BA, S. et al. Laccase immobilization and insolubilization: From fundamentals to applications for the elimination of emerging contaminants in wastewater treatment. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 404–418, 2013.

BALDRIAN, P. Fungal laccases-occurrence and properties. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 215–242, 2006.

BANAT, I. M. et al. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: A review. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p. 217–227, 1996.

BETSUYAKU, R. Y.; DELGADO, H. G. J.; VALADÃO, I. C. R. P. Produção de tijolo ecológico com resíduo de Areia Diatomácea. **Cadernos UniFOA**, n. 34, p. 23–33, 2017.

BEZERRA, T. M. D. S. et al. Covalent immobilization of laccase in green coconut fiber and use in clarification of apple juice. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 3, p. 417–423, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.12.009>>.

BILAL, M.; IQBAL, H. M. N. Persistence and impact of steroidal estrogens on the environment and their laccase-assisted removal. **Science of the Total Environment**, v. 690, p. 447–459, 2019.

BOURAS, H. D. et al. Biosorption of Congo red dye by *Aspergillus carbonarius* M333 and *Penicillium glabrum* Pg1: Kinetics, equilibrium and thermodynamic studies. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 80, p. 915–923, 2017.

BRAHIMI-HORN, M. C. et al. Binding of textile azo dyes by *Myrothecium verrucaria*. **Journal of Industrial Microbiology**, v. 10, n. 1, p. 31–36, 1992.

CELIKBIÇAK, O. et al. Immobilization of laccase on hairy polymer grafted zeolite particles: Degradation of a model dye and product analysis with MALDI-ToF-MS. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 199, p. 57–65, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2014.08.003>>.

CONTRERAS, E.; SEPÚLVEDA, L.; PALMA, C. Valorization of agroindustrial wastes as biosorbent for the removal of textile dyes from aqueous solutions. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2012, 2012.

COPETE, L. S. et al. Identification and characterization of laccase-type multicopper oxidases involved in dye-decolorization by the fungus *Leptosphaerulina* sp. **BMC Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 1–13, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s12896-015-0192-2>>.

CRINI, G. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. **Bioresource Technology**, v. 97, n. 9, p. 1061–1085, 2006.

DA ROSA, A. L. D. et al. Biosorption of rhodamine B dye from dyeing stones effluents using the green microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. **Journal of Cleaner Production**,

v. 198, p. 1302–1310, 2018.

DALLEL, R.; KESRAOUI, A.; SEFFEN, M. Biosorption of cationic dye onto »phragmites australis» fibers: Characterization and mechanism. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 6, p. 7247–7256, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.10.024>>.

DATTA, S.; CHRISTENA, L. R.; RAJARAM, Y. R. S. Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials. **3 Biotech**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2013.

DE MELLO, E. T.; PAWLOWSKY, U. Minimização de resíduos em uma indústria de bebidas. **Engenharia sanitária e ambiental**, v. 8, n. 4, p. 249–56, 2003.

DE MELO, R. R. et al. New heterofunctional supports based on glutaraldehyde-activation: A tool for enzyme immobilization at neutral pH. **Molecules**, v. 22, n. 7, 2017.

DENG, L. et al. Effects of calcination and acid treatment on improving benzene adsorption performance of halloysite. **Applied Clay Science**, v. 181, n. May, p. 105240, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105240>>.

DENIZ, F.; KEPEKCI, R. A. Dye biosorption onto pistachio by-product: A green environmental engineering approach. **Journal of Molecular Liquids**, v. 219, p. 194–200, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2016.03.018>>.

DESKA, M.; KOŃCZAK, B. Immobilized fungal laccase as “green catalyst” for the decolourization process – State of the art. **Process Biochemistry**, v. 84, n. January, p. 112–123, 2019.

DEVECI, T.; UNYAYAR, A.; MAZMANCI, M. A. Production of Remazol Brilliant Blue R decolourising oxygenase from the culture filtrate of *Funalia trogii* ATCC 200800. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 30, n. 1, p. 25–32, 2004.

DIL, E. A. et al. Multi-responses optimization of simultaneous biosorption of cationic dyes by live yeast *Yarrowia lipolytica* 70562 from binary solution: Application of first order derivative spectrophotometry. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 139, n. January, p. 158–164, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.01.030>>.

DOGAN, M. et al. Adsorption kinetics of maxilon blue GRL onto sepiolite from aqueous solutions. **Chemical Engineering Journal**, v. 124, p. 89–101, 2006.

DU, L. N. et al. Biosorption of the metal-complex dye Acid Black 172 by live and heat-treated biomass of *Pseudomonas* sp. strain DY1: Kinetics and sorption mechanisms. **Journal of Hazardous Materials**, v. 205–206, p. 47–54, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.12.001>>.

DURÁN, N. et al. Enzyme and Microbial Technology 31 (2002) 907-931 Review Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidases) immobilized on different supports: a review. v. 31, p. 907–931, 2002. Disponível em: <<http://bioinf.leeds.>>.

EL-GENDY, N. S. et al. Statistical optimization of Basic Blue 41 dye biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* spent waste biomass and photo-catalytic regeneration using acid TiO₂ hydrosol. **Journal of Water Process Engineering**, v. 6, p. 193–202, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2015.04.007>>.

ERDEM, E.; ÇÖLGEÇEN, G.; DONAT, R. The removal of textile dyes by diatomite earth. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 282, n. 2, p. 314–319, 2005.

FADEL, M. et al. Biosorption of manganese from groundwater by biomass of *Saccharomyces cerevisiae*. **HBRC Journal**, v. 13, n. 1, p. 106–113, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.hbrcj.2014.12.006>>.

FARAH, J. Y.; EL-GENDY, N. S.; FARAHAT, L. A. Biosorption of Astrazone Blue basic dye from an aqueous solution using dried biomass of Baker's yeast. **Journal of Hazardous Materials**, v. 148, n. 1–2, p. 402–408, 2007.

FEBRIANTO, J. et al. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: A summary of recent studies. **Journal of Hazardous Materials**, v. 162, n. 2–3, p. 616–645, 2009.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, M.; SANROMÁN, M. Á.; MOLDES, D. Recent developments and applications of immobilized laccase. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1808–1825, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.02.013>>.

FERNÁNDEZ-LORENTE, G. et al. Glutaraldehyde cross-linking of lipases adsorbed on aminated supports in the presence of detergents leads to improved performance. **Biomacromolecules**, v. 7, n. 9, p. 2610–2615, 2006.

FOMINA, M.; GADD, G. M. Biosorption: Current perspectives on concept, definition and application. **Bioresource Technology**, v. 160, p. 3–14, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.102>>.

GADD, G. M. Biosorption: Critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 84, n. 1, p. 13–28, 2009.

GALLAGHER, K. A.; HEALY, M. G.; ALLEN, S. J. Biosorption of synthetic dye and metal ions from aqueous effluents using fungal biomass. **Studies in Environmental Science**, v. 66, n. C, p. 27–50, 1997.

GOULART, M. R. et al. Metodologias para reutilização do resíduo de terra diatomácea proveniente da filtração e clarificação da cerveja. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 625–629, 2011.

GUARATINI, C. C. I.; ZANONI, V. B. Revisão: Corantes Têxteis. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 71–78, 1999.

GUERRERO-CORONILLA, I.; MORALES-BARRERA, L.; CRISTIANI-URBINA, E. Kinetic, isotherm and thermodynamic studies of amaranth dye biosorption from

aqueous solution onto water hyacinth leaves. **Journal of Environmental Management**, v. 152, p. 99–108, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.01.026>>.

GUPTA, N. K. et al. Biosorption-a green method for the preconcentration of rare earth elements (REEs) from waste solutions: A review. **Journal of Molecular Liquids**, v. 274, p. 148–164, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.10.134>>.

GUPTA, V. K. et al. Adsorption-desorption studies of indigocarmine from industrial effluents by using deoiled mustard and its comparison with charcoal. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 348, n. 2, p. 628–633, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.085>>.

GUZIK, U.; HUPERT-KOCUREK, K.; WOJCIESZYNSKA, D. Immobilization as a strategy for improving enzyme properties- Application to oxidoreductases. **Molecules**, v. 19, n. 7, p. 8995–9018, 2014.

HAN, R. et al. Biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137, n. 3, p. 1569–1576, 2006.

HERNANDEZ, K.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Control of protein immobilization: Coupling immobilization and site-directed mutagenesis to improve biocatalyst or biosensor performance. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 48, n. 2, p. 107–122, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2010.10.003>>.

HO, Y. S.; MCKAY, G. A Comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 76, n. 4, p. 332–340, 1998.

HOLANDA, C. A. et al. ADSORPTION OF TURQUOISE DYE BY CASSAVA PEEL (*Manihot esculenta* Crantz). **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, 2013.

HOMEM, V.; SANTOS, L. Degradation and removal methods of antibiotics from aqueous matrices - A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 10, p. 2304–2347, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.05.023>>.

HUANG, J. et al. Biosorption of reactive black 5 by modified *Aspergillus versicolor* biomass: Kinetics, capacity and mechanism studies. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 492, p. 242–248, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2015.11.071>>.

HUSSAIN, J.; HUSSAIN, I.; ARIF, M. Characterization of textile wastewater. **Journal of Industrial Pollution Control**, v. 20, n. 1, p. 137–144, 2004.

IDAN, I. J. et al. Removal of Reactive Anionic Dyes from Binary Solutions by Adsorption onto Quaternized Kenaf Core Fiber. **International Journal of Chemical Engineering**, v. 2017, 2017.

JIA, Y. et al. Immobilization of laccase onto meso-MIL-53(Al) via physical adsorption

for the catalytic conversion of triclosan. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 184, n. June, p. 109670, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109670>>.

JIMENEZ, R. S. et al. REMOÇÃO DE METAIS PESADOS DE EFLUENTES AQUOSOS PELA ZEÓLITA NATURAL ESCOLECITA – INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO pH NA ADSORÇÃO EM SISTEMAS MONOELEMENTARES. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 734–738, 2004.

JUN, L. Y. et al. An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 2, p. 102961, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.102961>>.

KROON-BATENBURG, L. M. J.; KROON, J. The crystal and molecular structures of cellulose I and II. **Glycoconjugate Journal**, v. 14, n. 5, p. 677–690, 1997.

KUMAR, K. V.; PORKODI, K. Mass transfer, kinetics and equilibrium studies for the biosorption of methylene blue using *Paspalum notatum*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, n. 1–2, p. 214–226, 2007.

KUNAMNENI, A. et al. Fungal Laccase: A Versatile Enzyme for Biotechnological Applications. **Formatex**, n. January, p. 233–245, 2007.

LANGMUIR, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, n. 2, p. 1361–1403, 1918.

LEDAKOWICZ, S.; SOLECKA, M.; ZYLLA, R. Biodegradation, decolourisation and detoxification of textile wastewater enhanced by advanced oxidation processes. **Journal of Biotechnology**, v. 89, n. 2–3, p. 175–184, 2001.

LEGERSKÁ, B.; CHMELOVÁ, D.; ONDREJOVIČ, M. Decolourization and detoxification of monoazo dyes by laccase from the white-rot fungus *Trametes versicolor*. **Journal of Biotechnology**, v. 285, p. 84–90, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.08.011>>.

LIMA, V. V. C. et al. Synthesis and characterization of biopolymers functionalized with APTES (3-aminopropyltriethoxysilane) for the adsorption of sunset yellow dye. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103410, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103410>>.

MA, W. et al. Biototoxicity assessment and toxicity mechanism on coal gasification wastewater (CGW): A comparative analysis of effluent from different treatment processes. **Science of the Total Environment**, v. 637–638, p. 1–8, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.404>>.

MACK, I. et al. The role of chitin, chitinases, and chitinase-like proteins in pediatric lung diseases. **Molecular and Cellular Pediatrics**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2015.

MARUNGRUENG, K.; PAVASANT, P. High performance biosorbent (*Caulerpa lentillifera*) for basic dye removal. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 8, p. 1567–1572,

2007.

MAURYA, N. S.; MITTAL, A. K. Removal mechanism of cationic dye (Safranin O) from the aqueous phase by dead macro fungus biosorbent. **Water Science and Technology**, v. 68, n. 5, p. 1048–1054, 2013.

MAURYA, N. S.; MITTAL, A. K. Kinetic model for the immobilised biosorbents: Uptake of cationic dyes. **Chemical Engineering Journal**, v. 254, n. February, p. 571–578, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2014.05.064>>.

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; WITEK-KROWIAK, A. State of the art for the biosorption process - A review. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 170, n. 6, p. 1389–1416, 2013.

MIKOLASCH, A.; SCHAUER, F. Fungal laccases as tools for the synthesis of new hybrid molecules and biomaterials. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 82, n. 4, p. 605–624, 2009.

MOGHARABI, M.; FARAMARZI, M. A. Laccase and laccase-mediated systems in the synthesis of organic compounds. **Advanced Synthesis and Catalysis**, v. 356, n. 5, p. 897–927, 2014.

MOHAN, S. V.; RAMANAIAH, S. V.; SARMA, P. N. Biosorption of direct azo dye from aqueous phase onto *Spirogyra* sp. I02: Evaluation of kinetics and mechanistic aspects. **Biochemical Engineering Journal**, v. 38, n. 1, p. 61–69, 2008.

MOKHTAR, N. et al. Biosorption of azo-dye using marine macro-alga of *Euchema Spinosum*. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 6, p. 5721–5731, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.10.043>>.

MOUSAVI, M.; FINI, E. Silanization Mechanism of Silica Nanoparticles in Bitumen Using 3-Aminopropyl Triethoxysilane (APTES) and 3-Glycidyloxypropyl Trimethoxysilane (GPTMS). **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, 2020.

NA, W. et al. Effective immobilization of enzyme in glycidoxypropyl-functionalized periodic mesoporous organosilicas (PMOs). **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 134, n. 1–3, p. 72–78, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2010.05.009>>.

NAYAK, N.; HUERTAS, R.; CRESPO, J. G. Surface modification of alumina monolithic columns with 3-aminopropyltetraethoxysilane (APTES) for protein attachment. **Separation and Purification Technology**, v. 229, n. May, p. 115674, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.115674>>.

NGUYEN, M. L.; HUANG, C.; JUANG, R. S. Synergistic biosorption between phenol and nickel(II) from Binary mixtures on chemically and biologically modified chitosan beads. **Chemical Engineering Journal**, v. 286, p. 68–75, 2016.

NGUYEN, T. A.; FU, C. C.; JUANG, R. S. Effective removal of sulfur dyes from water by biosorption and subsequent immobilized laccase degradation on crosslinked chitosan beads. **Chemical Engineering Journal**, v. 304, p. 313–324, 2016.

Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2016.06.102>>.

NOUREN, S. et al. By-product identification and phytotoxicity of biodegraded Direct Yellow 4 dye. **Chemosphere**, v. 169, p. 474–484, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.080>>.

OSMA, J. F.; TOCA-HERRERA, J. L.; RODRÍGUEZ-COUTO, S. Biodegradation of a simulated textile effluent by immobilised-coated laccase in laboratory-scale reactors. **Applied Catalysis A: General**, v. 373, n. 1–2, p. 147–153, 2010.

OWHASHI, M.; ARITA, H.; HAYAI, N. Identification of a novel eosinophil chemotactic cytokine (ECF-L) as a chitinase family protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 2, p. 1279–1286, 2000.

PADMESH, T. V. N. et al. Biosorption of Acid Blue 15 using fresh water macroalga *Azolla filiculoides*: Batch and column studies. **Dyes and Pigments**, v. 71, n. 2, p. 77–82, 2006.

PARK, S.-W. et al. Quantitative Analysis of the Degree of Silanization by the Ninhydrin Method and its Application to the Immobilization of GL-7-ACA Acylase and Cellulolytic Enzyme. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 11, n. 2, p. 199–203, 2001.

PLUMIER, B. et al. Adhesion of diatomaceous earth dusts on wheat and corn kernels. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 347–352, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.08.001>>.

POLAINA, J.; MACCABE, A. P. **Structure , Function and Applications**. [s.l: s.n.]

PRADO, A. G. S. et al. Comparative adsorption studies of indigo carmine dye on chitin and chitosan. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 277, n. 1, p. 43–47, 2004.

PRIGIONE, V. et al. Decolourisation and detoxification of textile effluents by fungal biosorption. **Water Research**, v. 42, n. 12, p. 2911–2920, 2008a.

PRIGIONE, V. et al. Biosorption of simulated dyed effluents by inactivated fungal biomasses. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3559–3567, 2008b.

QUIÑONES, I.; GUIOCHON, G. Extension of a Jovanovic-Freundlich isotherm model to multicomponent adsorption on heterogeneous surfaces. **Journal of Chromatography A**, v. 796, n. 1, p. 15–40, 1998.

RANGABHASHIYAM, S.; LATA, S.; BALASUBRAMANIAN, P. Biosorption characteristics of methylene blue and malachite green from simulated wastewater onto *Carica papaya* wood biosorbent. **Surfaces and Interfaces**, v. 10, n. September 2017, p. 197–215, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.surfin.2017.09.011>>.

RODRIGUES, R. C. et al. Modifying enzyme activity and selectivity by immobilization. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6290–6307, 2013.

RODRÍGUEZ COUTO, S. Dye removal by immobilised fungi. **Biotechnology**

Advances, v. 27, n. 3, p. 227–235, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.12.001>>.

SAFARIKOVA, M. et al. Biosorption of water-soluble dyes on magnetically modified *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* cells. **Chemosphere**, v. 59, n. 6, p. 831–835, 2005.

SALIH, S. S. et al. Competitive adsorption of As(III) and As(V) onto chitosan/diatomaceous earth adsorbent. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 5, p. 103407, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103407>>.

SARUCHI; KUMAR, V. Adsorption kinetics and isotherms for the removal of rhodamine B dye and Pb +2 ions from aqueous solutions by a hybrid ion-exchanger. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 12, n. 3, p. 316–329, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.11.009>>.

SEMIÃO, M. A.; HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M. Residual diatomaceous earth as a potential and cost effective biosorbent of the azo textile dye Reactive Blue 160. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 1, p. 103617, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jece.2019.103617>>.

SEN, S. K. et al. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: A review. **Fungal Biology Reviews**, v. 30, n. 3, p. 112–133, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2016.06.003>>.

SHACKELTON, L. M.; MANN, D. M.; MILLIS, A. J. T. **Identification of a 38-kDa heparin-binding glycoprotein (gp38k) in differentiating vascular smooth muscle cells as a member of a group of proteins associated with tissue remodeling** *Journal of Biological Chemistry*, 1995. .

SHELDON, R. A.; VAN PELT, S. Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6223–6235, 2013.

SHI, Q. et al. Binary adsorption equilibrium and breakthrough of toluene and cyclohexane on macroporous and hypercrosslinked polymeric resins. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 271, n. May, p. 73–82, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2018.05.034>>.

SHINDY, H. A. Fundamentals in the chemistry of cyanine dyes: A review. **Dyes and Pigments**, v. 145, p. 505–513, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2017.06.029>>.

SIRISHA, V. L.; JAIN, A.; JAIN, A. **Enzyme Immobilization: An Overview on Methods, Support Material, and Applications of Immobilized Enzymes**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2016. v. 79

SLAGMAN, S.; ZUILHOF, H.; FRANSSSEN, M. C. R. Laccase-Mediated Grafting on Biopolymers and Synthetic Polymers: A Critical Review. **ChemBioChem**, v. 19, n. 4, p. 288–311, 2018.

SONG, T. et al. Biosorption of cadmium ions from aqueous solution by modified *Auricularia Auricular* matrix waste. **Journal of Molecular Liquids**, v. 241, p. 1023–1031, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.molliq.2017.06.111>>.

SOUSA, F. W. et al. Green coconut shells applied as adsorbent for removal of toxic metal ions using fixed-bed column technology. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 8, p. 1634–1640, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.02.011>>.

SOUSA, F. W. et al. Single and multielementary isotherms of toxic metals in aqueous solution using treated coconut shell powder. **Desalination and Water Treatment**, v. 36, n. 1–3, p. 289–296, 2011.

SOUZA, G. P. et al. Caracterização de material compósito diatomáceo natural. **Cerâmica**, v. 49, n. 309, p. 40–43, 2003.

SUN, J. et al. Synthesis of some surfactant-type acid dyes and their low-temperature dyeing properties on wool fiber. **Journal of Cleaner Production**, v. 218, p. 284–293, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.341>>.

TRAN, H. N. et al. Mistakes and inconsistencies regarding adsorption of contaminants from aqueous solutions: A critical review. **Water Research**, v. 120, p. 88–116, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.014>>.

VERHAGE, H. G. et al. Characteristics of an oviductal glycoprotein and its potential role in the fertilization process. **Biology of Reproduction**, v. 58, n. 5, p. 1098–1101, 1998.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. S. Biosorption of C.I. Reactive Black 5 from aqueous solution using acid-treated biomass of brown seaweed *Laminaria* sp. **Dyes and Pigments**, v. 76, n. 3, p. 726–732, 2008a.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. S. Bacterial biosorbents and biosorption. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 3, p. 266–291, 2008b.

VIJAYARAGHAVAN, K.; YUN, Y. S. Competition of Reactive red 4, Reactive orange 16 and Basic blue 3 during biosorption of Reactive blue 4 by polysulfone-immobilized *Corynebacterium glutamicum*. **Journal of Hazardous Materials**, v. 153, n. 1–2, p. 478–486, 2008c.

WAN MAZNAH, W. O.; AL-FAWWAZ, A. T.; SURIF, M. Biosorption of copper and zinc by immobilised and free algal biomass, and the effects of metal biosorption on the growth and cellular structure of *Chlorella* sp. and *Chlamydomonas* sp. isolated from rivers in Penang, Malaysia. **Journal of Environmental Sciences (China)**, v. 24, n. 8, p. 1386–1393, 2012. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742\(11\)60931-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1001-0742(11)60931-5)>.

WANG, F. et al. Magnetic mesoporous silica nanoparticles: Fabrication and their laccase immobilization performance. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 23, p.

8931–8935, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.115>>.

WEN, X. et al. Immobilizing laccase on kaolinite and its application in treatment of malachite green effluent with the coexistence of Cd (Π). **Chemosphere**, v. 217, p. 843–850, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.11.073>>.

WESENBERG, D.; KYRIAKIDES, I.; AGATHOS, S. N. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 1–2, p. 161–187, 2003.

WILLE, C. L. et al. Efficacy of recovered diatomaceous earth from brewery to control *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 254–260, 2019.

WON, S. W.; HAN, M. H.; YUN, Y. S. Different binding mechanisms in biosorption of reactive dyes according to their reactivity. **Water Research**, v. 42, n. 19, p. 4847–4855, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.09.003>>.

XU, R. et al. Removal of 2,4,6-trichlorophenol by laccase immobilized on nano-copper incorporated electrospun fibrous membrane-high efficiency, stability and reusability. **Chemical Engineering Journal**, v. 326, p. 647–655, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2017.05.083>>.

YANG, Y. et al. Biosorption of Acid Black 172 and Congo Red from aqueous solution by nonviable *Penicillium YW 01*: Kinetic study, equilibrium isotherm and artificial neural network modeling. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 2, p. 828–834, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.08.125>>.

YASEEN, D. A.; SCHOLZ, M. **Textile dye wastewater characteristics and constituents of synthetic effluents: a critical review**. [s.l.] Springer Berlin Heidelberg, 2019. v. 16

YUAN, C. et al. Sensitive development of latent fingerprints using Rhodamine B-diatomaceous earth composites and principle of efficient image enhancement behind their fluorescence characteristics. **Chemical Engineering Journal**, n. October, p. 123076, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123076>>.

ZDARTA, J. et al. A general overview of support materials for enzyme immobilization: Characteristics, properties, practical utility. **Catalysts**, v. 8, n. 2, 2018a.

ZDARTA, J. et al. Developments in support materials for immobilization of oxidoreductases: A comprehensive review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 258, p. 1–20, 2018b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cis.2018.07.004>>.

ZDARTA, J. et al. Multi-faceted strategy based on enzyme immobilization with reactant adsorption and membrane technology for biocatalytic removal of pollutants: A critical review. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 7, p. 107401, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.05.007>>.

ZHAO, G. et al. Enzymes immobilized on superparamagnetic Fe₃O₄@Clays nanocomposites: Preparation, characterization, and a new strategy for the regeneration of supports. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 14, p. 6350–6359, 2011.

ZHOU, J. L.; BANKS, C. J. Removal of humic acid fractions by *Rhizopus arrhizus*: Uptake and kinetic studies. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 12, n. 10, p. 859–869, 1991.

ZHOU, W.; ZHANG, W.; CAI, Y. Laccase immobilization for water purification: A comprehensive review. **Chemical Engineering Journal**, v. 403, n. July 2020, p. 126272, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126272>>.

ZHOU, W.; ZIMMERMANN, W. Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 107, n. 2–3, p. 157–161, 1993.

ZHU, Y. et al. Oxidative depolymerization of lignin improved by enzymolysis pretreatment with laccase. **Journal of Energy Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 801–805, 2018.

ZYOUD, A. H. et al. Kaolin-supported ZnO nanoparticle catalysts in self-sensitized tetracycline photodegradation: Zero-point charge and pH effects. **Applied Clay Science**, v. 182, n. September, p. 105294, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105294>>.

APÊNDICE A – Metodologia para eclosão de cistos de *Artemia salina* e teste de sensibilidade

Eclosão dos cistos

Os cistos foram obtidos comercialmente de um produtor local. Os ensaios seguiram os parâmetros estabelecidos pela norma ABNT NBR 16530 (2016). Com o auxílio de um funil de separação de 1 L, foi adicionado 130 mg de cistos em 500 mL de água do mar reconstituída, que ficou sob agitação por 24 horas e sob aeração por 15 minutos. O funil foi deixado por 48 horas em estufa B.O.D. no escuro a temperatura de 25°C. Após a eclosão colocou-se uma fonte de luz na parte superior do funil de separação e foi realizada a separação dos náuplios dos cistos não eclodidos e das casacas.

Ensaio de sensibilidade com os náuplios

A metodologia para a verificação da sensibilidade dos náuplios, seguiu a norma ABNT NBR 16530 (2016). Preparou-se uma solução mãe de 250 mg·L⁻¹ da substância referência dodecilsulfato de sódio (C₁₃H₂₅NaO₄S) e a partir da solução mãe realizou-se 6 diluições com as concentrações de 5, 14, 23, 32, 41 e 50 mg·L⁻¹. As diluições foram realizadas com a mesma água reconstituída utilizada para a eclosão dos cistos, portanto o controle negativo foi realizado com a água reconstituída. Utilizando uma pipeta de Pasteur, os náuplios foram transferidos e distribuídos para uma microplaca de 96 poços, com um neonato por poço, sendo 40 poços para cada concentração da amostra (10 organismos em quadruplicada). Os organismos foram incubados a 25°C, no escuro por 48 horas. Após a exposição foram contabilizados os organismos imóveis e foi estabelecido o percentual de imobilidade que foram expressos em função da concentração efetiva a 50% dos organismos (CE50).

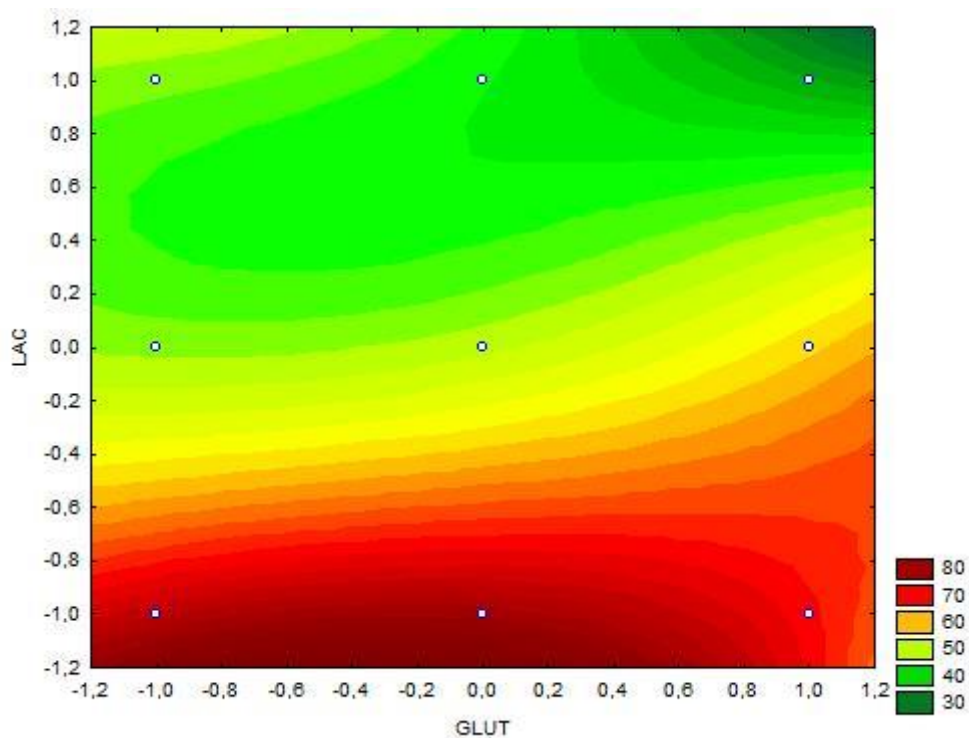
APÊNDICE B – Ajuste de dados estatísticos do planejamento fatorial da imobilização da lacase em TDR-S

Os dados ajustados a modelo com duas interações (linear, quadrático).

Modelo ajustado aos dados:

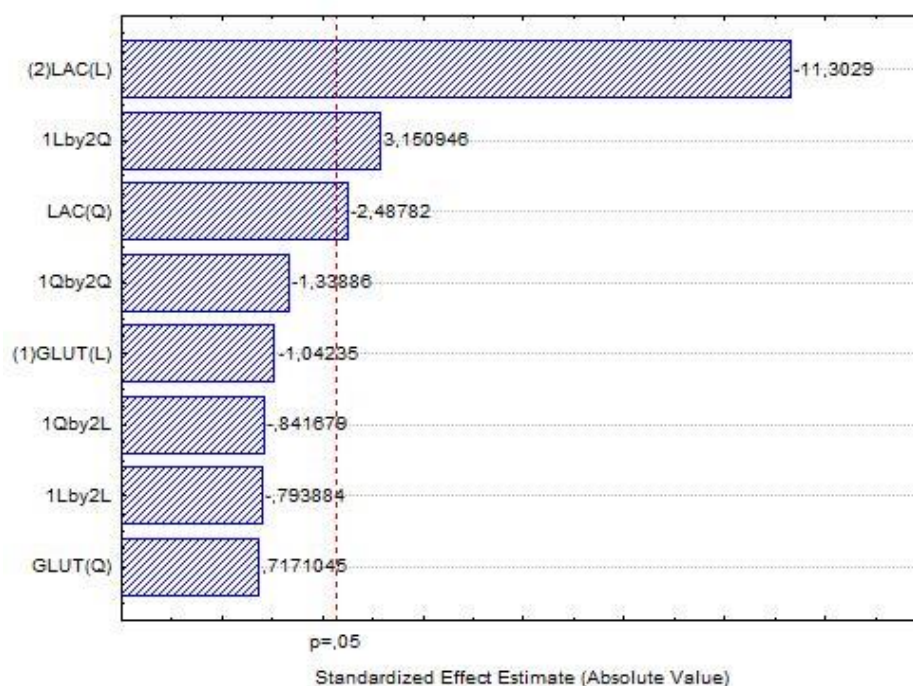
$$z=49,43+5,03*x+3,005*x^2-18,415*y+11,19*y^2-1,43125*x*y-9,84875*x*y^2+2,63375*x^2*y-7,24875*x^2*y^2+0;$$

Figura 35: Gráfico de superfície de resposta correspondente ao modelo ajustado do planejamento fatorial. (LAC = Concentração de lacase; GLUT = Concentração de glutaraldeído)



Fonte: Autoria própria.

Figura 36: Gráfico de Pareto indicando a significância das variáveis envolvidas na imobilização de lacase



Fonte : Autoria própria

ANOVA; Var.:% Imobilização; R-sqr=,94287; Adj:,89209 (Spreadsheet1) 2 3-level factors, 1 Blocks, 18 Runs; MS Pure Error=26,08046 DV: % Imobilização

	SS	df	MS	F	P
(1)GLUT (L)	28,305	1	28,305	1,0853	0,324688
GLUT (Q)	13,359	1	13,359	0,5122	0,492327
(2)LAC (L)	3330,334	1	3330,334	127,6946	0,000001
LAC (Q)	161,671	1	161,671	6,1989	0,034435
1L by 2L	16,388	1	16,388	0,6284	0,448350
1L by 2Q	258,661	1	258,661	9,9178	0,011752
1Q by 2L	18,498	1	18,498	0,7093	0,421506
1Q by 2Q	46,706	1	46,706	1,7908	0,213647
Pure Error	234,724	9	26,080		
Total SS	4108,646	17			

ANOVA; Var.:% Imobilização; R-sqr=,94287; Adj:,89209 (Spreadsheet1) 2 3-level factors, 1 Blocks, 18 Runs; MS Pure Error=26,08046 DV: % Imobilização

	SS	df	MS	F	p
(1)GLUT L+Q	41,664	2	20,832	0,79877	0,479369
(2)LAC L+Q	3492,005	2	1746,003	66,94677	0,000004

1*2	340,253	4	85,063	3,26157	0,065000
Pure Error	234,724	9	26,080		
Total SS	4108,646	17			

Regr. Coefficients; Var.:% Imobilização; R-sqr=.94287; Adj.:.89209 (Spreadsheet1) 2
3-level factors, 1 Blocks, 18 Runs; MS Pure Error=26,08046 DV: % Imobilização

	Regressn	Std.Err.	t(9)	p	-95,%	+95,%
Mean/Interc.	49,4300	3,611126	13,68825	0,000000	41,2611	57,5989
(1)GLUT (L)	5,0300	2,553452	1,96988	0,080357	-0,7463	10,8063
GLUT (Q)	3,0050	4,422708	0,67945	0,513947	-6,9999	13,0099
(2)LAC (L)	-18,4150	2,553452	-7,21181	0,000050	-24,1913	-12,6387
LAC (Q)	11,1900	4,422708	2,53012	0,032229	1,1851	21,1949
1L by 2L	-1,4313	1,805563	-0,79269	0,448350	-5,5157	2,6532
1L by 2Q	-9,8488	3,127327	-3,14926	0,011752	-16,9233	-2,7742
1Q by 2L	2,6338	3,127327	0,84217	0,421506	-4,4408	9,7083
1Q by 2Q	-7,2488	5,416689	-1,33823	0,213647	-19,5022	5,0047