

GUILHERME MAX DIAS FERREIRA

**ESTUDO DA ADSORÇÃO DE MOLÉCULAS-MODELO SOBRE A
SUPERFÍCIE DE NANOTUBOS DE CARBONO: UMA ABORDAGEM
TERMODINÂMICA**

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agroquímica, para obtenção do título de
Doctor Scientiae.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2016**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F383e
2016

Ferreira, Guilherme Max Dias, 1987-
Estudo da adsorção de moléculas-modelo sobre a
superfície de nanotubos de carbono : uma abordagem
termodinâmica / Guilherme Max Dias Ferreira. - Viçosa, MG,
2016.
xxi,150f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador : Luis Henrique Mendes da Silva.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Termodinâmica. 2. Adsorção. 3. Calorimetria.
4. Nanotubos de carbono. 5. Proteínas. 6. Corantes.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica.
II. Título.

CDD 22. ed. 660.2969

GUILHERME MAX DIAS FERREIRA

**ESTUDO DA ADSORÇÃO DE MOLÉCULAS-MODELO SOBRE A
SUPERFÍCIE DE NANOTUBOS DE CARBONO: UMA ABORDAGEM
TERMODINÂMICA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

APROVADA: 06 de maio de 2016.

Alexandre Gurgel

Ana Clarissa dos Santos Pires

Jefferson Luis Ferrari

Sukarno Olavo Ferreira

Luis Henrique Mendes da Silva
(Orientador)

*“Olha devagar para cada coisa.
Aceita o desafio de ver o que a multidão não viu.
Em cascalhos disformes e estranhos
diamantes sobrevivem solitários.”*

Fábio de Melo

AGRADECIMENTOS

Cada etapa concluída não é o resultado único do meu esforço, mas também o esforço conjunto de todos que depositaram sua confiança em mim. Por isto agradeço:

A Deus, por ter feito um universo tão cheio de mistérios que eu pudesse ajudar a desvendar;

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Agroquímica, por proporcionarem a realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos;

Ao Instituto Nacional de Ciências e Tecnologias Analíticas Avançadas (INCTAA), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio financeiro aos projetos;

Aos meus pais que fizeram tudo que estava ao alcance deles, apoiando-me incondicionalmente para que eu alcançasse essa vitória,. Eu os amo!

Ao meu irmão Gabriel de forma especial, que tem me acompanhado ao longo de cada conquista, seja nas discussões científicas ou na realização dos experimentos. Tudo só foi possível graças a você;

Ao meu irmão Gustavo pela alegria proporcionada ao longo desses anos;

Ao professor e amigo Luis Henrique que vem contribuindo muito para minha formação científica e pessoal;

À professora Maria do Carmo, pelo exemplo de trabalho e disciplina, grande responsável pela minha formação profissional;

A todos os amigos do grupo QUIVECOM. São tantos anos e muitos se foram e chegaram no tempo em que trabalhei neste grupo; pessoas de muitas qualidades que tornaram o trabalho ainda mais agradável.

Ao Jeanderson e ao Luiz Felipe, que contribuíram para a realização dos experimentos.

À colaboradora deste trabalho, Germana, pelas medidas de potencial zeta.

Aos professores que participaram da defesa desta tese: Alexandre Gurgel, do departamento de Química (UFV); Jefferson Luis Ferrari, do Departamento de Ciências Naturais (UFSJ); Ana Clarissa dos Santos Pires, do Departamento de Tecnologia de Alimentos (UFV) e Sukarno Olavo Ferreira, do Departamento de Física (UFV);

Enfim, a todos que tornaram este trabalho possível. Muito obrigado!

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	viii
LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE TABELAS	xvii
RESUMO	xviii
ABSTRACT	xx
1. CAPÍTULO 1: Introdução e Fundamentação Teórica	1
1.1. Introdução	1
1.2. Revisão de literatura	4
1.2.1. Nanotubos de carbono: estrutura e propriedades	4
1.2.2. Funcionalização de nanotubos de carbono	7
1.2.2.1. CNTs e proteínas	10
1.2.2.2. CNTs e corantes	17
1.2.3. Estudo de interação adsorvente-adsorvato em interfaces sólido-solução	21
1.2.3.1. Adsorção	22
1.2.3.2. Utilização da calorimetria na determinação da variação de entalpia de adsorção	28
1.2.3.3. Determinação de parâmetros termodinâmicos de adsorção	33
1.3. Estrutura da tese	39
1.4. Revisão bibliográfica	40
2. CAPÍTULO 2: Objetivos	50
2.1. Objetivos gerais	50
2.2. Objetivos específicos	50
2.2.1. Objetivos específicos do trabalho 1	50
2.2.2. Objetivos específicos do trabalho 2	51
3. CAPÍTULO 3: Estudo Termodinâmico da Mudança Conformacional de BSA Induzida por Adsorção em Nanotubos de Carbono	52
Resumo	52
3.1. Introdução	53

3.2.	Parte experimental -----	56
3.2.1.	Materiais -----	56
3.2.2.	Isotermas de adsorção -----	57
3.2.3.	Titulação calorimétrica isotérmica -----	58
3.2.4.	Modelos de isotermas de adsorção -----	59
3.2.5.	Medidas de potencial zeta -----	61
3.2.6.	Calorimetria diferencial de varredura -----	61
3.3.	Resultados e discussão -----	62
3.3.1.	Isotermas de adsorção de BSA em CNTs -----	62
3.3.1.1.	Efeito do pH e da força iônica sobre a adsorção de BSA em CNTs	65
3.3.1.1.	Efeito da estrutura do CNT sobre a adsorção da BSA -----	67
3.3.2.	Termodinâmica de adsorção de BSA em CNTs -----	71
3.3.2.1.	Modelos de isotermas e variação de energia livre de Gibbs de adsorção -----	71
3.3.2.2.	Calorimetria de titulação isotérmica (ITC) -----	77
3.3.3.	Efeito de sais da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA -----	91
3.3.3.1.	Efeito de cátions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT -----	92
3.3.3.2.	Efeito de ânions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT -----	95
3.4.	Conclusões -----	98
3.5.	Referências Bibliográficas -----	99
4.	CAPÍTULO 4: Adsorption of red azo-dyes on multi-walled carbon nanotube and activated carbon: A thermodynamic study -----	105
	Abstract -----	105
4.1.	Introduction -----	106
4.2.	Experimental -----	109
4.2.1.	Chemicals -----	109
4.2.2.	Characterization of the adsorbents -----	109
4.2.3.	Adsorption isotherms -----	110
4.2.4.	Determination of adsorption thermodynamics parameters -----	111
4.2.4.1.	Adsorption Gibbs free energy change -----	111
4.2.4.2.	Adsorption molar enthalpy change -----	113

4.2.4.3.	Adsorption entropy change-----	114
4.3.	Results and discussions -----	115
4.3.1.	Adsorption isotherms -----	115
4.3.2.	pH effect on the adsorption of dyes-----	119
4.3.3.	Adsorption isotherm studies -----	121
4.3.4.	Adsorption thermodynamic parameters -----	126
4.3.5.	Adsorption thermodynamic parameters at infinite dilution -----	134
4.4.	Conclusion -----	136
4.5.	References -----	138
5.	CAPÍTULO 5: Considerações finais -----	144
6.	APÊNDICE A-----	146
7.	APÊNDICE B-----	147

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

CAPÍTULO 1: Introdução e Fundamentação Teórica

AM: azul de metileno;

$\vec{a}_1, \vec{a}_2$: vetores unitários da rede hexagonal do plano da folha de grafeno;

BSA: albumina do soro bovino;

CNTs: nanotubos de carbono;

$\vec{C}$: vetor quiral definido sobre a folha de grafeno;

$C_{H_2O}(z)$: concentração de água ao longo do eixo z perpendicular à área de contato entre as fases;

C_i : concentração da espécie i;

C_i^{ref} : concentração da espécie i que define o novo sistema de coordenadas;

$C_i(z)$: concentração de i ao longo do eixo z perpendicular à área de contato entre as fases;

C_i^α : concentração do componente i na fase α ;

C_i^β : concentração do componente i na fase β ;

C_i^γ : concentração do componente i na região γ ;

C_i^* : concentração da espécie i no novo sistema de coordenadas;

C_s : concentração do soluto s;

C_s^A : concentração do soluto s no adsorvente;

C_s^{ref} : concentração do soluto s no estado de referência;

C_s^{sol} : concentração do soluto s no adsorvente;

$C_s^{*,A}$: concentração do soluto s no adsorvente para o novo sistema de coordenadas;

$C_s^{*,sol}$: concentração do soluto s na solução para o novo sistema de coordenadas;

$C_s(z)$: concentração de s ao longo do eixo z perpendicular à área de contato entre as fases;

$\bar{C}_s^{interface}$: concentração média de s na interface;

H: entalpia;

$\bar{H}_i$: entalpia molar parcial do componente i;

$\bar{H}_s$: entalpia molar parcial do soluto s;

$\bar{H}_s^A$: entalpia molar parcial do soluto s no adsorvente;

$\bar{H}_s^{sol}$: entalpia molar parcial do soluto s na solução;

ITC: microcalorimetria de titulação isotérmica;

K_{ads} : constante de equilíbrio de adsorção;

K_{ads}^* : constante de equilíbrio de adsorção referente ao novo estado de referência;

MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

MWCNT-OH: nanotubos de carbono de paredes múltiplas contendo grupos hidroxílicos;

NADH: dinucleótido de nicotinamida e adenina;

n, m : coordenadas da rede hexagonal do plano da folha de grafeno;

$n_{T,i}$: quantidade de substância total do soluto i no sistema;

$n_{\alpha,i}$: quantidade de substância total do soluto i na fase α ;

$n_{\beta,i}$: quantidade de substância total do soluto i na fase β ;

$n_{i,\sigma}$: quantidade de substância do soluto i em excesso na interface;

P : pressão;

$\mathcal{P}$: potência;

PBC: ácido 1-pirenobutírico;

q : quantidade de energia trocada entre sistema e vizinhança na forma de calor;

S : área da interfacial;

SCAC: calorimetria de adsorção em cristal simples;

SWCNTs: nanotubos de carbono de parede simples;

T : temperatura absoluta;

U : energia interna do sistema;

V : volume;

w : quantidade de energia trocada entre sistema e vizinhança na forma de trabalho;

γ_i : coeficiente de atividade da espécie i ;

γ_i^* : coeficiente de atividade da espécie i no novo sistema de coordenadas;

γ_s^A : coeficiente de atividade do soluto s no adsorvente;

γ_s^{sol} : coeficiente de atividade do soluto s na solução;

Γ_i : quantidade de substância adsorvida de um soluto i ;

Γ_s : quantidade de substância adsorvida do soluto s ;

Γ_{H_2O} : quantidade de substância adsorvida de água;

δ : espessura da interface;

$-\delta, +\delta$: coordenadas interfaciais ao longo do eixo z perpendicular à área de contato entre as fases;

ΔG_{ads}^0 : variação de energia livre de Gibbs de adsorção;

ΔG_{ads}^{ref} : variação de energia livre de Gibbs de adsorção para o novo estado de referência;

ΔH : variação de entalpia;

ΔH_{ads} : variação de entalpia de adsorção;

ΔH_{ads}^{ref} : variação de entalpia de adsorção para o novo estado de referência;

ΔS_{ads}^{ref} : variação de entropia de adsorção para o novo estado de referência;

ΔT : variação de temperatura;

ΔU : variação de energia interna;

θ : ângulo quiral;

μ : mobilidade eletroforética.

μ_i : potencial químico da espécie i;

μ_i^A : potencial químico da espécie i no adsorvente;

μ_i^{ref} : potencial químico de referência da espécie i;

μ_i^{sol} : potencial químico da espécie i na solução;

μ_i^0 : potencial químico padrão da espécie i;

$\mu_s^{o,A}$: potencial químico padrão do soluto s no adsorvente;

$\mu_s^{o,sol}$: potencial químico padrão do soluto s na solução;

$\mu_s^{ref,A}$: potencial químico de referência do soluto s no adsorvente;

$\mu_s^{ref,sol}$: potencial químico de referência do soluto s na solução;

CAPÍTULO 3: Estudo Termodinâmico da Mudança Conformacional de BSA Induzida por Adsorção em Nanotubos de Carbono

BSA: albumina do soro bovino;

CNTs: nanotubos de carbono;

C_e : concentração de BSA na solução em equilíbrio com a BSA adsorvida;

C_0 : concentração inicial de BSA na solução;

C_e^{ref} : concentração de BSA no estado de referência;

ITC: microcalorimetria de titulação isotérmica;

m: massa de adsorvente;

MWCNTs: nanotubos de carbono de paredes múltiplas;

REMQ: raiz do erro médio quadrático;

S: área superficial específica do adsorvente;

SWCNTs: nanotubos de carbono de parede simples;

SWCNT-COOH: nanotubos de carbono de paredes simples funcionalizado por grupos carboxílicos;

SWCNT-OH: nanotubos de carbono de paredes simples funcionalizado por grupos hidroxílicos;

T: temperatura absoluta;

V: volume de solução;

ΔG_{ads}^o : variação de energia livre de Gibbs de adsorção;

ΔG_{ads}^{ref} : variação de energia livre de Gibbs de adsorção para o novo estado de referência;

ΔH_{ads} : variação de entalpia de adsorção;

ΔS_{ads}^{ref} : variação de entropia de adsorção para o novo estado de referência;

$\Delta H_{ads}^{dessolv.}$: variação de entalpia de adsorção de reestruturação de moléculas e íons do solvente;

$\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$: variação de entalpia de adsorção de interação CNT-BSA;

$\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$: variação de entalpia de adsorção de interação lateral BSA-BSA sobre a superfície do CNT;

$\Delta H_{ads}^{m.c.}$: variação de entalpia de adsorção de mudanças conformacional da BSA;

ζ : potencial zeta;

Γ_{BSA} : quantidade de substância adsorvida de BSA sobre MWCNTs;

Γ_{BSA}^{ref*} : quantidade de BSA adsorvida segundo a qual está definido o estado de referência;

$\mu_{BSA}^{o,A}$: potencial químico padrão da BSA no adsorvente;

$\mu_{BSA}^{o,sol}$: potencial químico padrão da BSA na solução;

$\mu_{BSA}^{ref,A}$: potencial químico de referência da BSA no adsorvente;

$\mu_{BSA}^{ref,sol}$: potencial químico de referência da BSA na solução.

CAPÍTULO 4: Adsorption of Red Azo-dyes on Multi-Walled Carbon Nanotube and Activated Carbon: A Thermodynamic Study

A: BET specific surface area of the adsorbent;

A_{Ac}: BET specific surface area of activated carbon;

A_{MWCNT} : BET specific surface area of MWCNTs;

AC: activated carbon;

AR: Allura Red;

b_T : constant associated to the adsorption enthalpy in the Temkin isotherm;

C_0 : initial concentrations of the dye in the solution;

C_D^{ref} : concentrations of the dye in the solution for the new reference state;

C_e : equilibrium concentrations of the dye in the solution;

CNTs: carbon nanotubes;

CR: Congo Red;

ITC: isothermal titration calorimetry;

K_{ads} : equilibrium thermodynamic constant;

K_{ads}^* : equilibrium thermodynamic constant for the new reference states;

K_{DR} : constant associated to the adsorption energy in the D-R isotherm;

K_L : Langmuir constant;

K_F : Freundlich constant;

K_T : equilibrium binding constant in the Temkin isotherm;

m: mass of the adsorbent;

MWCNTs: multi-walled carbon nanotubes;

n_i : amount of substance of dye adsorbing on the adsorbent surface in i-th injection;

N: number of experimental isotherm data points;

PR: Ponceau Red;

pH_{PZC}: point of zero charge;

p_{est} : dye adsorbed amount predicted by the fitted model;

p_{exp} : dye adsorbed amount experimentally determined;

q_D : amount of solute adsorbed;

$q_{i,\text{ads}}$: absorbed or released heat in the calorimetric experiment of adsorption;

$q_{i,\text{dil}}$: absorbed or released heat due to the dilution of the dye;

RMSE: root mean square error;

R^2 : determination coefficients value;

SWCNTs: single-walled carbon nanotubes;

T: absolute temperature;

V: volume of the solution;

X'_m : adsorption capacity in the D-R isotherm;

γ_D^S : activity coefficient of the dye in the solution;
 γ_D^{sol} : activity coefficient of the dye in the adsorbent surface;
 Γ_D : dye adsorbed amount;
 $\Gamma_{D,max}^L$: theoretical maximum adsorbed amount of the solute in the Langmuir model;
 $\Gamma_{D,max}$: maximum dye adsorbed amount;
 $\Delta_{ads}G$: adsorption Gibbs free energy change;
 $\Delta_{ads}G^{ref}$: adsorption Gibbs free energy change in relation to the reference states;
 $\Delta_{ads}G^\infty$: adsorption Gibbs free energy change in relation to the reference states at infinite dilution condition;
 $\Delta_{ads}H$: adsorption enthalpy change;
 $\Delta_{ads}H_{integral}$: integral adsorption enthalpy change;
 $\Delta_{ads}H^{des}$: adsorption enthalpy change associated with the desolvation process of both dye and adsorbent;
 $\Delta_{ads}H^{D-D,Sol}$: adsorption enthalpy changes resulting from the dye-dye interaction in the solution;
 $\Delta_{ads}H^{D-D,Sur}$: adsorption enthalpy changes resulting from the dye-dye interaction on the adsorbent surface;
 $\Delta_{ads}H^{D-S}$: adsorption enthalpy change for the formation of the interaction between the dye and the adsorption site;
 $\Delta_{ads}H^\infty$: adsorption enthalpy change in relation to the reference states at infinite dilution;
 $\Delta_{ads}S$: adsorption entropy change;
 $\Delta_{ads}S^{ref}$: adsorption entropy change in relation to the reference states;
 $\Delta_{ads}S^\infty$: adsorption entropy change in relation to the reference states at infinite dilution;
 ΔpH : difference between the initial and final pH values of NaCl solution;
 ε : Polanyi's potential;
 $\mu_D^{ref,S}$: chemical potential of the dye in the adsorbent surface in a reference state;
 $\mu_D^{ref,sol}$: chemical potential of the dye in the liquid solution in a reference state.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Estrutura de nanotubos de carbono de (a) parede simples e (b) de paredes múltiplas.-----	5
Figura 1.2. Diagrama esquemático mostrando como uma folha de grafeno poderia ser enrolada sobre si mesma para obter CNTs de diferentes quiralidades e diâmetros. -----	6
Figura 1.3. (a) Diagrama esquemático representando um sistema bifásico contendo duas fases, α e β , em equilíbrio termodinâmico, em que a região da interface foi destacada; (b) elemento de volume contendo a região da interface do sistema representado em (a). --	24
Figura 1.4. Variação das concentrações do solvente (água) e do soluto s ao longo do eixo z perpendicular à interface. -----	25
Figura 1.5. Esquema de um calorímetro de titulação isotérmica. -----	30
Figura 1.6. Termograma obtido em um experimento de titulação calorimétrica isotérmica mostrando quatro eventos termodinâmicos associados a quatro injeções do titulante. -	31
Figura 1.7. Sistema constituído por uma solução aquosa de um soluto s em equilíbrio termodinâmico com o soluto adsorvido sobre o adsorvente. -----	34
Figura 1.8. Esquema de uma isoterma de adsorção com um novo sistema de coordenadas de concentração. -----	37
Figura 3.1. Isotherma de adsorção de BSA sobre MWCNT em pH 4,8, a 25 °C. -----	62
Figura 3.2. Efeito do pH sobre a adsorção de BSA em superfície de MWCNT, na (a) ausência e (b) presença de KCl 200,0 mM, a 25 °C. -----	65
Figura 3.3. Isotermas de adsorção de BSA em SWCNTs, a 25 °C: (a) SWCNT-COOH, KCl 0 mM; (b) SWCNT-COOH, KCl 200,0 mM; (c) SWCNT-OH, KCl 0,0 mM e (d) SWCNT-OH, KCl 200,0 mM. -----	68
Figura 3.4. Curvas de ΔG_{ads}^{ref} versus Γ_{BSA} para (a) MWCNT e (b) SWCNT-COOH (símbolos fechados) e SWCNT-OH (símbolos abertos), em diferentes valores de pH, a 25 °C. -----	76

Figura 3.5. Termogramas obtidos a partir de ITC para titulação de BSA 9,0 mg mL ⁻¹ em solução tampão pH 5,8 na (a) presença e (b) ausência de MWCNT, a 25 °C. -----	77
Figura 3.6. Parâmetros termodinâmicos de adsorção versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT em pH 5,8, a 25 °C. -----	79
Figura 3.7. Efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, a 25 °C. -----	84
Figura 3.8. Termogramas de nano-DSC de BSA 2,50 mg mL ⁻¹ em diferentes valores de pH. -----	85
Figura 3.9. Efeito da desnaturação de proteína BSA sobre a (a) isoterma de adsorção e a (b) curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em MWCNT e pH 5,8, a 25 °C. -----	88
Figura 3.10. Efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de SWCNT-COOH (símbolos fechados) e SWCNT-OH (símbolos abertos), a 25 °C. ----	89
Figura 3.11. Efeito de cátions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT, em pH igual 4,8 e concentração de sal igual a (a) 10,00 mM e (b) 100,0 mM. -----	93
Figura 3.12. Efeito da concentração dos eletrólitos (a) NH ₄ Cl, (CH ₃) ₄ NCl e (b) BaCl ₂ sobre as curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, em pH 4,8 e a 25 °C. -----	94
Figura 3.13. Efeito de ânions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT, em pH igual 4,8 e concentração de sal igual a (a) 10,00 mM e (b) 100,0 mM. -----	95
Figura 3.14. Efeito da concentração dos eletrólitos (a) Na ₂ SO ₄ e (b) NaSCN sobre as curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, em pH 4,8 e a 25 °C. -----	96
Figure 4.1. Chemical structures of the dyes (a) Congo Red, (b) Allura Red and (c) Ponceau 4R. -----	108
Figure 4.2. Adsorption isotherms of red dyes on the MWCNT surface, at 25.0 °C and pH _i = 6.0. -----	115

Figure 4.3. Adsorption isotherms of red dyes on the AC surface, at 25.0 °C and $\text{pH}_i = 6.0$. -----	117
Figure 4.4. Effect of the initial pH on the adsorption of red dyes on MWCNT and AC, at 25.0 °C: (a) CR, (b) AR and (c) PR. The dye concentration was fixed at 200 mg L ⁻¹ for PR and AR in both adsorbents and 100 and 200 mg L ⁻¹ for CR in AC and MWCNT, respectively. -----	120
Figure 4.5. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of AR on MWCNT, at 25.0 °C and $\text{pH}_i = 6.0$. -----	127
Figure 4.6. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of (a) CR and (b) PR on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0. -----	130
Figure 4.7. Effect of adsorbent structure on the (a) $\Delta_{ads}G_{ref}$, (b) $\Delta_{ads}H$, and (c) $T\Delta_{ads}S_{ref}$ for CR adsorption, at 25.0 °C and pH 6.0. -----	133
Figure B.S1. ΔpH versus pH_i curves for the determination of the point of zero charge of the MWCNT and AC adsorbents by the solid addition method. -----	147
Figure B.S2. Adsorption enthalpy change versus Γ_D curves for adsorption of red dyes on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0. -----	147
Figure B.S3. Adsorption entropy change versus Γ_D curves for adsorption of red dyes on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0. -----	148
Figure B.S4. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of (a) AR, (b) CR, and (c) PR on AC, at 25.0 °C and pH 6.0. -----	149
Figure B.S5. Integral adsorption enthalpy change versus Γ_D curves, at 25.0 °C and pH 6.0. For each system, the different curves correspond to the repetition of the experiment. Correlation coefficients are also showed. -----	150

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. CNTs como adsorventes para corantes. -----	19
Tabela 3.1. Valores de quantidade adsorvida de BSA sobre diferentes superfícies sólidas. -----	64
Tabela 3.2. Potencial zeta de SWCNTs funcionalizados em diferentes valores de pH, a 25 °C. -----	71
Tabela 3.3. Constantes de Langmuir e de Freundlich para adsorção de BSA em CNTs em diferentes valores de pH e força iônica, a 25 °C. -----	72
Tabela 3.4. Valores de variação de entalpia de adsorção de BSA em CNTs, em condição de diluição infinita, para diferentes valores de pH, a 25 °C. -----	90
Table 4.1. Isotherm Parameters for Adsorption of Red Dyes on MWCNT and AC, at 25.0 °C and pH _i = 6.0.-----	124
Table 4.2. Adsorption Thermodynamic Parameters for Infinite Dilution Condition of Red Dyes on AC and MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0.-----	134
Tabela A.S1. Valores de RMSE obtidos para os ajustes de Langmuir e Freundlich em relação as isothermas de adsorção de BSA em diferentes condições termodinâmicas. -	146

RESUMO

FERREIRA, Guilherme Max Dias, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2016. **Estudo da adsorção de moléculas-modelo sobre a superfície de nanotubos de carbono: uma abordagem termodinâmica.** Orientador: Luis Henrique Mendes da Silva. Coorientadora: Maria do Carmo Hespanhol da Silva.

Nanotubos de carbono (CNTs) têm sido estudados nos últimos anos devido às suas propriedades químicas, físicas e eletrônicas únicas. Estas nanoestruturas podem interagir com várias moléculas, como proteínas e corantes, para formar novos materiais com aplicações diversas. Por exemplo, nanoestruturas híbridas contendo CNTs têm sido utilizadas como adsorventes eficientes, transportadores de fármacos específicos ou para o desenvolvimento de células a combustível e sensores eletroquímicos. Consequentemente, compreender as interações CNT-proteínas e CNT-corantes é importante para modular as propriedades destes materiais. Diversos trabalhos têm estudado estas interações, entretanto os aspectos termodinâmicos associados a elas permanecem escassos. Assim, neste trabalho avaliou-se a termodinâmica da interação entre nanotubos de carbono e diferentes moléculas, combinando dados de isotermas de adsorção e de titulação microcalorimétrica isotérmica. O estudo foi dividido em dois artigos: no primeiro, avaliou-se o fenômeno de adsorção da proteína albumina do soro bovino (BSA) sobre a superfície de nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT) e de paredes múltiplas (MWCNT), bem como o efeito de cosolutos sobre esse processo. No segundo, descreveu-se a termodinâmica da interação entre os azocorantes vermelho ponceau (PR), vermelho do congo (CR) e vermelho 40 (AR) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs). A interação entre os azocorantes e a superfície de carvão ativado (AC) também foi avaliada para comparação. Acerca da interação entre a proteína BSA e a superfície dos nanotubos de carbono, o processo de adsorção dependeu das propriedades superficiais do CNT, do pH e da força iônica do meio, sendo que maiores capacidades de adsorção foram observadas em valor de pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína. Para todos os sistemas estudados os valores de ΔH_{ads} em condição de diluição infinita foram muito negativos ($\Delta H_{ads}^{\infty} < -918,6 \text{ kJ mol}^{-1}$). Este resultado indica que os CNTs são capazes de induzir variações conformacionais na BSA durante o processo de adsorção, as quais estabilizam a proteína sobre a superfície hidrofóbica do nanomaterial. O efeito de íons da série de Hofmeister foi avaliado sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT, sendo este efeito dependente da natureza dos íons.

Quanto à interação CNT-azocorante, os dados de isotermas de adsorção foram bem ajustados ao modelo de Freundlich. Uma abordagem termodinâmica forneceu toda a caracterização do processo de adsorção para diferentes coberturas superficiais do adsorvente. Para ambos MWCNT e AC, a quantidade de corante adsorvida (Γ_D) aumentou na ordem Γ_D (PR) < Γ_D (AR) < Γ_D (CR) e a adsorção normalizada pela área superficial específica do adsorvente foi maior para o MWCNT. A quantidade máxima adsorvida ($\Gamma_{D,máx}$) atingiu valores de até 2,00 $\mu\text{mol m}^{-2}$ para a adsorção de CR em MWCNT. O processo de adsorção dos corantes foi entalpicamente dirigido e entropicamente desfavorável para ambos os adsorventes. Os valores de variação de entalpia de adsorção (ΔH_{ads}) determinados por ITC foram superiores a -137,0 kJ mol⁻¹ e dependeram da cobertura superficial do adsorvente e das estruturas dos corantes e dos adsorventes. Os dados de ΔH_{ads} em função da quantidade de corante adsorvida sugeriram que os sítios de adsorção sobre MWCNT e AC são heterogêneos.

ABSTRACT

FERREIRA, Guilherme Max Dias, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2016. **Adsorption study of model molecules on the carbon nanotubes surface: A thermodynamic approach.** Adviser: Luis Henrique Mendes da Silva. Co-Adviser: Maria do Carmo Hespanhol da Silva.

Carbon nanotubes (CNTs) have been studied in the last years due to their unique chemical, physical, and electronic properties. These nanostructures can interact with several molecules, such as proteins and dyes, to form new materials with amazing applications. For instance, hybrid nanostructures containing CNTs have been used as powerful adsorbents, specific drug carriers or in the development of fuel cells and electrochemical sensors. Consequently, understanding the CNT-protein and CNT-dye interactions is very important to modulate the properties of these nanostructures. Several papers have studied these interactions, but the thermodynamic aspects associated with them remain scarce. Then, in this work, we evaluated the thermodynamics of the interaction between carbon nanotubes and different molecules combining adsorption isotherms and isothermal titration microcalorimetry data. Our study was divided in two papers: In the first one, we evaluated the adsorption phenomenon of the protein bovine serum albumin (BSA) on the surfaces of single-walled (SWCNT) and multi-walled (MWCNT) carbon nanotubes. In the second one, we described the thermodynamics of the interaction between the Ponceau Red (PR), Congo Red (CR) and Allura Red (AR) azo-dyes and multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs). Activated carbon (AC)-dye interaction has been also evaluated for comparison. On the interaction between the BSA and the CNT surface, the adsorption process depended on the surface properties, pH and ionic strength. Higher adsorption capacities were observed at pH around the isoelectric point of the protein. For all studied systems the $\Delta_{ads}H$ values at infinite dilution condition were very negative ($\Delta H_{ads}^{\infty} < -918.6 \text{ kJ mol}^{-1}$). This finding has led us to propose that the CNTs are capable of inducing conformational changes in BSA for the adsorption process, stabilizing the protein on the hydrophobic surface of the nanomaterial. The effect of ions of the Hofmeister series was evaluated on the BSA adsorption in MWCNT, and this effect was dependent on the nature of the ion evaluated. Regarding the CNT-(azo-dye) interaction, isotherm adsorption data were well fitted to the Freundlich model. A thermodynamic approach provided the entire characterization of the adsorption process as a function of the surface coverage. For both MWCNT and AC, the amount of adsorbed

dye (Γ_D) increased in the order Γ_D (PR) < Γ_D (AR) < Γ_D (CR) and the adsorption capacity normalized by adsorbent specific area was higher for MWCNT. The maximum adsorbed amount ($\Gamma_{D,max}$) attained values up to 2.00 $\mu\text{mol m}^{-2}$ for CR adsorption on MWCNT. The adsorption process of the dyes was enthalpically driven and entropically unfavorable for both adsorbents. The values of adsorption enthalpy change ($\Delta_{ads}H$) determined by ITC were higher than -137.0 KJ mol⁻¹ and they depended on the surface coverage and structures of both dye and adsorbent. ITC data suggested that adsorption sites on MWCNT and AC are heterogeneous.

CAPÍTULO 1:

Introdução e Fundamentação Teórica

1.1. Introdução

O advento da nanociência e da nanotecnologia a partir das últimas décadas do século XX tem instigado cada vez mais os pesquisadores no desenvolvimento de novos materiais que possam ser aplicados aos mais variados campos da ciência e da indústria e que ofereçam benefícios para melhoria da qualidade de vida dos seres humanos.¹⁻³ Dentro dessa classe de materiais, agora denominados nanomateriais, os nanotubos de carbono (CNTs) têm recebido destaque desde o trabalho publicado por Sumio Iijima,⁴ em 1991, relatando a existência desta nova forma alotrópica de carbono. Esse grande interesse nestas nanoestruturas de carbono resulta de suas propriedades apreciáveis, dentre as quais se podem destacar sua elevada condutividade térmica e elétrica e excelente estabilidade térmica e química, que as tornam aplicáveis no desenvolvimento de sensores, suportes para catalisadores, baterias, nanobalanças de alta sensibilidade, dentre vários outros dispositivos.⁵

A fim de estender as aplicações dos CNTs para as mais diversas áreas do conhecimento e melhorar o seu desempenho nos campos em que ele já é empregado, estas estruturas de carbono têm sido combinadas com outras moléculas para a obtenção de estruturas híbridas com propriedades químicas e físicas desejáveis. Por exemplo, estes híbridos podem ser utilizados para o desenvolvimento de nanossensores altamente específicos e com alta sensibilidade.^{6,7}

Nesse sentido, desde o final do século passado, a partir dos trabalhos pioneiros de Mickelson et al.^{8,9} que incorporaram átomos de flúor ligados covalentemente à estrutura de CNTs, grande importância tem sido dada à funcionalização desses nanomateriais por

diferentes moléculas ou grupos funcionais específicos. Dentre as moléculas utilizadas para funcionalização dos CNTs destacam-se proteínas,¹⁰ ácidos nucleicos,¹¹ polímeros,^{12,13} porfirinas^{14,15} e corantes,¹⁶ as quais podem resultar no desenvolvimento de materiais híbridos com potencial aplicação em células solares,¹⁷ biossensores,^{18,19} e carreadores de fármacos²⁰, ou para o desenvolvimento de tecnologias de dispersão de CNTs em meios aquosos.^{21,22}

Além de seu uso na elaboração de nanomateriais híbridos com aplicações específicas, os CNTs têm chamado atenção pela sua potencial aplicação ambiental para remoção de contaminantes em resíduos aquosos por meio do método de adsorção.²³ Na busca por novos adsorventes que sejam mais eficientes e que possuam menor inconveniência de separação, diversos trabalhos têm mostrado que CNTs têm aplicação promissora para a remoção de diversos tipos de poluentes de resíduos aquosos, tais como metais,²⁴ proteínas,²⁵ corantes,²⁶ e compostos orgânicos²⁷. Esse potencial surge da grande área superficial específica (entre 50 e 1315 m² g⁻¹) dessas estruturas e da forte interação existente entre a superfície dos CNTs e as espécies poluentes de interesse.²⁸

Em meio a todas estas possibilidades vislumbradas para a utilização dos CNTs, já chegamos à era em que estas nanoestruturas apresentam grande impacto no campo da nanotecnologia, sendo produzidas em escala industrial.^{29,30} Entretanto, alcançar altos níveis de produção requer não apenas o desenvolvimento de uma metodologia eficiente, barata e segura de síntese de CNTs, mas, sobretudo, uma compreensão completa sobre os impactos causados por esses materiais em sistemas biológicos como resultado do seu descarte no meio ambiente.³¹

Consequentemente, seja pelo avanço na área do desenvolvimento de materiais constituídos por híbridos contendo CNTs, pela potencial aplicação de CNTs como adsorventes para remoção de poluentes, ou pelos efeitos toxicológicos que essas

nanoestruturas de carbono podem provocar nos organismos vivos, compreender a interação entre estas nanoestruturas de carbono e moléculas diversas constitui um campo de pesquisa amplo e que se encontra em crescimento. Entretanto, devido ao número diversificado de estruturas moleculares que podem ser combinadas com diferentes superfícies de nanotubos de carbono, os desafios envolvidos na compreensão dos mecanismos envolvidos na interação dessas nanoestruturas com certas moléculas são muitos e estudos ainda são necessários, sobretudo no que se refere à termodinâmica envolvida.

Deste modo, visando a contribuir com a compreensão das interações que ocorrem entre a superfície dos CNTs e diferentes substâncias, este trabalho investigou o processo de interação de CNTs com diferentes moléculas-modelo, avaliando as forças motrizes envolvidas. Um estudo termodinâmico da adsorção destas moléculas sobre a superfície de nanotubos de carbono foi realizado a partir da obtenção de isotermas de adsorção e de estudos calorimétricos. Para o estudo foram escolhidos a proteína albumina do soro bovino (BSA) e os corantes vermelho 40, vermelho ponceau e vermelho do congo.

1.2. Revisão de literatura

1.2.1. Nanotubos de carbono: estrutura e propriedades

É fascinante como um mesmo elemento químico pode se combinar de diferentes maneiras para formar substâncias simples contendo estruturas e propriedades físicas e químicas tão distintas entre si. Essa propriedade designada de alotropia ocorre para diversos elementos, dos quais o carbono se destaca devido a sua capacidade de formar diferentes tipos de ligações químicas. As variedades alotrópicas deste elemento vão desde o grafite, uma das estruturas mais estáveis de carbono, até o diamante, a mais bela dentre elas, ambas conhecidas desde a antiguidade. Porém, o descobrimento de novas formas alotrópicas deste elemento não parou de surpreender a comunidade científica. Em menos de três décadas fulerenos³², grafeno³³ e nanotubos de carbono⁴ passaram a fazer parte desta lista, sendo estes últimos de maior interesse neste trabalho.

Desde sua descoberta por Oberlin et al.³⁴ e redescoberta por Sumio Iijima, os CNTs representam o ápice do desenvolvimento de sistemas moleculares na nanociência e nanotecnologia, envolvendo diversas áreas da ciência como a física, química, biologia, ciência dos materiais e farmacologia. Os CNTs são estruturas tubulares constituídas essencialmente por átomos de carbono com hibridização sp^2 distribuídos em uma rede hexagonal. Estruturalmente, os CNTs são classificados em nanotubos de paredes múltiplas (MWCNTs) e de parede simples (SWCNTs) (figura 1.1). Um SWCNT pode ser imaginado como uma folha de grafeno enrolada sobre si mesma para gerar um tubo cilíndrico com diâmetro da ordem de alguns nanômetros (0,75-3 nm) e comprimento que pode atingir a magnitude de alguns micrômetros (1-50 μm). Uma folha de grafeno, por sua vez, consiste de uma estrutura bidimensional formada por uma rede hexagonal de átomos de carbono hibridizados sp^2 . Os MWCNTs compreendem um conjunto de SWCNTs concêntricos formando camadas que contêm espaçamento da ordem de 0,34 a

0,36 nm, podendo conter de duas até dezenas dessas camadas. O diâmetro médio de um MWCNT pode variar entre 2 e 30 nm e em casos extremos alcançar valores da ordem de 100 nm.³⁵

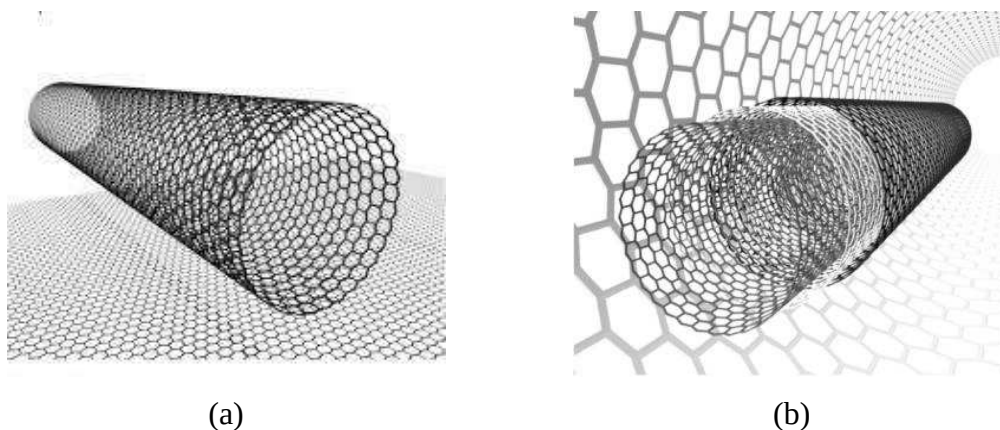


Figura 1.1. Estrutura de nanotubos de carbono de **(a)** parede simples e **(b)** de paredes múltiplas.³⁶

Os nanotubos de carbono apresentam diferentes estruturas atômicas descritas por suas diferentes quiralidades: armchair, zigzag ou chiral.^{7,35} A quiralidade do CNT é expressa por um vetor quiral ($\vec{C}$) definido como o vetor de comprimento equivalente ao comprimento da circunferência do nanotubo e cuja direção coincide com aquela do dobramento de uma folha de grafeno que levaria à obtenção do tubo em questão, caso fosse possível obter o CNT pelo enrolamento daquela folha. Um esquema dos parâmetros de quiralidade do CNT é mostrado na figura 1.2.

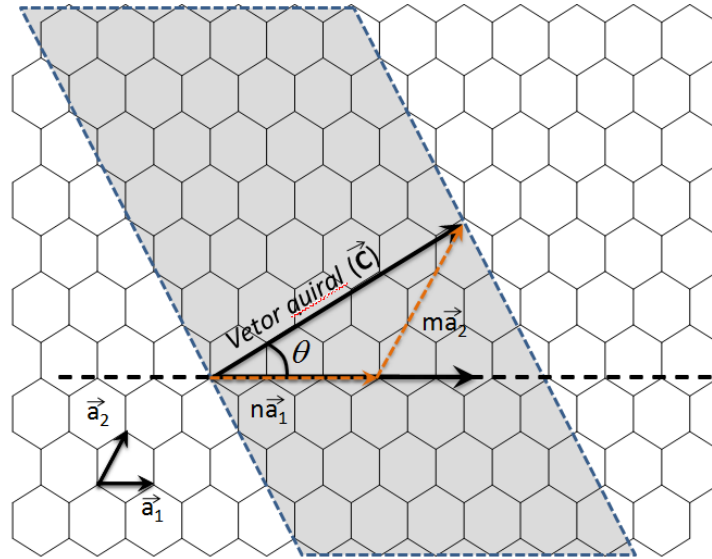


Figura 1.2. Diagrama esquemático mostrando como uma folha de grafeno poderia ser enrolada sobre si mesma para obter CNTs de diferentes quiralidades e diâmetros.

O vetor quiral pode ser expresso em função dos vetores unitários $\vec{a}_1$ e $\vec{a}_2$ e das coordenadas n e m da rede hexagonal do plano da folha de grafeno (equação 1.1) e sua direção pode ser dada em termos do ângulo quiral θ expresso em relação a uma direção arbitrária, como mostrado na figura 1.2. O ângulo quiral pode variar entre os ângulos limites de 0 e 30°, que definem, respectivamente, a estrutura zigzag e armchair. Ângulos intermediários definem a estrutura chiral.

$$\vec{C} = n\vec{a}_1 + m\vec{a}_2 \quad (1.1)$$

Os diferentes arranjos de átomos de carbono nos tubos, bem como suas diferentes morfologias (diâmetro, comprimento e número de camadas), determinam as propriedades elétricas, térmicas e mecânicas destes nanomateriais. Por exemplo, CNTs com característica metálica, semicondutora ou supercondutora estão associados a nanotubos que se diferenciam entre si no ângulo quiral e/ou nos diâmetros dos tubos.^{37,38} As propriedades individuais dos nanotubos de carbono já são bastante conhecidas e bem

fundamentadas, a destacar sua ótima condutividade térmica e elétrica, elevada resistência mecânica e alta flexibilidade.⁵ Tais propriedades, juntamente com diversas aplicações dos CNTs, podem ser encontradas em diversos artigos de revisão.^{5,6,35,37,39}

1.2.2. Funcionalização de nanotubos de carbono

Após o sucesso inicial na obtenção dos CNTs e posterior compreensão e aplicação das suas propriedades químicas e físicas ocorridas na primeira e segunda décadas posteriores aos trabalhos de Iijima, a funcionalização racional dos CNTs tem recebido atenção na comunidade científica. A funcionalização dos CNTs consiste na modificação da estrutura química dessas nanoestruturas pela introdução de grupos funcionais ou moléculas sobre a superfície dos tubos por meio de interações covalentes ou não covalentes a fim de promover o melhoramento ou a observação de novas propriedades nestes nanomateriais. Dessa forma, a funcionalização é uma ferramenta que permite que a aplicação dos CNTs seja estendida aos mais variados campos da ciência e tecnologia.⁴⁰

Nesse sentido, o conhecimento de metodologias de funcionalização de nanotubos de carbono é um pré-requisito para a obtenção de novos materiais de interesse. Basicamente a modificação química da superfície dos CNTs, sejam de parede simples ou de paredes múltiplas, tem sido conduzida por três formas distintas: i) dopagem com diferentes elementos químicos durante o processo de obtenção do nanotubo;⁴¹ ii) inserção covalente de substituintes sobre a superfície oxidada dos nanotubos⁴² ou iii) adsorção direta de moléculas específicas sobre a superfície do nanomaterial.^{43,44}

Dentre essas metodologias, a funcionalização por meio do processo de adsorção é extremamente versátil devido à grande variedade de moléculas dentre polímeros, ácidos nucleicos, proteínas, íons metálicos, surfactantes e corantes que podem ser combinadas com os CNTs conferindo-lhes novas propriedades e consequentemente novas aplicações.^{21,45} Mais especificamente, a adsorção física de moléculas sobre a superfície

de CNTs apresenta algumas vantagens que merecem destaque: quando uma molécula se adsorve de forma não covalente sobre a superfície do nanotubo de carbono, a estrutura do mesmo é preservada e suas propriedades eletrônicas e mecânicas são mantidas, sendo que em muitos casos o processo de adsorção é irreversível. Além disso, trata-se de uma metodologia de baixo custo e de fácil realização.⁴⁶

Para se ter uma ideia de como a funcionalização não covalente de CNTs pode trazer inúmeras aplicações, Chen et al.⁴³ propuseram a utilização de SWCNTs funcionalizados com moléculas contendo grupos de óxido de etileno, tal como o surfactante não iônico Tween 20 e o copolímero tribloco P103 (que se adsorvem de forma espontânea e irreversível sobre a superfície de CNTs), para reconhecimento seletivo de proteínas-alvo em solução aquosa. Os autores propõem que os híbridos obtidos são promissores para o desenvolvimento de sensores para detecção de biomoléculas clinicamente importantes, tais como anticorpos associados a doenças auto-imunes. Nakayama-Ratchford et al.,⁴⁷ por sua vez, relataram a funcionalização não covalente de SWCNTs por fluoresceína-polietileno-glicol como resultado da forte interação desta molécula com a superfície dos nanotubos de carbono. A funcionalização conferiu ao nanotubo aumento de sua solubilidade e, simultaneamente, proporcionou sua utilização como marcador fluorescente para nanotubos com propriedades óticas que são dependentes do pH. Os resultados obtidos são importantes para a química supramolecular de nanomateriais e para potenciais aplicações, como por exemplo, no sensoriamento de pH. Mais recentemente, Choi et al.⁴⁸ utilizaram métodos não covalentes para intermediar a funcionalização de MWCNTs com o nylon 66 e melhorar as características do compósito. Para isso, o derivado de pireno ácido 1-pirenobutírico (PBC) foi adsorvido sobre o nanotubo de carbono por meio das interações de empilhamento π - π entre os anéis aromáticos presentes nas duas estruturas. Posteriormente, o nylon 66 foi ligado ao grupo

acila do PBC por condensação com os grupos aminos terminais do polímero. A presença do PBC aumentou a resistência mecânica do compósito obtido, mostrando uma melhora na adesão interfacial do nylon sobre a superfície dos tubos quando comparada aos compósitos obtidos na ausência do derivado de pireno, ou mesmo com derivados de pireno que não se ligavam covalentemente ao nylon.

A funcionalização de CNTs também surge com o objetivo de aumentar a estabilidade de sua dispersão em solventes polares, o que é um requisito para várias das aplicações envolvendo estes nanomateriais, pois para muitas delas é preciso que os tubos estejam individualmente dispersos no solvente de forma estável. Essa necessidade da funcionalização é porque os nanotubos de carbono brutos apresentam a característica de se aglomerarem em solventes de alta polaridade devido às fortes interações de van der Walls e interações hidrofóbicas entre os tubos.⁴⁹

Dentre as diversas classes de moléculas utilizadas na funcionalização não covalente de CNTs, dois tipos em particular chamaram nossa atenção: corantes e proteínas. Os primeiros porque existem com uma vasta gama de estruturas, algumas não tão complexas, que podem ser utilizadas na compreensão do mecanismo de interação entre CNTs e grupos funcionais específicos. As proteínas, em vista de sua complexidade e da carência de trabalhos com um olhar termodinâmico sobre sua adsorção em CNTs.

A seguir faz-se uma breve revisão sobre a funcionalização não covalente de CNTs por proteínas e corantes, cujo estudo é o foco deste trabalho. Em destaque está a importância da compreensão da interação entre estas moléculas funcionalizantes e as nanoestruturas de carbono, apontando-se as pesquisas recentes na área.

1.2.2.1.CNTs e proteínas

O processo de adsorção de proteínas sobre superfícies sólidas é de grande importância para uma variedade de áreas da ciência, tais como biologia, química, biotecnologia, medicina e processamento de alimentos, pois ele pode definir a aplicação e o desempenho dos sistemas de interesse. No que se refere a CNTs, a adsorção de proteínas desempenha papel igualmente importante devido à capacidade de essas biomoléculas interagirem com nanotubos, conferindo-lhes funções biológicas e/ou analíticas específicas que permitem, por exemplo, o desenvolvimento de biossensores com diferentes aplicações.

Li et al.⁵⁰ desenvolveram um biossensor amperométrico para aflotoxina B1 utilizando a imobilização da enzima aflatoxina-oxidase em nanotubos de carbono de paredes múltiplas. No mesmo contexto, Boero et al.⁵¹ propuseram o desenvolvimento de um biossensor baseado na adsorção de enzimas sobre CNTs de paredes múltiplas para monitorar diferentes metabólitos, tais como glicose e lactato, em meio de cultura de células neurais. Vilian et al.⁵² reportaram o desenvolvimento de um biossensor obtido pela adsorção de catalase sobre a superfície de eletrodos de MWCNTs modificados com lisina. O biossensor foi utilizado para determinação de peróxido de hidrogênio e iodato em amostras reais de desinfetantes e leite. Mais recentemente, valendo-se das propriedades de transferência direta de elétrons do citocromo c e de sua atividade peroxidase, Eguílaz et al.⁵³ também propuseram um biossensor baseado na imobilização não covalente daquela proteína sobre MWCNTs para determinação analítica de peróxido de hidrogênio. O sensor apresentou bom desempenho para determinação do analito em amostras de enxaguante bucal e leite, alcançando para algumas amostras valores de 98% a 100% de recuperação com desvios padrões relativos inferiores a 3%.

Além do desenvolvimento de biossensores, CNTs funcionalizados com proteínas podem ter aplicação no desenho de carreadores para transporte e liberação controlada de drogas, dispositivos para identificação de tumores, dispositivos microeletrônicos e biocatalisadores.⁵⁴ Entretanto, para muitas dessas aplicações tecnológicas é importante que a biomolécula adsorvida mantenha sua atividade e função biológica tão próximas quanto possível daquelas de sua forma nativa.^{55,56} Isso tem se tornado um dos grandes desafios nesta área, pois a imobilização de proteínas sobre a superfície dos CNTs, em geral, é acompanhada por alterações nas estruturas das mesmas. Essas alterações têm sido relatadas, por exemplo, para a adsorção de proteínas em várias superfícies hidrofóbicas.⁵⁷⁻⁵⁹ Em virtude disso, diversas metodologias de imobilização de proteínas em CNTs têm sido descritas na literatura.⁵⁵ Por exemplo, a adsorção não covalente foi utilizada para imobilização da proteína lipase de *Candida rugosa* em MWCNTs não modificados e a atividade da enzima adsorvida foi avaliada em diferentes condições de força iônica. A atividade nativa da proteína foi mantida durante o processo de adsorção, sendo mais pronunciada em menores concentrações de proteína e em maior força iônica. Os autores sugeriram que a interação hidrofóbica entre a proteína e a superfície do CNT ativou a lipase durante o processo de imobilização, ainda que espectros de infravermelho tenham mostrado que a estrutura secundária da enzima tenha sido alterada durante a adsorção.⁵⁶

Independente do sucesso das metodologias de imobilização de proteínas em CNTs, a capacidade de os CNTs poderem induzir mudanças conformacionais em proteínas e/ou perda de sua função biológica acaba por gerar uma preocupação crescente no que se refere à contaminação de organismos vivos por estes nanomateriais. Esta preocupação acentua-se devido a dois eventos convergentes: (i) a ampla aplicação de nanotubos de carbono em diferentes produtos tecnológicos, com a promessa de melhora na qualidade de vida das pessoas, irá requerer (e já requer) a produção de CNTs em

grande escala, culminando no descarte dessas nanoestruturas no meio ambiente e (ii) a adsorção de proteínas é considerada o primeiro evento que ocorre quando uma superfície sólida entra em contato com um biofluido, como é o caso do sangue.⁶⁰ Assim, o conhecimento acerca das interações entre proteínas presentes em fluidos biológicos e nanotubos de carbono também torna-se estratégico para o campo das pesquisas biológicas.

É nesse contexto que surge a nanotoxicologia, ciência que, dentre outros aspectos, visa a compreender como diferentes nanoestruturas, tais como CNTs, interagem com proteínas em sistemas biológicos.⁶¹ Nesse campo, alguns estudos têm demonstrado que a interação CNT-proteína apresenta um aspecto biológico maléfico sobre os organismos vivos. Por exemplo, Salvador-Morales et al.⁶² mostraram que CNTs podem se ligar a proteínas-surfactantes dos pulmões de ratos levando a infecção pulmonar e enfisema. Zhang et al.⁶³ perceberam que quando a enzima α -quimotripsina adsorve-se sobre MWCNTs funcionalizados com ligantes orgânicos contendo diferentes estruturas, sua atividade é completamente inibida. Trabalhos como estes mostram que a toxicidade e a biocompatibilidade de CNTs têm de ser bem conhecidas para que a perspectiva da aplicação destes nanomateriais em campos da biomedicina se concretize.

Em vista do que foi exposto, conhecer as características de adsorção de proteínas em CNTs faz-se necessário tanto para aplicação tecnológica deste nanomaterial quanto para a compreensão do efeito de CNTs em ambientes biológicos. Dentre essas características destacam-se (i) a quantidade de proteína adsorvida sobre a superfície do CNT; (ii) a seletividade da superfície do material para adsorção da biomolécula; (iii) a termodinâmica envolvida no processo de adsorção e (iv) a orientação e conformação da macromolécula adsorvida sobre a superfície do adsorvente. Por exemplo, para o desenho de materiais biocompatíveis necessita-se que a adsorção de certas proteínas, como

fibrinogênio, seja suprimida para evitar a aglutinação do sangue; para o desenvolvimento de microcarreadores para transporte e liberação de drogas é preciso conhecer as interações envolvidas entre as biomoléculas e a superfície do suporte.⁵⁷

Esse conjunto de características associado à adsorção de proteínas em CNTs depende tanto da natureza da proteína e do adsorvente quanto das propriedades físico-químicas do meio em que o processo de adsorção ocorre, o que, somado à complexidade estrutural da biomolécula, torna o entendimento da interação entre proteínas e CNTs bastante desafiador. Portanto, estudar o processo de adsorção de proteínas em diferentes sistemas é muito importante para compreensão do mesmo.

Trabalhos recentes têm reportado o estudo da adsorção de diferentes proteínas sobre a superfície de nanotubos de carbono avaliando a capacidade de adsorção dos CNTs, as interações envolvidas, bem como as modificações estruturais ocorridas nas biomoléculas como resultado deste processo. Esses estudos têm sido conduzidos por diferentes técnicas, tais como espectroscopia de fluorescência, dicroísmo circular, potencial zeta, eletroforese capilar, dentre outras.

Bomboi et al.⁶⁴ avaliaram a interação entre lisozima e SWCNTs por meio de dicroísmo circular, mobilidade eletroforética e espectroscopia dielétrica. A mobilidade eletroforética (μ) do complexo lisozima-SWCNT aumentou com o aumento da concentração de lisozima até um valor máximo (razão mássica proteína/SWCNT = 2,5) indicando a saturação da superfície do nanotubo. A partir desse valor, a mobilidade eletroforética diminuiu. O aumento de μ foi atribuído à adsorção da lisozima carregada sobre as paredes dos nanotubos, aumentando a carga superficial do complexo lisozima-SWCNT e consequentemente elevando a estabilização da suspensão contendo o complexo. Por outro lado, a diminuição nos valores de μ foi atribuída ao processo de depleção da proteína que levou à progressiva agregação do SWCNT. Medidas de

dicroísmo circular mostraram que a lisozima adsorvida sobre a superfície dos tubos manteve sua conformação nativa. Apesar disso, a quantidade de proteína livre em equilíbrio com a proteína adsorvida impediu a obtenção de resultados mais conclusivos por meio das técnicas utilizadas.

Valenti et al.⁶⁵ avaliaram o processo de adsorção e dessorção da proteína BSA sobre SWCNTs suportados em superfície de sílica utilizando a técnica de reflectometria. Os resultados foram comparados com a adsorção da proteína sobre superfície de sílica. De imediato demonstrou-se que a BSA adsorveu-se sobre a superfície do nanotubo ao passo que o processo de dessorção não foi verificado quando a solução de proteína foi diluída com o solvente, indicando que o processo de adsorção foi irreversível. Quando uma solução do surfactante dodecilsulfato de sódio foi colada em fluxo sobre a superfície do adsorvente contendo a proteína, o processo de dessorção ocorreu para a superfície de sílica, mas não para a superfície contendo nanotubos de carbono, mostrando que a interação BSA-SWCNT é mais intensa que a interação BSA-sílica. A quantidade de proteína máxima adsorvida foi maior para a superfície contendo o SWCNT em todos os valores de pH estudados, sendo que em pH 4,8, igual ao ponto isoelétrico da proteína, houve maior capacidade de adsorção do adsorvente. Esse resultado, associado a não dependência dos valores de quantidade adsorvida com a variação da força iônica, refletiu a estrutura compacta da proteína e a ausência de interações eletrostáticas laterais entre as moléculas de BSA na superfície do adsorvente nesse pH. Em valores de pH 3 e 7 os valores de quantidade adsorvida foram menores devido à repulsão eletrostática entre as moléculas de proteína sobre a superfície do adsorvente, especialmente em pH igual a 3, em que a proteína encontra-se numa conformação mais expandida. Apesar disso, mesmo sob condições eletrostáticas desfavoráveis, interações hidrofóbicas promoveram a adsorção da proteína.

Técnicas espectroscópicas como espectrometria de fluorescência e dicroísmo circular também têm sido bastante exploradas como ferramentas para elucidar a biocompatibilidade entre proteínas e a superfície de CNTs. Utilizando tais técnicas, Li et al. avaliaram recentemente a interação entre a proteína BSA e SWCNTs contendo diferentes grupos funcionais em sua superfície. Em 2013⁶⁶ os autores demonstraram que SWCNTs contendo grupos carboxílicos em sua superfície atuam como agentes quenching estáticos para a BSA, diminuindo a intensidade de fluorescência da proteína sem alterar os valores de comprimento de onda de máxima emissão. Os autores atribuíram os resultados à formação de um complexo BSA-SWCNT que resulta na redução de 14% do conteúdo de α -hélice da proteína, de acordo com os resultados de dicroísmo circular. Dados termodinâmicos de interação BSA-SWCNT obtidos por meio da determinação de constantes de ligação em diferentes temperaturas (valores da ordem de 10^4 a 10^5 L mol⁻¹) e pela aplicação da equação de van't Hoff mostraram que o processo é regido tanto por interações eletrostáticas quanto hidrofóbicas, sendo a entalpia envolvida na formação do complexo BSA-SWCNT de 7,086 kJ mol⁻¹ e a variação de entropia de 35,98 J mol⁻¹ K⁻¹. Em 2014⁶⁷ os autores realizaram um trabalho semelhante utilizando SWCNTs amino-funcionalizados. Os resultados foram similares e os autores adicionalmente concluíram que a BSA se liga ao SWCNT por um único sítio de ligação. Ambos os trabalhos demonstraram que a natureza química da superfície de nanotubos de carbono de paredes simples pode modular a conformação da proteína BSA.

Guan et al.⁶⁸, avaliando o mecanismo de interação entre MWCNTs contendo grupos hidroxílicos em sua superfície (MWCNT-OH) e a proteína BSA por meio da espectroscopia de fluorescência, demonstraram que o MWCNT-OH também diminui a intensidade de fluorescência da BSA. Utilizando a equação de Stern-Volmer eles concluíram que o nanotubo liga-se à proteína por um único sítio de ligação. Utilizando

estudos de modelagem molecular, os autores sugeriram que o sítio de interação entre a proteína e o nanotubo ocorre próximo ao domínio II da BSA por interações hidrofóbicas entre o MWCNT-OH e resíduos de valina e fenilalanina da proteína e por meio de interações π - π e eletrostáticas entre resíduos de aminoácidos polares e a superfície do nanotubo. Medidas de dicroísmo circular mostraram que o nanotubo desdobra o esqueleto da proteína, enfraquecendo a estabilidade estrutural da BSA e aumentando sua taxa de fibrilação.

Guan et al.⁶⁹ investigaram a interação entre MWCNTs e a proteína catalase utilizando espectroscopia de fluorescência, espectroscopia de absorção molecular UV-vis e dicroísmo circular. A presença do MWCNT aumentou a intensidade de fluorescência, levando a um leve deslocamento do comprimento de onda de emissão máximo para a região do azul, indicando que a estrutura tridimensional da catalase é afetada pela presença do nanotubo e que os resíduos de triptofano são expostos para ambientes mais hidrofóbicos. O aumento da intensidade de absorção molecular da proteína no comprimento de onda de 280 nm indicou um aumento da hidrofobicidade do microambiente dos resíduos de aminoácido, concordando com os resultados de fluorescência. O aumento da absorbância no comprimento de onda de 405 nm indicou mudança da conformação dos anéis porfirínicos da enzima. Resultados de dicroísmo circular mostraram uma diminuição no conteúdo de estrutura de α -hélice da proteína levando a uma maior exposição de resíduos de triptofano em regiões mais hidrofóbicas. A interação do MWCNT com a enzima reduziu a atividade da mesma, o que os autores atribuíram a uma alteração do microambiente do sítio ativo da enzima.

Apesar dos avanços no estudo das interações do tipo CNT-proteína, a maioria dos trabalhos não investiga detalhadamente a termodinâmica envolvida no processo de interação das proteínas com a superfície dos CNTs, sendo que quando o fazem,

parâmetros termodinâmicos de interação, como a variação de entalpia de adsorção, são obtidos de forma indireta utilizando a aproximação de van't Hoff. Mesmo para a proteína BSA, cuja interação com CNTs tem sido extensivamente avaliada, uma análise termodinâmica mais aprofundada não tem sido proposta. Tampouco estes trabalhos investigaram o efeito de cossolutos sobre o processo de adsorção das proteínas em CNTs.

1.2.2.2.CNTs e corantes

Assim como as proteínas, moléculas corantes têm sido utilizadas para funcionalização de nanotubos de carbono com a finalidade de desenvolver compósitos com aplicações específicas tais como sensores eletroquímicos¹⁶ e células solares.¹⁴ Por exemplo, Lee e Yoo,⁷⁰ empregando espectroscopia no infravermelho, apresentaram um estudo sobre as propriedades de adsorção do corante rutênio (II) sobre MWCNTs como um passo inicial para o desenvolvimento de células solares sensibilizadas por corantes. Esta proposta tem se consolidado no trabalho de De Filpo et al.¹⁷, que utilizaram SWCNTs funcionalizados com 1-hidroximetilpireno para a produção de células solares com alta eficiência.

Nesse mesmo contexto, Souza et al.⁷¹, realizando um estudo teórico sobre a adsorção de uma série de porfirinas em SWCNTs, demonstraram que nanoestruturas formadas pela interação entre estes dois compostos apresentam propriedades óticas não-lineares com aplicações promissoras na área da computação ótica. Yan et al.⁷² caracterizaram a adsorção do corante azul de metileno (AM) sobre nanotubos de carbono de paredes simples e identificaram por meio de técnicas eletroanalíticas a possibilidade de os nanocompósitos SWCNT-AM serem aplicados em nanodispositivos eletrônicos tais como biossensores e células fotovoltaicas.

Aplicações eletroanalíticas de nanocompósitos corante-nanotubo também foram relatadas por Lawrence e Wang¹⁶ que avaliaram a adsorção dos corantes azul de toluidina e azul C sobre a superfície de nanotubos de carbono para o desenvolvimento de eletrodos capazes de detectar NADH. Melhoras significativas foram observadas sobre a estabilidade e sensibilidade do sinal analítico exibido pelos eletrodos recobertos por CNT-corante em relação àqueles recobertos apenas por CNT e a outros eletrodos avaliados.

Paralelamente ao desenvolvimento de nanocompósitos CNT-corante, a utilização de CNTs como ferramentas ambientais para a remoção de corantes de corpos hídricos configura-se como outra importante área de pesquisa envolvendo a formação de agregados CNTs-corantes. Os corantes são importantes constituintes da indústria química onde são utilizados extensivamente como agentes colorantes em têxteis, fármacos, alimentos, couro e papel. Por outro lado, em sua maioria, são compostos tóxicos (principalmente os sintéticos) cujo descarte nos corpos hídricos constitui uma significativa fonte de poluição, tanto para a fauna quanto para a flora, tornando necessário o desenvolvimento de métodos eficientes para sua remoção a partir de efluentes industriais.⁷³

A despeito das numerosas tecnologias que são propostas para o tratamento de efluentes contendo corantes, a adsorção recebe destaque e diversos esforços são direcionados para a busca de novos adsorventes que sejam eficientes e de baixo custo, dentre os quais CNTs têm surgido como nova alternativa. A tabela 1.1 apresenta alguns trabalhos que têm obtido sucesso na investigação da adsorção de corantes em CNTs visando à utilização destas nanoestruturas de carbono como ferramentas ambientais para remoção daqueles contaminantes de corpos d'água.

Tabela 1.1. CNTs como adsorventes para corantes.

CNTs	Área superficial / $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	Corante adsorvido	Aplicação em efluentes (real ou simulado)	Referência
MWCNTs	106,9	Vermelho Procion MX-5B	Não	Wu ⁷⁴
MWCNTs	82,2	Amarelo direto 86 e Vermelho direto 224	Não	Kuo et al. ⁷⁵
CNTs	160	Azul de metileno	Não	Yao et al. ⁷⁶
MWCNTs	180,9	Vermelho reativo M-2BE	Sim	Machado et al. ⁷⁷
MWCNTs	180,9	Azul reativo 4	Sim	Machado et al. ⁷⁸
SWCNTs	397,66	Azul reativo 4	Sim	Machado et al. ⁷⁸
MWCNTs	217	Azul reativo 4 e Vermelho ácido 183	Não	Wang et al. ⁷⁹
MWCNTs	-	Azul direto 53	Sim	Prola et al. ²⁶

A aplicação promissora de CNTs como adsorvente resulta, sobretudo, da elevada área superficial específica desses nanomateriais e da capacidade de sua superfície hidrofóbica interagir favoravelmente com moléculas contendo grupos aromáticos, como é o caso de muitas moléculas corantes.⁸⁰ Adicionalmente, a possibilidade de inúmeras modificações estruturais (físicas ou químicas) sobre a superfície dos CNTs contribui positivamente para amplificar a capacidade de adsorção dos mesmos. Com esta perspectiva CNTs funcionalizados têm sido explorados como uma alternativa promissora na expectativa de tornar o processo de adsorção por essas estruturas de carbono mais

eficiente.²³ Por exemplo, Mishra et al.⁸¹ propuseram a utilização de MWCNTs funcionalizados por meio de tratamento ácido para remoção de azocorantes a partir de soluções aquosas. O tratamento ácido confere um caráter mais hidrofílico aos MWCNTs por introduzir em sua superfície grupos funcionais oxigenados (carboxílicos e hidroxílicos, principalmente), promovendo uma intensificação de interações eletrostáticas e de van der Waals entre os grupos polares dos corantes e os MWCNTs funcionalizados quando comparados aos MWCNTs não-funcionalizados. Com esta proposta os autores reportam porcentagens de remoção máxima de até 98,8 % para os corantes vermelho do congo, amarelo ouro MR e verde reativo HE4BD.

Chang et al.⁸² utilizaram MWCNTs funcionalizados com amido solúvel e óxido de ferro como adsorvente para remoção dos corantes alaranjado de metila e azul de metileno a partir de soluções aquosas. Além de apresentar boas capacidades de adsorção (135,6 e 93,7 mg g⁻¹ para alaranjado de metila e azul de metileno, respectivamente), as características magnéticas atribuídas à presença do óxido de ferro tornaram fácil a separação do adsorvente da solução aquosa. Estratégia semelhante foi utilizada por Salam et al.⁸³ que propuseram a síntese de um nanocompósito magnético formado por MWCNT, quitina e magnetita e que foi aplicado para a remoção do corante rosa bengala de soluções aquosas. O novo material mostrou-se eficiente para remoção do corante a partir de amostras reais, visto a elevada porcentagem de remoção máxima obtida (98,8%) e a capacidade do adsorvente em ser reciclado para uso em ciclos consecutivos sem perda na eficiência de remoção.

Da mesma forma como a manipulação das propriedades físicas e químicas dos CNTs altera a capacidade de adsorção de corantes, a natureza do adsorbato é um importante fator que determina a potencialidade do CNT como ferramenta ambiental. Segundo Liu et al.,⁸⁴ que avaliaram a funcionalização não covalente de MWCNTs por

uma série de moléculas corantes aromáticas com diferentes características estruturais, tanto a geometria molecular quanto a carga do corante desempenham papel fundamental na interação CNT-corante. Como consequência, as capacidades adsorptivas de CNTs frente a corantes podem variar numa ampla faixa. Em um artigo de revisão sobre a utilização de nanotubos de carbono para remoção de corantes a partir de soluções aquosas, Gupta et al.⁷³ agruparam as capacidades de adsorção de diferentes tipos de CNTs frente a uma ampla variedade de corantes e verificaram capacidades adsorptivas variando entre 0,33 e 9,11 mg m⁻², sendo, em algumas situações específicas, similares ou superiores à capacidade de adsorção de uma série de adsorventes clássicos, tais como carvão ativado, óxidos metálicos e minerais.⁸⁵

Em vista das diversas aplicações envolvendo CNTs e corantes, o entendimento da interação entre tais compostos é fundamental para a realização de estudos mais orientados. Uma alternativa adequada para este propósito é o estudo da termodinâmica de adsorção de corantes sobre CNTs.

1.2.3. Estudo de interação adsorvente-adsorvato em interfaces sólido-solução

Tem-se mostrado que a compreensão do processo de interação de moléculas diversas com a superfície de CNTs é essencial para o desenvolvimento de novas tecnologias baseadas nessas nanoestruturas. Uma forma eficiente de se fazer isto é a partir do estudo termodinâmico de adsorção, o qual pode ser feito pela obtenção conjunta de isotermas de adsorção e de valores de variação de entalpia de adsorção, como tem sido reportado por diversos trabalhos.^{86,87} Em conjunto, esses dados podem ajudar a explorar os mecanismos de adsorção de solutos sobre superfícies sólidas.

Dados de isotermas de adsorção podem ser facilmente obtidos pelo método de depleção no qual a quantidade de um soluto adsorvida é determinada com base na diminuição da concentração desse soluto em uma solução após esta entrar em contato

com um adsorvente. A isoterma de adsorção é a curva experimental que relaciona a quantidade de soluto adsorvida (Γ_i) com a concentração de soluto na solução (C_e) no equilíbrio termodinâmico. Os dados experimentais podem ser ajustados a diferentes modelos de adsorção que estão associados às características do processo de adsorção. Esses modelos são uma questão-chave no que diz respeito aos mecanismos de adsorção do soluto sobre o adsorvente, podendo fornecer informações termodinâmicas sobre o processo. Os modelos aplicados aos dados experimentais obtidos neste trabalho são descritos nos capítulos posteriores, à exceção do modelo termodinâmico utilizado para obtenção da variação de energia livre de Gibbs de adsorção, que é discutido com mais detalhes na seção 1.2.3.3. Entretanto, a compreensão dos mesmos requer compreender em detalhe do que se trata o fenômeno de adsorção.

1.2.3.1. Adsorção

Adsorção é o fenômeno no qual a concentração média de uma espécie i torna-se espontaneamente maior na interface em relação à sua concentração nas fases que se encontram em contato. Nesta definição dois conceitos são importantes: fase, que é a região do sistema em que as propriedades termodinâmicas intensivas são as mesmas em qualquer ponto desta região, e interface, que é a região de contato entre duas fases na qual as propriedades termodinâmicas intensivas variam perpendicularmente ao longo da superfície de contato entre as mesmas.

A adsorção pode ser expressa numericamente pela quantidade de substância adsorvida de um soluto i (Γ_i), que é a quantidade de substância de i por unidade de área interfacial em excesso na interface em relação às fases que se encontram em contato, como expresso pela equação 1.2.

$$\Gamma_i = \frac{n_{T,i} - n_{\alpha,i} - n_{\beta,i}}{S} \quad (1.2)$$

em que $n_{T,i}$ é a quantidade de substância total do soluto i no sistema, $n_{\alpha,i}$ e $n_{\beta,i}$ são os números de mol de i nas fases α e β , respectivamente, e S é a área da interface. A expressão $n_{T,i} - n_{\alpha,i} - n_{\beta,i}$ define o excesso superficial do componente i na interface, $n_{i,\sigma}$. Se o parâmetro Γ_i é positivo, diz-se que o componente i adsorveu-se na interface.

Do ponto de vista prático, o valor de Γ_i na equação 1.2 pode ser considerado como a quantidade de i adsorvida em interfaces do tipo sólido-solução, sendo esta a equação utilizada na determinação das isotermas de adsorção deste trabalho.⁸⁸ Entretanto, esta equação não estabelece os contornos e nem a localização da interface em que o soluto encontra-se adsorvido. Para facilitar a manipulação matemática do fenômeno de adsorção, vamos considerar um sistema fechado formado por duas fases, α e β , em equilíbrio termodinâmico, contendo um soluto s que pode se distribuir entre a fase α , a fase β e a interface. A figura 1.3a ilustra este sistema.

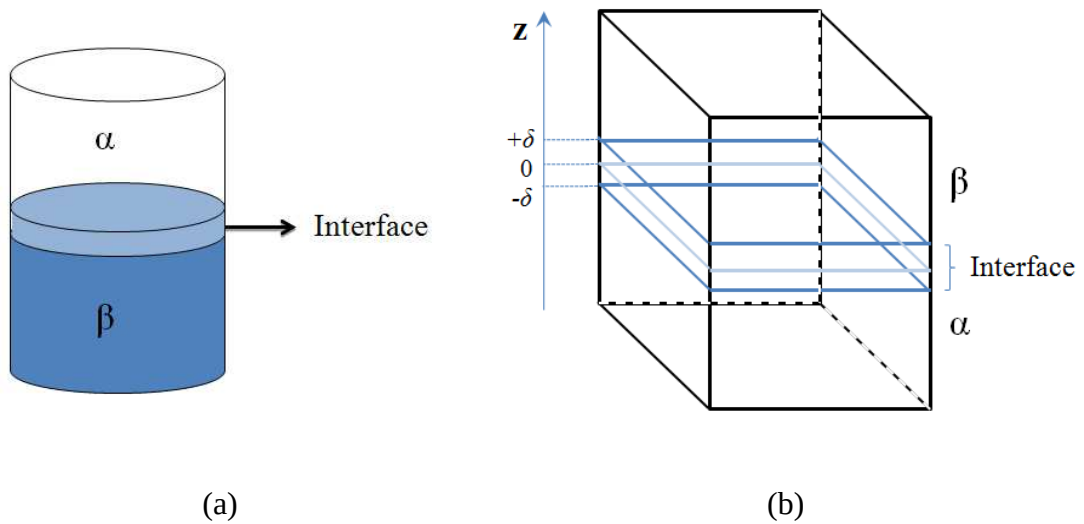


Figura 1.3. (a) Diagrama esquemático representando um sistema bifásico contendo duas fases, α e β , em equilíbrio termodinâmico, em que a região da interface foi destacada; **(b)** elemento de volume contendo a região da interface do sistema representado em (a).

Vamos assumir um elemento de volume que contenha a interface, como mostrado na figura 1.3b e imaginar um plano matemático arbitrário de separação que a divide com pontos de coordenada $(x, y, 0)$ (A orientação do sistema de coordenadas foi definida de forma que eixo z fosse perpendicular à área de contato entre as fases). Além disso, vamos definir as coordenadas $-\delta$ e $+\delta$ ao longo do eixo z que definem os limites da interface, tal que para $z \leq -\delta$, $C_i(z) = C_i^\alpha$; para $-\delta < z \leq 0$, $C_i(z) \neq C_i^\alpha$; para $0 \leq z < +\delta$, $C_i(z) \neq C_i^\beta$ e para $z \geq +\delta$, $C_i(z) = C_i^\beta$, em que $C_i(z)$ é a concentração de i ao longo do eixo z e C_i^γ é a concentração de i na região γ . Se supusermos uma condição ideal na qual as fases α e β sejam uniformes até o plano de separação, qualquer excesso ou deficiência do componente i observada entre esse sistema hipotético e o sistema real na região da interface será atribuído à adsorção do componente na interface.

Para esclarecer a discussão acima, vamos imaginar um sistema contendo o soluto s e o solvente, que pode ser água, os quais se concentram na interface do sistema

apresentando perfis de concentração ao longo do eixo z dados pelas curvas ilustradas na figura 1.4.

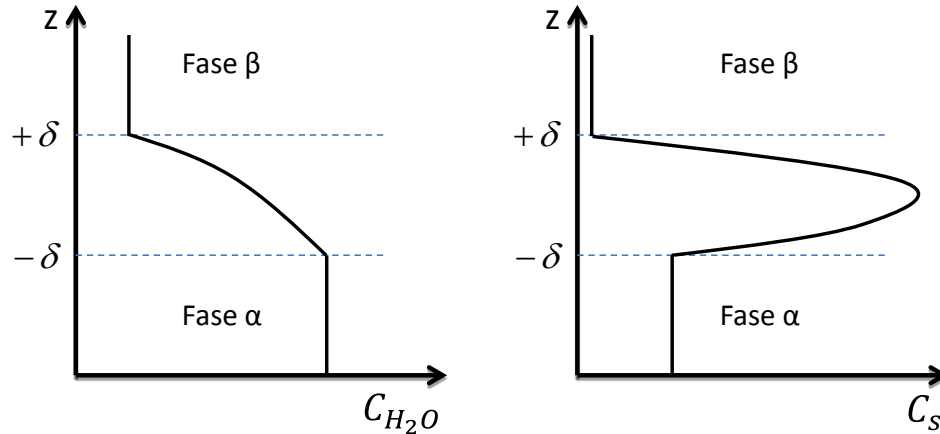


Figura 1.4. Variação das concentrações do solvente (água) e do soluto s ao longo do eixo z perpendicular à interface.

Para a água, percorrendo o eixo z da fase α para a fase β , a concentração permanece constante ao longo da fase α , diminui continuamente ao longo da interface (entre $-\delta$ e $+\delta$) e volta a ficar constante na fase β . Por outro lado, para o soluto s , seguindo o sentido positivo do eixo z , a concentração C_s permanece constante e igual a C_s^α ao longo da fase α e começa a aumentar em $z = -\delta$, atingindo um valor máximo. Então, C_s diminui até $z = +\delta$, a partir de onde a concentração volta a permanecer constante com valor igual a C_s^β .

Os perfis de concentração apresentados na figura 1.4 mostram que qualquer componente do sistema pode ter sua concentração variando ao longo do eixo z na região interfacial. Assim, a quantidade de substância adsorvida por unidade de área pode ser calculada para qualquer espécie i do sistema, sendo definida com rigor pela equação a seguir:

$$\Gamma_i = \int_{-\infty}^0 [C_i(z) - C_i^\alpha] dz + \int_0^{+\infty} [C_i(z) - C_i^\beta] dz \quad (1.3)$$

Na equação 1.3, C_i^α e C_i^β não dependem de z , pois C_i^α e C_i^β são as concentrações de i nas fases α e β . Consequentemente, esta equação mostra que uma espécie i adicionada a um sistema constituído por duas fases poderá se encontrar em excesso ($\Gamma_i > 0$) ou deficiência ($\Gamma_i < 0$) na região da interface em relação às fases que se encontram em contato, por unidade de área interfacial, contanto que ela se distribua de maneira não uniforme ao longo do eixo z . Por outro lado, se a concentração de i nas fases que se encontram em equilíbrio permanecer constante até o plano de separação matemático escolhido, $C_i(z) - C_i^\gamma = 0$ e, portanto, não haverá excesso ou deficiência do componente i na interface ($\Gamma_i = 0$).

Uma vez que para qualquer valor de z no intervalo $(-\infty, -\delta]$ tem-se $C_i(z) = C_i^\alpha$ e no intervalo $[+\delta, +\infty)$, $C_i(z) = C_i^\beta$, a equação 1.3 pode ser reescrita como:

$$\Gamma_i = \int_{-\delta}^0 [C_i(z) - C_i^\alpha] dz + \int_0^{+\delta} [C_i(z) - C_i^\beta] dz \quad (1.4)$$

Aplicando a equação 1.4 para cada componente do sistema tem-se as seguintes equações:

$$\Gamma_{H_2O} = \int_{-\delta}^0 [C_{H_2O}(z) - C_{H_2O}^\alpha] dz + \int_0^{+\delta} [C_{H_2O}(z) - C_{H_2O}^\beta] dz \quad (1.5)$$

e

$$\Gamma_s = \int_{-\delta}^0 [C_s(z) - C_s^\alpha] dz + \int_0^{+\delta} [C_s(z) - C_s^\beta] dz \quad (1.6)$$

Para a equação da quantidade de água adsorvida (equação 1.5), de acordo com o perfil da curva de concentração de água ao longo do eixo z mostrada na figura 1.4, a primeira integral tem valor negativo, pois $C_{H_2O}(z) < C_{H_2O}^\alpha$ para $z \in (-\delta, 0]$. Por outro lado, a segunda integral tem valor positivo, pois $C_{H_2O}(z) > C_{H_2O}^\beta$ para $z \in [0, +\delta)$. Consequentemente o valor de Γ_{H_2O} pode ser positivo, negativo ou nulo, o que dependerá da posição em que será localizado o plano matemático que divide a interface. Comumente a posição desta superfície geométrica é escolhida de modo que $\Gamma_{solvente} = \Gamma_{H_2O}$ seja igual a zero, sendo assim denominada de superfície equimolecular.

Dessa forma, a quantidade de s adsorvida por unidade de área interfacial será definida como o excesso deste componente na interface em relação às fases que se encontram em contato para o plano matemático de separação das fases localizado de tal forma que $\Gamma_{H_2O} = 0$, para a qual denotaremos $(\Gamma_{s(H_2O)})$. A adsorção de qualquer outro componente i do sistema também será dada em relação à superfície equimolecular.

Se s estiver ausente na região para qual $z > 0$, a segunda integral na equação 1.6 será igual a zero e então:

$$\Gamma_{s(H_2O)} = \int_{-\delta}^0 [C_s(z) - C_s^\alpha] dz \quad (1.7)$$

Utilizando o teorema do valor médio para integrais obtém-se:

$$\Gamma_{s(H_2O)} = [\bar{C}_s^{interface} - C_s^\alpha] \delta \quad (1.8)$$

em que δ é definido como a espessura da interface na qual s está se adsorvendo e $\bar{C}_s^{interface}$ é a concentração média de s no intervalo $[-\delta, 0]$. Caso a concentração de s na solução seja muito menor do que a concentração desta espécie na interface, a equação para Γ_s se reduz a:

$$\Gamma_s = \delta \bar{C}_s^{interface} \quad (1.9)$$

Embora as equações deduzidas nesta seção expressem com rigor a definição de adsorção, as mesmas não apresentam utilidade prática na determinação da grandeza Γ_s , uma vez que os parâmetros envolvidos, como a concentração média de soluto na interface e a espessura da interface, não podem ser facilmente obtidos. Por outro lado, determinando o valor de Γ_s por meio da equação 1.2, e determinando a espessura da interface por meio de medidas de elipsometria, a equação 1.9 fornece a concentração média do soluto na interface, o que de outra forma não poderia ser conseguido.

1.2.3.2. Utilização da calorimetria na determinação da variação de entalpia de adsorção

O uso de técnicas espectroscópicas para o estudo da interação entre proteínas e a superfície de adsorventes requer muitas vezes que a superfície contendo a proteína seja analisada na ausência do solvente, o que pode alterar a camada de solvatação da proteína adsorvida, modificando suas características conformacionais. Além disso, quando a ausência do solvente não é um requisito fundamental para a realização da medida, a concentração de proteína livre (não adsorvida) presente no solvente é alta e pode mascarar a análise das propriedades das moléculas de proteína adsorvida sobre a superfície sólida. Neste sentido, as técnicas calorimétricas surgem como ferramentas fundamentais na compreensão dos processos moleculares que ocorrem durante a adsorção de proteínas em

superfícies sólidas. Igualmente, são técnicas poderosas para o estudo da interação entre corantes e nanotubos de carbono.

Em geral, quando uma molécula se adsorve sobre a superfície de um adsorvente, energia na forma de calor é absorvida ou liberada como resultado do rompimento e formação de novas interações intermoleculares e essa energia pode ser quantificada por meio de um calorímetro, fornecendo informações termodinâmicas sobre os mecanismos envolvidos no processo. Por exemplo, com o desenvolvimento de calorímetros cada vez mais sensíveis é possível determinar como a variação de entalpia de adsorção depende da cobertura superficial do adsorvente pelo adsorvato.⁸⁹

Existem diversas técnicas calorimétricas disponíveis atualmente, mas apenas três têm sido utilizadas para estudos termodinâmicos de adsorção, a saber: (i) calorimetria de adsorção em cristal simples (SCAC, do inglês single-crystal adsorption calorimetry), (ii) microcalorimetria eletroquímica e (iii) microcalorimetria de titulação isotérmica (ITC, do inglês isothermal titration calorimetry).⁸⁹ Enquanto a SCAC é a única técnica poderosa para o estudo da adsorção de moléculas gasosas sobre superfícies sólidas, em especial superfície de cristais,⁹⁰ a microcalorimetria eletroquímica permite o estudo da energia envolvida na adsorção de solutos presentes em fase líquida sobre um eletrodo de trabalho. Por sua vez, a ITC possibilita o estudo da adsorção de solutos sobre superfícies de sólidos dispersos em soluções líquidas. Em função dos objetivos do estudo realizado neste trabalho, utilizou-se a microcalorimetria de titulação isotérmica para determinar a variação de entalpia associada ao processo de adsorção dos solutos estudados (proteína e corantes) sobre a superfície de CNTs dispersos em solução aquosa.

Um calorímetro de titulação isotérmica é um dispositivo capaz de medir a quantidade de energia na forma de calor que flui entre sistema e vizinhança devido à ocorrência de eventos moleculares no interior de uma cela calorimétrica, a pressão e

temperatura constantes. Os experimentos são realizados por meio de um procedimento de titulação no qual duas soluções (titulante e titulado) são misturadas no interior da cela calorimétrica de amostra (cela A) que se encontra em equilíbrio térmico com suas vizinhanças num ambiente de temperatura altamente controlada dentro de uma jaqueta adiabática, conforme ilustrado na figura 1.5.

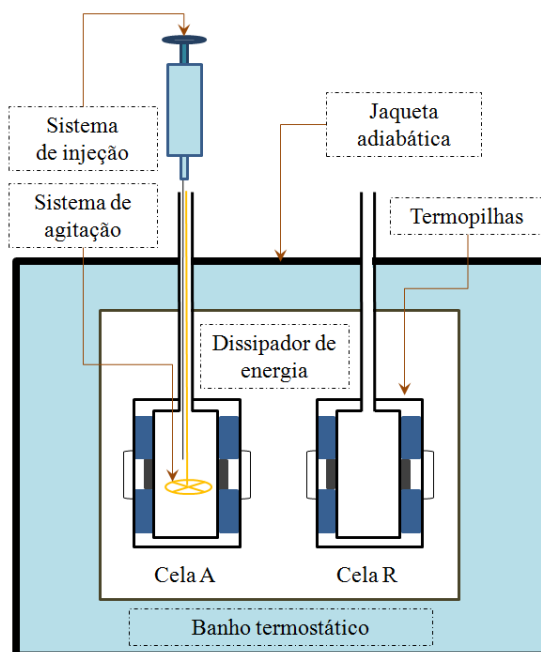


Figura 1.5. Esquema de um calorímetro de titulação isotérmica.

Quando a solução titulante é adicionada ao interior da cela de amostra, processos termodinâmicos envolvendo rompimento e formação de novas interações intermoleculares ocorrem e a temperatura do sistema é inicialmente alterada de uma quantidade ΔT . Para que o equilíbrio térmico seja novamente alcançado, uma quantidade de energia na forma de calor (q) flui entre sistema e vizinhança, a qual pode ser detectada por dispositivos denominados de termopilhas que estão localizadas entre a cela de amostra e um dissipador de energia (uma massa grande de metal imersa em um banho termostático, em geral um bloco de alumínio). Quando energia na forma de calor flui

através das termopilhas (e somente através delas) uma diferença de potencial elétrico proporcional à ΔT surge entre os seus terminais. ΔT por sua vez é diretamente proporcional à taxa de transferência de energia na forma de calor trocada entre a cela da amostra e o dissipador de energia. Os dados brutos são gerados na forma de um termograma, um gráfico da potência ($\mathcal{P}$) em função do tempo, como mostrado na figura 1.6, fornecendo q pela integração da curva obtida.

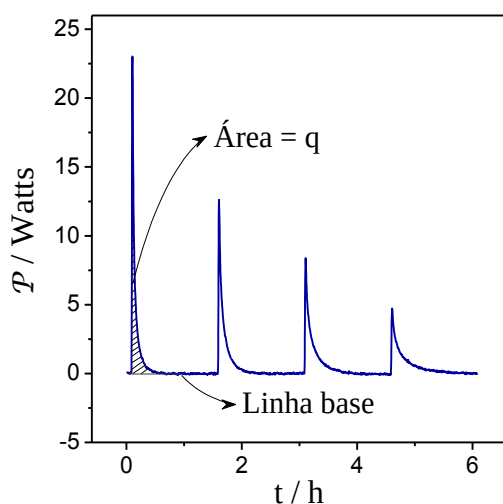


Figura 1.6. Termograma obtido em um experimento de titulação calorimétrica isotérmica mostrando quatro eventos termodinâmicos associados a quatro injeções do titulante.

Além da cela de amostra, o calorímetro possui uma segunda cela que atua como uma referência (cela R), de tal forma que a potência monitorada pelo equipamento é a diferença entre as taxas de transferência de energia na cela de amostra e na cela de referência, possibilitando uma maior sensibilidade para a técnica.

O sistema de injeção é totalmente automatizado, sendo que injeções consecutivas de alíquotas de pequeno volume (comumente entre 1 e 20 μL) são realizadas entre intervalos de tempo constantes, que são suficientes para que a diferença de temperatura

entre a cela de amostra e referência oscile em torno de zero e o sinal na curva de potência versus tempo retorne à linha base. O sistema no interior da cela de amostra é agitado durante a realização do experimento por meio de um agitador que gira a uma rotação constante e suficiente para garantir a homogeneidade do sistema.

Como um calorímetro de titulação isotérmica opera sob condições de pressão constante, a quantidade de energia na forma de calor medida corresponde à variação de entalpia envolvida no processo termodinâmico que resulta da mistura entre titulante e titulado, conforme deduzido a seguir.

A primeira Lei da Termodinâmica em sua forma diferencial simplificada fornece:

$$dU = dq + dw \quad (1.10)$$

Na equação 1.10, U é a energia interna do sistema e q e w são as quantidade de energia trocada entre sistema e vizinhança na forma de calor e de trabalho, respectivamente. Para um processo termodinâmico ocorrendo entre um estado inicial i e um estado final f em que o sistema está restrito à realização de trabalho de expansão ou compressão, a P constante, a integração da equação 1.10 fornece:

$$\int_i^f dU = \int_i^f dq - P \int_i^f dV \quad (1.11)$$

Resolvendo as integrais definidas na equação 1.11 e agrupando os termos, obtém-se:

$$(U_f + PV_f) - (U_i + PV_i) = q \quad (1.12)$$

À soma $U + PV$, recorrente em equações termodinâmicas, dá-se o nome de entalpia (H), e a equação 1.12 torna-se:

$$\Delta H = H_f - H_i = q \quad (1.13)$$

que mostra que a variação de entalpia do sistema para um dado processo termodinâmico é numericamente igual à quantidade de energia transferida entre sistema e vizinhança na forma de calor se o sistema realiza um processo no qual a pressão externa se mantenha constante, estando em equilíbrio mecânico com as vizinhanças e realizando apenas trabalho de expansão.

O princípio físico-químico discutido acima foi utilizado para determinar a variação de entalpia de adsorção (ΔH_{ads}) dos solutos avaliados sobre a superfície dos adsorventes estudados. A obtenção e discussão dos parâmetros de adsorção são mais bem discutidas na próxima seção.

1.2.3.3. Determinação de parâmetros termodinâmicos de adsorção

Para obter uma caracterização termodinâmica completa do processo de adsorção dos solutos utilizados neste trabalho, um modelo termodinâmico foi utilizado para determinação da variação de energia livre de Gibbs de adsorção. Esse modelo, assim como os outros utilizados nesse trabalho (modelos das isothermas de Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radushkevich e Temkin), será resumidamente descrito nos capítulos posteriores. Entretanto, uma vez que ele norteia a maior parte da discussão termodinâmica dos processos de adsorção avaliados, ele é mostrado em mais detalhes a seguir.

Consideremos um sistema formado por uma solução aquosa de um soluto s em equilíbrio termodinâmico com este soluto adsorvido sobre um adsorvente A , na temperatura T e pressão P , como mostrado na figura 1.7.

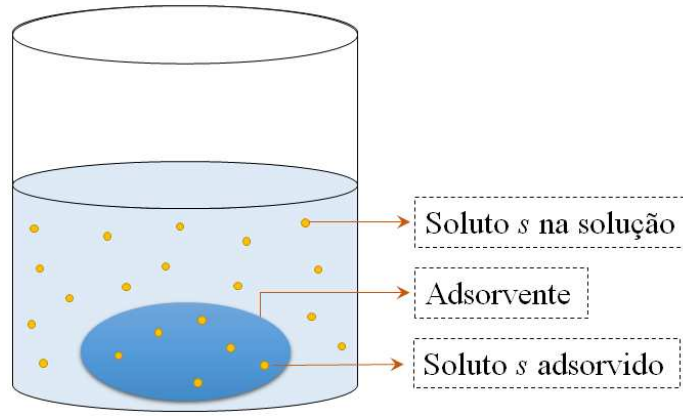


Figura 1.7. Sistema constituído por uma solução aquosa de um soluto s em equilíbrio termodinâmico com o soluto adsorvido sobre o adsorvente.

O processo de adsorção pode ser considerado como um processo de transferência de fase do soluto entre a solução e a interface adsorvente/solução, tal que na condição de equilíbrio termodinâmico, o potencial químico de cada espécie i no sistema tem o mesmo valor em todas as fases, inclusive na interface. Assim podemos escrever:

$$\mu_i^A = \mu_i^{sol} \quad (1.14)$$

em que os sobrescritos A e sol denotam o adsorvente e a solução, respectivamente. Considerando que o potencial químico de i é dado pela relação $\mu_i = \mu_i^o + RT \ln(\gamma_i C_i)$, em que μ_i^o é o potencial químico no estado padrão, γ_i é o coeficiente de atividade do componente i e C_i representa sua concentração, a equação 1.14 para o soluto s torna-se:

$$\mu_s^{o,A} + RT\ln(\gamma_s^A C_s^A)_e = \mu_s^{o,sol} + RT\ln(\gamma_s^{sol} C_s^{sol})_e \quad (1.15)$$

em que o subscrito e foi colocado para indicar que as concentrações são referentes ao estado de equilíbrio termodinâmico. Rearranjando os termos na equação 1.15, obtém-se:

$$\left(\frac{\gamma_s^A C_s^A}{\gamma_s^{sol} C_s^{sol}} \right)_e = \exp \left(- \frac{\mu_s^{o,A} - \mu_s^{o,sol}}{RT} \right) \quad (1.16)$$

A diferença de potenciais químicos no estado padrão ($\mu_s^{o,A} - \mu_s^{o,sol}$) define a variação de energia livre de Gibbs molar padrão de adsorção, ou simplesmente variação de energia livre de Gibbs de adsorção (ΔG_{ads}^o). A constante de equilíbrio de adsorção é definida pela razão expressa no primeiro membro da equação 1.16, ou seja:

$$K_{ads} = \left(\frac{\gamma_s^A C_s^A}{\gamma_s^{sol} C_s^{sol}} \right)_e \quad (1.17)$$

A partir das definições, a equação 1.16 pode ser reescrita da seguinte forma:

$$\Delta G_{ads}^o = -RT\ln K_{ads} \quad (1.18)$$

Podemos definir o estado padrão para um dado soluto i em uma solução não ideal como aquele no qual o soluto encontra-se com concentração unitária na mesma pressão e temperatura da mistura, mas em que $\lim_{C_i \rightarrow 1} \gamma_i = 1$. Uma vez que o coeficiente de atividade de um soluto é igual à unidade em uma solução idealmente diluída ($C_i \rightarrow 0$), o estado padrão definido é um estado hipotético.

Assim, na condição de diluição infinita do soluto adsorvido ($C_s \rightarrow 0$), $\gamma_s = 1$ na equação 1.17 e K_{ads} pode ser calculado pela razão $(C_s^A/C_s^{sol})_e$, i.e., K_{ads} é a derivada da

isoterma de adsorção em $C_s \rightarrow 0^+$. Consequentemente, ΔG_{ads}^o pode ser determinado pela equação 1.18.

A abordagem discutida acima permite a determinação de ΔG_{ads}^o em uma condição termodinâmica específica, ou seja, para $C_s \rightarrow 0$. Para uma caracterização termodinâmica mais completa do processo de adsorção, Blaschke et al.⁹¹ propuseram uma metodologia simples para estender a análise dos parâmetros termodinâmicos de adsorção para qualquer valor de Γ_s sem que fosse necessário determinar os coeficientes de atividade do soluto adsorvido, ainda que as concentrações sob investigação estivessem fora do regime de diluição infinita. Nessa abordagem, o potencial químico de uma espécie i em uma dada região do sistema é dado pela seguinte relação:

$$\mu_i = \mu_i^{ref} + RT \ln(\gamma_i^* C_i^*) \quad (1.19)$$

em que um novo estado de referência para a espécie i , no qual o potencial químico é $\mu_i^{ref} \neq \mu_i^o$, foi definido. Esse novo estado de referência é escolhido arbitrariamente como um ponto sobre a isoterma de adsorção, como mostrado na figura 1.8, definindo um novo sistema de coordenadas de concentração C_i^* tal que $C_i^* = C_i - C_i^{ref}$, em que o asterisco foi utilizado para se referir ao novo sistema de coordenadas deslocado.

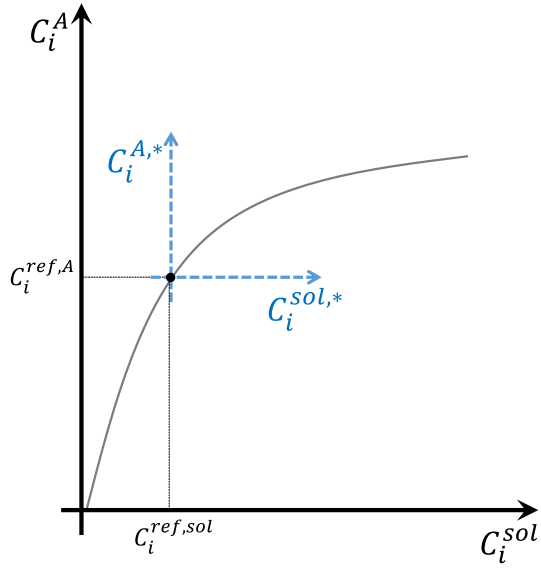


Figura 1.8. Esquema de uma isoterma de adsorção com um novo sistema de coordenadas de concentração.

No novo estado de referência, o coeficiente de atividade γ_i^* é definido de tal forma que no novo sistema de coordenadas $\lim_{C_i^* \rightarrow 0} \gamma_i^* = 1$ ou $\lim_{C_i \rightarrow C_i^{ref}} \gamma_i^* = 1$. Como consequência, a constante de equilíbrio de adsorção (K_{ads}^*) do soluto s pode ser definida de forma similar àquela dada pela equação 1.17:

$$K_{ads}^* = \left(\frac{\gamma_s^{*,A} C_s^{*,A}}{\gamma_s^{*,sol} C_s^{*,sol}} \right)_e \quad (1.20)$$

e pode ser calculada a partir de 1.21:

$$K_{ads}^* = \lim_{C_s^* \rightarrow 0} \left(\frac{C_s^{*,A}}{C_s^{*,sol}} \right)_e \quad (1.21)$$

que corresponde à derivada da isoterma de adsorção na concentração $C_s = C_s^{ref}$, isto é:

$$K_{ads}^* = \left. \frac{dC_s^A}{dC_s^{sol}} \right|_{C_s=C_s^{ref}} \quad (1.22)$$

A variação de energia livre de Gibbs de adsorção no estado de referência ($\Delta G_{ads}^{ref} = \mu_s^{ref,A} - \mu_s^{ref,sol}$) é então calculada de forma similar à mostrada na equação 1.18, isto é:

$$\Delta G_{ads}^{ref} = -RT \ln K_{ads}^* \quad (1.23)$$

Definindo-se os estados de referência para diferentes valores de Γ_s , o valor de ΔG_{ads}^{ref} pode ser calculado para diferentes concentrações do soluto ao longo da isoterma. Para determinar a contribuição entálpica para o valor de ΔG_{ads}^{ref} em cada estado de referência, basta considerar a seguinte relação termodinâmica:

$$\frac{d\left(\frac{\mu_i}{T}\right)}{dT} = -\frac{\bar{H}_i}{T^2} \quad (1.24)$$

em que $\bar{H}_i$ é a entalpia molar parcial do componente i. Aplicando este resultado na equação 1.19 para o soluto s, obtemos:

$$\frac{\bar{H}_s}{T^2} = \frac{\bar{H}_s^{ref}}{T^2} \quad (1.25)$$

Consequentemente, $\bar{H}_s = \bar{H}_s^{ref}$, em que $\bar{H}_s^{ref}$ é a entalpia molar parcial do componente no estado de referência escolhido. Definindo $\Delta H_{ads} = \bar{H}_s^A - \bar{H}_s^{sol}$ como a variação de entalpia medida nos experimentos de ITC, em que a contribuição dos

processos de solvatação foi desprezada do ponto de vista entálpico, temos que a contribuição entálpica para ΔG_{ads}^{ref} é dada por:

$$\Delta H_{ads}^{ref} = \Delta H_{ads} \quad (1.26)$$

A contribuição entrópica para ΔG_{ads}^{ref} pode então ser determinada pela relação termodinâmica fundamental:

$$\Delta G_{ads}^{ref} = \Delta H_{ads} - T\Delta S_{ads}^{ref} \quad (1.27)$$

Uma vez determinados os parâmetros termodinâmicos ΔG_{ads}^{ref} , ΔH_{ads} e $T\Delta S_{ads}^{ref}$, para cada concentração do soluto na isoterma, será possível avaliar a força motriz para o processo de adsorção não apenas no regime de diluição infinita.

1.3. Estrutura da tese

Com a base teórica apresentada nesta revisão, este trabalho se propõe a realizar um estudo sobre a termodinâmica de adsorção da proteína albumina do soro bovino (BSA) e dos azocorantes vermelho 40, vermelho ponceau 4R e vermelho do congo sobre a superfície de CNTs, tendo como base a utilização da calorimetria de titulação isotérmica e a obtenção de isothermas de adsorção. A sequência desta tese é dividida em outros quatro capítulos. O capítulo 2 trata dos objetivos deste trabalho; os capítulos 3 e 4 trazem os trabalhos desenvolvidos: o primeiro trata do estudo da adsorção de BSA sobre a superfície de nanotubos de carbono e o segundo envolve a adsorção dos azocorantes sobre os mesmos nanomateriais, comparando esse processo à adsorção dos corantes em superfície de carvão ativado. Por fim, o capítulo 5 traz uma conclusão sobre o trabalho desenvolvido, bem como as perspectivas para o mesmo.

1.4. Revisão bibliográfica

1. Abdin, Z.; Alim, M. A.; Saidur, R.; Islam, M. R.; Rashmi, W.; Mekhilef, S.; Wadi, A. Solar Energy Harvesting with the Application of Nanotechnology. *Renewable Sustainable Energy Rev.* **2013**, 26, 837-852.
2. Coccia, M.; Wang, L. Path-breaking Directions of Nanotechnology-based Chemotherapy and Molecular Cancer Therapy. *Technol. Forecast. Soc.* **2014**, 94, 155-169.
3. Handford, C. E.; Dean, M.; Henchion, M.; Spence, M.; Elliott, C. T.; Campbell, K. Implications of Nanotechnology for the Agri-food Industry: Opportunities, Benefits and Risks. *Trends Food Sci. Technol.* **2014**, 40, 226-241.
4. Iijima, S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* **1991**, 354, 56-58.
5. Paradise, M.; Goswami, T. Carbon Nanotubes-Production and Industrial Applications. *Mater. Des.* **2007**, 28, 1477-1489.
6. Sun, Y.-P.; Fu, K.; Lin, Y.; Huang, W. Functionalized Carbon Nanotubes: Properties and Applications. *Acc. Chem. Res.* **2002**, 35, 1096-1104.
7. Thostensona, E. T.; Renb, Z.; Choua, T.-W. Advances in the Science and Technology of Carbon Nanotubes and Their Composites: A Review. *Compos. Sci. Technol.* **2001**, 61, 1899–1912.
8. Mickelson, E. T.; Chiang, I. W.; Zimmerman, J. L.; Boul, P. J.; Lozano, J.; Liu, J.; Smalley, R. E.; Hauge, R. H.; Margrave, J. L. Solvation of Fluorinated Single-Wall Carbon Nanotubes in Alcohol Solvents. *J. Phys. Chem. B* **1999**, 103, 4318-4322.
9. Mickelson, E. T.; Huffman, C. B.; Rinzler, A. G.; Margrave, J. L. Fluorination of Single-wall Carbon Nanotubes. *Chem. Phys. Lett.* **1998**, 296, 188-194.
10. Saifuddin, N.; Raziah, A. Z.; Junizah, A. R. Carbon Nanotubes: A Review on Structure and their Interaction with Proteins. *J. Chem.* **2013**, 2013, 1-18.

11. Daniel, S.; Rao, T. P.; Rao, K. S.; Rani, S. U.; Naidu, G. R. K.; Lee, H.-Y.; Kawai, T. A Review of DNA Functionalized/Grafted Carbon Nanotubes and their Characterization. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2007**, 122, 672-682.
12. Cohen, E.; Dodiuk, H.; Ophir, A.; Kenig, S.; Barry, C.; Mead, J. Evidences for π -interactions between Pyridine Modified Copolymer and Carbon Nanotubes and its Role as a Compatibilizer in Poly(methyl methacrylate) Composites. *Compos. Sci. Technol.* **2013**, 79, 133-139.
13. Nii, D.; Hayashida, T.; Umemura, K. Controlling the Adsorption and Desorption of Double-Stranded DNA on Functionalized Carbon Nanotube Surface. *Colloid. Surface., B* **2013**, 106, 234-239.
14. Li, H.; Martin, R. B.; Harruff, B. A.; Carino, R. A.; Allard, R. F.; Sun, Y.-P. Single-walled Carbon Nanotubes Tethered with Porphyrins: Syntesis and Photophysical Properties. *Adv. Mater.* **2004**, 16, 896-900.
15. Sáfar, G. A. M.; Martins, D. C. S.; DeFreitas-Silva, G.; S., R. J.; Idemori, Y. M.; Righi, A. Interactions of Porphyrins and Single Walled Carbon Nanotubes: A Fine Duet. *Synth. Met.* **2014**, 193 64–70.
16. Lawrence, N. S.; Wang, J. Chemical Adsorption of Phenothiazine Dyes onto Carbon Nanotubes: Toward the Low Potential Detection of NADH. *Electrochem. Commun.* **2006**, 8, 71–76.
17. De Filpo, G.; Nicoletta, F. P.; Ciliberti, L.; Formoso, P.; Chidichimo, G. Non-covalent Functionalisation of Single Wall Carbon Nanotubes for Efficient Dye-sensitised Solar Cells. *J. Power Sources* **2015**, 274, 274-279.
18. Carrara, S.; Baj-Rossi, C.; Boero, C.; De Micheli, G. Do Carbon Nanotubes Contribute to Electrochemical Biosensing? *Electrochim. Acta* **2014**, 128, 102–112.
19. Bhakta, S. A.; Evans, E.; Benavidez, T. E.; Garcia, C. D. Protein Adsorption onto Nanomaterials for the Development of Biosensors and Analytical Devices: A Review. *Anal. Chim. Acta* **2014**.

20. Peretz, S.; Regev, O. Carbon Nanotubes as Nanocarriers in Medicine. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2012**, 17, 360-368.
21. Meng, L.; Fu, C.; Lu, Q. Advanced Technology for Functionalization of Carbon Nanotubes. *Prog. Nat. Sci.* **2009**, 19, 801-810.
22. Kim, B.-S.; Kim, D.; Kim, K.-W.; Lee, T.; Kim, S.; Shin, K.; Chun, S.; Han, J. H.; Lee, Y. S.; Paik, H.-j. Dispersion of Non-covalently Functionalized Single-walled Carbon Nanotubes with High Aspect Ratios Using Poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate-co-styrene). *Carbon* **2014**, 72, 57-65.
23. Das, R.; Abd Hamid, S. B.; Ali, M. E.; Ismail, A. F.; Annuar, M. S. M.; Ramakrishna, S. Multifunctional Carbon Nanotubes in Water Treatment: The Present, Past and Future. *Desalination* **2014**, 354, 160-179.
24. Ntim, S. A.; Mitra, S. Adsorption of Arsenic on Multiwall Carbon Nanotube-Zirconia Nanohybrid for Potential Drinking Water Purification. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, 375, 154-159.
25. Smith, S. C.; Ahmed, F.; Gutierrez, K. M.; Frigi Rodrigues, D. A Comparative Study of Lysozyme Adsorption with Graphene, Graphene Oxide, and Single-walled Carbon Nanotubes: Potential Environmental Applications. *Chem. Eng. J.* **2014**, 240, 147-154.
26. Prola, L. D.; Machado, F. M.; Bergmann, C. P.; de Souza, F. E.; Gally, C. R.; Lima, E. C.; Adebayo, M. A.; Dias, S. L.; Calvete, T. Adsorption of Direct Blue 53 Dye from Aqueous Solutions by Multi-walled Carbon Nanotubes and Activated Carbon. *J. Environ. Manage.* **2013**, 130, 166-175.
27. Pacholczyk, A.; Terzyk, A. P.; Wisniewski, M.; Gauden, P. A.; Wesolowski, R. P.; Furmaniak, S.; Szczes, A.; Chibowski, E.; Kruszka, B. Phenol Adsorption on Closed Carbon Nanotubes. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, 361, 288-292.
28. Peigney, A.; Laurent, C.; Flahaut, E.; Bacsa, R. R.; Rousset, A. Specific Surface Area of Carbon Nanotubes and Bundles of Carbon Nanotubes. *Carbon* **2001**, 39, 507-514.

29. Evans, J. Manufacturing the Carbon Nanotube Market [Internet]. Royal Society of Chemistry 2007. Disponível em: <http://www.rsc.org/chemistryworld/Issues/2007/November/ManufacturingCarbonNanotubeMarket.asp> (acesso em 28 de janeiro de **2016**).
30. De Volder, M. F. L.; Tawfick, S. H.; Baughman, R. H.; Hart, A. J. Carbon Nanotubes: Present and Future Commercial Applications. *Science* **2013**, 339, 535-539.
31. Sarma, S. J.; Bhattacharya, I.; Brar, S. K.; Tyagi, R. D.; Surampalli, R. Y. Carbon Nanotube-Bioaccumulation and Recent Advances in Environmental Monitoring. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **2015**, 45, 905-938.
32. Kroto, H. W. C_{60}^B Buckminsterfullerene, Other Fullerenes and the Icospiral Shell. *Computers Math. Applic.* **1989**, 17, 417-423.
33. Novoselov, K. S.; Jiang, D.; Schedin, F.; Booth, T. J.; Khotkevich, V. V.; Morozov, S. V.; Geim, A. K. Two-dimensional Atomic Crystals. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **2005**, 102, 10451-10453.
34. Oberlin, A.; Endo, M.; Koizumi, T. Filamentous Growth of Carbon through Benzene Decomposition. *J. Cryst. Growth* **1976**, 32, 335-349.
35. Popov, V. N. Carbon Nanotubes: Properties and Application. *Mater. Sci. Eng., R* **2004**, 43, 61-102.
36. Ferreira, H. S.; Rangel, M. C. Nanotecnologia: Aspectos Gerais e Potencial de Aplicação em Catálise. *Quim. Nova* **2009**, 32, 1860-1870.
37. Trojanowicz, M. Analytical Applications of Carbon Nanotubes: A Review. *Trends Analyt. Chem.* **2006**, 25, 480-489.
38. Tang, Z. K.; Zhang, L.; Wang, N.; Zhang, X. X.; Wen, G. H.; Li, G. D.; Wang, J. N.; Chan, C. T.; Sheng, P. Superconductivity in 4 Angstrom Single-Walled Carbon Nanotubes. *Science* **2001**, 292, 2462-2465.
39. Lehman, J. H.; Terrones, M.; Mansfield, E.; Hurst, K. E.; Meunier, V. Evaluating the Characteristics of Multiwall Carbon Nanotubes. *Carbon* **2011**, 49, 2581-2602.

40. Filho, A. G. S.; Fagan, S. B. Funcionalização de Nanotubos de Carbono. *Quim. Nova* **2007**, 30, 1695-1703.
41. Li, Y.; Wang, J.; Li, X.; Liu, J.; Geng, D.; Yang, J.; Li, R.; Sun, X. Nitrogen-doped Carbon Nanotubes as Cathode for Lithium–air Batteries. *Electrochem. Commun.* **2011**, 13, 668-672.
42. Baudot, C.; Tan, C. M. Covalent Functionalization of Carbon Nanotubes and their Use in Dielectric Epoxy Composites to Improve Heat Dissipation. *Carbon* **2011**, 49, 2362-2369.
43. Chen, R. J.; Bangsaruntip, S.; Drouvalakis, K. A.; Kam, N. W.; Shim, M.; Li, Y.; Kim, W.; Utz, P. J.; Dai, H. Noncovalent Functionalization of Carbon Nanotubes for Highly Specific Electronic Biosensors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2003**, 100, 4984-4989.
44. Gunasekaran, S. G.; Dharmendirakumar, M. Carboxyl-tailed Ionic Liquid Promoted Aqueous Dispersion of Multi-walled Carbon Nanotubes. *High perform. polym.* **2013**, 26, 274-282.
45. Oliveira, S. F.; Bisker, G.; Bakh, N. A.; Gibbs, S. L.; Landry, M. P.; Strano, M. S. Protein Functionalized Carbon Nanomaterials for Biomedical Applications. *Carbon* **2015**, 95, 767-779.
46. Ma, P.-C.; Siddiqui, N. A.; Marom, G.; Kim, J.-K. Dispersion and Functionalization of Carbon Nanotubes for Polymer-based Nanocomposites: A Review. *Composites, Part A* **2010**, 41, 1345-1367.
47. Nakayama-Ratchford, N.; Bangsaruntip, S.; Sun, X.; Welsher, K.; Dai, H. Noncovalent Functionalization of Carbon Nanotubes by Fluorescein-Polyethylene Glycol: Supramolecular Conjugates with pH-dependent Absorbance and Fluorescence. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 2448-2449.
48. Choi, E. Y.; Roh, S. C.; Kim, C. K. Noncovalent Functionalization of Multi-walled Carbon Nanotubes with Pyrene-linked Nylon66 for High Performance Nylon66/Multi-walled Carbon Nanotube Composites. *Carbon* **2014**, 72, 160-168.

49. Yamamoto, T.; Noda, S.; Kato, M. A Simple and Fast Method to Disperse Long Single-walled Carbon Nanotubes Introducing Few Defects. *Carbon* **2011**, 49, 3179 – 3183.
50. Li, S. C.; Chen, J. H.; Cao, H.; Yao, D. S.; Liu, D. L. Amperometric Biosensor for Aflatoxin B1 Based on Aflatoxin-oxidase Immobilized on Multiwalled Carbon Nanotubes. *Food Control* **2011**, 22, 43-49.
51. Boero, C.; Carrara, S.; Vecchio, G. D.; Calzà, L.; Micheli, G. D. Targeting of Multiple Metabolites in Neural Cells Monitored by Using Protein-Based Carbon Nanotubes. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2011**, 157, 216– 224.
52. Vilian , A. T. E.; Chen, S.-M.; Lou, B.-S. A Simple Strategy for the Immobilization of Catalase on Multi-walled Carbon Nanotube/Poly (L-Lysine) Biocomposite for the Detection of H₂O₂ and Iodate. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, 61, 639– 647.
53. Eguílaz, M.; Gutiérrez, A.; Rivas, G. Non-covalent Functionalization of Multi-walled Carbon Nanotubes with Cytochrome c: Enhanced Direct Electron Transfer and Analytical Applications. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2016**, 225, 74-80.
54. Kim, J.; Grate, J. W.; Wang, P. Nanostructures for Enzyme Stabilization. *Chem. Eng. Sci.* **2006**, 61, 1017-1026.
55. Feng, W.; Ji, P. Enzymes Immobilized on Carbon Nanotubes. *Biotechnol. Adv.* **2011**, 29, 889-895.
56. Prlainović, N. Ž.; Bezbradica, D. I.; Knežević-Jugović, Z. D.; Stevanović, S. I.; Avramov Ivić, M. L.; Uskoković, P. S.; Mijin, D. Ž. Adsorption of Lipase from *Candida rugosa* on Multi Walled Carbon Nanotubes. *J. Ind. Eng. Chem.* **2013**, 19, 279-285.
57. Nakanishi, K.; Sakiyama, T.; Imamura, K. On the Adsorption of Proteins on Solid Surfaces, a Common but Very Complicated Phenomenon. *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, 91, 233-244.
58. Roach, P.; Farrar, D.; Perry, C. C. Interpretation of Protein Adsorption: Surface-induced Conformational Changes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 8168-8173.

59. Sivaraman, B.; Fears, K. P.; Latour, R. A. Investigation of the Effects of Surface Chemistry and Solution Concentration on the Conformation of Adsorbed Proteins Using an Improved Circular Dichroism Method. *Langmuir* **2009**, 25, 3050-3056.
60. Lousinian, S.; Missopolinou, D.; Panayiotou, C. Fibrinogen Adsorption on Zinc Oxide Nanoparticles: A Micro-Differential Scanning Calorimetry Analysis. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, 395, 294-299.
61. Franchi, L. P.; Santos, R. A.; Matsubara, E. Y.; de Lima, J. C.; Rosolen, J. M.; Takahashi, C. S. Citotoxicidade e Genotoxicidade de Nanotubos de Carbono. *Quim. Nova* **2012**, 35, 571-580.
62. Salvador-Morales, C.; Townsend, P.; Flahaut, E.; Vénien-Bryan, C.; Vlandas, A.; Green, M. L. H.; Sim, R. B. Binding of Pulmonary Surfactant Proteins to Carbon Nanotubes; Potential for Damage to Lung Immune Defense Mechanisms. *Carbon* **2007**, 45, 607-617.
63. Zhang, B.; Xing, Y.; Li, Z.; Zhou, H.; Mu, Q.; Yan, B. Functionalized Carbon Nanotubes Specifically Bind to r-Chymotrypsin's Catalytic Site and Regulate its Enzymatic Function. *Nano Lett.* **2009**, 9, 2280-2284.
64. Bomboi, F.; Bonincontro, A.; La Mesa, C.; Tardani, F. Interactions between Single-walled Carbon Nanotubes and Lysozyme. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, 355, 342-347.
65. Valenti, L. E.; Fiorito, P. A.; Garcia, C. D.; Giacomelli, C. E. The Adsorption-Desorption Process of Bovine Serum Albumin on Carbon Nanotubes. *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, 307, 349-356.
66. Li, L.; Lin, R.; He, H.; Jiang, L.; Gao, M. Interaction of Carboxylated Single-walled Carbon Nanotubes with Bovine Serum Albumin. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, 105, 45-51.
67. Li, L.; Lin, R.; He, H.; Sun, M.; Jiang, L.; Gao, M. Interaction of Amidated Single-walled Carbon Nanotubes with Protein by Multiple Spectroscopic Methods. *J. Lumin.* **2014**, 145, 125-131.

68. Guan, Y.; Zhang, H.; Wang, Y. New Insight into the Binding Interaction of Hydroxylated Carbon Nanotubes with Bovine Serum Albumin. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 124, 556-563.
69. Guan, J.; Dai, J.; Zhao, X.; Liu, C.; Gao, C.; Liu, R. Spectroscopic Investigations on the Interaction between Carbon Nanotubes and Catalase on Molecular level. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **2014**, 28, 211-216.
70. Lee, T. Y.; Yoo, J.-B. Adsorption Characteristics of Ru(II) Dye on Carbon Nanotubes for Organic Solar Cell. *Diam. Relat. Mater.* **2005**, 14, 1888-1890.
71. De Souza, L. A.; Da Silva, A. M.; Junqueira, G. M. A.; Carvalho, A. C. M.; Dos Santos, H. F. Theoretical Study of Structure and Non-linear Optical Properties of Zn(II) Porphyrin Adsorbed on Carbon Nanotubes. *J. Mol. Struct. (Theochem)* **2010**, 959, 92-100.
72. Yan, Y.; Zhang, M.; Gong, K.; Su, L.; Guo, Z.; Mao, L. Adsorption of Methylene Blue Dye onto Carbon Nanotubes: A Route to an Electrochemically Functional Nanostructure and its Layer-by-layer Assembled Nanocomposite. *Chem. Mater.* **2005**, 17, 3457-3463.
73. Gupta, V. K.; Kumar, R.; Nayak, A.; Saleh, T. A.; Barakat, M. A. Adsorptive Removal of Dyes From Aqueous Solution onto Carbon Nanotubes: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2013**, 193–194, 24–34.
74. Wu, C. H. Adsorption of Reactive Dye onto Carbon Nanotubes: Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 144, 93-100.
75. Kuo, C. Y.; Wu, C. H.; Wu, J. Y. Adsorption of Direct Dyes from Aqueous Solutions by Carbon Nanotubes: Determination of Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics Parameters. *J. Colloid. Interface Sci.* **2008**, 327, 308-315.
76. Yao, Y.; Xu, F.; Chen, M.; Xu, Z.; Zhu, Z. Adsorption Behavior of Methylene Blue on Carbon Nanotubes. *Bioresour. Technol.* **2010**, 101, 3040-3046.
77. Machado, F. M.; Bergmann, C. P.; Fernandes, T. H.; Lima, E. C.; Royer, B.; Calvete, T.; Fagan, S. B. Adsorption of Reactive Red M-2BE Dye from Water Solutions

by Multi-walled Carbon Nanotubes and Activated Carbon. *J. Hazard. Mater.* **2011**, 192, 1122-1131.

78. Machado, F. M.; Bergmann, C. P.; Lima, E. C.; Royer, B.; de Souza, F. E.; Jauris, I. M.; Calvete, T.; Fagan, S. B. Adsorption of Reactive Blue 4 Dye from Water Solutions by Carbon Nanotubes: Experiment and Theory. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 11139-11153.

79. Wang, S.; Ng, C. W.; Wang, W.; Li, Q.; Li, L. A Comparative Study on the Adsorption of Acid and Reactive Dyes on Multiwall Carbon Nanotubes in Single and Binary Dye Systems. *J. Chem. Eng. Data* **2012**, 57, 1563-1569.

80. Apul, O. G.; Karanfil, T. Adsorption of Synthetic Organic Contaminants by Carbon Nanotubes: A Critical Review. *Water Res.* **2014**, 68C, 34-55.

81. Mishra, A. K.; Arockiadoss, T.; Ramaprabhu, S. Study of Removal of Azo Dye by Functionalized Multi Walled Carbon Nanotubes. *Chem. Eng. J.* **2010**, 162, 1026–1034.

82. Chang, P. R.; Zheng, P.; Liu, B.; Anderson, D. P.; Yu, J.; Ma, X. Characterization of Magnetic Soluble Starch-functionalized Carbon Nanotubes and its Application for the Adsorption of the Dyes. *J. Hazard. Mater.* **2011**, 186, 2144–2150.

83. Salam, M. A.; El-Shishtawy, R. M.; Obaid, A. Y. Synthesis of Magnetic Multi-walled Carbon Nanotubes/Magnetite/Chitin Magnetic Nanocomposite for the Removal of Rose Bengal from Real and Model Solution. *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, 20, 3559–3567.

84. Liu, C.-H.; Li, J.-J.; Zhang, H.-L.; Li, B.-R.; Guo, Y. Structure Dependent Interaction Between Organic Dyes and Carbon Nanotubes. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2008**, 313–314, 9–12.

85. Pyrzynska, K. Application of Carbon Sorbents for the Concentration and Separation of Metal Ions. *Anal. Sci.* **2007**, 23, 631.

86. Dieterle, M.; Blaschke, T.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of Adsorption of Human Monoclonal Antibodies on Cation Exchange Chromatographic Materials. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1205, 1-9.

87. Blaschke, T.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of Native and Mono-PEGylated Bovine Serum Albumin on Anion-exchangers. *J. Chromatogr. A* **2013**, 1277, 58-68.
88. Myers, D., Surfaces, Interfaces, and Colloids: Principles and Applications. 2nd ed.; New York, **1999**.
89. Crowe, M. C.; Campbell, C. T. Adsorption Microcalorimetry: Recent Advances in Instrumentation and Application. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2011**, 4, 41-58.
90. Fischer-Wolfarth, J. H.; Hartmann, J.; Farmer, J. A.; Flores-Camacho, J. M.; Campbell, C. T.; Schauermann, S.; Freund, H. J. An Improved Single Crystal Adsorption Calorimeter for Determining Gas Adsorption and Reaction Energies on Complex Model Catalysts. *Rev. Sci. Instrum.* **2011**, 82, 024102.
91. Blaschke, T.; Varon, J.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of PEGylated Lysozyme on a Strong Cation Exchange Resin. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 4720-4726.

CAPÍTULO 2:

Objetivos

2.1. Objetivos gerais

O principal objetivo deste trabalho de doutorado foi contribuir para a compreensão de processos de adsorção de proteínas e corantes sobre a superfície de nanotubos de carbono, sobretudo de um ponto de vista termodinâmico. Nesse sentido, dois trabalhos independentes foram realizados, cujos objetivos gerais foram:

- ❖ Trabalho 1: Descrever termodinamicamente o processo de adsorção da proteína albumina do soro bovino (BSA) sobre a superfície de nanotubos de carbono;
- ❖ Trabalho 2: Avaliar a termodinâmica de adsorção dos azocorantes vermelho 40, vermelho ponceau e vermelho do congo sobre a superfície de nanotubos de carbono.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Objetivos específicos do trabalho 1

- ❖ Estudar o processo de adsorção da BSA sobre a superfície de nanotubos de carbono, avaliando a influência do pH e da força iônica do meio sobre esse processo;
- ❖ Investigar o papel da estrutura do nanotubo de carbono sobre o processo de adsorção da proteína, comparando os processos de adsorção da BSA em superfícies de nanotubos de carbono de paredes múltiplas e de parede simples;
- ❖ Determinar a influência da funcionalização da superfície dos nanotubos de carbono de parede simples sobre o processo de adsorção da proteína;
- ❖ Utilizar a calorimetria de titulação isotérmica para determinar a variação de entalpia de adsorção da proteína como uma função da cobertura superficial dos adsorventes;

- ❖ Obter os parâmetros termodinâmicos de variação de energia livre de Gibbs de adsorção e de variação de entropia de adsorção para a BSA nos diferentes sistemas estudados;
- ❖ Determinar os parâmetros termodinâmicos de adsorção para a BSA na condição de diluição infinita;
- ❖ Avaliar o efeito de íons da série de Hofmeister sobre o processo de adsorção da proteína em superfície de nanotubo de carbono de paredes múltiplas;

2.2.2. Objetivos específicos do trabalho 2

- ❖ Avaliar o processo de adsorção dos azocorantes vermelho 40, vermelho ponceau e vermelho do congo sobre a superfície de nanotubos de carbono de paredes múltiplas, utilizando as diferenças estruturais entre as espécies corantes como sondas moleculares para compreensão das interações corante-superfície;
- ❖ Avaliar o processo de adsorção dos azocorantes vermelho 40, vermelho ponceau e vermelho do congo sobre a superfície de carvão ativado a fim de estabelecer diferenças entre a superfície desse adsorvente e a superfície dos nanotubos de carbono de paredes múltiplas;
- ❖ Utilizar a calorimetria de titulação isotérmica para determinar a variação de entalpia de adsorção dos corantes como uma função da cobertura superficial dos adsorventes avaliados;
- ❖ Obter os parâmetros termodinâmicos de variação de energia livre de Gibbs de adsorção e de variação de entropia de adsorção para os corantes nos diferentes sistemas estudados;
- ❖ Determinar os parâmetros de adsorção dos corantes na condição de diluição infinita;

CAPÍTULO 3:

Estudo Termodinâmico da Mudança Conformacional de BSA Induzida por Adsorção em Nanotubos de Carbono

Resumo

O desenvolvimento de biodispositivos baseados no interfaceamento proteína-nanotubo de carbono tem recebido atenção devido ao grande número de aplicações envolvendo estes nanomateriais. Entretanto, aspectos sobre os mecanismos de interação associados ao fenômeno de adsorção de proteínas em nanotubos de carbono (CNTs), tão importantes para tais aplicações, ainda são pouco conhecidos. Neste trabalho estudou-se o fenômeno de adsorção da proteína albumina do soro bovino (BSA) sobre a superfície de CNTs de paredes simples (SWCNTs) e múltiplas (MWCNTs) por meio de isotermas de adsorção e curvas de variação de entalpia de adsorção (ΔH_{ads}) obtidas por titulação calorimétrica isotérmica. O processo de adsorção dependeu das propriedades superficiais do CNT, do pH e da força iônica do meio, sendo que maiores capacidades de adsorção foram observadas em pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína. Para todos os sistemas estudados os valores de ΔH_{ads} em condição de diluição infinita foram muito negativos ($\Delta H_{ads}^{\infty} < -918,6 \text{ kJ mol}^{-1}$). Este resultado tem nos levado a propor que os CNTs são capazes de induzir variações conformacionais na BSA durante o processo de adsorção, as quais estabilizam a proteína sobre a superfície hidrofóbica do nanomaterial. O efeito de íons da série de Hofmeister foi avaliado sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT, sendo este efeito dependente da natureza dos íons.

3.1. Introdução

Os avanços no campo da nanotecnologia possibilitam o surgimento de novos materiais nanoestruturados dentre os quais se destacam aqueles com potencial aplicação no desenvolvimento de dispositivos biomédicos, como biosensores utilizados no diagnóstico de doenças e carreadores de fármacos.¹ Atualmente, os nanotubos de carbono (CNTs) compõem um dos pilares das pesquisas em bionanotecnologia devido a suas propriedades eletrônicas, mecânicas e térmicas apreciáveis,²⁻⁴ além de serem considerados materiais biocompatíveis.⁵⁻⁹ Entretanto, para garantir o uso seguro dessas nanoestruturas em procedimentos clínicos invasivos, torna-se essencial compreender o mecanismo de adsorção de biomoléculas, tais como proteínas, sobre a superfície dos mesmos. Isso porque a adsorção de proteínas é um dos primeiros eventos que ocorre quando um fluido biológico, como o sangue, entra em contato com superfícies sólidas,¹⁰ processo este que pode desencadear a perda da estrutura e da função biológica das proteínas. Ao mesmo tempo, a compreensão dos mecanismos de interação entre CNTs e proteínas pode contribuir para o desenvolvimento de métodos de interfaceamento biomolécula-nanomaterial que retenham as propriedades biológicas das proteínas, o que é fundamental para o desenho de novos biomateriais funcionais,^{11,12} tais como nanossensores e nanorreatores.^{13,14}

Nesse contexto, estudos envolvendo a interação entre proteínas e CNTs, sejam de parede simples (SWCNT) ou de paredes múltiplas (MWCNTs), têm recebido grande atenção nas duas últimas décadas, contribuindo para a compreensão do papel dos CNTs sobre a perda da função biológica de proteínas.¹⁵⁻¹⁷ Apesar dos avanços nesta área, poucos trabalhos buscaram uma compreensão termodinâmica detalhada sobre a interação CNT-proteína e pouco se conhece sobre o efeito de diferentes cossolutos sobre este processo.

Estudos como estes poderiam elucidar as forças motrizes envolvidas na adsorção de proteínas, fornecendo bases para compreensão dos mecanismos envolvidos.

Uma forma de se obter informação acerca da interação entre proteínas e superfícies sólidas é por meio de estudos de isothermas de adsorção.¹⁸⁻²⁰ Amplos estudos nessa área apontam que a adsorção de proteínas sobre essas superfícies é um fenômeno complexo que envolve interações eletrostáticas, de van der Waals, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio,²¹⁻²³ podendo ocorrer com perda da estrutura nativa da biomolécula.²⁴ Assim, a utilização de proteínas modelo, como a albumina do soro bovino (BSA), é estratégica para o estudo de adsorção de proteínas sobre CNTs.

A BSA é uma proteína da classe das soro albuminas, a classe de proteínas mais abundantemente encontrada no plasma sanguíneo de animais, e cuja função biológica está associada ao transporte de substâncias no organismo. Trata-se de uma proteína globular de massa molar igual a $66.300 \text{ g mol}^{-1}$ e ponto isoelétrico em torno de 4,8. Ela é constituída por 583 resíduos de aminoácido que formam uma estrutura secundária constituída principalmente por α -hélices, apresentando grande semelhança com a HSA (albumina do soro humano). Dentre os aminoácidos que a constituem, destaca-se o baixo conteúdo de resíduos de triptofano (apenas 2) e a elevada quantidade de resíduos de cistina e aminoácidos ionizáveis, como ácido aspártico, ácido glutâmico, lisina e arginina. Por apresentar um grande número desses resíduos ionizáveis, sua estrutura e carga são altamente dependentes do pH e da força iônica do meio.^{25,26}

O primeiro trabalho a avaliar a adsorção de BSA sobre superfícies contendo CNTs foi realizado, em 2007, por Valenti et al..²⁷ Utilizando a técnica de reflectometria para obter isothermas de adsorção em diferentes condições termodinâmicas de pH e força iônica, os autores verificaram a importância da contribuição das interações hidrofóbicas para o processo de adsorção da proteína. Li et al.,¹⁵ estudando a adsorção de BSA sobre

MWCNTs funcionalizados com ciclodextrinas por meio de difração de raio-X e dicroísmo circular, apontaram que estas mesmas forças são as principais responsáveis pela alteração da estrutura secundária da BSA durante o processo. Li et al.,²⁸ através das técnicas de fluorescência e dicroísmo circular, avaliaram a interação CNT-BSA utilizando SWCNTs funcionalizados com grupos carboxílicos e obtiveram, pela primeira vez, dados termodinâmicos associados a esta interação. Os autores utilizaram o modelo de Stern-Volmer para determinação da constante de interação CNT-BSA em diferentes temperaturas e determinaram a variação de entalpia de interação utilizando equação de van't Hoff. O mesmo grupo de pesquisa obteve resultados semelhantes com o uso de SWCNTs funcionalizados com grupos amino e adicionalmente sugeriram que um dos resíduos de triptofano da BSA é o único sítio de ação na interação da proteína com o SWCNT.²⁹

No que se refere ao estudo do efeito de cossolutos sobre a interação CNT-BSA, apenas eletrólitos simples como NaCl foram investigados,^{28,29} deixando espaço para estudos envolvendo sais mais complexos com a capacidade de alterar a estrutura do solvente, tais como os eletrólitos da série de Hofmeister.³⁰ Além disso, é do nosso conhecimento que nenhum trabalho determinou a variação de entalpia de adsorção da proteína BSA sobre CNTs por meio de medidas calorimétricas. A microcalorimetria de titulação isotérmica (ITC), combinada com experimentos de isoterma de adsorção, é uma poderosa ferramenta nesse sentido, pois permite determinar a variação de entalpia de adsorção como uma função da cobertura superficial do adsorvente. Esta técnica tem sido utilizada com sucesso para o estudo de adsorção de proteínas em diferentes interfaces sólido-solução.³¹⁻³⁷

Nesse trabalho, a termodinâmica de interação entre a proteína BSA e CNTs foi investigada por meio do estudo de isotermas de adsorção e medidas de calorimetria de

titulação isotérmica. O estudo foi realizado com SWCNTs funcionalizados com grupos carboxílicos (SWCNT-COOH) ou hidroxílicos (SWCNT-OH) e com MWCNT a fim de determinar o efeito da estrutura e funcionalização do CNT sobre o processo de adsorção. Além disso, o efeito de cátions e ânions da série de Hofmeister sobre a interação BSA-MWCNT foi avaliado. Parâmetros termodinâmicos de adsorção foram determinados como uma função da cobertura superficial do adsorvente.

3.2. Parte experimental

3.2.1. Materiais

Albumina do soro bovino (BSA) foi obtida da Sigma-Aldrich ($\geq 99\%$). Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) e de parede simples carboxilados (SWCNT-COOH) e hidroxilados (SWCNT-OH) foram comprados da CNT CO., LTD., Korea. As especificações técnicas para cada adsorvente foram fornecidas pelo fabricante: MWCNT (diâmetro externo: 10-40 nm; comprimento: 1-25 μm ; pureza: $> 93\%$ m/m; área superficial específica: 150-250 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$); SWCNT-COOH (diâmetro externo: 1-2nm; comprimento: $\sim 30 \mu\text{m}$; pureza: $> 90 \%$ m/m; área superficial específica: 380 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$; conteúdo de -COOH: 2,73% m/m) e SWCNT-OH (diâmetro externo: 1-2 nm; tamanho: $\sim 30 \mu\text{m}$; pureza: $>93 \%$ m/m; área superficial específica: 380 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$; conteúdo de -OH: 3,96% m/m).

Soluções tampão foram preparadas com ácido acético, CH_3COOH (100%; Merk) e acetato de sódio (99%; Vetec). Os sais contendo cátions e ânions da série de Hofmeister foram tiocianato de sódio, NaSCN (98%; Sigma-Aldrich), sulfato de sódio, Na_2SO_4 (99%; Sigma-Aldrich), cloreto de bário, BaCl_2 (99%; Sigma-Aldrich), cloreto de tetrametilamônio, $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ (98%; Sigma-Aldrich) e cloreto de amônio, NH_4Cl (99,5%; Isofar). Todos os reagentes adquiridos foram de grau analítico e utilizados sem

purificação adicional. Água deionizada (Milli-Q, Millipore) foi utilizada para o preparo de todas as soluções.

3.2.2. Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção de BSA foram obtidas em frascos de vidro (30 mL) nos quais 10,0 mg de adsorvente (MWCNT, SWCNT-COOH ou SWCNT-OH) foram dispersos em 10,0 mL de uma solução aquosa da proteína cuja concentração variou entre 0,08 e 1,20 mg mL⁻¹. As soluções aquosas de BSA foram preparadas em tampão acetato no pH desejado (3,6; 4,8 ou 5,8), na ausência ou presença de diferentes concentrações (10 ou 100 mmol L⁻¹) dos eletrólitos contendo íons da série de Hofmeister. Cada sistema, depois de preparado, foi agitado manualmente por 15 minutos e colocado em banho termostático por pelo menos 18 horas a (25,0 ± 0,1) °C a fim de que os sistemas alcançassem o equilíbrio termodinâmico. Esse tempo também foi suficiente para que todo o adsorvente decantasse no fundo dos frascos. Posteriormente, cada sistema teve seu sobrenadante coletado e a concentração de equilíbrio da proteína (C_e) foi determinada por espectroscopia de absorção molecular em 280 nm utilizando um espectrofotômetro Shimadzu UV-2550. Para cada condição experimental, sistemas na ausência de proteína foram preparados e utilizados como brancos.

A quantidade de proteína adsorvida sobre a superfície do adsorvente (Γ_{BSA}), expressa em mg m⁻², foi calculada pela equação 3.1:

$$\Gamma_{BSA} = \frac{(C_0 - C_e)V}{mS} \quad (3.1)$$

em que C_0 e C_e são as concentrações inicial e de equilíbrio da proteína na solução, em mg mL⁻¹, V é o volume de solução, em mL, m é a massa de adsorvente, em g, e S é a área superficial específica do adsorvente, em m² g⁻¹. Determinações foram realizadas em

duplicata e os valores de Γ_{BSA} reportados são as médias dos valores obtidos. Os coeficientes de variação determinados foram menores do que 5,0%.

3.2.3. Titulação calorimétrica isotérmica

Medidas de titulação calorimétrica isotérmica foram realizadas em um calorímetro TAM III Isothermal Titration Nanocalorimeter da TA Instruments, controlado pelo software *TAM Assistant*TM. Os experimentos foram feitos utilizando celas de reação (amostra e referência) de aço inoxidável de volume total igual a 4,00 mL. Em cada experimento de titulação adicionaram-se 4,00 mg do adsorvente (SWCNT ou MWCNT) e 2,70 mL do solvente (solução tampão com pH e concentração de sal adequadamente escolhidos) à cela de amostra. A cela de referência foi preenchida apenas com o solvente.

A solução titulante foi uma solução de BSA (9,00 mg mL⁻¹, quando o adsorvente foi o MWCNT ou 6,30 mg mL⁻¹, quando os adsorventes foram o SWCNT-COOH e SWCNT-OH) que foi preparada utilizando o mesmo solvente utilizado para preencher as celas de amostra e referência. Todas as soluções de trabalho foram desgaseificadas por 10 minutos em bomba de vácuo.

Para o procedimento de titulação, 15 injeções consecutivas de 20 µL da solução titulante foram realizadas no interior da cela de amostra por meio de uma seringa Hamilton de volume total igual a 500 µL controlada por um bomba pistão 3810 da TA Instruments. O intervalo de tempo entre cada injeção foi de pelo menos 90 minutos, tempo suficiente para que o sinal no termograma de potência versus tempo retornasse à linha base. Durante todo o procedimento de titulação, a dispersão (adsorvente + solvente) na cela de amostra foi mantida sob agitação utilizando um agitador de ouro do tipo hélice girando a uma taxa constante de 180 rpm. Para cada sistema, a titulação da solução de

proteína sobre o solvente na ausência do adsorvente e a titulação do solvente sobre o solvente + adsorvente foram realizados como experimentos de branco. Todos os experimentos foram realizados em um ambiente de temperatura altamente controlada ($25,0000 \pm 0,0001$) °C, sendo cada medida realizada em duplicata.

3.2.4. Modelos de isotermas de adsorção

Para melhor compreensão dos processos de adsorção da proteína BSA sobre os adsorventes estudados, dois modelos de isotermas de adsorção foram aplicados aos dados experimentais obtidos: o modelo de Langmuir e o modelo de Freundlich.

O modelo da isoterma de Langmuir descreve quantitativamente a distribuição de um adsorvato entre a fase fluídica e a superfície sólida de um adsorvente baseando-se nas seguintes hipóteses: (i) a adsorção ocorre em uma única camada e em sítios específicos homogêneos do adsorvente; (ii) uma vez que um sítio esteja ocupado por uma molécula do adsorvente este sítio fica indisponível para interação simultânea com outras moléculas; (iii) todos os sítios possuem a mesma energia, independente do grau de ocupação da superfície do adsorvente e (iv) não há interação entre as moléculas adsorvidas que ocupam sítios vizinhos.

A equação do modelo de Langmuir, que fornece quantidade de adsorvato adsorvida sobre o adsorvente na condição de equilíbrio termodinâmico (Γ_e), é dada a seguir:

$$\Gamma_e = \frac{\Gamma_{m\acute{a}x} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (3.2)$$

cuja forma linearizada é:

$$\frac{C_e}{\Gamma_e} = \frac{1}{\Gamma_{m\acute{a}x}K_L} + \frac{1}{\Gamma_{m\acute{a}x}}C_e \quad (3.3)$$

em que C_e é a concentração de equilíbrio do adsorbato no sobrenadante, em mol L⁻¹, $\Gamma_{m\acute{a}x}$ é a quantidade de adsorbato adsorvida por unidade de área do adsorvente, em mg m⁻², necessária para saturar a superfície do adsorvente e K_L é a constante de Langmuir (L mol⁻¹). Um gráfico de C_e/Γ_e versus C_e permite a determinação dos parâmetros Γ_{max} e K_L a partir dos coeficientes linear e angular da reta obtida.

O modelo da isoterma de Freundlich consiste de uma relação empírica que descreve a adsorção de moléculas sobre superfícies heterogêneas baseando-se no pressuposto de que a adsorção ocorre em multicamadas com interação entre as moléculas do adsorbato na superfície do adsorvente. Deste modo é assumido que os sítios de interação possuem energias diferentes. A equação que descreve o modelo de Freundlich é dada por:

$$\Gamma_e = K_F C_e^{1/n} \quad (3.4)$$

em que Γ_e e C_e são definidos como no modelo de Langmuir; K_F , em mg g⁻¹ (L mg⁻¹)^{1/n}, e n são as constantes de Freundlich que representam a capacidade adsorviva e a intensidade da interação adsorbato-adsorvente, respectivamente. A forma linearizada da equação 3.4 é dada pela equação 3.5:

$$\log \Gamma_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e \quad (3.5)$$

A inclinação e o intercepto obtidos a partir do gráfico de $\log \Gamma_e$ versus $\log C_e$ permitem facilmente a obtenção dos valores de n e K_F , respectivamente.

3.2.5. Medidas de potencial zeta

A carga superficial dos adsorventes e da BSA foi medida utilizando um sistema compacto Zetasizer, Nano series, Nano-ZS da Malvern Instruments. Para cada adsorvente, 10,0 mg do sólido foram dispersos em 10,0 mL de solvente (tampão acetato em diferentes valores de pH) utilizando ultrassom de banho durante 1 min. Posteriormente, as amostras foram deixadas em banho termostático a 25,0 °C para que as partículas maiores sedimentassem. O sobrenadante contendo as partículas menores que permaneceram dispersas foi recolhido e analisado para determinação do potencial zeta (ζ). Para a proteína, soluções de BSA com concentração de 1,00 mg mL⁻¹ foram preparadas em diferentes soluções-tampão e analisadas diretamente para determinação do potencial zeta.

3.2.6. Calorimetria diferencial de varredura

A desnaturação térmica da BSA foi avaliada utilizando um calorímetro NanoDSC desenvolvido pela TA instruments. Soluções de BSA 2,50 mg mL⁻¹ preparadas em solução tampão de pH adequado foram desgaseificadas por 10 minutos e adicionadas à cela de amostra do calorímetro. A solução tampão utilizada para o preparo da solução de proteína foi adicionada à cela de referência. Enquanto a temperatura das celas foi elevada de 30 a 125 °C a uma taxa de 1 °C min⁻¹, o fluxo de energia na forma de calor para manter as duas celas em equilíbrio térmico foi registrado. Uma varredura de temperatura também foi realizada com a solução tampão preenchendo as duas celas do calorímetro e a partir dos dados, termogramas foram obtidos utilizando o software TA NanoAnalyze versão 2.4.1.

3.3. Resultados e discussão

Para avaliar o efeito dos sais da série de Hofmeister sobre o processo de adsorção da BSA em CNTs é importante conhecer bem as características de adsorção desta proteína sobre a superfície destas nanoestruturas na ausência destes cossolutos. Dessa forma, um estudo termodinâmico detalhado do processo de adsorção da BSA sobre a superfície de CNTs na ausência de eletrólitos de Hofmeister foi realizado.

3.3.1. Isotermas de adsorção de BSA em CNTs

Isotermas de adsorção são curvas que descrevem a variação da quantidade de soluto (adsorbato) adsorvida por unidade de massa (ou área superficial) de adsorvente em função da concentração de adsorbato em solução que se encontra em equilíbrio com o adsorbato adsorvido. Elas são as representações mais comuns de dados de adsorção, podendo fornecer interpretações moleculares a respeito do processo de interação entre um soluto e uma interface. A figura 3.1 mostra a isoterma de adsorção de BSA sobre a superfície de MWCNT, em tampão acetato pH 4,8, a 25 °C.

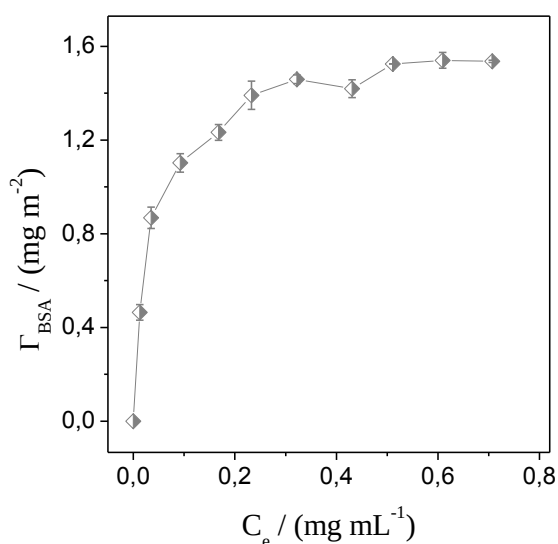


Figura 3.1. Isotherma de adsorção de BSA sobre MWCNT em pH 4,8, a 25 °C.

O aumento da concentração de equilíbrio da BSA (C_e) leva a um aumento do valor da quantidade de proteína adsorvida (Γ_{BSA}) até um dado valor de C_e (0,51 mg mL⁻¹) a partir do qual Γ_{BSA} torna-se constante, indicando a saturação energética da superfície do MWCNT. A quantidade máxima de BSA adsorvida ($\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$) é de 1,5 mg m⁻² (289 mg g⁻¹). Apesar de os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ para superfícies de carbono não serem muito recorrentes na literatura, o valor encontrado por nós apresenta ordem de grandeza igual àquela encontrada por Valenti et al.²⁷ que estudaram a adsorção de BSA em superfície de sílica recoberta por nanotubos de carbono de parede simples. Por exemplo, para sistemas de BSA em tampão fosfato 5 mM em pH 4,8 os autores relataram valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ iguais a 4,2 mg m⁻². No que se refere à adsorção de BSA sobre a superfície de outros adsorventes, vários trabalhos têm sido reportados. Os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ encontrados nesses casos dependem fortemente das características superficiais do adsorvente, bem como das diferentes condições experimentais de adsorção, como pH, temperatura, força iônica e presença de co-solutos, conforme verificado na tabela 3.1.

Tabela 3.1. Valores de quantidade adsorvida de BSA sobre diferentes superfícies sólidas.

Superfície	Condições experimentais	Faixa de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ observada/ mg g^{-1}	Referência
Hidroxiapatita	Tampão acetato de sódio 0,02 M ($5,15 < \text{pH} < 7,15$) e diferentes eletrólitos (NaCl, CaCl_2 , Na_2HPO_4 ou NaF); 37 °C	Até 47,1 (1,81)	Wassell et al. ³⁸
Montmorillonita	Tampão fosfato 50 mM; pH 4,5; NaCl 150 mM; 22 °C.	550	Lepoitevin et al. ³⁹
Sílica coloidal modificada	Tampão fosfato 50 mM; pH 7,4; 20 °C.	~ 18 (0,07)	Han et al. ⁴⁰
Dióxido de titânio	Tampão fosfato pH 4,0; 20 – 40 °C.	35,8 (3,3) a 42,6 (3,8)	Kopac et al. ⁴¹
	Tampão fosfato pH 5,0; 20 – 40 °C.	24,5 (2,2) a 33,4 (3,0)	
Hidrogel	Tampão Britton-Robinson pH 5,0; 25 °C	7,2 a 54,5	Demirel ⁴²

*Valores entre parênteses são expressos em mg m^{-2} .

Os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ expressos em mg g^{-1} para MWCNT (obtidos neste trabalho) são maiores do que aqueles mostrados na tabela 3.1 para outros adsorventes menos hidrofóbicos, exceto para montmorillonita. Entretanto, quando estes valores são comparados em mg m^{-2} , os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ para MWCNT são menores quando comparados àqueles na tabela 3.1, indicando que a maior capacidade de adsorção do MWCNT resulta em grande parte de sua área superficial específica elevada.

A alteração tanto do pH quanto da força iônica do meio são capazes de modular as interações intermoleculares envolvidas no processo de adsorção de proteínas em superfícies sólidas, podendo modificar a capacidade de adsorção de um adsorvente. Consequentemente, ao avaliar o efeito do pH e da força iônica sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT, informações importantes sobre o mecanismo de adsorção da proteína podem ser obtidas. Esses efeitos são avaliados nas seções a seguir.

3.3.1.1. Efeito do pH e da força iônica sobre a adsorção de BSA em CNTs

A figura 3.2 apresenta as isotermas de adsorção de BSA sobre a superfície de MWCNT em tampão acetato com diferentes valores de pH, na presença e ausência de KCl 200,0 mM.

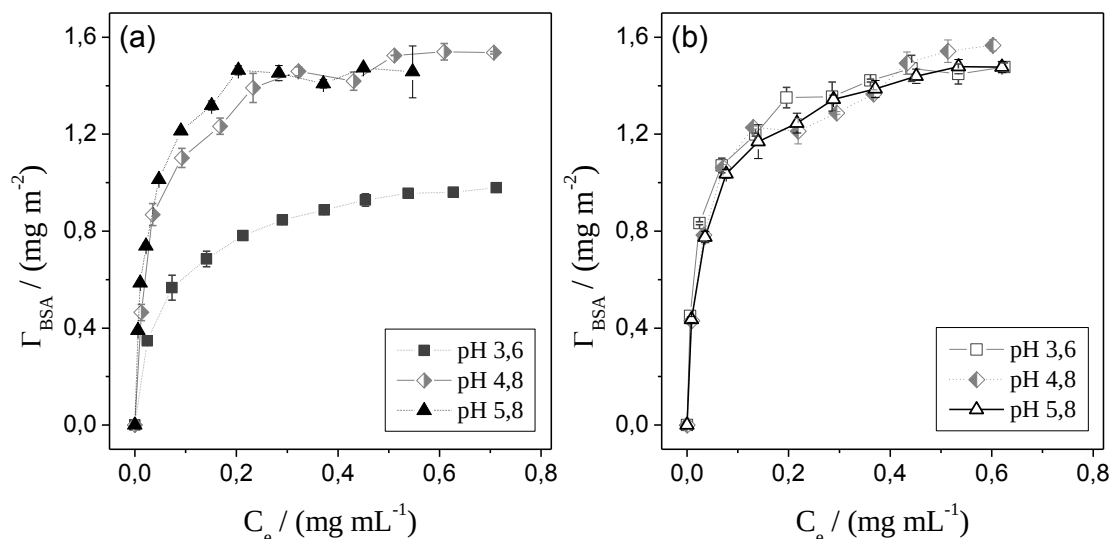


Figura 3.2. Efeito do pH sobre a adsorção de BSA em superfície de MWCNT, na (a) ausência e (b) presença de KCl 200,0 mM, a 25 °C.

Na ausência de KCl (figura 3.2a), os valores de Γ_{BSA} dependem do pH do sistema em toda a faixa de concentração e seguem a ordem Γ_{BSA} (pH = 3,6) < Γ_{BSA} (pH = 4,8) $\approx$ Γ_{BSA} (pH = 5,8), mostrando que a concentração hidrogeniônica do meio afeta as interações intermoleculares que modulam o processo de adsorção da BSA sobre o MWCNT.

Em pH 3,6 a proteína e o MWCNT encontram-se carregados positivamente, como indicado pelas medidas de potencial zeta [$\zeta_{BSA} = +(21,4 \pm 2,0)$ mV e $\zeta_{MWCNT} = +(24,2 \pm 13,6)$ mV], resultando em interações eletrostáticas repulsivas entre a BSA e os sítios de adsorção na superfície do MWCNT. Entretanto, a despeito da repulsão eletrostática BSA-MWCNT, os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ em pH 3,6 são elevados ($\Gamma_{BSA,m\acute{a}x} \approx 1,00 \text{ mg m}^{-2}$),

mostrando que interações não eletrostáticas (interações hidrofóbicas, interações de van der Waals e ligações de hidrogênio) entre a BSA e o MWCNT atuam durante o processo de adsorção da proteína. Quando o pH é elevado para 4,8, a BSA passa a ter carga líquida próxima de zero [$\zeta_{BSA} = -(0,7 \pm 0,4) \text{ mV}$], enquanto o MWCNT torna-se carregado negativamente [$\zeta_{MWCNT} = -(28,8 \pm 12,2) \text{ mV}$]. Nesta condição, as interações eletrostáticas repulsivas BSA-MWCNT são menos intensas e os valores de Γ_{BSA} aumentam em toda faixa de concentração de equilíbrio da proteína quando comparados à adsorção em pH 3,6 (figura 3.2a). Adicionalmente, em valores de C_e maiores, interações laterais repulsivas entre moléculas de BSA adsorvidas ocorrem na superfície do adsorvente impedindo que sítios de adsorção próximos entre si sobre a superfície do CNT sejam favoravelmente ocupados. Em pH 4,8 essas interações repulsivas laterais BSA-BSA são de menor intensidade do que em pH 3,6 e, como consequência, a saturação energética da superfície do MWCNT ocorre com um maior número de biomoléculas adsorvidas neste pH. Isso também explica porque a diferença entre os valores de Γ_{BSA} em pH 3,6 e 4,8 é maior para maiores valores de C_e .

Por outro lado, em pH 5,8, embora a BSA e o MWCNT estejam negativamente carregados [$\zeta_{BSA} = -(5,6 \pm 1,2) \text{ mV}$ e $\zeta_{MWCNT} = -(21,2 \pm 13,0) \text{ mV}$], os valores de Γ_{BSA} são iguais àqueles obtidos em pH 4,8, sugerindo um importante papel dos íons do tampão sobre o processo de adsorção da proteína. Em pH 5,8, o sistema tampão acetato apresenta mais de 90% das espécies que o constituem na forma de íons acetato cuja carga é balanceada por íons Na^+ , ambos capazes de blindar as interações eletrostáticas repulsivas nanotubo-proteína e proteína-proteína na superfície do adsorvente. O mesmo efeito de blindagem não acontece em pH 3,6 em que mais de 90% das espécies do tampão encontram-se na forma neutra de ácido acético. Esta hipótese está de acordo com os resultados obtidos para as isotermas de adsorção da BSA sobre MWCNT na presença de

200,0 mM do eletrólito KCl (figura 3.2b). Em pH 4,8 e 5,8, os valores de Γ_{BSA} não são alterados pela adição de KCl porque, em pH 4,8, as interações eletrostáticas contribuem pouco para o processo de adsorção e, em pH 5,8, os íons do tampão acetato encontram-se em concentração suficiente para promover o máximo efeito de blindagem eletrostática entre as espécies carregadas. Por outro lado, em pH 3,6 e na presença do KCl os valores de Γ_{BSA} aumentam e tornam-se iguais àqueles observados em pH 4,8, sugerindo que a repulsão eletrostática entre os poli-íons de BSA sobre a superfície do MWCNT é blindada pela presença dos íons K^+ e Cl^- , o que permite que mais moléculas de BSA se adsorvam. Estes resultados mostram a importância das interações eletrostáticas laterais entre as moléculas de BSA adsorvidas sobre o adsorvente para o processo de adsorção da proteína sobre MWCNT.

Em relação ao efeito do pH, o comportamento de adsorção da BSA sobre o MWCNT obtido neste trabalho é similar ao comportamento observado para a adsorção de outras proteínas em outros adsorventes, em que tem sido mostrado que a capacidade máxima de adsorção usualmente ocorre em valor de pH igual ou próximo ao ponto isoeletrico da proteína.^{27,34,43}

3.3.1.1. Efeito da estrutura do CNT sobre a adsorção da BSA

Uma vez que a capacidade de adsorção de um adsorvente é afetada por suas características superficiais, tais como porosidade, rugosidade, área superficial específica e forma,¹¹ avaliar o efeito da estrutura e funcionalização do CNT sobre o processo de adsorção da BSA é de extrema importância. A figura 3.3 mostra as isotermas de adsorção de BSA em superfícies de SWCNTs carboxilados (SWCNT-COOH) e hidroxilados (SWCNT-OH) em diferentes valores de pH e força iônica.

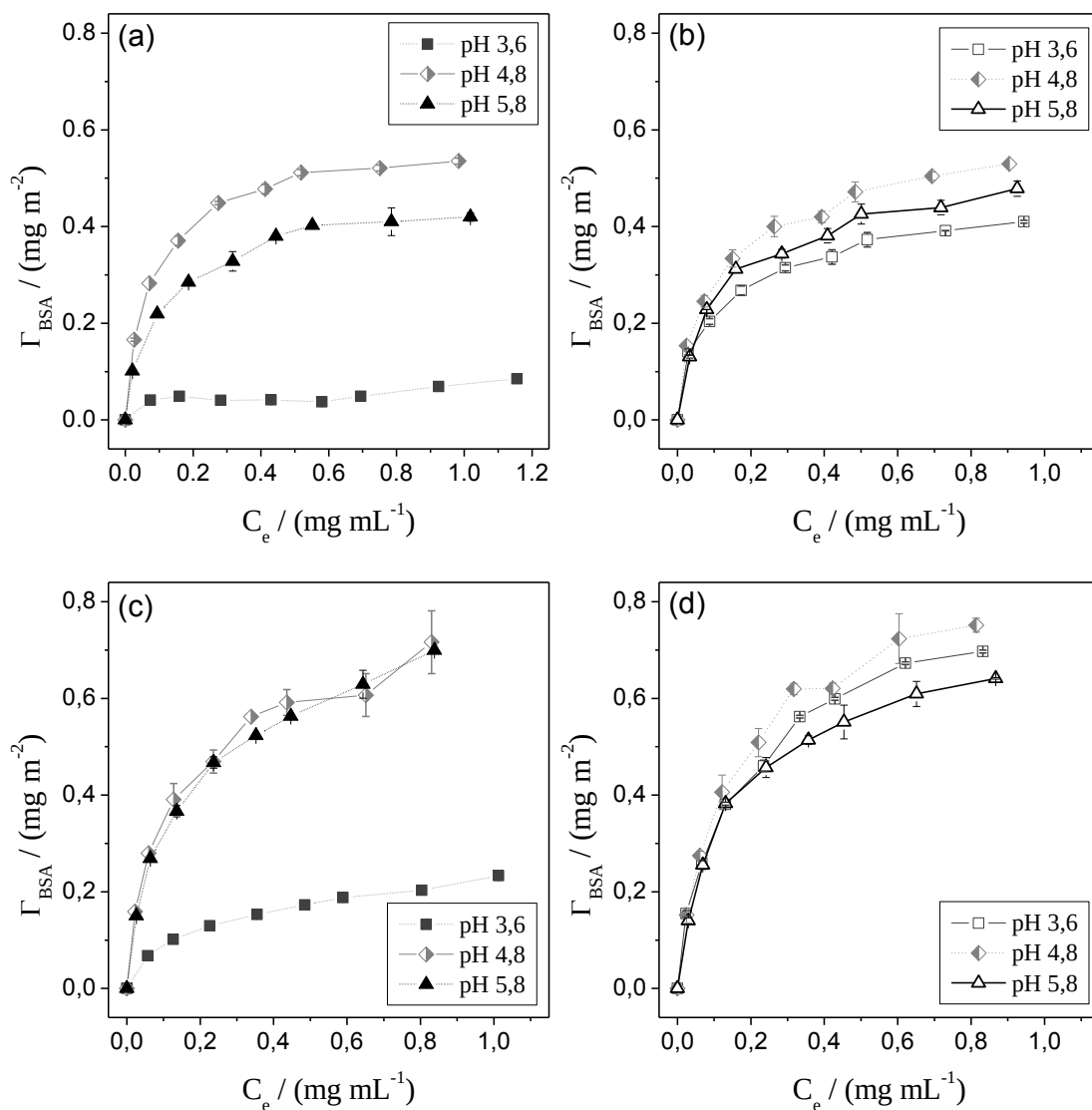


Figura 3.3. Isotermas de adsorção de BSA em SWCNTs, a 25 °C: **(a)** SWCNT-COOH, KCl 0 mM; **(b)** SWCNT-COOH, KCl 200,0 mM; **(c)** SWCNT-OH, KCl 0,0 mM e **(d)** SWCNT-OH, KCl 200,0 mM.

Observa-se que ambos os SWCNTs apresentam capacidades de adsorção menores do que o MWCNT para todos os valores de pH e força iônica avaliados. Os valores de Γ_{BSA} em MWCNT são até 11 vezes maiores do que aqueles encontrados para SWCNT-COOH, indicando que a interação nanotubo-proteína depende da estrutura do CNT. Esse resultado não pode ser diretamente relacionado à funcionalização dos SWCNTs, pois o MWCNT também apresenta em sua superfície grupos funcionais de mesma natureza

(grupos hidroxílicos e carboxílicos) que são provenientes do processo de purificação dessas nanoestruturas.⁴⁴

O efeito da química de superfície e da curvatura de CNTs sobre a adsorção de diferentes solutos, inclusive proteínas, tem sido avaliado. Por exemplo, Mu et al.²² avaliaram a capacidade de ligação de várias proteínas a MWCNTs utilizando técnicas espectroscópicas. Os autores avaliaram o efeito do diâmetro dos nanotubos de carbono bem como a presença de diferentes moléculas funcionalizantes em sua superfície sobre o quenching de fluorescência das proteínas, mostrando que a constante de ligação entre a nanoestrutura de carbono e a biomolécula é maior para nanotubos com maior diâmetro. Este efeito pode ser o mesmo que explica a maior adsorção da BSA em MWCNT (de maior diâmetro) comparada à adsorção em SWCNT (de menor diâmetro) observada neste trabalho.

Relativo à adsorção em SWCNTs, a BSA adsorve-se mais sobre a superfície do SWCNT-OH do que sobre a superfície do SWCNT-COOH. Isso pode estar associado ao tipo de funcionalização do adsorvente e/ou ao fato de a densidade superficial de grupos hidroxílicos sobre a superfície do SWCNT-OH ser cerca de quatro vezes maior do que a densidade superficial de grupos carboxílicos sobre a superfície do SWCNT-COOH. A concentração de grupos funcionais carboxílicos sobre a superfície do adsorvente SWCNT-COOH é 0,61 mmol g⁻¹, enquanto que para o adsorvente SWCNT-OH, a concentração de grupos hidroxílicos é igual a 2,32 mmol g⁻¹, de acordo com as informações do fabricante.

No que se refere à influência do pH sobre os valores de Γ_{BSA} na ausência de KCl (figura 3.3c), para o SWCNT-OH a tendência obtida é similar àquela observada quando o adsorvente foi o MWCNT, i.e., $\Gamma_{BSA}(\text{pH} = 3,6) < \Gamma_{BSA}(\text{pH} = 4,8) \approx \Gamma_{BSA}(\text{pH} = 5,8)$ e tem sido explicada pelas mesmas razões já discutidas. Por outro lado, para o SWCNT-

COOH a ordem observada é Γ_{BSA} (pH = 3,6) < Γ_{BSA} (pH = 5,8) < Γ_{BSA} (pH = 4,8), indicando uma menor eficiência de blindagem eletrostática promovida pelos íons do tampão em pH 5,8 para esse adsorvente. Para tentar compreender esses resultados, nós podemos avaliar o efeito do pH sobre as cargas superficiais dos SWCNTs e da BSA.

Em pH 3,6, quando a proteína está carregada positivamente, SWCNT-COOH e SWCNT-OH encontram-se com carga superficial negativa e positiva, respectivamente (tabela 3.2). Isso mostra que não são as interações eletrostáticas entre a proteína e os sítios de adsorção no CNT que explicam a diferença de adsorção da BSA sobre os dois SWCNTs, pois, caso contrário, as interações atrativas entre SWCNT-COOH e a BSA contribuiriam para maiores valores de Γ_{BSA} do que as interações repulsivas entre a proteína e o SWCNT-OH, o que não é verificado (figuras 3.3a e 3.3c). Esse resultado sugere a importância da formação de ligações de hidrogênio entre resíduos de aminoácido da proteína e os grupos funcionais na superfície do SWCNT sobre a modulação da capacidade de adsorção da proteína.

Uma vez que grupos carboxílicos na superfície do CNT, ao contrário dos grupos hidroxílicos, encontram-se desprotonados em pH 3,6, o número e a intensidade de ligações de hidrogênio entre a BSA e os sítios de adsorção sobre o SWCNT-COOH são menores do que aqueles para a interação entre a BSA e o SWCNT-OH. Quando o pH é elevado para 4,8 e 5,8, ambas as superfícies tornam-se negativamente carregadas (tabela 3.2), sendo a carga negativa sobre o SWCNT-OH provavelmente resultado da adsorção de íons acetato e não da desprotonação dos grupos hidroxilas, cujos valores de pK_a são elevados (maiores do que 9). Uma vez que a proteína está mais desprotonada nestes valores de pH, assim como os grupos carboxílicos do SWCNT-COOH, o número de ligações de hidrogênio que podem ser formadas entre resíduos de aminoácido da BSA e grupos carboxilados na superfície do SWCNT-COOH fica reduzido. Por outro lado,

elementos eletronegativos presentes em resíduos de aminoácidos da BSA, principalmente N e O, ainda podem fazer ligações de hidrogênio com os grupos hidroxílicos na superfície do SWCNT-OH, atuando como aceptores de hidrogênio.

Tabela 3.2. Potencial zeta de SWCNTs funcionalizados em diferentes valores de pH, a 25 °C.

pH	ζ / mV	
	SWCNT-COOH	SWCNT-OH
3,6	$-(8,65 \pm 2,92)$	$+(12,10 \pm 4,24)$
4,8	$-(20,10 \pm 2,17)$	$-(8,76 \pm 3,49)$
5,8	$-(16,15 \pm 1,91)$	$-(11,47 \pm 2,45)$

Para compreender o papel das interações eletrostáticas sobre o processo de adsorção da BSA em SWCNTs, isotermas também foram obtidas na presença de KCl 200,0 mM (figura 3.3b e 3.3d). Novamente, como observado para a adsorção de BSA sobre MWCNT em pH 4,8, o aumento da força iônica do meio não promoveu alterações nos valores de Γ_{BSA} . Contudo, em pH 3,6, eles tiveram aumentos de até 9 e 3 vezes para SWCNT-COOH e SWCNT-OH, respectivamente, confirmando que a interação eletrostática lateral BSA-BSA na superfície do adsorvente tem grande influência sobre os valores de Γ_{BSA} .

3.3.2. Termodinâmica de adsorção de BSA em CNTs

3.3.2.1. Modelos de isotermas e variação de energia livre de Gibbs de adsorção

Para descrever o processo de adsorção da BSA sobre os diferentes adsorventes estudados, os dados experimentais das isotermas foram ajustados aos modelos de Langmuir e Freundlich. Os parâmetros obtidos a partir dos modelos aplicados são apresentados na tabela 3.3.

Tabela 3.3. Constantes de Langmuir e de Freundlich para adsorção de BSA em CNTs em diferentes valores de pH e força iônica, a 25 °C.

pH	CNT	Langmuir			Freundlich		
		$\Gamma_{\text{BSA,máx}}$	K_L	R^2	K_F	n	R^2
KCl 0,0 mM							
3,6	MWCNT	1,07	9,71x10 ⁵	0,9985	27,71	3,34	0,9622
	SWCNT-COOH	0,09	2,10x10 ⁵	0,6365	6,19	5,38	0,2530
	SWCNT-OH	0,27	2,88x10 ⁵	0,9589	5,04	2,41	0,9939
4,8	MWCNT	1,62	1,70x10 ⁶	0,9980	54,06	3,68	0,9026
	SWCNT-COOH	0,57	8,86x10 ⁵	0,9993	25,89	3,15	0,9307
	SWCNT-OH	0,80	4,97x10 ⁵	0,9820	17,25	2,37	0,9663
5,8	MWCNT	1,52	3,42x10 ⁶	0,9988	56,34	3,61	0,9059
	SWCNT-COOH	0,46	6,66x10 ⁵	0,9970	14,25	2,71	0,9534
	SWCNT-OH	0,85	4,40x10 ⁵	0,9882	11,41	2,01	0,9203
KCl 200,0 mM							
3,6	MWCNT	1,53	2,60x10 ⁶	0,9986	65,16	4,16	0,9286
	SWCNT-COOH	0,45	6,33x10 ⁵	0,9941	19,19	3,18	0,9868
	SWCNT-OH	0,81	4,73x10 ⁵	0,9928	15,95	2,30	0,9809
4,8	MWCNT	1,63	1,42x10 ⁶	0,9888	50,83	3,53	0,9306
	SWCNT-COOH	0,58	6,36x10 ⁵	0,9931	21,01	2,92	0,9766
	SWCNT-OH	0,87	4,82x10 ⁵	0,9952	15,33	2,19	0,9610
5,8	MWCNT	1,56	1,68x10 ⁶	0,9978	51,39	3,61	0,9502
	SWCNT-COOH	0,52	5,56x10 ⁵	0,9931	15,88	2,72	0,9420
	SWCNT-OH	0,73	4,98x10 ⁵	0,9979	14,59	2,29	0,9412

Unidades: $[\Gamma_{e,\text{máx}}]$: mg m⁻²; $[K_L]$: L mol⁻¹; $[K_F]$: g^(1-1/n) mL^{1/n} g⁻¹

Para determinar o melhor modelo que descreve os dados de adsorção, a raiz do erro médio quadrático (REMQ) também foi determinada para avaliar a dimensão do erro associado à estimativa dos modelos. Os valores de REMQ encontram-se na tabela A.S1 do apêndice A. O ajuste do modelo de Langmuir apresentou melhores valores de coeficientes de correlação (superiores a 0,99, exceto para poucos casos) do que o modelo de Freundlich, enquanto os valores de REMQ não diferiram muito para os dois modelos, tendo variado entre 0,008 e 0,095. Em virtude dos nossos resultados, é difícil estabelecer qual modelo consegue prever melhor os dados experimentais. Apesar disso, algumas discussões a respeito do ajuste de Langmuir são importantes.

Os valores de $\Gamma_{BSA,m\acute{a}x}$ calculados a partir do ajuste de Langmuir estão de acordo com aqueles observados experimentalmente, seguindo as mesmas tendências já discutidas. Os valores de K_L obtidos dependem das condições termodinâmicas do meio e do tipo de adsorvente, sendo os maiores valores encontrados para a superfície do MWCNT, sugerindo uma interação mais favorável BSA-MWCNT em relação à interação BSA-SWCNTs.

Embora o modelo de Langmuir seja comumente utilizado para descrever o processo de adsorção de proteínas em diferentes adsorventes⁴³ e a despeito do bom ajuste desse modelo aos nossos dados experimentais, seus pressupostos não se adéquam aos sistemas em estudo aqui por inúmeras razões: i) a superfície dos CNTs não é homogênea devido à presença de grupos funcionais, impurezas e polidispersividade de tamanho e diâmetro dos nanotubos da amostra; ii) a interação BSA-BSA sobre a superfície do adsorvente é forte o suficiente para ser um dos fatores que determina a capacidade de adsorção dos CNTs e iii) uma única molécula de proteína pode interagir com mais de um sítio do adsorvente. Esses eventos que se encontram em desacordo com as considerações do modelo de Langmuir possivelmente promovem desvios da equação de Langmuir que

são opostos uns aos outros e acabam se cancelando e gerando bons ajustes experimentais. Apesar dessa inadequação aos pressupostos do modelo de Langmuir, o bom ajuste dos dados a este modelo sugere que o processo de adsorção da BSA sobre os CNTs ocorre em uma única camada.

No que se refere a uma abordagem termodinâmica, os modelos de Langmuir e Freundlich não são adequados aos nossos interesses, de forma que uma abordagem termodinâmica foi escolhida para interpretação do processo de adsorção. Segundo esta abordagem, a constante de equilíbrio para o processo de adsorção da BSA (K_{ads}) está relacionada à diferença entre o potencial químico da proteína na solução (sol) e no adsorvente (A) em um estado de referência (μ_{BSA}^o), segundo a equação 3.6:

$$K_{ads} = \exp \left[-\frac{\mu_{BSA}^{o,A} - \mu_{BSA}^{o,sol}}{RT} \right] \quad (3.6)$$

em que a diferença entre os potenciais químicos no estado de referência define a variação de energia livre de Gibbs molar de adsorção no estado de referência (ΔG_{ads}^o), tal que:

$$\Delta G_{ads}^o = \mu_{BSA}^{o,A} - \mu_{BSA}^{o,sol} = -RT \ln K_{ads} \quad (3.7)$$

O parâmetro K_{ads} pode ser determinado a partir do coeficiente angular da isoterma de adsorção da BSA de acordo com a equação:

$$K_{ads} = \lim_{C_e \rightarrow 0} \frac{C_e}{\Gamma_{BSA}} \quad (3.8)$$

em que a condição de diluição infinita para a proteína ($C_e \rightarrow 0$) é escolhida como estado de referência.

Para compreender a termodinâmica do processo de adsorção da BSA no estado de referência de diluição infinita é preciso conhecer as contribuições entálpica (ΔH_{ads}^o) e entrópica ($T\Delta S_{ads}^o$) para ΔG_{ads}^o , de acordo com a equação 3.9:

$$\Delta G_{ads}^o = \Delta H_{ads}^o - T\Delta S_{ads}^o \quad (3.9)$$

Apesar de fornecerem algumas informações sobre as forças motrizes para o processo de adsorção, os parâmetros ΔH_{ads}^o e ΔS_{ads}^o não podem ser interpretados de forma direta para outras condições termodinâmicas diferentes daquelas de diluição infinita, nas quais uma molécula do soluto interage com outras moléculas de soluto. Para superar essa limitação, Blaschke et al.³⁵ apresentaram uma proposta em que o estado de referência pode ser escolhido para qualquer concentração do soluto sobre a isoterma de adsorção (C_e^{ref}), à qual está associada uma quantidade adsorvida de referência (Γ_{BSA}^{ref}) na condição de equilíbrio. Nessa proposta, a constante de equilíbrio na concentração de interesse (K_{ads}^*) pode ser determinada a partir da inclinação da isoterma de adsorção na concentração C_e^{ref} de interesse, como expresso pela equação 3.10:

$$K_{ads}^* = \left. \frac{dC_e}{d\Gamma_{BSA}} \right|_{C_e \rightarrow C_e^{ref}} \quad (3.10)$$

Consequentemente a energia livre de Gibbs de adsorção no estado de referência escolhido pode ser calculada pela relação $\Delta G_{ads}^{ref} = \mu_{BSA}^{ref,A} - \mu_{BSA}^{ref,sol} = -RT \ln K_{ads}^*$. Para mais detalhes do modelo termodinâmico uma derivação completa é apresentada no capítulo introdutório.

A figura 3.4 mostra as curvas de ΔG_{ads}^{ref} em função de Γ_{BSA} para adsorção de BSA em CNTs nos diferentes valores de pH estudados.

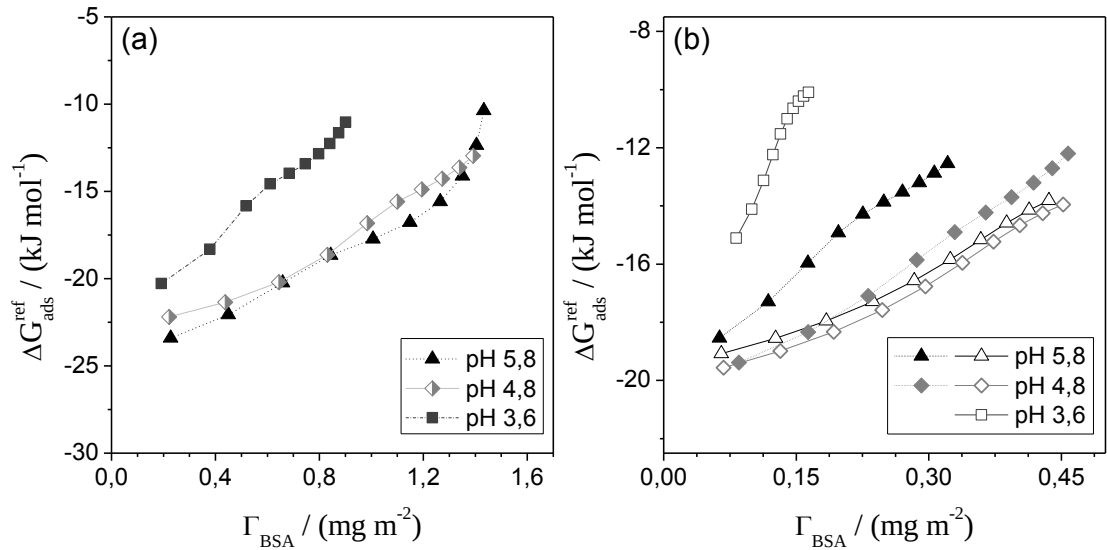


Figura 3.4. Curvas de ΔG_{ads}^{ref} versus Γ_{BSA} para **(a)** MWCNT e **(b)** SWCNT-COOH (símbolos fechados) e SWCNT-OH (símbolos abertos), em diferentes valores de pH, a 25 °C.

Os valores de ΔG_{ads}^{ref} são negativos para todas as superfícies de CNTs e para todos os valores de pH estudados, mostrando que a transferência da BSA da solução para a superfície do adsorvente, em seus respectivos estados de referência, é um processo espontâneo. Além disso, os valores de ΔG_{ads}^{ref} foram mais negativos para as superfícies nas quais as capacidades de adsorção foram maiores, sugerindo que para essas superfícies o processo de adsorção é mais favorável. Entretanto, para todos os adsorventes esses valores tornam-se menos negativos com o aumento de Γ_{BSA} . Para compreender estes resultados, é necessário conhecer as contribuições entálpica e entrópica para o termo ΔG_{ads}^{ref} . Para determinação da contribuição entálpica (ΔH_{ads}) a técnica de ITC foi utilizada, enquanto a contribuição entrópica foi calculada pela relação fundamental $\Delta G_{ads}^{ref} = \Delta H_{ads} - T\Delta S_{ads}^{ref}$. A análise termodinâmica dos resultados obtidos segue na próxima seção.

3.3.2.2. Calorimetria de titulação isotérmica (ITC)

O uso da ITC é bastante adequado em estudos de interação de proteínas com superfícies sólidas, pois a variação de entalpia medida durante a adsorção (ΔH_{ads}) fornece informações em nível molecular que outras técnicas não seriam capazes de fornecer, tal como o balanço energético das interações intermoleculares envolvidas no processo.⁴⁵ Nesse sentido, medidas calorimétricas de adsorção de BSA em superfície de CNTs foram realizadas.

Os termogramas resultantes dos experimentos de ITC para cada condição experimental foram similares. Para exemplificar, os termogramas obtidos para o experimento de adsorção de BSA sobre MWCNT em pH 5,8 são apresentados na figura 3.5.

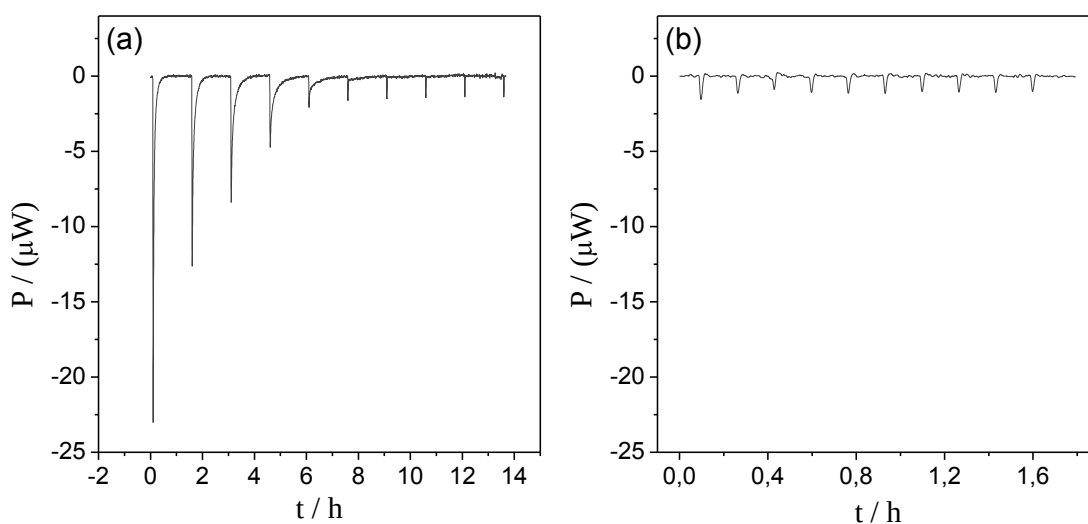


Figura 3.5. Termogramas obtidos a partir de ITC para titulação de BSA $9,0 \text{ mg mL}^{-1}$ em solução tampão pH 5,8 na **(a)** presença e **(b)** ausência de MWCNT, a 25°C .

A intensidade e a largura dos picos nos termogramas referentes à titulação da solução da proteína em solvente na presença (figura 3.5a) e ausência (figura 3.5b) do MWCNT são diferentes, indicando a ocorrência de eventos moleculares distintos para as

duas titulações. Esses eventos moleculares estão associados à interação entre a BSA e o MWCNT. A partir dos termogramas obtidos e das isotermas de adsorção, os valores de ΔH_{ads} para cada injeção i da solução concentrada de BSA no interior da cela calorimétrica foram calculados a partir da equação 3.11:

$$\Delta H_{ads}(i) = \frac{[q_{tot} - q_{dil} - q_{tampão}]}{n_{BSA}} \quad (3.11)$$

em que q_{tot} , q_{dil} e $q_{tampão}$ são as quantidades de energia na forma de calor, liberada ou absorvida, associadas à adição da solução da proteína na cela de amostra contendo o adsorvente disperso no solvente, à adição da solução da proteína no solvente e à adição do solvente sobre a cela de amostra contendo adsorvente + solvente, respectivamente. Estes valores foram obtidos pela integração das curvas de potência versus tempo em cada injeção. O termo n_{BSA} é o número de mols de BSA adsorvido para a referida injeção, sendo determinado a partir das isotermas de adsorção. A contribuição do termo $q_{tampão}$ foi desprezada para os valores de ΔH_{ads} , pois o sinal de potência associado foi da mesma ordem de grandeza do ruído do equipamento.

A curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} determinada a partir dos termogramas na figura 3.5, juntamente com os valores de ΔG_{ads}^{ref} e $T\Delta S_{ads}^{ref}$ para a mesma condição experimental, são mostrados na figura 3.6.

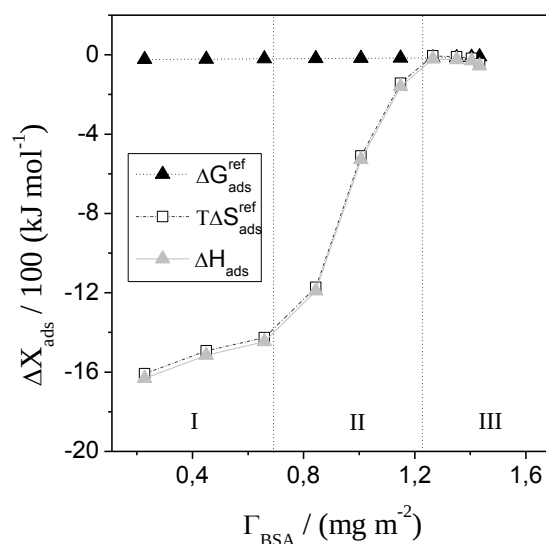


Figura 3.6. Parâmetros termodinâmicos de adsorção versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT em pH 5,8, a 25 °C.

O processo de adsorção da BSA sobre o MWCNT é entalpicamente dirigido e ocorre com a diminuição da entropia do sistema. Entretanto, o aumento dos valores de Γ_{BSA} faz com que o processo de adsorção torne-se cada vez menos entalpicamente favorável e menos entropicamente desfavorável, mostrando que o comportamento de adsorção da BSA é dependente da cobertura superficial do adsorvente. Informações detalhadas sobre o processo de adsorção podem ser obtidas a partir de uma análise cuidadosa do comportamento das curvas de ΔH_{ads} e $T\Delta S_{ads}^{ref}$ versus Γ_{BSA} , nas quais três regiões distintas podem ser identificadas (regiões I, II e III na figura 3.6).

Referente ao efeito de Γ_{BSA} sobre a variação de entalpia de adsorção, os valores de ΔH_{ads} na região I são muito negativos e variam pouco com o aumento de Γ_{BSA} , sugerindo que os eventos moleculares envolvendo o rompimento e formação de novas interações intermoleculares associados ao processo de adsorção da proteína não são alterados em grande extensão, nessa região, pelo aumento da cobertura superficial do adsorvente. Por outro lado, na região II, embora o processo de adsorção continue entalpicamente favorável ($\Delta H_{ads} < 0$), o aumento em Γ_{BSA} faz ΔH_{ads} variar

abruptamente e torna o processo de adsorção cada vez menos exotérmico. Esse resultado pode estar associado i) às interações repulsivas laterais que ocorrem entre moléculas de BSA adsorvidas; ii) aos sítios de adsorção heterogêneos do MWCNT e/ou iii) às mudanças conformacionais da BSA que ocorrem ao longo do processo de adsorção. Por fim, na região III, os valores de ΔH_{ads} tornam-se próximos de zero e variam pouco com o aumento de Γ_{BSA} .

Esses resultados podem ser mais bem explicados considerando que para cada valor de Γ_{BSA} , ΔH_{ads} é o resultado da contribuição de diferentes subprocessos, como mostrado de forma geral pela equação 3.12:⁴⁶

$$\Delta H_{ads} = \Delta H_{ads}^{dessolv.} + \Delta H_{ads}^{CNT-BSA} + \Delta H_{ads}^{BSA-BSA} + \Delta H_{ads}^{m.c.} \quad (3.12)$$

em que $\Delta H_{ads}^{dessolv.}$ é a variação de entalpia associada à reestruturação de moléculas e íons do solvente que são liberados durante o processo de dessolvatação da superfície do CNT e das moléculas de BSA; $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ é a variação entálpica associada à interação CNT-BSA; $\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$ é variação de entalpia relacionada às interações laterais BSA-BSA que se encontram adsorvidas sobre a superfície do CNT e $\Delta H_{ads}^{m.c.}$ é a variação de entalpia resultante de mudanças estruturais da BSA induzidas pelo processo de adsorção.

O termo $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ envolve a formação de novas interações intermoleculares entre a proteína e o nanotubo e, portanto, é sempre negativo. Por outro lado, $\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$ envolve interações repulsivas entre moléculas de BSA na superfície do CNT apresentando uma contribuição positiva para os valores de ΔH_{ads} . O termo $\Delta H_{ads}^{m.c.}$ pode ser dividido em dois outros termos, um positivo ($\Delta H_{ads}^{m.c.(+)}$) e outro negativo ($\Delta H_{ads}^{m.c.(-)}$): o primeiro resulta do rompimento de interações intramoleculares entre resíduos de aminoácido da BSA ao interagir com a superfície do CNT; o segundo é proveniente da

formação de novas interações intramoleculares entre resíduos de aminoácidos na superfície do nanotubo que leva a proteína a assumir uma conformação diferente daquela que ela apresenta em solução. Finalmente, o termo $\Delta H_{ads}^{dessolv.}$ envolve o rompimento de interações intermoleculares na dupla camada elétrica do nanotubo e da BSA, levando à liberação de moléculas de água e de íons que formarão novas interações intermoleculares com as espécies presentes no bulk da solução ou mesmo com outros resíduos de aminoácido da proteína que podem ser expostos durante o processo de adsorção. Este termo pode ser positivo ou negativo dependendo do balanço entálpico associado à magnitude das interações rompidas e formadas. A contribuição conjunta desses termos para cada valor de Γ_{BSA} define o módulo e o sinal de ΔH_{ads} .

Na região I da figura 3.6, as primeiras moléculas de BSA se adsorvem sobre o MWCNT, as quais interagem com sítios de adsorção que possuem energias entálpicas próximas, fazendo com que os valores de $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ se alterem pouco nessa faixa de Γ_{BSA} . Além disso, devido à baixa cobertura superficial do adsorvente, a interação lateral BSA-BSA sobre a superfície do nanotubo é desprezível, fazendo com o termo $\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$ seja negligenciável. Como consequência desses fatores, os processos de dessolvatação e de possíveis mudanças estruturais da BSA que ocorrem ao longo dessa faixa de valores de Γ_{BSA} não são alterados em grande extensão à medida que Γ_{BSA} aumenta, de tal forma que $\Delta H_{ads}^{dessolv.}$ e $\Delta H_{ads}^{m.c.}$ mudam pouco e, consequentemente, ΔH_{ads} praticamente não varia.

Os valores muito negativos de ΔH_{ads} observados na região I sugerem que o MWCNT é capaz de induzir mudanças conformacionais na estrutura da proteína, as quais são capazes de estabilizá-la sobre sua superfície. Provavelmente, nesta modificação estrutural, um grande número de resíduos de aminoácido da proteína é exposto para interagir com a superfície do CNT, sobretudo resíduos hidrofóbicos, levando a uma

grande contribuição dos termos $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$, $\Delta H_{ads}^{m.c.(-)}$ e/ou $\Delta H_{ads}^{dessolv.}$ para ΔH_{ads} . Esta contribuição pode estar associada a diferentes processos, a citar: (i) o grande número de interações de van der Waals e ligações de hidrogênio formadas entre a BSA e sítios de adsorção do MWCNT; (ii) a formação de ligações de hidrogênio e interações de van der Waals intramoleculares entre resíduos de aminoácido da BSA devido à sua reestruturação durante o processo de adsorção sobre a superfície do nanotubo e/ou (iii) as interações formadas entre moléculas do solvente e resíduos de aminoácido hidrofílicos da proteína expostos para interface proteína/solução durante a mudança conformacional da BSA.

Com o aumento da cobertura superficial (região II), os sítios de menor energia do MWCNT tornam-se saturados e a proteína começa a interagir com sítios de energia entálpica mais elevada, tornando os valores de $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ menos negativos. Além disso, em maiores valores de Γ_{BSA} as interações repulsivas proteína-proteína tornam-se importantes durante a adsorção. Quanto maior o valor de Γ_{BSA} , menor é a área disponível para cada molécula de proteína sobre a superfície do tubo e consequentemente maior é a energia de interação repulsiva BSA-BSA, tornando o termo $\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$ cada vez mais positivo. Adicionalmente, a BSA pode se adsorver sobre a superfície do MWCNT com uma orientação menos favorável do que aquela em valores de Γ_{BSA} mais baixos devido a menor disponibilidade de sítios de adsorção. Isso pode resultar na minimização de mudanças conformacionais da proteína na superfície do CNT. Nessa nova condição, a menor extensão das mudanças conformacionais diminui a contribuição dos termos $\Delta H_{ads}^{dessolv.}$, $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ e $\Delta H_{ads}^{m.c.(-)}$, aos quais nós temos creditado os valores de ΔH_{ads} muito negativos.

Ao longo de toda faixa de cobertura superficial do MWCNT discutida acima, o processo de adsorção ocorre com diminuição da entropia do sistema que resulta da perda de entropia configuracional e conformacional decorrente da transferência da proteína

para a superfície do adsorvente e da perda de entropia configuracional pela transferência de moléculas de solvente para a interface proteína adsorvida/solução devido à solvatação de resíduos de aminoácidos expostos da proteína durante seu processo de reestruturação.

Finalmente, na região III, para valores de Γ_{BSA} maiores que 238 mg g^{-1} , os valores de ΔH_{ads} se aproximam de zero, sendo os desvios associados a estas medidas muito altos. Isso decorre do seguinte motivo: em valores mais elevados de Γ_{BSA} a superfície do CNT apresenta uma cobertura superficial elevada e a inclinação na curva de Γ_{BSA} versus C_e diminui, fazendo com que o número de mols de proteína adsorvido em cada injeção seja baixo (da ordem de 10^{-10} mol). Isso reflete a proximidade dos valores de Γ_{BSA} nessa região comparado àquele associado à saturação da superfície do CNT (figura 3.2a). Como consequência, a variação de entalpia para a interação da proteína com o CNT medida pelo calorímetro em valores mais elevados de Γ_{BSA} torna-se baixa e, dessa forma, a diferença de energia ($q_{tot} - q_{dil}$) é da ordem do ruído do equipamento.

Curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} com perfis similares àquele observado na figura 3.6 têm sido reportadas na literatura.^{34,45} Além disso, valores de ΔH_{ads} tanto quanto ou mais negativos do que aqueles encontrados aqui têm sido relatados, como, por exemplo, nos estudos de Baier et al.⁴⁵ sobre adsorção de BSA em superfícies hidrofílicas de nanopartículas de poliestireno.

Investigando o processo de adsorção de α -amilase desnaturada sobre uma superfície moderadamente hidrofóbica, polietilenoglicol 600, Feng et al.⁴⁷ mostraram, através de medidas de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, que o conteúdo de estruturas secundárias ordenadas da proteína aumenta à medida que o processo de adsorção ocorre. Através de medidas calorimétricas, eles obtiveram valores de variação de entalpia de adsorção da proteína, tendo encontrado, para determinadas condições termodinâmicas, valores tão elevados quanto $-5473 \text{ kJ mol}^{-1}$. Utilizando a

teoria do deslocamento estequiométrico para adsorção, eles determinaram que os principais eventos moleculares associados à exotermicidade do processo foram a formação das interações entre a proteína e a superfície adsorvente e o ganho de conformação da proteína durante o processo de adsorção.

Apesar da evidência dos processos descritos na precedente discussão, não somos capazes de atribuir individualmente valores para cada um dos termos na equação 3.12 para um dado valor de Γ_{BSA} . Entretanto, podemos inferir sobre a importância da contribuição de cada termo modificando as condições termodinâmicas de adsorção, tal como o pH. A Figura 3.7 apresenta o efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} para a adsorção de BSA em MWCNT.

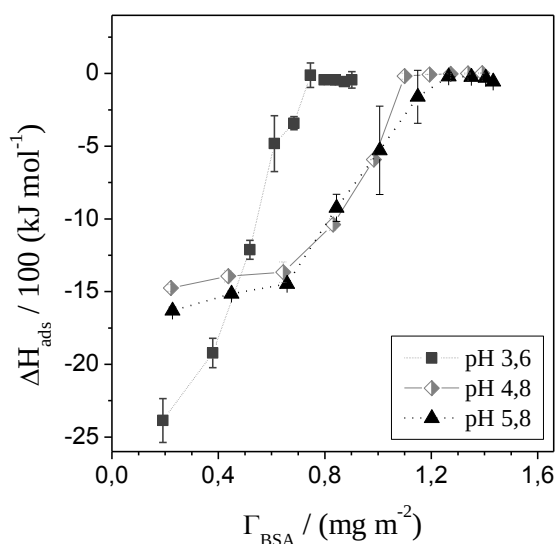


Figura 3.7. Efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, a 25 °C.

O perfil das curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} e a magnitude dos valores de ΔH_{ads} são dependentes do pH do meio. Quando o pH do sistema muda de 5,8 para 4,8, os valores de ΔH_{ads} variam pouco em toda faixa de valores de Γ_{BSA} , sendo levemente menos negativos em pH 4,8. Por outro lado, em pH 3,6 os valores de ΔH_{ads} são bem mais

negativos do que aqueles obtidos em pH 4,8 e 5,8 em $\Gamma_{BSA} < 0,47 \text{ mg m}^{-2}$, ainda que sob condições de interação eletrostática BSA-CNT mais desfavoráveis no pH mais baixo. Entretanto, ΔH_{ads} torna-se menos negativo em pH 3,6 para $\Gamma_{BSA} > 0,47 \text{ mg m}^{-2}$. Esses resultados indicam que os diferentes subprocessos que contribuem para ΔH_{ads} (equação 3.12) são fortemente afetados pelo pH provavelmente devido às alterações de carga e estrutura da proteína. Alterações na carga da proteína e do MWCNT já foram mostradas e discutidas por meio das medidas de potencial zeta. Informações acerca de mudanças na estrutura terciária da BSA precisam ser discutidas. Assim, medidas de nano-DSC para a BSA foram realizadas nos diferentes valores de pH estudados e os termogramas obtidos são mostrados na figura 3.8.

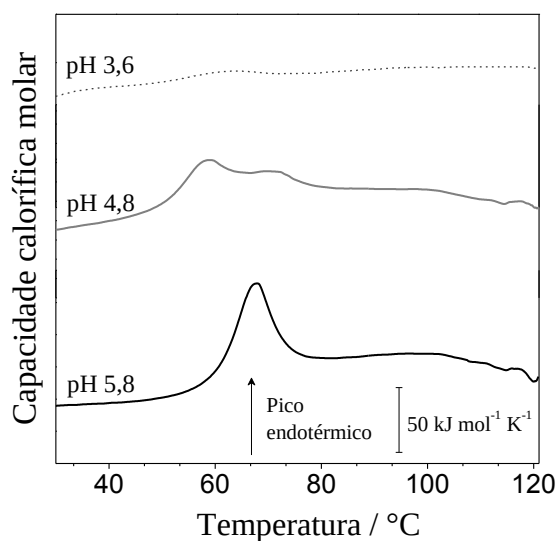


Figura 3.8. Termogramas de nano-DSC de BSA $2,50 \text{ mg mL}^{-1}$ em diferentes valores de pH.

Os termogramas obtidos concordam com aqueles reportados na literatura e as diferenças entre eles têm sido bem estabelecidas.⁴⁸ Em pH 4,8 dois picos aparecem, sendo atribuídos à transição térmica de dois domínios estruturalmente independentes da BSA que surgem a partir da formação de uma cavidade nas vizinhanças do triptofano 212 da

proteína. Por outro lado, em pH 5,8 apenas um pico intenso é observado, pois neste pH não há separação da BSA em dois domínios distintos. Por fim, em pH 3,6 um único pico de muito baixa intensidade é verificado como resultado de a proteína apresentar-se em sua forma F.⁴⁹ Nessa forma, ela se encontra numa conformação mais expandida por causa da desnaturação do domínio III, que resulta na exposição de um grande número de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos para o solvente. Esses resultados sugerem que a diferença observada para os valores de ΔH_{ads} nos diferentes valores de pH também está relacionada à alteração estrutural da BSA induzida pelo pH antes do processo de adsorção. Vejamos o porquê.

Nossos dados sugerem que no início do processo de adsorção ($\Gamma_{BSA} < 0,47 \text{ mg m}^{-2}$ na figura 3.7) o biopolímero se adsorve sobre a superfície do MWCNT rompendo interações intramoleculares e alterando sua conformação de forma a expor um maior número de resíduos de aminoácidos hidrofóbicos para interagirem com a superfície hidrofóbica do adsorvente. Neste processo, o gasto energético para romper interações intramoleculares entre resíduos de aminoácidos na proteína é maior em valores de pH iguais a 4,8 e 5,8 do que em pH 3,6, no qual a BSA já apresenta grande número de resíduos hidrofóbicos expostos para o solvente devido à desnaturação do domínio III induzida pelo pH. Consequentemente, o termo $\Delta H_{ads}^{m.c.(+)}$ deve contribuir pouco para o processo de adsorção da BSA em pH 3,6, justificando os valores de ΔH_{ads} mais exotérmicos neste pH. Por outro lado, em valores elevados de Γ_{BSA} ($\Gamma_{BSA} > 0,47 \text{ mg m}^{-2}$) a contribuição do termo $\Delta H_{ads}^{BSA-BSA}$ torna-se importante para o valor de ΔH_{ads} , sobretudo em pH 3,6, em que a densidade de carga superficial da proteína é alta e o efeito de blindagem eletrostática do tampão está ausente. Esta maior contribuição se reflete na inclinação mais elevada da curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} para o pH 3,6, mesmo em baixos valores de Γ_{BSA} .

Valenti et al.²⁷ têm sugerido que a possibilidade de interações hidrofóbicas entre resíduos não polares da BSA com a superfície do CNT leva a proteína a se adsorver em orientações preferenciais. Se for suficientemente favorável, como nossos dados termodinâmicos têm demonstrado, a proteína deve alterar sua conformação expondo maior número de resíduos hidrofóbicos para se adsorver sobre o CNT. A mudança conformacional de proteínas durante o processo de adsorção tem sido relatada para diferentes biomoléculas em diversas superfícies. Por exemplo, Guan et al.,⁵⁰ utilizando medidas de fluorescência e dicroísmo circular, mostraram que a interação entre a BSA e MWCNTs funcionalizados com grupos hidroxilas leva a alterações da estrutura secundária da proteína, sendo que a proteína liga-se ao MWCNT por meio de seus domínios II e III.

Ge et al.⁵¹ mostraram que há uma correlação positiva entre o número de resíduos hidrofóbicos em uma proteína e a quantidade de proteína adsorvida sobre a superfície de SWCNTs, indicando que além de resíduos hidrofóbicos superficiais da proteína, aqueles resíduos presentes no interior da proteína também devem estar envolvidos na interação com o adsorvente como resultado de variações conformacionais da proteína induzidas pelo CNT.

A fim de obter mais informações a respeito da contribuição das mudanças de conformação da proteína sobre o processo de adsorção, avaliou-se o efeito da desnaturação térmica da BSA sobre a isoterma de adsorção e sobre os valores de ΔH_{ads} para a adsorção da proteína sobre MWCNT em pH 5,8. O pH de 5,8 foi escolhido, pois foi o único no qual a BSA manteve-se solúvel após a desnaturação térmica. A desnaturação da BSA foi realizada por aquecimento da solução da proteína em banho-maria a uma temperatura de 75 °C por 30 minutos. Os resultados obtidos são mostrados na figura 3.9.

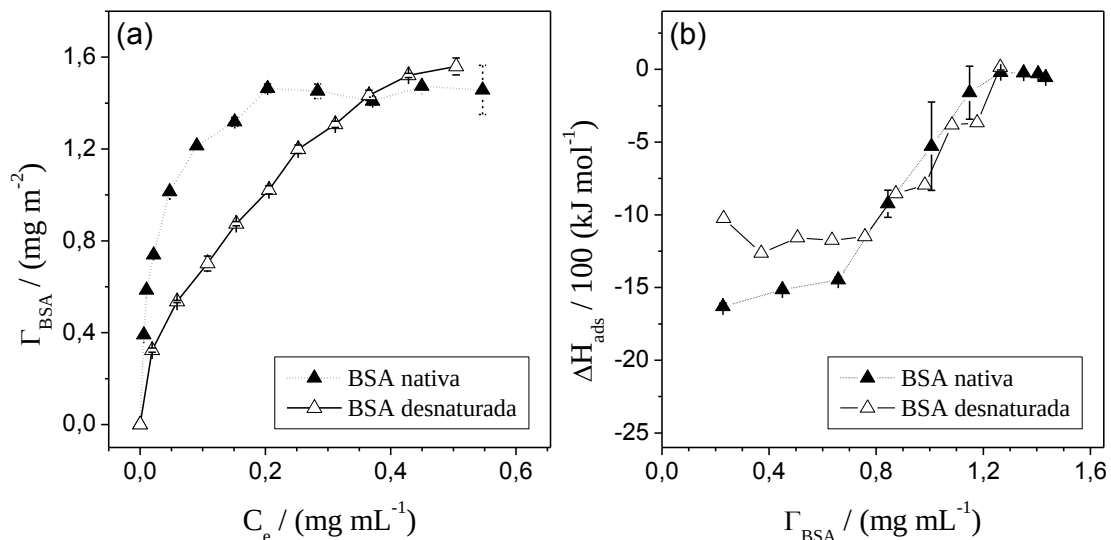


Figura 3.9. Efeito da desnaturação de proteína BSA sobre a **(a)** isoterma de adsorção e a **(b)** curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em MWCNT e pH 5,8, a 25 °C.

A desnaturação da BSA promove alterações nos valores de quantidade adsorvida (figura 3.9a) que são acompanhadas por alterações na curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} (figura 3.9b). No que se refere à isoterma de adsorção, o processo de desnaturação da BSA leva a uma redução da quantidade de proteína adsorvida para menores valores de concentração de equilíbrio ($C_e < 0,37 \text{ mg mL}^{-1}$). Quando $C_e > 0,37 \text{ mg mL}^{-1}$, os valores de Γ_{BSA} para a proteína desnaturada continuam a aumentar levemente à medida que C_e aumenta, enquanto para a proteína nativa eles permanecem constantes. Interessantemente, a isoterma de adsorção ajustou-se melhor ao modelo de Freundlich ($R^2 = 0,994$) do que ao modelo de Langmuir ($R^2 = 0,956$), sugerindo que o processo de adsorção passa a ocorrer em multicamadas com a desnaturação da proteína.

Os menores valores de Γ_{BSA} obtidos para a proteína desnaturada podem ser explicados pela variação do balanço entálpico/entrópico para o processo de adsorção. Em valores de Γ_{BSA} mais baixos ($\Gamma_{BSA} < 0,8 \text{ mg m}^{-2}$) os valores de ΔH_{ads} são menos negativos para a proteína desnaturada. Esses valores de ΔH_{ads} menos negativos podem ser

atribuídos à formação de agregados BSA-BSA resultantes da interação hidrofóbica entre resíduos de aminoácidos da proteína expostos pelo processo de desnaturação, impedindo que esses resíduos interajam com a superfície do CNT e diminuindo a contribuição do termo $\Delta H_{ads}^{CNT-BSA}$ para os valores de ΔH_{ads} .

A fim de verificar o efeito da funcionalização e da estrutura do CNT sobre a força entálpica que atua sobre o processo de adsorção da BSA em CNTs, curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} para a adsorção de BSA sobre SWCNT-COOH e SWCNT-OH foram obtidas (figura 3.10). A curva em pH 3,6 para SWCNT-COOH não é apresentada porque nesta condição, para todas as injeções, a energia medida pelo calorímetro foi da ordem de grandeza do ruído do equipamento.

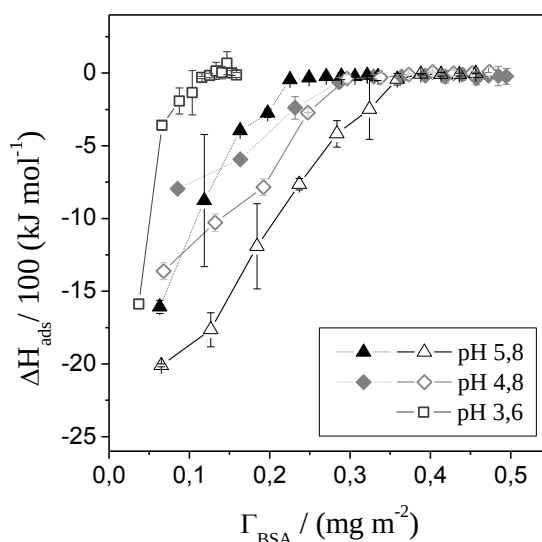


Figura 3.10. Efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de SWCNT-COOH (símbolos fechados) e SWCNT-OH (símbolos abertos), a 25 °C.

As curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} apresentam perfis similares àqueles apresentados para MWCNT em pH 5,8, exceto pela ausência de um patamar na região de valores de Γ_{BSA} mais baixos (região I da figura 3.6), sugerindo que os sítios de interação na superfície

dos SWCNTs são bastante heterogêneos. A magnitude dos valores e a variação de ΔH_{ads} ao longo da faixa de Γ_{BSA} podem ser explicadas pelas mesmas razões já discutidas.

O efeito do pH sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} para adsorção de BSA sobre SWCNT-COOH e SWCNT-OH é mais pronunciado do que aquele verificado para adsorção em MWCNT. Adicionalmente, os valores de ΔH_{ads} são mais negativos em SWCNT-OH comparado aos valores obtidos em SWCNT-COOH, refletindo a maior contribuição das ligações de hidrogênio para adsorção de BSA sobre a superfície daquele adsorvente.

Infelizmente, a comparação direta entre valores de ΔH_{ads} para SWCNTs e MWCNT não é possível, pois as faixas de valores de Γ_{BSA} na qual os processos de adsorção ocorrem para os adsorventes são muito distintas. Entretanto a interação direta entre BSA e CNTs pode ser comparada para os adsorventes a partir da determinação da variação de entalpia de adsorção da proteína na condição de diluição infinita (ΔH_{ads}^{∞}). Os valores de ΔH_{ads}^{∞} em condição de diluição infinita foram estimados a partir da extrapolação das curvas de ΔH_{ads} versus C_e para a condição limite em que $C_e \rightarrow 0$. Os valores obtidos são mostrados na tabela 3.4.

Tabela 3.4. Valores de variação de entalpia de adsorção de BSA em CNTs, em condição de diluição infinita, para diferentes valores de pH, a 25 °C.

CNT	$\Delta H_{ads}^{\infty} / \text{kJ mol}^{-1}$		
	pH 3,6	pH 4,8	pH 5,8
MWCNT	$-2734,9 \pm 163,5$	$-1519,3 \pm 3,0$	$-1668,5 \pm 2,7$
SWCNT-COOH	X*	$-918,6 \pm 46,9$	$-2205,2 \pm 448,9$
SWCNT-OH	$-2855,0 \pm 231,2$	$-1525,60 \pm 95,64$	$-2276,32 \pm 141,95$

*Valor não foi calorimetricamente determinável para a condição avaliada.

Os valores de ΔH_{ads}^{∞} dependem fortemente do pH e da estrutura do nanotubo de carbono estudado. Em pH 3,6 e 4,8 os valores de ΔH_{ads}^{∞} não variam para as superfícies de MWCNT e de SWCNT-OH, sendo mais exotérmicos para essas superfícies quando comparado à adsorção em SWCNT-COOH. Por outro lado, em pH 5,8 o processo foi igualmente exotérmico para ambos SWCNTs e menos exotérmico para o MWCNT.

Em pH 3,6 e 4,8 a diferença entre os valores de ΔH_{ads}^{∞} entre os diferentes nanotubos resulta de um efeito da química de superfície dos adsorventes. Assim como sugere o comportamento das isotermas com relação ao efeito do pH (figuras 3.2a e 3.3c), os grupos funcionais na superfície do MWCNT devem ser em sua maioria grupos hidroxílicos e os valores mais negativos para ΔH_{ads}^{∞} em MWCNT e SWCNT-OH estão associados ao maior número de ligações de hidrogênio realizados entre a proteína e estes grupos quando comparado às ligações de hidrogênio formadas durante a adsorção sobre SWCNT-COOH. Em pH 5,8, o efeito do diâmetro dos nanotubos passa a ser o fator mais importante para determinar os valores de ΔH_{ads}^{∞} . Porém, estas hipóteses precisam ser mais bem investigadas.

3.3.3. Efeito de sais da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA

A presença de íons em sistemas contendo proteínas e nanoestruturas de carbono pode fornecer informações importantes sobre o processo de adsorção destas biomoléculas. Isso decorre, sobretudo, da capacidade de os íons modularem interações intermoleculares entre a proteína e o adsorvente, alterarem a estrutura terciária de moléculas de água e interagirem fortemente com outras espécies carregadas no sistema. Nesse sentido, o efeito de sais contendo cátions e ânions da série de Hofmeister sobre o processo de adsorção da BSA em superfície de MWCNT foi investigado. A série de Hofmeister classifica um conjunto de cátions e ânions em dois grupos de acordo com sua

capacidade de estabilizar proteínas frente a sua precipitação em solução aquosa: caotrópicos, que é o conjunto que agrupa íons capazes de estabilizar moléculas de proteína, e cosmotrópicos, que agrupa íons que as desestabilizam. Esta distinta capacidade tem sido atribuída ao efeito de modificação da estrutura terciária da água promovida pelos íons em solução: enquanto íons caotrópicos desestruturam a rede tridimensional formada pelas moléculas de água, íons cosmotrópicos a estruturam. A seguir, discutem-se os efeitos promovidos por cátions e ânions da série de Hofmeister sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT, em pH 4,8. Nesse pH a proteína encontra-se com carga próxima de zero e os efeitos de blindagem eletrostática promovidos pelos íons são desprezíveis. Além disso, é importante destacar que a adição das concentrações de sal avaliadas para esses experimentos promoveu alterações nos valores de pH que foram menores de que 0,02 unidade de pH, mostrando que os efeitos discutidos a seguir, quando existirem, são exclusivamente devido ao efeito Hofmeister dos íons.

3.3.3.1. Efeito de cátions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT

A figura 3.11 apresenta as isotermas de adsorção de BSA sobre a superfície de MWCNT, na presença dos cátions cosmotrópicos $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ e NH_4^+ e do cátion caotrópico Ba^{2+} , em pH 4,8. A isoterma na ausência dos eletrólitos é apresentada novamente para comparação.

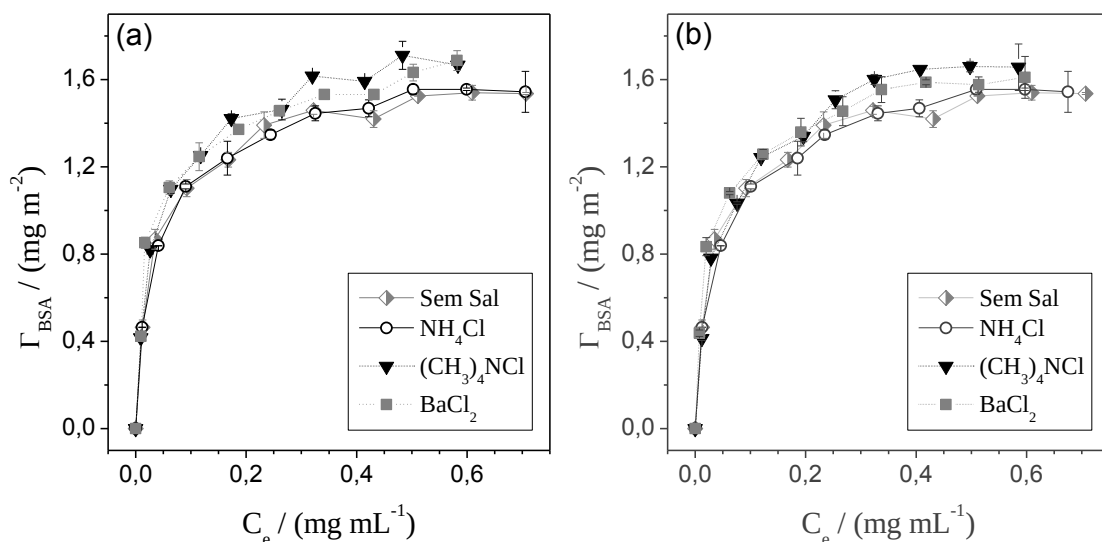


Figura 3.11. Efeito de cátions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT, em pH igual 4,8 e concentração de sal igual a **(a)** 10,00 mM e **(b)** 100,0 mM.

Assim como verificado pelo efeito do aumento da força iônica do meio pela adição de KCl em pH 4,8 (figura 3.2), os eletrólitos NH_4Cl , $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ e BaCl_2 afetaram pouco os valores de Γ_{BSA} , para ambas as concentrações de sal avaliadas. Esse resultado mostra que os cátions da série de Hofmeister têm pouca influência sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT ou que a presença deles promove uma compensação entálpica/entrópica que não afeta a estabilidade termodinâmica relativa da proteína na solução e na interface MWCNT/solução.

Para avaliar melhor como os eletrólitos estudados afetam o processo investigado, a variação de entalpia de adsorção da BSA sobre o MWCNT na presença dos eletrólitos foi determinada (figura 3.12).

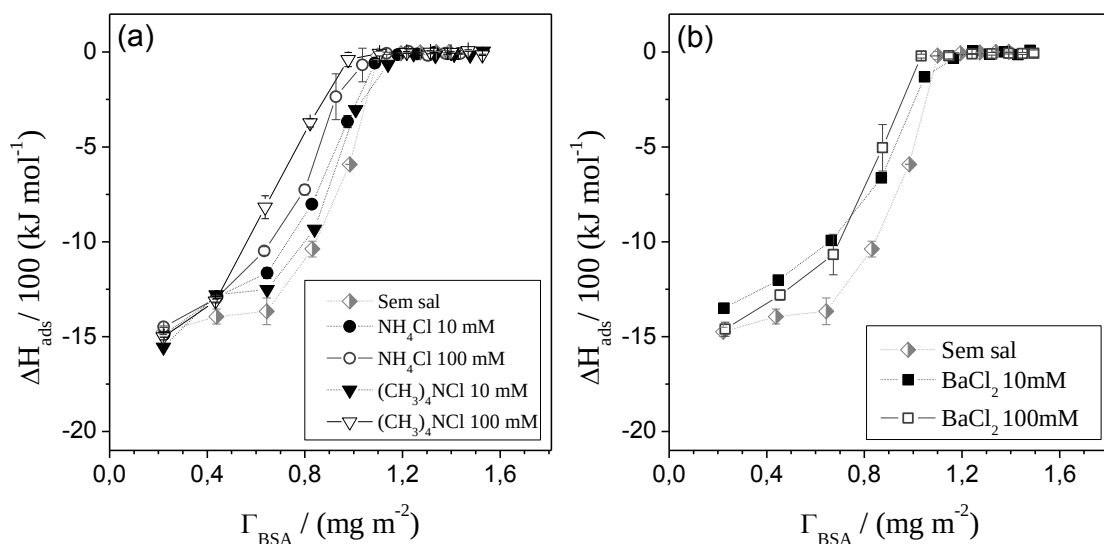


Figura 3.12. Efeito da concentração dos eletrólitos **(a)** NH_4Cl , $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ e **(b)** BaCl_2 sobre as curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, em pH 4,8 e a 25 °C.

Para todos os cátions avaliados o perfil da curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} foi alterado em relação àquele obtido na ausência dos eletrólitos, mas o efeito Hofmeister não foi observado. Tanto para cátions caotrópicos como cosmotrópicos, os valores de ΔH_{ads} variaram pouco para valores de $\Gamma_{BSA} < 0,4 \text{ mg m}^{-2}$. A maior alteração observada ocorreu em valores intermediários de Γ_{BSA} ($0,4 \text{ mg m}^{-2} < \Gamma_{BSA} < 1,0 \text{ mg m}^{-2}$), em que a presença dos eletrólitos tornou o processo de adsorção menos exotérmico, indicando uma minimização da perda entrópica durante o processo de adsorção. Esse resultado sugere um processo de coadsorção dos cátions (ou ânions) do eletrólito na interface proteína/solução e a diminuição da contribuição entálpica para a adsorção resulta do aumento da repulsão eletrostática BSA-BSA decorrente desse processo.

3.3.3.2. Efeito de ânions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT

A figura 3.13 apresenta as isotermas de adsorção de BSA sobre a superfície de MWCNT na presença de diferentes concentrações do ânion cosmotrópico SO_4^{2-} e do ânion caotrópico SCN^- , em pH 4,8.

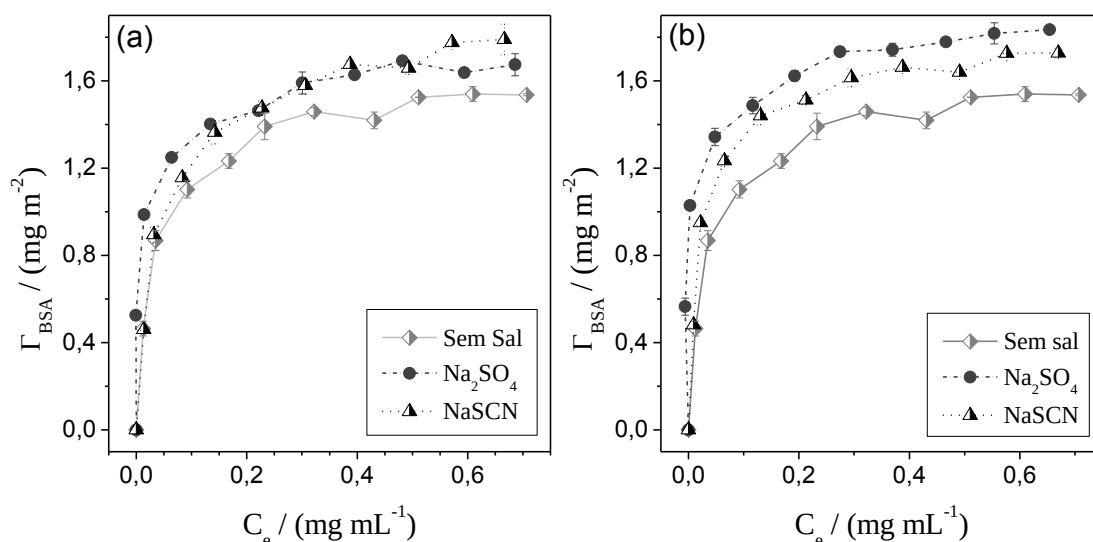


Figura 3.13. Efeito de ânions da série de Hofmeister sobre a adsorção de BSA em MWCNT, em pH igual 4,8 e concentração de sal igual a **(a)** 10,00 mM e **(b)** 100,0 mM.

Para as duas concentrações de ânions avaliadas os valores de Γ_{BSA} aumentam na presença dos eletrólitos, sugerindo que os ânions estudados participam mais diretamente do processo de adsorção do que os cátions. Quando a concentração dos ânions aumentou de 10,00 para 100,0 mM, os valores de Γ_{BSA} não foram alterados quando o ânion foi o SCN^- , mas aumentaram quando foi o SO_4^{2-} . O efeito desses ânions sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} são apresentados na figura 3.14.

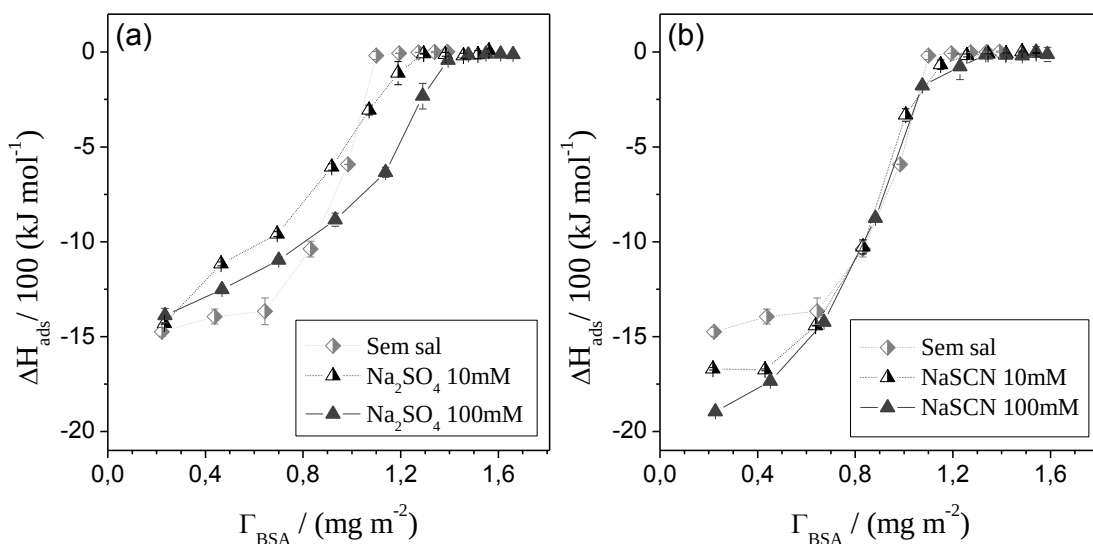


Figura 3.14. Efeito da concentração dos eletrólitos **(a)** Na_2SO_4 e **(b)** NaSCN sobre as curva de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} em superfície de MWCNT, em pH 4,8 e a 25 °C.

Os efeitos dos ânions sobre as curvas de ΔH_{ads} versus Γ_{BSA} também são distintos daqueles promovidos pelos cátions estudados. Em 10,00 mM do ânion SO_4^{2-} , para valores de $\Gamma_{BSA} < 1,0 \text{ mg m}^{-2}$, os valores de ΔH_{ads} tornam-se menos exotérmicos na presença do ânion e então, com aumento de Γ_{BSA} para valores acima de $1,0 \text{ mg m}^{-2}$, tornam-se mais exotérmicos. Com o aumento da concentração do ânion de 10,00 para 100,0 mM, o processo fica mais exotérmico para a maior concentração do eletrólito, mostrando que neste caso não é só o efeito de coadsorção dos íons que modula o processo de adsorção da BSA. Esse resultado sugere que na maior concentração do sal o efeito Hofmeister do ânion começa a aparecer e a mudança em ΔH_{ads} para valores mais exotérmicos resulta da maior energia entálpica liberada pela interação íon-dipolo entre os ânions sulfato e as moléculas de água liberadas durante o processo de adsorção, resultando numa perda entrópica maior.

Para o ânion tiocianato, o processo de adsorção da proteína torna-se mais exotérmico com o aumento da concentração do sal para valores de Γ_{BSA} menores do que

0,6 mg m⁻². Para maiores coberturas superficiais, porém, não se observa efeito do ânion sobre os valores de ΔH_{ads} .

Utilizando medidas de calorimetria diferencial de varredura, Yamasaki et al.⁴⁸ mostraram que a adição de tiocianato em concentrações de até 200 mM é capaz de estabilizar termicamente a BSA. Segundo os autores, em pH próximo ao ponto isoelétrico da proteína existem resíduos carregados positivamente no segmento Arg184-Arg216 da BSA, os quais são parcialmente neutralizados por resíduos de ácido glutâmico. Quando na presença de SCN⁻, estes ânions se ligam a esse segmento da proteína, aumentando sua estabilidade. Estudando uma série de ânions da série Hofmeister, demonstrou-se que esse efeito é muito mais pronunciado para sais caotrópicos do que para sais cosmotrópicos. Dessa forma, a diminuição nos valores de ΔH_{ads} (valores mais negativos) na presença do ânion tiocianato não deve estar associado a um ganho de conformação da proteína.

Assim, nós temos sugerido que o ânion SCN⁻ atua no processo de adsorção modificando a interação MWCNT-proteína. Provavelmente, o ânion interage de forma específica com resíduos de aminoácido da proteína estabilizando a interação com sítios do adsorvente. Esses sítios podem, por exemplo, ser alguma impureza resultado do processo de síntese do nanotubo. Em concentrações mais elevadas esse efeito desaparece, pois a adsorção passa a envolver sítios de interação com energia entálpica mais baixa, com os quais o íon tiocianato não interage.

Os nossos resultados ainda são insuficientes para definir o papel de íons sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT, e mais investigações são necessárias.

3.4. Conclusões

A adsorção de BSA sobre a superfície de CNTs foi avaliada, tendo sido o processo de adsorção dependente da estrutura química da superfície do nanotubo de carbono, do pH e da força iônica.

O processo de adsorção da proteína BSA sobre a superfície de CNTs ocorreu com mudanças conformacionais na estrutura da biomolécula, as quais maximizam a interação de resíduos de aminoácido hidrofóbicos da proteína com a superfície hidrofóbica da nanoestrutura e expõe resíduos de aminoácido hidrofílicos para a interface proteína adsorvida/solução. A exposição desses resíduos hidrofílicos para a interface proteína/solução promoveu a transferência de moléculas do solvente do bulk para essa região, sendo que esses processos resultam em valores de ΔH_{ads} muito negativos. O processo de adsorção foi exotérmico para todas as condições de adsorção estudadas, sendo a magnitude dos valores de ΔH_{ads} dependente da carga do adsorvente e da proteína, bem como da conformação inicial da biomolécula, antes do processo de adsorção.

Mudanças de conformação de proteínas em superfícies sólidas, como as induzidas por CNT sugeridas neste trabalho, têm sido reportadas e são dependentes das características da superfície e da proteína adsorvida. Entretanto, os valores de variação de entalpia de adsorção encontrados neste trabalho apresentaram ordem de magnitude muito maior do que aqueles que têm sido verificados na literatura para outras superfícies hidrofóbicas.

O efeito de sais contendo cátions e ânions da série de Hofmeister sobre o processo de adsorção da BSA em MWCNT também foi investigado. O comportamento de adsorção da proteína na presença dos sais não seguiu a série de Hofmeister, sendo o principal papel dos íons no processo de adsorção atribuído à coadsorção dos mesmos na interface proteína/solução.

3.5. Referências Bibliográficas

1. Sharma, A.; Anghore, D.; Awasthi, R.; Kosey, S.; Jindal, S.; Gupta, N.; Raj, D.; Sood, R. A Review on Current Carbon Nanomaterials and Other Nanoparticles Technology and their Applications in Biomedicine. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* **2015**, *4*, 1088- 1113.
2. Popov, V. N. Carbon Nanotubes: Properties and Application. *Mater. Sci. Eng., R* **2004**, *43*, 61-102.
3. Sinha, N.; Ma, J.; Yeow, J. T. W. Carbon Nanotube-Based Sensors. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2006**, *6*, 573-590.
4. Das, R.; Ali, M. E.; Hamid, S. B. A.; Ramakrishna, S.; Chowdhury, Z. Z. Carbon Nanotube Membranes for Water Purification: A bright Future in Water Desalination. *Desalination* **2014**, *336*, 97-109.
5. Bradley, K.; Briman, M.; Star, A.; Gruner, G. Charge Transfer from Adsorbed Proteins. *Nano Lett.* **2004**, *4*, 253-256.
6. Boero, C.; Carrara, S.; Vecchio, G. D.; Calzà, L.; Micheli, G. D. Targeting of Multiple Metabolites in Neural Cells Monitored by Using Protein-Based Carbon Nanotubes. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2011**, *157*, 216– 224.
7. Feng, W.; Ji, P. Enzymes Immobilized on Carbon Nanotubes. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 889-895.
8. Zhan, K.; Liu, H.; Zhang, H.; Chen, Y.; Ni, H.; Wu, M.; Sun, D.; Chen, Y. A Facile Method for the Immobilization of Myoglobin on Multi-walled Carbon Nanotubes: Poly(methacrylic acid-co-acrylamide) Nanocomposite and its Application for Direct Bio-Detection of H₂O₂. *J. Electroanal. Chem.* **2014**, *724*, 80-86.
9. Carrara, S.; Baj-Rossi, C.; Boero, C.; De Micheli, G. Do Carbon Nanotubes Contribute to Electrochemical Biosensing? *Electrochim. Acta* **2014**, *128*, 102–112.

10. Lousinian, S.; Missopolinou, D.; Panayiotou, C. Fibrinogen Adsorption on Zinc Oxide Nanoparticles: A Micro-Differential Scanning Calorimetry Analysis. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, 395, 294-299.
11. Asuri, P.; Bale, S. S.; Karajanagi, S. S.; Kane, R. S. The Protein-nanomaterial Interface. *Curr. Opin. Biotechnol.* **2006**, 17, 562-568.
12. Saifuddin, N.; Raziah, A. Z.; Junizah, A. R. Carbon Nanotubes: A Review on Structure and their Interaction with Proteins. *J. Chem.* **2013**, 2013, 1-18.
13. Vashist, S. K.; Zheng, D.; Al-Rubeaan, K.; Luong, J. H.; Sheu, F. S. Advances in Carbon Nanotube Based Electrochemical Sensors for Bioanalytical Applications. *Biotechnol. Adv.* **2011**, 29, 169-188.
14. Yang, N.; Chen, X.; Ren, T.; Zhang, P.; Yang, D. Carbon Nanotube Based Biosensors. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2015**, 207, 690-715.
15. Li, L.; Feng, W.; Ji, P. Protein Adsorption on Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes with Amino-cyclodextrin. *AIChE J.* **2011**, 57, 3507-3513.
16. Li, Z.; Gan, Q.; Zhang, W.; Zhang, J.; Yuan, Y.; Liu, C. Surface-induced Conformational and Functional Changes of Bone Morphogenetic Protein-2 Adsorbed onto Single-walled Carbon Nanotubes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2013**, 440, 215-221.
17. Zhao, H.-Z.; Sun, J.-J.; Song, J.; Yang, Q.-Z. Direct Electron Transfer and Conformational Change of Glucose Oxidase on Carbon Nanotube-Based Electrodes. *Carbon* **2010**, 48, 1508-1514.
18. Rezwan, K.; Meier, L. P.; Rezwan, M.; Voros, J.; Textor, M.; Gauckler, L. J. Bovine Serum Albumin adsorption onto Colloidal Al₂O₃ Particles: A New Model Based on Zeta Potential and UV-Vis Measurements. *Langmuir* **2004**, 20, 10055-10061.
19. Lord, M. S.; Cousins, B. G.; Doherty, P. J.; Whitelock, J. M.; Simmons, A.; Williams, R. L.; Milthorpe, B. K. The Effect of Silica Nanoparticulate Coatings on Serum Protein Adsorption and Cellular Response. *Biomaterials* **2006**, 27, 4856-4862.

20. Svensson, O.; Kurut, A.; Skepö, M. Adsorption of β -casein to Hydrophilic Silica Surfaces. Effect of pH and Electrolyte. *Food Hydrocolloid*. **2014**, 36, 332-338.
21. Matsuura, K.; Saito, T.; Okazaki, T.; Ohshima, S.; Yumura, M.; Iijima, S. Selectivity of Water-Soluble Proteins in Single-walled Carbon Nanotube Dispersions. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, 429, 497-502.
22. Mu, Q.; Liu, W.; Xing, Y.; Zhou, H.; Li, Z.; Zhang, Y.; Ji, L.; Wang, F.; Si, Z.; Zhang, B.; Yan, B. Protein Binding by Functionalized Multiwalled Carbon Nanotubes is Governed by the Surface Chemistry of both Parties and the Nanotube Diameter. *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 3300-3307.
23. Rabe, M.; Verdes, D.; Seeger, S. Understanding Protein Adsorption Phenomena at Solid Surfaces. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2011**, 162, 87-106.
24. Nakanishi, K.; Sakiyama, T.; Imamura, K. On the Adsorption of Proteins on Solid Surfaces, a Common but Very Complicated Phenomenon. *J. Biosci. Bioeng.* **2001**, 91, 233-244.
25. Giancola, C.; De Sena, C.; Fessas, D.; Graziano, G.; Barone, G. DSC Studies on Bovine Serum Albumin Denaturation. Effects of Ionic Strength and SDS Concentration. *Int. J. Biol. Macromol.* **1997**, 20, 193-204.
26. Murayama, K.; Tomida, M. Heat-induced Secondary Structure and Conformation Change of Bovine Serum Albumin Investigated by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Biochemistry* **2004**, 43, 11526-11532.
27. Valenti, L. E.; Fiorito, P. A.; Garcia, C. D.; Giacomelli, C. E. The Adsorption-Desorption Process of Bovine Serum Albumin on Carbon Nanotubes. *J. Colloid Interface Sci.* **2007**, 307, 349-356.
28. Li, L.; Lin, R.; He, H.; Jiang, L.; Gao, M. Interaction of Carboxylated Single-walled Carbon Nanotubes with Bovine Serum Albumin. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, 105, 45-51.

29. Li, L.; Lin, R.; He, H.; Sun, M.; Jiang, L.; Gao, M. Interaction of Amidated Single-walled Carbon Nanotubes with Protein by Multiple Spectroscopic Methods. *J. Lumin.* **2014**, 145, 125-131.
30. Boström, M.; Williams, D. R. M.; Ninham, B. W. Why the Properties of Proteins in Salt Solutions Follow a Hofmeister Series. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2004**, 9, 48-52.
31. Lin, F.-Y.; Chen, W.-Y.; Ruaan, R.-C.; Huang, H.-M. Microcalorimetric Studies of Interactions between Proteins and Hydrophobic Ligands in Hydrophobic Interaction Chromatography: Effects of Ligand Chain Length, Density and the Amount of Bound Protein. *J. Chromatogr. A* **2000**, 872, 37-47.
32. Lin, F.-Y.; Chen, W.-Y.; Hearn, M. T. W. Microcalorimetric Studies on the Interaction Mechanism Between Proteins and Hydrophobic Solid Surfaces in Hydrophobic Interaction Chromatography: Effects of Salts, Hydrophobicity of the Sorbent, and Structure of the Protein. *Anal. Chem.* **2001**, 73, 3875-3883.
33. Tsai, Y.-S.; Lin, F.-Y.; Chen, W.-Y.; Lin, C.-C. Isothermal Titration Microcalorimetric Studies of the Effect of Salt Concentrations in the Interaction between Proteins and Hydrophobic Adsorbents. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2002**, 197, 111-118.
34. Dieterle, M.; Blaschke, T.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of Adsorption of Human Monoclonal Antibodies on Cation Exchange Chromatographic Materials. *J. Chromatogr. A* **2008**, 1205, 1-9.
35. Blaschke, T.; Varon, J.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of PEGylated Lysozyme on a Strong Cation Exchange Resin. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 4720-4726.
36. Blaschke, T.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of Native and Mono-PEGylated Bovine Serum Albumin on Anion-exchangers. *J. Chromatogr. A* **2013**, 1277, 58-68.
37. Werner, A.; Hackemann, E.; Hasse, H. Temperature Dependence of Adsorption of PEGylated Lysozyme and Pure Polyethylene Glycol on a Hydrophobic Resin:

Comparison of Isothermal Titration Calorimetry and van't Hoff Data. *J. Chromatogr. A* **2014**, 1356, 188-196.

38. Wassell, T. D. H.; Hall, R. C.; Embery, G. Adsorption of Bovine Serum Albumin onto Hydroxyapatite. *Biomaterials* **1995**, 16, 697-702.

39. Lepoitevin, M.; Jaber, M.; Guégan, R.; Janot, J.-M.; Dejardin, P.; Henn, F.; Balme, S. BSA and Lysozyme Adsorption on Homoionic Montmorillonite: Influence of the Interlayer Cation. *Appl. Clay Sci.* **2014**, 95, 396-402.

40. Han, J.; Silcock, P.; McQuillan, A. J.; Bremer, P. Bovine Serum Albumin Adsorption on N-methyl-d-glucamine Modified Colloidal Silica. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2009**, 349, 207-213.

41. Kopac, T.; Bozgeyik, K.; Yener, J. Effect of pH and Temperature on the Adsorption of Bovine Serum Albumin onto Titanium Dioxide. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2008**, 322, 19-28.

42. Demirel, G. Adsorption of Bovine Serum Albumine Onto Poly (N-t-Butylacrylamide-co-Acrylamide/Maleic Acid) Hydrogels. *J. Polym. Res.* **2006**, 14, 23-30.

43. Saiful; Borneman, Z.; Wessling, M. Enzyme Capturing and Concentration with Mixed Matrix Membrane Adsorbers. *J. Membr. Sci.* **2006**, 280, 406-417.

44. Bai, Y.; Lin, D.; Wu, F.; Wang, Z.; Xing, B. Adsorption of Triton X-series Surfactants and its Role in Stabilizing Multi-walled Carbon Nanotube Suspensions. *Chemosphere* **2010**, 79, 362-367.

45. Baier, G.; Costa, C.; Zeller, A.; Baumann, D.; Sayer, C.; Araujo, P. H.; Mailander, V.; Musyanovych, A.; Landfester, K. BSA Adsorption on Differently Charged Polystyrene Nanoparticles Using Isothermal Titration Calorimetry and the Influence on Cellular Uptake. *Macromol. Biosci.* **2011**, 11, 628-638.

46. Chen, W.-Y.; Huang, H.-M.; Lin, C.-C.; Lin, F.-Y.; Chan, Y.-C. Effect of Temperature on Hydrophobic Interaction between Proteins and Hydrophobic

Adsorbents: Studies by Isothermal Titration Calorimetry and the van't Hoff Equation. *Langmuir* **2003**, 19, 9395-9403.

47. Feng, X. Y.; Geng, X. P.; Peng, J. J.; Hou, H. Y.; Bai, Q. Thermodynamic Investigation of Effect of Salt Concentrations on Denatured α -Amylase Adsorbed onto a Moderately Hydrophobic Surface. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2010**, 102, 799-807.

48. Yamasaki, M.; Yano, H.; Aoki, K. Differential Scanning Calorimetric Studies on Bovine Serum Albumin: I. Effects of pH and Ionic strength. *Int. J. Biol. Macromol.* **1990**, 12, 263-268.

49. Khan, M. Y. Direct Evidence for the Involvement of Domain III in the N-F Transition of Bovine Serum Albumin. *Biochem. J.* **1986**, 236, 307-310.

50. Guan, Y.; Zhang, H.; Wang, Y. New Insight into the Binding Interaction of Hydroxylated Carbon Nanotubes with Bovine Serum Albumin. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 124, 556-563.

51. Ge, C.; Dua, J.; Zhao, Y.; Zhao, L.; Chai, Z.; Wang, L.; Liu, Y.; Chena, C. Binding of Blood Proteins to Carbon Nanotubes Reduces Cytotoxicity. *P. Natl. Acad. Sci.* **2011**, 108.

CAPÍTULO 4:

Adsorption of red azo-dyes on multi-walled carbon nanotube and activated carbon: A thermodynamic study

Abstract

Carbonaceous materials have been intensively studied in the last years and proposed as highly efficient adsorbents for removing dyes from wastewater. However, thermodynamic aspects associated with the formation of CNT-dye interactions remain scarce. This paper describes the thermodynamics of the interaction between the Ponceau Red (PR), Congo Red (CR) and Allura Red (AR) dyes and multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs). Activated carbon (AC)-dye interaction has been also evaluated for comparison. The dye-adsorbent interactions were evaluated by combining adsorption isotherms and isothermal titration microcalorimetry (ITC) data. Adsorption isotherms data were well fitted to the Freundlich model and a thermodynamic approach provided the entire thermodynamic characterization of the adsorption process. For both MWCNT and AC, the dye adsorbed amount (Γ_D) increased in the order Γ_D (PR) < Γ_D (AR) < Γ_D (CR) and the adsorption capacity normalized by adsorbent specific area was higher for MWCNT. The maximum adsorbed amount ($\Gamma_{D,max}$) attained values up to $2.00 \mu\text{mol m}^{-2}$ for CR adsorption on MWCNT. The adsorption process of the dyes was enthalpically driven and entropically unfavorable for both adsorbents. The values of adsorption enthalpy change ($\Delta_{ads}H$) determined by ITC were higher than $-137.0 \text{ kJ mol}^{-1}$ and they depended on the surface coverage and structures of both dye and adsorbent. ITC data suggested that adsorption sites on MWCNT and AC are heterogeneous.

4.1. Introduction

Adsorption study as an alternative to remove contaminants from wastewater has been target of several researchers.¹⁻³ This method has been considered as superior to other techniques due to the simplicity, low cost, high efficiency and easiness in the recovery of many adsorbents. Most of the studies in this area focus on the determination of the experimental parameters associated with the adsorption capacities and on the kinetic aspects of the adsorption processes.⁴⁻⁷ However, the thermodynamic aspects of these processes are not detailed and they are restricted to the van't Hoff approach.⁸⁻¹⁰

Several adsorbents have been proposed to wastewater treatment, but one class of materials that has received special attention is constituted by carbonaceous adsorbents such as activated carbon^{5,11,12} and carbon nanotubes.^{13,14} Historically, activated carbon (AC) has been the most widely utilized adsorbent¹⁵ and, more recently, carbon nanotubes (CNTs) have emerged as a new adsorbent for removing pollutants from aqueous solutions.¹² Besides, dye adsorption on CNTs comprehends a non-covalent functionalization procedure¹⁶ to develop hybrid structures with applications in sensors,^{17,18} nano-carriers for drug-delivery systems,¹⁹ and solar cells.^{20,21}

Activated carbon can be obtained from various sources such as wood, bagasse, bamboo, peat, nutshell, fossil coal and carbon-resin slurry.²² It contains carbons of varying degree of saturation and oxidation state distributed in a large specific surface area (500 to 2000 m² g⁻¹).² Moreover, its surface consists of many micropores with different sizes which are available for adsorption and several oxygen-containing functional groups that can be modified.^{23,24} On the other hand, carbon nanotubes are cylindrical nanostructures constituted essentially by carbon atoms in sp² hybridization that are arranged in a hexagonal lattice with a large specific surface area (100-1000 m² g⁻¹) available for adsorption.²⁵ CNTs include single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) and

multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs), depending on the amount of layers, and both have been widely studied because of their extraordinary chemical, electronic and mechanical properties.²⁶

Recently, several studies have compared the adsorption capacities between AC and MWCNT.^{13,27-31} Nevertheless, to the best of our knowledge, there are few investigations in the literature making this comparison with regard to the thermodynamics of adsorption of different solutes on these surfaces. Recently, Liu et al.³² obtained thermodynamic parameters of adsorption for salicylic acid, phthalic acid and catechol on MWCNT and AC. The authors obtained the dependence of the adsorption enthalpy change on the surface coverage of the adsorbents by utilizing the van't Hoff equation, and considering that the adsorption thermodynamic constant is the partition coefficient of the adsorbate between the liquid solution and the surface. However, even for higher adsorbate concentrations the activity coefficients were not considered. Because of this, calorimetric measurements are more preferable than the van't Hoff approach to determine how adsorption enthalpy change depends on adsorbate loadings.³³

Calorimetric studies combined with adsorption isotherms allows to i) identify the main interactions that govern the adsorbent-adsorbate interaction, ii) determine the magnitude of the energy involved in these interactions and (iii) establish the driving forces that govern the adsorption process of different solutes in several surfaces.^{32,34-36} For example, calorimetric measurements have been successfully applied to evaluate adsorption features of complex biomolecules, such as proteins.³⁷⁻³⁹ On the other hand, regarding the small molecules, for example dyes, the complete potential of calorimetric techniques in the adsorption studies has been poorly exploited. To appoint, Guerra et al.⁴⁰ utilized isothermal titration calorimetry (ITC) to monitor the adsorption process of

methylene blue on the surface of 2-mercaptothiazoline/imogolite hybrids, and obtain information about the contribution of specific interactions that take part in this process.

Here, we evaluated the thermodynamics associated with the adsorption process of Ponceau 4R (PR), Congo Red (CR) and Allura Red (AR) azo dyes (figure 4.1) on the surface of MWCNT and AC in aqueous solutions. Adsorption molar enthalpy changes ($\Delta_{ads}H$) associated with the dye-adsorbent interactions were obtained by isothermal titration microcalorimetry (ITC) technique as a function of the surface coverage of the adsorbents. Thermodynamic parameters of adsorption in infinite dilution ($\Delta_{ads}H^\infty$, $\Delta_{ads}S^\infty$ and $\Delta_{ads}G^\infty$) were also determined.

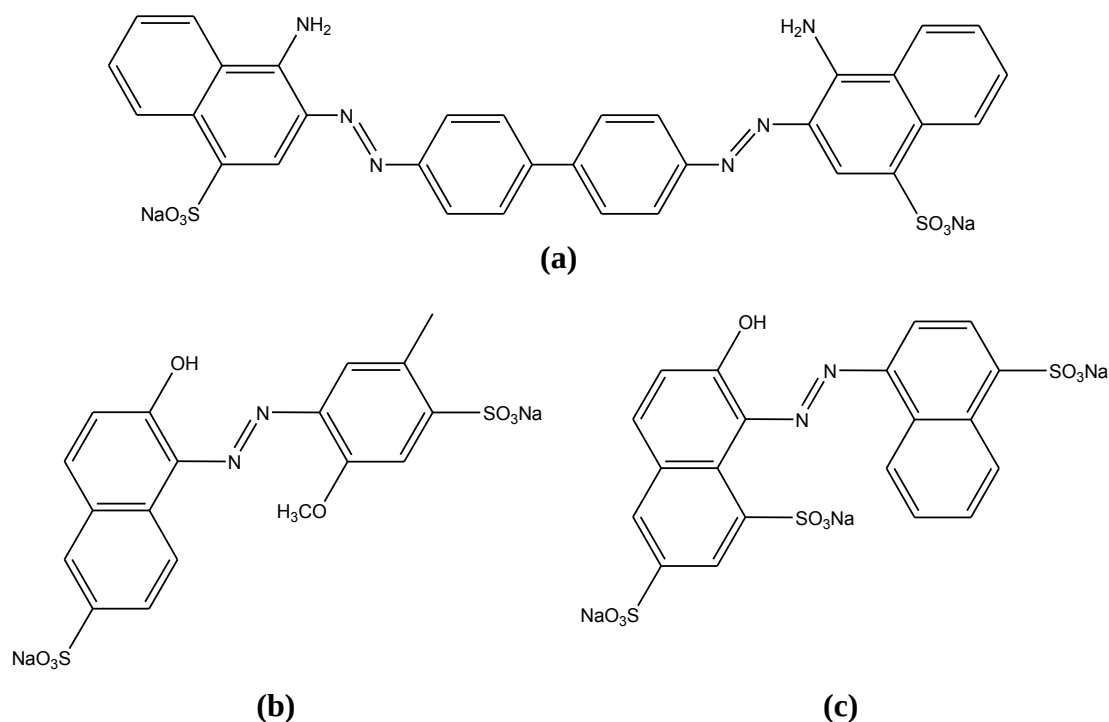


Figure 4.1. Chemical structures of the dyes **(a)** Congo Red, **(b)** Allura Red and **(c)** Ponceau 4R.

4.2. Experimental

4.2.1. Chemicals

Multi-walled carbon nanotubes (C_{TUBE} 100 MWCNT) were used in this study and were obtained from CNT CO., LTD., Korea and activated carbon was purchased from Sigma-Aldrich Chemicals, USA. The dyes Allura Red (E129) (84%, MM = 496.24 g mol⁻¹) and Ponceau Red (E124) (92%, MM = 604.42 g mol⁻¹) were supplied by Gemacom (Brazil). Congo Red (99%, MM = 696.66 g mol⁻¹) was purchased from Merck (Germany). Analytical grade hydrochloric acid and sodium hydroxide, supplied by Vetec (Brazil), were utilized for pH adjustment of the aqueous solutions. All chemicals were used as received without further purification. Deionized water (Milli-Q) was used to prepare all solutions.

4.2.2. Characterization of the adsorbents

Specific surface area of adsorbents was determined using the Brunauer-Emmett-Teller (BET) equation.⁴¹ The specific surface areas of MWCNT and AC were found to be 188.0 and 868.8 m² g⁻¹, respectively.

The points of zero charge (pH_{PZC}) of AC and MWCNT were determined by the solid addition method.⁴² A 20.0-mg mass of adsorbent was transferred to flasks containing 20.0 mL of a 0.01 molL⁻¹ NaCl aqueous solution. The initial pH (pH_i) of the solution was previously adjusted from 1.0 to 11.0 by adding either 0.10 molL⁻¹ HCl or 0.10 molL⁻¹ NaOH. The obtained systems were stirred and the final pH values (pH_f) of the solutions were measured after 30 h. The difference between the initial and final pH values ($\Delta pH = pH_i - pH_f$) for each system was calculated and plotted against the pH_i . The pH_{PZC} was obtained by determining the intercept of the ΔpH versus pH_i curve with the abscissa.

4.2.3. Adsorption isotherms

Adsorption isotherms were obtained dispersing 10.0 mg of the adsorbent (AC or MWCNT) in 10.0 mL of the dye solution in 30.0-mL glass cylindrical flasks. The dye concentration in the solutions ranged from 0.0 to 900.0 mg L⁻¹. All systems obtained were manually stirred for 15 minutes and placed in a temperature-controlled bath for 24 hours to attain the thermodynamic equilibrium. Subsequently, the supernatant was collected for analysis of the dye concentration. When the adsorbent was activated carbon, in order to separate it from the aqueous solutions, the systems were centrifuged at 10,000 rpm for 40 minutes in a Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 11R centrifuge.

The equilibrium concentrations of the dyes in the supernatants were determined by spectrophotometric method using a Shimadzu digital double-beam spectrometer UV-2550. Absorbance measurements were made at 332, 498 and 314 nm for PR, CR and AR, respectively.

The amount of dye adsorbed (Γ_D), in $\mu\text{mol m}^{-2}$, was calculated using the following equation:

$$\Gamma_D = \frac{(C_0 - C_e) \cdot V}{m \cdot A} \quad (4.1)$$

where C_0 e C_e are initial and equilibrium concentrations, respectively, of dye in the supernatant, in $\mu\text{mol L}^{-1}$, m is the mass of the adsorbent, in kg, V is the volume of the supernatant, in L, and A is BET specific surface area of the adsorbent, in $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$.

The effect of the initial pH on the adsorbed dye amount was evaluated within the pH range between 1.0 and 12.0 for PR and AR dyes and between 5.0 and 12.0 for CR. The CR dye was unstable and/or insoluble at pH values lower than 4.0 in the concentrations evaluated. For these experiments, the dye concentrations were fixed at

200 mg L⁻¹ for PR and AR in both adsorbents. For CR, the concentrations evaluated were 100 and 200 mg L⁻¹ in AC and MWCNT, respectively.

All measurements were carried out at 298.15 K. The experiments were performed in duplicate and the Γ_D values were the average of both determinations. The relative standard deviation was lower than 5%.

4.2.4. Determination of adsorption thermodynamics parameters

Thermodynamic analysis of dye adsorption was conducted by determining the adsorption Gibbs free energy change ($\Delta_{ads}G$), adsorption enthalpy change ($\Delta_{ads}H$) and adsorption entropy change ($\Delta_{ads}S$).

4.2.4.1. Adsorption Gibbs free energy change

To obtain $\Delta_{ads}G^{ref}$, a thermodynamic approach was used in which the dye adsorption process is considered as a partition phenomenon of the dye between the liquid phase and the liquid-solid interface. Thus, the equilibrium thermodynamic constant (K_{ads}) associated with the dye adsorption is given by:

$$K_{ads} = \left(\frac{\gamma_D^S \Gamma_D}{\gamma_D^{sol} C_e} \right) \quad (4.2)$$

where γ_D^S and γ_D^{sol} are the activity coefficients of the dye in the adsorbent surface and in the solution, respectively. The molar Gibbs free energy change of adsorption for the transfer of the dye between two reference states, $\Delta_{ads}G^{ref}$, can be obtained from the K_{ads} value, according with equation 4.3:

$$\Delta_{ads}G^{ref} = \mu_D^{ref,S} - \mu_D^{ref,sol} = -RT \ln K_{ads} \quad (4.3)$$

where $\mu_D^{ref,S}$ and $\mu_D^{ref,sol}$ are the chemical potential of the dye in the adsorbent surface and in the liquid solution, respectively, in a reference state; T is the absolute temperature of system and R is the gas universal constant.

Considering that at infinite dilution the dye activity coefficient is equal to one, the reference state of the dye can be defined as that hypothetical standard state in which the dye activity coefficient tends to one when the dye concentration approaches one. Then, equation 4.2 can be used to determine the K_{ads} at infinite dilution, according with equation 4.4:

$$K_{ads} = \lim_{c_e \rightarrow 0} \frac{\Gamma_D}{C_e} \quad (4.4)$$

with Γ_D in mg g⁻¹ and C_e in mg L⁻¹. Therefore, K_{ads} values can be easily obtained from the isotherm data, and then $\Delta_{ads}G^\infty$ can be determined, where the superscript ∞ refers to the reference state at infinite dilution. In this case, the $\Delta_{ads}G^\infty$ parameter expresses the change in the Gibbs free energy of the system when one mol of solute moves from the liquid solution to the adsorbent surface in the standard state at the infinite dilution condition, i.e., when the dye-dye interaction is absent in the adsorbent and in the solution.

Blaschke et al.³⁸ proposed a thermodynamic approach that allows to obtain $\Delta_{ads}G^{ref}$ for different reference states in the following way: they defined a new reference state at a defined although arbitrary point on the adsorption isotherm with concentration C_D^{ref} . In this way, the equilibrium constant (K_{ads}^*) can be defined by equation 4.5:

$$K_{ads}^* = \lim_{c_e \rightarrow C_D^{ref}} \left(\frac{\Gamma_D}{C_e} \right) \quad (4.5)$$

and then, $\Delta_{ads}G^{ref}$ can be obtained by equation 4.6:

$$\Delta_{ads}G^{ref} = -RT\ln K_{ads}^* \quad (4.6)$$

For a detailed discussion, Blaschke et al. can be consulted. Using this approach, the entropic and the enthalpic contributions for the $\Delta_{ads}G^{ref}$ can be obtained for all solute concentrations.

4.2.4.2. Adsorption molar enthalpy change

The adsorption molar enthalpy change ($\Delta_{ads}H$) associated with dye-adsorbent interaction was determined using a TAM III Isothermal Titration Nanocalorimeter from TA Instruments controlled by TAM Assistant™ dedicated software. The calorimeter has two reaction cells (the sample and reference cells) with a total volume of 4.00 mL each. The titrations were carried out by stepwise injections of 15 μ L of a concentrated dye aqueous solution into the sample cell containing 0.00400 g of the adsorbent (MWCNT or AC) and 2.70 mL of deionized water. The injections were made by a Hamilton syringe (500 μ L) controlled by a 3810 syringe pump from TA Instruments. The time interval between two consecutive injections was equal to 60 min, and during the titration a stirrer helix stirring at 180 rpm in the sample cell was used to ensure homogenization. Blank experiments of (i) addition of dye solution in deionized water in the absence of the adsorbents and (ii) addition of deionized water in 0.00400 g of each adsorbent plus deionized water were also performed. The latter presented negligible thermal effects. For all experiments, the reference cell was filled with deionized water and the measurements were performed at the temperature of (25.0000 ± 0.0001) °C. Each experiment was carried out in duplicate.

The adsorption enthalpy change at different I_D values (associated with the i -th injection of the dye solution in the sample cell), $\Delta_{ads}H$, was determined by equation 4.7:

$$\Delta_{ads}H = \frac{q_{i,ads} - q_{i,dil}}{n_i} \quad (4.7)$$

where $q_{i,ads}$ and $q_{i,dil}$ are absorbed or released heat in the sample cell with and without adsorbent, respectively, in the i -th injection of the dye aqueous solution, and n_i is the amount of dye adsorbing on the MWCNT (or AC) surface in the same injection. The n_i values were determined directly from the adsorption isotherms. The relative standard deviations for $\Delta_{ads}H$ were lower than 10%.

The integral adsorption enthalpy change ($\Delta_{ads}H_{integral}$) was also determined using the following equation:

$$\Delta_{ads}H_{integral} = \frac{\sum_i (q_{i,ads} - q_{i,dil})}{\sum_i n_i} \quad (4.8)$$

where $q_{i,ads}$, $q_{i,dil}$ and n_i have the same meanings of those in equation 4.7. The $\Delta_{ads}H_{integral}$ parameter contains the energetic contribution of all occupied adsorption sites to the enthalpy change of the adsorption process for each surface coverage. The relative standard deviations for $\Delta_{ads}H$ were lower than 6.0%.

4.2.4.3. Adsorption entropy change

Adsorption molar entropy changes for each reference state defined in section 4.2.4.1 ($\Delta_{ads}S^{ref}$) were calculated from the classic thermodynamic relationship:

$$\Delta_{ads}G^{ref} = \Delta_{ads}H - T\Delta_{ads}S^{ref} \quad (4.9)$$

4.3. Results and discussions

4.3.1. Adsorption isotherms

The adsorption of a solute on a surface depends on a delicate balance between the interactions that the solute establishes with the components in the solution and in the interface. Some aspects of these interactions can be comprehended by evaluating the equilibrium data presented by an adsorption isotherm. Figure 4.2 shows the adsorption isotherms of the red dyes (CR, PR and AR) on the MWCNT surface, at 25 °C and $\text{pH}_i = 6.0$.

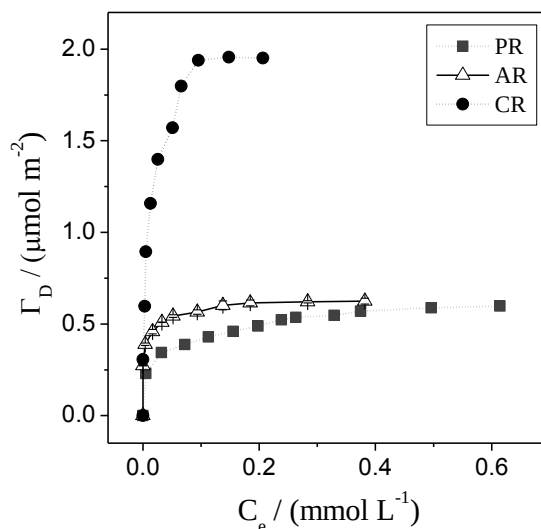


Figure 4.2. Adsorption isotherms of red dyes on the MWCNT surface, at 25.0 °C and $\text{pH}_i = 6.0$.

For all dyes, the Γ_D values increase as the C_e values increase until reaching a maximum value ($\Gamma_{D,max}$) that indicates the saturation of the MWCNT surface. However, for each dye equilibrium concentration, the Γ_D values depend strongly of the dye structure, increasing in the order $\Gamma_D (\text{PR}) < \Gamma_D (\text{AR}) < \Gamma_D (\text{CR})$. The highest observed Γ_D values range from $(0.598 \pm 0.026) \mu\text{mol m}^{-2}$ $[(67.9 \pm 2.9) \text{ mg g}^{-1}]$ for PR to

$(1.96 \pm 0.01) \mu\text{mol m}^{-2} [(256 \pm 2) \text{mg g}^{-1}]$ for CR and are in the same order of magnitude that the values obtained for other dyes on the MWCNT surface.⁴³

Despite the greatest molecular size of CR (figure 4.1), this dye has a $\Gamma_{D,max}$ value which is 3.3 times greater than that obtained for PR, showing that the saturation of the MWCNT surface is an energetic saturation instead of a space saturation. The CR dye has more benzene rings on its structure (six, three and four benzene rings are present in the structures of CR, AR and PR, respectively) that makes it the most hydrophobic dye with the greatest capacity to bind to the aromatic structure of MWCNT through π - π stacking interactions. Thus, our results suggest an important contribution of the π - π stacking and hydrophobic interactions for the azo-dye adsorption on the MWCNT surface.

In fact, hydrophobic and π - π stacking interactions are proposed by several researchers as the main forces responsible for the adsorption of organic molecules on CNTs.⁴⁴ However, some researchers have pointed out an important contribution of the electrostatic interactions and of the molecular conformation on this process,^{24,45} and the last one can explain why the PR dye, which has a greater number of benzene rings than AR, presents slightly lower Γ_D values. The π - π interactions are more favorable when the dye approaches the MWCNT in a face-to-face conformation, and this one is more favorable for AR than PR. This occurs because the steric hindrance caused by the extra sulfonate group in the PR structure prevents the coplanarity of the four aromatic rings of PR. According with Almeida et al.,⁴⁶ the two naphthol rings in the PR dye are found up to 12.8° out of plane relative to one another.

To better understand the adsorption process of the red dyes on the MWCNT surface, it is important to establish the differences between the adsorption processes of these dyes on the surface of different carbonaceous materials. For instance, activated carbon (AC) can allow this comparison because its surface has a large amount of

functional groups containing oxygen atoms that make it less hydrophobic than MWCNT. Besides, AC contains carbon atoms of varying saturation degrees and different oxidation states, and presents a low content of graphitized structure.²⁴ The adsorption isotherms of the CR, PR and AR dyes on AC surface, at 25.0°C and pH_i = 6.0, are presented in Figure 4.3.

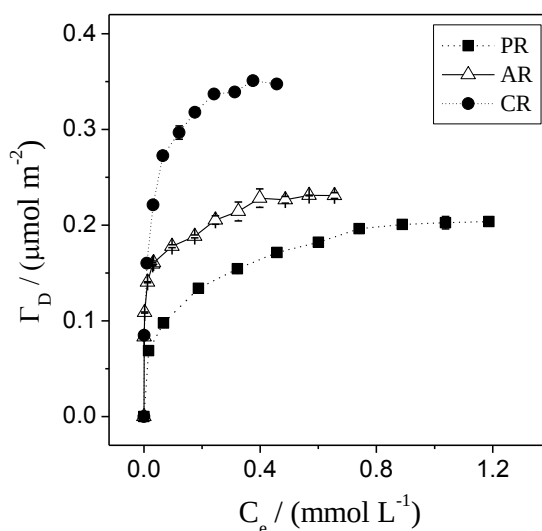


Figure 4.3. Adsorption isotherms of red dyes on the AC surface, at 25.0 °C and pH_i = 6.0.

With regard to the effect of the dye structure on the adsorbed amount, the Γ_D values in AC also follows the order Γ_D (PR) < Γ_D (AR) < Γ_D (CR), showing that the interactions that govern the adsorption process of dyes on this adsorbent are similar to those that act on the adsorption of the dyes on MWCNT surface. However, for each dye, Γ_D values are higher for MWCNT than AC at all equilibrium concentration, and the $\Gamma_{D,max}$ values are at least 2.7 times greater when the adsorbent is the MWCNT. These results suggest that the dye-adsorbent hydrophobic and π - π stacking interactions involved in the adsorption process are more favorable for MWCNT than AC.

For an additional analysis, the $\Gamma_{D,max}$ (AR)/ $\Gamma_{D,max}$ (PR) and $\Gamma_{D,max}$ (CR)/ $\Gamma_{D,max}$ (AR) ratios were calculated for MWCNT and AC from the experimental data; whereas the first one remains almost constant when MWCNT is replaced with AC [$\Gamma_{D,max}$ (AR)/ $\Gamma_{D,max}$ (PR) ratio is equal to 1.04 and 1.13 for MWCNT and AC, respectively], the second one decreases by a half [$\Gamma_{D,max}$ (CR)/ $\Gamma_{D,max}$ (AR) ratio changes from 3.14 (for MWCNT) to 1.52 (for AC)]. From these results, we have suggested that the AC has a high percentage of unavailable surface area for adsorption of dyes, in special for CR that presents a larger molecular size compared with the other studied dyes.

Certainly, the Γ_D values depend on the surface area that is available to adsorption of the dyes. The AC is a porous material that has a large quantity of narrow micropores that are inaccessible for some chemicals such as dyes.^{24,29} On the other hand, the pores of the MWCNT are formed due to the entanglement of some individual tubes that interact with themselves by van der Waals interactions. These pores have dimensions of mesopores or higher and they are more accessible for the adsorbate when compared with the pores of AC.^{27,47} Then, the $\Gamma_{D,max}$ (CR)/ $\Gamma_{D,max}$ (AR) ratio decreases when MWCNT is replaced with AC because some pores of AC cannot be reached by CR molecules due to its larger molecular size in relation to the AR molecular size. This pore-size effect probably does not affect the $\Gamma_{D,max}$ (AR)/ $\Gamma_{D,max}$ (PR) ratio because AR and PR dyes have similar molecular sizes and they can access the same number of sites on the adsorbents. When Γ_D values are expressed in mmol kg⁻¹, the adsorption capacity for PR and AR becomes greater for the AC because this adsorbent has a greater specific surface area ($A_{AC} \approx 4.6A_{MWCNT}$). However, for CR, the adsorption capacity remains greater when the adsorbent is the MWCNT, showing that the pore-size effect on the adsorption is actually more pronounced for this dye.

Comparison between AC and MWCNT surfaces regarding the adsorption capacity of other dye molecules has been also examined. For instance, Machado et al.²⁷ evaluated the Reactive Red M-2BE adsorption on AC and MWCNT and the maximum amounts of dye uptake were 335.7 mg g^{-1} (1.9 mg m^{-2}) and 260.7 mg g^{-1} (0.4 mg m^{-2}) for MWCNT and AC, respectively. In the same way, Li et al.¹³ studied the adsorption capacity of CNT and AC for Methylene Blue and they found $\Gamma_{D,max}$ values of 1.23 and 0.16 mg m^{-2} , respectively. Both authors proposed that the larger pore diameter of the CNT when compared with AC explains the differences between their adsorption capacities.

Although the pore diameter of the adsorbents is an important aspect with respect to the adsorption capacity of the adsorbent, here we are more interested in the thermodynamic aspects of the binding of the dyes on the surface of the adsorbents. To understand these aspects, it is important to evaluate the contribution of the electrostatic interactions for the adsorption process.

4.3.2. pH effect on the adsorption of dyes

The pH of the system can present great influence on the adsorptive uptake of a solute on a surface because the adsorbent net charge and the ionization/dissociation degree of the solute, which modulate the dye-adsorbent electrostatic interaction, depend on the hydrogenionic concentration. Thus, evaluating the pH effect on the adsorption of the red dyes can provide valuable information about the importance of electrostatic interactions in this process. Figure 4.4 shows the effect of the initial pH of the system on the amount of adsorbed dye for the MWCNT and AC surfaces.

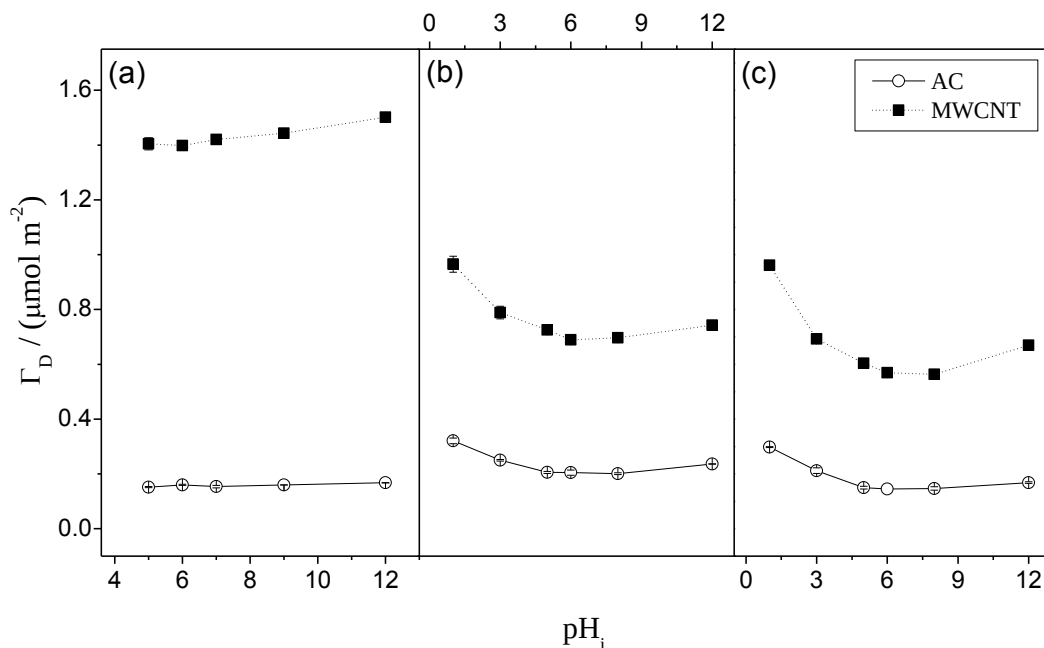


Figure 4.4. Effect of the initial pH on the adsorption of red dyes on MWCNT and AC, at 25.0 °C: **(a)** CR, **(b)** AR and **(c)** PR. The dye concentration was fixed at 200 mg L⁻¹ for PR and AR in both adsorbents and 100 and 200 mg L⁻¹ for CR in AC and MWCNT, respectively.

The profile of the Γ_D versus pH_i curves is slightly affected by dye and adsorbent structures, suggesting that the electrostatic forces acting in the adsorption process are equally affected by pH for all evaluated systems. For CR, as pH_i increases from 5.0 to 12.0, the Γ_D values increase slightly (from 0.15 to 0.17 $\mu\text{mol m}^{-2}$ for AC and from 1.40 to 1.50 $\mu\text{mol m}^{-2}$ for MWCNT). For AR and PR, Γ_D values decrease when pH_i increases from 1.0 to 6.0 and then Γ_D values increase slightly when pH increases up to 12.0.

In the pH_i range evaluated, the red dyes are always negatively charged due to the presence of sulfonate groups (sulfonic acid has pK_a value near 0). Additionally, the dye electronic structures are not affected on this pH range, as suggested by the electronic spectrum of the dyes in different pH values. On the other hand, the charge on the AC and MWCNT surfaces depends on the pH. For pH values lower than the point of zero charge

(pH_{PZC}) of the adsorbents, they present a positive surface charge. On contrary, the adsorbents present negative surface charge for pH values higher than pH_{PZC} . The pH_{PZC} of MWCNT and AC adsorbents were estimated to be 7.5 and 8.6, respectively (Figure B.S1 in the supplementary data B).

For AR and PR dyes, at pH_i value equal to 1.0, there are electrostatic attractions between the positively charged surface of the adsorbents ($\text{pH} < \text{pH}_{\text{PZC}}$) and the anionic dyes. As the pH of the system increases up to the pH_{PZC} , the positive surface charge on the adsorbent is reduced. Therefore, the electrostatic attraction between the dyes and the adsorbents becomes weaker and the Γ_D values decrease, reaching the lowest values around pH_{PZC} . However, Γ_D values are still high, confirming that non-electrostatic interactions also act in the adsorption process.

At pH 12.0 ($\text{pH} > \text{pH}_{\text{PZC}}$), the negative surface charge density on the MWCNT and AC increases and the repulsive electrostatic interactions between the adsorbents and the anionic dyes become more intense. Thus, we should expect a decrease in the Γ_D values at this pH. However, this result is not observed and a slight increase occurs in the Γ_D values, suggesting an electrostatic shielding between the dyes and the adsorbent surfaces. The electrostatic shielding come as result of the increase in the ionic strength caused by Na^+ ions from NaOH used to adjust the pH of the solution.

4.3.3. Adsorption isotherm studies

Adsorption models can be used to fit the isotherm experimental data to a mathematical equation developed from assumptions regarding a possible mechanism for adsorption.²⁴ Faced with many models described in the literature, an important step to determine the best model to describe the experimental data is to fit different isotherm models to obtained data. Here, the adsorption equilibrium data are fitted by Langmuir, Freundlich, Dubinin-Radushkevich and Temkin models.

In short, the Langmuir model assumes that i) the adsorbate molecules are distributed in a monolayer; ii) the interaction sites have all the same energy and iii) there is no interaction among adsorbed molecules on the adsorbent surface. Equation 4.10 shows the theoretical expression for the Langmuir isotherm in its linear form:

$$\frac{C_e}{\Gamma_D} = \frac{1}{\Gamma_{D,max}^L \cdot K_L} + \frac{1}{\Gamma_{D,max}^L} C_e \quad (4.10)$$

where Γ_D and $\Gamma_{D,max}^L$ are the experimental adsorbed amount and the theoretical maximum adsorbed amount of the solute, respectively, in mol m⁻²; C_e is the equilibrium concentration, in mol L⁻¹, and K_L is the Langmuir's constant, in L mol⁻¹; K_L represents the thermodynamic constant in the process where free adsorbate molecules in the solution (A) interact with adsorbent vacant sites (S) to form the A-S pair on the adsorbent surface. Using equation 4.10, the $\Gamma_{D,max}^L$ and K_L values can be derived from the slope and intercept of the curve obtained by plotting C_e/Γ_D versus C_e .

The Freundlich isotherm model is an empirical relationship that describes the adsorption of solutes in liquid-solid interfaces and assumes that heterogeneous sites of interaction with distinct adsorption energies are involved in the adsorption process. The Freundlich isotherm in its linear form is expressed by equation 4.11:

$$\ln q_D = \ln K_F + \frac{1}{n} \ln C_e \quad (4.11)$$

where C_e is the equilibrium concentration, in mg L⁻¹, and q_D is the adsorbed amount, in mg g⁻¹. Both K_F and n are Freundlich's constants that represent the adsorption capacity and adsorption strength, respectively. Using equation 4.11, K_F and n values are obtained from the intercept and slope in the plot of $\ln q_D$ versus $\ln C_e$, respectively.

The Dubinin-Radushkevich isotherm (D-R) is an analogue of the Langmuir isotherm with regard to adsorption occurring on a single layer. However, the D-R isotherm is more general because it does not suppose a homogeneous surface or constant adsorption potential. Equation 4.12 shows the linear equation of D-R isotherm:

$$\ln q_D = \ln(X'_m) - K_{DR}\varepsilon^2 \quad (4.12)$$

where q_D is the amount of solute adsorbed and X'_m is the adsorption capacity, both in mg g^{-1} , and K_{DR} is the constant associated with adsorption energy expressed in $\text{mol}^2 \text{kJ}^{-2}$. The ε parameter is the Polanyi's potential and is given by $RT\ln[1 + (1/C_e)]$. The values of X'_m and K_{DR} can be obtained from intercept and slope of the $\ln q_D$ versus ε^2 curves, respectively.

Finally, the Temkin isotherm takes into account the effect of indirect interactions among the adsorbate molecules on the adsorbent surface and assumes that the adsorption enthalpy decreases linearly as surface coverage increases. The Temkin isotherm in its linear form is given by equation 4.13:

$$q_D = b_T \ln K_T + b_T \ln C_e \quad (4.13)$$

where K_T is the equilibrium binding constant (L g^{-1}) and b_T is a constant associated with adsorption enthalpy. The q_D and C_e parameters have the same meaning of those in Freundlich's model.

Table 4.1 shows the fitted parameters of the isotherms for all evaluated models, in all studied systems.

Table 4.1. Isotherm Parameters for Adsorption of Red Dyes on MWCNT and AC, at 25.0 °C and pH_i = 6.0.

Langmuir	$\Gamma_{D,max}^L / (\text{mmol m}^{-2})$	$K_L / (\text{L mol}^{-1})$	R^2	RMSE
MWCNT-CR	2.03×10^{-3}	1.28×10^5	0.9969	0.093
MWCNT-AR	6.32×10^{-4}	1.74×10^5	0.9994	0.102
MWCNT-PR	6.26×10^{-4}	2.50×10^4	0.9944	0.061
AC-CR	3.59×10^{-4}	6.16×10^4	0.9982	0.080
AC-AR	2.34×10^{-4}	5.79×10^4	0.9969	0.088
AC-PR	2.19×10^{-4}	1.05×10^4	0.9948	0.056
Freundlich	n	$K_F / (\text{mg}^{(1-1/n)} \text{L}^{1/n} \text{m}^{-2})$	R^2	RMSE
MWCNT-CR	3.72	0.41	0.9726	0.032
MWCNT-AR	9.16	0.18	0.9915	0.007
MWCNT-PR	4.85	0.11	0.9943	0.006
AC-CR	4.34	0.07	0.9800	0.019
AC-AR	6.67	0.05	0.9752	0.014
AC-PR	3.77	0.02	0.9941	0.008
D-R	$X'_m / (\text{mg g}^{-1})$	$K_{DR} / (\text{kJ}^2 \text{mol}^{-2})$	R^2	RMSE
MWCNT-CR	1.82×10^2	3.80×10^{-2}	0.6183	0.149
MWCNT-AR	5.07×10^1	1.45×10^{-2}	0.6887	0.048
MWCNT-PR	5.60×10^1	1.64×10^0	0.6451	0.049
AC-CR	1.74×10^2	2.21×10^{-1}	0.7219	0.088
AC-AR	8.30×10^1	1.69×10^{-1}	0.7158	0.047
AC-PR	8.89×10^1	1.63×10^1	0.6450	0.076
Temkin	$b_T / (\text{mg g}^{-1})$	$K_T / (\text{L g}^{-1})$	R^2	RMSE
MWCNT-CR	33.47	15.23	0.9289	0.097
MWCNT-AR	4.45	3099.60	0.9815	0.012
MWCNT-PR	9.27	3.82	0.9734	0.014
AC-CR	27.68	7.53	0.9861	0.022
AC-AR	9.97	65.24	0.9863	0.009
AC-PR	17.98	0.56	0.9808	0.020

Because a good correlation with experimental data (R^2) does not mean that the model accurately describes the investigated process, the root mean square error (RMSE) is also presented. The RMSE values measure the difference between the dye adsorbed

amount predicted by the fitted model (p_{est}) and the dye adsorbed amount experimentally determined (p_{exp}), in accordance with equation 4.14:

$$RMSE = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^N [(p_{est} - p_{exp})/p_{exp}]^2}}{N} \quad (4.14)$$

where N is the number of experimental isotherm data points and p can denote q_D or Γ_D .

The Langmuir and Freundlich isotherm models yield the best fits with the highest determination coefficients ($R^2 > 0.9944$ and $R^2 > 0.9726$ for Langmuir and Freundlich, respectively) when compared with those obtained using the other evaluated models. However, the Freundlich isotherm is a better model to explain our experimental data because it presents the smallest RMSE values ($RMSE < 3.2\%$). These results can be attributed to the features of the evaluated adsorbents (MWCNT and AC), mainly their surface heterogeneity due to the presence of functional groups on the surface and their polydispersity.

From the Freundlich model, the n values present magnitude up to 9.16 times higher than unity, indicating that the dyes concentrates at the adsorbent/solution interface in the equilibrium state. The K_F values were not compared with each other because their unit depends on the n value, which is distinct for all evaluated systems.

Several studies have evaluated the experimental data of dye adsorption on MWCNT surface using several isotherm models, and a general model describing the dye adsorption behavior has not been verified. However, almost all of these studies have proposed the most adequate model to the experimental data only based on the determination coefficients values. For instance, while the adsorption of procion red MX-5B,⁴⁸ reactive blue 4 textile dye,⁶ methylene blue,^{9,49} and acid red 183⁴⁹ on MWCNT has presented good determination coefficients for Langmuir isotherm, the adsorption of

Direct Yellow 86⁵⁰ and binary system of methylene blue and acid red 183⁴⁹ on MWCNT has been well fitted to the Freundlich isotherm. On the other hand, experimental data of dye adsorption on AC has been generally fitted to the Langmuir model.^{22,51,52}

4.3.4. Adsorption thermodynamic parameters

Until now, we have characterized the dye-adsorbent interaction under a qualitative viewpoint. However, a quantitative knowledge about it is needed to better understand the driving forces governing the dye adsorption on carbonaceous material surfaces. Thus, thermodynamic parameters associated with the dye adsorption on both MWCNT and AC surfaces ($\Delta_{ads}G^{ref}$, $\Delta_{ads}H$ and $\Delta_{ads}S^{ref}$) were determined for different surface coverage of the adsorbents.

Figure 4.5 shows $\Delta_{ads}G^{ref}$, $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D curves for AR adsorption on the MWCNT surface, at 25.0 °C and pH_i equal to 6.0. The $\Delta_{ads}X^{ref}$ values for higher Γ_D were not calculated because the difference between the calorimetric signal obtained from the dilution of the dye and from the adsorption experiments was lower than the equipment noise, probably associated with the small amount of dye that adsorbs on the MWCNT for each injection when the adsorbent surface is almost saturated.

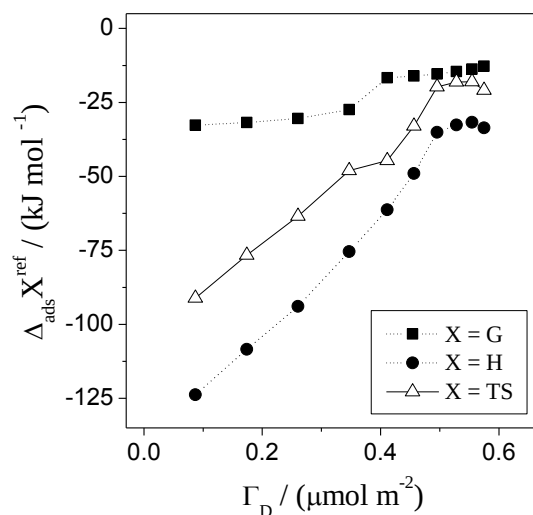


Figure 4.5. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of AR on MWCNT, at 25.0 °C and $\text{pH}_i = 6.0$.

The $\Delta_{\text{ads}} G^{\text{ref}}$ values associated with AR adsorption on MWCNT are always negative, indicating that the dye concentrates on the MWCNT surface in the equilibrium state. The $\Delta_{\text{ads}} H$ and $T\Delta_{\text{ads}} S^{\text{ref}}$ values are also negative within the evaluated Γ_D range, showing that the dye adsorption process is enthalpically driven for all surface coverage range. However, the Γ_D increase makes both $\Delta_{\text{ads}} H$ and $T\Delta_{\text{ads}} S^{\text{ref}}$ values less negative, suggesting that the AR-MWCNT interaction occurs via different adsorption sites and that the AR molecules begin to interact strongly among themselves on the adsorbent surface and in the bulk solution as the dye concentration increases.

Analyzing the profile of $\Delta_{\text{ads}} H$ versus Γ_D curve we can obtain information about the interactions that dominate the adsorption process as the surface coverage increases. Interestingly, at the Γ_D value equal to $8.69 \times 10^{-2} \mu\text{mol m}^{-2}$, corresponding to the first injection in the calorimetric titration experiment, the $\Delta_{\text{ads}} H$ value is equal to -124 kJ mol^{-1} , indicating that intermolecular interactions of high enthalpic energy

(hydrogen bonds, electrostatic and dipole-dipole interactions) are involved in the adsorption process.

To explain the profile of the $\Delta_{ads}H$ versus Γ_D curve and the magnitude of the $\Delta_{ads}H$ values in figure 4.5, we rationalized the $\Delta_{ads}H$ as a sum of terms associated with four independent sub-processes occurring during the dye adsorption. These different contributions are synthesized in equation 4.15:

$$\Delta_{ads}H = \Delta_{ads}H^{des} + \Delta_{ads}H^{D-S} + \Delta_{ads}H^{D-D, Sur} + \Delta_{ads}H^{D-D, Sol} \quad (4.15)$$

where $\Delta_{ads}H^{des}$ is the enthalpy change associated with the desolvation process of both dye and adsorbent that involves i) the breaking of water-dye and water-adsorbent interactions, ii) the formation of water-water interactions, and iii) the change in the solvation shell structure of the adsorbent due to the dye adsorption. This term can be positive or negative depending on the energetic balance between the interactions formed and disrupted during the process; $\Delta_{ads}H^{D-S}$ is the enthalpy change for the formation of the interaction between the dye and the adsorption site in the surface and it is always negative; the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ and $\Delta_{ads}H^{D-D, Sol}$ terms are the enthalpy changes resulting from the dye-dye interaction on the adsorbent surface and in the solution, respectively. During the adsorption process, the first one is positive and the second one is negative.

At low Γ_D values, there are few AR molecules in the solution and on the MWCNT surface. For instance, in the first injection during the calorimetric experiment, the AR concentration in the solution into the cell is $2.71 \times 10^{-2} \mu\text{mol L}^{-1}$ and the area available for each adsorbed AR molecule is about 19 nm^2 . Therefore, the AR-AR interactions in the solution and in the interface are negligible and the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ and $\Delta_{ads}H^{D-D, Sol}$ terms in equation 4.15 do not determine the $\Delta_{ads}H$ magnitude. Then, the $\Delta_{ads}H$ values are

negative because $\Delta_{ads}H^{des} + \Delta_{ads}H^{D-S} < 0$. Whereas $\Delta_{ads}H^{D-S}$ is always negative, either the $\Delta_{ads}H^{des}$ term is also negative or it is positive, but $|\Delta_{ads}H^{des}| < |\Delta_{ads}H^{D-S}|$.

When the Γ_D values increase, the dye-dye interaction becomes important and the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ and $\Delta_{ads}H^{D-D, Sol}$ terms contribute strongly for $\Delta_{ads}H$ values; the higher the dye concentration is, the more positive is the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ term because the electrostatic repulsion increases as a result of the decrease in the distance of interaction between the dye molecules on the surface. At the same time, the sites of the adsorbent that interact more favorably with the dye, releasing a greater amount of heat (probably the less hydrophobic interaction sites), become unavailable for the dye adsorption and the dye begins to interact with sites that interact less favorably with it, making the $\Delta_{ads}H^{D-S}$ term less negative. Therefore, the $\Delta_{ads}H$ values become less negative as the surface coverage increases due to the increase in the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ and $\Delta_{ads}H^{D-S}$ terms.

Regarding the adsorption entropy change, it can result from two main events: i) the transfer of the dye from the solution to the solid-liquid interface, that decreases the system's entropy due mainly to the configurational entropy decrease of the dye on the adsorbent surface and ii) the release of water molecules from the solvation layer of both solute and adsorbent that promotes an increase of the system's entropy. Thus, $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values are negative because the entropic gain due to the release of water molecules during the dehydration process of MWCNT and AR does not compensate the loss of entropy due to the decrease in the freedom degree of the dye. However, the entropic gain due to the release of water molecules from the dehydration process increases when Γ_D increases because the hydrophobic interactions between AR dye and MWCNT become more important at higher Γ_D values, as suggested from the $\Delta_{ads}H$ calorimetric curves. Consequently, $T\Delta_{ads}S^{ref}$ increases at higher surface coverage.

To investigate the effect of the dye structure on the adsorption thermodynamic parameters and obtain more information about the mechanism of interaction between MWCNT and the azo-dyes, $\Delta_{ads}G^{ref}$, $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D curves were also obtained for CR and PR dyes and are showed in figure 4.6.

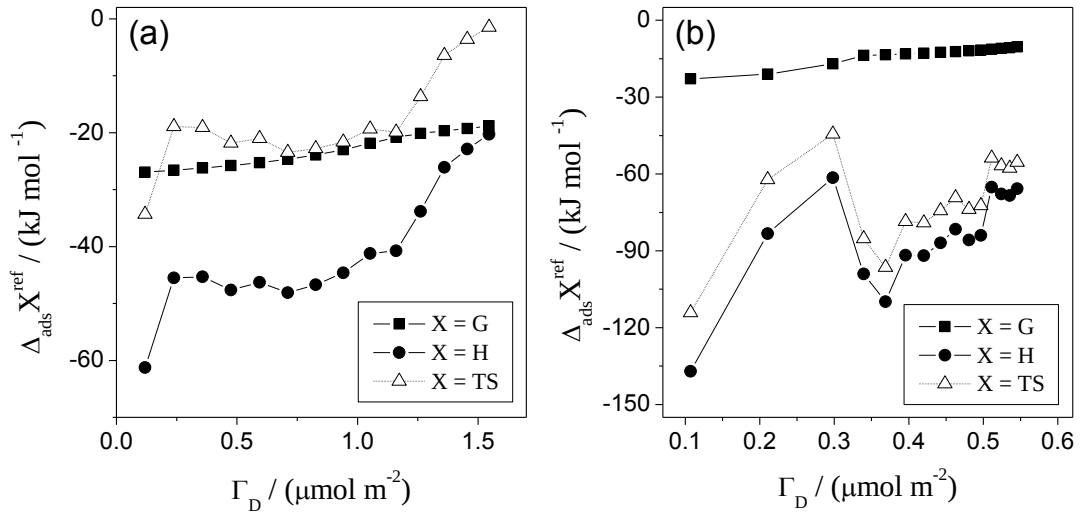


Figure 4.6. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of (a) CR and (b) PR on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0.

For both CR and PR, the $\Delta_{ads}G^{ref}$ values are also negative, and the dependence of this parameter on Γ_D is similar to that observed for the AR dye. However, the profiles of the $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D curves depend strongly on the dye structure.

For CR dye (figure 4.6a), the $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values increase when the Γ_D value changes from 0.11 to 0.24 $\mu\text{mol m}^{-2}$. Then, they remain almost constant when the Γ_D values increase up to 0.75 $\mu\text{mol m}^{-2}$, indicating that the adsorption sites occupied interact with the CR dye releasing equal amounts of energy. When Γ_D is greater than 0.75 $\mu\text{mol m}^{-2}$, the $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values increase as Γ_D increases, showing that the CR-CR interaction takes place on the MWCNT surface.

At Γ_D value equal to $0.11 \mu\text{mol m}^{-2}$, there is an important contribution of the hydrophilic sites for the CR adsorption, leading to a more exothermic process due to the more negative $\Delta_{ads}H^{D-S}$ values. The distinct behavior of the $\Delta_{ads}H$ versus Γ_D curve for the CR dye in the range from 0.24 to $0.75 \mu\text{mol m}^{-2}$ comes from the low charge density and high hydrophobicity of this dye associated with the majority presence of hydrophobic sites on the MWCNT surface. Because of this, the $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ term does not present high contribution for $\Delta_{ads}H$, and the term $\Delta_{ads}H^{D-S}$ is almost constant. Therefore, the $\Delta_{ads}H$ values change little at this wide range of surface coverage.

The comparison between the thermodynamic parameters versus Γ_D curves for AR and CR gives important information about the adsorption mechanisms involved in the adsorption of the dyes on MWCNT (an easier comparison between the curves obtained for AR and CR can be seen in figures B.S2 and B.S3a in the supplementary data B). Both $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values are less negative for the CR than for the AR dye at Γ_D values ranging from 0 to $4.56 \times 10^{-1} \mu\text{mol m}^{-2}$. However, when Γ_D value increases above $4.56 \times 10^{-1} \mu\text{mol m}^{-2}$, $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values become more negative for the CR dye.

At the evaluated pH (pH = 6.0), MWCNT is positively charged. On the other hand, the AR and CR dyes are negatively charged and AR dye (containing three sulfonate groups) presents a higher negative charge density than CR (containing only two sulfonate groups on a structure with a higher ionic volume). Consequently, the dye-MWCNT electrostatic attraction is more intense for the AR, and the $\Delta_{ads}H^{D-S}$ term in equation 4.15 must be more negative for the AR dye. At the same time, the CR dye has a larger ionic volume and hydrophobicity, and when this dye adsorption takes place, a greater number of interactions among the water molecules structured around both MWCNT and dye molecules should be broken.⁵³ Because of this, the CR desolvation has a higher energetic cost than the AR desolvation, and the $\Delta_{ads}H^{des}$ term in equation 4.15 is less

negative (or more positive) for the CR dye. Thus, both $\Delta_{ads}H^{D-S}$ and $\Delta_{ads}H^{des}$ contribute to more negative $\Delta_{ads}H$ values for AR than CR when the Γ_D values range from 0 to $4.56 \times 10^{-1} \mu\text{mol m}^{-2}$.

When the Γ_D values are higher than $4.56 \times 10^{-1} \mu\text{mol m}^{-2}$, the $\Delta_{ads}H$ values become less negative for AR compared with CR dye due to the more intense dye-dye repulsive electrostatic interactions that occur on the adsorbent surface when the dye is AR, and the term $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$ dominates the enthalpic energy involved in the process.

To explain the relative magnitude of $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values for AR and CR, we should consider the change of entropy that occurs in the bulk and in the interface when the dyes adsorb. However, this parameter cannot be directly compared in the graph of $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D (figure B.S3a in the supplementary data B) because at the same Γ_D value, the dye concentration in the solution is very different. For example, when Γ_D is equal to $4.56 \times 10^{-1} \mu\text{mol m}^{-2}$, the C_e value for AR is about 6.5 times higher than for CR. Then, when the dyes are transferred from the solution to the adsorbent surface, the contribution of the configurational entropy change to the $T\Delta_{ads}S^{ref}$ value is different for both dyes, and no molecular information can be obtained.

For the PR dye (figure 4.6b), the adsorption process on MWCNT is also enthalpically driven. However, the profiles of $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D curves are very different from those observed for AR and CR dyes. As Γ_D ranges from 0.107 to $0.298 \mu\text{mol m}^{-2}$, the $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values become less negative. Then, the Γ_D increase from 0.298 to $0.369 \mu\text{mol m}^{-2}$ renders the adsorption process more exothermic and more entropically unfavorable. Finally, above $0.369 \mu\text{mol m}^{-2}$, as Γ_D increases the $\Delta_{ads}H$ and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ values increase slightly. This behavior suggests that different molecular events involved in the adsorption process of the PR dye modulate the enthalpic/entropic balance.

To evaluate the adsorbent surface effect on the dye adsorption thermodynamic, $\Delta_{ads}G^{ref}$, $\Delta_{ads}H$, and $T\Delta_{ads}S^{ref}$ versus Γ_D curves were obtained for AC and they are showed in figure B.S4 in supplementary data B. In general, when MWCNT is replaced with AC, the profiles of the adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves do not change, except for the CR dye. Figure 4.7 presents the adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for CR adsorption on MWCNT and AC. The lower maximum adsorbed amount of the dye on the AC surface limited our comparison between the adsorption thermodynamic parameters in the range between 0.12 and 0.28 $\mu\text{mol m}^{-2}$.

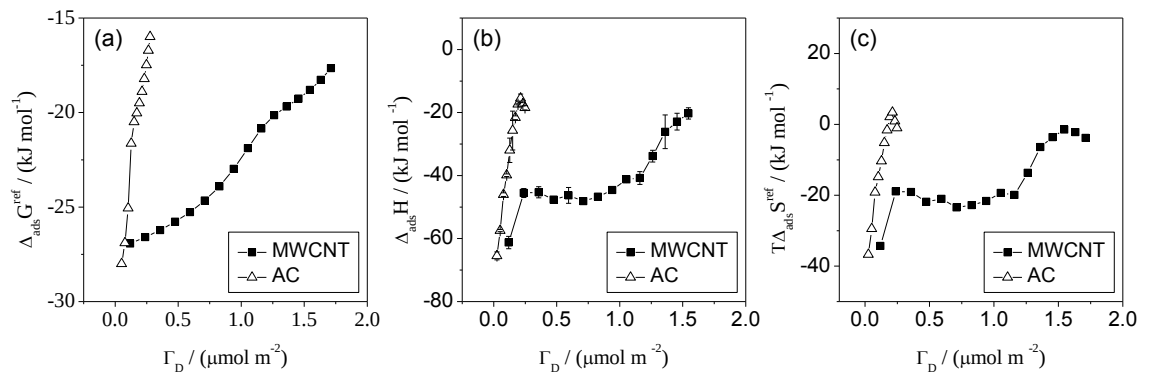


Figure 4.7. Effect of adsorbent structure on the (a) $\Delta_{ads}G^{ref}$, (b) $\Delta_{ads}H$, and (c) $T\Delta_{ads}S^{ref}$ for CR adsorption, at 25.0 °C and pH 6.0.

Although the $\Delta_{ads}G^{ref}$ values become less negative when MWCNT is replaced with AC (figure 4.7a), the dye adsorption process remains enthalpically driven (figure 4.7b). However, two differences should be highlighted in the $\Delta_{ads}H$ versus Γ_D curves: i) the difference between the magnitudes of $\Delta_{ads}H(\text{MWCNT})$ and $\Delta_{ads}H(\text{AC})$ values, and ii) the absence of a plateau for the CR adsorption on the AC. These results are associated with the more heterogeneous sites on the AC than those on the MWCNT surface. Additionally, the dye-dye interaction on the AC surface is strong even in the beginning

of the adsorption process (low Γ_D values), as can be observed by the high slope in the $\Delta_{ads}H$ versus Γ_D curve. Therefore, $\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}(AC)$ value contributes a lot to the $\Delta_{ads}H(AC)$ values. This second hypothesis can be explained by the inaccessible surface area of AC, providing a smaller surface area available for the CR molecule adsorption.

4.3.5. Adsorption thermodynamic parameters at infinite dilution

To elucidate the driving forces responsible for the dye adsorption on the AC and MWCNT when the dye-dye interaction does not take place on the adsorption process, we determined the adsorption thermodynamic parameters at infinite dilution condition. Adsorption Gibbs free energy change for infinite dilution was determined by the equation $\Delta_{ads}G^\infty = -RT \ln K_{ads}$, where K_{ads} was obtained by equation 4.4. The adsorption enthalpy change for infinite dilution ($\Delta_{ads}H^\infty$) was obtained from extrapolation of the integral adsorption enthalpy change ($\Delta_{ads}H_{integral}$) versus Γ_D curves for $\Gamma_D \rightarrow 0$ (figure B.S5 in supplementary data B). Finally, adsorption molar entropy change at infinite dilution ($\Delta_{ads}S^\infty$) was obtained from equation 4.9. Table 4.2 shows the adsorption thermodynamic parameters for infinite dilution condition in the studied systems.

Table 4.2. Adsorption Thermodynamic Parameters for Infinite Dilution Condition of Red Dyes on AC and MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0.

Dye	$\Delta_{ads}G^\infty / \text{kJ mol}^{-1}$		$\Delta_{ads}H^\infty \text{ }^a / \text{kJ mol}^{-1}$		$T\Delta_{ads}S^\infty / \text{kJ mol}^{-1}$	
	MWCNT	AC	MWCNT	AC	MWCNT	AC
CR	-27.24	-29.38	-76.95	-71.63	-49.71	-42.25
AR	-33.31	-28.54	-132.72	-133.64	-99.41	-105.1
PR ^b	-23.89	-22.09	-198.78	-182.32	-174.89	-160.23

^aRelative standard deviation were lower than 4.0 %. ^b $\Delta_{ads}H^\infty$ and $T\Delta_{ads}S^\infty$ were not obtained with accuracy for PR dye due to the low amount of data for the fitted model (figure B.S5 in supplementary data B).

The $\Delta_{ads}G^\infty$ values are negative for all systems, indicating that the dye concentrates on the adsorbent surface in the equilibrium state at infinite dilution condition. Moreover, the adsorption process in this condition is enthalpically driven ($\Delta_{ads}H^\infty < 0$) and entropically unfavorable ($T\Delta_{ads}S^\infty < 0$), with both $\Delta_{ads}H^\infty$ and $T\Delta_{ads}S^\infty$ values increasing in the order PR < AR < CR.

For both adsorbents, $\Delta_{ads}G^\infty$ values depend on the structure of the dye. Despite the small change in $\Delta_{ads}G^\infty$ when the dye structure is changed ($\Delta_{ads}G^\infty$ changes a maximum of 9.42 kJ mol⁻¹ when AR is replaced with PR in MWCNT), the $\Delta_{ads}H^\infty$ and $T\Delta_{ads}S^\infty$ values vary in a large range ($\Delta_{ads}H^\infty$ and $T\Delta_{ads}S^\infty$ change by a maximum of 121.83 kJ mol⁻¹ and 117.98 kJ mol⁻¹, respectively, when CR is replaced with PR in MWCNT).

The $\Delta_{ads}H^\infty$ parameter can be expressed as a sum of the same terms in equation 4.15, except the terms associated with the dye-dye interaction on the adsorbent surface ($\Delta_{ads}H^{D-D, Sur}$) and in the solution ($\Delta_{ads}H^{D-D, Sol}$), which are absent at infinite dilution. Thus, $\Delta_{ads}H^\infty = \Delta_{ads}H^{des, \infty} + \Delta_{ads}H^{D-S, \infty}$, with both $\Delta_{ads}H^{des, \infty}$ and $\Delta_{ads}H^{D-S, \infty}$ depending on the hydrophobicity and the charge density of dye and adsorbent. The $\Delta_{ads}H^{D-S, \infty}$ term becomes more negative as the electrostatic attraction between the dye and the adsorbent (positively charged in the pH evaluated) increases, i.e., as the negative charge density of dye increases. Whereas the negative charge density increase in the order CR < AR < PR, $\Delta_{ads}H^{D-S, \infty}(PR) < \Delta_{ads}H^{D-S, \infty}(AR) < \Delta_{ads}H^{D-S, \infty}(CR)$, that is the same order of the $\Delta_{ads}H^\infty$ increase. On the other hand, the magnitude of the $\Delta_{ads}H^{des, \infty}$ term depends on the water-dye interaction intensity and on the number of water molecules released from the solvation shell of both adsorbent and dye when the dye adsorbs. Whereas CR has a higher ionic volume than PR and AR, it should interact with the adsorbent releasing a greater number of water molecules to the bulk. Consequently,

because of the highly hydrophobic nature of the CR dye, the $\Delta H_{ads}^{des,\infty}$ term should be less negative (or more positive) for it, contributing for the less negative values of $\Delta_{ads}H^\infty$ for this dye. The greater number of water molecules released from the hydrophobic surface of both adsorbent and dye to the bulk when the dye is CR also explains the less negative $T\Delta_{ads}S^\infty$ values for the CR adsorption.

Regarding the effect of the adsorbent structure on the adsorption thermodynamic parameters, the $\Delta_{ads}G^\infty$ values are slightly more negative when the adsorbent is the MWCNT, for AR and PR dyes. Interestingly, the $\Delta_{ads}H^\infty$ values change a little when MWCNT is replaced with AC. Considering the deviation of the measurements, the difference between the $\Delta_{ads}H^\infty$ values obtained for MWCNT and AC, for each dye, is smaller than 2.0 kJ mol⁻¹ (less than 3%). This result indicates that the dyes interact with similar sites on the surface of both adsorbents at infinite dilution condition, i.e., sites with similar hydrophilicity.

4.4. Conclusion

Adsorption of red azo dyes on MWCNT and AC surfaces was studied and features about the adsorbent surfaces were highlighted by analyzing the thermodynamic parameters of adsorption. Adsorption of the dyes on MWCNT and AC surfaces depended on the adsorbent and dye structures, and the Freundlich model fitted well the experimental data.

Isothermal titration microcalorimetry presented a great potential in the current study, showing that this technique can be used to directly determine adsorption enthalpy changes associated with adsorption of several molecules on carbonaceous materials. The driving force governing the adsorption process of the dyes on both carbonaceous

materials was the same, i.e., adsorption of the dyes was enthalpically driven and occurred with decrease in the system's entropy.

For low surface coverage values, the dye-adsorbent interactions presented high enthalpic energies, showing that attractive electrostatic and hydrophilic interactions are involved in the adsorption process, besides π - π stacking. Our results demonstrated that the dyes preferentially occupied the most hydrophilic sites on the adsorbent surface at low amount of adsorbed dye, for both adsorbents.

4.5. References

1. Ahmaruzzaman, M. Adsorption of Phenolic Compounds on Low-cost Adsorbents: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2008**, 143, 48-67.
2. Gupta, V. K.; Suhas Application of Low-cost Adsorbents for Dye Removal - A Review. *J. Environ. Manage.* **2009**, 90, 2313-2342.
3. Wan Ngah, W. S.; Hanafiah, M. A. Removal of Heavy Metal Ions from Wastewater by Chemically Modified Plant Wastes as Adsorbents: A Review. *Bioresour. Technol.* **2008**, 99, 3935-3948.
4. Ge, F.; Ye, H.; Li, M.-M.; Zhao, B.-X. Efficient Removal of Cationic Dyes from Aqueous Solution by Polymer-Modified Magnetic Nanoparticles. *Chem. Eng. J.* **2012**, 198-199, 11-17.
5. Tham, Y. J.; Latif, P. A.; Abdullah, A. M.; Shamala-Devi, A.; Taufiq-Yap, Y. H. Performances of Toluene Removal by Activated Carbon Derived from Durian Shell. *Bioresour. Technol.* **2011**, 102, 724-728.
6. Machado, F. M.; Bergmann, C. P.; Lima, E. C.; Royer, B.; de Souza, F. E.; Jauris, I. M.; Calvete, T.; Fagan, S. B. Adsorption of Reactive Blue 4 Dye from Water Solutions by Carbon Nanotubes: Experiment and Theory. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 11139-11153.
7. Li, J.; Chen, S.; Sheng, G.; Hu, J.; Tan, X.; Wang, X. Effect of Surfactants on Pb(II) Adsorption from Aqueous Solutions Using Oxidized Multiwall Carbon Nanotubes. *Chem. Eng. J.* **2011**, 166, 551-558.
8. Sharma, P.; Saikia, B. K.; Das, M. R. Removal of Methyl Green Dye Molecule from Aqueous System Using Reduced Graphene Oxide as an Efficient Adsorbent: Kinetics, Isotherm and Thermodynamic Parameters. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2014**, 457, 125-133.
9. Yao, Y.; Xu, F.; Chen, M.; Xu, Z.; Zhu, Z. Adsorption Behavior of Methylene Blue on Carbon Nanotubes. *Bioresour. Technol.* **2010**, 101, 3040-3046.

10. Huang, W.; Chen, J.; He, F.; Tang, J.; Li, D.; Zhu, Y.; Zhang, Y. Effective Phosphate Adsorption by Zr/Al-pillared Montmorillonite: Insight into Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics. *Appl. Clay Sci.* **2015**, 104, 252-260.
11. Nguyen, L. N.; Hai, F. I.; Kang, J.; Price, W. E.; Nghiem, L. D. Removal of Trace Organic Contaminants by a Membrane Bioreactor-granular Activated Carbon (MBR-GAC) System. *Bioresour. Technol.* **2012**, 113, 169-173.
12. Lee, K. J.; Miyawaki, J.; Shiratori, N.; Yoon, S. H.; Jang, J. Toward an Effective Adsorbent for Polar Pollutants: Formaldehyde Adsorption by Activated Carbon. *J. Hazard. Mater.* **2013**, 260, 82-88.
13. Li, Y.; Du, Q.; Liu, T.; Peng, X.; Wang, J.; Sun, J.; Wang, Y.; Wu, S.; Wang, Z.; Xia, Y.; Xia, L. Comparative Study of Methylene Blue Dye Adsorption onto Activated Carbon, Graphene Oxide, and Carbon Nanotubes. *Chem. Eng. Res. Des.* **2013**, 91, 361-368.
14. Luo, C.; Wei, R.; Guo, D.; Zhang, S.; Yan, S. Adsorption Behavior of MnO₂ Functionalized Multi-walled Carbon Nanotubes for the Removal of Cadmium from Aqueous Solutions. *Chem. Eng. J.* **2013**, 225, 406-415.
15. Demirbas, A. Agricultural Based Activated Carbons for the Removal of Dyes from Aqueous Solutions: A Review. *J. Hazard. Mater.* **2009**, 167, 1-9.
16. Meng, L.; Fu, C.; Lu, Q. Advanced Technology for Functionalization of Carbon Nanotubes. *Prog. Nat. Sci.* **2009**, 19, 801-810.
17. Vaitheeswaran, S.; Garcia, A. E. Protein Stability at a Carbon Nanotube Interface. *J. Chem. Phys.* **2011**, 134, 125101.
18. Yang, N.; Chen, X.; Ren, T.; Zhang, P.; Yang, D. Carbon Nanotube Based Biosensors. *Sensor. Actuat. B-Chem.* **2015**, 207, 690-715.
19. Peretz, S.; Regev, O. Carbon Nanotubes as Nanocarriers in Medicine. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2012**, 17, 360-368.

20. Abdin, Z.; Alim, M. A.; Saidur, R.; Islam, M. R.; Rashmi, W.; Mekhilef, S.; Wadi, A. Solar Energy Harvesting with the Application of Nanotechnology. *Renewable Sustainable Energy Rev.* **2013**, 26, 837-852.
21. De Filpo, G.; Nicoletta, F. P.; Ciliberti, L.; Formoso, P.; Chidichimo, G. Non-covalent Functionalisation of Single Wall Carbon Nanotubes for Efficient Dye-sensitised Solar Cells. *J. Power Sources* **2015**, 274, 274-279.
22. Hameed, B. H.; Din, A. T.; Ahmad, A. L. Adsorption of Methylene Blue onto Bamboo-based Activated Carbon: Kinetics and Equilibrium Studies. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 141, 819-825.
23. Yu, C.; Qiu, J. S.; Sun, Y. F.; Li, X. H.; Chen, G.; Zhao, Z. B. Adsorption Removal of Thiophene and Dibenzothiophene from Oils with Activated Carbon as Adsorbent: Effect of Surface Chemistry. *J. Porous Mater.* **2007**, 15, 151-157.
24. Yang, K.; Xing, B. Adsorption of Organic Compounds by Carbon Nanomaterials in Aqueous Phase: Polanyi Theory and its Application. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 5989–6008.
25. Peigney, A.; Laurent, C.; Flahaut, E.; Bacsa, R. R.; Rousset, A. Specific Surface Area of Carbon Nanotubes and Bundles of Carbon Nanotubes. *Carbon* **2001**, 39, 507–514.
26. Lin, Y.; Taylor, S.; Li, H.; Fernando, K. A. S.; Qu, L.; Wang, W.; Gu, L.; Zhou, B.; Sun, Y.-P. Advances Toward Bioapplications of Carbon Nanotubes. *J. Mater. Chem.* **2004**, 14, 527.
27. Machado, F. M.; Bergmann, C. P.; Fernandes, T. H.; Lima, E. C.; Royer, B.; Calvete, T.; Fagan, S. B. Adsorption of Reactive Red M-2BE Dye from Water Solutions by Multi-walled Carbon Nanotubes and Activated Carbon. *J. Hazard. Mater.* **2011**, 192, 1122-1131.
28. Apul, O. G.; Wang, Q.; Zhou, Y.; Karanfil, T. Adsorption of Aromatic Organic Contaminants by Graphene Nanosheets: Comparison with Carbon Nanotubes and Activated Carbon. *Water Res.* **2013**, 47, 1648-1654.

29. Brooks, A. J.; Lim, H. N.; Kilduff, J. E. Adsorption Uptake of Synthetic Organic Chemicals by Carbon Nanotubes and Activated Carbons. *Nanotechnology* **2012**, 23, 294008.
30. Zhang, S.; Shao, T.; Kose, H. S.; Karanfil, T. Adsorption Kinetics of Aromatic Compounds on Carbon Nanotubes and Activated Carbons. *Environ. Toxicol. Chem.* **2012**, 31, 79-85.
31. Carabineiro, S. A. C.; Thavorn-amornsri, T.; Pereira, M. F. R.; Serp, P.; Figueiredo, J. L. Comparison between Activated Carbon, Carbon Xerogel and Carbon Nanotubes for the Adsorption of the Antibiotic Ciprofloxacin. *Catal. Today* **2012**, 186, 29-34.
32. Liu, F.-f.; Fan, J.-l.; Wang, S.-g.; Ma, G.-h. Adsorption of Natural Organic Matter Analogues by Multi-Walled Carbon Nanotubes: Comparison with Powdered Activated Carbon. *Chem. Eng. J.* **2013**, 219, 450-458.
33. Chen, W.-Y.; Huang, H.-M.; Lin, C.-C.; Lin, F.-Y.; Chan, Y.-C. Effect of Temperature on Hydrophobic Interaction between Proteins and Hydrophobic Adsorbents: Studies by Isothermal Titration Calorimetry and the van't Hoff Equation. *Langmuir* **2003**, 19, 9395-9403.
34. Lin, D.; Xing, B. Adsorption of Phenolic Compounds by Carbon Nanotubes: Role of Aromaticity and Substitution of Hydroxyl Groups. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, 42, 7254-7259.
35. Pan, B.; Xing, B. Adsorption Mechanisms of Organic Chemicals on Carbon Nanotubes. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, 42, 9005-9013.
36. Pacholczyk, A.; Terzyk, A. P.; Wisniewski, M.; Gauden, P. A.; Wesolowski, R. P.; Furmaniak, S.; Szczes, A.; Chibowski, E.; Kruszka, B. Phenol Adsorption on Closed Carbon Nanotubes. *J. Colloid Interface Sci.* **2011**, 361, 288-292.
37. Blaschke, T.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of Native and Mono-PEGylated Bovine Serum Albumin on Anion-exchangers. *J. Chromatogr. A* **2013**, 1277, 58-68.

38. Blaschke, T.; Varon, J.; Werner, A.; Hasse, H. Microcalorimetric Study of the Adsorption of PEGylated Lysozyme on a Strong Cation Exchange Resin. *J. Chromatogr. A* **2011**, 1218, 4720-4726.
39. Katiyar, A.; Thiel, S. W.; Guliants, V. V.; Pinto, N. G. Investigation of the Mechanism of Protein Adsorption on Ordered Mesoporous Silica Using Flow Microcalorimetry. *J. Chromatogr. A* **2010**, 1217, 1583-1588.
40. Guerra, D. L.; Batista, A. C.; Viana, R. R.; Airoidi, C. Adsorption of Methylene Blue on Raw and MTZ/imogolite Hybrid Surfaces: Effect of Concentration and Calorimetric Investigation. *J. Hazard. Mater.* **2010**, 183, 81-86.
41. Brunauer, S.; Emmett, P. H.; Teller, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, 60, 309-319.
42. Ai, L.; Zhang, C.; Liao, F.; Wang, Y.; Li, M.; Meng, L.; Jiang, J. Removal of Methylene Blue from Aqueous Solution with Magnetite Loaded Multi-wall Carbon Nanotube: Kinetic, Isotherm and Mechanism Analysis. *J. Hazard. Mater.* **2011**, 198, 282-290.
43. Gupta, V. K.; Kumar, R.; Nayak, A.; Saleh, T. A.; Barakat, M. A. Adsorptive Removal of Dyes from Aqueous Solution onto Carbon Nanotubes: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2013**, 193-194, 24-34.
44. Kragulj, M.; Tričković, J.; Dalmacija, B.; Kukovecz, Á.; Kónya, Z.; Molnar, J.; Rončević, S. Molecular Interactions Between Organic Compounds and Functionally Modified Multiwalled Carbon Nanotubes. *Chem. Eng. J.* **2013**, 225, 144-152.
45. Liu, C.-H.; Li, J.-J.; Zhang, H.-L.; Li, B.-R.; Guo, Y. Structure Dependent Interaction between Organic Dyes and Carbon Nanotubes. *Colloids Surf. A: Phys. Eng. Asp.* **2008**, 313-314, 9-12.
46. Almeida, M. R.; Stephani, R.; Santos, H. F. d.; Oliveira, L. F. C. d. Spectroscopic and Theoretical Study of the "Azo"-Dye E124 in Condensate Phase: Evidence of a Dominant Hydrazo Form. *J. Phys. Chem. A* **2010**, 114, 526-534.

47. Upadhyayula, V. K.; Deng, S.; Mitchell, M. C.; Smith, G. B. Application of Carbon Nanotube Technology for Removal of Contaminants in Drinking Water: A Review. *Sci. Total Environ.* **2009**, 408, 1-13.
48. Wu, C. H. Adsorption of Reactive Dye onto Carbon Nanotubes: Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics. *J. Hazard. Mater.* **2007**, 144, 93-100.
49. Wang, S.; Ng, C. W.; Wang, W.; Li, Q.; Hao, Z. Synergistic and Competitive Adsorption of Organic Dyes on Multiwalled Carbon Nanotubes. *Chem. Eng. J.* **2012**, 197, 34-40.
50. Kuo, C. Y.; Wu, C. H.; Wu, J. Y. Adsorption of Direct Dyes from Aqueous Solutions by Carbon Nanotubes: Determination of Equilibrium, Kinetics and Thermodynamics Parameters. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, 327, 308-315.
51. Malik, P. K. Use of Activated Carbons Prepared from Sawdust and Rice-husk for Adsorption of Acid Dyes: A Case Study of Acid Yellow 36. *Dyes Pigments* **2003**, 56, 239-249.
52. Namasivayam, C.; Kavitha, D. Removal of Congo Red from Water by Adsorption onto Activated Carbon Prepared from Coir Pith, an Agricultural Solid Waste. *Dyes Pigments* **2002**, 54, 47-58.
53. Southall, N. T.; Dill, K. A.; Haymet, A. D. J. A View of the Hydrophobic Effect. *J. Phys. Chem. B* **2002**, 106, 521-533.

CAPÍTULO 5:

Considerações finais

Estudos fundamentais que sejam capazes de descrever os processos moleculares associados às propriedades de interesse de certos materiais são de extrema importância. Este trabalho teve este objetivo fundamental e forneceu importantes descobertas sobre a formação da interação entre nanotubos de carbono e diferentes moléculas.

A caracterização termodinâmica das interações CNT-BSA e CNT-azocorantes realizada neste trabalho permitiu determinar uma série de eventos moleculares envolvendo os processos de adsorção de proteínas e corantes sobre a superfície de nanotubos de carbono. Entretanto, os processos de adsorção das moléculas avaliadas aqui mostraram-se demasiadamente complexos, sobretudo no que se refere à adsorção da BSA.

O resultado mais surpreendente neste trabalho foi, sem dúvida, os valores de variação de entalpia de adsorção extremamente negativos encontrados para a adsorção da BSA sobre a superfície dos CNTs. A partir desse resultado nós propusemos que a adsorção da proteína ocorre com mudanças conformacionais em sua estrutura, as quais estabilizam entalpicamente o sistema. Apesar de medidas complementares para confirmação desta hipótese ainda não terem sido realizadas, esse resultado rompe com a visão de que uma molécula de BSA se adsorva com a superfície de CNTs por meio de um único sítio de adsorção, como alguns trabalhos têm sugerido. Estudos ainda serão realizados de forma a confirmar nossas hipóteses.

A utilização dos azocorantes com estruturas semelhantes como sondas moleculares na investigação dos mecanismos de adsorção dos corantes foi uma estratégia de sucesso na compreensão dos processos de adsorção destas moléculas sobre a superfície

de nanotubos de carbono. Nosso trabalho mostrou que o balanço entre interações hidrofóbicas e hidrofílicas que as moléculas do adsorvato podem realizar com a superfície do adsorvente determinam os mecanismos de adsorção das mesmas. Diante das importantes informações obtidas com esse trabalho, abrimos campo para novas investigações que possam comparar o processo de adsorção sobre CNTs de novos conjuntos de moléculas que possuam estruturas similares como, por exemplo, estruturas que se diferenciam apenas por um grupo metila. Escolhendo bem os tipos de moléculas sob investigação, interações específicas entre adsorvato e adsorvente podem ser avaliadas. Alguns destes trabalhos já encontram-se em andamento. Nós acreditamos que nossos resultados levarão a resolver o problema da importância relativa de interações hidrofóbicas e hidrofílicas para adsorção de corantes sobre a superfície de nanotubos de carbono.

APÊNDICE A

Tabela A.S1. Valores de RMSE obtidos para os ajustes de Langmuir e Freundlich em relação as isotermas de adsorção de BSA em diferentes condições termodinâmicas.

pH	Langmuir			Freundlich		
	CNT	R ²	REM _Q	CNT	R ²	REM _Q
KCl 0,0 mM						
3,6	MWCNT	0,9985	0,020	MWCNT	0,9622	0,018
	SWCNT-COOH	0,6365	0,095	SWCNT-COOH	0,2530	0,063
	SWCNT-OH	0,9589	0,025	SWCNT-OH	0,9939	0,008
4,8	MWCNT	0,9980	0,021	MWCNT	0,9026	0,034
	SWCNT-COOH	0,9993	0,011	SWCNT-COOH	0,9307	0,027
	SWCNT-OH	0,9820	0,028	SWCNT-OH	0,9663	0,022
5,8	MWCNT	0,9988	0,019	MWCNT	0,9059	0,039
	SWCNT-COOH	0,9970	0,024	SWCNT-COOH	0,9534	0,026
	SWCNT-OH	0,9882	0,026	SWCNT-OH	0,9203	0,020
KCl 200,0 mM						
3,6	MWCNT	0,9986	0,039	MWCNT	0,9286	0,029
	SWCNT-COOH	0,9941	0,032	SWCNT-COOH	0,9868	0,010
	SWCNT-OH	0,9928	0,027	SWCNT-OH	0,9809	0,018
4,8	MWCNT	0,9888	0,043	MWCNT	0,9306	0,029
	SWCNT-COOH	0,9931	0,030	SWCNT-COOH	0,9766	0,016
	SWCNT-OH	0,9952	0,015	SWCNT-OH	0,9610	0,027
5,8	MWCNT	0,9978	0,036	MWCNT	0,9502	0,025
	SWCNT-COOH	0,9931	0,018	SWCNT-COOH	0,9420	0,026
	SWCNT-OH	0,9979	0,009	SWCNT-OH	0,9412	0,031

APÊNDICE B

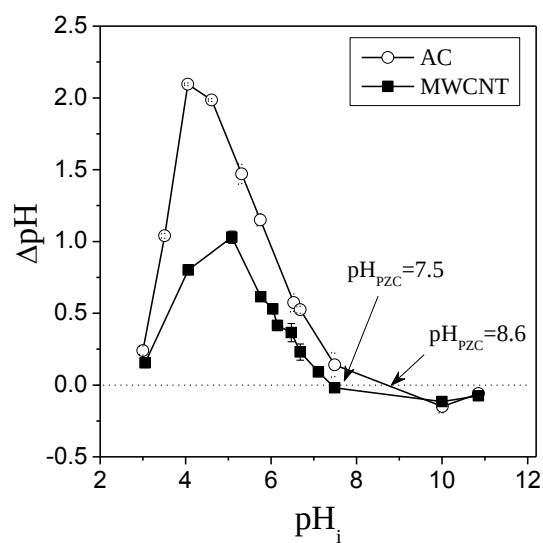


Figure B.S1. ΔpH versus pH_i curves for the determination of the point of zero charge of the MWCNT and AC adsorbents by the solid addition method.

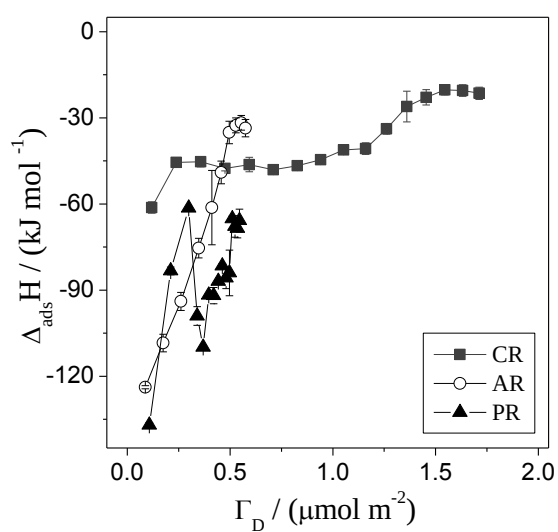


Figure B.S2. Adsorption enthalpy change versus Γ_D curves for adsorption of red dyes on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0.

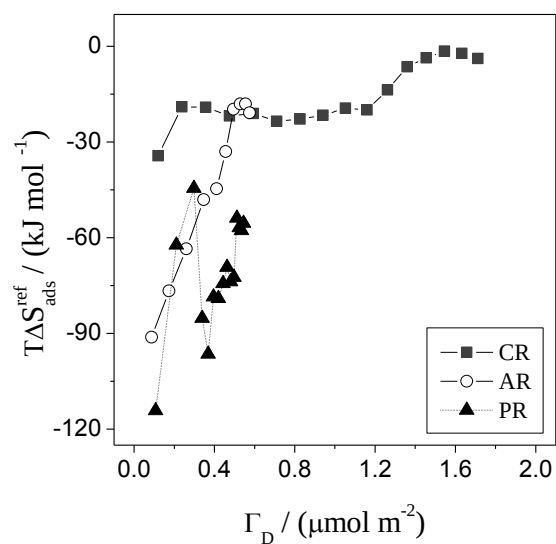


Figure B.S3. Adsorption entropy change versus Γ_D curves for adsorption of red dyes on MWCNT, at 25.0 °C and pH 6.0.

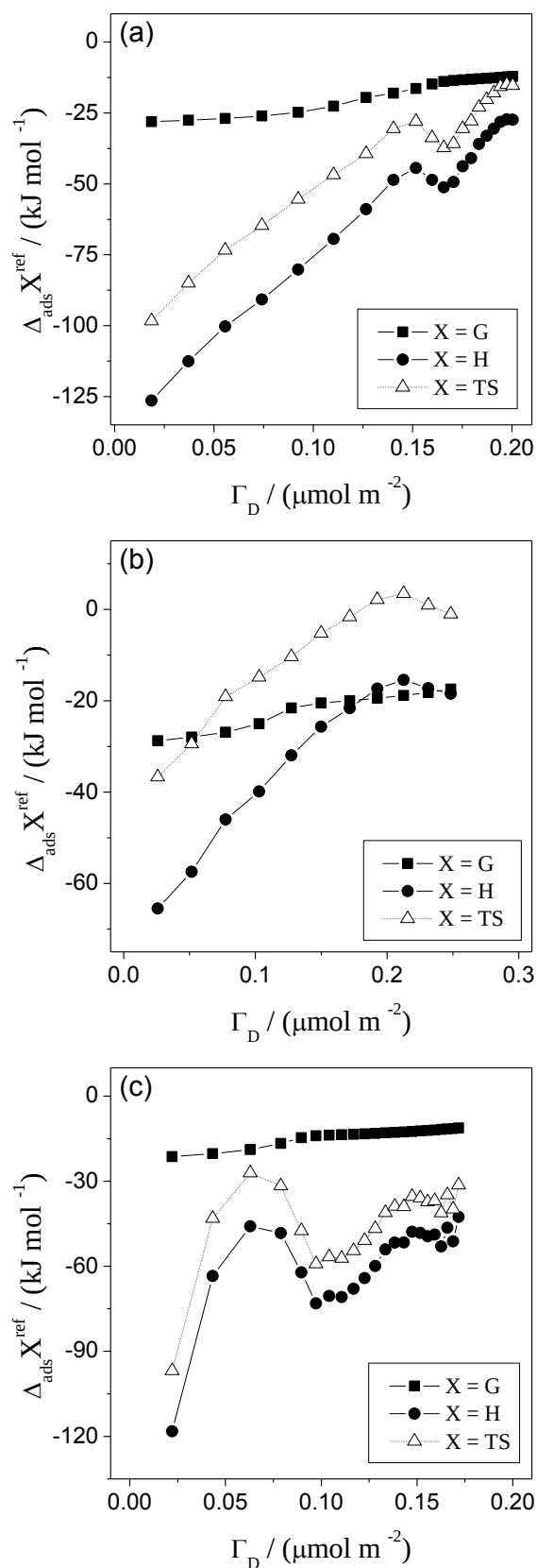


Figure B.S4. Adsorption thermodynamic parameters versus Γ_D curves for adsorption of (a) AR, (b) CR, and (c) PR on AC, at 25.0 °C and pH 6.0.

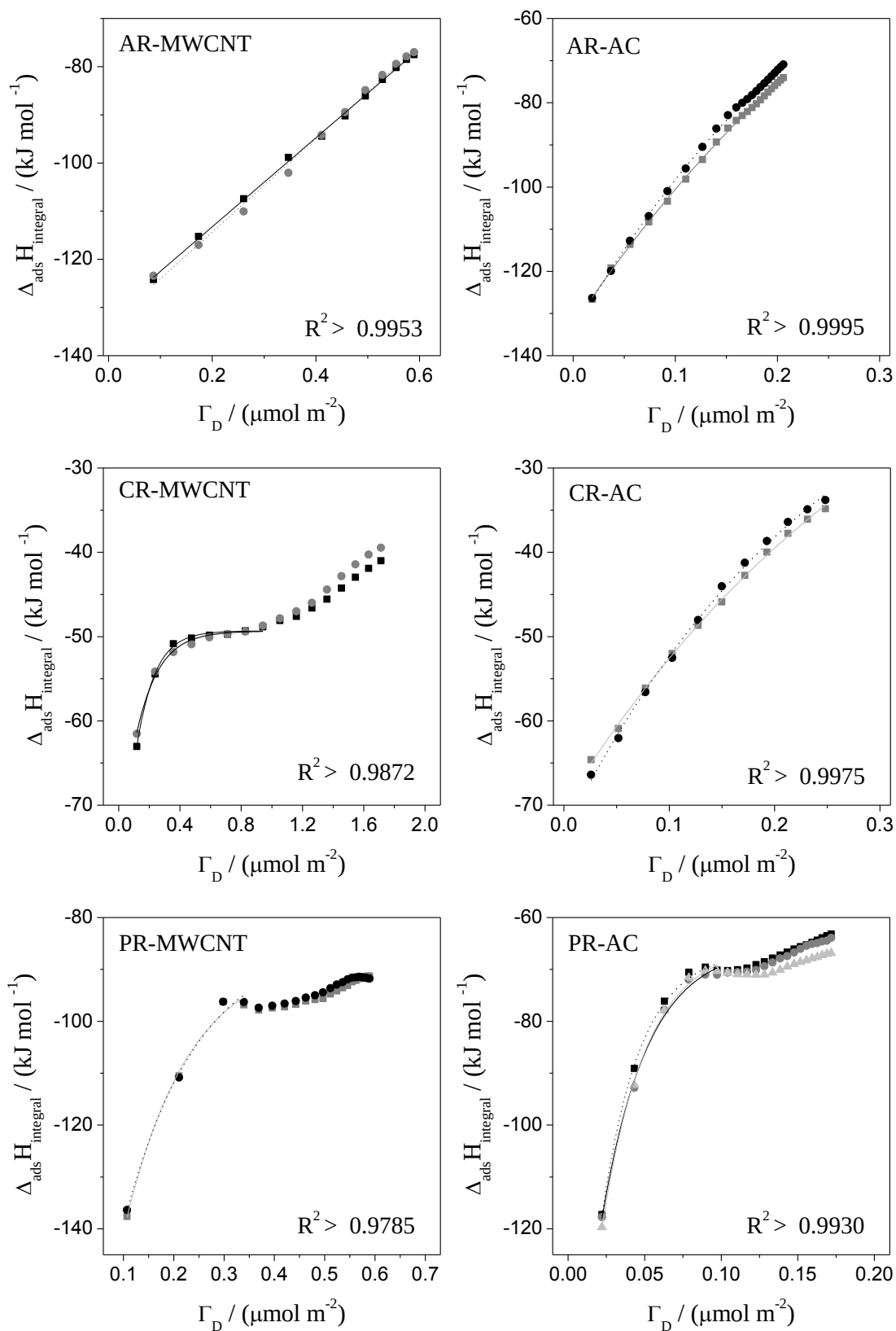


Figure B.S5. Integral adsorption enthalpy change versus Γ_D curves, at 25.0 °C and pH 6.0. For each system, the different curves correspond to the repetition of the experiment. Correlation coefficients are also showed.