

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ
PRÓ-REITORIA DE ENSINO E GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS
CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

FERNANDO BATISTA NEVES

**QUITINA E BIOPOLÍMEROS DE FIBROÍNA DA SEDA MODIFICADOS POR
OXONE®**
Catalisadores heterogêneos eficientes da reação de Knoevenagel

**MACAPÁ
2025**

FERNANDO BATISTA NEVES

**QUITINA E BIOPOLÍMEROS DE FIBROÍNA DA SEDA MODIFICADOS POR
OXONE®**

Catalisadores heterogêneos eficientes da reação de Knoevenagel

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Disciplina de TCC-II da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, no Curso de Licenciatura em Química, como requisito de avaliação de Conclusão do Curso de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

**MACAPÁ
2025**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central/UNIFAP-Macapá-AP
Elaborado por Cristina Fernandes - CRB-2 / 1569

N518q Neves, Fernando Batista.

Quitina e Biopolímeros de Fibroína da Seda modificados por Oxone Catalisadores heterogêneos eficientes da reação de Knoevenagel / Fernando Batista Neves. - Macapá, 2025.

1 recurso eletrônico.
37 f.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Amapá, Coordenação do Curso de Licenciatura em Química, Macapá, 2025.

Orientador: Irlon Maciel Ferreira.
Coorientador: .

Modo de acesso: World Wide Web.
Formato de arquivo: Portable Document Format (PDF).

1. Casulo de bicho-da-seda. 2. Catalisador biodegradável. 3. Reação de condensação aldólica. I. Ferreira, Irlon Maciel, orientador. II. Universidade Federal do Amapá. III. Título.

CDD 23. ed. - 540

NEVES, Fernando Batista. **Quitina e Biopolímeros de Fibroína da Seda modificados por Oxone Catalisadores heterogêneos eficientes da reação de Knoevenagel**. Orientador: Irlon Maciel Ferreira. 2025. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Licenciatura em Química. Universidade Federal do Amapá, Macapá, 2025.

FERNANDO BATISTA NEVES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Disciplina de TCC-II da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, no Curso de Licenciatura em Química, como requisito de avaliação de Conclusão do Curso de Licenciado em Química.

Orientador: Prof. Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira

DATA DE APROVAÇÃO: 20/06/2025

David Esteban Quintero Jimenez

Examinador(a): Prof. Dr. David Esteban Quintero Jimenez
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ - UNIFAP

Documento assinado digitalmente
gov.br SONIA DO SOCORRO DO CARMO OLIVEIRA
Data: 14/08/2025 12:53:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Examinador(a): Dra. Sônia do Socorro do Carmo Oliveira
SECRETÁRIA DE ESTADO DA SAÚDE DO AMAPÁ - SESA

Documento assinado digitalmente
gov.br IRLON MACIEL FERREIRA
Data: 14/08/2025 12:20:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador(a): Prof. Dr. Irlon Maciel Ferreira
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ - UNIFAP

**MACAPÁ
2025**

Dedico este TCC aos meus pais, pela luta que me trouxe até aqui. Ao meu orientador, pela inspiração e orientação. Aos amigos, pelo apoio constante. E aos meus filhos, pois são a minha força motriz.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a minha mãe **Marlete Batista** e ao meu pai **Edmilson Oliveira** que mesmo diante das maiores tempestades financeiras, nunca deixaram de remar na direção do meu futuro. Muitas vezes abriram mão dos próprios sonhos, do próprio conforto e até de necessidades básicas para que eu pudesse estudar. Agradeço a minha avó **Maria**, que com carinho e simplicidade, me acolheu e me incentivou sempre em que pensei em desistir. Agradeço também ao meu tio **José Luiz**, pois esteve ao meu lado no dia da inscrição, torcendo e contando a dedo se conseguiria a vaga ou não. **Cada página deste trabalho carrega o suor, o sacrifício e o amor silencioso de vocês.** Esta conquista é tão minha quanto é de vocês.

Agradeço profundamente ao meu professor orientador **Dr. Irlon Marciel Ferreira**, que foi muito mais do que um guia acadêmico. Foi referência, exemplo e inspiração. Com palavras firmes e conselhos precisos, ajudou a moldar não apenas este trabalho, mas também o meu caráter profissional. **Sua dedicação e compromisso deixaram marcas que levarei para toda a vida.**

Sou grato aos meus amigos, **Gabriel Baia, Dionísia Pelaes, Beatriz Ferreira, Sônia Oliveira, Nazaré Saldanha**, que estiveram presentes durante o período da graduação, prestando apoio não apenas para celebrar vitórias, mas principalmente para sustentar minhas forças nos momentos de incerteza. **Vocês me lembraram, tantas vezes, que desistir não era uma opção.** Obrigado por acreditarem em mim mesmo quando hesitei.

A minha esposa e aos meus filhos, **Ycaro e Ana Luísa**, que são a razão maior de cada esforço, agradeço por serem a inspiração que me move. Que este trabalho seja o primeiro de muitos legados que quero deixar para vocês, com orgulho e esperança.

Este trabalho é um retrato coletivo de coragem e amizade - a prova viva de que ninguém chega sozinho onde vale a pena estar.

RESUMO

Novos materiais de fibroína de seda (FS-Ox) e quitina (CT-Ox) funcionalizados com sal Oxone® foram desenvolvidos para aplicação na síntese de adutos de Knoevenagel. Os experimentos foram realizados utilizando derivados de benzaldeído, malononitrila e uma mistura de água e etanol como solventes verdes. A eficiência do aquecimento convencional e da irradiação por micro-ondas como fontes de calor para essa reação também foi investigada. Quando as reações foram realizadas por 60 minutos sob condições otimizadas com aquecimento convencional, doze adutos de Knoevenagel 2a-I foram obtidos, com bons rendimentos para ambos os catalisadores (CT-Ox 60-98% e FS-Ox 71-98%). Quando a irradiação por micro-ondas foi utilizada, os períodos de reação foram reduzidos em doze vezes, obtendo-se os mesmos adutos de Knoevenagel com bons rendimentos na maioria dos casos (CT-Ox 39-99% e FS-Ox 35-99%). A reutilização desses materiais como catalisadores em reações sucessivas também foi avaliada, sendo CT-Ox e FS-Ox utilizados com sucesso por 4 e 2 ciclos, respectivamente. Os resultados apresentados comprovam a eficiência do catalisador CT-Ox/FS-Ox como um material promissor, de baixo custo e reutilizável, com propriedades catalíticas adequadas para aplicação na reação de condensação aldólica de maneira sustentável.

Palavras-chave: Casulo de bicho-da-seda. Catalisador biodegradável. Reação de condensação aldólica.

ABSTRACT

New materials from silk fibroin (FS-Ox) and chitin (CT-Ox) functionalized with Oxone® salt were developed for application in the synthesis of Knoevenagel adducts. The experiments were performed using benzaldehyde derivatives, malononitrile, and a mixture of water and ethanol as green solvents. The efficiency of conventional and microwave irradiation as heating sources for this reaction was also investigated. When the reactions were performed for 60 min under optimized conditions with conventional heating, twelve Knoevenagel adducts 2a-l were obtained, with good yields for both catalysts (CT-Ox 60-98% and FS-Ox 71-98%). When microwave irradiation was used, the reaction periods were reduced twelvefold, with the same Knoevenagel adducts with good CT-Ox (39-99%) and FS-Ox (35-99%) yields obtained in most cases. The reuse of these materials as catalysts in successive reactions was also evaluated, and CT-Ox FS-Ox were successfully used for 4 and 2 cycles, respectively. The results presented prove the efficiency of the CT-Ox FS-Ox catalyst as a promising low-cost and reusable material with suitable catalytic properties to be applied in the aldol condensation reaction in a sustainable way.

Keywords: Silkworm cocoon. Biodegradable catalyst. Aldol condensation reaction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Otimização da reação de condensação de Knoevenagel utilizando aldeído 1a (2 mmol) e malononitrila (2,5 mmol) com e sem biopolímeros (20% w/w) como catalisadores. (A) Avaliação de biopolímeros (temperatura ambiente e 24 horas); (B) efeito do tempo [1, 3, 6, 12 e 24 horas (temperatura ambiente)] na presença de CT-Ox e SF-Ox; (C) efeito da temperatura (25 ou 50 °C por 1 ou 3 horas) com CT-Ox; (D) efeito da temperatura (25 ou 50 °C por 1 ou 3 horas) com SF-Ox	24
Figura 2: Síntese de condensação de Knoevenagel utilizando derivados de aldeídos aromáticos, malononitrila e biopolímeros imobilizados com Oxone® como catalisadores sob aquecimento convencional (CH) ou com irradiação por micro-ondas (MW) como fonte de aquecimento	26
Figura 3: Imagens de microscopia eletrônica de varredura de fibroína de seda (A), fibroína de seda-Oxone® (B), quitina (C) e quitina-Oxone® (D).....	31
Figura 4: Espectros FTIR de fibroína de seda (A) e fibroína de seda-Oxone® (B); quitina (C) e quitina-Oxone.....	32
Figura 5: Análise termogravimétrica dos biopolímeros SF-Ox e SF (A);	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Processo de otimização para a síntese de aduto de Knoevenagel 2a usando CT-Ox ou FS-Ox como catalisador sob irradiação por micro-ondas como fonte de aquecimento	27
Tabela 2: Reuso de SF-Ox e CT-Ox na reação de formação do aduto 2a	29

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

°C Grau Celsius.

Å Angstrom.

CaCl₂ Cloreto de cálcio.

CDCl₃ Clorofórmio deuterado.

CH Aquecimento convencional.

CT Quitina.

CT-Ox Quitina modificada com Oxone®.

DMF Dimetilformamida.

DMSO-d₆ Dimetilsulfóxido deuterado.

EI Ionização por elétrons.

EtOAc Acetato de etila.

EtOH Etanol.

FTIR Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier.

GC-MS Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa.

HCl Ácido clorídrico.

Hz Hertz.

KBr Brometo de potássio.

KHSO₅ Peroximonosulfato de potássio.

m/z Razão massa/carga.

MW Irradiação por micro-ondas.

Na₂CO₃ Carbonato de sódio.

NaOH Hidróxido de sódio.

RMN Ressonância magnética nuclear.

rpm Rotações por minuto.

SEM Microscopia eletrônica de varredura.

SF Fibroína de seda.

SF-Ox Fibroína de seda modificada com Oxone®.

TGA Análise termogravimétrica.

TLC Cromatografia em camada delgada.

TMS Tetrametilsilano.

UV254 Indicador fluorescente.

w/w Peso/peso.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo geral	17
3.2 Objetivos específicos	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 Produtos Químicos, Reagentes e Catalisadores	18
4.2 Preparação da Fibroína de Seda (SF)	18
4.3 Modificação da Fibra de Seda por Oxone® (SF-Oxone®)	19
4.4 Obtenção e Preparação da Quitina	19
<i>4.4.1 Seleção e pré-tratamento das amostras</i>	<i>19</i>
<i>4.4.2 Desmineralização</i>	<i>19</i>
<i>4.4.3 Desproteínização</i>	<i>19</i>
<i>4.4.4 Depigmentação</i>	<i>19</i>
4.5 Modificação da Quitina por Oxone® (CT-Ox)	20
4.6 Síntese de Otimização de Benzilideno Malonitrila (2ª) Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Aquecimento Convencional	20
4.7 Síntese de Derivados de Benzilideno Malonitrila 2a-I Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Aquecimento Convencional	20
4.8 Síntese de Derivados de Benzilideno Malonitrila 2a-I Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Irradiação por Micro-ondas	21
4.9 Equipamentos	21
4.10 Caracterização de SF, SF-Ox, CT e CT-Ox	22
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	23
5.1 Uso de Biopolímeros Modificados como Catalisadores em uma Reação de Knoevenagel sob Aquecimento Convencional	23
5.2 Uso de Biopolímeros Modificados como Catalisadores na Reação de Knoevenagel Usando Irradiação por Micro-ondas	27
5.3 Reutilização dos Biopolímeros FS-Ox e CT-Ox nas Reações de Condensação de Knoevenagel	28
<i>5.3.1 Reutilização de SF-Ox e CT-Ox sob Condições CH na Síntese do Aduto 2a..</i>	<i>28</i>
<i>5.3.2 Reutilização de SF-Ox e CT-Ox sob Condições MW na Síntese do Aduto 2a.</i>	<i>29</i>

5.4 Caracterização dos Novos Materiais FS-Ox e CT-Ox Utilizados na Condensação de Knoevenagel.....	30
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

1 INTRODUÇÃO

A síntese orgânica desempenha um papel crucial no desenvolvimento de novos compostos com aplicações em diversas áreas, como a farmacêutica e a biotecnologia. Nesse contexto, a condensação de Knoevenagel destaca-se como uma reação versátil para a formação de ligações carbono-carbono, utilizando aldeídos ou cetonas e compostos metilênicos com hidrogênios ácidos. Este trabalho delimita-se ao estudo da aplicação de biopolímeros naturais, especificamente fibroína de seda e quitina modificadas com Oxone®, como catalisadores heterogêneos na reação de condensação de Knoevenagel, com foco na adoção de protocolos de química verde.

O problema de pesquisa deste estudo pode ser formulado como: "Como os biopolímeros de fibroína de seda e quitina, modificados com Oxone®, podem atuar como catalisadores eficientes e sustentáveis na reação de condensação de Knoevenagel, em comparação com métodos tradicionais, considerando sua eficiência, reutilização e impacto ambiental?"

O objetivo geral é desenvolver e avaliar esses biopolímeros modificados como catalisadores eficientes para a reação de Knoevenagel, alinhados aos princípios da química verde. Os objetivos específicos incluem: avaliar a eficiência dos catalisadores sob aquecimento convencional e micro-ondas, otimizar o tempo de reação para maximizar rendimentos, investigar a reutilização dos biopolímeros em múltiplos ciclos e caracterizar suas propriedades morfológicas e térmicas para compreender os efeitos do tratamento com Oxone®.

A justificativa deste trabalho reside na necessidade de desenvolver catalisadores sustentáveis que minimizem o impacto ambiental, promovam eficiência reacional e permitam reutilização, alinhando-se aos preceitos da química verde. A utilização de biopolímeros naturais, como fibroína e quitina, oferece vantagens como biodegradabilidade, baixo custo e disponibilidade, enquanto a modificação com Oxone® potencializa suas propriedades catalíticas. Este estudo contribui para o avanço de metodologias ecológicas na síntese orgânica, com potencial aplicação em processos industriais sustentáveis.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A síntese orgânica é um campo importante no desenvolvimento de novos compostos, especialmente no caso de moléculas com atividade biológica. Um exemplo é a condensação de Knoevenagel, que pode proporcionar a formação de novas ligações C=C por meio da reação entre aldeídos ou cetonas e compostos metilênicos contendo hidrogênios ácidos (Jimenez *et al.*, 2019; Chakaraborty *et al.*, 2022; Bi *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2022). Muitos estudos sobre adutos de Knoevenagel testaram novas condições de reação, como ausência de catalisador, materiais poliméricos básicos, com foco na química verde (Kalla *et al.*, 2015; Birolli *et al.*, 2020; Lv *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2011).

Um dos biopolímeros utilizados em reações orgânicas como suporte (Ferreira *et al.*, 2017) ou catalisador é a fibroína de seda, uma proteína macromolecular natural com uma estrutura de copolímero em blocos formada por grandes domínios hidrofóbicos e pequenos espaçadores hidrofílicos (Júnior *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2017). Ela possui propriedades mecânicas robustas, é um material versátil para processos biotecnológicos e contém grupos funcionais acessíveis para modificações químicas, tornando-a favorável ao desenvolvimento de novos biocatalisadores ou suportes (Chakaraborty *et al.*, 2022; Ferreira *et al.*, 2017; Júnior *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2017).

Jimenez *et al.* (2019) relataram a síntese de Knoevenagel com derivados de benzaldeído e malononitrila utilizando fibroína funcionalizada com CuSO₄ como catalisador, empregando irradiação por micro-ondas como fonte de aquecimento. As reações foram realizadas a 60 °C por 30 minutos, obtendo-se adutos com rendimentos excelentes de 97-99%. Kuhbeck e colaboradores (2014) pesquisaram a formação de ligações C=C utilizando fibroína como catalisador verde. O material foi aplicado em uma reação de condensação de Knoevenagel a partir de 2-nitrobenzaldeído, resultando em adutos com rendimento de 84%. Além disso, esse material biodegradável apresentou bom desempenho quando utilizado em outras reações, como as adições de Henry e Michael (Tran *et al.*, 2022; Kuhbeck *et al.*, 2014; Knidri *et al.*, 2019).

A quitina é um polissacarídeo linear que contém unidades repetitivas de N-acetil-D-glicosamina conectadas por ligações glicosídicas β -(1-4) (Knidri *et al.*, 2019; Madkour *et al.*, 2021). Esse biopolímero é amplamente extraído de diversos organismos vivos, como camarões (Madkour *et al.*, 2021; Moussout *et al.*, 2016), e

tem atraído crescente interesse no campo da catálise (Rani *et al.*, 2018; Hirayama *et al.*, 2020). A presença de grupos amina e hidroxila oferece um amplo escopo de aplicações potencialmente úteis para a quitina ou quitosana, pois podem ser modificados para aprimorar certas propriedades desse biopolímero. A quitosana tem sido utilizada como um eficiente organocatalisador heterogêneo, demonstrando capacidade de se ligar a vários íons de metais de transição, tornando-a um suporte sólido atraente para a preparação de diversas reações, como condensação de Knoevenagel, esterificação e adição de Michael (Bi *et al.*, 2022; Tran *et al.*, 2022; Knidri *et al.*, 2019; Rani *et al.*, 2018; Abrantes *et al.*, 2022; Tölz *et al.*, 2008).

Anbu e colaboradores (2020) relataram reações de condensação de Knoevenagel com aldeídos aromáticos e ácido málico, utilizando DMF como solvente e quitosana como catalisador. Essa metodologia proporcionou quinze adutos com rendimentos de 25-98%. Rani *et al.* (2018) descreveram o uso de quitosana como catalisador para reações aldólicas em meio aquoso. Os experimentos foram realizados com aldeídos aromáticos, acetato de etila ou dimetilmalonato, e onze produtos de Knoevenagel foram sintetizados com rendimentos de 13-90%. Sakthivel e colaboradores (2022) também estudaram o uso de quitosana nesse tipo de reação. Utilizando etanol como solvente, dez adutos de Knoevenagel foram obtidos com rendimentos moderados a bons de 53-99%.

O presente estudo focou no desenvolvimento de materiais naturais, como fibroína e quitina modificadas com Oxone®, aplicadas em uma reação de condensação de Knoevenagel, em conformidade com protocolos de química verde. Os novos catalisadores funcionalizados reduziram o tempo de reação, aumentaram os rendimentos dos adutos e puderam ser reutilizados.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

O presente estudo focou no desenvolvimento de materiais naturais, como fibroína e quitina modificadas com Oxone®, aplicadas em uma reação de condensação de Knoevenagel, em conformidade com protocolos de química verde.

3.2 Objetivos específicos

- a) Avaliar a eficiência dos biopolímeros modificados como catalisadores sob condições de aquecimento convencional e micro-ondas;
- b) Otimizar o tempo de reação para maximizar os rendimentos dos adutos;
- c) Investigar a reutilização dos biopolímeros modificados em múltiplos ciclos, analisando perdas de eficiência e massa.
- d) Caracterizar as propriedades morfológicas e térmicas dos biopolímeros modificados para compreender os efeitos do tratamento com Oxone®.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Produtos Químicos, Reagentes e Catalisadores

Casulos do bicho-da-seda (*Bombyx mori*) foram gentilmente fornecidos pelo Prof. Dr. Sérgio A. Yoshioka (São Carlos, São Paulo, Brasil). Oxone® ($\text{KHSO}_5 \cdot 0,5\text{KHSO}_4 \cdot 0,5\text{K}_2\text{SO}_4$) foi adquirido da Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil). $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (99%) e NaCO_3 (99%) foram adquiridos da Vetec. Etanol (EtOH, 99,5%) foi adquirido da Synth (São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil). Benzaldeído 1a (99,5%), 4-metoxibenzaldeído 1b (98%), 4-(dimetilamino)benzaldeído 1c (98%), 3,4,5-trimetoxibenzaldeído 1d (99%), 4-hidroxi-3-metoxibenzaldeído 1e (98%), 4-fluorobenzaldeído 1f (98%), 4-clorobenzaldeído 1g (97%), 4-bromobenzaldeído 1h (99%), 4-hidroxibenzaldeído 1i (98%), 4-nitrobenzaldeído 1j (98%), 4-formilbenzonitrila 1k (95%), cinnamaldeído 1l (98%) e malononitrila (99%) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil) e utilizados sem purificação adicional. Acetato de etila (EtOAc), hexano e sulfato de sódio foram adquiridos de diferentes fornecedores (Aldrich, Fluka, Synth, Merck e Vertec).

Os solventes deuterados, acetona- d_6 (99,8%), DMSO- d_6 (99,9%) e CDCl_3 (99,8%) foram adquiridos da Cambridge Isotope Laboratories (SciLab, Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

A cromatografia em camada delgada (TLC) utilizada foi DC-Fertigfolien ALUGRAM® XTra SIL G/UV254 (camada: sílica 60 de 0,20 mm com indicador fluorescente UV254) (São Carlos Química, São Carlos, SP, Brasil). Em todos os casos, a análise foi realizada utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (8:2).

As purificações em coluna de cromatografia foram realizadas utilizando gel de sílica (grau técnico, tamanho de poro 60 Å, tamanho de partícula 230-400 mesh, tamanho de partícula 40-63 μm) como fase estacionária. Este foi adquirido da Sigma-Aldrich (São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil).

4.2 Preparação da Fibroína de Seda (SF)

A solução de fibroína de seda (SF) foi preparada a partir do material de casulo de bicho-da-seda perfurado (3,0 g). O SF foi então transferido para uma solução de Na_2CO_3 a 2% (500 mL), sendo aquecido a uma temperatura de 80 °C e agitado magneticamente por 30 minutos. Isso forneceu o material fibroso. Por fim, as fibras foram lavadas com água destilada (3 × 500 mL) e secas em um forno (70 °C; 24

horas). Detalhes do protocolo para preparar as fibras a partir do casulo foram descritos na literatura (Ferreira *et al.*, 2017; Júnior *et al.*, 2021).

4.3 Modificação da Fibra de Seda por Oxone® (SF-Oxone®)

A modificação da fibra de seda por Oxone® foi realizada em um frasco Becker (50 mL), no qual 0,5 g de SF foi adicionado a 50 mL de EtOH com 0,5 g de Oxone®. A mistura foi agitada magneticamente por 3 horas a 50 °C. O material foi então lavado com água destilada e seco em um forno (70 °C, 24 horas).

4.4 Obtenção e Preparação da Quitina

A quitina foi isolada a partir do resíduo abdominal do exoesqueleto de camarão, seguindo o protocolo em quatro etapas descritos na literatura (Knidri *et al.*, 2019; Madkour *et al.*, 2021; Assisi *et al.*, 2009).

4.4.1 Seleção e pré-tratamento das amostras

A seleção, lavagem, secagem e moagem dos resíduos foram realizadas. O exoesqueleto (região abdominal) foi manualmente selecionado e lavado com água para remover impurezas. Após esse processo, o biomaterial foi seco em um forno (50 °C) por 24 horas. Após esse período, o material foi triturado em um liquidificador industrial e a separação do tamanho das partículas foi realizada em uma peneira de 200 malhas.

4.4.2 Desmineralização

Foram adicionados 2 g de material a uma solução de 50 mL de HCl (0,25 mol·L⁻¹) em um frasco Becker, sendo agitados magneticamente (150 rpm, a 50 °C por 2 horas). O material foi então filtrado e lavado com água destilada até atingir pH 7. Finalmente, o biomaterial obtido após a desmineralização foi seco em um forno (50 °C) por 24 horas.

4.4.3 Desproteínização

Foram adicionados 3 g de material a uma solução de 50 mL de NaOH (1% m/v) em um frasco Becker e mantidos sob agitação constante com uma barra magnética a 80 °C por 3 horas. Após isso, o material foi filtrado e lavado com água destilada até atingir pH 7. O biomaterial obtido após a desproteínização foi seco em um forno a 50 °C por 24 horas.

4.4.4 Depigmentação

Para o processo de depigmentação e desodorização, 50 mL de solução de hipoclorito de sódio (1% v/v) foram adicionados ao biomaterial (236 mg) em um frasco Becker. O material foi agitado mecanicamente em um agitador magnético por

8 horas a temperatura ambiente. Em seguida, foi filtrado e lavado até atingir pH 7. Além disso, o material filtrado foi seco em um forno a 50 °C por 24 horas. O rendimento do biomaterial obtido foi determinado por métodos gravimétricos.

4.5 Modificação da Quitina por Oxone® (CT-Ox)

A modificação da quitina por Oxone® foi realizada em um frasco Becker (50 mL), no qual 0,5 g de quitina foi adicionado a 50 mL de EtOH com 0,5 g de Oxone®. A mistura foi colocada em um agitador magnético por 3 horas a 50 °C. Após esse tempo, o material foi lavado com água destilada e seco em um forno (70 °C, por 24 horas).

4.6 Síntese de Otimização de Benzilideno Malonitrila (2^a) Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Aquecimento Convencional.

Em um frasco de fundo redondo de 25 mL, a benzilideno malonitrila (2a) foi preparada via reação de condensação de Knoevenagel utilizando uma mistura de benzaldeído 1a (2 mmol) e malononitrila (2,5 mmol) e 20% (w/w da malononitrila) do respectivo biopolímero, tanto com quanto sem Oxone® (fibroína de seda (SF), fibroína de seda-Oxone® (SF-Ox), quitina (CT) e quitina-Oxone® (CT-Ox)] como suporte. Um total de 5 mL de mistura de água e etanol (1:1) foi utilizado como solvente, e a solução foi agitada magneticamente por 1-24 horas, a uma temperatura de 25-50 °C. A carga catalítica foi de 20% w/w da malononitrila para todos os experimentos. Ao final da reação, o precipitado obtido foi extraído com EtOAc (3 × 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram concentradas a vácuo usando um evaporador rotativo até a evaporação total do solvente, e o resíduo foi purificado por lavagem com hexano quente.

4.7 Síntese de Derivados de Benzilideno Malonitrila 2a-I Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Aquecimento Convencional.

Em um frasco de fundo redondo de 25 mL, os produtos de benzilideno malonitrila 2a-I foram preparados via reação de condensação de Knoevenagel a partir de uma mistura de aldeídos apropriados 1a-I (2 mmol), malononitrila (2,5 mmol) e 20% (w/w da malononitrila) do respectivo biopolímero com e sem Oxone® (fibroína de seda (SF), fibroína de seda-Oxone® (SF-Ox), quitina (CT) e quitina-Oxone® (CT-Ox)) como suporte. Um total de 5 mL de mistura de água e etanol (1:1) foi utilizado como solvente, e a solução foi agitada magneticamente por 1 hora a 50 °C. Ao final da reação, o precipitado obtido foi extraído com EtOAc (3 × 10 mL). A reação foi monitorada por TLC. As fases orgânicas combinadas foram concentradas

a vácuo usando um evaporador rotativo até a evaporação total do solvente, e o resíduo obtido foi purificado por lavagem com hexano quente. Os adutos 2a-I foram caracterizados por análises de RMN, FTIR e GC-MS. Os dados espectrais dos compostos foram comparados com a literatura (Materiais Suplementares).

4.8 Síntese de Derivados de Benzilideno Malonitrila 2a-I Usando Biopolímeros como Catalisadores sob Irradiação por Micro-ondas.

Em um frasco de fundo redondo de 25 mL, os produtos de benzilideno malonitrila 2a-I foram preparados via reação de condensação de Knoevenagel a partir de uma mistura de aldeídos apropriados 1a-I (1 mmol), malononitrila (1,25 mmol) e 20% (w/w da malononitrila) do respectivo biopolímero com suporte de Oxone® (fibroína de seda-Oxone® (SF-Ox), quitina-Oxone® (CT-Ox)]. Um total de 4 mL de mistura de água e etanol (1:1) foi utilizado como solvente, e o recipiente foi colocado no reator de micro-ondas e agitado magneticamente por 5 minutos, a 50 °C e com potência de 50 W. A reação foi monitorada por TLC. Ao final da reação, o precipitado foi extraído com EtOAc (3 × 10 mL). As fases orgânicas combinadas foram concentradas a vácuo usando um evaporador rotativo até a evaporação total do solvente, e o resíduo obtido foi purificado por lavagem com hexano quente. Os adutos 2a-I foram caracterizados por análises de RMN, FTIR e GC-MS. Os dados espectrais dos compostos foram comparados com a literatura.

4.9 Equipamentos

As análises por GC-MS foram realizadas em um Shimadzu GC2010plus (Shimadzu®, Quioto, Japão) acoplado a um detector seletivo de massa (Shimadzu MS2010plus) no modo de ionização por elétron (EI, 70 eV). As análises foram realizadas com uma coluna DB5 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, J&W Scientific). A temperatura inicial do forno foi de 90 °C por 4 minutos, sendo aumentada para 280 °C a 10 °C min⁻¹ e mantida por 5 minutos, e finalmente aumentada para 300 °C a 10 °C min⁻¹ e mantida por 10 minutos. O tempo total de análise foi de 40 minutos. As temperaturas do injetor e da interface foram mantidas a 250 °C e 270 °C, respectivamente. Hélio foi utilizado como gás de arraste com um fluxo inicial de 0,75 mL min⁻¹, e o volume de injeção foi de 1 µL (relação de divisão de 1:20). Os fragmentos de íons foram detectados na faixa de 40-550 m/z.

Os espectros FT-IR foram registrados em um espectrômetro Shimadzu IRAffinity (Shimadzu®, Quioto, Japão). As amostras foram preparadas em discos de KBr e analisadas na região de 4000-400 cm⁻¹. Os espectros de RMN foram

registrados em um espectrômetro Agilent Technologies 500/54 Premium Shielded ou Agilent Technologies 400/54 Premium Shielded (Sede da Agilent, Santa Clara, Estados Unidos), com CD_3OD , DMSO-d_6 ou CDCl_3 como solventes e TMS como padrão interno. Os deslocamentos químicos foram dados em ppm e os valores das constantes de acoplamento (J) foram reportados em Hz. Os solventes deuterados utilizados foram CDCl_3 (δH 7,26, δC 77,2); DMSO-d_6 (δH 2,50, δC 39,5); e CD_3OD (δH 4,87, 3,31, δC 49,0). As reações foram realizadas utilizando um sistema Discover da CEM Corporation (CEM Corporation, Matthews, NC, EUA) a uma frequência de 2,45 GHz com potência máxima de saída de 200 W. A potência utilizada nos experimentos foi de 50 W.

4.10 Caracterização de SF, SF-Ox, CT e CT-Ox

As morfologias de fibroína de seda (SF), fibroína de seda-Oxone® (SF-Ox), quitina (CT) e quitina-Oxone® (CT-Ox) foram observadas usando microscopia eletrônica de varredura (SEM-3030, Hitachi, Tóquio, Japão) a 20 kV. Os espectros FT-IR das amostras (SF, SF-Ox, CT e CT-Ox) foram registrados em um espectrômetro Shimadzu IRAffinity. As amostras foram preparadas em discos de KBr e analisadas na região de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. As curvas termogravimétricas (TG) das amostras (SF, SF-Ox, CT e CT-Ox) foram obtidas em um analisador térmico TGA-50 (Shimadzu®, Quioto, Japão) usando uma crosta de platina com aproximadamente 5,0 mg da amostra, sob atmosfera de nitrogênio (N_2) e fluxo de 50 mL/min. O experimento foi realizado de temperatura ambiente a $600\text{ }^\circ\text{C}$ com uma taxa de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Os dados obtidos foram analisados usando o pacote de software TA-50W da Shimadzu®.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

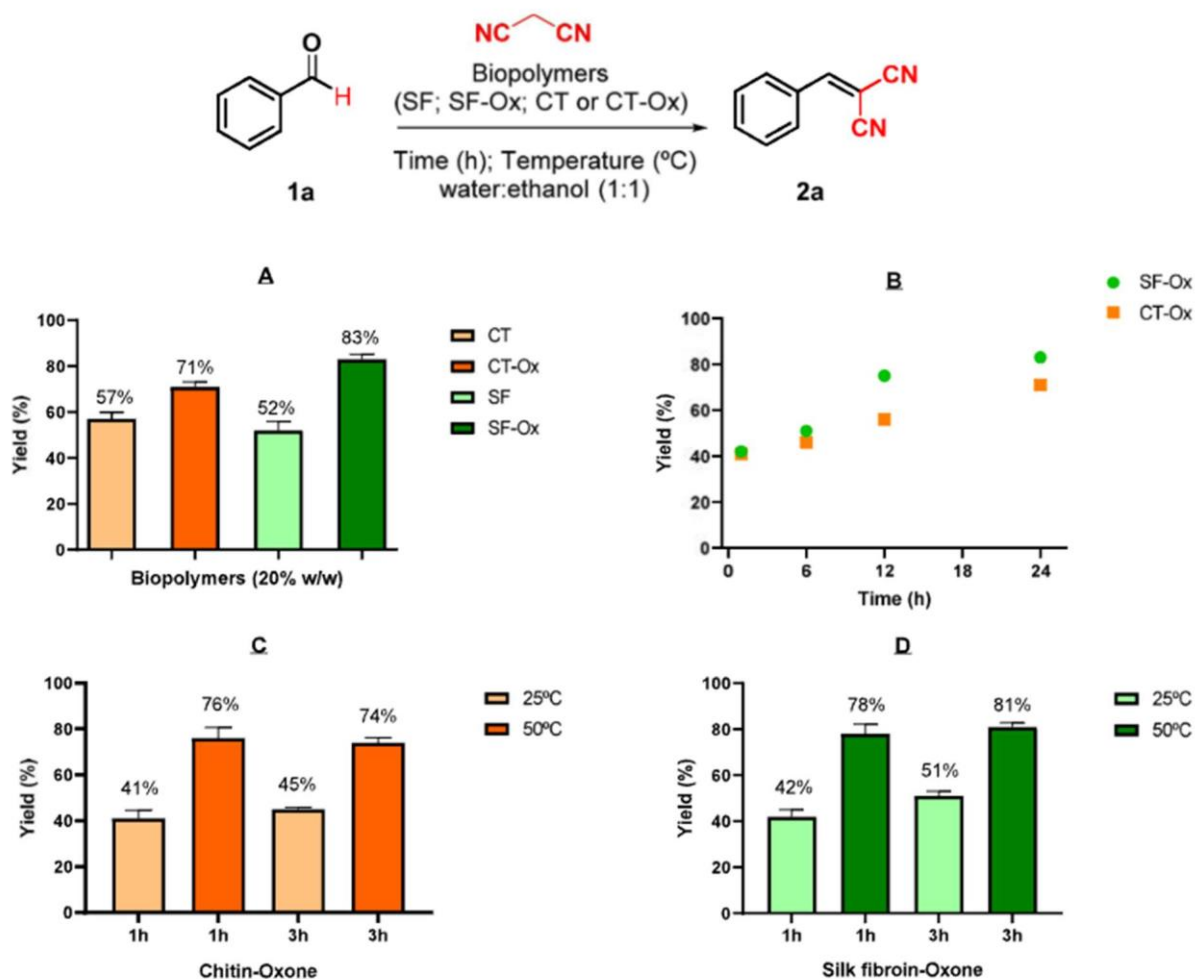
5.1 Uso de Biopolímeros Modificados como Catalisadores em uma Reação de Knoevenagel sob Aquecimento Convencional

Inicialmente as formas naturais de SF e CT foram avaliadas como organocatalisadores heterogêneos para a reação de Knoevenagel. A reação entre benzaldeído 1a, malononitrila e uma mistura de água/etanol (1:1) como solvente foi utilizada como modelo. Dois experimentos foram realizados em condições de temperatura ambiente por 24 horas, e o 2-benzilidenomalonitrila 2a foi obtido com rendimentos de 52% e 57% para SF e CT, respectivamente. Quando a reação foi realizada com biopolímeros modificados, o aduto 2a obteve melhores rendimentos de 83% e 71% para SF-Ox e CT-Ox, respectivamente (Figura 1A). Esse resultado demonstrou que os biopolímeros modificados, SF-Ox e CT-Ox, atuaram como catalisadores na reação de Knoevenagel e que foram mais eficientes nesse processo do que os biopolímeros em suas formas naturais (SF e CT). Portanto, novas condições de reação empregando CT-Ox e FS-Ox foram investigadas.

Diferentes tempos de reação (1, 6, 12 e 24 horas) foram avaliados em temperatura ambiente (Figura 1B). Na primeira hora de reação, ambos os biopolímeros demonstraram eficácia na formação de 2a, com rendimentos de 42% e 41%, respectivamente, para SF-Ox e CT-Ox. Após 12 horas de reação, o rendimento de 2a aumentou para 56% com o uso de CT-Ox. Esses resultados mostraram que o rendimento da reação com CT-Ox permaneceu praticamente inalterado durante as primeiras 12 horas de reação. No entanto, o rendimento da reação com SF-Ox após 12 horas foi de 75%, indicando que esse biomaterial foi mais eficiente na formação do aduto 2a.

Na próxima etapa de otimização, o efeito da temperatura no progresso da reação foi avaliado. Os experimentos foram realizados a 50 °C e monitorados durante um período de 1 a 3 horas. A reação de condensação na presença de CT-Ox proporcionou um bom rendimento (76%) a 50 °C após 1 hora, com um rendimento semelhante obtido quando a reação foi realizada por 3 horas (Figura 1C). Quando SF-Ox foi utilizado, após 1 hora de reação o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 78%. Após 3 horas, observou-se um leve aumento, e o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 81% (Figura 1D).

Figura 1 - Otimização da reação de condensação de Knoevenagel utilizando aldeído 1a (2 mmol) e malononitrila (2,5 mmol) com e sem biopolímeros (20% w/w) como catalisadores. (A) Avaliação de biopolímeros (temperatura ambiente e 24 horas); (B) efeito do tempo [1, 3, 6, 12 e 24 horas (temperatura ambiente)] na presença de CT-Ox e SF-Ox; (C) efeito da temperatura (25 ou 50 °C por 1 ou 3 horas) com CT-Ox; (D) efeito da temperatura (25 ou 50 °C por 1 ou 3 horas) com SF-Ox.



Fonte: autoria própria

Na próxima etapa de otimização, o efeito da temperatura no progresso da reação foi avaliado. Os experimentos foram realizados a 50 °C e monitorados durante um período de 1 a 3 horas. A reação de condensação na presença de CT-Ox proporcionou um bom rendimento (76%) a 50 °C após 1 hora, com um rendimento semelhante obtido quando a reação foi realizada por 3 horas (Figura 1C). Quando SF-Ox foi utilizado, após 1 hora de reação o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 78%. Após 3 horas, observou-se um leve aumento, e o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 81% (Figura 1D).

Um parâmetro importante otimizado na reação utilizando biopolímeros imobilizados foi a carga catalítica. Para isso, três quantidades diferentes (10, 20 e 30% m/m) de SF-Ox e CT-Ox foram testadas (Figura 2). Os dados confirmaram um aumento gradual no rendimento de 2a de acordo com a massa de biopolímero imobilizado utilizada. Os melhores resultados foram observados com 30% m/m de ambos os biopolímeros, proporcionando rendimentos de 99% (SF-Ox) e >99% (CT-Ox) para o aduto 2a, respectivamente. No entanto, como bons rendimentos já haviam sido obtidos com 20% dos biocatalisadores, essa quantidade foi selecionada para o restante do estudo.

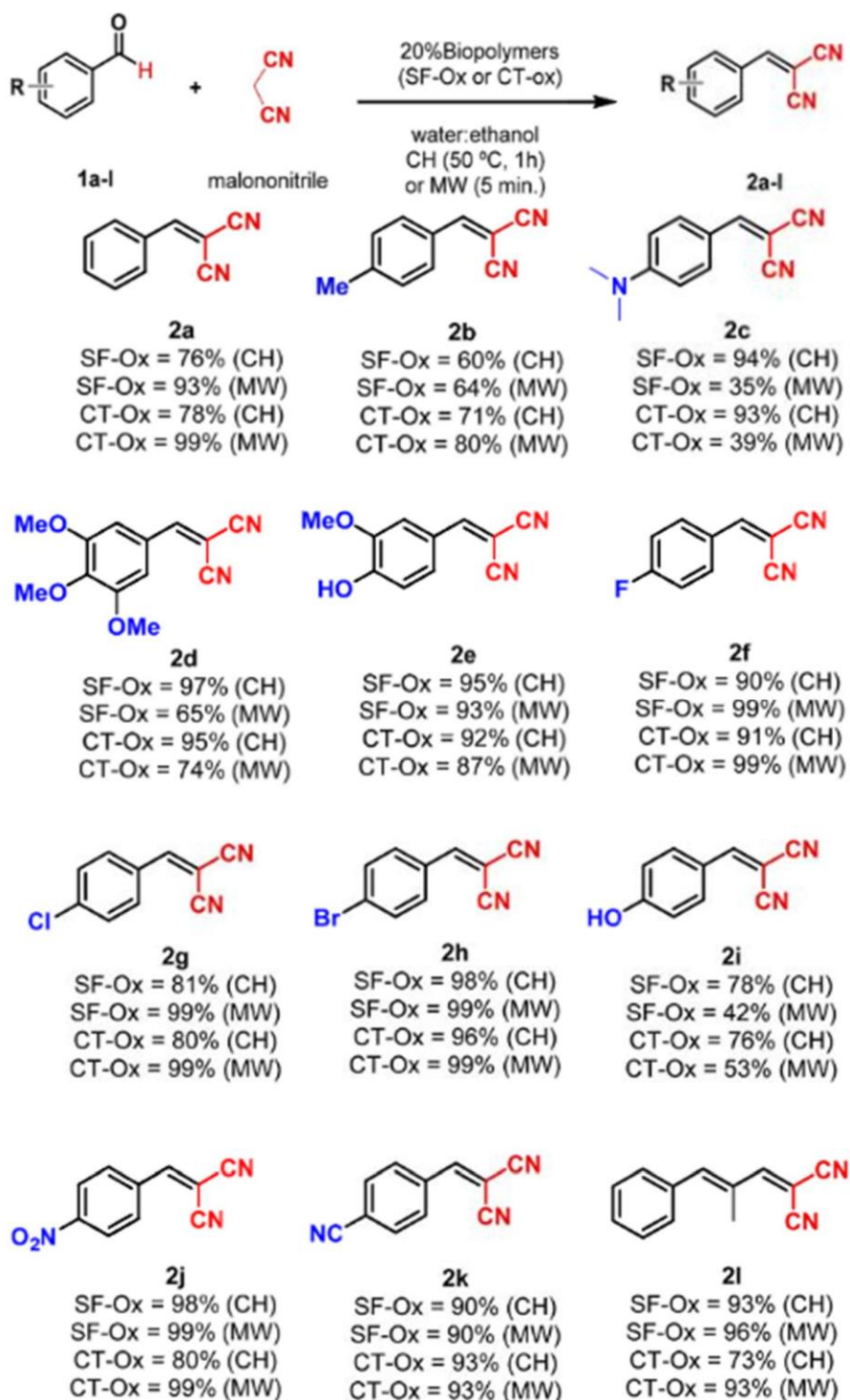
Em seguida, as condições otimizadas (20% de catalisadores, a 50 °C, por 1 hora) foram aplicadas em reações com diferentes aldeídos 1a-l e malononitrila para identificar o escopo dos adutos de Knoevenagel (Figura 2). Os adutos 2a-l foram obtidos com rendimentos de bons a excelentes (60-98%). Todos os compostos foram caracterizados por espectros de RMN, FT-IR, ponto de fusão e análise por GC-MS.

Quando aldeídos com grupos doadores de elétrons foram utilizados (2b-e), a reação com biopolímeros (FS-Ox ou CT-Ox) exibiu bons rendimentos (60-97%). Portanto, o sucesso da reação não depende dos efeitos eletrônicos promovidos pelo substituinte ligado ao anel aromático. O composto 2b foi isolado com rendimentos de 60% e 71% para FS-Ox e CT-Ox, respectivamente. As reações na presença de SF-Ox proporcionaram os maiores rendimentos dos produtos 2c, 2d e 2e, com 94%, 97% e 95%, respectivamente. Resultados semelhantes foram obtidos com CT-Ox, com os adutos 2c, 2d e 2e obtidos com bons rendimentos de 93%, 95% e 92%, respectivamente (Figura 2).

Aldeídos com diferentes substituintes halogenados resultaram em rendimentos excelentes para 2-(4-fluorobenzilideno)malonitrila (2f), 2-(4-clorobenzilideno)malonitrila (2g) e 2-(4-bromobenzilideno)malonitrila (2h) com ambos os biopolímeros (90%, 81% e 98%, respectivamente, para FS-Ox, e 91%, 80% e 96%, respectivamente, para CT-Ox) (Figura 2).

Uma faixa semelhante de bons rendimentos foi obtida com grupos retiradores de elétrons. Os produtos 2i, 2j e 2k foram obtidos com rendimentos de 78%, 98% e 90%, respectivamente, para SF-Ox, e 73%, 95% e 93%, respectivamente, para CT-Ox (Figura 2).

Figura 2 - Síntese de condensação de Knoevenagel utilizando derivados de aldeídos aromáticos, malononitrila e biopolímeros imobilizados com Oxone® como catalisadores sob aquecimento convencional (CH) ou com irradiação por micro-ondas (MW) como fonte de aquecimento.



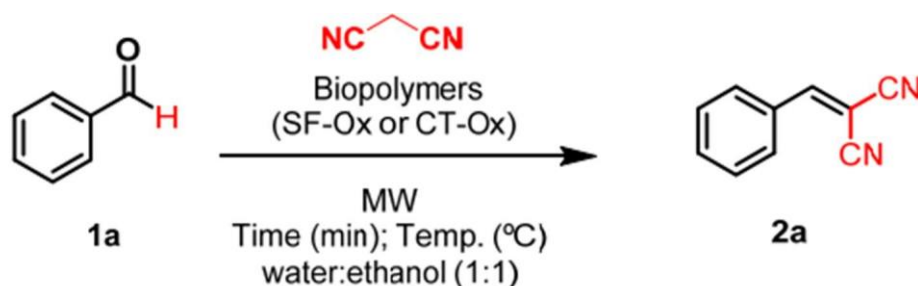
Fonte: autoria própria

5.2 Uso de Biopolímeros Modificados como Catalisadores na Reação de Knoevenagel Usando Irradiação por Micro-ondas

A química de micro-ondas (MW) foi o objeto da segunda parte deste estudo. Para obter uma nova otimização do processo foi suportado, novamente envolvendo o tipo de aquecimento, de adutos 2a como modelo de reação, e a mesma temperatura utilizada como em aquecimento convencional (50 °C).

Na primeira tentativa, utilizando CT-Ox, a reação foi realizada por 60 min. Após análise por GC-MS, o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 99% (entrada 1, Tabela 1). Este resultado já representa uma vantagem, uma vez que o mesmo período, sob aquecimento convencional, o composto 2a foi obtido com um rendimento de 78%.

Tabela 1 - Processo de otimização para a síntese de aduto de Knoevenagel 2a usando CT-Ox ou SF-Ox como catalisador sob irradiação por micro-ondas como fonte de aquecimento.



Entry	Heat Source	Catalyst	Temp. (°C)	Time (min)	Conversion ^b (%)	Isolated Yield (%)
1	MW	CT-Ox ^a	50	60	99	—
2	MW	CT-Ox ^a	50	10	97	—
3	MW	CT-Ox ^a	50	5	95	89
4	MW	SF-Ox ^a	50	5	62	56
5	MW	—	50	5	45	40

Reaction conditions: 1 mmol of aldehyde; 1.25 mmol of malononitrile; 4 mL of solvent mixture (H₂O-EtOH); Temp. = temperature; ^a = 20 mol%; ^b = conversion calculated by GC-MS analysis (Supplementary Materials).

Fonte: autoria própria

Nos experimentos seguintes, o tempo de reação foi reduzido para verificar a eficiência do aquecimento por micro-ondas (MW) em relação ao aquecimento convencional. O rendimento mais alto (97%, entrada 2, Tabela 1) foi obtido quando a reação foi realizada por 10 minutos com 2a, confirmando a conversão de 2a como um rendimento significativo (98%, entrada 3, Tabela 1). Esse resultado é um

indicativo de que a eficiência da reação foi de 78% para 2a, em 1 hora sob CH (CT-Ox, 98% para 2a, em 5 min, sob MW).

A mesma condição de reação (entrada 3, Tabela 1) foi aplicada quando se usou o biopolímero SF-Ox para a síntese de 2a. Neste caso, a conversão obtida foi moderada (62%), porém, a extração mais eficiente mostrou que a síntese foi realizada com um rendimento de 78% (entrada 4, Tabela 1).

Finalmente, a síntese de 2a foi realizada na ausência de catalisador. Os resultados mostraram que a presença de biopolímeros influenciados na reação progressiva, como uma conversão de apenas 45% para 2a quando a reação foi realizada sem qualquer catalisador (entrada 5, Tabela 1).

Após a análise, os adutos 2a-I foram obtidos com rendimentos moderados a excelentes (35-99%, Figura 2). Neste passo, os compostos mais fortes que possuem grupos ativadores [(-CH₃), -N-Ar e -OH-Ar] em suas estruturas químicas, quando comparados a outros compostos, apresentaram rendimentos mais altos. No entanto, após um curto período (5 min sob condições MW), os efeitos eletrônicos tiveram consequências na eficiência do rendimento da reação, explicando os valores mais baixos.

Em comparação, na primeira etapa do estudo, é provável que os tempos de reação de 1 hora tenham sido suficientemente longos para que os efeitos eletrônicos não tivessem consequências significativas nos rendimentos dos produtos.

5.3 Reutilização dos Biopolímeros FS-Ox e CT-Ox nas Reações de Condensação de Knoevenagel

Uma das vantagens dos catalisadores heterogêneos em comparação com os catalisadores homogêneos é sua capacidade de reutilização, o que pode contribuir para a redução dos custos operacionais (Bi et al., 2022). Nesta etapa do estudo, a reutilização dos biopolímeros suporte SF-Ox e CT-Ox na reação de Knoevenagel foi avaliada. Além disso, a eficácia de ambos os métodos de aquecimento, CH e MW, foi analisada.

5.3.1 Reutilização de SF-Ox e CT-Ox sob Condições CH na Síntese do Aduto 2a

Utilizando SF-Ox sob condições CH, o aduto 2a foi obtido com um rendimento de 75% no primeiro ciclo. Ao final da reação, o conteúdo foi filtrado e lavado com 25 mL de EtOAc. O catalisador, retido no filtro, foi então seco em um forno (85 °C) e reutilizado sucessivamente. Os rendimentos para o segundo e o terceiro ciclos foram de 74% e 68%, respectivamente.

Durante a reutilização de CT-Ox, o rendimento de 2a diminuiu significativamente. No primeiro uso, obteve-se um rendimento de 76% de 2a, enquanto no segundo uso o rendimento caiu para 50% e, no terceiro uso, para 38% (Tabela 2).

Tabela 2 - Reuso de SF-Ox e CT-Ox na reação de formação do aduto 2a.

Biopolymers	Conversion (%)		
	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
SF-Ox ^a	75	74	68
SF-Ox ^b	99	99	—
CT-Ox ^a	76	50	38
CT-Ox ^b	99	99	99

^a conventional heating as heating source used for the synthesis of 2a; ^b microwave irradiation as heating source used for the synthesis of 2 h.

Fonte: autoria própria

5.3.2 Reutilização de SF-Ox e CT-Ox sob Condições MW na Síntese do Aduto 2a

A reutilização de ambos os biomateriais também foi avaliada com condições de aquecimento por micro-ondas (MW). Para isso, a síntese do aduto 2h foi selecionada como modelo.

O desempenho de CT-Ox com MW como fonte de aquecimento foi superior ao observado sob condições CH. Os rendimentos do aduto 2h para o primeiro, segundo e terceiro reuses foram >99%, demonstrando que o material não perdeu sua eficiência catalítica mesmo quando reutilizado três vezes (Tabela 2). No entanto, houve perda de massa do catalisador durante as etapas de recuperação, tornando impossível recuperar uma massa suficiente para um quarto ciclo de reação.

Assim como com o biopolímero CT-Ox, ao utilizar SF-Ox com MW como fonte de aquecimento, observou-se uma alta eficiência catalítica, com o produto 2h obtido com um rendimento de 99% em um uso inicial desse biocatalisador. Contudo, esse material apresentou baixa capacidade de recuperação, e devido à alta perda de massa, pôde ser utilizado apenas mais uma vez. Curiosamente, a eficiência catalítica não se alterou, e o aduto 2h foi novamente obtido com um rendimento de 99% (Tabela 2). Portanto, pode-se concluir que esse biomaterial não sofre alterações em seus sítios catalíticos, que são fundamentais para o progresso da reação. No entanto, devido à sua morfologia extremamente sensível e frágil, o sistema torna-se praticamente homogêneo ao final da reação, dificultando a recuperação.

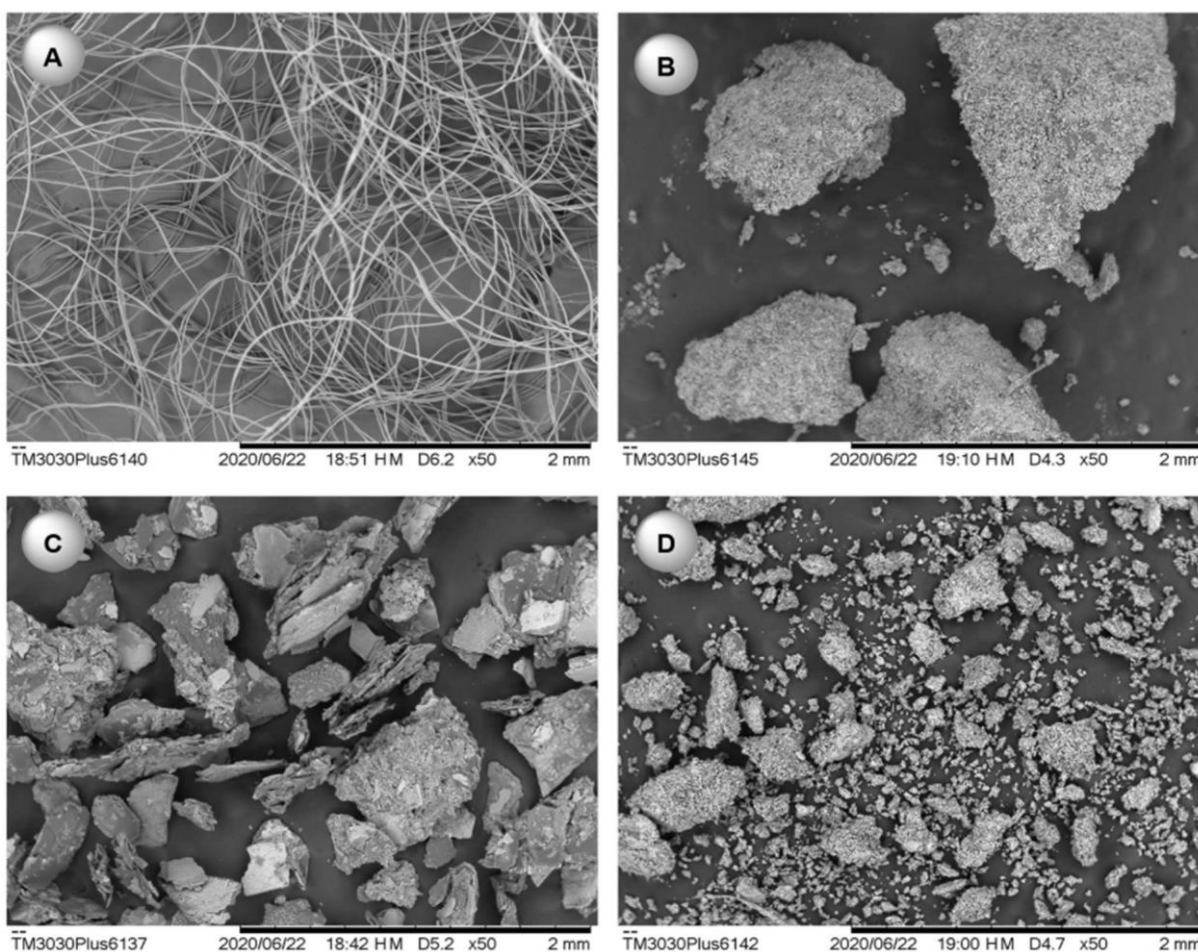
Com base nos resultados obtidos, observou-se que as eficácias catalíticas de CT-Ox e SF-Ox não se alteram quando esses biopolímeros são submetidos a aquecimento via MW. A reutilização de ambos é limitada pela perda de massa durante o processo de recuperação.

5.4 Caracterização dos Novos Materiais FS-Ox e CT-Ox Utilizados na Condensação de Knoevenagel

O sal triplo perrossimonossulfato de potássio ($2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$), conhecido como Oxone®, é um agente oxidante eficaz. O sal Oxone® foi utilizado para obter nanopartículas esféricas cristalinas de quitina (Luong *et al.*, 2018) e microfibras de seda (Ferreira *et al.*, 2017; Júnior *et al.*, 2021) representando um procedimento fácil e ecologicamente correto devido à sua estabilidade e solubilidade em água, baixo custo, natureza "verde" menos tóxica, subprodutos não poluentes e custo-benefício (Chakaraborty *et al.*, 2022; Júnior *et al.*, 2021; Kuhbeck *et al.*, 2014; Luong *et al.*, 2018; Perin *et al.*, 2018).

O método tradicional para gerar SF envolve uma solução ternária de $\text{CaCl}_2:\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$. Quando os casulos de seda são tratados pelo método tradicional utilizando Na_2CO_3 (2%), as principais características morfológicas do SF são suas fibras lisas alongadas, como visto na Figura 3A. Em contraste, a morfologia e o tamanho das fibras foram significativamente influenciados pelo tratamento com Oxone® (Figura 3B). Esses resultados sugeriram que o sal Oxone® na presença de íons Ca^{2+} atua como um agente mineralizante nas ligações peptídicas presentes na fibroína de seda, aumentando a superfície de contato do biocatalisador FS-Ox (Júnior *et al.*, 2021).

Figura 3 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura de fibroína de seda (A), fibroína de seda-Oxone® (B), quitina (C) e quitina-Oxone® (D).



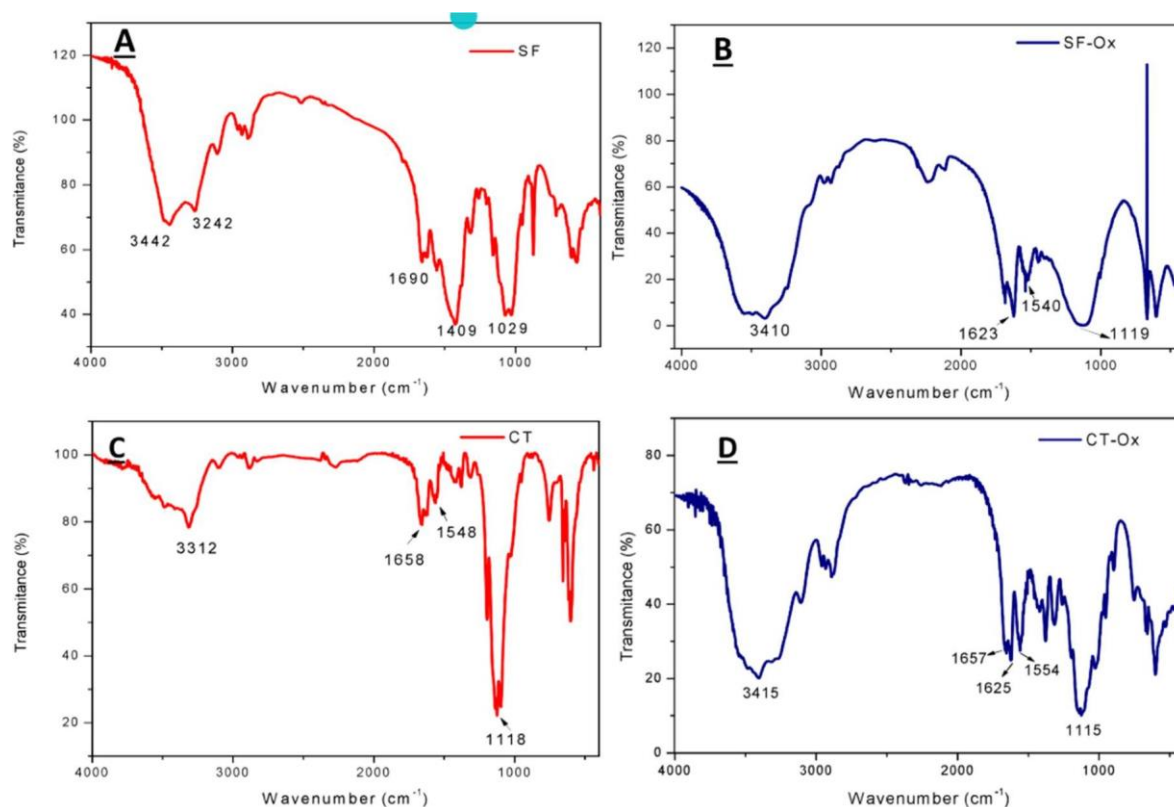
Fonte: autoria própria

O processo químico comum para a modificação da quitina envolve o uso de produtos químicos agressivos (soluções de ácido e álcali) sob temperaturas elevadas por um período prolongado de incubação (Knidri *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2021). O perrossimonossulfato de potássio ativo (KHSO_5) inicialmente atacou a ligação glicosídica terminal da cadeia de quitina para soltar os cristalitos, permitindo a penetração de água e Oxone®. Assim como os ácidos, o KHSO_5 foi capaz de hidrolisar as ligações β -(1-4), com a presença de água tornando cada ligação quebrada inativa.

O Oxone® foi eficaz na clivagem das ligações glicosídicas e na separação individualizada dos fibrilamentos elementares para CT-Ox (Luong *et al.*, 2018). Os espectros de FTIR de FS e FS-Ox (Figura 4A, B) exibiram um pico característico agudo e intenso a 3609 cm^{-1} , pertencente ao grupo N-H de vibrações de estiramento, e outro pico a 3451 cm^{-1} , possivelmente devido à vibração dos grupos

O-H de fenóis provenientes de tirosina e serina. Picos associados ao grupo N-H de peptídeos e ao estiramento assimétrico das ligações C-H também foram detectados a 3364 cm^{-1} e 2931 cm^{-1} , respectivamente (Devadiga *et al.*, 2017). Íons de cálcio positivamente carregados interagem com os grupos carbonila negativamente carregados da fibroína, o que pode ser verificado pelos níveis de intensidade (Dmovšek *et al.*, 2016)..

Figura 4 - Espectros FTIR de fibroína de seda (A) e fibroína de seda-Oxone® (B); quitina (C) e quitina-Oxone



Fonte: autoria própria

Os espectros de FT-IR de CT e CT-Ox estão apresentados nas Figuras 4C e 4D. As duas bandas em torno de 1658 cm^{-1} para CT e 1657 cm^{-1} para CT-Ox confirmam a presença de um grupo amida. Para CT, no entanto, a banda ampla em torno de 3312 cm^{-1} está relacionada ao estiramento axial de um grupo O-H de ligação simples, que aparece sobreposta à banda de estiramento de ligação simples N-H. Para CT-Ox, entretanto, observou-se um deslocamento para 3415 cm^{-1} , resultante do tratamento com Oxone®.

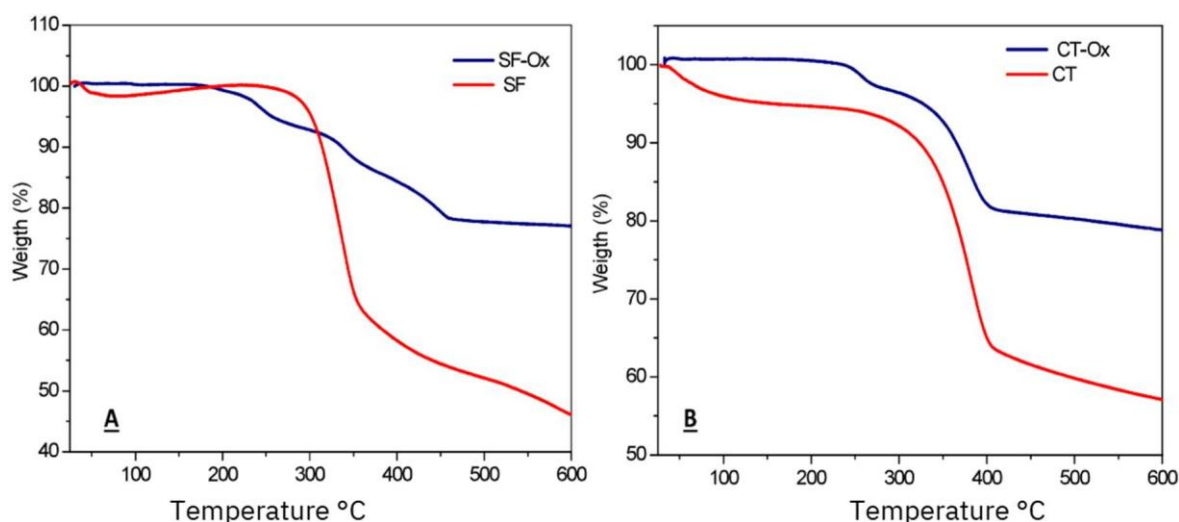
O pico para o estiramento assimétrico de C-O-C foi observado entre $1115\text{--}1118\text{ cm}^{-1}$ em ambos os casos (Rwegoasila *et al.*, 2016; Mohan *et al.*, 2021; Barbosa *et al.*, 2019). O comportamento térmico do SF puro e do SF-Ox foi

analisado por análise termogravimétrica (TGA). A temperatura de degradação, conhecida como critério de degradação térmica, foi calculada com base nas curvas TGA diferenciais (Figura 5). A curva TG da fibroína exibiu uma única etapa de perda de massa a uma temperatura de 266,6 °C. A partir desse ponto (266,66 °C), a curva TG da fibroína desce, implicando uma perda progressiva de massa até o final da análise a 600 °C.

A decomposição térmica da fibroína está relacionada à quebra dos grupos laterais de resíduos de aminoácidos, bem como à clivagem das ligações peptídicas (Nogueira et al., 2010). Além disso, a decomposição térmica da fibroína em temperaturas acima de 300 °C está associada à degradação térmica da fibroína de seda com uma estrutura β -folha orientada ao longo da fibra (Ferreira *et al.*, 2017). A curva TG da quitina exibiu uma perda de massa de 32,124% na faixa de 243-422 °C (Figura 5B). A decomposição térmica da quitina está relacionada à despolimerização/decomposição das cadeias poliméricas por meio de acetilação e clivagem das ligações glicosídicas, além da destruição do anel piranose (Moussout *et al.*, 2016).

Figura 5 -

Figura 5 - Análise termogravimétrica dos biopolímeros SF-Ox e SF (A);
CT-Ox e CT (B)



Fonte: autoria própria

As Figuras 4B e 5A mostram as curvas de TG da fibroína e da quitina após tratamento com o sal Oxone®. Em ambas as curvas, observa-se que os polímeros apresentam maior estabilidade térmica após o tratamento com Oxone®. O SF-Ox exibe uma faixa de perda de massa entre 288,15 °C e 432,5 °C, com uma perda de

massa de 20%, enquanto o CT-Ox apresenta uma faixa de perda de massa entre 166,96 °C e 485 °C, com uma perda de massa de 23%. O SF-Ox exibe um resíduo de 80%, e o CT-Ox exibe um resíduo de 77%, sendo que um maior resíduo indica maior resistência à decomposição térmica, como é o caso do CT-Ox e SF-Ox, dependendo da mineralização proporcionada pelo Oxone® (Júnior *et al.*, 2021).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo investigou o uso de novos materiais a partir de biopolímeros naturais, como fibroína e quitina funcionalizados com Oxone® (CT-Ox e FS-Ox), em uma reação de condensação de Knoevenagel utilizando aquecimento convencional e irradiação por micro-ondas como fontes de aquecimento para sintetizar 2-benzilidenomalonitrilas 2a-I sob condições ecológicas. Os biomateriais apresentam a vantagem de serem biodegradáveis, fáceis de obter, de baixo custo e compatíveis com solventes verdes, como água e etanol.

Sob condições de aquecimento convencional (CH), os biocatalisadores exibiram boa eficiência para a síntese de adutos de Knoevenagel 2a-I em reações realizadas por 1 hora (CT-Ox 71-96% e FS-Ox 60-98%). Com o uso de micro-ondas (MW) como fonte de aquecimento, o tempo de reação foi reduzido doze vezes. Os compostos 2a-I foram obtidos com rendimentos de 39-99% e 35-99% para CT-Ox e FS-Ox, respectivamente.

A reutilização dos biocatalisadores também foi avaliada. Sob condições CH, CT-Ox foi reutilizado por três ciclos, observando-se uma perda de eficiência. Já SF-Ox foi reutilizado por três ciclos sem perdas significativas de eficiência. Sob condições MW, CT-Ox pôde ser reutilizado em até três ciclos de reação sem qualquer perda de eficiência, enquanto SF-Ox pôde ser utilizado apenas uma vez, sem perda de eficiência catalítica, mas com uma alta perda de massa no processo de recuperação. No entanto, estudos adicionais serão necessários para avaliar sua eficiência catalítica sem perda significativa de massa no processo de recuperação e sua aplicabilidade em outras reações.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANBU, Nagaraj; HARIHARAN, Surendran; DHAKSHINAMOORTHY, Amarajothi. Knoevenagel-Doebner condensation promoted by chitosan as a reusable solid base catalyst. **Molecular Catalysis**, v. 484, p. 110744, mar. 2020.

ANH TRAN, Vy *et al.* Experimental and computational investigation of a green Knoevenagel condensation catalyzed by zeolitic imidazolate framework-8. **Environmental Research**, v. 204, p. 112364, mar. 2022.

BARBOSA, Hellen F. G. *et al.* A new look towards the thermal decomposition of chitins and chitosans with different degrees of deacetylation by coupled TG-FTIR. **Carbohydrate Polymers**, v. 225, p. 115232, dez. 2019.

BI, Shuai *et al.* Synthesis of Vinylene-Linked Covalent Organic Frameworks by Monomer Self-Catalyzed Activation of Knoevenagel Condensation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 144, n. 8, p. 3653-3659, 2 mar. 2022.

BIROLLI, Willian Garcia *et al.* Synthesis of Knoevenagel Adducts Under Microwave Irradiation and Biocatalytic Ene-Reduction by the Marine-Derived Fungus *Cladosporium* sp. CBMAI 1237 for the Production of 2-Cyano-3-Phenylpropanamide Derivatives. **Marine Biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 317-330, abr. 2020.

CHAKRABORTY, Sourav; RUDRA PAUL, Abhijit; MAJUMDAR, Swapan. Base and metal free true recyclable medium for Knoevenagel condensation reaction in SDS-ionic liquid-aqueous micellar composite system. **Results in Chemistry**, v. 4, p. 100294, jan. 2022.

CHERN, C. J.; BEUTLER, E. Biochemical and electrophoretic studies of erythrocyte pyridoxine kinase in white and black Americans. **American Journal of Human Genetics**, v. 28, n. 1, p. 9-17, jan. 1976.

DE ABRANTES, Paloma Gomes *et al.* The Efficient Knoevenagel Condensation Promoted by Bifunctional Heterogenized Catalyst Based Chitosan-EDTA at Room Temperature. **Catalysis Letters**, v. 153, n. 4, p. 945-955, abr. 2023.

DEVADIGA, Aishwarya; VIDYA SHETTY, K.; SAIDUTTA, M. B. Highly stable silver nanoparticles synthesized using *Terminalia catappa* leaves as antibacterial agent and colorimetric mercury sensor. **Materials Letters**, v. 207, p. 66-71, nov. 2017.

DRNOVŠEK, N. *et al.* Size of silk fibroin β -sheet domains affected by Ca^{2+} . **Journal of Materials Chemistry B**, v. 4, n. 40, p. 6597-6608, 2016.

FERREIRA, Irlon M. *et al.* Immobilization of Amano lipase from *Pseudomonas fluorescens* on silk fibroin spheres: an alternative protocol for the enantioselective synthesis of halohydrins. **RSC Advances**, v. 7, n. 21, p. 12650-12658, 2017a.

FERREIRA, Irlon M. *et al.* Ethylic Biodiesel Production Using Lipase Immobilized in Silk Fibroin-Alginate Spheres by Encapsulation. **Catalysis Letters**, v. 147, n. 1, p. 269-280, jan. 2017b.

HIRAYAMA, Yusaku *et al.* Chitosan nanofiber-catalyzed highly selective Knoevenagel condensation in aqueous methanol. **RSC Advances**, v. 10, n. 45, p. 26771-26776, 2020.

JIMENEZ, David Esteban Quintero *et al.* Green Synthetic Methodology of (E)-2-cyano-3-aryl Selective Knoevenagel Adducts Under Microwave Irradiation. **Current Microwave Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 54-60, 24 out. 2019.

JÚNIOR, Evaldo B. M. *et al.* Immobilization of Amano AK Lipase from *Pseudomonas fluorescens* on Novel Silk Microfiber using Oxone®: Parameter Optimization for Enzymatic Assays and use in Esterification of Residual Palm Oil. **Current Catalysis**, v. 10, n. 2, p. 119-129, 30 nov. 2021.

KALLA, Reddi Mohan Naidu *et al.* Efficient, Solvent-Free, Multicomponent Method for Organic-Base-Catalyzed Synthesis of β -Phosphonomalonates. **ACS Combinatorial Science**, v. 17, n. 11, p. 691-697, 9 nov. 2015.

KNIDRI, H. *et al.* Rapid and efficient extraction of chitin and chitosan for scale-up production: Effect of process parameters on deacetylation degree and molecular weight. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 139, p. 1092-1102, out. 2019.

KÜHBECK, Dennis *et al.* Investigation of C-C Bond Formation Mediated by *Bombyx mori* Silk Fibroin Materials. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 6, p. 1510-1517, 2 jun. 2014.

KUMAR, Sunil; FOROOZESH, Jalal. Chitin nanocrystals based complex fluids: A green nanotechnology. **Carbohydrate Polymers**, v. 257, p. 117619, abr. 2021.

LOPES, Samuel Q. *et al.* Use of Oxone® as a Potential Catalyst in Biodiesel Production from Palm Fatty Acid Distillate (PFAD). **Catalysis Letters**, v. 152, n. 4, p. 1009-1019, abr. 2022.

LUONG, John H. T.; GEDANKEN, Aharon. Eco-Friendly and Facile Preparation of Spherical Chitin Nanoparticles. **ChemistrySelect**, v. 3, n. 38, p. 10787-10791, 17 out. 2018.

LV, Hongxiao *et al.* A nanocaged cadmium-organic framework with high catalytic activity on the chemical fixation of CO₂ and deacetalization-knoevenagel condensation. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 335, p. 111791, abr. 2022.

MADKOUR, Metwally; KHALIL, Khaled D.; AL-SAGHEER, Fakhreia A. Heterogeneous Hybrid Nanocomposite Based on Chitosan/Magnesia Hybrid Films: Ecofriendly and Recyclable Solid Catalysts for Organic Reactions. **Polymers**, v. 13, n. 20, p. 3583, 17 out. 2021.

MOHAN, K. *et al.* A study on structural comparisons of α -chitin extracted from marine crustacean shell waste. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, v. 2, p. 100037, dez. 2021.

MOUSSOUT, Hamou *et al.* Kinetics and mechanism of the thermal degradation of biopolymers chitin and chitosan using thermogravimetric analysis. **Polymer Degradation and Stability**, v. 130, p. 1-9, ago. 2016.

NOGUEIRA, Grinia M. *et al.* Preparation and characterization of ethanol-treated silk fibroin dense membranes for biomaterials application using waste silk fibers as raw material. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 21, p. 8446-8451, nov. 2010.

PERIN, Gelson *et al.* Selenomethoxylation of Alkenes Promoted by Oxone®. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2018, n. 10, p. 1224-1229, 14 mar. 2018.

RANI, Dhiraj; SINGLA, Priyanka; AGARWAL, Jyoti. 'Chitosan in water' as an eco-friendly and efficient catalytic system for Knoevenagel condensation reaction. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 355-364, dez. 2018.

RWEGASILA, Edward *et al.* Preparation, Characterization and in Vivo Antimycobacterial Studies of Panchovillin-Chitosan Nanocomposites. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 10, p. 1559, 27 set. 2016.

TROTZKI, Ronald; HOFFMANN, Markus M.; ONDRUSCHKA, Bernd. The Knoevenagel condensation at room temperature. **Green Chemistry**, v. 10, n. 8, p. 873, 2008.

YANG, Xianghua; FOX, Thomas; BERKE, Heinz. Facile metal free regioselective transfer hydrogenation of polarized olefins with ammonia borane. **Chemical Communications**, v. 47, n. 7, p. 2053, 2011.