

Karine Goulart de Oliveira

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE MEMBRANAS DE NANOFILTRAÇÃO

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. William Gerson Matias.

Coorientadora: Dr^a. Denice Schulz Vicentini.

Florianópolis/SC

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Oliveira, Karine Goulart de
Preparação, Caracterização e Avaliação Toxicológica de
Membranas de Nanofiltração / Karine Goulart de Oliveira
; orientador, William Gerson Matias ; coorientadora,
Denice Schulz Vicentini. - Florianópolis, SC, 2016.
104 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em
Engenharia Ambiental.

Inclui referências

1. Engenharia Ambiental. 2. Toxicologia Ambiental. 3.
Tratamento de Água. 4. Nanofiltração. 5. Membranas
Poliméricas. I. Matias, William Gerson. II. Vicentini,
Denice Schulz . III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.
IV. Título.



“Preparação, Caracterização e Avaliação Toxicológica de Membranas de Nanofiltração”

KARINE GOULART DE OLIVEIRA

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de

MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL

na Área de Engenharia Ambiental.

Aprovado por:

Prof. William Gerson Matias, Dr.
(Orientador)

Denice Schulz Vicentini, Dr.
(Coorientadora)

Prof. Maria Eliza Nagel Hassemer, Dr.

Ana Leticia de Oliveira Franco Rossetto, Dr.

Prof. Silvanildo Melegari, Dr.

Prof. William Gerson Matias, Dr.
(Coordenador)

FLORIANÓPOLIS, SC – BRASIL
SETEMBRO/2016

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Pedro e Sônia e minha irmã Bianca pela força, incentivo e ensinamentos, sempre com muito amor;

À minha tia Therezinha por todos os ensinamentos e por me incentivar a ir adiante;

Ao meu namorado Useche por toda a paciência, amor e, principalmente, a paz que me trouxe;

Ao professor William Gerson Matias pela orientação, ensinamentos e pela oportunidade de trabalhar neste grupo;

À minha coorientadora Denice Schulz Vicentini que me ajudou em todos os momentos em que precisei e foi quem mais me ensinou durante toda esta caminhada;

À Renata Gonçalves, Bianca Oscar, Rodrigo Puerari, Isabela Bonatto e Naiara Mottim pela amizade e pela ajuda essencial para a realização deste trabalho;

À CAPES e CNPq pelo apoio financeiro;

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental (PPGEA) pelos serviços prestados e ensinamentos;

Aos membros da banca, Dr^a Prof^a Maria Eliza Nagel Hassemer, Dr^a, Prof^a. Silvia Pedroso Melegari e Dr^a Ana Letícia de Oliveira Franco Rossetto pela disponibilidade para a melhoria do meu trabalho;

Ao LARA (Laboratório de Reuso das Águas) da UFSC por disponibilizar o sistema de filtração;

Ao LCME (Laboratório Central de Microscopia) da UFSC pelas imagens de microscopia;

Ao Vitrocer (Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos) da UFSC pelas análises de ângulo de contato;

Ao LCM (Laboratório de Caracterização Microestrutural) da UFSC pelas análises de DRX;

Ao Laboratório de Optoeletrônica Orgânica e Sistemas Anisotrópicos (LOOSA) da UFSC pelas análises de AFM;

À Universidade Federal de Santa Catarina por oferecer todos os recursos necessários para que esta pesquisa se realizasse;

E a todas as pessoas que participaram de alguma forma da minha vida para que esta etapa pudesse ser concluída.

“Você nunca sabe a força que tem, até que a sua única alternativa é ser forte.”

(Autor desconhecido)

RESUMO

A água potável no mundo está cada vez mais escassa e, portanto, existe a necessidade de desenvolver alternativas de tratamento de água, visando processos eficientes e de baixo custo. Entre os processos existentes, destaca-se a nanofiltração (NF) por membranas, que promove uma separação de alta eficiência e baixo gasto energético. Desta forma, este trabalho objetivou preparar membranas poliméricas de NF e estudar a eficiência de rejeição de íons de sais mono e divalentes em sistema piloto de filtração e avaliar a toxicologia dos componentes das membranas com o microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* e células Vero. As membranas poliméricas preparadas foram de polissulfona (PSF), estruturadas com nanotubos de SiO₂ (NTS), e de quitosana (QTS) reticulada com epícloridrina (EPC) com NTS funcionalizados com uma molécula aminosilano (NTS-F). Os NTS e NTS-F foram caracterizados por FTIR, BET, PZ, DRX e MET e as membranas por grau de molhabilidade (PSF) e intumescimento (QTS), ângulo de contato, MEV-FEG, EDS, AFM e permeabilidade. A eficiência de rejeição de íons das membranas foi avaliada com os sais NaCl e MgCl₂ em modo *dead-end*. Também foi determinada a toxicidade dos NTS, NTS-F através de testes agudos e crônicos com *D. magna* e ensaio do MTT com células Vero. O teste agudo com *D. magna* foi realizado também para o lixiviado das membranas. Para todos os testes com *D. magna* e células Vero, observou-se que o NTS-F apresentou maior toxicidade, indicando maior reatividade da superfície dos NTS-F, atribuída à presença dos grupos amina que resultou no aumento de afinidade com os organismos. Com NTS-F incorporados nas membranas a toxicidade foi mais reduzida do que para a forma livre dos NT, sugerindo que houve imobilização dos mesmos pela membrana. Para os ensaios de rejeição de íons de sais, houve uma baixa seletividade, sendo o maior percentual de 13,70%, para MgCl₂ e 10,16% para NaCl, concluindo-se, assim, que esta composição de membrana de NF apresenta baixa eficiência na remoção dos sais testados.

Palavras-chave: Nanofiltração, membranas poliméricas, dessalinização, nanotubos de SiO₂, funcionalização, toxicidade, *D. magna*, células Vero.

ABSTRACT

The world's drinking water is becoming increasingly scarce and, therefore, there is a need to develop water treatment alternatives, aiming efficient processes at low cost. Among the existing processes, nanofiltration (NF) membranes are highlighted, which promote high efficiency and low energy demand. Thus, this work aimed to prepare polymeric membranes for NF and study mono and divalent salt ions rejection efficiency in a pilot filtration system and evaluate the membrane's components toxicology using freshwater microcrustacean *Daphnia magna* and Vero cells. The prepared polymer membranes were polysulphone (PSF), structured with SiO₂ nanotubes (SNT), and chitosan (CS) crosslinked by epichlorohydrin, structured with SNT functionalized with an aminosilane molecule (F-SNT). The SNT and F-SNT were characterized by FTIR, BET, PZ, XRD and TEM and the membranes by water uptake (PSF) and swelling (CS) degree, contact angle, SEM-FEG, EDS, AFM and permeability. The evaluation of membrane's ion rejection efficiency was conducted with NaCl and MgCl₂ salts in dead-end mode. It was also determined the toxicity of SNT F-SNT through acute and chronic tests with *D. magna* and MTT assay with Vero cells. The acute test with *D. magna* was also performed for the leached PSF and CS membranes. For all the tests with *D. magna* and Vero cells, it was observed that the F-SNT showed higher toxicity, indicating greater reactivity of the surface of F-SNT, attributed to the presence of amine groups that resulted in increased affinity with the organisms. With F-SNT incorporated in the membranes, the toxicity was much lower than for the NT free form, suggesting their immobilization by the membrane. For the salt ions removal test, there was a low rejection rate, with the highest percentage of 13.70% for MgCl₂ and 10.16% for NaCl, concluding, therefore, that this NF membrane composition is not effective for the removal of these salts.

Key-words: Nanofiltration, polymeric membranes, desalination, SiO₂ nanotubes, functionalization, toxicity, *D. magna*, Vero cells.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema representativo das estratégias de filtração por membranas de acordo com a seleção de contaminantes e pressão requerida para cada tipo de filtração..	29
Figura 2. Representação da estrutura monomérica da quitosana.	35
Figura 3. Esquema ilustrativo da reação de reticulação da QTS com EPC onde ocorre a abertura do epóxido seguido da formação da ligação covalente.	314
Figura 4. Representação da estrutura monomérica da polissulfona.	355
Figura 5. Representação da estrutura atômica-molecular do SiO ₂ amorfo.	31
Figura 6. Representação da estrutura molecular aminosilano do 3-[2-(2-aminoetiamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano.	40
Figura 7. Representação da mensuração do ângulo de contato (θ) em membranas.	42
Figura 8. Representação dos principais tipos de molhabilidade de membranas: (a) completamente molhada (hidrofílica), (b) parcialmente molhada, (c) não-molhada (hidrofóbica)	43
Figura 9. Representação da estrutura morfológica do microcrustáceo de água doce <i>Daphnia magna</i>	45
Figura 10. Visualização de células da linhagem Vero por microscopia.	48
Figura 11. Esquema representativo do teste de toxicidade aguda com <i>D. magna</i> .	59
Figura 12. Esquema representativo do teste de toxicidade crônica com <i>D. magna</i> .	60
Figura 13. Imagens de MET, onde: A) e B) correspondem às imagens de nanotubos de SiO ₂	63
Figura 14. Espectros obtidos por FTIR, onde: A) Espectro da molécula funcionalizante, B) Espectro do NTS e C) Espectro do NTS-F	64
Figura 15. Gráfico dos difratogramas obtidos por DRX, onde: A) Difratograma do NTS e B) Difratograma do NTS-F.	3166
Figura 16. Imagens de MEV-FEG das membranas, onde: A) Imagem da superfície da PSF pura, B) Imagem da secção transversal da PSF pura, C) Imagem da superfície da PSF com	

1% NTS e D) e E) Imagens da secção transversal da PSF com 1% NTS com indicação dos aglomerados de NT.....	68
Figura 17. Imagens de MEV-FEG das membranas, onde: A) Imagem da superfície da QTS pura, B) Imagem da secção transversal da QTS pura, C) Imagem da superfície da QTS com 1,5% NTS-F com indicação dos aglomerados de NTS-F e D) Imagem da secção transversal da QTS com 1,5% NTS-F.....	70
Figura 18. Análise de EDS das membranas de PSF, onde: A) PSF pura; B-1) Ponto superior da secção transversal da PSF com NTS; B-2) Ponto médio da secção transversal da PSF com NTS; B-3) Ponto inferior da secção transversal da PSF com NTS.	71
Figura 19. Análise de EDS das membranas de QTS, onde: A) QTS pura; B) QTS com NTS-F.	72
Figura 20. Imagens de AFM das membranas de PSF, onde: A) PSF e A) PSF com 1% NTS.	73
Figura 21. Comparação entre as médias dos fluxos de PSF com 1% NTS individualmente e juntamente com QTS com 1,5% NTS-F.	74
Figura 22. Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS em <i>D. magna</i> : parâmetro reprodução.....	80
Figura 23. Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS-F em <i>D. magna</i> : parâmetro reprodução.....	80
Figura 24. Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS em <i>D. magna</i> : parâmetro crescimento.....	81
Figura 25. Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS-F em <i>D. magna</i> : parâmetro crescimento.....	81
Figura 26. Modificações morfológicas da <i>D. magna</i> após teste de toxicidade crônica segundo o encurtamento do espinho apical, onde: A) Espinho apical normal – Controle; B) Encurtamento do espinho apical – NTS na concentração de 50 mg L ⁻¹ ; C) encurtamento do espinho apical – NTS-F na concentração de 12,5 mg L ⁻¹	82
Figura 27. Curva de viabilidade celular das células da linhagem Vero expostas ao NTS e ao NTS-F.	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composições de membranas de NF e percentual de rejeição de íons de sais de acordo com as pressões exercidas..	320
Tabela 2. Lista de todos os materiais utilizados nos procedimentos experimentais do trabalho.....	50
Tabela 3. Resultados encontrados de valor hidrodinâmico, pH e potencial zeta dos NTS e NTS-F..	65
Tabela 4. : Grau de intumescimento (GI) das membranas de QTS puras e com NTS-F e grau de molhabilidade (GM) das membranas de PSF puras e com NTS.....	67
Tabela 5. Ângulo de contato das membranas de QTS puras e com NTS-F de PSF puras e com NTS.....	67
Tabela 6. Percentual de elementos químicos de membranas de PSF puras e com 1% de NTS.....	72
Tabela 7. Fluxo de permeação e percentual de rejeição de íons dos sais $MgCl_2$ e $NaCl$ em membranas de QTS com 1% de NTS-F com o suporte poroso de PSF 1% NTS.....	75
Tabela 8. Valores encontrados de $CE_{50,48h}$ para toxicidade aguda com <i>Daphnia magna</i> dos NTS e NTS-F e de lixiviado das membranas.....	77
Tabela 9. Valores encontrados de toxicidade crônica com <i>D. magna</i> de NTS e NTS-F para os parâmetros de reprodução (repr.), crescimento (cresc.) e longevidade (long.) expressões em termos de nº de neonatos por postura, comprimento (compr.) e sobrevivência (sobr), respectivamente, e em valores de CEO e CENO.....	79

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CE ₅₀	Concentração Efetiva que causa efeito em 50% dos organismos expostos
CENO	Concentração de efeito não observado
CEO	Concentração de efeito observado
DMSO	Dimetil-sulfóxido
EDTA	EthylenediamineTetra acetic Acid (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético)
EPC	Epicloridrina
Meio ISO	Meio diluente de teste agudo com <i>D. magna</i>
Meio M4	Meio completo de cultivo para <i>D. magna</i>
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol il-2,5-difeniltetrazólio)
NF	Nanofiltração
NM	Nanomaterial
NMP	1-metil-2-pirrolidona
NP	Nanopartícula
NTS	Nanotubo de Dióxido de Silício
NTS-F	Nanotubo de Dióxido de Silício Funcionalizado com 3-[2-(2-aminoetiamino)propiltrimetoxisilano
OR	Osmose Reversa
UF	Ultrafiltração
PBS	PhosphateBuffered Saline – Tampão salino de fosfato
PSF	Polissulfona
QTS	Quitosana
SiO ₂	Dióxido de Silício
RPMI	Roswell Park Memorial Institute (meio de cultura de células animais)
SPF	Soro Fetal Bovino
Tg	Temperatura de Transição Vítreo
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	23
2.	JUSTIFICATIVA	27
3.	OBJETIVOS.....	29
3.1	OBJETIVO GERAL.....	29
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	30
4.1	DESSALINIZAÇÃO	30
4.2	MEMBRANAS DE NANOFILTRAÇÃO.....	31
4.3	QUITOSANA.....	34
4.4	POLISSULFONA	37
4.5	NANOESTRUTURAS DE DIÓXIDO DE SILÍCIO.....	38
4.6	FUNCIONALIZAÇÃO	41
4.7	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS.....	42
4.8	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS.....	44
4.9	TOXICOLOGIA AMBIENTAL	46
4.9.1	Organismo – teste: <i>Daphnia magna</i>	47
4.9.2	Teste de Toxicidade Aguda.....	48
4.9.3	Teste de Toxicidade Crônica.....	49
4.10	CITOTOXICIDADE: ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	50
4.10.1	Linhagem Celular Vero.....	50
4.10.2	Ensaio do MTT: Determinação da CE ₅₀	51
5.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
5.1	MATERIAIS	52
5.2	PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS.....	53
5.2.1	Membrana de Polissulfona (PSF).....	53
5.2.2	Membrana de Quitosana (QTS)	54
5.3	METODOLOGIAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS NTS... 54	
5.3.1	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	55
5.3.2	Área Superficial Específica – Método BET	55
5.3.3	Potencial Zeta (PZ).....	55
5.3.4	Difração de Raio-X (DRX)	56
5.3.5	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	56
5.4	METODOLOGIAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS	56
5.4.1	Grau de Intumescimento e Molhabilidade	56
5.4.2	Ângulo de Contato.....	57
5.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)	57

5.4.4	Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)	57
5.4.5	Microscopia de Força Atômica (AFM)	58
5.4.6	Ensaio de Permeabilidade	58
5.5	ENSAIO DE REJEIÇÃO DE ÍONS DE SAIS	59
5.6	ENSAIO DE TOXICIDADE COM <i>D. magna</i>	60
5.6.1	Cultivo de <i>D. magna</i>	60
5.6.2	Teste de Toxicidade Aguda	60
5.6.3	Teste de Toxicidade Crônica	61
5.7	CITOTOXICIDADE: ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	63
5.7.1	Cultura Celular	63
5.7.2	Ensaio do MTT: Determinação da CE ₅₀	63
6.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
6.1	CARACTERIZAÇÃO DOS NTS.....	65
6.1.1	Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).....	65
6.1.2	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)	65
6.1.3	Área Superficial Específica - Método BET.....	66
6.1.4	Potencial Zeta (PZ)	67
6.1.5	Difração de Raio-X (DRX)	67
6.2	CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA.....	68
6.2.1	Grau de Intumescimento e Molhabilidade	68
6.2.2	Ângulo de Contato	69
6.2.3	Microscópio Eletrônico de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG).....	70
6.2.4	Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)	73
6.2.5	Microscopia de Força Atômica (AFM)	74
6.2.6	Ensaio de Permeabilidade	75
6.3	ENSAIO DE REJEIÇÃO DE ÍONS DE SAIS	76
6.4	ENSAIO DE TOXICIDADE COM <i>D. magna</i>	78
6.4.1	Teste de Toxicidade Aguda	78
6.4.2	Teste de Toxicidade Crônica	81
6.5	GENOTOXICIDADE: ENSAIOS <i>IN VITRO</i>	84
6.5.1	Ensaio do MTT: Determinação da CE ₅₀	84
7.	CONCLUSÕES.....	86
8.	RECOMENDAÇÕES	88
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
10.	ANEXOS	105

1. INTRODUÇÃO

A falta de água potável no mundo está se tornando cada vez mais evidente e deverá crescer ainda mais nas próximas décadas. Segundo a United Nation (2014), cerca de 748 milhões de pessoas não possuem acesso adequado à água potável.

Nos anos de 2014 e 2015 o Brasil enfrentou a maior crise hídrica da sua história, sendo que os estados mais afetados pela estiagem foram Rio Grande do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, além dos estados do Norte que sempre sofreram com este fenômeno. De acordo com dados da Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo (SABESP) o Sistema Cantareira, que abastece 5,6 milhões de pessoas na capital e Grande São Paulo, atingiu 5,1% da sua capacidade em janeiro de 2015, o que significa um corte de 56% na vazão em relação a fevereiro de 2014 (SABESP, 2015). Em janeiro de 2016 este volume aumentou para 29,9% (SABESP, 2016), porém estão sendo estabelecidos pela ANA (Agência Nacional de Águas) e a DAEE (Departamento de Águas e Energia Elétrica), limites de retirada da água mensais do sistema Cantareira a fim de evitar uma nova estiagem.

Segundo a Política Nacional de Recursos Hídricos (BRASIL, 1997), a água é um recurso natural limitado, portanto há a necessidade de se desenvolver novas alternativas de tratamento de água, visando processos eficientes e de baixo custo (SHANNON et al., 2008). Sabe-se que, da água disponível no mundo, somente cerca de 0,5% é potável, enquanto que 97% correspondem à água salgada (ZHOU et al., 2015). Sendo assim, uma das alternativas a obtenção de água potável é a dessalinização de águas salgadas e salobras, onde, após um processo físico-químico de retirada de sais, a água torna-se doce, ou potável.

Dentre as tecnologias utilizadas para o tratamento de águas, existe a troca iônica (AL-OTHMAN et al., 2011), adsorção (JU et al., 2009; TOFIGHY e MOHAMMADI, 2011), precipitações química (FU et al., 2012), processo eletroquímico (XING et al., 2007), osmose reversa (MOHSEN-NIA et al., 2007) e processo de nanofiltração por membrana (YANG et al., 2003). A alternativa considerada mais eficaz para a dessalinização é a filtração

por osmose reversa (OR), onde ocorre a retenção de íons de sais inorgânicos, inclusive monovalentes, deixando permear somente água. Já a nanofiltração (NF) perde em eficiência de retenção somente para a OR, pois apresentam elevada retenção de íons preferencialmente para divalentes e trivalentes e/ou de íons com raio iônico elevado, mesmo sendo monovalentes (HASSAN et al., 2000). Entretanto, o processo de OR requer alta demanda de energia para seu funcionamento, o que resulta num grande desperdício de água no processo de filtração, gera altos custos em equipamento e em sua implantação, requer trocas periódicas dos filtros, etc. Estas características acabam por tornar o processo de OR economicamente desvantajoso, principalmente em larga escala.

O processo de NF por membranas, situado entre OR e ultrafiltração (UF), promove separação com elevada eficiência e baixo gasto energético em relação à OR, tornando-se uma alternativa atrativa e eficiente. As membranas de NF operam com um mecanismo de transferência de massa por difusão, permitindo que certas soluções iônicas, predominantemente íons monovalentes e água, permeiem através da membrana. A NF pode ser utilizada para a dessalinização da água (HARRISON et al., 2007) e tratamento de efluentes industriais contaminados com compostos orgânicos e metais pesados, mudando a perspectiva em relação ao tratamento de água nas indústrias químicas, petroquímicas, farmacêuticas, biotecnologias e ambientais (WU et al., 2009).

A maioria das membranas comerciais de NF é feita com bases poliméricas; os polímeros orgânicos têm a vantagem de ter fácil industrialização, metodologia de preparação simplificada e baixo custo, porém possui a desvantagem em relação à termoestabilidade, potencial de incrustação e reduzido intumescimento (PANDA e DE, 2014). Estas desvantagens vêm sendo contornadas com o desenvolvimento de materiais híbridos do tipo orgânico/inorgânicos, o que resulta no equilíbrio dos dois tipos de material. Assim, as características dos materiais inorgânicos, como elevadas propriedades mecânicas e térmicas, estabilidade dimensional, desempenho anti-intumescimento e hidrofobicidade, combinam-se com a flexibilidade e ductibilidade dos polímeros orgânicos (JIN et al., 2012).

A quitosana (QTS), um polímero natural, vem sendo utilizada há décadas para a remoção de metais de soluções aquosas (VITALI et al., 2008; VASCONCELOS et al., 2007; JUSTI et al., 2005) e apresenta características apropriadas para este fim por ser atóxico, inodoro, bactericida, biocompatível e biodegradável (SHENVI et al., 2013; VICENTINI et al., 2010). Entretanto, a QTS possui algumas limitações como o elevado grau de intumescimento em água, que compromete a estabilidade dimensional, e a reduzida resistência mecânica. Estas limitações podem ser contornadas com reações de reticulação entre cadeias poliméricas, que reduzem o afastamento destas e, conseqüentemente, o intumescimento. A reticulação pode ser também o fator limitante para o potencial de seletividade à rejeição de íons na membrana, pois é o agente reticulante que irá determinar qual sítio ativo da QTS ficará livre para complexar os íons.

A baixa resistência mecânica da QTS à aplicação de pressão pode ser contornada também pelo uso de outros polímeros como suporte das membranas. A camada ativa da QTS promove a seletividade necessária e melhora a permeabilidade da membrana, enquanto o suporte fornece a resistência mecânica.

Entre os polímeros utilizados como suporte em membranas de NF, destaca-se a polissulfona (PSF) (GUILLEN et al., 2011; NECHIFOR et al., 2009) por possuir excelentes características, como a elevada resistência mecânica e térmica das membranas devido aos anéis aromáticos que compõem sua cadeia principal. Estas características contribuem para aplicação da PSF como suporte em membranas de NF, inclusive com a incorporação de alguns nanomateriais (NM) inorgânicos, como dióxido de silício (SiO_2), que confere à membrana novas propriedades, como resistência mecânica e aumento de adsorção de íons (JIN et al., 2012), melhorando assim sua eficiência de NF.

De acordo com a problemática apresentada, este trabalho objetivou preparar membranas poliméricas nanoestruturadas; uma camada composta por PSF estruturada com nanotubos de SiO_2 (NTS) e a outra membrana composta por QTS, reticulada com o agente reticulante epicloridrina (EPC), contendo NTS funcionalizados com a molécula aminosilano 3-[2-

(2-aminoetilamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano (NTS-F); doravante a denominação da funcionalização dos NTS com o aminosilano será NTS-F. Para as composições de membranas preparadas foi testada a eficiência de remoção de íons dos sais NaCl e MgCl₂ em um sistema piloto de filtração de membranas em modo *dead-end* e, foi também, avaliada a toxicidade de todos os materiais que compõem a membrana, utilizando como bioindicador o microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* e células da linhagem Vero.

Todo o trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Toxicologia Ambiental – LABTOX do departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFSC como parte do Projeto Universal do CNPq. O LABTOX, existente desde 1997, vem desenvolvendo estudos toxicológicos de nanomateriais (NM) desde 2009 e, atualmente, conta com um laboratório de síntese de NM, onde os NT envolvidos neste trabalho foram sintetizados. O LABTOX possui cooperações internacionais com UQAM (Montreal, Canadá), RICE (Houston, EUA), Bordeaux 2 (Bordeaux, França) e nacionais com a UNIFESP (São Paulo, Brasil) e UNIVILLE (Joinville, Brasil).

2. JUSTIFICATIVA

A água potável está se tornando cada vez mais escassa; a pequena quantidade de água doce disponível para o consumo, o aumento demográfico e a poluição são as principais causas da pouca água disponível. Com a população mundial estimada a chegar a 9 bilhões até o ano 2050 (UNFPA, 2011) a demanda por alimentos também irá conduzir inevitavelmente um aumento ainda maior da demanda de água para a irrigação, estimada em 70% do uso total da água (SHAFFER et al., 2012).

O aumento considerável da população mundial, juntamente com a urbanização e depleção de combustíveis fósseis, resultou em um rápido aumento na demanda por água potável e energia. Apesar da maior parte do território do planeta terra ser composta por água, menos de 1% do total é considerada potável (UNESCO, 2009) e espera-se que os desafios referentes a esta problemática piorem nas próximas décadas. Os problemas relacionados acima aliados aos níveis alarmantes de poluição implicam diretamente em efeitos deletérios aos organismos aquáticos, principalmente relacionados às elevadas taxas de metais pesados e sais dissolvidos, geralmente cloretos, que resultam em contaminações antropogênicas.

Segundo Kaushal et al. (2005), em Baltimore, MD, EUA, onde ocorre frequentemente o uso de sal nas estradas para evitar a derrapagem dos carros nas camadas de gelo formadas no asfalto, as concentrações de cloretos muitas vezes excedem os limites tóxicos no meio aquático ($>230 \text{ mg L}^{-1}$). Também nos Estados Unidos, Mullaney et al. (2009) avaliaram 100 pontos entre norte e nordeste do país e encontraram taxas de cloretos que apresentavam riscos aos organismos aquáticos (230 mg L^{-1}). No Brasil, segundo a Resolução CONAMA nº 430 (BRASIL, 2011), a concentração limítrofe de cloretos totais corresponde a 250 mg L^{-1} para águas doces classe 1. Atualmente, estão sendo desenvolvidas várias tecnologias para a obtenção de água potável através da dessalinização da água do mar e de águas salobras, porém o custo-benefício destas tecnologias é dificultado pelo alto consumo de energia (ELIMELECH e PHILLIP, 2011).

A tecnologia de dessalinização, principalmente pelo processo de membranas, é reconhecida atualmente como uma das melhores alternativas para o problema de escassez de água. Entretanto, existem algumas limitações, como incrustamento das membranas e consumo de energia devido às altas pressões requeridas para o processo, que limitam o desenvolvimento desta prática em larga escala (MOHAMMAD et al., 2015). Para reverter estes problemas, membranas de NF estão sendo utilizadas, mostrando seu potencial em pré-tratamentos de dessalinização da água do mar, em substituição à osmose reversa ou integrada a outros processos.

Neste contexto, o Laboratório de Toxicologia Ambiental (LABTOX), do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina, vem desenvolvendo estudos sobre o preparo de membranas de NF nanoestruturadas juntamente com a avaliação toxicologia dos materiais que a compõem, testando sua eficiência na remoção de contaminantes, como metais pesados, e na dessalinização; este último corresponde ao foco deste trabalho.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver membranas poliméricas nanoestruturadas de baixa toxicidade para rejeição de íons de sais.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Preparar membranas poliméricas de polissulfona (PSF) com nanotubos de SiO₂ puros (NTS) e de quitosana (QTS) com nanotubos de SiO₂ funcionalizados (NTS-F), reticulada com EPC.
- Caracterizar os NTS e NTS-F e as membranas de PSF e QTS por diferentes técnicas;
- Determinar a eficiência da rejeição de íons de sais em sistema piloto de filtração em modo *dead-end*;
- Avaliar a toxicidade dos componentes da membrana com o microcrustáceo de água doce *D. magna* e cultura celular da linhagem Vero.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 DESSALINIZAÇÃO

A dessalinização da água é um processo físico-químico de retirada de sais da água, tornando-a doce, ou potável e pode ser aplicada em águas salgadas ou salobras; este sistema se apresenta como uma das soluções para vencer a crise hídrica que se pronuncia.

Atualmente existem quatro métodos adotados de conversão da água salgada em doce: a osmose reversa (ALGHOUL et al., 2016; ALTAEE, et al., 2016; SUZUKI et al., 2016) onde o processo é feito através de membranas de filtração; a destilação multiestágios (TOKUI et al., 2014), que consiste na evaporação e purificação da água através da passagem por diversas células de ebulição-condensação; a dessalinização térmica (TAMBURINI et al., 2016) onde a água fica armazenada em tanques cobertos por vidro e esta passa por evaporação, geralmente através de aquecimento solar, e condensação no próprio local de armazenamento; e o método por congelamento (GAO et al., 2014), onde a água salgada ou salobra é congelada e os sais nela contidos são separados da água pura.

Existem atualmente 7500 usinas em operação no Golfo Pérsico, Espanha, Malta, Austrália e Caribe, onde 4,8 bilhões de metros cúbicos de água salgada são convertidos em água doce, por ano. No Brasil, o ITA em 1970 e a Petrobrás em 1987, iniciaram programas de dessalinização da água do mar (AMBIENTE BRASIL, 2015). Entretanto, estes programas foram interrompidos e atualmente outros programas estão em andamento. Em Fernando de Noronha e em alguns municípios do Ceará a população já utiliza água dessalinizada para o consumo, porém enfrenta desafios quanto à manutenção e custos gerais do sistema.

Em Barcelona existe a maior estação de dessalinização de água da Europa que abastece 1 milhão de pessoas, porém provocou um aumento na conta dos cidadãos espanhóis em até 70%, mostrando que este sistema necessita de melhorias para que se torne viável. No Brasil o custo da dessalinização é de R\$ 1,65, cinco vezes maior do que o tratamento convencional (R\$

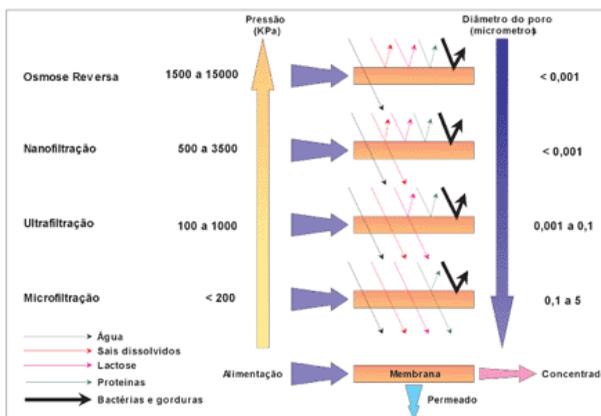
0,33/m³) e com a crise econômica que o país enfrenta, este valor tende a aumentar ainda mais já que houve um aumento na conta de energia elétrica de 51% em 2015.

No que diz respeito ao tratamento avançado de águas residuárias, atualmente o processo de OR oferece a mais fina forma de filtração disponível, com alta rejeição da maioria dos íons dissolvidos. No entanto, com os altos custos gerados por este sistema, devido às altas pressões requeridas, faz-se necessária a adoção de membranas que resultem em índices de rejeição menores e maior permeabilidade, utilizando pressões mais baixas (LI et al.,2008).

4.2 MEMBRANAS DE NANOFILTRAÇÃO

As membranas de NF possuem propriedades entre UF e OR (Figura 1) e, segundo Li et al. (2008) as membranas de NF caracterizam-se pela elevada rejeição de sais polivalentes (99%), moderada rejeição de sais monovalentes (0 a 70%) e alta rejeição de compostos orgânicos com peso molecular superior ao da membrana.

Figura 1. Estratégias de filtração por membranas de acordo com a seleção de contaminantes e pressão requerida para cada tipo de filtração.



Fonte: Adaptado de MIERZWA et al., 2008

Membranas de NF promovem separação de alta eficiência a um baixo gasto energético e atuam por transferência de massa por difusão, permitindo que certas soluções iônicas, predominantemente íons monovalentes com raios iônicos reduzidos e água permeiem através da membrana. No entanto vale ressaltar que íons monovalentes com raios iônicos elevados podem ser retidos eficientemente por membranas de NF. As membranas saturadas de íons podem ser tratadas, então, por retrolavagem, onde soluções adequadas fazem a remoção dos íons e as membranas são reativadas no próprio filtro, proporcionando alta durabilidade da mesma e potencial de aplicação em larga escala. Membranas de NF podem possuir diversas composições (Tabela 1) e suas aplicações podem ser individuais ou combinadas a outro processo de separação.

Tabela 1. Composições de membranas de NF e percentual de rejeição de íons de sais de acordo com as pressões exercidas.

Composições	Sais - % de rejeição	Pressão (kPa)	Referência
QTS/MMT	MgCl ₂ e MgSO ₄ - 30 %; NaCl - 15%	400	Zhu et al. (2015)
PSF/QTS sulfatada	Na ₂ SO ₄ - 90,8%; NaCl - 32,5%	400	Miao et al. (2013)
PHMG/TMC/PSF	Na ₂ SO ₄ ⁻ 50%>MgSO ₄ >MgCl ₂ > NaCl*	800	Li et al. (2014)
PSF/NP - SiO ₂	Na ₂ SO ₄ >MgSO ₄ >MgC I ₂ >NaCl**	600	Jin et al. (2012)
PSF/QTS – NT TiO ₂	NaCl - 46%	300	Kumar et al. (2013)
PSF/PEG - ZnCl ₂	NaCl – 40%; Na ₂ SO ₄ : 52%	690	Panda e De (2014)

*Ordem decrescente de rejeição dos sais, sendo o maior de 50% (Na₂SO₄⁻).

** Ordem decrescente de rejeição dos sais.

Segundo Li et al. (2008) as membranas de NF caracterizam-se pela elevada rejeição de sais polivalentes (99%), moderada rejeição de sais monovalentes (0 a 70%) e alta rejeição de compostos orgânicos com peso molecular superior ao da membrana. A baixa eficiência na remoção de íons monovalentes fez com que o uso das membranas de NF se direcionasse preferencialmente à remoção de íons bivalentes, como Ca^{+2} (SONG et al., 2011), Mg^{+2} (LLENAS et al., 2013) e SO_4^{-2} (VUONG, 2006) e de matéria orgânica natural.

Um dos desafios das membranas de NF é a propensão à incrustação das mesmas, que pode prejudicá-las em relação à durabilidade e eficiência por causar redução no fluxo. Outro desafio no preparo das membranas de NF é conseguir equilibrar o seu caráter hidrofílico com o hidrofóbico. Para isto, existem diferentes métodos de preparação e modificação das propriedades de membranas de NF, como polimerização interfacial (PI), preparação de materiais híbridos, preparação de blendas poliméricas miscíveis e a combinação de duplas ou múltiplas camadas compósitas de materiais (MOHAMMAD et al., 2015).

O método PI consiste na formação de filmes extremamente finos, em média 50 nm, sobre a superfície das membranas que resultam da reação e copolimerização entre dois monômeros e promove uma melhora significativa na eficiência das membranas (MOHAMMAD et al., 2015). A preparação de materiais híbridos consiste na mistura de materiais poliméricos com aditivos inorgânicos ou orgânicos em nanoescala. A técnica de incorporação de nanomateriais (NM) é utilizada para aumentar a permeabilidade da membrana, as propriedades mecânicas, a hidrofiliicidade, as propriedades antimicrobianas e, em alguns casos, a seletividade. Os NM mais utilizados atualmente em membranas de NF são TiO_2 , Ag, ZnO e SiO_2 (MOHAMMAD et al., 2015).

As blendas poliméricas consistem na mistura de pelo menos dois polímeros ou copolímeros sem que haja reação química entre eles, desde que tenham um solvente comum. A preparação de blendas objetiva a melhoria das propriedades físicas, químicas, de processamento e diminuição de custos quando comparadas às propriedades dos polímeros puros. A mistura física de polímeros pode dar origem a um sistema

miscível, o qual é favorecido na presença de interações intermoleculares, resultando em uma mistura homogênea. Entretanto, predominam sistemas imiscíveis, com a formação de duas ou mais fases, cujas propriedades e desempenho das blendas dependem da dispersão dos domínios na matriz e das forças de interação entre eles (ORÉFICE et al., 2004).

Outra técnica para preparar membranas de NF é combinar materiais compósitos na forma de duplas ou múltiplas camadas. Estes materiais podem conter nanoestruturas incorporadas em matrizes poliméricas de naturezas distintas. Sendo assim, membranas com diferentes composições e capacidade de permeação e rejeição vêm sendo desenvolvidas para NF.

4.3 QUITOSANA

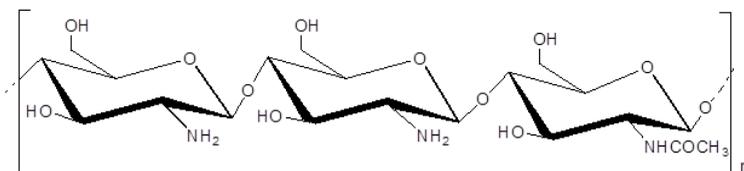
A QTS é um copolímero constituído de unidades de 2-amino- β (1-4)-2-desoxi-D-glicopiranosose e 2-acetamido- β (1-4)-2-desoxi-D-glicopiranosose e é obtido a partir do processo de desacetilação da quitina, um biopolímero encontrado na carapaça de crustáceos e insetos (VICENTINI et al., 2010). O processo de desacetilação da quitina consiste em promover reações de hidrólise do polímero com soluções de hidróxido de sódio concentradas (40 a 50%) a temperaturas elevadas. Esta reação de hidrólise pode remover alguns ou a maior parte dos grupos acetoamida da quitina, que são substituídos por grupos amina, que caracterizará a QTS; quanto maior a substituição de grupos acetoamida por grupos amina, maior será o grau de pureza da QTS.

Uma das principais vantagens da QTS é a sua processabilidade, pois a QTS é solúvel em soluções ácidas, como em ácido acético, cítrico e clorídrico; a quitina por sua vez não é solúvel nesses meios, somente em poucos sistemas de solventes com pH básicos e em temperaturas específicas (CAMPANA-FILHO et al., 2007) limitando sua processabilidade.

A QTS (Figura 2) apresenta características apropriadas para ser aplicada em diversas áreas tecnológicas por ser atóxica, inodora, bactericida, biocompatível e biodegradável (SHENVI et al., 2013). As possibilidades de aplicação são ainda mais enriquecidas pelo fato da QTS poder ser preparada em

diferentes formas, tais como soluções de viscosidade controlada, géis, filmes e membranas, microesferas e nanopartículas (VICENTINI et al., 2010; CAMPANA-FILHO et al., 2007).

Figura 2. Representação da estrutura monomérica da quitosana.



Fonte: Autor.

A solubilidade da QTS em soluções ácidas diluídas se deve à protonação dos grupos amina, os quais são sensíveis a variação de pH e podem formar um gel ou dissolver completamente. Para melhorar as propriedades adsorventes, reduzindo o grau de intumescimento da QTS, são utilizados agentes de entrecruzamento ou reticulantes, tais como epícloridrina (MIAO et al., 2013a), glutaraldeído (SHENVI et al., 2013), hexametileno diisocianato (MIAO et al., 2013), entre outros.

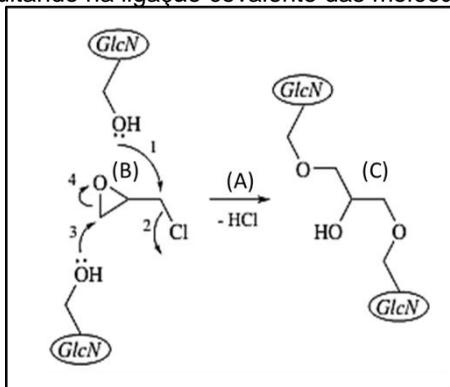
A reticulação é realizada a fim de formar ligações cruzadas através de reações químicas, que promovem ligações covalentes ou iônicas entre os grupos funcionais da QTS e a molécula reticulante. Esta modificação química visa restringir o afastamento das cadeias poliméricas da QTS, ou ainda, ligar suas cadeias às de outros polímeros gerando redes poliméricas. Este processo ocorre através da reação entre sítios ativos específicos da estrutura dos polímeros. No caso da QTS os sítios reativos são os grupos amina (NH) e hidroxila (OH). A reticulação promove o aumento das propriedades mecânicas, redução do grau de intumescimento e elevação da estabilidade dimensional e insolubilidade em soluções ácidas (CHIOU et al., 2004; SHENVI et al., 2013).

A reticulação é influenciada, também, pelo tipo e pela concentração do agente de entrecruzamento envolvido no processo. A elevação do grau de reticulação reduz a porosidade do material, a permeabilidade e será também o fator

determinante na difusão de possíveis substâncias aprisionadas nas redes poliméricas formadas (BEGER, et al. 2004). Os agentes de reticulação podem reagir com os dois grupos funcionais da QTS (NH_2 e OH) ou apresentar afinidade preferencial por um destes grupos, deixando outro livre, o que pode ser determinante na eficiência de retenção dos íons.

A epícloridrina (EPC) é um reticulante cujo agente ligante é o grupo OH . O processo se inicia com a eliminação do haleto e, posteriormente, com a abertura do epóxido, um anel formado por três átomos de um éter cíclico, forma o entrecruzamento através de ligações covalentes entre as moléculas de QTS, conforme mostrado na Figura 3 (GONSALVES e ARAUJO, 2011). Desta maneira, quando a QTS é reticulada com este agente, o sítio reativo livre da QTS é o grupo NH .

Figura 3. Esquema ilustrativo da reação de reticulação da QTS com EPC onde ocorre a liberação do haleto (A) seguido da abertura do epóxido (B), resultando na ligação covalente das moléculas de QTS (C).



Fonte: Adaptado de Gonsalves e Araujo (2011).

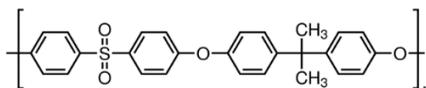
A QTS apresenta baixa estabilidade mecânica para suportar as pressões de NF, dificultando o seu uso em larga escala. Esta desvantagem pode ser evitada adicionando outros materiais à membrana ou suportando a QTS como camada ativa em um substrato poroso que servirá como sustentação. Desta maneira a camada ativa da QTS promove a seletividade necessária e melhora a permeabilidade da membrana, enquanto o substrato poroso fornece a resistência mecânica necessária. São inúmeros os materiais polímeros que vem sendo utilizados

como potenciais suportes de membranas para QTS e derivados de QTS modificadas, são eles: polissulfona, polietersulfona, poliuretano, poliacrilonitrila, e polivinildifluoreto (PADAKI et al., 2012; YULIWATI e ISMAIL, 2011).

4.4 POLISSULFONA

A polissulfona (PSF) é um dos materiais mais aplicáveis na produção de vários tipos de membranas. Trata-se de um polímero sintético, predominantemente amorfo, que possui características como solubilidade em uma grande variedade de solventes polares apróticos, resistência térmica elevada ($T_g \sim 185 \text{ }^\circ\text{C}$), resistência química em toda a gama de pH, resistência em meio oxidante (hipoclorito de 5 - 7%, de peróxido de hidrogênio a 3 - 5%) e elevada resistência mecânica (SINHA e PURKAIT, 2015). Esta resistência mecânica se deve à presença de anéis aromáticos na sua cadeia principal que promovem equilíbrio estrutural e químico, aumentando a estabilidade dimensional e sua rigidez (Figura 4).

Figura 4. Representação da estrutura monomérica da polissulfona.



Fonte: adaptado do sítio

<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/428302?lang=pt®ion=BR> (2016).

Membranas de PSF geralmente são utilizadas para microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF), ou para separação de gases. Porém, devido às ótimas características mecânicas da PSF, esta se tornou um excelente material para o uso como suporte poroso para membranas de OR e de NF (WANG et al., 2011). O método de inversão de fase por precipitação é mais utilizada na preparação de membranas de PSF (KUMAR et al., 2013; SINHA e PURKAIT, 2015; ROUX et al., 2012), no entanto a variabilidade na solubilidade da PSF permite a co-dissolução de outros polímeros para fabricar membranas pelo método de

blendas poliméricas (KUMAR et al., 2013; SINHA e PURKAIT, 2015).

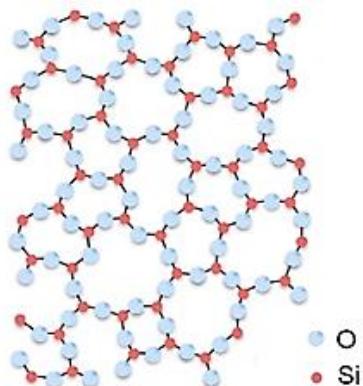
A elevada hidrofobicidade das membranas de PSF favorece a deposição e adsorção de *fouling* na superfície e nos poros das membranas, o que pode reduzir o fluxo e diminuir a vida útil da membrana (MULDER, 1996; SU et al., 2008). A propriedade anti *fouling* da membrana de PSF pode ser induzida através do aumento da hidrofiliabilidade, por meio de modificações químicas ou adição de NM inorgânicos, que apresentam maior área superficial específica e que podem conferir às membranas novas propriedades, aumentando assim sua eficiência de NF (KUMAR et al., 2013).

4.5 NANOESTRUTURAS DE DIÓXIDO DE SILÍCIO

O SiO_2 (Figura 5), ou sílica, é um dos óxidos mais abundantes da natureza e constitui cerca de 90% da areia. O SiO_2 é amplamente utilizado em diferentes campos da indústria, como embalagens, cerâmicas, veículo de fármacos, cosméticos, biosensores e para o tratamento de câncer (MASJEDI-ARANI et al., 2016). O SiO_2 é considerado quimicamente inerte, transparente, resistente à ataques microbianos, mecanicamente resistente e termicamente estável (MEUNIER et al., 2010; PERULLINI et al., 2014). Pode ser encontrado em muitos organismos vivos, incluindo diatomáceas, bactérias e plantas (PERULLINI et al., 2014). O SiO_2 pode ser amorfo ou cristalino, poroso ou não poroso (denso), anidro ou hidroxilado, de origem natural ou sintético. A maior parte do SiO_2 sintético utilizado em aplicações industriais são amorfos (NAPIERSKA et al., 2010).

Os NM de SiO_2 podem ser produzido por via úmida (coloidal sol, gel ou precipitado SiO_2) ou síntese pirolítica (SiO_2 coloidal pirogenada) (FRUIJTIER-PÓLLOTH, 2012; MASER et al., 2015; NAPIERSKA et al., 2010). NM de SiO_2 podem ser produzidos de formas variadas, tais como nanopartículas (NP), nanotubos (NT), nanobastões (NB) ou ainda como revestimentos do tipo *core-shell* (CS), entre outras.

Figura 5. Representação da estrutura atômica-molecular do SiO₂ amorfo.



Fonte: adaptado do sítio <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Silica.svg> (2016).

Nanoestruturas de SiO₂, geralmente amorfas (FRUIJTIER-PÖLLOTH, 2012) e em diferentes morfologias (NT, NP, nanobastão), são bastante utilizadas em produtos industriais como tintas, cosméticos, fármacos, polímeros, entre outros. São também consideradas promissoras ferramentas para o desenvolvimento de membranas de NF por ser um material de menor custo comparado a outros materiais em nanoescala, como Al₂O₃ e TiO₂ (JIN et al., 2012). A adição de NM em membranas de NF, incluindo de SiO₂, objetiva melhorar suas propriedades, como o equilíbrio da hidrofiliicidade e diminuição da incrustação, melhorando o fluxo de permeação (LUO et al., 2005). No trabalho de Jin et al. (2012) foi preparada uma membrana com uma camada fina de poliamida amina (PA) e SiO₂ sobre um suporte de PSF, que elevou a estabilidade térmica e hidrofiliicidade, além de melhorar as propriedades de permeação da membrana sem perder sua eficiência de filtração. Esta membrana demonstrou-se eficiente na separação de solução salina contendo ânions bivalentes.

No estudo proposto por Shen et al. (2011) foram preparadas membranas de NF compostas por polietersulfona (PES)/SiO₂ para uso no tratamento de água bruta. Foi constatado que a adição de SiO₂ não afetou a estrutura da membrana e a

hidrofilicidade e capacidade anti-incrustação aumentaram. Atualmente não existem trabalhos na literatura com membranas de NF estruturadas com SiO_2 com morfologia de NTS ou NTS-F, somente NP. Os NT são especialmente interessantes devido à morfologia de cavidade oca contendo poucas dezenas de nanômetros.

Quanto à toxicidade, a sílica, quando em sua forma cristalina, pode ser prejudicial se for inalada de forma pulverizada, principalmente durante longas exposições (VUPPUTURI et al., 2012). Esta exposição pode resultar em silicose, uma inflamação pulmonar (FILHO e SANTOS, 2006) e também em doenças renais (VUPPUTURI et al., 2012). Entretanto, a forma amorfa do SiO_2 apresenta baixa toxicidade quando comparada à forma cristalina do material (NAPIERSKA et al., 2010). A diferença na toxicidade se deve ao fato de que, após sua absorção, a sílica amorfa será excretada pelos rins sem acumulação no organismo, ao contrário da forma cristalina que comumente é acumulado nos pulmões e gânglios linfáticos (FRUIJTIER-PÖLLOTH, 2012). Entretanto é importante a investigação dos impactos ambientais e à saúde humana, devido à crescente aplicação em diversos setores da indústria, requerendo grande demanda de produção e, conseqüentemente, ampliando a exposição ocupacional, a qual vem sendo alvo constante de estudos toxicológicos (MASER et al., 2015).

Na pesquisa de Lee et al., (2009), foram observados os efeitos da exposição de NP de SiO_2 de tamanhos diferentes, com 7 e 10 nm e área superficial de 349,71 e 644,44 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$, respectivamente, no microcrustáceo de água doce *D. magna*. No estudo, os autores constataram que não houve efeito na integridade do DNA (ensaio Cometa), nem nos parâmetros de crescimento e reprodução em testes com uma única concentração de 1 mg L^{-1} em 96 horas de exposição. Entretanto, os resultados são inconclusivos, devido à única concentração testada, que não é suficiente para estabelecer uma relação entre a concentração e a toxicidade.

Já no estudo de Brown et al. (2007), foi comparada a toxicidade de nanopartículas e nanobastões de sílica amorfa em células pulmonares humanas, com e sem revestimento de fibronectina ou polietilenoglicol. Os NM de sílica sem revestimento induziram um aumento na produção de interleucina-

8 (IL-8), uma resposta imune natural das células, e liberação de lactato desidrogenase (LDH), que é liberado para o meio extracelular quando há apoptose ou perda da integridade celular. Com o revestimento, no entanto, não houve toxicidade, sugerindo que a modificação das superfícies dos NM mitigaram os efeitos tóxicos.

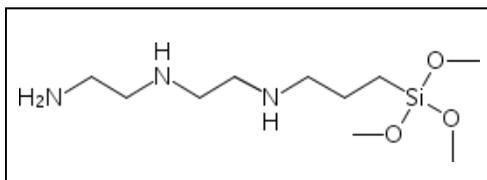
No trabalho desenvolvido por Maser et al. (2015) foi constatada genotoxicidade de NM de SiO₂ em diferentes tamanhos em altas concentrações, causando efeitos tóxicos em células pulmonares de ratos *in vitro* e *in vivo*. No estudo de Napierska et al. (2010), foi realizado uma revisão sobre a toxicidade de NM de SiO₂ cristalina e amorfa. No caso da amorfa, foi constatada toxicidade *in vitro* de NP de SiO₂ e, em alguns casos, foi reportada sua internalização celular, aumentando os níveis de espécies reativas de oxigênio (ROS) e estímulo pré-inflamatório. Entretanto, segundo Li et al. (2011), esta internalização das NP ocorre sem afetar as células.

4.6 FUNCIONALIZAÇÃO

A técnica de ancorar moléculas específicas na superfície dos NM, também denominada funcionalização, permite modificar as propriedades das nanoestruturas, como, por exemplo, alterar a carga superficial da partícula (BHATTACHARJEE et al., 2013). No trabalho de Ko et al., (2013) moléculas contendo grupos funcionais aminas foram aplicadas para NF e captura de CO₂ e foi constatado um aumento na adsorção de íons Cu⁺².

A reação de funcionalização dos NTS com a molécula aminosilano de procedência comercial, 3-[2-(2-aminoetiamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano, mostrada na Figura 6, (KO et al., 2013), permite elevar a capacidade de adsorção de íons devido a presença de três grupos aminas, sendo um primário e dois secundários. A funcionalização não compromete o desempenho das funções do substrato nanométrico, seja ela antincrustante ou biocida.

Figura 6. Representação da estrutura molecular aminosilano 3-[2-(2-aminoetilamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano.



Fonte: adaptado do sítio

http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB8443944_EN.htm (2016).

Quanto a toxicidade, foi relatado por Clément et al. (2013) que, comparando NP de SiO₂ e NP de SiO₂ funcionalizada com molécula 3-(aminopropil)trimetóxisilano a toxicidade da versão funcionalizada foi menor do que a da versão pura para *D.magna* e *Phaeodactylum tricornutum*. Entretanto, a toxicidade varia de acordo com a molécula funcionalizante empregada (MONTES-FONSECA et al., 2012), pois, em certos casos, pode ocorrer uma potencialização da toxicidade para o material funcionalizado (LIU et al., 2008).

No caso da molécula utilizada por Clément et al. (2013), foi relatado por Ko et al. (2013) que esta possui um tamanho aproximado de 0,9 nm, já a molécula utilizada no presente trabalho possui um tamanho estimado de 1,7 nm, portanto, esta última possui uma região hidrofílica maior, que pode resultar numa maior afinidade com os organismos-teste, sendo este um fator determinante na hora de avaliar a toxicidade. Ainda não há relatos na literatura sobre a toxicidade da molécula aminosilano ou 3-[2-(2-aminoetilamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano, que foi utilizada neste trabalho.

4.7 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE NANOMATERIAIS

Para uma pesquisa com nanomateriais é necessário o estudo de sua morfologia, tamanho, comportamento em suspensão, etc. Em um estudo toxicológico, o conhecimento das características dos NM é essencial para uma melhor compreensão dos efeitos nocivos desses materiais. Dentre as

técnicas existentes para a caracterização de NM, as principais são as seguintes:

Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR): Nesta técnica a radiação no infravermelho incide sobre a amostra a ser analisada e a radiação transmitida é, então, comparada àquela transmitida na ausência de amostra. O espectrômetro registra o resultado na forma de uma banda de absorção. Esta técnica fornece evidências da presença de vários grupos funcionais na estrutura orgânica devido à interação das moléculas ou átomos com a radiação eletromagnética em um processo de vibração molecular.

Área Superficial Específica – Método BET: Este método de caracterização é um parâmetro importante a ser relacionado com a toxicologia de NM, pois a toxicidade, em muitos casos, depende da área disponível dos NM para reagir ou liberar íons. O método mais utilizado é o BET, nomeado assim por seus criadores Brunauer, Emmet e Teller (BRUNAUER et al., 1938). Trata-se da adsorção física de um gás inerte (por exemplo, o nitrogênio - N₂) a baixas temperaturas e, então, os dados gerados são aplicados em fórmulas do próprio procedimento BET.

Potencial Zeta (PZ): O PZ é o potencial elétrico no plano hidrodinâmico de cisalhamento; ele é dependente da superfície da partícula e do pH do dispersante (ORTEGA et al., 1997; METCALF e EDDY, 2003). Esta caracterização é importante por medir a estabilidade dos NM quando em suspensão. Uma suspensão com baixa sedimentação corresponde a uma suspensão estável, sendo que, para isto, os NM devem possuir PZ absoluto maior que 30 mV (MURDOCK et al., 2008).

Difração de Raio-X (DRX): A técnica de DRX é uma das mais utilizadas para determinar se a estrutura interna de um material é cristalina, semicristalina ou amorfa (SCAPIN, 2003; MEDEIROS, 2007, COSTA et al., 2009). No caso de materiais cristalinos, os difratogramas resultam em picos estreitos que permitem a comparação e identificação com o banco de dados internacional para determinar a fase ou fases cristalinas presentes. Os

materiais amorfos não possuem estrutura cristalina e seus difratogramas resultam em picos com bases largas.

Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET): O MET é um método de microscopia eletrônica capaz de exibir imagens a uma resolução bastante maior, quando comparados a microscópios ópticos. Isso se deve ao fato de que a técnica utilizada envolve um feixe de elétrons, com um curto comprimento de onda, que é emitido em direção à amostra e passa por um conjunto de lentes eletromagnéticas que estão localizadas dentro de uma câmara a vácuo. Estes elétrons interagem com a amostra e formam uma imagem que é ampliada e focada em um aumento de 1.000 a 300.000 vezes o tamanho original (REIMER, 1997).

4.8 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE MEMBRANAS

Grau de Intumescimento e Molhabilidade: Trata-se de uma técnica para constatar a capacidade de retenção de água das membranas. No caso da QTS, que é hidrofílica, ocorre um intumescimento da membrana, ou seja, a água retida penetra entre as cadeias poliméricas afastando-as, alterando a estabilidade dimensional. No caso da PSF, que é hidrofóbica, a água fica inserida em seus poros, porém sem alterar suas dimensões e aparência.

Ângulo de Contato: Esta caracterização é uma das mais utilizadas para a determinação da hidrofilicidade de uma membrana. O ângulo de contato corresponde à medida do ângulo (θ) formado entre uma superfície e uma tangente traçada de acordo com a tensão superficial da gota de água formada na superfície (Figura 7). Esta gota é, então, avaliada de acordo com seu formato resultante: completamente molhada, parcialmente molhada ou não-molhada, conforme a Figura 8.

Figura 7: Representação da mensuração do ângulo de contato (θ) em membranas.

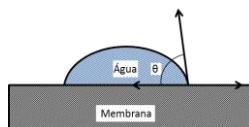
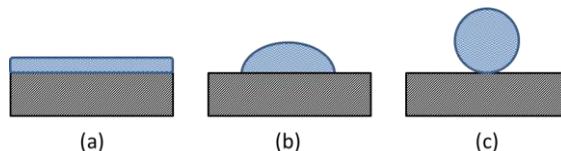


Figura 8: Representação dos principais tipos de molhabilidade de membranas: (a) completamente molhada (hidrofílica), (b) parcialmente molhada, (c) não-molhada (hidrofóbica).



Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG): A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é realizada através de um microscópio capaz de produzir imagens de alta resolução e ampliação (até 300.000 x). As imagens fornecidas pelo MEV são de caráter virtual, ou seja, correspondem à visualização da energia emitida por elétrons. Para uma maior resolução e visualização das estruturas do material analisado, utilizam-se canhões de elétrons por emissão de campo (FEG) que produzem feixes de alta corrente com diâmetros de 5-10 nm. Com o canhão de FEG as imagens obtidas são de resolução extremamente alta (até 650.000 x), que são muito utilizadas para a caracterização de materiais, inclusive membranas porosas onde é possível visualizar os poros e permitir a definição dos seus diâmetros com imagens tridimensionais.

Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS): Para a obtenção da estequiometria dos materiais é utilizada a espectroscopia por energia dispersiva (EDS - energy-dispersive spectroscopy). Nesta caracterização os raios-X são distribuídos no espectro por ordem energética, geralmente do menor número atômico (baixa energia) para o maior (alta energia) (MALISKA, 2003). A EDS vem acoplada ao MEV e, a partir das informações contidas no espectro de raios-X, é possível obter informações qualitativas e quantitativas da composição da amostra em escala microscópica.

Microscopia de Força Atômica (AFM): Para um estudo sobre membranas com dupla camada, é importante conhecer a topografia de suas superfícies, para averiguar sua compatibilidade física. Para isto é comumente utilizado um microscópio de força atômica (AFM) onde são gerados mapas

topográficos. O AFM consiste, basicamente, em uma alavanca (cantilever) com uma ponta (tip), um fotodetector, um laser e um scanner. A tip varre a amostra, que está sobre o scanner que faz movimentos nas direções XYZ, rente à superfície, guiada pelo cantilever. O feixe do laser é ajustado para incidir na extremidade livre superior do cantilever e refletido para o fotodetector que registra essas variações e são enviados para um computador em forma de imagens, os mapas topográficos (SALVADOR, 2011). Para medidas em materiais macios como polímeros, o AFM geralmente é operado no modo tapping.

Ensaio de Permeabilidade: O ensaio de permeabilidade de uma membrana é importante para determinar seu comportamento quanto ao fluxo permeado de acordo com a pressão exercida. Este ensaio consiste em avaliar diversas pressões, em ordem crescente, com água de osmose reversa onde são fornecidas informações de porosidade e hidrofiliicidade da membrana; estes parâmetros são definidos, também, de acordo com o tempo.

4.9 TOXICOLOGIA AMBIENTAL

A toxicologia ambiental é definida como o estudo dos efeitos que certas substâncias podem causar a organismos vivos, objetivando identificar e determinar sob quais circunstâncias a exposição pode ser um risco (JAMES et al., 2000). Ao sanar estas questões é possível estabelecer limites de lançamento dos poluentes no meio ambiente (CHASIN e PEDROZO, 2003; KNIE e LOPES, 2004; MATIAS e CREPPY, 1996).

A toxicologia é considerada uma ciência multidisciplinar, abrangendo uma vasta área de conhecimento como química, biologia, bioquímica, ecologia, medicina, farmacologia, fisiologia, genética, etc. (YU, 2005). A relação da toxicologia com estas diversas áreas de conhecimento permite, em diversos casos, que seja possível prevenir, diagnosticar e tratar os possíveis efeitos de uma substância no meio ambiente.

Com o rápido desenvolvimento industrial e tecnológico no século XX, surgiram também acidentes e poluição ambiental que fizeram necessários estudos toxicológicos envolvendo populações e comunidades biológicas e suas interações. Este

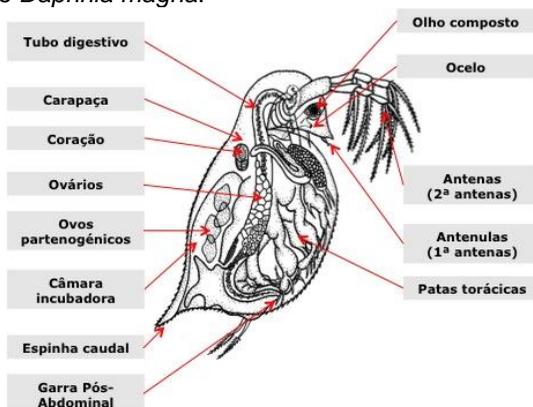
tipo de estudo foi denominado Ecotoxicologia, onde os efeitos deletérios de poluentes são relacionados a ecossistemas, incluindo o homem, considerando a degradação, bioacumulação e bioamplificação dessas substâncias (MATIAS e CREPPY, 1996).

Um dos estudos mais comumente utilizados é o de toxicidade para organismos aquáticos, pois o ecossistema aquático é o receptor final de qualquer tipo de poluição, aquática, atmosférica ou de solo (MATIAS, 2014).

4.9.1 Organismo – teste: *Daphnia magna*

A toxicologia ambiental utiliza diversos organismos-teste para a avaliação de toxicidade. Para a escolha do organismo ideal, leva-se em consideração a seletividade de contaminantes, disponibilidade do organismo, a uniformidade e estabilidade genética nas populações, representatividade de seu nível trófico, facilidade de cultivo e o curto ciclo de vida (RAND et al., 1995). Para a seleção do organismo-teste, leva-se em consideração também fisiologia, comportamento e genética bem conhecidos, a fim de que a interpretação dos dados seja mais fácil e para concluir sua veracidade (COSTA et al., 2008). Com estas características o microcrustáceo de água doce *Daphnia magna* (Figura 9) preenche estes requisitos.

Figura 9: Representação da estrutura morfológica do microcrustáceo de água doce *Daphnia magna*.



Fonte: adaptado do sítio www.7daphnia.blogs.sapo.pt/ (2016).

As ótimas características conhecidas da *D. magna* para testes de toxicidade incluem ciclo de vida curto, são facilmente cultivados em laboratório, possuem alta sensibilidade à inúmeros contaminantes e necessitam de menores volumes de amostras para testes devido ao seu pequeno tamanho, ao contrário de outras espécies (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1998).

A *D. magna* possui um comprimento médio de 0,5 mm em sua fase juvenil e 5 mm em sua fase adulta (KNIE e LOPES, 2004). Como mostrado na Figura 7, a morfologia deste organismo consiste na presença de dois pares de antenas na cabeça; um par serve para locomoção e o outro tem função sensorial. Seu corpo possui uma carapaça transparente envolvendo toda sua superfície e possui também um espinho apical (FINKLER, 2002).

As águas em que vivem devem possuir uma dureza acima de 150 mg L^{-1} (CaCO_3), pH entre 6,5 e 9,5 (pH ótimo entre 7,2 e 8,5) e com oxigênio dissolvido até 4 mg L^{-1} (USEPA, 2002). A filtração de algas unicelulares garante sua principal fonte de alimentação (KNIE e LOPES, 2004). A reprodução da *D. magna*, quando em condições ambientais favoráveis, é através de partenogênese onde são geradas apenas fêmeas (ALVES e SILVANO, 2006) idênticas às originais, garantindo a padronização dos resultados. Quando em ambiente desfavorável, há uma tendência do aparecimento de ovos sexuados, os efípios, induzidos através do acúmulo de produtos excretórios (CIIMAR, 2015).

A *D. magna* pode ser utilizada para determinar a toxicidade aguda e crônica de inúmeros contaminantes, onde os organismos são expostos a diversas concentrações da substância desejada e são constatados seus possíveis efeitos como imobilidade, morte, alterações físicas e funcionais, entre outros (MATIAS, 2014).

4.9.2 Teste de Toxicidade Aguda

A toxicidade aguda é definida pela ocorrência de efeitos adversos sobre um organismo-teste em um curto espaço de tempo, através da exposição de uma única dose de um agente

nocivo em diferentes diluições. Segundo Matias (2014) a duração do teste pode variar, geralmente, entre 24 e 96 horas e o efeito observado é a imobilidade dos organismos.

Os resultados do teste de toxicidade aguda geralmente são expressos em concentração efetiva (CE_{50}) que corresponde à concentração que causa efeito agudo em 50% da população exposta (COSTA et al., 2008; MATIAS, 2014). Os efeitos observados neste teste são geralmente relacionados à letalidade ou à inibição de movimento que, de acordo com a NBR 12713 (ABNT, 2009), são determinados a partir da incapacidade do organismo de nadar na coluna d'água após um estímulo do recipiente em até 15 segundos.

4.9.3 Teste de Toxicidade Crônica

A toxicidade crônica é observada após um longo período de exposição dos organismos-teste a um agente nocivo. O tempo de exposição compreende todo ou parte do ciclo de vida do organismo, onde este sofre uma exposição sub-letal contínua à substância testada. Os principais parâmetros observados após o término do teste são alterações nas atividades respiratórias, na morfologia, na reprodução e no crescimento, não necessariamente causando a morte do organismo (AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Os resultados dos testes são expressos em concentração de efeito observado (CEO), que é a menor concentração do agente testado a causar efeitos sobre os organismos, e a concentração de efeito não observado (CENO), que é a maior concentração a não causar efeitos sobre os organismos (MATIAS, 2014; COSTA et al., 2008).

O teste crônico é um importante complemento ao teste agudo, pois a ausência de toxicidade aguda não indica necessariamente a ausência de efeitos deletérios sobre os organismos. A Resolução CONAMA nº 430 (BRASIL, 2011) exige a realização de testes crônicos para a classificação dos corpos hídricos, apesar de não haver uma norma brasileira para a orientação dos testes; estes são conduzidos a partir do protocolo da ISO 10706 (ISO, 2000) e da OECD 211 (OECD, 2012).

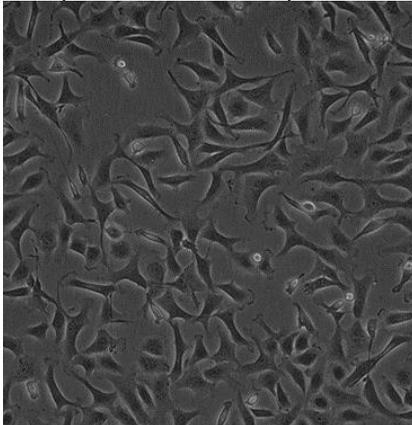
4.10 CITOTOXICIDADE: ENSAIOS *IN VITRO*

4.10.1 Linhagem Celular Vero

A técnica de cultivo de células é uma importante ferramenta de pesquisa em diversas áreas como, por exemplo, toxicologia. Esta alternativa é interessante pelo fato de que o comportamento das células é observado no local de cultivo em condições controladas, o que torna esta prática mais favorável para pesquisas. Os primeiros cultivos de células foram realizados por Harrison, em 1907 e depois por Carrel, em 1912 (FRESHNEY, 2005).

As linhagens de células Vero, cujo modelo foi estabelecido por Y. Yasumura e Y. Kawakita da Universidade de Chiba, Japão, em 1962, consistem em fibroblastos de rim de macaco verde africano (*Cercopithecus aethiops*) e são amplamente utilizadas em testes toxicológicos por serem análogos a células humanas e por seu fácil cultivo (LIAO et al., 2010). De acordo com o British Standard 6920-2.5:2000, células Vero possuem uma morfologia triangular (Figura 10), quando saudáveis, e, em alguns casos, levemente arredondadas quando contaminadas.

Figura 10: Visualização de células Vero por microscopia.



Fonte: adaptado do sítio <<https://www.atcc.org/Products/All/CCL-81.5.aspx#characteristics>> (2016).

4.10.2 Ensaio do MTT: Determinação da CE₅₀

O ensaio do MTT é um método colorimétrico que consiste em expor as células previamente contaminadas, ao sal brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2,5-difeniltetrazólio), o MTT, que será transformado pelas células viáveis, de cor amarela, em cristais de formazan, de cor violeta. Isso acontece porque as células viáveis possuem em sua mitocôndria uma enzima ativa chamada succinato desidrogenase, uma enzima do ciclo de Krebs que faz a conversão do MTT em cristais de formazan. Esta conversão só é possível em células viáveis, indicando atividade mitocondrial e, consequentemente, viabilidade celular (WAN et al., 1994).

A quantidade de cristais de formazan presentes é avaliada por espectrofotometria e é diretamente proporcional a atividade mitocondrial e viabilidade celular (MOSMANN, 1983, WAN et al., 1994).

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAIS

Para a preparação dos materiais e testes envolvidos na realização deste trabalho, foram utilizados os materiais listados na Tabela 2.

Tabela 2: Lista de todos os materiais utilizados nos procedimentos experimentais do trabalho.

Material	Especificações	Procedência
Polissulfona (PSF)	Massa molar média de $2,2 \times 10^4$ g mol ⁻¹	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
N-metil-2-pirrolidona (NMP)	Massa molar 99,13 g mol ⁻¹ e pureza 99,5%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Ácido acético glacial	Pureza 99,7%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Ortosilicato de tetraetila (TEOS)	Pureza 99.999%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Tolueno	Pureza 99,8%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Epicloridrina (EPC)	Pureza 99%	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
3-[2-(2-aminoetiamino) propil-trimetoxisilano	-	Acros, New Jersey, USA
NTS e NTS-F	Registrados no pedido de patente número: BR 1020150031319	LABTOX, UFSC
NaOH	Pureza 97%	Lafan, São Paulo, Brasil
Etanol	Pureza 99,5%	Synth, Diadema/SP, Brasil
Quitosana (QTS)	Grau de desacetilação de 90% e massa molar média de $1,2 \times 10^5$ g mol ⁻¹	Golden Shell, China.

Gás nitrogênio (N ₂)	Pureza >90%	White Martins, Rio de Janeiro, Brasil.
Brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio - MTT	-	Fluka
Cloreto de Magnésio - MgCl ₂	Pureza 98%	CAQ, Diadema/SP, Brasil.
Cloreto de Sódio - NaCl	Pureza 99%	VETEC, Duque de Caxias, RJ, Brasil
Dicromato de Potássio - K ₂ Cr ₂ O ₇	Pureza 99%	F. Maia, Cotia, SP, Brasil
RPMI 1640	-	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Soro fetal bovino (SBF)	-	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
L-glutamina (200 mM)	-	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Penicilina (50 U mL ⁻¹) e estreptomicina (50 µg mL ⁻¹)	-	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Dimetil- sulfóxido (DMSO).	-	Sigma Aldrich, St. Louis, USA
Água de osmose reversa (OR)	RO0420 – 20 L h ⁻¹	Permutation, Paraná, Brasil

5.2 PREPARAÇÃO DAS MEMBRANAS

5.2.1 Membrana de Polissulfona (PSF)

A membrana de PSF foi preparada pelo método de evaporação de solvente seguida por inversão de fases por precipitação. Foi adicionado 1% em massa de NTS a N-metil-2-pirrolidona (NMP) e sonicado por 2 minutos a 165 W. Em seguida, foi adicionado 99% em massa de PSF e a suspensão foi mantida sob agitação por 24 h a 50 °C. Após completa solubilização, a solução foi vertida em uma placa de vidro e espalhada com a ajuda de um bastão de vidro. Após 40 minutos, a placa foi imersa em água para a precipitação e destacamento

da placa de vidro. A membrana foi deixada de molho por 15 minutos. Posteriormente, a membrana foi lavada com sucessivas trocas de água para remoção do excesso de solvente. Por fim, a membrana foi imersa em etanol por 15 minutos e depois armazenada em água até seu uso.

5.2.2 Membrana de Quitosana (QTS)

Para a camada de QTS, foi utilizado o método de evaporação de solvente que consistiu em dissolver 98,5% em massa de QTS em 99% de água e submeter a solução à sonicação por 2 minutos a 165 W. Depois, a suspensão foi solubilizada em um agitador magnético por 30 minutos e, então, foi adicionado 1% ácido acético concentrado (v/v). A solução polimérica foi mantida sob agitação por 30 min, até sua completa solubilização. Em seguida, foi adicionado 1,5% (m/m) de NTS-F à QTS solubilizada e a solução foi sonicada por 2 min. Posteriormente, a dispersão polimérica foi vertida em placas de petri de poliestireno com a massa fixa em 3,0 g de solução polimérica (6 cm de diâmetro) onde foram secas a temperatura ambiente até a completa evaporação do solvente.

Depois de seca, a membrana de QTS foi imersa em uma solução 1 M de NaOH por 30 minutos para a neutralização dos grupos aminas, para poder, então, realizar reações de reticulação por ligações covalentes. Em seguida, a membrana foi submetida a sucessivas lavagens para remoção do excesso de NaOH. A última etapa de preparação consistiu em reticular a QTS com reticulante, epicloridrina (EPC). Para isto a membrana foi imersa em uma solução de 0,04 M de EPC com 0,067 M de NaOH a 40 °C por 1 h. Por fim, após a reticulação, as membranas foram lavadas em água para remover o excesso dos reagentes e foram mantidas em água até seu uso para impedir a formação de cristais.

5.3 METODOLOGIAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS NTS

Os NTS e NTS-F foram caracterizados pelas seguintes técnicas de caracterizações: espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), área superficial específica

(método BET), potencial zeta (PZ), difração de raio-X (DRX) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

5.3.1 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR foi realizada na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC. O equipamento utilizado foi o Spectroscopy Bruker FT-IR alfa. Na preparação das amostras, estas foram misturadas ao sal KBr e depois prensadas para formar pastilhas, que foram analisadas no equipamento no intervalo de comprimento de onda de 4000 a 400 cm^{-1} . Com esta análise foi possível verificar a funcionalização dos NTS-F devido ao aparecimento das bandas típicas de grupos funcionais presentes na molécula funcionalizante

5.3.2 Área Superficial Específica – Método BET

A análise de BET foi realizada no Departamento de Engenharia Metalúrgica e de Materiais da Universidade Federal de Minas Gerais–UFMG, com o equipamento Quantachrome Instrument, modelo Nova-BET 1200 E.

As amostras de NTS foram preparadas a 150 °C por 1 hora e os NTS-F foram preparados a 100 °C, devido ao ponto de fusão da molécula funcionalizante ser entre 114 e 118 °C, também por 1 hora; ambas sob vácuo no próprio equipamento.

Na análise o gás nitrogênio (N_2) passou sobre a superfície das amostras previamente resfriada à temperatura do nitrogênio líquido (-196 °C), sob pressões de até 2 atm e, assim, o gás formou uma monocamada sobre a superfície dos NT. Os resultados foram calculados pelo software do equipamento através da equação BET.

5.3.3 Potencial Zeta (PZ)

A análise de PZ foi realizada no LABTOX através do equipamento Nanobrook 90Plus PALS (Brookhaven, New York, USA). A preparação das amostras consistiu em suspender 1 g L^{-1} de NM em água de OR e sonicar em ultrassom a 165 W por 2

minutos. Para as medidas, as soluções foram diluídas para 250 mg L⁻¹ e adicionadas em cubetas para as análises.

5.3.4 Difração de Raio-X (DRX)

A análise de DRX foi realizada no Laboratório de Caracterização Microestrutural – LCM, do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC. As amostras de NTS e NTS-F foram analisadas em um difratômetro de raios-X da marca Philips, modelo X'Pert. O ângulo de difração utilizado 2θ foi registrado entre 20 a 60° em temperatura ambiente e foi utilizado um tubo de cobre, CuK α , com $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$, como fonte de raios-X.

5.3.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As imagens de MET dos NT foram obtidas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica – LCME da UFSC através do microscópio JEM-1011 TEM (JEOL Ltd., Tokyo, Japan, 100kV). Para o preparo das amostras os NT foram suspensos em água de OR e depois ultrassonicados a 165 W por 2 minutos. As amostras foram, então, gotejadas sobre *grids* de cobre revestidos de carbono, que foram analisados no MET.

5.4 METODOLOGIAS DE CARACTERIZAÇÃO DAS MEMBRANAS

As membranas, de PSF e QTS, passaram pelas seguintes caracterizações: grau de molhabilidade (PSF) e intumescimento (QTS), ângulo de contato, FEG, EDS, AFM e permeabilidade.

5.4.1 Grau de Intumescimento e Molhabilidade

Para a QTS foi determinado o grau de intumescimento (GI%) através da Equação 1, onde a membrana seca, previamente pesada (M_s), foi imersa em água de OR por 24 h a temperatura de 20 °C. Depois, a membrana molhada foi pesada

novamente (Mm). Para a membrana de PSF foi usada a mesma equação para determinar o grau de molhabilidade (GM%).

$$\text{Molhabilidade/Intumescimento (\%)} = \frac{Mm - Ms}{Ms} \times 100 \quad (1)$$

5.4.2 Ângulo de Contato

O ângulo de contato foi determinado a partir da técnica da gota sésil. Esta avaliação foi realizada no Laboratório de Materiais Vitrocerâmicos (Vitrocer) do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC.

As membranas foram recortadas em pequenos quadrados (2 cm²) e foi colocado sobre elas uma gota de água de OR, para serem analisadas em um dilatômetro óptico (Expert System Solution, Misura ODHT). O equipamento fornece, então, o ângulo externo, formado entre a membrana e a gota; este valor é subtraído de 180°, valor do ângulo total da superfície da membrana, resultando, assim, no ângulo interno, ou seja, o ângulo de contato. Foram feitas 40 medidas em 40 segundos (uma medida por segundo) e, então, foi feita a média das mesmas.

5.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)

As análises de MEV-FEG da superfície e da secção transversal das membranas de PSF e QTS foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME) da UFSC através do microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-6701F. Os *stubs* foram preparados através da colagem das membranas com fita adesiva de dupla face; para os cortes transversais, as membranas, cortadas com bisturi, foram igualmente coladas, porém na lateral do *stub*, para posterior análise no MEV-FEG.

5.4.4 Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)

As análises de EDS foram realizadas através do programa acoplado ao microscópio eletrônico de varredura

(MEV) do LCME da UFSC. Os *stubs* preparados previamente para o FEG foram utilizados também para a EDS, onde foram selecionados pontos específicos das membranas para determinar os elementos químicos presentes.

5.4.5 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As membranas foram analisadas através do microscópio de força atômica Nanosurf, EasyScan2. Ele foi operado em modo *tapping* com frequência de varredura de 1.0 Hz com resolução de 512 x 512 pixels. As análises foram conduzidas no Laboratório de Optoeletrônica Orgânica e Sistemas Anisotrópicos (LOOSA) do Departamento de Física da UFSC.

5.4.6 Ensaio de Permeabilidade

Para este ensaio, foram feitas filtrações com as membranas de PSF com 1% de NTS. Esta composição foi escolhida após revisão da literatura e testes realizados com outras composições, cujos resultados não constam neste trabalho, porém, ao fim dos testes foi averiguado que a composição de PSF com 1% de NTS foi a que apresentou melhor permeabilidade.

As membranas foram previamente compactadas a no sistema piloto de filtração (SPF) em modo *dead-end* com água de OR sob uma pressão de 7 bar por seis horas para, posteriormente, iniciar os testes de permeabilidade. O ensaio consistiu em submeter as membranas às pressões de 2, 3, 4, 5, 6 e 7 bar, executadas por meio de gás nitrogênio (N_2), e os fluxos foram avaliados a cada pressão testada. Foram, então, coletados volumes de permeado das membranas para um período de 2 minutos. O fluxo de permeação foi determinado pela equação 2.

$$J_0 = \frac{V}{At} \quad (2)$$

Onde:

J_0 = fluxo de permeado ($L m^2 h$);

V = volume coletado (L), inicialmente determinado em massa;

A = área efetiva da membrana (m^2);
 t = tempo de coleta (min.).

Para a determinação volumétrica dos fluxos de permeado, amostras de água filtrada foram coletadas e imediatamente pesadas em balança analítica.

5.5 ENSAIO DE REJEIÇÃO DE ÍONS DE SAIS

Para os ensaios de rejeição dos sais NaCl e $MgCl_2$ foram feitas soluções-mãe na concentração de 1 g L^{-1} diluídos em água de OR. As soluções foram submetidas a filtração com o SPF em modo *dead-end* fornecido pelo Laboratório de Reuso das Águas (LARA-UFSC). As membranas foram inseridas no SPF de modo que a camada ativa de QTS ficasse sobre a PSF. Inicialmente a membrana de PSF 1% NTS foi compactada a 7 bar em água de OR por 1 hora, tempo de estabilização do fluxo e, em seguida, a QTS 1,5% NTS-F foi compactada por 15 minutos antes do teste de rejeição dos sais.

Após a compactação das membranas, a solução foi colocada no SPF e, através de gás nitrogênio (N_2), foram exercidas pressões de 2, 3, 4, 5, 6 e 7 bar; a cada pressão avaliada, foi cronometrado um tempo de 2 minutos, para posterior avaliação do fluxo.

A eficiência de remoção dos íons dos sais foi determinada pela mensuração da diferença da condutividade do permeado e da solução-mãe, através do equipamento Nanobrook 90Plus PALS (Brookhaven, New York, USA), de acordo com a equação 3.

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_a}\right) * 100 \quad (3)$$

Onde:

R (%) = percentual de rejeição dos sais.

C_p = concentração do permeado (expresso em termos de condutividade).

C_a = concentração da solução de alimentação (expresso em termos de condutividade).

5.6 ENSAIO DE TOXICIDADE COM *D. magna*

5.6.1 Cultivo de *D. magna*

A *D. magna* foi cultivada de acordo com a NBR 12713 (ABNT, 2009) e ISO 6341 (ISO, 2012) no meio M4 em recipientes de 2 L. São cultivadas somente as fêmeas do microcrustáceo, que são divididas entre os recipientes e cada lote contém em média 30 organismos, com temperatura controlada a 20 ± 2 °C. A manutenção é feita através da troca do meio M4, retirada de filhotes e alimentação (alga *Scenedesmus subspicatus*) três vezes por semana.

Foram realizados também testes de sensibilidade semanalmente para que os organismos estejam dentro dos padrões internacionais dando veracidade aos testes conforme a ISO 6341 (ISO, 2012). Para o teste é utilizado como referência o dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) cuja toxicidade aguda é testada; os lotes com neonatos que apresentarem $CE_{50, 24h}$ entre 0,6 e 1,5 mg L⁻¹ de $K_2Cr_2O_7$ são considerados aptos (ISO, 2012).

5.6.2 Teste de Toxicidade Aguda

A metodologia utilizada para o teste de toxicidade aguda com *D. magna* seguiu de acordo com a NBR 12713 (ABNT, 2009) e consistiu na exposição de neonatos à suspensão-teste em diversas diluições por 48 horas, onde foi observada a imobilidade dos organismos-teste.

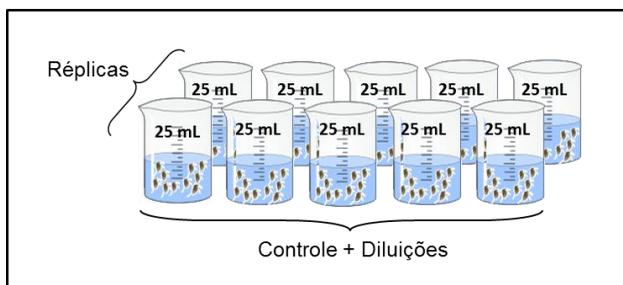
Para o teste de toxicidade aguda (Figura 11) dos NTS e NTS-F, foram feitas diluições preparadas com precisão volumétrica a partir de soluções-mãe com concentrações de 6 g L⁻¹, para o NTS, e 1 g L⁻¹, para o NTS-F, e submetidas à ultrasonicação por 2 minutos a 165 W. As diluições, realizadas com o meio ISO, foram as seguintes: 1,0; 2,5; 3,5; 4,5 e 6,0 g L⁻¹ para o NTS e 0,10; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,00 g L⁻¹ para o NTS-F.

Para o teste toxicológico das membranas de QTS e PSF, ambas foram colocadas, separadamente, em garrafas de vidro boro-silicato e submetidas à lixiviação, segundo a NBR 10005 (ABNT, 2004), por 18 horas. Após este tempo foi descartada a fração de membranas e o teste agudo foi feito com o sobrenadante nas diluições: 1,25; 2,50; 3,50; 4,50 e 5,00 g L⁻¹.

Os testes foram feitos em duplicata, onde foram expostos 20 organismos-testes por diluição (2 réplicas de 10 organismos), mantidos à uma temperatura média de 20 °C, sem alimentação ou iluminação. Para todos os testes foram feitas 6 réplicas para uma melhor acurácia dos resultados.

Com os resultados foi calculado o número de indivíduos imóveis por concentração, foi observado o fator de diluição (representação da diluição do teste que não causa imobilidade dos organismos) e, utilizando o método Sperman-Karber, foi definida a CE_{50} .

Figura 11: Esquema representativo do teste de toxicidade aguda com *D. magna*.



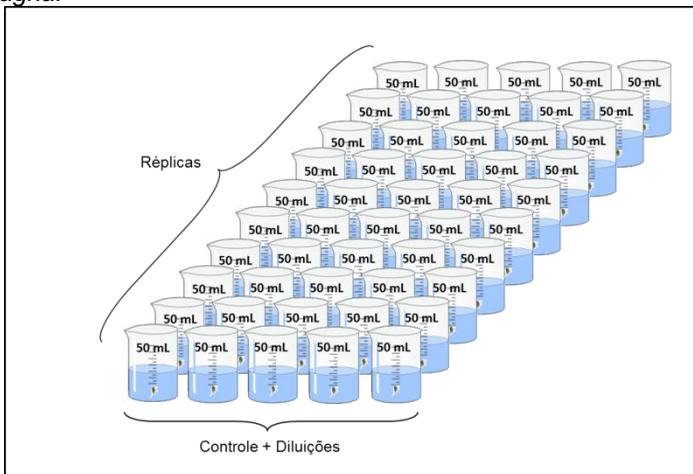
5.6.3 Teste de Toxicidade Crônica

O teste de toxicidade crônica com *D. magna* foi realizado conforme a ISO 10706 (ISO, 2000) e a *guideline* 211 da OECD (OECD, 2012) com algumas adaptações. O teste foi realizado nas mesmas condições de cultivo com neonatos de *D. magna* com 2 a 26 horas de vida. Os organismos foram expostos às concentrações de 25; 50; 100 e 150 mg L⁻¹, para o NTS, e 1,560; 3,12; 6,250 e 12,500 mg L⁻¹ para o NTS-F; ambos os testes possuíram um controle negativo (meio M4) para a validade dos dados. As concentrações foram escolhidas a partir daquelas que não causaram efeito agudo nos testes de toxicidade aguda.

Para cada diluição foram feitas 10 réplicas (Figura 12) com um neonato para cada unidade experimental nas mesmas condições de cultivo. As trocas das suspensões com NTS de cada unidade experimental e alimentação, feita com a alga *S.*

subspicatus, foram feitas três vezes por semana durante 21 dias. Ao longo de todo o teste foi observada a longevidade dos organismos sobreviventes, fecundidade (número de filhotes por postura) e crescimento (comprimento dos organismos).

Figura 12: Esquema representativo do teste de toxicidade crônica com *D. magna*.



Ao final dos 21 dias de teste, foi verificada a longevidade, o número de *Daphnias* adultas sobreviventes em cada concentração, a reprodução, através da contagem de filhotes gerados por réplica, de acordo com as equações 4 e 5.

$$\text{Média de filhotes por réplica} = \frac{n^{\circ} \text{ total de filhotes}}{n^{\circ} \text{ de posturas}} \quad (4)$$

$$\text{Média de filhotes por diluição} = \frac{\Sigma \text{média de filhotes por réplica}}{n^{\circ} \text{ de réplicas}} \quad (5)$$

Foi avaliado também o crescimento da *D. magna* através da medição do comprimento total do organismo que corresponde à distância do topo da cabeça até o final da carapaça, sem o espinho apical, de acordo com a OECD (2012). Os organismos foram observados através de uma lupa de aumento de 40 vezes e medidas com o auxílio de uma lâmina com escala milimetrada.

Os resultados foram avaliados através de análise de variância simples (ANOVA com um fator) com nível de significância de $p < 0,05$, de acordo com EPA-21/R02-013 (USEPA, 2002). Os resultados foram expressos em CEO, onde os valores correspondem à concentração onde houve efeito significativo, e em CENO, que é a concentração onde não houve efeito significativo; tanto a CEO quanto a CENO foram obtidas através de dados comparativos ao grupo controle.

5.7 CITOTOXICIDADE: ENSAIOS *IN VITRO*

5.7.1 Cultura Celular

A cultura das células Vero, provenientes de rim de macaco verde africano, é realizada no LABTOX e são oriundas do Instituto Adolfo Lutz (São Paulo, Brasil). A manutenção foi feita semanalmente em ambiente estéril (fluxo laminar) e as células foram mantidas em meio de cultura RPMI 1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino (SBF), 2% de L-glutamina (200 mM), 1% de penicilina (50 U mL⁻¹) e estreptomicina (50 µg mL⁻¹) e mantidas a 37°C em atmosfera com 5% de CO₂ (MATIAS e CREPPY, 1998; MANGER et al., 2003; MELEGARI et al., 2015). Estas células foram empregadas nos testes *in vitro*, descritos a seguir.

5.7.2 Ensaio do MTT: Determinação da CE₅₀

O teste de MTT foi realizado com base na metodologia proposta por Perreault et al. (2011) com algumas adaptações. A viabilidade das células Vero foi avaliada através do ensaio com o sal brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT), onde foi observada a atividade mitocondrial. As células, com concentração inicial mínima de 1×10^5 células mL⁻¹, foram incubadas em microplacas de 96 poços por 24 horas com o meio de cultura em condições iguais ao cultivo (37°C e 5% de CO₂).

Após este período, depois de formado o tapete celular nos poços da microplaca, o meio foi descartado e as células foram, então, expostas às amostras diluídas em cascata a partir de uma solução-mãe de 5 g L⁻¹ com seis réplicas para cada

diluição, por 24 horas a 37 °C e 5% de CO₂. Foram feitos também um controle negativo com o meio RPMI e um controle positivo com o precursor de reação da síntese de NTS tetraetil ortosilicato (TEOS) diluído em RPMI (1:4).

Passado o tempo de exposição, o meio foi retirado por inversão da placa e, então, foi adicionado 200 µL de uma solução de MTT 0,5 mg mL⁻¹ em RPMI, que foi preparada somente na hora do uso. A placa foi recoberta com papel alumínio para evitar a incidência de luz e incubada por 2 h em estufa nas mesmas condições do cultivo para a formação dos cristais de formazan. Depois, a solução foi removida cuidadosamente com uma micropipeta e foi adicionado 200 µL de dimetil- sulfóxido (DMSO). Após a agitação do DMSO nos poços por 2 minutos, para a total diluição dos cristais de formazan, foi feita a leitura da absorção em uma leitora automática de microplacas (Biotek EL800, USA) no comprimento de onda de 570 nm. Os valores de absorbância foram normalizados e expressos em percentual de viabilidade celular através da equação 5.

$$\%VC = 100 \left(\frac{DO_{amostra} - DO_{min}}{DO_{máx} - DO_{min}} \right) \quad (5)$$

Onde:

%VC = viabilidade celular;

DO_{máx} = absorbância do controle negativo;

DO_{min} = absorbância do controle positivo;

DO_{amostra} = absorbância da amostra.

A CE₅₀ foi, então, determinada através de regressão linear múltipla (polinomial) da curva % VC vs. log da concentração.

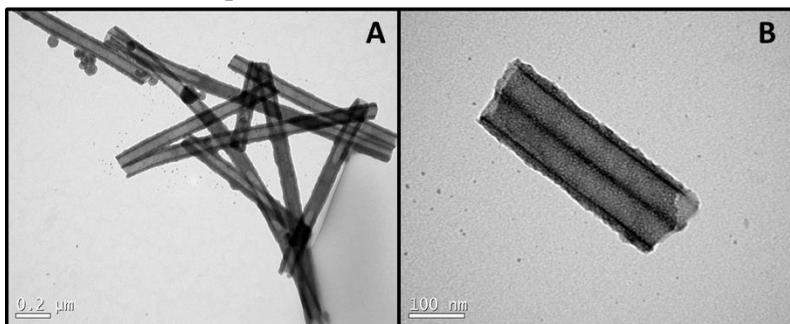
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 CARACTERIZAÇÃO DOS NTS

6.1.1 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

As imagens de MET dos NTS mostradas na Figura 13 A e B revelaram a morfologia tubular com diâmetros medindo entre 50 a 60 nm e comprimentos variados. Estes resultados corroboram com os diâmetros encontrados na literatura como no trabalho de Ko, et al. (2013).

Figura 13. Imagens de MET, onde: A) e B) correspondem às imagens de nanotubos de SiO₂.

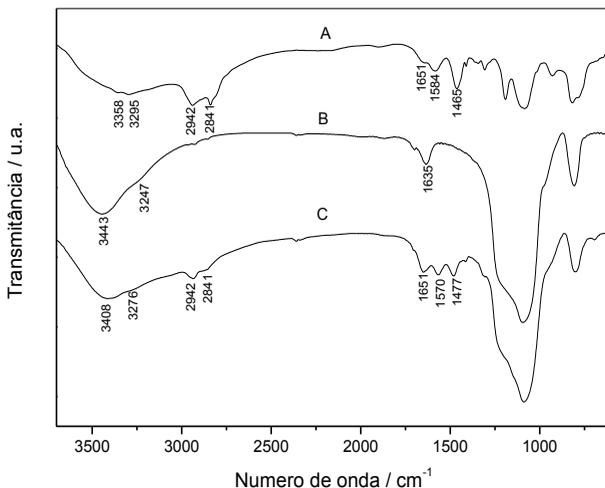


6.1.2 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros da molécula funcionalizante, NTS e NTS-F são apresentados na Figura 14 A, B e C. O espectro do NTS (Figura 14 B) mostrou bandas em 3443 cm^{-1} e 1635 cm^{-1} , referentes às vibrações de estiramento e de deformação de moléculas de H₂O, respectivamente. O ombro de 3247 cm^{-1} pode ser atribuído às vibrações de estiramento dos grupos Si-OH na estrutura de SiO₂ amorfo (MUSIC et al., 2011). As bandas referentes à molécula funcionalizante mostradas na Figura 14 A aparecem no espectro do NTS-F (Figura 14 C), evidenciando a funcionalização. Estas bandas aparecem em aproximadamente

3408 cm^{-1} e 3276 cm^{-1} e são atribuídas à deformação axial do NH_2 e NH . Nesta mesma região está sobreposta a banda de vibração do estiramento do Si-OH , conforme observado no espectro do NTS. As bandas em 2942 cm^{-1} e 2841 cm^{-1} foram atribuídas aos estiramentos vibracionais assimétricos e simétricos do CH_2 alifático, respectivamente, e a banda em 1477 cm^{-1} é oriunda da vibração da deformação angular simétrica de CH_2 . A presença dos CH_2 nos NTS-F é um indício forte da ancoragem da molécula funcionalizante na superfície da estrutura do SiO_2 , já que o SiO_2 não contém carbono em sua estrutura. Outra banda que caracteriza a presença do grupo amina está localizada em 1570 cm^{-1} e é atribuída às vibrações das deformações angulares simétricas no plano de N-H .

Figura 14: Espectros obtidos por FTIR, onde: A) Espectro da molécula funcionalizante, B) Espectro do NTS e C) Espectro do NTS-F.



6.1.3 Área Superficial Específica - Método BET

Os resultados da área superficial, determinadas pelo método BET, foram de 300 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ para o NTS e 82 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ para o NTS-F. Esta diminuição da área superficial dos NTS-F pode ser atribuída à ancoragem das moléculas funcionalizantes na

superfície interna e externa dos NT, criando um revestimento ao seu redor e, assim, diminuindo a área superficial total.

Resultados encontrados por KO et al. (2013a) também mostraram uma diminuição da área superficial de NT de sílica funcionalizados com o aminosilano; de $348 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, para o NTS, reduziu para $60,9 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, para o NTS-F. Estes resultados similares reforçam a hipótese de que a camada funcionalizante que, segundo Yokoi et al., (2004), possui espessura de aproximadamente 1,7 nm, funciona como um revestimento ao redor do NT, diminuindo sua área superficial.

6.1.4 Potencial Zeta (PZ)

Os valores de potencial zeta, diâmetro hidrodinâmico e pH também contribuíram para confirmar a funcionalização. De acordo com a Tabela 3 houve alteração dos valores de pH dos NTS para os NTS-F; o pH do NTS-F apresentou um caráter menos ácido comparado ao NTS, evidenciando que a funcionalização eleva o pH devido a presença de grupos amina. Os grupos amina da molécula funcionalizante também atraem íons de carga positivas para sua superfície e isso resulta na inversão do sinal do PZ em relação ao sinal do NTS. Além disso, os NTS-F apresentaram elevada estabilidade em suspensão mesmo possuindo o dobro do diâmetro hidrodinâmico dos NTS.

Tabela 3: Resultados encontrados de valor hidrodinâmico, pH e potencial zeta dos NTS e NTS-F.

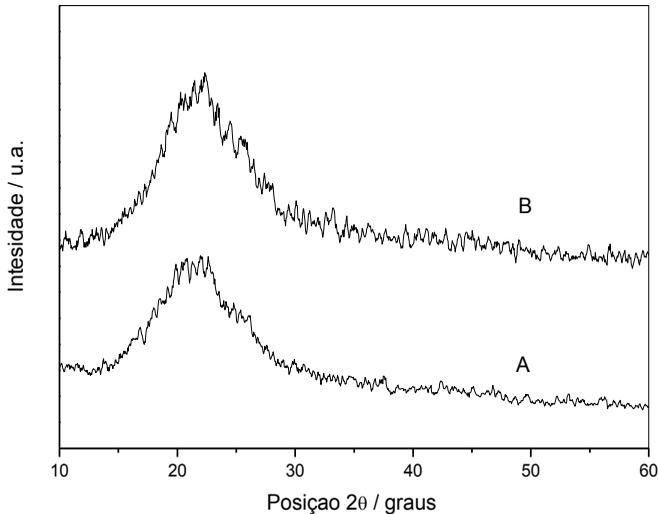
Material	DH (nm)	pH H ₂ O (250 mg L ⁻¹)	PZ (mV)
NTS	554,84	5,38	-18,19 ± 1,09
NTS-F	1052,82	6,61	46,34 ± 1,35

6.1.5 Difração de Raio-X (DRX)

Os difratogramas dos NTS e NTS-F mostrados na Figura 15 A e B apresentaram somente um halo de base larga característico em SiO₂ amorfo, com centro em aproximadamente 20°, corroborando com os dados indexados na literatura (JCPDS

No.44-0696) por Ko et al., (2013a) e Masjedi-Arani et al. (2016). Logo, pode-se concluir que ambos os NTS utilizados neste estudo possuem estrutura amorfa.

Figura 15: Gráfico dos difratogramas obtidos por DRX, onde: A) Difratograma do NTS e B) Difratograma do NTS-F.



6.2 CARACTERIZAÇÃO DA MEMBRANA

6.2.1 Grau de Intumescimento e Molhabilidade

Os dados da Tabela 4 mostraram que o GI% da membrana de QTS 1,5% NTS-F aumentou aproximadamente 9% em relação à sua versão pura. Apesar da pequena variação nas espessuras das membranas o aumento do GI% pode ser atribuído à incorporação do NTS-F.

A Tabela 4 também mostra que o grau de molhabilidade da PSF 1% NTS aumentou em torno de 6% com a adição dos NTS. Os resultados encontrados por Kumar et al (2013), mostraram também um aumento na molhabilidade das membranas de PSF e QTS quando incorporadas com NT de

TiO₂ em pH 7; para as versões puras das membranas o GM foi de 52,7% e para as membranas incorporadas com 0,2, 0,5, 1, 1,5 e 3% o GM foi de 53,4, 55,8, 58, 59,1 e 60,5%, respectivamente, sugerindo que a presença dos NTS promoveu o aumento da hidrofiliçidade da membrana.

Tabela 4: Grau de intumescimento (GI) das membranas de QTS puras e com NTS-F e grau de molhabilidade (GM) das membranas de PSF puras e com NTS. (n=3).

Membrana	Espessura (µm)*	GM%	GI%
QTS	48 ± 2,0	-	96 ± 1,4
QTS 1,5% NTS-F	52 ± 1,0	-	105 ± 2,8
PSF	165 ± 3,6	29 ± 1,4	-
PSF 1% NTS	175 ± 2,1	38 ± 3,5	-

*(n=3).

6.2.2 Ângulo de Contato

Os resultados do ensaio de ângulo de contato, apresentados na Tabela 5, sugerem que a presença de NTS e NTS-F em ambas as membranas de PSF e QTS promoveram a redução do ângulo de contato, ou seja, a hidrofiliçidade das membranas aumentou comparada aos valores encontrados de suas versões puras.

Em dados encontrados por Jin et al. (2012), o ângulo de contato de membranas de PSF com poliamida incorporadas com até 3% em massa NP de SiO₂, diminuiu em relação à membrana com 0% de adição (PSF 0% - 77,68°; PSF 3% - 70,16°), o que evidencia o aumento da hidrofiliçidade das membranas.

Tabela 5: Ângulo de contato das membranas de QTS puras e com NTS-F de PSF puras e com NTS.

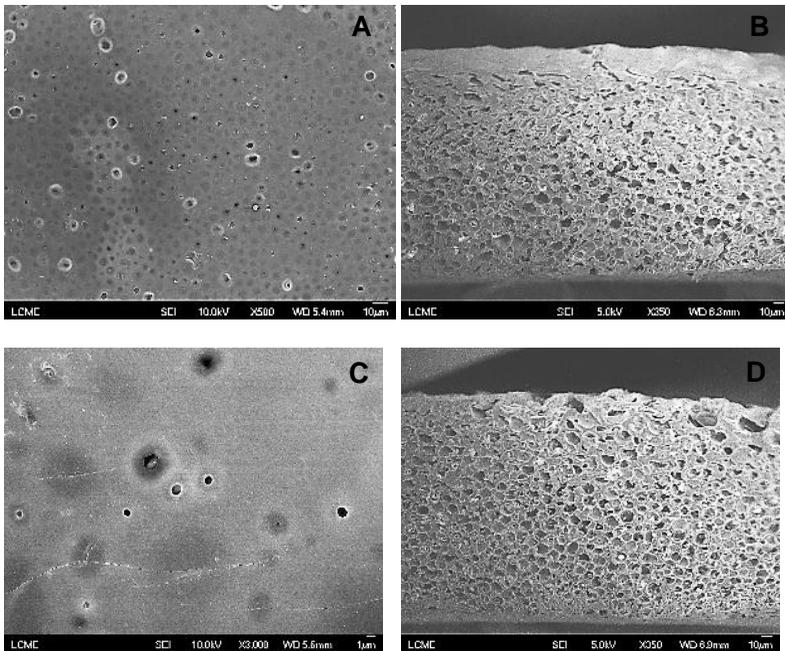
Membrana	Ângulo de Contato (°)*
QTS	54 ± 3,3
QTS 1,5% NTS-F	36 ± 2,2
PSF	63 ± 1,8
PSF 1% NTS	61 ± 2,7

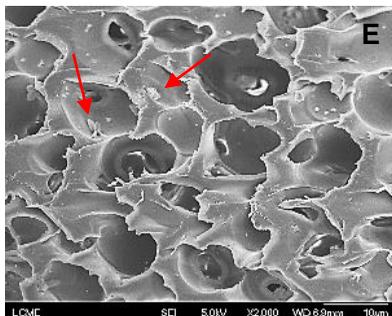
*(n=3)

6.2.3 Microscópio Eletrônico de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)

As imagens resultantes nas Figuras 16 mostram a morfologia da superfície e da seção transversal das membranas de PSF puras e com 1% NTS.

Figura 16: Imagens de MEV das membranas, onde: A) Imagem da superfície da PSF pura, B) Imagem da seção transversal da PSF pura, C) Imagem da superfície da PSF com 1% NTS e D) e E) Imagens da seção transversal da PSF com 1% NTS com indicação dos aglomerados de NT.





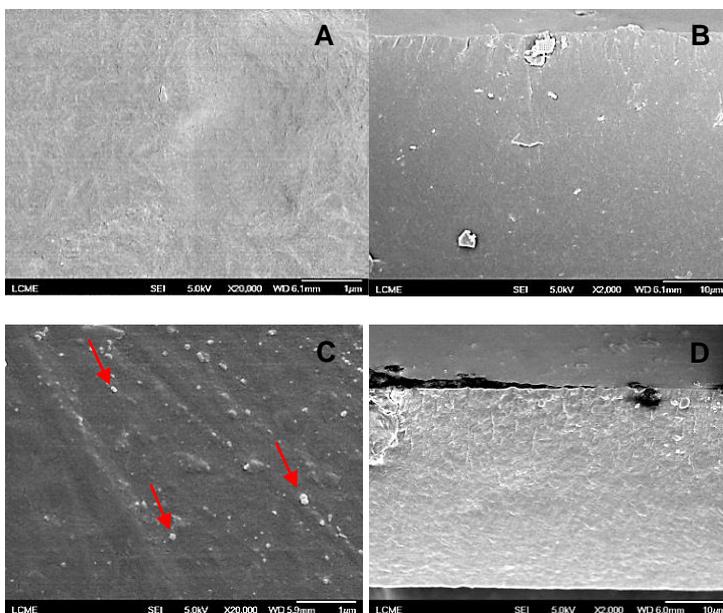
As imagens revelaram que as membranas de PSF apresentam uma superfície contendo muitos poros com diâmetros de aproximadamente $5\ \mu\text{m}$ (Figura 16 A); já na secção transversal o diâmetro dos poros encontrado foi de aproximadamente $13\ \mu\text{m}$ (Figura 16 B). A imagem da superfície da membrana de PSF com 1% NTS mostrou uma redução da porosidade e dos diâmetros dos poros cujos tamanhos são de aproximadamente $1\ \mu\text{m}$ (Figura 16 C). Isto pode ser atribuído pela presença dos NTS na superfície das membranas com 1% de NTS que reduz a quantidade e o diâmetro dos poros presentes. Na secção transversal desta membrana foi verificado que os diâmetros dos poros são semelhantes aos da membrana de PSF pura (Figura 16 D e E). Nesta última imagem foi possível verificar a presença de aglomerados de NTS nos poros da membrana.

Nas Figuras 16 B e D é possível notar que os poros estão dispostos de maneira horizontal e não longitudinal, como geralmente é encontrado na literatura. Isto ocorreu porque em trabalhos como de Kumar et al. (2013) e Sinha e Purkait (2015), cujas membranas de PSF apresentam canais longitudinais, foi utilizado o método de inversão de fases imediatamente após o espalhamento da suspensão polimérica; desta maneira a quantidade de solvente a ser “expulsa” da membrana na hora da imersão em água foi maior e, portanto, ocasionou canais longitudinais maiores. No presente trabalho, entretanto, pretendeu-se obter poros menores e horizontais objetivando uma maior seletividade. Para isto, optou-se por evaporar parte do solvente (por 40 minutos) antes da inversão de fases e, assim, a quantidade de solvente dentro da PSF “expulsa” pela água foi

menor ocasionando poros menores e dispostos de maneira horizontal.

Já nas imagens obtidas das membranas de QTS, nas Figuras 17 A e C é possível constatar a superfície e secção transversal das membranas de QTS. Em todos os casos, nas membranas de QTS puras e QTS 1,5% NTS-F, é possível observar uma morfologia regular, densa e com ausência de poros, como é esperado de camadas seletivas (MOHAMMAD et al., 2015). Isto acontece porque, como já relatado, o processo de preparação não possui uma etapa de “expulsão” do solvente, este apenas é evaporado gradualmente e, portanto, não há formação de poros, tornando esta membrana densa.

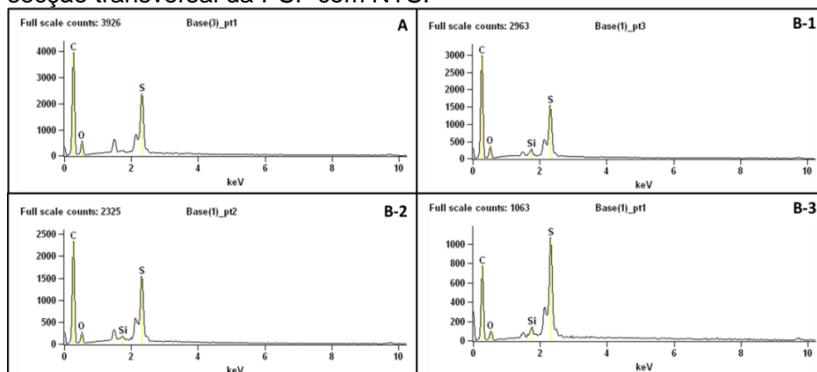
Figura 17: Imagens de MEV-FEG das membranas, onde: A) Imagem da superfície da QTS pura, B) Imagem da secção transversal da QTS pura, C) Imagem da superfície da QTS com 1,5% NTS-F com indicação dos aglomerados de NTS-F e D) Imagem da secção transversal da QTS com 1,5% NTS-F.



6.2.4 Espectrometria de Energia Dispersiva (EDS)

Nos resultados de EDS das membranas de PSF puras foram identificados carbono, oxigênio e enxofre, que são os elementos que compõem a PSF. Na membrana de PSF 1% NTS foram identificados os mesmos elementos da PSF acrescidos de silício conforme Figura 18. Estes resultados foram obtidos em três pontos distintos da seção transversal da membrana; os pontos correspondem à parte superior (B-1), média (B-2) e inferior (B-3) da membrana, respectivamente.

Figura 18: Análise de EDS das membranas de PSF, onde: A) PSF pura; B-1) Ponto superior da seção transversal da PSF com NTS; B-2) Ponto médio da seção transversal da PSF com NTS; B-3) Ponto inferior da seção transversal da PSF com NTS.



Os resultados mostram que há a presença de carbono, em maior quantidade, oxigênio, enxofre e silício, confirmando a presença dos NTS na membrana. Porém, esta análise foi realizada em três pontos distintos e, observando os valores nos diferentes pontos, confirma-se uma maior quantidade de NTS localiza-se na parte superior da membrana, conforme Tabela 6.

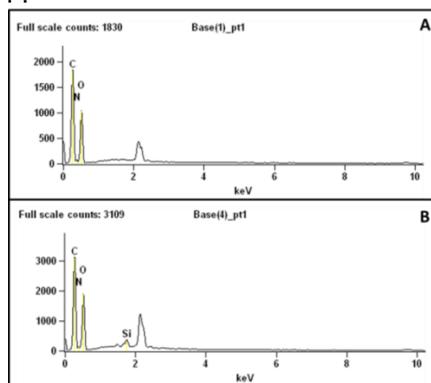
Tabela 6 – Percentual de elementos químicos de membranas de PSF puras e com 1% de NTS.

Membrana		Compostos (%)			
		C-K	O-K	S-K	Si-K
PSF Pura	-	83,84	9,42	6,74	0
PSF 1% NTS	Ponto 1	80,26	8,02	10,74	0,98
	Ponto 2	85,23	7,59	6,72	0,47
	Ponto 3	85,22	8,50	5,62	0,66

Este fato pode ser justificado pelo método de preparação da membrana, no qual o solvente tende a ser expulso da massa polimérica, arrastando consigo os NTS para a superfície e, conseqüentemente, a quantidade de silício presente no ponto superficial da membrana é maior do que nos outros pontos, confirmando este fenômeno.

Para as membranas de QTS, foi identificado carbono, nitrogênio e oxigênio (Figura 19 A), que são os elementos químicos que compõem a QTS, e para as membranas com 1,5% de NTS-F, além dos compostos encontrados na QTS pura foi encontrado também silício, comprovando a presença dos NT (Figura 19 B).

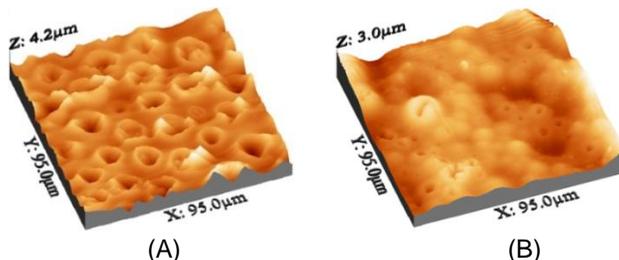
Figura 19: Análise de EDS das membranas de QTS, onde: A) QTS pura; B) QTS com NTS-F.



6.2.5 Microscopia de Força Atômica (AFM)

As imagens obtidas via AFM mostraram a topografia da superfície das membranas de PSF (Figura 20 A e B).

Figura 20. Imagens de AFM das membranas, onde A) PSF e A) PSF com 1% NTS.

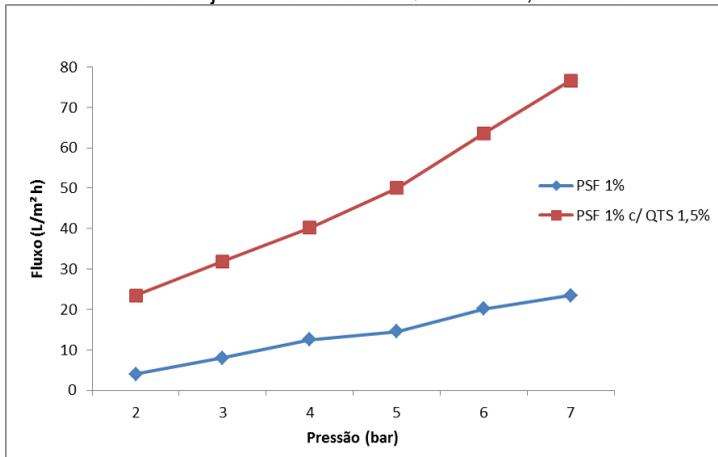


Foi observado na membrana PSF (Figura 20 A) uma superfície com relevo irregular contendo poros com diâmetro grandes comparados com a membrana de PSF 1 % NTS (Figura 20 B). A redução dos diâmetros dos poros da membrana de PSF 1% NTS também foi verificada nas imagens de MEV-FEG. Adicionalmente aos resultados encontrados por EDS, a hipótese do arraste dos NTS à superfície das membranas de PSF na hora da inversão de fases é reforçada. Portanto, sugere-se que as alterações observadas na superfície das membranas possam ser atribuídas à presença dos NTS, onde pode ter ocorrido o fenômeno citado anteriormente.

6.2.6 Ensaio de Permeabilidade

De acordo com a Figura 21 os fluxos de permeação encontrados para PSF com NTS foram mais baixos do que com a adição da QTS com NTS-F, para todas as pressões exercidas. Isto sugere que a presença da QTS e/ou dos NTS-F aumentou a hidrofiliicidade da PSF, aumentando também o fluxo de permeação.

Figura 21: Comparação entre as médias dos fluxos de PSF com 1% NTS individualmente e juntamente com QTS com 1,5% NTS-F.



(n=3).

O mecanismo de ação da PSF é por exclusão de tamanho e o da QTS é por difusão, ou seja, os mecanismos diferentes das duas membranas resultaram em fluxos de permeação diferentes, o que pode ser limitante quando se trata de nanfiltração.

A permeabilidade encontrada por Kumar et al. (2013) para membranas de PSF com QTS estruturados com NT de TiO_2 também foram maiores para a PSF com QTS e NT do que somente para a PSF, entretanto os valores encontrados pelos autores foram muito mais altos do que os encontrados neste trabalho. Todavia fluxos baixos podem significar maior seletividade, ou seja, elevado potencial de rejeição de íons.

6.3 ENSAIO DE REJEIÇÃO DE ÍONS DE SAIS

Os resultados dos ensaios de rejeição de íons dos sais testados com a membrana de QTS com 1,5% de NTS-F reticulada com EPC são mostrados na Tabela 7.

Tabela 7: Fluxo de permeação e percentual de rejeição de íons dos sais $MgCl_2$ e $NaCl$ em membranas de QTS com 1% de NTS-F com o suporte poroso de PSF 1% NTS.

Pressão (Bar)	$MgCl_2$ (1 g L ⁻¹ *)		$NaCl$ (1 g L ⁻¹ *)	
	Fluxo (L/M ² h)**	Rejeição (%)**	Fluxo (L/M ² h)**	Rejeição (%)**
2	9,49 ± 1,2	13,70 ± 1,3	23,44± 2,0	10,16± 1,0
3	14,51 ± 3,3	12,84 ± 2,2	31,92± 1,3	9,10± 2,3
4	19,53 ± 2,1	11,04 ± 2,4	40,18± 2,4	7,50± 1,3
5	24,55 ± 2,2	11,20 ± 1,8	50,00± 1,2	6,75± 1,7
6	29,30 ± 2,8	11,13 ± 2,7	63,62± 3,1	6,34± 1,6
7	37,39 ± 1,7	9,33 ± 1,7	76,56± 1,1	6,41± 3,1

*Solução-mãe.

** (n=3).

As membranas de QTS apresentaram reduzida remoção de íons dos sais $NaCl$ e $MgCl_2$. Sugere-se que estes resultados podem ser melhorados com a utilização de outros agentes reticulantes diferentes da epícloridrina (GONSALVES e ARAUJO, 2011). A EPC promove a reticulação preferencialmente pelos grupos OH, deixando o sítio reativo NH_2 livre, o qual apresenta maior seletividade para determinados íons metálicos (ex.: Cu^+) do que para íons salinos.

A ancoragem da molécula aminosilano nos NTS-F, os quais foram adicionados somente às membranas de QTS, foi realizada com objetivo de promover ligações covalentes entre os NTS-F e as membranas. Os grupos NH nas superfícies dos NTS-F e da QTS podem ligar-se covalentemente entre si através da reticulação. Estas ligações covalentes entre a QTS e NTS-F podem reduzir a possível lixiviação do NTS da membrana de QTS durante sua aplicação, já que a literatura reporta esta limitação.

No trabalho de Miao et al. (2013a) foram encontrados os valores de 32,5 e 8,6% para a rejeição dos íons dos sais $NaCl$ e $MgCl_2$, respectivamente, por membranas de NF com um substrato poroso de PSF e camada ativa de QTS sulfatada reticulada com EPC. Em outro trabalho de Miao et al. (2008) foram encontrados valores semelhantes de rejeição de íons de sais para membranas de QTS N-carboximetil, reticulada com EPC, com suporte de PSF; os valores de rejeição foram de 10,8

e 8,2% para NaCl e $MgCl_2$, respectivamente, semelhantes aos encontrados neste trabalho.

No estudo de Shenvi et al. (2013), os autores encontraram rejeições de 34,4 e 53,4% para NaCl e $MgCl_2$, respectivamente em membranas de PPEES com QTS reticuladas com gluteraldeído (GA), que reticula preferencialmente o grupo NH_2 . Na pesquisa de Miao et al. (2013) a rejeição encontrada foi de 40% para NaCl e 15% para $MgCl_2$ para uma membrana de poliacrilonitrila (PAN) com camada ativa de QTS sulfatada reticulada com hexametileno diisocianato (HDI), que é capaz de reticular as cadeias de QTS através dos grupos NH e/ou OH (NAIMARK et al., 1995).

Os dados da literatura mostram que houve maior rejeição dos íons salinos para membranas de QTS reticuladas com GA e HDI. Isto sugere que os grupos OH livres ou, no caso do HDI, com ambos os grupos reticulados após a reação de entrecruzamento, apresentam maior eficiência na rejeição de íons salinos quando comparados às membranas reticuladas com EPC, o qual deixa, preferencialmente, os grupos NH livres.

No grupo LABTOX pesquisadores testaram a mesma composição de membranas utilizadas neste trabalho, ou seja, membrana de PSF e QTS reticuladas com EPC para a remoção de íons metálicos de NP de ZnO e Ag^+ . Os resultados encontrados foram de >99% para ZnO e >96% para Ag^+ , nas mesmas condições empregadas neste trabalho. Esta grande diferença na remoção de íons reforça a hipótese de que o grupo amina possui elevada afinidade na complexação e quelação de íons metálicos, obtendo, desta forma, excelentes resultados na rejeição destes íons. Entretanto, para afirmar esta hipótese, mais estudos são necessários.

6.4 ENSAIO DE TOXICIDADE COM *D. magna*

6.4.1 Teste de Toxicidade Aguda

Analisando os resultados de toxicidade aguda (Tabela 8), foi possível observar que a $CE_{50,48h}$ dos NTS foi 4920 mg L^{-1} , uma concentração relativamente alta que representa baixa toxicidade. Entretanto para os NTS-F a $CE_{50,48h}$ encontrada foi

324 mg L⁻¹, mostrando que houve um aumento na toxicidade em aproximadamente 15 vezes. Um dos parâmetros mais utilizados para justificar a toxicidade de nanomateriais é a área superficial que estes possuem, uma vez que quanto maior, mais sítios reativos o material possui. Neste trabalho, entretanto, a maior toxicidade observada ocorreu na exposição à NTS-F que possui área superficial menor em relação ao NTS, indicando que, neste caso, este parâmetro não é um fator determinante para a toxicidade destes materiais.

Tabela 8: Valores encontrados de CE_{50,48h} para toxicidade aguda com *Daphnia magna* dos NTS e NTS-F e de lixiviado das membranas.

Materiais	CE_{50,48h} (mg L⁻¹)**
NTS	4920 ± 92,72
NTS-F	324 ± 48,13
Membrana PSF	N.T*
Membrana PSF NTS	N.T*
Membrana QTS	N.T*
Membrana QTS NTS-F	3250 ± 13,27

*Não tóxico (concentração testada: 10 g L⁻¹).

** (n=6)

O estudo desenvolvido por Clément et al. (2013) aponta que a funcionalização com a molécula aminosilano não aumenta a toxicidade de NM de SiO₂, entretanto, como já citado anteriormente, a molécula funcionalizante utilizada no referido trabalho, a 3-(aminopropil)trimetóxisilano, possui apenas um grupo amino secundário e, portanto, a sua região hidrofílica é reduzida, medindo cerca de 0,9 nm (KO et al, 2013). Já a molécula utilizada no presente trabalho, a 3-[2-(2-aminoetiamino)etilenoamino]propiltrimetóxisilano possui em sua estrutura dois grupos amino primários e um secundário e, portanto, sua região hidrofílica é maior do que a da molécula utilizada na pesquisa de Clément et al. (2013), cerca de 1,7 nm de comprimento (KO et al, 2013). Esta diferença no comprimento da molécula aminosilano pode ser determinante para a toxicidade do NM ao qual esta reveste, pois, com o maior comprimento há também uma maior área de contato que pode

proporcionar maior afinidade com os organismos, facilitando a penetração nos mesmos.

Além disso, sabe-se que a presença de certos grupos funcionais como COOH, NH₂ e SH na superfície de NM facilitam a conjugação com moléculas biológicas (XIONG et al., 2009). Por esta razão NM funcionalizados são utilizados como veículos para medicamentos, pois facilita a penetração nas células (XIONG et al., 2009; LIU et al., 2008; LEE et al., 2008). Portanto, sugere-se que a funcionalização dos NTS-F esteja facilitando a sua entrada no organismo da *Daphnia*. Este mecanismo é chamado de "efeito Cavalo de Tróia". No entanto, para afirmar esta hipótese, mais estudos são necessários para confirmar a internalização dos NTS-F no organismo da *D. magna*.

Para os testes com a solução de lixiviação de membranas, não foi possível obter a CE_{50,48h} das membranas puras e nem das PSF estruturadas com NTS, mesmo em altas concentrações (10 g L⁻¹), reforçando a baixa (ou nula) toxicidade destes materiais. Todavia as membranas de QTS estruturadas com NTS-F apresentaram uma CE_{50,48h} de 3250 mg L⁻¹, o qual é considerado um valor de baixa toxicidade. Comparando os resultados da solução de NTS-F e a solução da lixiviação das membranas de QTS estruturadas com NTS-F é possível observar que houve uma diminuição na toxicidade, sugerindo que a imobilização dos NTS-F na membrana reduziu seu potencial tóxico, sem perder sua função na membrana. A baixa toxicidade das membranas de QTS com NTS-F pode ser atribuída à quebra das membranas durante a lixiviação, onde a QTS é fraturada em vários pedaços e, desta maneira, alguns NTS-F podem ter se desprendido, ficando livres na solução elutriado. Em um trabalho desenvolvido por Chang et al. (2007), onde foi comparada a citotoxicidade de NP SiO₂ e NP SiO₂ encapsuladas por QTS, foi constatada uma diminuição significativa na toxicidade das NP SiO₂ encapsuladas por QTS em relação às formas puras.

6.4.2 Teste de Toxicidade Crônica

Segundo os resultados encontrados (Tabela 9), nota-se que a toxicidade crônica do NTS-F foi maior do que a do NTS para todos os parâmetros.

Tabela 9: Valores encontrados de toxicidade crônica com *D. magna* de NTS e NTS-F para os parâmetros de reprodução (repr.), crescimento (cresc.) e longevidade (long.) expressões em termos de nº de neonatos por postura, comprimento (compr.) e sobrevivência (sobr), respectivamente, e em valores de CEO e CENO.

Material	Diluição (mg L ⁻¹)	Repr.: neonatos/ postura	Cresc.: compr. (mm)	Long.: sobr. (%)
NTS	Controle	6,44 ± 0,95	3,98 ± 0,12	100
	25	5,18 ± 0,87	3,58 ± 0,37	100
	50	4,67 ± 0,57	3,27 ± 0,36	90
	100	4,55 ± 0,65	3,14 ± 0,46	80
	150	3,50 ± 0,70	3,25 ± 0,35	20
		CEO (mg L ⁻¹) CENO (mg L ⁻¹)	25,00 N.E* (<25,00)	25,00 N.E* (<25,00)
NTS-F	Controle	6,44 ± 0,95	3,98 ± 0,12	100
	25	6,38 ± 0,69	3,84 ± 0,38	100
	50	6,27 ± 1,01	3,62 ± 0,37	90
	100	5,31 ± 0,95	3,29 ± 0,29	90
	150	2,45 ± 0,75	2,74 ± 0,32	80
		CEO (mg L ⁻¹) CENO (mg L ⁻¹)	6,25 3,12	3,12 1,56

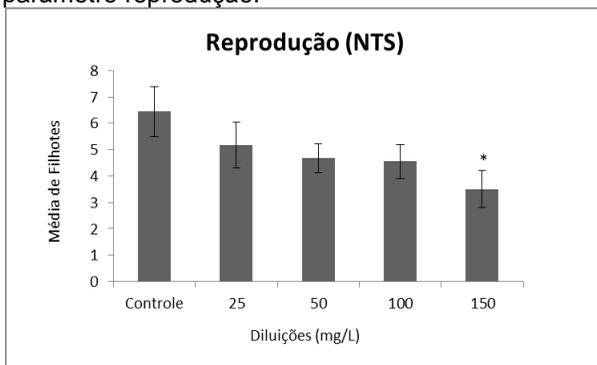
*N.E: Não encontrado.

Para o parâmetro de reprodução, observou-se efeito crônico no número de neonatos por postura apenas na concentração 150 mg L⁻¹ para o NTS e 6,25 mg L⁻¹ para o NTS-F. Isto mostra que os filhotes gerados ao longo do teste, cujos nascimentos ocorreram a partir do nono dia, foram mais escassos para o NTS-F (Figura 22), demonstrando que houve efeito crônico maior para os organismos expostos a este nanomaterial quando comparado ao grupo exposto ao NTS, que

também sofreu queda na reprodução (Figura 23), e com o controle.

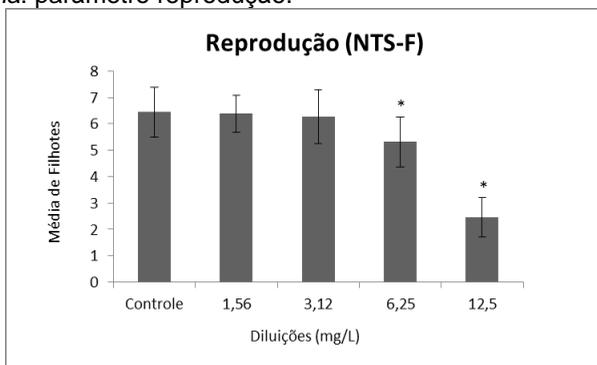
Após a análise de variância ANOVA foi possível determinar diferença estatística ($p < 0,05$) entre todas as concentrações testadas de NTS e as diluições 6,25 e 12,5 mg L⁻¹ de NTS-F, todas comparando ao grupo controle, evidenciando, assim, o efeito tóxico neste parâmetro.

Figura 22: Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS em *D. magna*: parâmetro reprodução.



*Concentração que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) comparando ao controle.

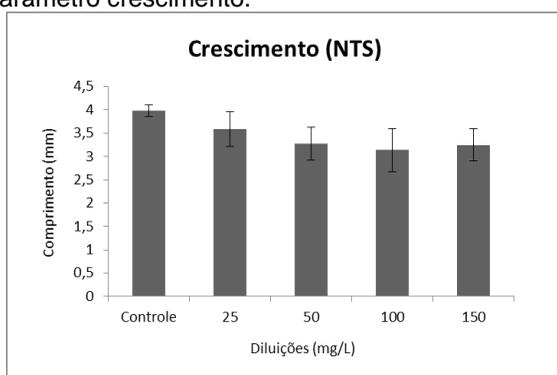
Figura 23: Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS-F em *D. magna*: parâmetro reprodução.



*Concentração que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) comparando ao controle.

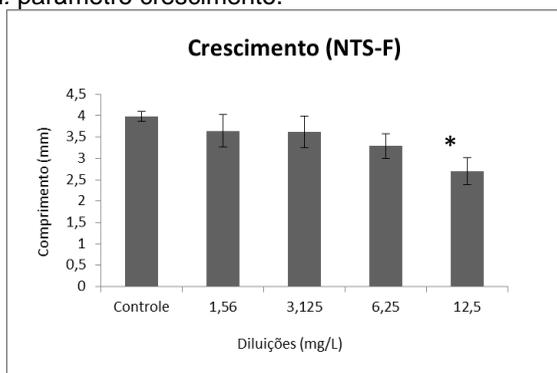
Para o parâmetro de crescimento, a exposição aos NTS-F e NTS resultou, ao fim do teste, em menor comprimento comparado ao controle, como mostram as Figuras 24 e 25, respectivamente. Através da análise de variância ANOVA foi possível observar que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle, e para o NTS houve diferença apenas para a diluição de 12,5 mg L⁻¹, evidenciando baixo efeito tóxico neste parâmetro.

Figura 24: Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS em *D. magna*: parâmetro crescimento.



*Concentração que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) comparando ao controle.

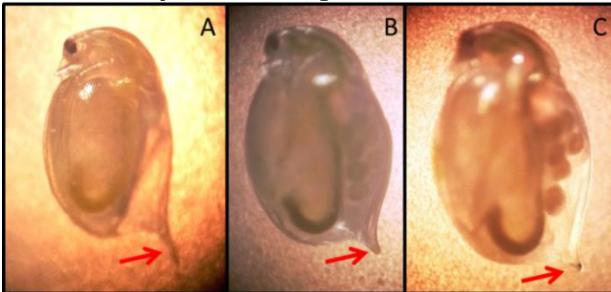
Figura 25: Resultados dos efeitos crônicos da exposição ao NTS-F em *D. magna*: parâmetro crescimento.



*Concentração que apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) comparando ao controle.

Quanto à longevidade, os valores de CEO foram altos, demonstrando que houve pouco efeito tóxico na letalidade dos organismos, entretanto houve mudanças morfológicas relacionadas às exposições, como por exemplo, o encurtamento do espinho apical da *D. magna* expostas às soluções de NTS e NTS-F (Figura 26).

Figura 26: Modificações morfológicas da *D. magna* após teste de toxicidade crônica segundo o encurtamento do espinho apical, onde: A) Espinho apical normal – Controle; B) Encurtamento do espinho apical – NTS na concentração de 50 mg L⁻¹; C) encurtamento do espinho apical – NTS-F na concentração de 12,5 mg L⁻¹.



Estes valores encontrados mostram que a funcionalização, apesar de não ter causado a mortalidade das *Daphnias* a baixas concentrações, ocasionou diversos efeitos tóxicos nos organismos, entretanto mais estudos são necessários para explicar o mecanismo de ação crônico destes NM em *D. magna*.

6.5 GENOTOXICIDADE: ENSAIOS *IN VITRO*

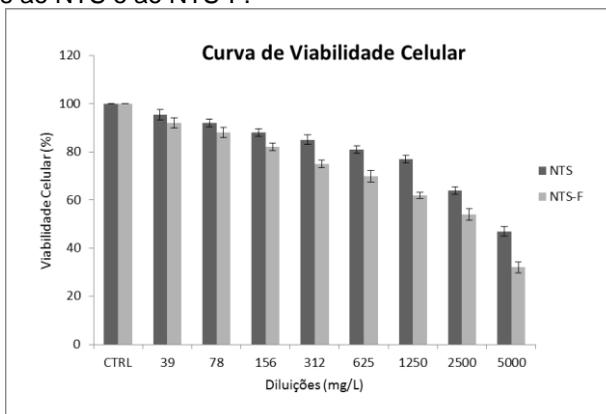
6.5.1 Ensaio do MTT: Determinação da CE₅₀

Os resultados de viabilidade celular mostraram maior valor de CE₅₀ para o NTS (4320 mg L⁻¹) e menor para o NTS-F (3370 mg L⁻¹) reforçando a maior toxicidade do NTS-F em comparação ao NTS, indicando dano na matriz mitocondrial, interferindo na atividade metabólica das células.

Segundo a curva de viabilidade celular (Figura 27) é possível observar que a viabilidade das células expostas ao NTS

se manteve estável até a concentração 2500 mg L^{-1} , onde sofreu uma queda, indicando que após esta diluição houve maior dano na matriz mitocondrial. Já na curva do NTS-F a queda de viabilidade celular foi evidente em todas as concentrações, evidenciando a maior toxicidade deste material.

Figura 27: Curva de viabilidade celular das células da linhagem Vero expostas ao NTS e ao NTS-F.



Na literatura (ZHANG et al., 2011; YANG et al., 2010; EOM e CHOI, 2009; YE et al., 2010) é reportada a citotoxicidade em linhas celulares de mamíferos induzida por NM de SiO_2 amorfo, reduzindo drasticamente a viabilidade celular das mesmas. Apesar da alta CE_{50} encontrada neste trabalho, podem ter ocorridos outros tipos de danos celulares, como por exemplo apoptose, estresse oxidativo e alterações morfológicas (encolhimento, dimorfismo celular, etc.). Estes danos são causados por absorção celular, o que reforça ainda mais a hipótese de internalização dos NTS.

Assim, como nos dados encontrados na toxicidade para *Daphnia magna*, a maior toxicidade do NTS-F também pode ser atribuída ao efeito Cavalo de Tróia, já que o grupamento NH_2 presente no NTS-F é hidrofílico, ou seja, pode estar facilitando a penetração dos NT no interior das células, conferindo assim danos mitocondriais. No entanto, assim como discutido nos resultados de toxicidade para *D. magna*, ainda há a necessidade de desenvolver estudos mais aprofundados para averiguar esta hipótese.

7. CONCLUSÕES

Este trabalho objetivou preparar e caracterizar membranas de PSF 1% de NTS e QTS 1,5% NTS-F, caracterizar os NTS e NTS-F, avaliar a eficiência de remoção de íons dos sais NaCl e MgCl₂ e avaliar a toxicidade de todos os materiais da membrana, através de ensaios com *Daphnia magna* e células Vero. Com os resultados obtidos foi possível concluir que:

- Em dados obtidos pelas caracterizações de NTS e NTS-F foi possível confirmar a funcionalização dos NTS-F, bem como suas morfologias, diâmetros e suas formas amorfas.
- Nas caracterizações das membranas foi possível confirmar um aumento na hidrofiliicidade das membranas de PSF e QTS quando acrescidos de NTS e NTS-F, respectivamente. Nas imagens de MEV-FEG foi possível observar a superfície e secção transversal de todas as composições de membrana.
- Nos ensaios de rejeição de íons de sais foi constada baixa rejeição dos sais NaCl e MgCl₂. Esta reduzida remoção pode ser atribuída ao afastamento das cadeias da QTS durante a pressão exercida ou ao tipo de reticulante utilizado, a EPC.
- Nos testes de toxicidade aguda com *Daphnia magna*, foi constatada uma maior toxicidade para os NTS-F do que o NTS e, através do resultado de lixiviação da membrana de QTS com 1,5% de NTS-F, foi constatada uma CE_{50,48h} de 3,25 g L⁻¹, que sugere que houve imobilização dos NTS-F na membrana, causando baixo efeito toxico. A maior toxicidade causada pelo NTS-F pode ser atribuída pela presença dos grupos funcionais NH₂ na superfície dos NTS-F, que pode estar facilitando a internalização dos NTS-F no interior da *D. magna*. No entanto para afirmar esta hipótese mais estudos são necessários
- Nos testes de toxicidade crônica com *D. magna* a toxicidade do NTS-F foi maior do que a do NTS

para todos os parâmetros avaliados (reprodução, crescimento e longevidade).

- No teste do MTT com células da linhagem Vero, os resultados de viabilidade celular demonstraram maiores valores de CE_{50} , novamente, para o NTS ($4,32 \text{ g L}^{-1}$) e menor para o NTS-F ($3,37 \text{ g L}^{-1}$). Estes resultados evidenciam dano mitocondrial maior para as células expostas ao NTS-F, reforçando a hipótese da internalização do material no interior das células. Entretanto estudos mais aprofundados sobre danos celulares causados por nanoestruturas de SiO_2 são necessários, principalmente para versões funcionalizadas.

8. RECOMENDAÇÕES

Com a intenção de aperfeiçoar e aprofundar os conhecimentos adquiridos nesta pesquisa recomenda-se para estudos futuros:

- Testar a rejeição de íons de sais com composições de membranas puras para comparação;
- Testar diferentes percentuais de adição de NTS e NTS-F nas membranas de PSF e QTS e caracterizá-las;
- Testar diferentes agentes de reticulação para a membrana de QTS e avaliar os efeitos na eficiência de rejeição de íons salinos;
- Realizar a quantificação dos ânions cloretos das soluções salinas permeadas.
- Realizar cortes de *Daphnia magna* a fim de verificar a presença de NTS-F para a confirmação da internalização dos mesmos.
- Realizar mais testes *in vitro* para constatar danos celulares, como fragmentação de DNA e apoptose, teste do micronúcleo, lipoperoxidação e metilação do DNA.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12.713**: Ecotoxicologia aquática - Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp. (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro: ABNT, 2009.

ABNT - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10.005**: Procedimento para obtenção de extrato lixiviado de resíduos. Rio de Janeiro: ABNT, 2004.

ALGHOUL, M. A.; POOVANAESVARAN, P.; MOHAMMED, M.H.; FADHIL, A.M.; MUFTAH, A.F.; ALKILANI, M.M.; SOPIAN K.. Design and experimental performance of brackish water reverse osmosis desalination unit powered by 2 kW photovoltaic system. **Renewable Energy**, v. 93, p. 101–114, 2016

AL-OTHMAN, Z.A.; INAMUDDINB; NAUSHADA, M. Determination of ion-exchange kinetic parameters for the poly-o-methoxyanilineZr(IV) molybdate composite cation-exchanger. **Chemical Engineering Journal**, v. 166, p. 639–645, 2011.

A.G.J. ZARAGOZA, G. Integration and optimization of pressure retarded osmosis with reverse osmosis for power generation and high efficiency desalination. **Energy**, v.103, p. 110–118, 2016.

ALVES, A. C. B. e SILVANO, J. **Avaliação da Sensibilidade de *Daphnia magna* Straus, 1820 (Cladóceras, crustácea) ao Dicromato de Potássio**. Universidade do Extremo Sul Catarinense. Criciúma, 2006.

AMBIENTE BRASIL. Disponível em: http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agua/artigos_agua_salgada/dessalinizacao_da_agua_do_mar.html>. Acesso em: 22 de Março de 2015.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, American Water Works Association, Water Environment Federation; **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed.**, American Public Health Association: Washington, 1998.

AZEVEDO, F. A. e CHASIN, A. A. M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Paulo: Rima e InterTox, 2003. 321p.

BHATTACHARJEE, S.; RIETJENS, I. M. C. M.; SINGH, M. P.; ATKINS, T. M.; PURKAIT, T. K.; XU, Z.; REGLI, S.; SHUKALIYAK, A.; CLARK, R. J.; MITCHELL, B. S.; GERRIT, M. A.; MARCELIS, A. T. M.; FINK, M. J.; VEINOT, J. G. C.; KAUZLARICH, S. M.; ZUILHOF, H. Cytotoxicity of surface-functionalized silicon and germanium nanoparticles: the dominant role of surface charges. **Nanoscale**, v. 5, n. 11, p.4870-4883, 2013.

BEGER, J.; REIST, M.; MAYER, J. M.; FELT, O.; PEPPAS, N. A.; GURNY, R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. p. 19-34, 2004.

BRASIL. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Lei nº 9.433. Institui a política Nacional de Recursos Hídricos, cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei no 8.001, de 13 de março de 1990, que modificou a Lei no 7.990, de 28 de dezembro de 1989. Diário Oficial da União, Brasília, 08 de janeiro de 1997.

BROWN, S. C.; KAMAL, M.; NASREEN, N.; BAUMURATOV, A.; SHARMA, P.; ANTONY, V. B. Influence of shape , adhesion and simulated lung mechanics on amorphous silica nanoparticle toxicity. **Advanced Powder Technology**, v. 18 (1), p. 69–79, 2007.

BRUNAUER, S.; EMMETT, P.H.; TELLER, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers, **J. Am. Chem. Soc.**, v. 60, p 309 – 319,1938.

CAMPANA-FILHO, S.P.; BRITTO, D.D.; CURTI, E.; ABREU, F.R.; CARDOSO, M. B.; BATTISTI, M. V.; SIM, P. C.; GOY, R. C.; SIGNINI, R.; LAVALL, R. L. Extração, Estrutura e propriedades de α - e β -Quitina. **Química Nova**, v. 30, p. 644-650, 2007.

CHANG, J.-S.; CHANG, K. L. B.; HWANG, D.-F.; KONG, Z.-L. *In Vitro* Cytotoxicity of Silica Nanoparticles at High Concentrations Strongly Depends on the Metabolic Activity Type of the Cell Line. **Environmental Science & Technology**, v. 41 (6), p. 2064–2068, 2007.

CHASIN, A.A. M. e PEDROZO, M. F.M. **O estudo da toxicologia**. In: AZEVEDO, F.A.; CHASIN, A.A. da M. (org) *As bases toxicológicas da ecotoxicologia*. São Carlos: RIMA, 2003.

CHIOU, M.S; HO, P.Y.; LI, H.Y. Adsorption of anionic dyes in acid solutions using chemically cross-linked chitosan beads. **Dyes and Pigments**, v. 60, p. 69–84, 2004.

CIIMAR - CENTRE OF MARINE AND ENVIRONMENTAL RESERCH. Disponível em: <http://www.ciimar.up.pt/> Acessado em: setembro 2015.

CLÉMENT, L.; ZENERINO, A.; HUREL, C.; AMIGONI, S.; TAF, E.; GIVENCHY, D.; GUITTARD, F.; MARMIER, N. Toxicity assessment of silica nanoparticles, functionalized silica nanoparticles and HASE-grafted silica nanoparticles. **Science of the Total Environment**, v. 451, p. 120–128, 2013.

CONAMA. CONSELHO NACIONAL DE MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA nº 430. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA. Diário Oficial da União, Brasília, 13 de maio de 2011.

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v.4, n.3, p. 29-38, 2009.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. Toxicity in aquatic environments: discussion and evaluation methods. **Química Nova**, v. 31, p. 1820–1830, 2008.

ELIMELECH, M.; PHILLIP, W.A. The future of seawater desalination: energy, technology, and the environment. **Science**, v. 333, p. 712–717, 2011.

EOM, H.J. e CHOI, J. Oxidative stress of silica nanoparticles in human bronchial epithelial cell, Beas-2B. **Toxicology In Vitro**. v. 23 (7), p. 1326–1332, 2009.

FILHO, M. T. e SANTOS, U. P. S. Silicose. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 32, cap. 7, p. 59-65, 2006.

FINKLER, R. **Avaliação de efeito tóxico de líquidos percolados sobre o sistema reprodutivo de *Daphnia magna***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 105p. 2002.

FRESHNEY, J. R. Culture of Animal Cells- Manual de Técnica Básica. 5 ed. Estados Unidos:Wiley, 642p., 2005.

FRUIJTIER-PÖLLOTH, C. The toxicological mode of action and the safety of synthetic amorphous silica — A nanostructured material. **Toxicology**, v. 294 (2-3), p. 61–79, 2012.

FU, Z.Q.; YAN, S; SALEH, A.; WANG, W.; RUBLE, J.; OKA, N.; MOHAN, R.; SPOEL, S.H.; TADA, Y.; ZHENG, N.; DONG, X. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. **Nature**, v. 486, p. 228–232, 2012.

GAO, P.; GUO, Z.; ZHANG, D.; ZHOU, X.; ZHOU, G. Performance analysis of evaporation-freezing desalination system by humidity differences. **Desalination**, v. 347, p. 215-223, 2014.

GONSALVES, A. A. E ARAÚJO, C. R. M. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215-1223, 2011.

GUILLEN, G.R.; PAN, Y.; LI, M.; HOEK, E.M.V. Preparation and characterization of membranes formed by nonsolvent induced phase separation: a review. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 50, p. 3798–3817, 2011.

HARRISON, C.J.; LE GOUELLEC, Y.A.; CHENG, R.C.; CHILDRESS, A.E. Bench-Scale Testing of Nanofiltration for seawater Desalination. **Journal of Environmental Engineering**, v. 133, p. 1004-1014, 2007.

HASSAN, A.M.; FAROOQUE, A.M.; JAMALUDDIN, A.T.M.; AL-AMOUDI, A.S.; AL-SOFI, M.A.K.; AL-RUBAIAN, A.F.; KITHER, N.M.; AL-TISAN, I.A.R.; ROWAILI, A. A demonstration plant based on the new NF–SWRO process. **Desalination**, v. 131, p. 157–171, 2000.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 6341**: Water quality – Determination of the inhibition of the mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test. ed 4, 22 p., USA, 2012.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 10706**: Water quality -- Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). ed 1, 17 p., USA, 2000.

JAMES, R. C.; ROBERTS, S. M.; WILLIAMS, P. L. **Principles of Toxicology: Environmental and Industrial Applications.**; 2nd ed., John Wiley & Sons: New York, 2000, cap. 1.

JIN, L.; SHI, W.; YU, S.; YI, X.; SUN, N.; MA, C.; LUI, Y. Preparation and characterization of a novel PA-SiO₂ nanofiltration membrane for raw water treatment. **Desalination**, v. 298, p. 34-41, 2012.

JU, H.; MCCLOSKEY, B.D.; SAGLE, A.C.; KUSUMA, V.A., FREEMAN, B.D. Preparation and characterization of crosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels as fouling-resistant membrane coating materials. **Journal of Membrane Science**, v. 330, p. 180–188, 2009.

JUSTI, K. C.; FÁVERE, V. T.; LARANJEIRA, M. C. M.; NEVES, A.; PERALTA, R. A. Kinetics and equilibrium adsorption of Cu(II), Cd(II), and Ni(II) ions by chitosan functionalized with 2[-bis-

(pyridylmethyl)aminomethyl]-4-methyl-6- ormylphenol. **Journal Of Colloid And Interface Science**, v. 291, n. 2, p.369-374, 2005.

KAUSHAL, S.S.; GROFFMAN, P.M.; LIKENS, G.E.; BELT, K.T.; STACK, W.P.; KELLY, V.R.; BAND, L.E.; FISHER, G.T. Increased salinization of fresh water in the northeastern United States. **PNAS- Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, p. 13517–13520, 2005.

KNIE, J. L.W. e LOPES, E.W.B. **Testes Ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA/ GTZ, 288 p., 2004.

KO, Y.G.; LEE, H.J.; OH, H.C.; CHOI, U.S. Amines immobilized double-walled silica nanotubes for CO₂ capture. **Journal of Hazardous Materials**, v. 250–251, p. 53–60, 2013.

KO, Y.G.; LEE, H.J.; OH, H.C.; CHOI, U.S. Cu²⁺ sequestration by amine-functionalized silica nanotubes. **Journal of Hazardous Materials**, v. 260, p. 489–497, 2013a.

KUMAR, R.; ISLOOR, A.M.; ISMAIL, A.F.; RASHID, S.A.; AHMED, A.A. Permeation, antifouling and desalination performance of TiO₂ nanotube incorporated PSf/CS blend membranes. **Desalination**, v. 316, p. 76–84, 2013.

LEE, S. H.; BAE, K. H.; KIM, S. H.; LEE, K. R.; PARK, T. G. Amine-functionalized gold nanoparticles as non-cytotoxic and efficient intracellular siRNA delivery carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364 (1), p. 94–101, 2008.

LIAO, T. T.; SHI, Y. L.; JIA, J. W.; WANG, L. Sensitivity of Different Cytotoxic Responses of Vero Cells Exposed to Organic Chemical Pollutants and their Reliability in the Bio-toxicity Test of Trace Chemical Pollutants. **Biomedical Environmental Sciences**, v. 3, p. 219-29, 2010.

LI, N.N.; FANE, A.G.; HO, W.S.W.; MATSUURA, T. **Advanced Membrane Technology and Applications**. John Wiley & Sons, Inc., Publication. USA. 2008. 989 p.

LIU, Z.; CHEN, K.; DAVIS, C.; SHERLOCK, S.; CAO, Q.; CHEN, X.; DAI, H. Drug delivery with carbon nanotubes for *in vivo* cancer treatment. **Cancer Research**, v. 68 (16), p. 6652–6660, 2008.

LI, X.; CAO, Y.; YU, H.; KANG, G.; JIE, X.; LIU, Z.; YUAN, Q. A novel composite nanofiltration membrane prepared with PHGH and TMC by interfacial polymerization. **Journal of Membrane Science**, v. 466, p. 82–91, 2014.

LI, Y.; JIN, M.; DU, Z.; LIU, X.; GUO, C.; LI, Y.; HUANG, P.; SUN, Z. Size-dependent cytotoxicity of amorphous silica nanoparticles in human hepatoma HepG2 cells. **Toxicology In Vitro**, v. 25, n. 7, p.1343-1352, 2011.

LLENAS, L.; RIBERA, G.; MARTÍNEZ-LLADÓ, X.; ROVIRA, R.; PABLO, J. Selection of nanofiltration membranes as pretreatment for scaling prevention in SWRO using real seawater. **Desalination and Water Treatment**, v. 51, p. 930–935, 2013.

LUO, M.L.; ZHAO, J.Q.; TANG, W.; PU, C.S. Hydrophilic modification of poly(ether sulfone) ultrafiltration membrane surface by self-assembly of TiO₂ nanoparticles. **Applied Surface Science**, v. 249, p. 76–84, 2005.

MALISKA, A. M. Microscopia eletrônica de varredura. Santa Catarina: Departamento de Engenharia Mecânica. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003. 98p. Apostila.

MANGER, R.L.; LEJA, L.S.; LEE, S.Y.; HUNGERFORD, J.M.; KIRKPATRICK, M.A.; YASUMOTO, T.; WEKELL, M.M. Detection of paralytic shellfish poison by rapid cell bioassay: antagonism of voltage-gated sodium channel active toxins *in vitro*. **Journal of AOAC International**, v.86, p.540-543, 2003.

MASER, E.; SCHULZ, M.; SAUER, U. G.; WIEMANN, M.; MAHOCK, L.; WOHLLEBEN, W.; HARTWIG, A.; LANDSIEDEL, R. *In vitro* and *in vivo* genotoxicity investigations of differently sized amorphous SiO₂ nanomaterials. v. 794, p. 57–74, 2015.

MASJEDI-ARANI, M.; GHANBARI, D.; SALAVATI-NIASARI, M.; BAGHERI, S. Sonochemical Synthesis of Spherical Silica Nanoparticles and Polymeric Nanocomposites. **Journal of Cluster Science**, v. 27 (1), p. 39–53, 2016.

MATIAS, W. G. Anotações de aula. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Federal de Santa Catarina. 2014.

MATIAS, W.G. e CREPPY, E.E. Lipoperoxidação induzida pelo ácido ocadáico, uma toxina marinha. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 04, p. 40–44, 1998.

MEDEIROS, A. M. **Síntese e caracterização de nanopartículas de Cr₂O₃ através do método sol-gel protéico**. 2007. 84p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) Programa de Pós Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

MELEGARI, S.P. **Estudo do mecanismo de ação tóxica da saxitoxina e avaliação de sua adsorção em materiais alternativos para aplicação em sistemas de tratamento de água**. 2010. 205p. Tese (Doutorado em Engenharia Ambiental), Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

MELEGARI, S. P.; MOUKHA, S.; CREPPY, E. E.; MATIAS, W. G. Evaluation of Cytotoxicity and Cell Death Induced In Vitro by Saxitoxin in Mammalian Cells. **Journal of Toxicology and Environmental Health**. Part A, v. 78, p. 1-12, 2015.

METCALF e EDDY, Inc., In: Tchobanoglous, G., Burton, F.L., Stensel, H.D. (Eds.), **Wastewater Engineering – Treatment, Disposal and Reuse**, fourth ed. McGraw-Hill, New York. 2003.

MEUNIER, C.F., DANDOY, P., SU, B.L. Encapsulation of cells within silica matrixes: Towards a new advance in the conception of living hybrid materials. **Journal of Colloid Interface Science**, v. 342, p. 211-224, 2010.

MIAO, J.; CHEN, G.; GAO, C.; DONG, S. Preparation and characterization of N,O-carboxymethyl chitosan/Polysulfone composite nanofiltration membrane crosslinked with epichlorohydrin. **Desalination**, v. 233, n. 1-3, p.147-156, 2008.

MIAO, J.; LIN, H.; WANG, W.; ZHANG, L. Amphoteric composite membranes for nanofiltration prepared from sulfated chitosan crosslinked with hexamethylenediisocyanate. **Chemical Engineering Journal**, v. 234, p. 132–139, 2013.

MIAO, J.; ZHANG, L.; LIN, H. A novel kind of thin film composite nanofiltration membrane with sulfated chitosan as the active layer material. **Chemical Engineering Science**, p. 152-159, 2013a.

MIERZWA, J. C. et al. Tratamento de água para abastecimento público por ultrafiltração: Avaliação comparativa através dos custos diretos de implantação e operação com os sistemas convencional e convencional com carvão ativado. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 13, n. 1, p. 78–87, 2008.

MOHAMMAD, A.W.; TEOW, Y.H.; ANG, W.L.; CHUNG, Y.T.; OATLEY-RADCLIFFE, D.L.; HILAL, N. Nanofiltration membranes review: Recent advances and future prospects. **Desalination**, v. 356, p. 226–254, 2015.

MOHSEN-NIA M.; MONTAZERI P.; MODARRESS H. Removal of Cu^{2+} and Ni^{2+} from wastewater with a chelating agent and reverse osmosis processes. **Desalination**, v. 217, p. 276-281, 2007.

MONTES-FONSECA, S. L.; ORRANTIA-BORUNDA, E.; AQUILAR-ELQUEZABAL, A.; HORTA, C. G.; TALAMÁS-ROHANA, P.; SÁNCHEZ-RAMIREZ, B. Cytotoxicity of functionalized carbon nanotubes in J774A macrophages. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, n. 6, p.853-859, 2012.

MONTGOMERY, M.A.; ELIMELECH, M. Water and sanitation in developing countries: including health in the equation. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p. 17–24, 2007.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MULDER, M. **Basic Principles of Membrane Technology**, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1996.

MULLANEY, J.R.; LORENZ, D.L.; ARNTSON, A.D. Chloride in groundwater and surface water in areas underlain by the Glacial Aquifer System, northern United States. **US Geological Survey Scientific Investigations Report**, 2009-5086, 41 p.

MURDOCK, R. C., BRAYDICH-STOLLE, L., SCHRAND, A. M., SCHLAGER, J. J.; HUSSAIN, S. M. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique. **Toxicological. Sciences**, v.101, p. 239-253, 2008.

MUSIĆ, S.; FILIPOVIĆ-VINCEKOVIĆ, N.; SEKOVANIĆ, L. Precipitation of amorphous SiO₂ particles and their properties. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, p. 89-94. 2011.

NAIMARK, W. A.; PEREIRA, C. A.; TSANG, K.; LEE, J. M.; J. HMDC crosslinking of bovine pericardial tissue: a potential role of the solvent environment in the design of bioprosthetic materials. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 6, p. 235-241, 1995.

NAPIERSKA, D.; THOMASSEN, L. C. J.; LISON, D.; MARTENS, J. A.; HOET, P. H. The nanosilica hazard : another variable entity. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 7 (1), p. 1-32, 2010.

NECHIFOR, G.; VOICU, S.I.; NECHIFOR, A.C.; GAREA, S. Nanostructured hybrid membrane polysulfone-carbon nanotubes for hemodialysis. **Desalination**, v. 241, p. 342-348, 2009.

ORÉFICE, R.L.; VASCONCELOS W.L.; MORAIS, M.A S. Estabilidade de Fases em Blendas de Policarbonato-Poliestireno Avaliada por Micro-FTIR, Análise Térmica e Microscopia

Eletrônica de Varredura. **Ciência e Tecnologia de Polímeros**, v. 14, p. 129-133, 2004.

ORGANIZATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. OECD. **OECD Guideline for the Testing of Chemicals - *Daphnia magna* Reproduction Test**: Guideline 211. Paris: OECD, 2012.

ORTEGA, F. S.; PANDOLFELLI, V.C.; RODRIGUES, J.A.; SOUZA, D.P.F. Aspectos da reologia e da estabilidade de suspensões cerâmicas. Parte I: fundamentos. **Cerâmica**, v. 43, p. 05–10, 1997.

PADAKI, M.; ISLOOR, A.M.; FERNANDES, J.; PRABHU, K.N. New polypropylene supported chitosan NF-membrane for desalination application. **Desalination**, v. 280, p. 419–423, 2011.

PANDA, S.R. e DE, S.. Preparation, characterization and performance of ZnCl₂ incorporated polysulfone (PSF)/polyethylene glycol (PEG) blend low pressure nanofiltration membranes. **Desalination**, v. 347, p. 52–65, 2014.

PERREAULT, F.; MATIAS, S.M.; MELEGARI, S.P.; CARVALHO-PINTO, C.R.S.; CREPPY, E.E.; POPOVIC, R.; MATIAS, W.G. Investigation of animal and algal bioassays for reliable saxitoxinecototoxicity and cytotoxicity risk evaluation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1021-1026, 2011.

PERULLINI, M., ORIAS, F., DURRIEU, C., JOBBÁGY, M., BILMES, S.A. Co-encapsulation of *Daphnia magna* and microalgae in silica matrices, a stepping stone toward a portable microcosm. **Biotechnology Reports**, v. 4, p. 147-150, 2014

RAND, G. M.; WELLS, P. G.; McCARTY, L. S. Em **Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment**; Rand, G. M., ed.; 2nd ed., Taylor & Francis: Washington, cap. 1, 1995.

REIMER, L., 1997. Transmission Electron Microscopy. 4 ed., **Springer Verlag**, Berlim, 1997.

ROUX, S.; VAN REENEN, A J.; MORKEL, C.; MEINCKEN, M. Hydrophilisation of polysulphone ultrafiltration membranes by incorporation of branched PEO-block-PSU copolymers. **Journal Of Membrane Science**, v. 276, n. 1-2, p.8-15, 2006.

SABESP – COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Disponível em: <<http://www2.sabesp.com.br/mananciais/DivulgacaoSiteSabesp.aspx>>. Acesso em: 15 de Fevereiro de 2015.

SABESP – COMPANHIA DE SANEAMENTO BÁSICO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Disponível em: <<http://site.sabesp.com.br/site/interna/>>. Acesso em: 22 de Março de 2016.

SALVADOR, D. **Estudo de filmes magnéticos nanoestruturados produzidos com ferrofluidos**. 2011. 105p. Dissertação (Mestrado em Física) Programa de Pós Graduação em Física, Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

SCAPIN, M.A. **Aplicação da difração e fluorescência de raios-X (WDXRF): ensaios de argilominerais** 2003. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Materiais- Tecnologia Nuclear), Programa de Pós Graduação em Ciências dos Materiais, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SHAFFER, D.L.; YIP, N.Y.; GILRON, J.; ELIMELECH, M. Seawater desalination for agriculture by integrated forward and reverse osmosis: improved product water quality for potentially less energy. **Journal of Membrane Science**, v. 415–416, p. 1–8, 2012.

SHANNON, M.A.;BOHN, P.W.; ELIMELECH, M.; GEORGIADIS, J.G.; MARINAS,B.J.; MAYES,A.M. Science and technology for water purification in the coming decades. **Nature**, v. 452, p. 301–310, 2008.

SHEN, J.; RUAN, H.; WU, L.; GAO, C. Preparation and characterization of PES–SiO₂ organic–inorganic composite ultrafiltration membrane for raw water pretreatment. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, p. 1272-1278, 2011.

SHENVI, S.S.; RASHID, S.A.; ISMAIL, A.F.; KASSIM, M.A.; ISLOOR, A.M. Preparation and characterization of PPEES/chitosan composite nanofiltration membrane. **Desalination**, v. 315, p. 135–141, 2013.

SINHA, M.K. e PURKAIT M.K. Preparation of fouling resistant PSF flat sheet UF membrane using amphiphilic polyurethane macromolecules. **Desalination**, v. 355, p. 155–168, 2015.

SONG, Y.F.; XU, J.; XU, Y.; GAO, X.; GAO, C. Performance of UF–NF integrated membrane process for seawater softening. **Desalination**, v. 276, p. 109–116, 2011.

SU, Y.L.; LI, C.; ZHAO, W.; SHI, Q.; WANG, H.J.; JIANG, Z.Y.; ZHU, S.P. Modification of polyethersulfone ultrafiltration membranes with phosphorylcholine copolymer can remarkably improve the anti-fouling and permeation properties. **Journal of Membrane Science**, v. 322, p. 171-177, 2008.

SUZUKI, T.; TANAKA, R.; TAHARA, M.; ISAMU, Y.; NIJNAE, M.; LIN, L.; WANG, J.; LUH, J.; CORONELL, O. Relationship between performance deterioration of a polyamide reverse osmosis membrane used in a seawater desalination plant and changes in its physicochemical properties. **Water Research**, v. 100, p.326-336, 2016.

TAMBURINI, A.; CIPOLLINA, A.; MICALE, G.; PIACENTINO, A.. CHP (combined heat and power) retrofit for a large MED-TVC (multiple effect distillation along with thermal vapour compression) desalination plant: high efficiency assessment for different design options under the current legislative EU framework. **Energy**, In press, 2016

THE UNITED NATIONS WORLD. Water Development Report 3: Water in a Changing World, UNESCO Publishing, Paris, 2009.

TOFIGHY, M.A.; MOHAMMADI, T. Permanent hard water softening using carbon nanotube sheets. **Desalination**, v. 268, p. 208–213, 2011.

TOKUI, Y.; MORIGUCHI, H.; NISHI, Y. Comprehensive environmental assessment of seawater desalination plants: multistage flash distillation and reverse osmosis membrane types in Saudi Arabia. **Desalination**, v. 351, p. 145-150, 2014.

UNFPA – UNITED NATIONS POPULATION FUND –.The State of World Population 2011. Disponível em: <<http://foweb.unfpa.org/SWP2011/reports/EN-SWOP2011-FINAL.pdf>> Acesso em: 12 de Fevereiro de 2015.

UNITED NATION. **The Millenium Development Goals Report 2014 United Nations**. New York:2014. Disponível em: <<http://www.un.org/millenniumgoals/reports.shtml>>.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **EPA-821-R-02-013: Short-term Methods for Estimating the chronic Toxicity of effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms**. 4th ed. Washington, USA, 2002.

VASCONCELOS, H.; FÁVERE, V. T.; GONÇALVES, N. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Chitosan modified with Reactive Blue 2 dye on adsorption equilibrium of Cu(II) and Ni(II) ions. **Reactive And Functional Polymers**, [s.l.], v. 67, n. 10, p.1052-1060, 2007

VICENTINI, D.S.; SMANIA, A. Jr.; LARANJEIRA, M.C.M. Chitosan/poly(vinylalcohol) films containing ZnO nanoparticles and plasticizers **Materials Science and Engineering**, v. 30. p. 503–508, 2010.

VITALI, L.; LARANJEIRA, M. C. M.; GONÇALVES, N. S.; FÁVERE, V. T.. Spray-dried chitosan microspheres containing 8-hydroxyquinoline -5 sulphonic acid as a new adsorbent for Cd(II) and Zn(II) ions. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 42, n. 2, p.152-157, 2008.

VUONG, D. X. Two stage nanofiltration seawater desalination system, U.S. Patent: 7,144,511, Dec. 2006.

VUPPUTURI, S. PARKS, C. G.; NYLANDER-FRENCH, L. A.; OWEN-SMITH, A.; HOGAN, A. L.; SANDLER, D. P. Occupational Silica Exposure and Chronic Kidney Disease. **Renal Failure**, v. 34, n. 1, p. 40-46, 2011.

WANG, X.; LI, M.; GOLDING, B. T.; SADEGHI, M.; CAO, Y.; YU, E. H.; YU A , SCOTT, K. A polytetrafluoroethylene-quaternary 1,4-diazabicyclo- [2.2.2]-octane polysulfone composite membrane for alkaline anion exchange membrane fuel cells. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 36, p. 10022-10026, 2011.

WAN, H.; WILLIAMS, R. L.; DOHERTY, P. J.; WILLIAMS, D. F. Cytotoxicity evaluation of Kevlar and silicon carbide by MTT assay. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v.5, p.411-415, 1994.

WU, C.R.; ZHANG, S.H.; YANG, D.L. Preparation and performance of novel thermal stable composite nanofiltration membrane. **Journal of Membrane Science**, v. 326, p. 429-434, 2009.

XING Y.Q.; CHEN X.M.; WANG D.H. Electrically regenerated ion exchange for removal and recovery of Cr(VI) from wastewater. **Environmental Science & Technology**, v. 41, p.1439–1443, 2007.

XIONG, L. Q.; CHEN, Z. G.; YU, M. X.; LI, F. Y.; LIU, C.; HUANG, C. H. Synthesis, characterization, and *in vivo* targeted imaging of amine-functionalized rare-earth up-converting nanophosphors. **Biomaterials**, v. 30 (29), p. 5592–5600, 2009.

YANG, X.; LIU, J.; HE, H.; ZHOU, L.; GONG, C.; WANG, X.; YANG, L.; YUAN, J.; HUANG, H.; HE, L.; ZHANG B. SiO₂ nanoparticles induce cytotoxicity and protein expression alteration in HaCaT cells. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 7 (1), p. 1, 2010.

YANG X.J.; FANE A.G.; SOLDENHOFF K. Comparison of liquid membrane processes for metal separations: permeability, stability, and selectivity. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, p. 392–403, 2003.

YE, Y.; LIU, J.; XU, J.; SUN, L.; CHEN, M.; LAN, M. Nano-SiO₂ induces apoptosis via activation of p53 and Bax mediated by oxidative stress in human hepatic cell line. **Toxicology In Vitro**, v. 24 (3), p. 751–758, 2010.

T.; YOSHITAKE, H.; TATSUMI, T. Synthesis of amino-functionalized MCM-41 *via* direct co-condensation and post-synthesis grafting methods using mono-, di- and tri-amino-organoalkoxysilanes. **Journal of Materials Chemistry**, v.14, p. 951-957, 2004.

YULIWATI, E. e ISMAIL, A.F. Effect of additives concentration on the surface properties and performance of PVDF ultrafiltration membranes for refinery produced wastewater treatment. **Desalination**, v. 273, p. 226–234, 2011.

YU, M-H. Environmental toxicology: biological and health effects of pollutants. 2a ed. **CRC Press LLC**. Florida, 2005.

ZHANG, X. Q.; YIN, L. H.; TANG, M.; PU, Y. P. ZnO, TiO₂, SiO₂, and Al₂O₃ Nanoparticles-induced Toxic Effects on Human Fetal Lung Fibroblasts. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 24 (6), p. 661–669, 2011.

ZHOU, D.; ZHU, L.; FU, Y.; ZHU, M.; XUE, L. Development of lower cost seawater desalination processes using nanofiltration technologies — A review. **Desalination**, v. 376, p.109-116, 2015.

ZHU, J.; TIAN, M.; ZHANG, Y.; ZHANG, H.; LIU, J. Fabrication of a novel “loose” nanofiltration membrane by facile blending with Chitosan–Montmorillonite nanosheets for dyes purification. **Chemical Engineering Journal**, v. 265, p. 184–193, 2015.

10. ANEXOS

Anexo I – Ficha de controle para os testes de toxicidade aguda utilizada neste trabalho.

 LABTOX <small>Laboratório de Toxicologia Ambiental</small> <small>IBAMA - COTAÇÃO</small>				
Substância		Data do Teste		
Lote Utilizado		Hora Início		
OBS.:				
Número de Organismos Imóveis				
Concentração da amostra (%)	24 h		48 h	
	A	B	A	B
Controle				
CE(50) 48 h=		FD=		

