

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

JÉSSICA GUERREIRO MARTINS

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE PECTINA/QUITOSANA E ESTUDOS
DE ADSORÇÃO DE ÍONS Cu(II)**

DISSERTAÇÃO

APUCARANA
2019

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

JÉSSICA GUERREIRO MARTINS

**DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE PECTINA/QUITOSANA E ESTUDOS
DE ADSORÇÃO DE ÍONS Cu(II)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins
Co-orientador: Prof. Dr. Edmilson Antonio Canesin

APUCARANA
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

M386d Martins, Jéssica Guerreiro

Desenvolvimento de membranas de pectina/quitosana e estudos de adsorção de íons Cu(II) / Jéssica Guerreiro Martins. – Apucarana: [s.n.], 2019.

74 f. : il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins

Coorientador: Prof. Dr. Edmilson Antonio Canesin

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Apucarana, 2019.

Bibliografia: f. 66-74

1. Polissacarídeos. 2. Pectina. 3. Quitosana. I. Martins, Alessandro Francisco, orient. II. Canesin, Edmilson Antonio, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. IV. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. V. Título.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE PECTINA/QUITOSANA E ESTUDOS DE ADSORÇÃO DE ÍONS Cu(II)

por

JÉSSICA GUERREIRO MARTINS

Dissertação de mestrado apresentada no dia 28 de Fevereiro de 2019 como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Prof. Dr. Alessandro Francisco Martins (Orientador)
(UTFPR) – Câmpus Apucarana

Profa. Dra. Ana Maria Ferrari Lima (Membro Titular)
(UTFPR) – Câmpus Apucarana

Profa. Dra. Thelma Sley Pacheco Cellet (Membro Titular)
(UEM) – Câmpus Goioerê

Profa. Dra. Alessandra Furtado da Silva
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

“O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós Graduação em Engenharia Ambiental”;

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser o Deus do impossível, me mostrando sempre como transformar as dificuldades em aprendizado e permitindo-me evoluir constantemente. Também a Nossa Senhora, mãe de Deus e minha, por me pegar no colo tantas vezes e me fazer levantar nas horas de aflição.

Ao meu pai, Sebastião, agradeço simplesmente por tudo. Por me apoiar, pelo amor, e pela sua coragem e força, diante dos desafios enfrentados nos últimos meses. À minha irmã, Myllena, por ser minha companheira, sempre presente e prestativa. E ao meu namorado, Marcos, agradeço pelo carinho e paciência. Por sempre estar ao meu lado, me apoiando, fazendo os meus dias mais felizes. Aos demais familiares, pela admiração, torcida e momentos de união e alegria, que fazem compensar qualquer esforço.

Agradecer por todo conhecimento científico repassado, seriedade, companheirismo, respeito, dedicação e amizade do meu orientador Professor Dr. Alessandro Francisco Martins, e ao meu co-orientador, Professor Dr. Edmilson Antonio Canesin pelos materiais disponibilizados e a prestatividade diante das minhas dúvidas.

Agradecer aos professores Elton Bonafé, Johny Monteiro, Sandro Venter, pelos materiais disponibilizados ao longo dos estudos realizados.

Aos membros da banca, agradeço por aceitarem o convite de participação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental e à Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR Câmpus Apucarana/Londrina, a oportunidade de estar concluindo o mestrado, para obtenção do título de mestre em Engenharia Ambiental.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo apoio financeiro.

A todos meus amigos, agradeço por vocês existirem na minha vida. Aos meus colegas de laboratório, agradeço por toda confiança, respeito e companheirismo, por terem feito parte da minha vida nessa caminhada, que Deus sempre guie o caminho de vocês, para que possam realizar tudo que almejam.

Por fim, dedico este trabalho a minha Mãe, Claudinéa (*in memoriam*), minha maior “Saudade”. Agradeço por sua alegria, pelo exemplo de perseverança, determinação e força. O tempo que passamos juntas foi curto, porém suficiente para aprender e tentar ser um pouco da pessoa maravilhosa que você foi.

“... se tiverdes fé como um grão de mostarda, direis a este monte: Passa daqui para acolá, e ele passará. E nada vos será impossível”.

Mateus 17:20

RESUMO

MARTINS, Jéssica Guerreiro. **Desenvolvimento de membranas de pectina/quitosana e estudos de adsorção de íons Cu(II)**. 2019. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Apucarana, 2019.

O desenvolvimento de materiais duráveis a base de polissacarídeos tem sido um desafio devido à baixa estabilidade em meio aquoso. Por isso, neste trabalho, por meio de uma metodologia inédita, propusemos o desenvolvimento de membranas poliméricas duráveis e resistentes. As membranas de pectina e quitosana (PT/QT) foram produzidas por meio de blendas poliméricas obtidas em HCl 0,10 mol L⁻¹, preparadas em diferentes razões PT/QT (m/m). Hidrogéis físicos (PECs – Complexos polieletrólíticos) isentos de reticulação química foram processados com excesso de pectina (PT) em suas estruturas, partindo-se de PT com alto grau de O-metoxilação (56%). As membranas foram caracterizadas por meio de espectroscopia na região do infravermelho no modo refletância total atenuada (FTIR-ATR), análise térmica (TGA/DSC), espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS), microscopia eletrônica de varredura (SEM) e análise das propriedades mecânicas. Membranas estáveis e resistentes (resistência à tração na faixa de 39 a 18 MPa) foram obtidas nas razões PT/QT (m/m) de 14, 5, e 2. A membrana contendo o maior teor em massa de PT (93%) em sua estrutura (amostra M(28-2)) foi utilizada como material adsorvente de íons Cu(II). Estudos de cinética e equilíbrio de adsorção mostraram que o modelo cinético de pseudo-segunda ordem e o modelo isotérmico de Sips se ajustaram aos dados experimentais, proporcionando os maiores valores de coeficiente de determinação e menores desvios. A membrana M(28-2) apresentou capacidade máxima de adsorção (q_m) de 29,20 mg g⁻¹ e ciclos de adsorção/dessorção indicaram que o material pode ser reutilizado. Após ensaios de adsorção, pode-se aplicar o material contendo íons Cu(II) adsorvidos no campo biomédica. A membrana com íons Cu(II) adsorvidos (M(28-2)/Cu) foi citocompatível para células tronco mesenquimais do tecido ósseo (MSCs) e, apresentou atividade bacteriostática contra *Escherichia coli*. Pela primeira vez, membranas duráveis e resistentes de PT/QT contendo excesso de PT em suas estruturas foram desenvolvidas e, então, a membrana com maior percentual de PT foi usada como agente adsorvente de íons Cu(II).

Palavras-chave: Hidrogéis Físicos, Polissacarídeos, Estabilidade, Recuperação, Adsorção, Membranas.

ABSTRACT

MARTINS, Jéssica Guerreiro. **Development of pectin/chitosan membranes and adsorption studies of Cu(II) ions.** 2019. Master degree. Environmental Engineering Master Program (PPGEA), Federal University of Technology (UTFPR). Apucarana, 2019.

The development of durable materials based on polysaccharides has been a challenge due to low water stability. Therefore, in this work, through an unpublished methodology, we proposed the development of durable and resistant polymeric membranes. The pectin and chitosan-based membranes (PT/QT) were produced by using polymeric blends obtained in HCl 0,10 mol L⁻¹ prepared in different ratios PT/QT (w/w). Physical hydrogels (PECs – polyelectrolytes complexes) without chemical crosslinking were processed with pectin (PT) excess in their structures, using PT with a high degree of O-methoxylation (56%). The membranes were characterized by infrared spectroscopy in total attenuated reflectance mode (FTIR–ATR), thermal analysis (TGA/DSC), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), scanning electron microscopy (SEM) and analysis of mechanical properties. Stable and resistant membranes (with tensile strength in the range of 39 to 18 MPa) were obtained in the PT/QT (w/w) ratios at 14, 5 and 2. The membrane containing the highest mass content of PT (93%) in its structure (sample M (28-2)) was used as adsorbent material for Cu(II) ions. Kinetics and adsorption equilibrium studies showed that the kinetic model of pseudo-second-order and Sips isothermal model adjusted well to the experimental data, providing the highest coefficient determination values and lower deviations. The membrane M(28-2) presented a maximum adsorption capacity (q_m) of 29.20 mg g⁻¹ and adsorption/desorption cycles indicated that the material could be reused. After adsorption tests, the material containing Cu(II) ions can be applied in the biomedical field. The membrane with ions Cu(II) (M(28-2)/Cu) was cytocompatible for mesenchymal stem cells (MSCs) and had bacteriostatic activity against *Escherichia coli*. For the first time, durable and resistant PT/QT membranes containing PT in excess in their structures were developed, and then the membrane with a higher percentage of PT was used as an adsorbent agent for Cu(II) ions.

Keywords: Physical Hydrogels, Polysaccharides, Stability, Recovery, Adsorption, Membranes.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura linear do ácido D-galacturônico que ocorre na pectina.....	12
Figura 2. Estrutura química da quitosana.....	14
Figura 3. Esquema utilizado para obter membranas PT/QT.....	23
Figura 4. Imagens digitais da blenda PT/QT (Fig. 4A), membrana M(28-2) não neutralizada e seca em estufa a 35°C (Fig. 4B), membrana M(28-2) neutralizada e seca em estufa a 35°C (Fig. 4C).....	23
Figura 5. Resultados de desintegração/dissolução das membranas em PBS (pH 7,4) a 37°C.....	35
Figura 6. Curvas TGA/DTG: membranas M(20-10) (A), M(25-5) (B), M(28-2) (C), QT (pó) e filme de PT puro não neutralizado (D).....	40
Figura 7. Curvas de DSC das membranas M(20-10) (A), M(25-5) (B) e M(28-2) (C).....	42
Figura 8. Espectros FTIR-ATR: (A) M(20-10), (B) M(25-5) e (C) M(28-2).....	43
Figura 9. Espectros XPS das superfícies M(20-10), M(25-5), M(28-2).....	44
Figura 10. Espectros XPS de alta resolução: envelopes C1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2). R = -CH ₃ e -C ₂ H ₅	46
Figura 11. Espectros XPS de alta resolução: envelopes O1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2).....	46
Figura 12. Espectros XPS de alta resolução: envelopes N1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2).....	47
Figura 13. Imagens SEM das membranas: M(20-10), M(25-5) e M(28-2).....	48
Figura 14. Imagens SEM (fratura) das membranas: M(20-10), M(25-5) e M(28-2).....	49
Figura 15. Estudo do efeito do pH nos ensaios de adsorção de íons Cu(II). Condição experimental utilizada no ensaio de adsorção: 2 corpos de prova do adsorvente M(28-2) (50 × 25 mm; massa média de adsorvente = 0,0846 g), 50 mL da solução do adsorbato (40 mg L ⁻¹), 100 rpm de agitação, 25°C e 24 h de ensaio.....	50
Figura 16. Efeito da dosagem sobre o processo de adsorção de íons Cu(II). Condição experimental utilizada: 50 mL da solução Cu(II) a 40 mg L ⁻¹ (pH 5,5), 100 rpm de agitação, 25°C, 24 h e pH de equilíbrio 4,5.....	51

Figura 17: Curva da cinética de adsorção de íons Cu(II) com ajustes não-lineares dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich. Condição experimental: 0,0846 g de adsorvente (dois corpos de prova), 50 mL de solução de Cu(II) a 40 mg L ⁻¹ , pH 5,5, 100 rpm de agitação, pH 4,5 (condição de equilíbrio) a 25°C.....	52
Figure 18: Isotermas de adsorção: Ajustes não-lineares dos modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, e Sips. Condição experimental: 0,0846 g de sólido adsorvente (massa média de dois corpos de prova), 50 mL de solução Cu(II) na faixa de concentração entre 5 a 100 mg L ⁻¹ (pH= 5,5), 100 rpm de agitação, pH 4,5 no equilíbrio, 25°C, 120 min.....	54
Figura 19. Fator de separação de Langmuir (R _L).....	56
Figura 20. Espectros XPS das membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu (survey).....	60
Figura 21. Espectro XPS de alta resolução do envelope Cu2p obtido na superfície da amostra M(28-2)/Cu (após ensaio de adsorção).....	61
Figura 22. Imagens digitais das placas de cultura de <i>E. coli</i> contendo discos (6 mm) das membranas M(28-2)Cu e e M(28-2), após 24h de incubação a 37°C. Os ensaios foram realizados nas condições de pH 6,0 e 7,4.....	62
Figura 23. Resultados de viabilidade celular sobre células MSCs promovidas pelas amostras M(28-2), M(28-2)/Cu, células (controle negativo) e titânio (controle positivo) depois de 4 dias de análise a 37°C. Os termo *** indica resultado significativamente diferente com p ≤ 0,001.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aplicações de sais de cobre(II).....	8
Tabela 2. Equações não lineares dos modelos cinéticos utilizados neste estudo.....	17
Tabela 3. Equações não-lineares dos modelos isotérmicos utilizados neste estudo.....	19
Tabela 4. Condições experimentais usadas para produzir membranas PT/QT.....	22
Tabela 5. Composição teórica e real de PT e QT nas membranas e rendimento de complexação.....	33
Tabela 6. Resistência a tração (σ) e alongamento (%) até ruptura (ϵ) das membranas.....	36
Tabela 7. Grau de intumescimento das membranas PT/QT neutralizadas determinadas em SGF (pH 1,2) e SIF (pH 6,8) a 37°C por 24 h.....	38
Tabela 8. Parâmetros cinéticos dos modelos pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich obtidos por meio dos ajustes descritos da Fig. 17.....	53
Tabela 9. Parâmetros de equilíbrio dos modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson e Sips obtidos com o ajuste dos modelos isotérmicos aos dados experimentais preditos na Fig. 18.....	55
Tabela 10. Comparação entre resultados de q_m e dosagem obtidos neste estudo com dados relatados na literatura, envolvendo outras membranas adsorventes na remoção de íons Cu(II).....	57
Tabela 11. Avaliação do potencial de reutilização da membrana M(28-2) por meio da realização de ciclos de adsorção/dessorção. Os estudos de adsorção foram realizados em 120 min de ensaio (n=5).....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C_e = Concentração de adsorvato remanescente no equilíbrio

CONAMA = Conselho Nacional do Meio Ambiente

Cu(II) = Íons cobre

Cu = Átomo de cobre

DTG = Derivada primeira das curvas de análise termogravimétrica

DSC = Calorimetria diferencial exploratória

EPA = Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

FAAS = Técnica de espectroscopia de absorção atômica por chama

FTIR–ATR = Espectroscopia na região do Infravermelho no modo de refletância total atenuada

SEM = Microscopia eletrônica de varredura

MTT = 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-brometo de difenil tetrazólio

PBS = Solução tampão de fosfato (pH 7,4)

pK_a = Constante de equilíbrio

PT = Pectina

q_e = Massa de adsorvato adsorvida por grama de adsorvente no equilíbrio

q_m = Capacidade máxima de adsorção

QT = Quitosana

SGF = Fluído gástrico simulado

SIF = Fluído gástrico intestinal

TGA = Análise termogravimétrica

XPS = Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X

Δq_e = Desvio padrão normalizado

Artigos publicados durante o mestrado

MARTINS, J. G.; OLIVEIRA, A. C.; GARCIA, P. S.; KIPPERC, M. J.; **MARTINS, A. F.** Durable pectin/chitosan membranes with self-assembling, water resistance and enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 188, p. 136–142, 2018.

MARTINS, J. G.; CAMARGO, S. E. A.; BISHOPC, T. T.; POPATC, B. K.; KIPPERC, M. J.; **MARTINS, A. F.** Pectin-chitosan membrane scaffold imparts controlled stem cell adhesion and proliferation. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, p. 47-56, 2018.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	4
2 OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo Geral	6
2.2 Objetivos Específicos	6
3 REFERÊNCIAL TEÓRICO	7
3.1 Contaminação por metais tóxicos	7
3.2 Hidrogéis físicos	9
3.3 O processo de adsorção e hidrogéis como agentes adsorventes	10
3.4 Pectina	12
3.5 Quitosana	13
3.6 Membranas de pectina/quitosana e aplicações tecnológicas	15
3.7 Cinética de adsorção	16
3.7.1. Modelo cinético de pseudo-primeira ordem	17
3.7.2. Modelo cinético de pseudo-segunda ordem	18
3.7.3. Modelo cinético de Elovich	18
3.8 Isotermas de adsorção	18
3.8.1. Isoterma de Langmuir	19
3.8.2. Isoterma de Freundlich	20
3.8.3. Isoterma de Redlich-Peterson	20
3.8.4. Isoterma de Sips	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 Materiais	22
4.2 Preparo das membranas PT/QT	22
4.3 Determinação do rendimento de complexação entre PT e QT	23
4.4 Estudos de desintegração/degradação das membranas	24
4.5 Determinação do grau de intumescimento das membranas	25
4.6 Caracterização das membranas	25
4.6.1. Análise das propriedades mecânicas	25
4.6.2. Análise termogravimétrica (TGA/DTG)	25
4.6.3. Espectroscopia na região do infravermelho com refletância total atenuada (FTIR-ATR)	26
4.6.4. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	26
4.6.5. Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS)	26
4.6.6. Estudos de adsorção de íons Cu(II)	27
4.6.7. Ajustes dos modelos cinéticos e isotérmicos aos dados experimentais	28
4.6.8. Avaliação do potencial de dessorção de íons Cu(II)	29
4.7 Caracterização de membranas PT/QT após ensaio de adsorção	29
4.7.1. Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X	29
4.8 Propriedades biológicas das membranas M(28-2)/Cu	30
4.8.1. Ensaio antimicrobiano	30
4.8.1.1. Microrganismos utilizados e condições de crescimento	30
4.8.1.2. Ensaio antimicrobiano via método disco-difusão	30
4.8.2. Ensaio de viabilidade celular	31

4.8.2.1. Extração de células tronco mesenquimais (MSCs).....	31
4.8.2.2. Ensaio de viabilidade celular (citotoxicidade) via método AlamarBlue.....	31
4.9 Estatística.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
5.1 Rendimento de complexação e composição real de PT e QT nas membranas...	33
5.2 Estudos de desintegração/degradação das membranas	35
5.3 Análise das propriedades mecânicas	36
5.4 Grau de intumescimento	38
5.5 Análise termogravimétrica (TGA/DTG).....	39
5.6 Espectroscopia na região de Infravermelho (FTIR-ATR)	42
5.7 Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS)	44
5.8 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)	47
5.9 Estudos de adsorção de íons Cu(II) utilizando a membrana M(28-2)	49
5.9.1. Efeito do pH na adsorção de íons Cu(II).....	49
5.9.2. Efeito da dosagem no processo de adsorção de íons Cu(II).....	51
5.9.3. Cinética de adsorção e mecanismo.....	52
5.9.4. Isotermas de adsorção.....	53
5.9.5. Potencial de regeneração da membrana PT/QT.....	58
5.10 Caracterização da membrana M(28-2) após o ensaio de adsorção.....	59
5.10.1. Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS).....	59
5.11 Potencial de aplicação da membrana M(28-2)/Cu.....	61
5.11.1. Atividade antimicrobiana.....	61
5.11.2 Viabilidade celular via método AlamarBlue.....	63
6 CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS.....	66

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, novos materiais adsorventes a base de complexos polieletrólíticos (PECs) estão sendo desenvolvidos e aplicados em sistemas aquosos contaminados por metais tóxicos (FACCHI et al., 2018). PECs são formados pelo estabelecimento de interações eletrostáticas e/ou interações intermoleculares, entre segmentos de cadeias poliméricas com grupos ionizáveis de cargas opostas em solução (BHATTARAI; GUNN; ZHANG, 2010; TENTOR et al., 2017). Por isso, PECs são classificados como hidrogéis físicos, pois são materiais obtidos sem o uso de agentes químicos de reticulação. Portanto, a estabilidade dos PECs depende das características dos polímeros precursores (massa molar, fonte de extração, e outras), bem como da metodologia de preparo (FACCHI et al., 2017; LUO; WANG, 2014).

A pectina (PT) é um polissacarídeo aniônico que vem sendo utilizado no desenvolvimento de novos materiais PECs; porém, a PT apresenta solubilidade em água, fato que dificulta sua aplicação no desenvolvimento de PECs estáveis e duráveis. Contudo, a quitosana (QT) pode ser associada à PT para formar materiais PECs estáveis. Materiais poliméricos a base de PT e QT recebem destaque, pois ambos polissacarídeos apresentam propriedades de biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e outras propriedades (COIMBRA et al., 2011). PECs constituídos por esses polímeros vêm sendo estudados e aplicados na área médico-farmacêutica (NEUFELD; BIANCO-PELED, 2017), engenharia de tecidos (COIMBRA et al., 2011) e engenharia de alimentos (MACIEL; YOSHIDA; TEIXEIRA, 2015). Por outro lado, obter estruturas PECs estáveis, duráveis e resistentes ainda é um grande desafio.

Estudos recentes descrevem o desenvolvimento de membranas PECs de QT/PT com estruturas frágeis e porosas devido à predominância das forças de Coulomb (forças de longo alcance) na estrutura final dos materiais. Além disso, esses PECs de PT/QT são formados a partir de elevadas razões PT/QT (m/m) e, a partir de pectinas com baixo grau de *O*-metoxilação (BERNABÉ et al., 2005; CHEN et al., 2010; CABELLO; OCHOA; TAKARA, 2017). Isso ocorre uma vez que a PT possui maior solubilidade em meio aquoso em relação à QT. Portanto, o excesso de QT, pode e, deve promover maior estabilidade ao PEC PT/QT. Por outro lado, a PT tem função estrutural nas plantas e, por isso, um maior conteúdo de PT deve contribuir no aumento da resistência à tração do material final.

Portanto, este estudo relata um novo método de preparo, o qual foi utilizado na formação de PECs PT/QT com excesso de PT na matriz final dos materiais. Esses PECs são obtidos por meio do uso de PT com alto grau de *O*-metoxilação (56%). Os PECs serão formados por meio da associação de polissacarídeos naturais, tais como PT e QT. Não foram usados agentes externos e tóxicos de reticulação, bem como, plastificantes. A nova abordagem baseia-se no uso de PT com alto grau de *O*-metoxilação (56%), pois esta apresenta solubilidade em soluções de HCl 0,1 mol L⁻¹. Os PECs foram processados pelo método casting, por meio de blendas estáveis de PT e QT preparadas em HCl 0,1 mol L⁻¹. Membranas PECs com elevada estabilidade contra o processo de dissolução, com propriedade de reorganização (auto-montagem), duráveis e com elevada resistência à tração foram obtidas pela primeira vez. Essas características são de grande importância, tornando esses materiais com potencial aplicação em diversas áreas. Sabe-se que não há nenhum relato de membranas PECs estáveis aplicadas como agentes adsorventes de metais tóxicos. Por isso, esse estudo, irá abordar pela primeira vez o uso de uma membrana constituída de polissacarídeos naturais como agente adsorvente de íons Cu(II).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Obter hidrogéis físicos (membranas) a base de polissacarídeos naturais (pectina/quitosana) e aplicar esses materiais como agentes adsorventes de íons Cu(II).

2.2 Objetivos Específicos

- Obter hidrogéis (membranas) de pectina/quitosana por meio da evaporação (método casting) de blendas PT/QT obtidas em HCl 0,10 mol L⁻¹ em diferentes razões massa/massa.
- Caracterizar as membranas por meio das técnicas de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (SEM), análise térmica (TGA/DSC), medidas de propriedades mecânicas (resistência à tração) e espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS).
- Realizar estudos de adsorção de íons Cu(II) utilizando a membrana PT/QT como agente adsorvente.
- Otimizar condições de pH e dosagem do adsorvente para obter melhor desempenho no processo de adsorção.
- Avaliar a cinética de adsorção com aplicação de modelos (não-lineares) de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem, e Elovich.
- Aplicar as isotermas (modelos não-lineares) de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, Sips nas curvas experimentais de equilíbrio para estudar o processo de adsorção.
- Realizar ensaios de adsorção-dessorção para avaliar o potencial de regeneração da membrana adsorvente.
- Caracterizar as membranas contendo íons Cu(II) por meio de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS).
- Avaliar a citocompatibilidade e as atividades antimicrobianas da membrana PT/QT antes e após o processo de adsorção.

3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1 Contaminação por metais tóxicos

Atualmente, as atividades industriais, o rápido crescimento populacional e o descarte inapropriado de efluentes contaminados por metais tóxicos tem promovido a poluição de ambientes aquáticos, ocasionando sérios problemas ambientais. Por consequência, a poluição de recursos hídricos induz a contaminação de alimentos, animais, plantas e seres humanos (AHMARUZZAMAN, 2011; HALIM et al., 2018).

Os metais tóxicos não são biodegradáveis e podem ser acumulados em tecidos vivos, causando doenças, tais como alopecia areata, câncer, insuficiência renal e doença degenerativa do tecido ósseo (BASHA et al., 2011; CAROLIN et al., 2017). Em humanos, a toxicidade de metais causa principalmente danos ao sistema nervoso central e prejudica o funcionamento de rins e pulmões (AHMARUZZAMAN, 2011; UDDIN, 2017). Portanto, efluentes, águas residuárias e sistemas aquosos contaminados com metais tóxicos devem ser tratados adequadamente.

Os efluentes podem apresentar em sua composição contaminantes orgânicos e inorgânicos. A natureza dos poluentes pode determinar o tipo de tratamento a ser realizado. Os métodos mais utilizados no tratamento de efluentes contaminados por metais tóxicos são: precipitação química, filtração por membranas, troca iônica, osmose reversa, precipitação, eletrodeposição e adsorção (LIANG et al., 2010; HALIM et al., 2018). Estes métodos de tratamento objetivam atender as legislações ambientais, que limitam a concentração de um poluente em um determinado efluente que será destinado a um corpo receptor (EPA, 2003; CONAMA, 2011; OMS, 2017).

No meio ambiente, a contaminação por metais tóxicos é consequência de atividades naturais (partículas provenientes de atividades vulcânicas, incêndios florestais e outras) e antropogênicas (AHMARUZZAMAN, 2011). As fontes antropogênicas de contaminação ocorrem principalmente por meio de atividades industriais, tais como tingimento, mineração, fundição e produção de baterias. Estas atividades tem despertado o interesse de pesquisadores por produzirem grandes quantidades de efluentes contendo metais tóxicos (ALI; GUPTA, 2007; UDDIN, 2017). O grau de contaminação de uma pessoa irá depender de muitos fatores; no entanto, os mais importantes estão relacionados com o tipo de contaminante e a concentração do mesmo que foi exposta ao indivíduo (LAURA et al., 2018).

Os contaminantes metálicos de maior interesse são os metais cobre (Cu), chumbo (Pb), cromo (Cr), cádmio (Cd), mercúrio (Hg), níquel (Ni) e zinco (Zn) (FU; WANG, 2011; NAZARZADEH; MOTAHARI; SILLANPÄÄ, 2018). Este trabalho irá abordar estudos com o metal cobre. Este metal ocorre nas formas iônicas Cu(I) e Cu(II). A forma Cu(II) é a mais comum, pois é a espécie mais abundante no meio ambiente (CAROLIN et al., 2017; UDDIN, 2017). Nos seres humanos, o íon Cu(II) é incorporado por enzimas nos processos de desenvolvimento dos tecidos conjuntivo e ósseo (HU et al., 2017). A necessidade de ingestão diária de íons cobre em um adulto é de apenas 2 mg. Porém, o excesso deste no corpo humano (>250 mg) acarreta náusea, insuficiência renal e hepática e outras implicações (OLSON et al., 2014; AWUAL et al., 2016).

Compostos iônicos (sais inorgânicos) de Cu(I) geralmente são insolúveis em água, já os sais de cobre(II) (sulfato, carbonato, cloreto e nitrato) apresentam-se solúveis. Estes sais possuem vasta aplicação, como mostra a Tabela 1 (BRADBERRY, 2016).

Tabela 1. Aplicações de sais de cobre(II).

Sais de cobre(II)	Aplicação
Sulfato de cobre(II); Cloreto de cobre(II) Nitrato de cobre(II); Acetato de cobre(II)	Produção de fungicidas
Sulfato de cobre(II); Nitrato de cobre(II)	Fertilizantes
Sulfato de cobre(II)	Desinfetante
Carbonato de cobre(II); Sulfato de Cobre(II); Nitrato de cobre(II), Cloreto de Cobre(II), Acetato de cobre(II)	Conservantes de madeira
Sulfato de cobre(II); Óxido de cobre(II); Nitrato de cobre(II)	Tintas
Sulfato de cobre(II); Cloreto de cobre(II)	Galvanoplastia

O cobre é liberado em sistemas aquosos através do intemperismo natural do solo, uso intensivo de práticas de manejo agrícola, tratamento de esgoto e através de descargas industriais, como na fabricação de produtos químicos e ligas, revestimentos de cabos, na indústria têxtil, alimentícia e na fabricação de baterias. Considerando todas as fontes de origem, estima-se que a liberação anual de cobre para o meio

ambiente atinja cerca de 939.000 toneladas (AWUAL et al., 2016; ZAIDI; WANI; KHAN, 2017). A resolução 430 de 13 de maio de 2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA Nº 430/2011), dispõe que a quantidade máxima permitida de íons Cu em um efluente que irá ser lançado em um corpo receptor não pode ultrapassar a concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$.

Então, há necessidade de minimizar e/ou eliminar impactos ambientais relacionados à contaminação por metais tóxicos. Esse efeito, promove a busca pelo desenvolvimento de processos economicamente viáveis e ambientalmente amigáveis, que sejam capazes de promover a remoção de poluentes de sistemas aquosos contaminados (LOFRANO, 2012).

3.2 Hidrogéis físicos

Os hidrogéis são redes tridimensionais de polímeros parcialmente ou totalmente hidrofílicos. São materiais capazes de reter uma grande quantidade de água ou fluídos biológicos. Os hidrogéis podem apresentar características de flexibilidade, elasticidade, permeabilidade, elevada capacidade de intumescimento, biodegradabilidade, citocompatibilidade e outras (MAHINROOSTA et al., 2018).

Os hidrogéis podem ser classificados como químicos ou físicos (AKHTAR, et al., 2016). Hidrogéis químicos apresentam redes poliméricas organizadas e reticuladas, através de ligações químicas (covalentes), formando geralmente estruturas permanentes, estáveis e insolúveis em água. Já os hidrogéis físicos (complexos polieletrólíticos – PECs), são formados principalmente pelo estabelecimento de interações eletrostáticas entre grupos de cargas opostas em solução e, também, por meio de interações intramoleculares e intermoleculares entre polímeros com grupos ionizáveis de cargas opostas em solução aquosa. A estrutura de um hidrogel físico pode ser permanente, fato que dependerá do grau de associação entre as cadeias poliméricas no hidrogel. Este fato depende principalmente da metodologia de preparo do hidrogel PEC, tais como, condição de pH, força iônica, temperatura e tipo de precursores utilizados no processo de formação do material (MAHINROOSTA et al., 2018).

Por apresentar características versáteis, a aplicação de PECs a base de polissacarídeos naturais tem recebido destaque nas áreas de liberação controlada de fármacos (BHATTARAI; GUNN; ZHANG, 2010), na área de engenharia de tecidos

(GÓMEZ-MASCARAQUE et al., 2014) e na área ambiental (FACCHI et al., 2018). Polímeros naturais (polissacarídeos) tais como QT, PT, alginato, amido, e outros são utilizados na produção de PECs aplicados como agentes adsorventes (WU et al., 2018). Facchi et al. (2018), desenvolveram hidrogéis físicos a base de alginato e quitosana e utilizaram estes hidrogéis como agentes adsorventes para tratar sistemas contaminados por íons Pb(II). Os hidrogéis foram aplicados sobre um efluente de bateria e promoveu remoção de 99% do chumbo presente no efluente. O mecanismo de adsorção foi governado pelo processo de quimissorção, sendo que a adsorção dos íons Pb(II) no material, ocorreu através da formação de complexos metálicos entre o íon Pb(II) e os grupos $-\text{COO}^-$, $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$ presentes no sólido adsorvente (hidrogel). Além disso, esses hidrogéis foram obtidos sem o uso de agentes reticulantes tóxicos, conferindo potencial para serem utilizados em uma aplicação real (FACCHI et al., 2018).

A hidrofiliabilidade dos hidrogéis pode ser controlada pela natureza dos grupamentos laterais presentes nas cadeias dos polímeros precursores, tais como os grupos $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{NH}_2$, e $-\text{OSO}_3\text{H}$ (OZAY et al., 2009). Adsorventes a base de PECs são aplicados com sucesso no tratamento de sistemas contaminados por íons metálicos. PECs constituídos por polissacarídeos naturais têm atraído atenção de pesquisadores, devido à simplicidade de produção e viabilidade econômica no processo de formação dos materiais.

Os hidrogéis também recebem destaque devido às propriedades de estabilidade, biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade, atividade e, ainda devido à presença de um grande conteúdo de grupos hidrofílicos em suas estruturas (HUA; LI, 2014; HAMED I et al., 2018). A presença de grupos hidrofílicos favorece a interação com espécies metálicas em meio aquoso, promovendo o processo de adsorção. Neste estudo será utilizado um hidrogel físico (a base de membranas formado pela associação física entre PT e QT) como agente adsorvente de íons Cu(II).

3.3 O processo de adsorção e hidrogéis como agentes adsorventes

A adsorção é um processo governado por meio da transferência de massa envolvendo espécies presentes em sistemas aquosos ou gasosos em direção a superfície de sólidos adsorventes. As espécies adsorvidas (adsorvato ou adsorbato)

se concentram na superfície do sólido adsorvente (ou adsorbente). Este processo possibilita a separação de componentes presentes em sistemas aquosos e gasosos, por isso, a adsorção é uma técnica utilizada para tratar efluentes e águas residuárias (NASCIMENTO et al., 2014).

O processo de adsorção depende de diversos fatores, tais como área superficial do sólido adsorvente, dosagem de sólido adsorvente, presença de grupos funcionais no agente adsorvente, hidrofiliabilidade, temperatura, pH, concentração de adsorbato, entre outros. A influência destes fatores deve ser investigada, visando otimizar o processo de adsorção para se alcançar resultados satisfatórios em uma possível aplicação prática (LARGITTE; PASQUIER, 2016; NASCIMENTO et al., 2014).

Vários materiais podem ser utilizados como agentes adsorventes para tratar efluentes contaminados por metais tóxicos. Recebem destaque sólidos adsorventes a base de polímeros sintéticos, tais como poliacrilonitrila (DENG; BAI; CHEN, 2003) e ácido γ -poliglutâmico (NOOR et al., 2017), biossorventes a base de serragem, (KACZALA; MARQUES; HOGLAND, 2009), bagaço de cana (GUPTA; KHARAT, 2018), palha de arroz (BHATTACHARYA; MANDAL; DAS, 2006), casca de nozes (PEHLIVAN et al., 2009), casca de amendoim (JOHNSON et al., 2002), mármore em pó (GHAZY; GAD, 2014), carvão ativado (LARGITTE; PASQUIER, 2016) e outros.

Dentre estes agentes, o carvão ativado tem sido amplamente utilizado sequencialmente com ultrafiltração, pois apresenta elevada área superficial, estrutura porosa e eficiência para adsorver poluentes de sistemas aquosos e gasosos. As resinas de troca iônica também são utilizadas, apresentando alta seletividade, facilidade de aplicação e eficiência de remoção. No entanto, ambos os processos possuem como desvantagem o elevado custo de produção (HAMDAOUI, 2009; WANG et al., 2011; SABELA et al., 2016). Já a precipitação química é geralmente adaptada para o tratamento de águas residuais com alta concentração de íons metálicos, no entanto, é ineficaz quando a concentração de íons é baixa, pelo alto custo e, também, pela possível produção de lodo (KAMAL; POCHAT-BOHATIER; SANCHEZ-MARCANO, 2017).

Além disso, outras técnicas são utilizadas no tratamento de efluentes que contêm metais tóxicos, tais como, a precipitação química, extração de solvente, remoção eletroquímica, separação por membranas, entre outras. Porém, tais técnicas utilizam demanda alta de energia (AKAR et al., 2009). Por outro lado, hidrogéis

adsorventes produzidos a partir de polissacarídeos naturais, podem apresentar grande potencial, pois podem ser obtidos sem o uso de metodologias experimentais complexas, além de apresentarem eficiência no processo de adsorção.

Neste sentido, PECs biodegradáveis podem apresentar baixa citotoxicidade, e baixo custo de produção (PAULINO et al., 2009). Essas características são requeridas para o desenvolvimento de novos agentes adsorventes, pois podem contribuir para um processo de adsorção mais limpo e ambientalmente correto.

3.4 Pectina

A pectina é um polissacarídeo aniônico, solúvel em água e extraído principalmente das paredes celulares de plantas. A extração da PT ocorre através de tratamentos térmicos e mecânicos (WANG et al., 2016a), tal como a extração assistida por micro-ondas (FISHMAN et al., 2006) e a extração de alta pressão hidrostática, respectivamente (GUO et al., 2012). A PT apresenta em sua estrutura unidades lineares de ácido D-galacturônico (65%) parcialmente O-metoxiladas e O-etoxiladas, unidas por meio de ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ (Fig. 1) (TENTOR et al., 2017). Além disso, as cadeias lineares de ácido D-galacturônico podem apresentar ramificações laterais, formando estruturas complexas denominadas de rhamnogalacturonano-I, rhamnogalacturonano-II, arabinogalactano e xilogalacturonano (WANG et al., 2016a; NOREEN et al., 2017).

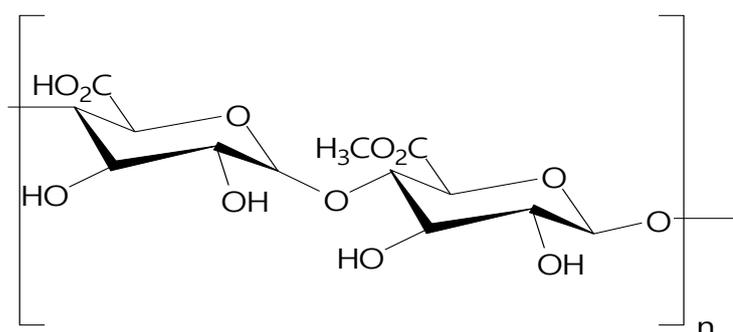


Figura 1. Estrutura linear do ácido D-galacturônico que ocorre na pectina.

A PT apresenta propriedades de biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade e, com isso, é aplicada na indústria de alimentos, cosméticos (atuando como agente gelificante, espessante e estabilizante), farmacêutica (compõe matrizes utilizadas na área de liberação controlada de fármacos) (NEUFELD; BIANCO-PELED, 2017), matrizes para aplicação na área de engenharia de tecidos (COIMBRA

et al., 2011; MUNARIN; TANZI; PETRINI, 2012) e, recentemente, aplicada para remover metais tóxicos de ambientes aquosos (LESSA et al., 2017).

Lessa et al. (2017) desenvolveram um material adsorvente a base de PT e microfibras de celulose extraídas da laranja. Este material apresentou excelente capacidade para remover íons Cd(II), Cu(II) e Fe(II) de águas residuais na dosagem de 150 mg (1,5 g L⁻¹). Os estudos de adsorção revelaram eficiência de remoção de 94%, 77% e 58% das espécies Fe(II), Cu(II) e Cd(II), respectivamente. A capacidade máxima de remoção (q_e) na condição de equilíbrio foi 192,3 mg g⁻¹ para os íons Cu(II), 88,5 mg g⁻¹ para os íons Cd(II) e 98,0 mg g⁻¹ para os íons Fe(II). Além disso, estudos mostraram que o material poderia ser utilizado por pelo menos cinco ciclos consecutivos de adsorção-dessorção. Desta forma, as membranas de PEC associadas às microfibras de celulose apresentaram excelente potencial de reutilização.

A PT possui um grau de metoxilação/etoxilação característico e, este parâmetro é utilizado para classificar a PT. Pectinas com alto grau de metoxilação/etoxilação (>50%) podem promover formação de hidrogéis em condições de pH abaixo de 3,5, devido à protonação dos grupos carboxilatos da PT e estabelecimento de interações intermoleculares entre os segmentos de cadeia da PT. As interações intermoleculares que governam a formação do hidrogel físico de PT (constituído somente de PT), ocorrem por meio do estabelecimento de interações de ligações de hidrogênio e Van der Waals. Pectinas de baixo grau de metoxilação/etoxilação (<50%) podem ser utilizadas para obter hidrogéis físicos (PECs) na presença de cátions polivalentes, tais como os íons cálcio, ferro, alumínio e outros (FRAEYE et al., 2010).

Estes dois tipos de hidrogéis de PT, geralmente apresentam baixa estabilidade em meio aquoso, devido à elevada solubilidade da PT em água. Este efeito limita a aplicação de hidrogéis físicos constituídos por PT. Para superar esta desvantagem, a PT pode ser associada à QT (um polissacarídeo catiônico), visando obtenção de PECs estáveis e mais duráveis (MARTINS et al., 2018a; MARTINS et al., 2018b).

3.5 Quitosana

A QT é um polímero derivado da quitina (segundo polissacarídeo mais

abundante do planeta) e sua obtenção ocorre principalmente por meio da reação de desacetilação parcial da quitina. A quitina é extraída principalmente da carapaça de crustáceos e insetos (MUXIKA et al., 2017a; TENTOR et al., 2017). A QT é um polissacarídeo linear, catiônico, composto por unidades D-glicosamina e *N*-acetil-D-glicosamina unidas por ligações glicosídicas $\beta(1\rightarrow4)$ (Fig. 2) (FACCHI et al., 2017).

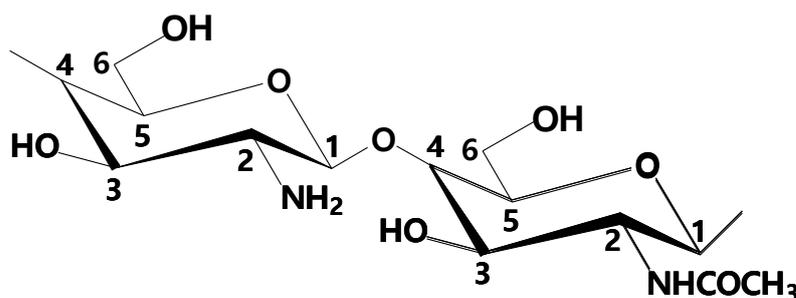


Figura 2. Estrutura química da quitosana.

A QT apresenta grupos quelantes $-\text{NH}_2$ na posição C(2) e grupos $-\text{OH}$ nas posições C(3) e C(6) de sua unidade repetitiva (Fig. 2). Em condições de pH abaixo de 6,5 ocorre protonação dos grupos amino, tornando a QT solúvel em soluções aquosas de ácidos diluídos (MEDEIROS BORSAGLI et al., 2015).

A QT apresenta propriedades similares a PT e, também, se destaca como um material versátil e promissor. Como a PT, a QT apresenta aplicações na indústria alimentícia, agrícola, farmacêutica, médica e na área ambiental. A QT pode ser utilizada como agente floculante/coagulante e hidrogéis a base de QT possuem capacidade para tratar efluentes contaminados por corantes e metais tóxicos (MUXIKA et al., 2017b).

Hidrogéis de QT no formato de membranas foram usados como agentes adsorventes de íons Cu(II) (GHAEE et al., 2010; WANG et al., 2016b). Porém as membranas de QT apresentaram-se frágeis e sensíveis a variação de pH. A variação de pH pode promover desintegração das membranas. Além disso, para conferir estabilidade as membranas de QT, as mesmas foram reticuladas quimicamente com glutaraldeído. A reticulação tornou as membranas mais resistentes contra os processos de dissolução e degradação. Por outro lado, o uso de glutaraldeído deve ser evitado, uma vez que, este reagente é tóxico para os seres vivos e meio ambiente.

3.6 Membranas de pectina/quitosana e aplicações tecnológicas

Hidrogéis podem ser preparados a partir de polímeros naturais e, esses podem ser confeccionados como esferas, membranas, micropartículas, nanopartículas, fibras, filmes e outros (HAMEDI et al., 2018). Este estudo irá abordar o preparo de membranas a base de PECs PT/QT. Não há estudo prévio descrevendo o uso de agentes adsorventes a base de membranas PT/QT e, muito menos, o uso de membranas PECs que sejam adsorventes, estáveis e resistentes com aplicação na área ambiental. Portanto, uma alternativa para produzir membranas com estabilidade para serem aplicadas como agentes adsorventes é promover a combinação de polieletrólitos de cargas opostas, tais como a PT e QT, visando obtenção de PECs a partir de soluções aquosas.

Chen et al. (2010) prepararam membranas PECs com elevada porosidade, combinando QT e PT na faixa de pH entre 3,4-4,7. Membranas QT/PT preparadas na razão 50/50 (m/m) foram obtidas com resistência à tração de 32 N g^{-1} . Porém, o material possuiu baixa estabilidade em meio aquoso (pH 7,4), apresentando perda de massa de 50% e 75% após 1 e 14 dias em contato com solução tampão de fosfato (PBS) a pH 7,4, respectivamente. PECs de PT e QT compreendem, frequentemente estruturas frágeis e porosas, devido ao estabelecimento majoritário de forças coulômbicas de longo alcance no hidrogel (CHEN et al., 2010). Estas propriedades dependem principalmente da condição de pH utilizada para formar os hidrogéis, bem como, do grau de metoxilação/etoxilação da PT, grau de desacetilação da QT e massa molar dos polímeros precursores.

Maciel et al. (2015), também prepararam filmes PT/QT em solução de ácido acético (pH = 3,0, 4,0, 5,0 ou 5,5). Para produzir PECs, as soluções PT e QT foram misturadas com o intuito de produzir precipitados que foram secos para formarem PECs (filmes), ao longo de uma extensa gama de razões PT/QT (entre 10/1 a 1/10). Esses materiais foram aplicados como embalagens de alimentos (MACIEL; YOSHIDA; TEIXEIRA, 2015).

Nestes estudos já publicados, os materiais baseados em PECs PT/QT foram preparados devido principalmente a ocorrência de interações eletrostáticas entre grupos -COO^- ($\text{pK}_a \approx 3,6\text{-}4,1$) nas cadeias de PT (OFORI-KWAKYE; FELL, 2001) e -NH_3^+ ($\text{pK}_a \approx 6,5$) nas cadeias de QT (FACCHI et al., 2018). Desta forma, estes PECs apresentaram menor estabilidade em solução tampão PBS, pois nesse meio as interações coulômbicas entre QT e PT são desfeitas devido à desprotonação dos

grupos $-NH_3^+$ nas cadeias de QT (CHEN et al., 2010). Em todos os estudos citados na literatura, PECs PT/QT são obtidos com excesso de QT, pois o excesso desse polímero promove maior estabilidade contra dissolução aquosa, uma vez que a QT é insolúvel em água, enquanto a PT apresenta alta solubilidade.

Portanto, este projeto visa otimizar a produção de membranas estáveis e resistentes a base de PT/QT, utilizando excesso de PT na composição do material. O pH das blendas PT/QT será ajustado para aproximadamente 1,0 com auxílio de HCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$. Esta condição inviabiliza a ocorrência predominante de interações eletrostáticas, pois a PT apresentará em sua estrutura excesso de grupos $-COOH$, enquanto a QT excesso de grupos $-NH_3^+$. As membranas serão obtidas sem auxílio de agentes químicos de reticulação, comumente tóxicos. As membranas serão formadas com excesso de PT na composição final do material, partindo-se de uma PT com alto grau de metoxilação/etoxilação (56%). O elevado grau de metoxilação/etoxilação na PT pode favorecer a formação de interações intermoleculares com as cadeias de QT.

Esse estudo irá abordar o uso de membranas PT/QT como agentes adsorventes. Porém, essas membranas já foram aplicadas no campo biomédico como matrizes scaffolds. Destaca-se a formação de membranas PECs (scaffolds) hidrofílicas a partir de diferentes razões PT/QT (m/m). Estas membranas apresentaram pela primeira vez considerável durabilidade e elevada resistência à tração similar a apresentada pela pele humana (5 a 28 MPa) (MARTINS et al., 2018b). Além disso, estas membranas scaffolds promoveram a ancoragem, a adesão e o suportou o crescimento de células-tronco humanas do tecido adiposo por até 7 dias de cultura celular. Sendo assim, as membranas PT/QT são materiais candidatos para aplicação na área de engenharia de tecido (MARTINS et al., 2018b). Nessa dissertação, será mostrado que a membrana contendo excesso de PT (93% em massa) apresenta potencial para atuar como agente adsorvente de íons $Cu(II)$, sendo descrito pela primeira na literatura.

3.7 Cinética de adsorção

O mecanismo de adsorção pode ser estudado investigando a cinética de adsorção que descreve a taxa de remoção do adsorvato do meio aquoso em função do tempo. Deste modo, estudos cinéticos são importantes para determinar o tempo

necessário para que ocorra a saturação da superfície do adsorvente e, assim, otimizar o tempo necessário de aplicação (NASCIMENTO et al., 2014).

Modelos cinéticos não lineares são aplicados nas curvas experimentais de adsorção que são plotadas em termos de q_t (quantidade de adsorbato adsorvida por grama de adsorvente na condição de equilíbrio) em função do t (tempo). Estes modelos matemáticos fornecem informações valiosas do processo de adsorção. Dentre essas informações, destaca-se a determinação das constantes de velocidade que envolvem o processo de adsorção, o tempo necessário para que haja saturação da superfície do adsorvente, e indicativos se o processo de adsorção ocorre via quimissorção ou fisissorção, e entre outras propriedades (NASCIMENTO et al., 2014; BHATTACHARYA; MANDAL; DAS, 2006). Os modelos cinéticos não lineares que serão aplicados nesse estudo são os modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich. As Equações dos modelos não lineares estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Equações não lineares dos modelos cinéticos utilizados neste estudo.

Modelos Cinéticos	
Pseudo-primeira ordem	$q_t = q_e[1 - e^{-k_1 t}]$
Pseudo-segunda ordem	$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t}$
Elovich	$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(1 + \alpha \beta t)$

q_t e q_e = quantidades em mg g^{-1} de adsorbato adsorvidas no intervalo de tempo t (antes da condição de equilíbrio) e no equilíbrio em (mg g^{-1}); k_1 = constante de velocidade do modelo cinético de pseudo-primeira ordem (min^{-1}); k_2 = constante de velocidade da cinética de pseudo-segunda ordem ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$); t = tempo de adsorção (min); α = representa a taxa inicial de adsorção ($\text{g gm}^{-1} \text{min}^{-2}$); β = coeficiente de dessorção ($\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$). α e β são as constantes de Elovich.

3.7.1. Modelo cinético de pseudo-primeira ordem

A equação não linear do modelo cinético de pseudo-primeira ordem foi introduzida por Lagergren (LAGERGREN, 1898; SIMONIN, 2016) e tem sido amplamente utilizada para investigar processos de adsorção em sistemas líquido-sólido. Este modelo estabelece que a velocidade de ocupação dos sítios ativos de ligação na superfície do adsorvente é proporcional ao número de sítios ativos na superfície do material adsorvente (HO; MCKAY, 1999).

3.7.2. Modelo cinético de pseudo-segunda ordem

O modelo cinético de pseudo-segunda ordem é um tipo especial de cinética, denominado de cinética de Langmuir, pois assume que a concentração do adsorbato é constante em relação ao tempo e, que o número de sítios ativos depende da quantidade de adsorbato adsorvido no equilíbrio (GUPTA; BHATTACHARYYA, 2011). Este modelo descreve processos de adsorção de natureza química, ou seja, aqueles que envolvem o compartilhamento de elétrons entre as espécies adsorbato-adsorvente (HO; MCKAY, 1999).

3.7.3. Modelo cinético de Elovich

O modelo cinético de Elovich foi originalmente proposto por Roginsky e Zeldovich (1934), e considera que a superfície de sólidos adsorventes é energeticamente heterogênea. Esse modelo prediz que as interações entre espécies de adsorbato são desprezadas e, que o processo de dessorção não influencia significativamente a cinética de adsorção quando o recobrimento da superfície do adsorvente está incompleta (GUPTA; BHATTACHARYYA, 2011). Embora tenha sido desenvolvido para descrever o processo de quimissorção em sistemas sólido-gás (HO; MCKAY, 2004), este modelo também é considerado adequado para descrever processos de adsorção química em sistemas sólido-líquido (WU; TSENG; JUANG, 2009; NASCIMENTO et al., 2014).

3.8 Isotermas de adsorção

As isotermas de adsorção representam a relação de equilíbrio entre a concentração do sólido adsorvente (q_e) com a concentração (C_e) da fase líquida (adsorbato), a uma determinada temperatura. A concentração de adsorbato na superfície do sólido é expressa em termos da massa (mg) de adsorbato adsorvida por unidade de massa (g) de adsorvente (MCCABE et al., 1993). As isotermas são imprescindíveis para prever a capacidade de adsorção de um sólido adsorvente (RAFATI et al., 2016).

A palavra isoterma relaciona-se com o fato de que os ensaios são realizados em temperatura constante, ou seja, sob condições isotérmicas (NASCIMENTO et al., 2014). O equilíbrio de adsorção é estabelecido quando a fase contendo adsorbato permanece em contato com a superfície do adsorvente por tempo suficiente (FOO;

HAMEED, 2010). A aplicação dos modelos isotérmicos propicia conhecer o mecanismo envolvido no processo de adsorção, através do ajuste dos modelos as curvas experimentais. Há uma diversidade de isotermas (modelos matemáticos), no entanto, os mais utilizados para interpretar ou prever dados de equilíbrio de adsorção são os modelos de Langmuir e Freundlich e modelos híbridos dos modelos de Langmuir e Freundlich (Redlich-Peterson and Sips) (FOO; HAMEED, 2010; NASCIMENTO et al., 2014). Os modelos utilizados neste trabalho estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3. Equações não lineares dos modelos isotérmicos utilizados neste estudo.

Modelos Isotérmicos	
Langmuir	$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e}$
- Fator de separação adimensional de Langmuir (R_L)	$R_L = \frac{1}{1 + K_L C_e}$
Freundlich	$q_e = k_F C_e^{1/n_F}$
Redlich-Peterson	$q_e = \frac{a_{RP} C_e}{1 + b_{RP} C_e^g}$
Sips	$q_e = \frac{q_m (k_s C_e)^{m_S}}{1 + (k_s C_e)^{m_S}}$

q_e = capacidade máxima de adsorção na condição de equilíbrio (mg g^{-1}); q_m = capacidade máxima de adsorção (mg g^{-1}); k_L = constante de adsorção de Langmuir relacionada com a energia de adsorção (L mg^{-1}); C_e = concentração de adsorbato remanescente no equilíbrio (mg L^{-1}); R_L = Fator de separação adimensional de Langmuir; K_F = constante de Freundlich que está diretamente relacionada com a capacidade de adsorção (mg g^{-1}); $1/n_F$ = heterogeneidade do material; n_F = constantes de Freundlich que mede o desvio da linearidade de adsorção; a_{RP} e b_{RP} = são constantes da isoterma de Redlich-Peterson (L mg^{-1} e L g^{-1} , respectivamente); g = é o expoente adimensional do modelo de Redlich-Peterson; k_s = é a constante do modelo de Sips relacionada à energia de adsorção (L mg^{-1})^{ms} e m_S = é o expoente do modelo de Sips;

3.8.1. Isoterma de Langmuir

Através da isoterma de Langmuir (LANGMUIR, 1916) é possível prever o valor de q_m , ou seja, é possível prever e estimar a quantidade máxima de adsorbato (mg) que o adsorvente (1,0 g) pode adsorver em sua superfície (GHOSAL; GUPTA, 2017). A isoterma de Langmuir considera que I) existe um número definido de sítios ativos na superfície do adsorvente; II) os sítios possuem energias equivalentes e as espécies adsorvidas não interagem umas com as outras; III) a adsorção ocorre com formação

de uma monocamada; IV) cada sítio do adsorvente pode comportar apenas uma espécie do adsorbato (LANGMUIR, 1916; NASCIMENTO et al., 2014).

Para verificar se o processo de adsorção é favorável, analisa-se o fator de separação adimensional de Langmuir (R_L) (Tabela 3). O processo de adsorção é favorável quando $0 < R_L < 1$, linear para $R_L = 1$, desfavorável quando $R_L > 1$ e irreversível quando $R_L = 0$ (PATHAK; MANDAVGANE, 2015).

3.8.2. Isoterma de Freundlich

O modelo isotérmico não linear de Freundlich (FREUNDLICH, 1906) é uma Equação empírica (Tabela 3) baseada na distribuição do soluto entre a fase sólida e a fase líquida no equilíbrio. Este modelo pode ser aplicado para explicar processos de adsorção que envolvem sólidos de superfícies heterogêneas e adsorção em multicamadas. Além disso, os sítios de adsorção apresentam diferentes energias adsorptivas (FREUNDLICH, 1906; FOO; HAMEED, 2010; NASCIMENTO et al., 2014).

Em relação ao parâmetro n_F , o processo de adsorção é linear quando $n_F = 1$, químico para $n_F < 1$ e físico para $n_F > 1$. Já para o parâmetro K_F , quanto maior o seu valor, maior será a afinidade do adsorbato pela superfície do adsorvente (FOO; HAMEED, 2010).

3.8.3. Isoterma de Redlich-Peterson

O modelo não linear de Redlich-Peterson (REDLICH, 1947) é descrito por uma equação empírica (Tabela 3), sendo considerado um modelo híbrido das isotermas de Langmuir e Freundlich. O modelo pode ser aplicado para superfícies homogêneas ou heterogêneas e, por isso admite processos de adsorção em monocamada e multicamadas (NEBAGHE et al., 2016). O parâmetro g , varia entre 0 e 1, sendo que para $g = 0$, o modelo de Redlich-Peterson se reduz a lei de Henry (indicando que o modelo de Freundlich prevalece sobre o processo de adsorção), enquanto que para um valor de g próximo de 1, o modelo de Redlich-Peterson se comporta de acordo com o modelo proposto por Langmuir (BRDAR; MARINA, 2012; FOO; HAMEED, 2010).

3.8.4. Isoterma de Sips

O modelo isotérmico de Sips (SIPS, 1948) também é um modelo híbrido das isotermas de Langmuir e Freundlich. Quando o adsorbato se encontra em baixas concentrações, esse modelo se reduz de maneira eficaz a isoterma de Freundlich, enquanto que em altas concentrações de adsorbato, o modelo prevê uma capacidade de adsorção em monocamada, similar a isoterma de Langmuir (FOO et al., 2010). A constante do modelo de Sips (k_s) está relacionada a energia de adsorção $(L\ mg^{-1})^{m_s}$ e m_s é o coeficiente de heterogeneidade da superfície do sólido adsorvente. Quando m_s é igual a 1, o modelo descreve o comportamento da isoterma de Langmuir com o estabelecimento de monocamada no processo de adsorção (SHARIPOVA et al., 2016).

4 METODOLOGIA

4.1 Materiais

GENU[®] pectina (PT) com grau de O-metoxilação de 56% e massa molar de $190 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ foi doada gentilmente pela empresa CP Kelco (Limeira-SP, Brasil). A quitosana (QT) com grau de desacetilação de 85% e massa molar $87 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ foi adquirida da Golden-Shell Biochemical (China).

4.2 Preparo das membranas PT/QT

Soluções de PT e QT (1,0% m/v) foram preparadas individualmente em uma solução aquosa $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl a 60°C (10 min). Então, blendas PT/QT (30 mL) foram obtidas, considerando as condições experimentais descritas na Tabela 4. As membranas foram rotuladas como M(X-Y), onde X e Y representam os volumes das soluções de PT e QT utilizados para formar blendas PT/QT, respectivamente (MARTINS et al., 2018a).

Tabela 4. Condições experimentais usadas para produzir membranas PT/QT.

Membranas	Pectina (mL)	Quitosana (mL)	Volume da blenda PT/QT (mL)
M(28-2)	28	2	30
M(25-5)	25	5	30
M(20-10)	20	10	30
M(15-15)*	15	15	30

*A membrana não manteve sua estrutura ao longo do processo de lavagem.

Para formação de blendas PT/QT, alíquotas da solução de QT (60°C) foram misturadas com alíquotas da solução de PT, também a 60°C (Tabela 4). Após mistura, a blenda PT/QT apresentou volume final de 30 mL. Então, a blenda PT/QT foi mantida sob agitação magnética durante 30 min (60°C). O pH final da mistura PT/QT variou entre 0,8 a 1,4.

Após 30 minutos, a blenda (60°C) foi adicionada em placas de Petri (placas com dimensão de $85 \times 10 \text{ mm}$) e, acondicionadas em estufa a 35°C por 24 h. Após, cada membrana PT/QT foi removida da placa de Petri e adicionada em água deionizada (250 mL) a 25°C . Então, a cada 30 min, alíquotas de NaOH $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ foram gotejadas lentamente sobre a água de lavagem (250 mL) até que o pH estivesse em torno de 6,0. O processo de lavagem ocorreu ao longo de 6 h e as amostras M(28-

2), M(25-5) e M(20-10) foram neutralizadas até pH 6,0. Já a amostra M(15-15) foi neutralizada apenas até pH 4,5, pois esta amostra apresentou baixa estabilidade em água. Após neutralização, as membranas foram removidas da água de lavagem e secas em estufa a 35°C durante 24 h. A Fig. 3 representa detalhadamente a metodologia utilizada para obter membranas PT/QT.

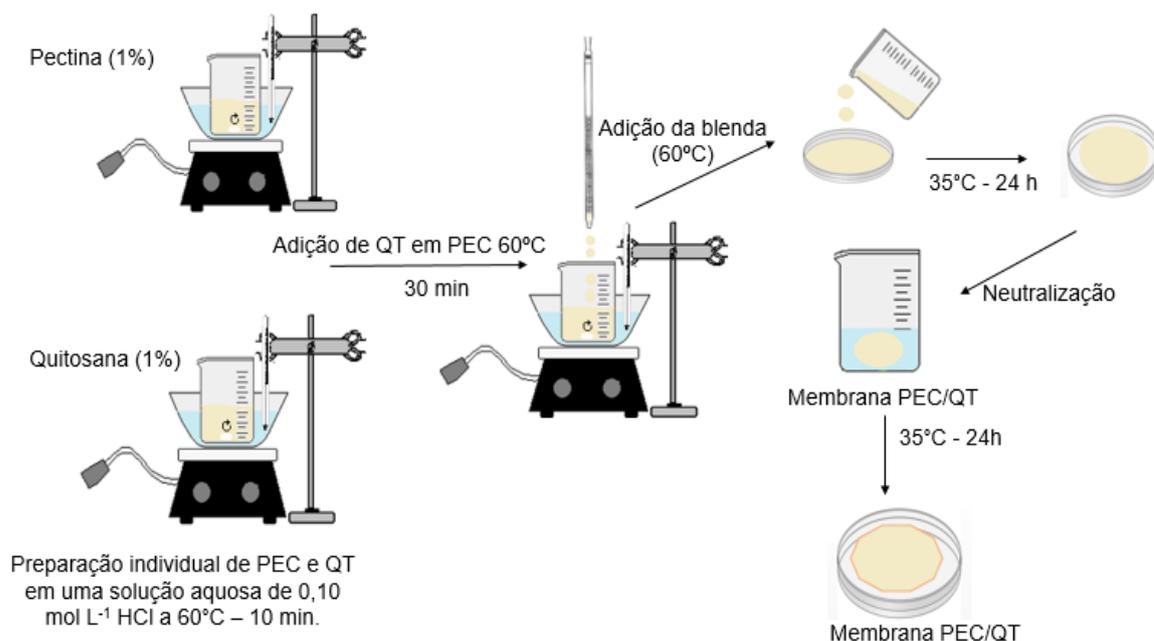


Figura 3. Esquema utilizado para obter membranas PT/QT.

Imagens digitais ilustradas na Fig. 4 representam a blenda PT/QT (amostra M28-2), processada logo após a adição da blenda sobre a placa de Petri (Fig. 4A), uma imagem da membrana M(28-2) não neutralizada e obtida após secagem em estufa (Fig. 4B) e uma imagem da membrana M(28-2) neutralizada e seca em estufa a 35°C (Fig. 4C).

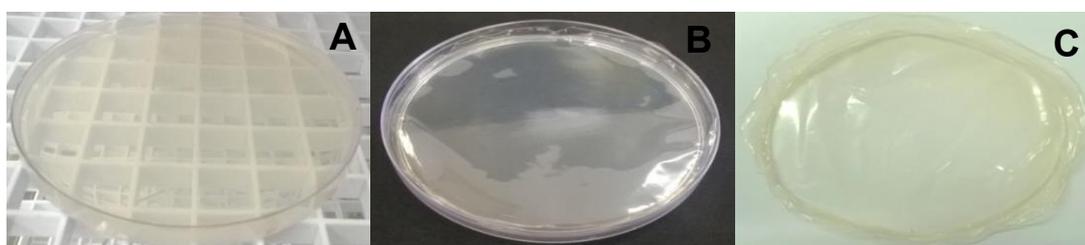


Figura 4. Imagens digitais da blenda PT/QT (Fig. 4A), membrana M(28-2) não neutralizada e seca em estufa a 35°C (Fig. 4B), membrana M(28-2) neutralizada e seca em estufa a 35°C (Fig. 4C).

4.3 Determinação do rendimento de complexação entre PT e QT

Após neutralização das membranas, o sobrenadante (≈ 250 mL) obtido depois

da neutralização de cada amostra foi mantido em um banho ultrassônico durante 10 min (25°C) para homogeneização. Então, alíquotas dos sobrenadantes (15 mL) foram removidas e armazenadas em frascos de polipropileno, congeladas e liofilizadas (-50°C durante 48 h). A massa de material sólido obtida após liofilização se refere à soma da massa de PT e QT não complexada. O sólido recolhido após liofilização foi então adicionado em solução de NaOH 0,010 mol L⁻¹ a 60°C durante 10 min para garantir a dissolução da PT, mas manter a QT não complexada no estado sólido. A QT é insolúvel em soluções alcalinas e sua massa não dissolvida na solução de NaOH foi separada da fase líquida contendo PT (dissolvida) por meio do processo de filtração a vácuo, usando membranas de acetato de celulose (0,22 µm). A massa de sólido correspondente a QT foi determinada. O teor de PT dissolvido foi determinado pela diferença entre a massa total de sólido liofilizado e a massa de QT. Este processo foi realizado em triplicata (*n*=3). Ao determinar a massa de PT e QT nos sobrenadantes, determinou-se a estequiometria de complexação entre PT e QT. Além disso, avaliou-se o rendimento (%) de complexação por meio da análise do teor total de sólido (massa de polímero PT+QT) utilizada no preparo das blendas PT/QT (nível teórico de polímero PT+QT) e, a massa de PT e QT presente nas amostras, mas determinada após etapa de neutralização das membranas (nível real de polímero PT+QT) (MARTINS et al., 2018a).

4.4 Estudos de desintegração/degradação das membranas

Amostras secas (50 × 25 mm) foram acondicionadas em estufa a 40°C (24 h) e, então, liofilizadas por 24 h para assegurar a remoção de umidade das membranas. Após esta etapa, a massa inicial das amostras (peso seco, $W_{\text{seco-I}}$) foi imediatamente medida. Em seguida, cada amostra foi imersa em PBS (50 mL) e alocada em um Shaker (Thoth 6430) a 37°C com agitação de 100 rpm (CHEN et al., 2010). Em intervalos de tempo desejados (1, 3, 5, 7 e 14 dias), as membranas foram removidas do PBS e, então, secas novamente como descrito anteriormente. Após secagem, as amostras foram pesadas e a massa seca final ($W_{\text{seco-F}}$) determinada. O teor de degradação/dissolução das amostras (%) foi avaliado por meio da Eq. 1.

$$\text{Degradação} = \frac{W_{\text{seco-F}}}{W_{\text{seco-I}}} \times 100\% \quad (1)$$

4.5 Determinação do grau de intumescimento das membranas

O grau de intumescimento (GI) das membranas foi avaliado na condição de equilíbrio (25°C) em soluções de pH 1,2 (fluido gástrico simulado, SGF) e pH 6,8 (fluido gástrico intestinal, SIF) após 24 h, pela Equação (2) (XIA et al., 2015).

$$GI = \frac{m_i - m_s}{m_s} \times 100 \quad (2)$$

onde o m_i e m_s se referem a massa da membrana intumescida e seca, respectivamente.

4.6 Caracterização das membranas

4.6.1. Análise das propriedades mecânicas

Inicialmente foi determinada a espessura das membranas PT/QT (amostras com dimensões de 50 × 25 mm), utilizando um micrômetro digital (modelo ZAAS). O resultado médio da espessura foi obtido utilizando cinco medidas na área total de cada amostra (50 × 25 mm). As propriedades mecânicas tais como resistência a tração (σ) e o alongamento (ε) até a ruptura foram determinadas usando um texturômetro MicroSystems, modelo TATX2i Surrey (Inglaterra). As medidas foram realizadas de acordo com o método ASTM-D882-02. As amostras (50 × 25 mm) foram previamente acondicionadas em uma solução saturada de $Mg(NO_3)_2$ a 25 ± 2°C (48 h) e umidade relativa de 53 ± 2%. A velocidade de realização do teste foi ajustada em 0,83 mm s⁻¹ (célula de carga de 50 kg) e a distância inicial entre as alças foi de 30 mm. Os parâmetros σ (MPa) e ε (%) foram determinados por meio de cinco repetições. Os resultados foram estatisticamente analisados usando o teste de Tukey em um nível de significância de 5%. Esta análise foi realizada na Universidade Estadual de Londrina (UEL).

4.6.2. Análise termogravimétrica (TGA/DSC)

Análise termogravimétrica (TGA) foi realizada em um analisador termogravimétrico de marca Shimadzu, modelo TGA-50 (Japão). O equipamento operou a uma taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹, fluxo de argônio de 50 mL min⁻¹ na faixa de temperatura de 25 a 700°C. A análise de calorimetria diferencial de

varredura (DSC) foi realizada em um calorímetro de marca Shimadzu, modelo DSC-60 Plus (Japão). O DSC operou nas seguintes condições: taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, fluxo de argônio de 50 mL min^{-1} e faixa de temperatura de 20 a 300°C .

4.6.3. Espectroscopia na região do infravermelho no modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR)

As membranas foram caracterizadas por meio da técnica de espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) no modo de refletância total atenuada (FTIR-ATR), utilizando um equipamento Shimadzu Scientific, modelo 8300 (Japão). A análise foi realizada no intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} a partir de 64 varreduras. Esta análise foi realizada na Universidade Estadual de Maringá (UEM).

4.6.4. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

A morfologia das membranas foi analisada através da técnica de microscopia eletrônica de varredura. As amostras foram revestidas por uma liga de paládio-ouro (espessura de 10 nm) para torná-las condutoras. Então, as imagens de SEM foram processadas por meio de um microscópio JSM-6500F, modelo JEOL (Japão). O equipamento foi operado com uma tensão de 5 kV. As imagens foram obtidas na Colorado State University, USA.

4.6.5. Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS)

A espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios-X é uma técnica utilizada para caracterizar superfícies de sólidos, pois fornece dados sobre a composição atômica da superfície e o estado ionizante dos grupos. Os espectros foram obtidos por meio de um espectrômetro PhiElectronics 5800 (modelo Chanhassen MN), com auxílio de uma fonte Al $K\alpha$ monocromática de raios-X ($h\nu = 1486,6\text{ eV}$), um analisador hemisférico e um detector multicanal. O ajuste dos espectros de alta resolução foi realizado por meio do software Origin 8.5, usando função gaussiana (ROMERO et al., 2015). Esta análise foi realizada na Colorado State University, USA.

4.6.6. Estudos de adsorção de íons Cu(II)

Os estudos de adsorção foram realizados apenas com a membrana M(28-2), uma vez que esta apresentou o maior teor de PT em sua estrutura (93% em massa), boa estabilidade em meio aquoso e considerável resistência mecânica. A PT é polissacarídeo aniônico, e uma maior concentração deste na membrana deve aumentar o potencial de remoção de íons Cu(II) de sistemas aquosos.

Inicialmente, uma solução estoque de Cu(II) de 1000 mg L⁻¹ foi preparada e, em seguida, utilizada para obter soluções trabalho a partir de diluições. O efeito do pH sobre o processo de adsorção foi investigado por meio de soluções de Cu(II) a 40 mg L⁻¹ na faixa de pH entre 0,5 e 6,2. O pH das soluções de Cu(II) foram ajustados com auxílio de HNO₃ 0,10 mol L⁻¹. Dois corpos de prova da membrana M(28-2) com dimensão 50 × 25 mm cada foram adicionados em potes de polipropileno (100 mL) contendo 50 mL das solução do adsorbato Cu(II) preparadas na faixa de pH 0,5 a 6,2. Cada conjunto foi levado para o shaker (Thoth 6430), mantendo o sistema sob agitação (100 rpm) a 25°C por 24 h. Após este tempo, as soluções foram filtradas com auxílio de membranas de filtro de nitrato de celulose (marca UNIFIL, tamanho de poro de 0,22 µm e diâmetro de 47 mm). Então, o sobrenadante foi analisado por meio da técnica de espectroscopia de absorção atômica por chama (FAAS), usando equipamento marca Thermo Scientific, modelo ICE 3000, com lâmpada de deutério como corretor de fundo. Foi utilizado gás acetileno (C₂H₂) e lâmpada de Cu (cátodo oco), operando em 4 mA. O comprimento de onda de estudo foi 217 nm e a curva de calibração para o Cu foi obtida na faixa de concentração de 0,5 a 5,0 mg L⁻¹ (R² = 0,999).

O efeito da dosagem (concentração do adsorvente) também foi investigado, variando o número de corpos de prova (50 × 25 mm) da membrana M(28-2) adicionados aos recipientes contendo soluções de Cu(II) a 40 mg L⁻¹ e pH 5,5. Quatro recipientes de polipropileno (100 mL), contendo 50 mL da solução de Cu(II) receberam cada 1, 2, 3 ou 4 corpos de prova da membrana M(28-2), respectivamente. Então, cada sistema foi acondicionado ao shaker (25 °C), mantendo a agitação em 100 rpm por 24 h. Após este tempo, as soluções foram filtradas e o sobrenadante analisado por FAAS. As quantidades máximas de íons Cu(II) adsorvidas foram determinadas por meio das Eqs. 3 e 4. A Eq. 3 foi utilizada para determinar a quantidade máxima de íons Cu(II) adsorvida na condição de equilíbrio (q_e). O termo q_e é expresso em mg de

adsorbato adsorvido por cada grama do material adsorvente; mg g^{-1} . A Eq. 4 foi utilizada para avaliar a eficiência de remoção (%) de íons Cu(II).

$$q_m = q_t = q_e = \left(\frac{C_0 - C_e}{m} \right) \times V \quad (3)$$

$$\text{Eficiência de Remoção de íons Cu(II) (\%)} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (4)$$

onde, q_e representa a quantidade (mg) de Cu(II) adsorvida por cada grama de agente adsorvente (g^{-1}), C_0 e C_e correspondem, respectivamente, a concentração (mg L^{-1}) de Cu(II) inicial (determinada antes do ensaio de adsorção) e a concentração de Cu(II) na condição de equilíbrio, V é o volume da solução (L) e m a massa (g) da membrana M(28-2) usada como agente adsorvente.

No estudo cinético foi utilizado dois corpos de prova (50×25 mm) do agente adsorvente, volume da solução de Cu(II) de 50 mL com concentração inicial de 40 mg L^{-1} (pH 5,5) no intervalo de tempo de 5 a 180 min. O estudo de equilíbrio de adsorção foi avaliado, usando dois corpos de prova (50×25 mm) do agente adsorvente, soluções Cu(II) (50 mL; pH 5,5) na faixa de concentração de 5 a 100 mg L^{-1} e tempo de agitação de 120 min. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A quantidade máxima de íons Cu(II) adsorvida foi determinada por meio da Eq. 3.

4.6.7. Ajustes dos modelos cinéticos e isotérmicos aos dados experimentais

Os modelos cinéticos (não-lineares) de pseudo-primeira ordem (LAGERGREN, 1898; SIMONIN, 2016), pseudo-segunda ordem (SIMONIN, 2016) e Elovich (TAYLOR et al., 1952; JUANG et al., 1997), foram aplicados aos dados experimentais para otimizar o tempo necessário de adsorção, bem como avaliar a cinética de adsorção.

A aplicação de modelos não lineares de isotermas de adsorção também foram realizadas. As isotermas podem descrever qual o tipo de interação que ocorre entre o conjunto adsorbato-adsorvente (RANGABHASHIYAM et al., 2014). Além disso, as isotermas são importantes para estimar a eficiência do agente adsorvente e a natureza do processo de adsorção na interface sólido-líquido ou sólido-gás. Desta forma, os modelos matemáticos (não lineares) de isotermas que foram utilizados para análise no processo de adsorção foram: Langmuir (LANGMUIR, 2016), Freundlich

(FREUNDLICH, 1906), Redlich-Peterson (REDLICH, 1947) e Sips (SIPS, 1948). As Equações dos modelos cinéticos e isotérmicos utilizadas neste estudo encontram-se descritas na Tabela 3. Os ajustes não lineares foram realizados através do software Origin 8.5.

Os resultados foram avaliados em termos do coeficiente de determinação (R^2) e desvio padrão normalizado Δq_e (%). Este último parâmetro foi calculado através da Eq. 5.

$$\Delta q_e(\%) = 100 \sqrt{\frac{\sum[(q_{e,exp} - q_{e,cal})/q_{e,exp}]^2}{N-1}} \quad (5)$$

onde, $q_{e,exp}$ e $q_{e,cal}$ (mg g^{-1}) correspondem a quantidade máxima adsorvida de íons Cu(II) obtida experimentalmente e calculada, respectivamente, e N é o número de ensaios.

4.6.8. Avaliação do potencial de dessorção de íons Cu(II)

O potencial de dessorção foi determinado a partir de dois ciclos de adsorção/dessorção. Para saturação do hidrogel, 50 mL da solução Cu(II) a 100 mg L^{-1} (pH 5,5) foi colocada em contato com $\sim 100 \text{ mg}$ do hidrogel (dois corpos de prova da membrana M(28-2)), mantendo o sistema em agitação (100 rpm) por 120 min a 25°C . Após, as membranas foram removidas da solução de Cu(II) lavadas cuidadosamente com água ultra pura para remover o excesso de íons Cu(II) não adsorvidos na superfície do material e secas em estufa a 35°C por 24 h. Então, os ensaios de dessorção foram conduzidos pela adição das membranas saturadas com íons Cu(II) (material seco obtido após ensaios de adsorção) em 50 mL de HNO_3 $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ nas condições de pH 2,0 e 5,5. Os ensaios de dessorção foram realizados em um shaker sob agitação (100 rpm) em diferentes intervalos de tempos (1, 3, 5, 7 e 14 dias) a 25°C . A quantidade de Cu(II) adsorvida e dessorvida foi estimada por FAAS.

4.7 Caracterização da membrana PT/QT após ensaio de adsorção

4.7.1. Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS)

A técnica de XPS foi aplicada no material obtido após processo de adsorção (membrana M(28-2)/Cu para confirmar a presença de íons Cu(II) na superfície do material adsorvente. A metodologia utilizada na caracterização por XPS foi descrita

na seção 4.6.5. O espectro XPS da amostra M(28-2)/Cu foi obtido após o ensaio de adsorção realizado com a membrana M(28-2). Após a superfície do adsorvente foi lavada com água ultrapura para remover íons Cu(II) não adsorvidos. O material foi seco em estufa a 35 °C por 24 h, para se processar os espectros de XPS (survey e alta resolução).

4.8 Propriedades biológicas da membrana M(28-2)/Cu

4.8.1. Ensaio antimicrobiano

4.8.1.1. Microrganismos utilizados e condições de crescimento

Os ensaios foram realizados a partir de cultivos recentes dos isolados de *Escherichia coli* Gram negativa (ATCC 25922) em caldo BHI (Brain Heart Infusion - Infusão de cérebro e coração), obtidos após incubação (overnight) a 37°C. Para os testes, a densidade celular foi padronizada em tubos esterilizados contendo solução salina (0,85% m/v), até que se atingisse a concentração predita de 0,5 na escala de McFarland (concentração aproximada de $1,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹).

4.8.1.2. Ensaio antimicrobiano via método disco-difusão

O ensaio antimicrobiano foi realizado de acordo com as normas de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (CLSI, 2012), com modificações. Após o ajuste da concentração bacteriana, as suspensões foram semeadas com ajuda de “swabs” esterilizadas sobre a superfície de placas de Petri contendo ágar Müeller-Hinton (MHA) (Sigma - Aldrich). Foram preparados meios de cultura sólido nas condições de pH = 6,0 e 7,4. O valor de pH 6,0 foi ajustado adicionando lentamente HCl 0,01 mol L⁻¹. As amostras foram esterilizadas por meio do óxido de etileno através do processo de “alquilação”, realizado a 40° C por 120 min (este processo foi realizado pela G & S Esterilização de Produtos de Saúde (Brasil). Desta forma, sobre a superfície dos meios inoculados nas condições citadas acima, e após o processo de esterilização, foram adicionados discos de 6 mm de diâmetro das membranas M(28-2) (amostra sem íons Cu(II)) e M(28-2)/Cu (amostra saturada com íons Cu(II)) obtida após ensaio de adsorção). Então, as placas foram incubadas a 37°C por 24h, para

posterior análise dos diâmetros dos halos de inibição (BHALODIA; SHUKLA, 2011). Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.8.2. Ensaio de viabilidade celular

4.8.2.1. Extração de células tronco mesenquimais (MSCs)

As MSCs (células tronco mesenquimais do tecido ósseo) foram isoladas de ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus*) fornecidos por Harlan Sprague Dawley, Inc (USA). O protocolo para extração das células foi aprovado pelo comitê de ética da Colorado State University (CSU), que trata do uso de animais em experimentos. Este comitê também está em conformidade com o guia “*National Institute of Health*” que aborda sobre cuidados necessários que devem ser tomados com o uso de animais em laboratório. O fêmur dos animais recém mortos, bem como, o tecido mole sobre cada fêmur foi assepticamente removido. As extremidades metafisárias dos ossos foram removidas para expor a cavidade da medula óssea. Num tubo falcon de 50 mL, a medula foi repetidamente lavada com meio de cultura (α -minimimum essential medium; α -MEM), contendo 10% de soro fetal de bovino (Sigma-Aldrich, USA) e 1% de penicilina/estreptomicina (Sigma-Aldrich, USA). A medula foi removida com auxílio de seringas de 10 mL com agulhas de 18 e 25 gauges. Então, as células MSCs foram recolhidas em meio de cultura α -MEM em tubo falcon de 50 mL. Após coleta, o sistema foi filtrado em filtro de nylon (70 μ m) e recolhidas em um novo tubo falcon. Então, as células foram contadas em microscópio com auxílio de uma câmara de Neubauer, contendo 10 μ L da suspensão contendo as MSCs. A contagem foi realizada antes de semear as células sobre as amostras. Antes de semear as MSCs sobre as amostras (aproximadamente 8 mm de diâmetro), estas foram esterilizadas, adicionando as amostras em uma placa de 48 poços e incubando estas em PBS por 30 min sob exposição de irradiação ultravioleta. Em seguida, o PBS foi removido e as MSCs (500 μ L em suspensão) foram semeadas nas amostras a uma densidade de 1 milhão mL⁻¹. As culturas foram incubadas a 37°C sob 5% de CO₂ durante 4 dias de cultura. Após, a viabilidade celular foi determinada via método AlamarBlue.

4.8.2.2. Ensaio de viabilidade celular (citotoxicidade) via método AlamarBlue

A viabilidade celular foi determinada pelo ensaio CellTiterBlue® (Promega

G808A, Madison, WI), de acordo com instruções do fabricante. Após 4 dias, 50 μ L do corante CellTiter-Blue (AlamarBlue) foram adicionados aos poços contendo as amostras semeadas com as células em meio de cultura α -MEM. Em seguida, cada conjunto foi incubado por 4h a 37°C e 5% de CO₂. Após, a absorbância do sobrenadante dos poços foi lida em leitor de microplacas (Molecular Devices Spectra Max M3, Sunnyvale, CA, USA) em 570 nm e 600 nm. Os valores de porcentagem de redução do AlamarBlue (AB%) dependem da quantidade de células viáveis, ou seja, a porcentagem de redução AB% expressa a porcentagem de células viáveis (viabilidade celular) (AL-NASIRY et al., 2007). O valor de AB% (viabilidade celular) foi corrigido, considerando os valores AB% de dois controles. Um controle contendo o meio α -MEM (sem presença de células), as amostras (membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu e AlamarBlue. Um outro experimento controle foi realizado, utilizando folhas de titânio (amostra com 8 mm de diâmetro) como controle positivo na presença de células e AlamarBlue. Para eliminar a contribuição do meio de cultura sobre os valores de AB% e, então, normalizar os resultados de viabilidade celular (%)), o titânio foi escolhido como controle interno. Este foi selecionado devido à renomada citocompatibilidade e potencial biomédico para ser aplicado em implantes ósseos (DEVITERI e FUENTES 2013). Os experimentos foram realizados com $n = 5$ na Colorado State University, USA.

4.9 Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente por meio de ANOVA e teste Tukey, utilizando o software Prism 6.0 (modelo GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, EUA) a um nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Rendimento de complexação e composição real de PT e QT nas membranas

A Tabela 5 apresenta os valores de rendimento de complexação entre PT e QT, bem como, a composição final (real) de PT e QT nas membranas. Os resultados foram determinados após a etapa de neutralização dos hidrogéis. As composições reais de PT e QT foram avaliadas experimentalmente e comparadas com as quantidades de PT e QT (níveis teóricos), utilizadas para preparar as blendas PT/QT. O rendimento de complexação entre PT e QT apresentou valores superiores a 80%, mesmo utilizando excesso de PT (polissacarídeo solúvel em água) na composição final da blenda PT/QT.

Tabela 5. Composição teórica e real de PT e QT nas membranas e rendimento de complexação.

Níveis (antes da neutralização)				Níveis (determinados após neutralização)			
Amostras	PT (%)	QT (%)	PT/QT	PT (%)	QT (%)	PT/QT	Rendimento (%)
M(28-2)	93	7	14	70±2	6±0	13±2,0	80±12
M(25-5)	83	17	5	73±1	13±5	6±3	85±4
M(20-10)	66	34	2	66±7	27±6	2,5±0,8	93±2
M(15-15)*	50	50	1	43±1	47±1	0,92±0	90±3

*Amostra lavada até pH 4,5.

No preparo das membranas foi utilizado uma solução aquosa 0,10 mol L⁻¹ de HCl como solvente para obter blendas PT/QT estáveis. Esta condição promove a protonação dos grupos amino (-NH₂) da QT (pK_a ≈ 6,5). Portanto, quando a membrana M(15-15) com a maior concentração de QT foi adicionada na água de lavagem (250 mL), ocorreu intumescimento pronunciado desta amostra devido à maior concentração de QT na membrana M(15-15). O intumescimento ocorre devido ao excesso de densidade de carga positiva no hidrogel proveniente da QT. Este resultando promoveu baixa estabilidade a membrana M(15-15) ao longo do processo de neutralização. Conseqüentemente, esta amostra foi lavada até pH 4,5 para evitar sua desintegração/dissolução. Por isso, esta amostra não foi estudada nesta dissertação. O maior rendimento de complexação (93%) foi alcançado na amostra M(20-10). Porém, mesmo com excesso de PT (razão real PT/QT = 13), a amostra M(28-2) também apresentou alto rendimento de complexação (80%).

No geral, a existência de íons H_3O^+ nas membranas não neutralizadas contribui para dissolver parte da QT presente nas membranas quando estas estão sendo lavadas. Este fato explica a diminuição do conteúdo de QT nas amostras PECs após etapa de neutralização (Tabela 5), mesmo a QT não sendo solúvel em água. Em relação a PT, quando as membranas foram adicionadas na água de lavagem, o pH registrado era de aproximadamente 2,0, ou seja, durante o processo de neutralização a PT ($\text{pK}_a \approx 3,6-4,1$) também pode ser dissolvida, pois possui solubilidade em água. Deste modo, após neutralização, ocorreu alteração na razão PT/QT das amostras (Tabela 5). No entanto, esta alteração não foi significativa, mostrando que PT e QT estão interagindo efetivamente nos hidrogéis PECs.

As membranas apresentam estabilidade contra o processo de dissolução durante a etapa de neutralização, pois as perdas de massa de PT e QT foram baixas. As blendas PT/QT (25°C) apresentaram pH variando entre 0,8 a 1,4. Nesta condição, as cadeias de PT e QT estão completamente protonadas. Este feito minimiza a ocorrência de interações eletrostáticas de longo alcance entre os grupos $-\text{NH}_3^+$ e $-\text{COO}^-$. Deste modo, a associação física entre PT e QT ocorre principalmente através do estabelecimento de interações intermoleculares de curto alcance (interações de ligação de hidrogênio, interações dipolo-dipolo e forças de London). O estabelecimento destas interações deve promover melhor associação entre segmentos de cadeia dos polímeros, pois o estabelecimento de interações de longo alcance é minimizado devido à protonação dos grupos $-\text{COO}^-$ na estrutura da PT. O preparo das blendas com excesso de íons H_3O^+ garante estabilidade a blenda, evitando a formação de precipitados de PT/QT. Misturas PT/QT não formaram blendas estáveis quando as mesmas foram obtidas em solução de ácido acético diluído a 1% v/v. Neste caso, houve formação de precipitados de PT/QT, uma vez que o pH era próximo de 4 e nesta condição grupos $-\text{NH}_3^+$ e $-\text{COO}^-$ estão disponíveis para interagir e gerar instabilidade a blenda PT/QT (MARTINS et al., 2018a).

O alto grau de O-metoxilação (56%) da PT também pode diminuir a capacidade deste polímero em estabelecer interações eletrostáticas com a QT, devido ao menor conteúdo de ácido carboxílico/carboxilato disponível. No entanto, durante a neutralização, pode ocorrer a formação de interações eletrostáticas de longo alcance entre as redes de polímeros, devido à mudança gradual no pH da água de lavagem. No entanto, a formação dos hidrogéis PECs ocorreu principalmente pelo estabelecimento de forças intramoleculares e intermoleculares entre os

polímeros. Esta situação pode minimizar a perda de massa das amostras durante alterações de pH (no processo de neutralização), porém, o fenômeno de auto-montagem das redes de polímeros pode ocorrer por causa da variação gradual de pH. Em alguns casos, a capacidade de auto-montagem pode ainda reforçar a associação das cadeias poliméricas do hidrogel, aumentando ainda mais a estabilidade da membrana. Este efeito será melhor investigado a seguir. Antes da publicação de dois artigos científicos referentes a esta dissertação, não havia na literatura estudos similares como os que foram relatados nesta seção. Até então, não havia relatos de materiais PECs a base de PT e QT obtidos com excesso de PT (MARTINS et al., 2018a; MARTINS et al., 2018b).

5.2 Estudos de desintegração/degradação das membranas

Uma membrana de QT preparada sem a presença de PT (razão PT/QT de 0/100) não pode ser obtida a partir de soluções de QT preparadas em HCl 0,10 mol L⁻¹, enquanto que uma membrana a base de PT (razão PT/QT 100/0) foi obtida, mas rapidamente se dissolveu em água durante etapa de neutralização. Para todas as membranas, quando há aumento do nível de PT na composição da blenda PT/QT, ocorre maior perda de massa (dissolução/desintegração). No entanto, esse efeito foi aparente apenas após cinco dias de estudo (Fig. 5). No primeiro dia de teste, as perdas de massas para as membranas M(28-2), M(25-5), M(20-10) e M(15-15) foram 10%, 24%, 19% e 25%, respectivamente. Seguindo a mesma ordem e, após sete dias de análise, as perdas de massa foram 60%, 44%, 31% e 32%, respectivamente (Fig. 5).

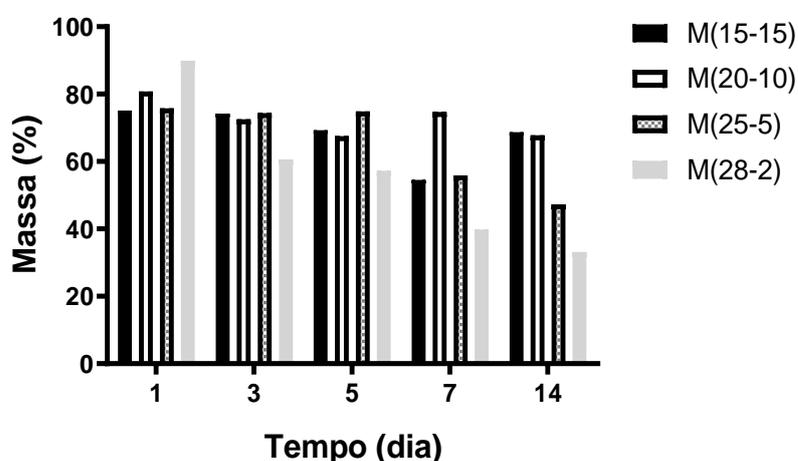


Figura 5. Resultados de desintegração/dissolução das membranas em PBS (pH 7,4) a 37°C.

Notou-se que as membranas apresentaram excelente estabilidade contra os processos de desintegração e dissolução, mesmo estas apresentando excesso de PT em suas composições finais. Os materiais a base de PT podem apresentar alta solubilidade em meio aquoso; no entanto, esses resultados demonstraram pela primeira vez que materiais baseados em PT podem apresentar renomada estabilidade, mesmo isentos de agentes químicos de reticulação. Chen et al. (2010) desenvolveram membrana QT/PT (proporção 50/50) e demonstraram que estas apresentaram perda de massa de 50% e 60% após estarem em contato com solução PBS (pH 7,4) por apenas um e sete dias, respectivamente. A membrana foi preparada a partir de uma blenda QT/PT obtida em pH 4,12. Este fato induz interação eletrostática efetiva entre os grupos $-NH_3^+$ ($pK_a \approx 6,5$) da QT com os grupos $-COO^-$ ($pK_a \approx 3,6-4,1$) da PT (RODRIGUES et al., 2014; TENTOR et al., 2017). Quando as membranas são expostas ao PBS, as ligações iônicas que estabilizam a membrana podem ser desfeitas devido à alteração de pH. Este fato diminuiu a estabilidade da membrana (CHEN et al., 2010).

5.3 Análise das propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas das membranas PT/QT foram avaliadas pela realização de testes de tração (Tabela 6). Após neutralização, a resistência à tração das membranas M(20-10) e M(25-5) aumentaram de 25 MPa para 28 MPa e de 27 MPa para 39 MPa, respectivamente. Por outro lado, uma vez neutralizada, a resistência à tração das membranas M(28-2) e M(15-15) diminuíram de 27 MPa para 18 MPa e de 22 MPa para 10 MPa, respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Resistência a tração (σ) e alongamento (%) até ruptura (ϵ) das membranas.

	Membranas	σ (MPa)	ϵ (%)
Amostras neutralizadas	M(28-2)	$18 \pm 6^{b,d}$	$0,5 \pm 0,2^b$
	M(25-5)	39 ± 5^a	$1,0 \pm 0,2^{a,b}$
	M(20-10)	28 ± 5^c	$1,1 \pm 0,5^b$
	M(15-15)	10 ± 2^b	$0,5 \pm 0,3^b$
Amostras não neutralizadas	M(28-2)	$27 \pm 6^{c,d}$	$1,4 \pm 0,6^{a,b}$
	M(25-5)	$27 \pm 5^{c,d}$	$1,1 \pm 0,4^b$
	M(20-10)	$25 \pm 5^{c,d}$	$1,2 \pm 0,3^{a,b}$
	M(15-15)	$22 \pm 4^{c,d}$	2 ± 1^a

^{a,b,c,d}As diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os resultados com um nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$; $n=10$).

Para todas as amostras, o alongamento até ruptura (% , tensão na carga máxima) foi baixo (valores entre 0,5 a 2%), pois as membranas PT/QT foram preparadas sem adição de agente plastificante (Tabela 6). O alongamento na ruptura para as membranas M(20-10) e M(25-5) não foi alterado significativamente após neutralização das membranas, enquanto que para as amostras M(28-2) e M(15-15), o alongamento máximo reduziu para 0,5% após neutralização (Tabela 6).

A espessura média das membranas secas e neutralizadas foi de $0,029 \pm 0,001$ mm, enquanto que os materiais não neutralizados (secos) apresentaram espessura média de $0,043 \pm 0,002$ mm. Após neutralização, a auto-montagem das cadeias de polímeros (PT e QT) alterou a densidade das interações intramoleculares e intermoleculares, transmitindo modificação na espessura das membranas e alterando as propriedades mecânicas.

Após neutralização, foram criadas membranas mais compactas devido ao rearranjo das cadeias poliméricas. A composição química das membranas é um fator importante que determina as propriedades mecânicas. O rearranjo (auto-montagem) das cadeias de polímeros elevou as propriedades mecânicas das amostras M(20-10) e M(25-5). Porém, a estrutura da membrana M(28-2) contém excesso de PT, bem como, alta densidade de carga negativa em pH 6,0 (após neutralização). Este fato desestabiliza o material, diminuindo a resistência a tração. No entanto, o valor de 18 MPa de resistência à tração para a amostra M(28-2) é considerado alto, uma vez que as membranas são constituídas apenas por polissacarídeos. Da mesma forma, a membrana M(15-15), lavada até pH 4,5 tem um alto teor de QT. Este fato deve desestabilizar o sistema devido ao excesso de densidade de carga positiva estabelecido durante a etapa de produção da blenda PT/QT. Essas características diminuem a resistência à tração das membranas M(28-2) e M(15-15), quando comparadas as amostras M(25-5) e M(20-10). O excesso de cargas nas membranas restringe a mobilidade dos segmentos de cadeias dos polímeros nas estruturas M(28-2) e M(15-15), diminuindo a resistência à tração (Tabela 6). Contudo, levando em conta que as membranas são formadas de polissacarídeos, é de notar que as amostras neutralizadas M(28-2), M(25-5) e M(20-10) apresentaram elevada resistência à tração. Estes resultados são significativamente maiores quando comparado a resultados descritos para outras membranas a base de polissacarídeos já relatadas na literatura

Membranas de PT amidada reticuladas com glutaraldeído apresentaram resistência à tração na faixa de 0,3 a 1,58 MPa, e alongamento na ruptura de até 4% (MISHRA et al., 2009). Tsai et al. (2014) também produziram membranas constituídas por QT, PT e goma arábica (todos polissacarídeos) com resistência à tração de até 2 MPa. Este valor é muito baixo quando comparado aos valores encontrados neste estudo. Por isso, as membranas PT/QT apresentaram alta resistência à tração para materiais que são formados apenas por polissacarídeos. É a primeira vez que isto acontece. Esta característica torna possível utilizar estas membranas como agentes adsorventes de metais tóxicos, matrizes scaffolds para uso na área biomédica, e suportes para liberação controlada de fármacos. O excesso de PT na estrutura da membrana M(28-2) deve favorecer o processo de adsorção de íons metálicos em sistemas aquosos. As membranas PT/QT apresentam renomado potencial para atuarem como matrizes scaffolds, pois promoveram adesão, proliferação e crescimento de células tronco do tecido adiposo depois de 7 dias de cultura celular (MARTINS et al., 2018b).

5.4 Grau de intumescimento

O grau de intumescimento das membranas PEC neutralizadas foi investigado em diferentes condições de pH, utilizando o fluido gástrico simulado (SGF) e fluido intestinal (SIF) como meios de estudo (BUENO et al., 2015; MARTINS et al., 2013). Os resultados estão representados na Tabela 7.

Tabela 7. Grau de intumescimento das membranas PT/QT neutralizadas determinados em SGF (pH 1,2) e SIF (pH 6,8) a 37°C por 24 h.

Condições	Grau de intumescimento (%)	
	pH 1.2 ^a	pH 6.8 ^b
M(28-2)	486±4,5	2479±6,2
M(25-5)	775±2,1	1904±7,2
M(20-10)	2416±5,6	218±6,5

^aComposição do SGF (2,0 g NaCl e 7,0 mL HCl (37%) em 1000 mL de H₂O, pH= 1,2).

^bComposição do SIF (6,8 g KH₂PO₄ e 77 mL NaOH_(aq) (0,20 mol L⁻¹) em 1000 mL de H₂O, pH = 6,8).

O grau de intumescimento depende da composição química das membranas e da condição de pH do meio. A membrana M(20-10) apresentou elevado grau de intumescimento em SGF (pH 1,2). Nessa condição, a maior extensão de sítios –

NH_3^+ protonados permite maior repulsão das cadeias poliméricas na matriz da membrana. Esta repulsão promove expansão das cadeias poliméricas e eleva o grau de intumescimento para 2416% na amostra M(20-10). Por outro lado, em pH 6,8, esta mesma amostra apresentou grau de intumescimento de apenas 218%. Em pH 6,8, a densidade de carga da QT deve ser muito menor, diminuindo a instabilidade do sistema, bem como o grau de intumescimento. Um comportamento totalmente oposto foi encontrado para as amostras M(25-5) e M(28-2). Quando a razão PT/QT aumenta devido ao excesso de PT nas amostras, as membranas M(25-5) e M(28-2) não são estáveis em SIF devido ao elevado teor de grupos $-\text{COO}^-$ ionizados. Esse efeito aumenta a expansão das cadeias poliméricas, viabilizando graus de intumescimento de 1904% para a membrana M(25-5) e 2479% para a membrana M(28-2). Em SGF, a PT está protonada; por isso, o grau de intumescimento reduz para 775% e 486%, considerando as membranas M(25-5) e M(28-2), respectivamente.

5.5 Análise térmica (TGA/DSC)

A Fig. 6 apresenta as curvas de TGA das membranas M(20-10), M(25-5) e M(28-2) (amostras não neutralizadas e neutralizadas) e polímeros precursores QT (pó) e filme de PT puro não neutralizado. Os materiais exibiram três eventos principais de degradação térmica nas curvas TGA (SOUTO-MAIOR et al., 2010; GORRASI; BUGATTI; VITTORIA, 2012). O primeiro evento de degradação (entre 40 a 152°C) correspondeu a perda de água e compostos voláteis. O segundo evento (entre 152 a 450°C) foi atribuído a degradação (etapa de descarboxilação), associada à decomposição pirolítica. O terceiro evento de perda de massa (entre 450 a 700°C) foi atribuído a degradação de subprodutos, correspondendo a região de oxidação (GORRASI; BUGATTI; VITTORIA, 2012).

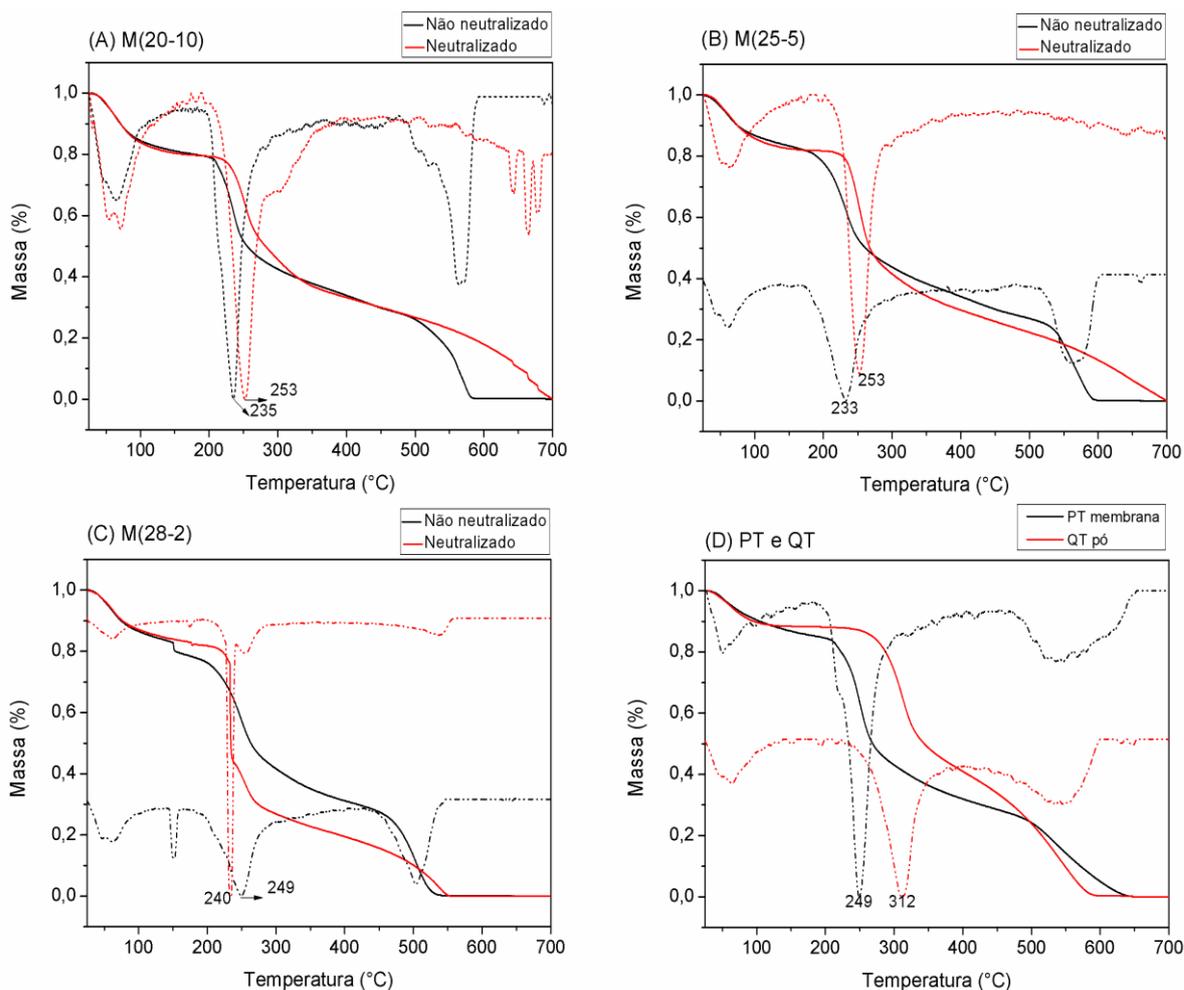


Figura 6. Curvas TGA/DTG: membranas M(20-10) (A), M(25-5) (B), M(28-2) (C), QT (pó) e filme de PT puro não neutralizado (D).

As membranas (neutralizadas e não neutralizadas) apresentaram aproximadamente 20% de água e componentes voláteis em suas estruturas. Porém, as membranas M(25-5) e M(20-10) neutralizadas/lavadas apresentaram maior estabilidade térmica em relação às membranas M(25-5) e M(20-10) não neutralizadas, pois o segundo e terceiro evento de degradação referentes as curvas de TGA das amostras neutralizadas, ocorrem deslocados para temperaturas maiores. Este efeito é oposto quando consideramos a membrana M(28-2). Este resultado concorda com os dados descritos na seção de propriedades mecânicas. Após lavagem, a estabilidade térmica das membranas M(20-10) e M(25-5) aumentaram, pois a temperatura relacionada aos eventos de degradação nas curvas DTG aumentaram, assim como a resistência à tração. Por outro lado, após neutralização, a membrana M(28-2) apresentou redução de estabilidade térmica e diminuição de resistência à tração.

No segundo evento de degradação, as temperaturas onde a velocidade de degradação é máxima (nos picos das curvas DTG) alteraram de 235°C para 253°C (amostra M(20-10)), de 233°C para 253°C (amostra M(25-5)), de 249°C para 240°C (amostra M(28-2)) (Fig. 6). Este aumento de estabilidade térmica nas amostras M(20-10) e M(25-5) está relacionado ao estabelecimento de interações efetivas (auto-montagem) entre as cadeias de PT e QT. Este fato justifica a maior estabilidade térmica das membranas lavadas em relação às não lavadas. Porém, este efeito é oposto na amostra M(28-2), pois a lavagem deve desestabilizar a estrutura do material, possivelmente devido ao grande excesso de PT na estrutura da membrana neutralizada. Por isso, o pico principal na curva DTG da amostra filme de PT puro (não lavado) ocorreu em 249°C, assim como o pico DTG na amostra M(28-2) não neutralizada (Fig. 6). A lavagem da amostra M(28-2) deve aumentar o conteúdo de íons -COO^- na amostra. Este efeito induz repulsão, diminuindo a estabilidade térmica e a resistência à tração da amostra M(28-2) neutralizada em relação a amostra M(28-2) não lavada. A diferença significativa entre as curvas TGA das amostras neutralizadas e curvas TGA dos polissacarídeos precursores ratificam a obtenção das membranas PT/QT.

Os dados de TGA são confirmados por meio da análise das curvas de DSC das amostras neutralizadas e não neutralizadas (Fig. 7). Após neutralização, picos endotérmicos relacionados com formação de regiões ordenadas nos materiais ocorrem em temperaturas maiores, aparecendo em 211°C na curva DSC da amostra M(20-10), 216°C na curva DSC da amostra M(25-5) e 213°C na curva DSC da amostra M(28-2). Vale destacar que os picos endotérmicos nas curvas DSC amostras M(20-10) e M(25-5) não neutralizadas não foram uniformes como o pico endotérmico na curva DSC da amostra M(28-2) não neutralizada. Além disso, o pico endotérmico na curva DSC da membrana M(28-2) não neutralizada possui maior intensidade em relação ao pico endotérmico na curva DSC da membrana M(28-2) neutralizada. Este efeito parece ser oposto nas amostras M(20-10) e M(25-5). Esses resultados estão concordando com os resultados de TGA e são justificados com base no excesso de PT na amostra M(28-2). Após lavagem/neutralização das amostras, as cadeias poliméricas apresentam reorganização estrutural, fato que alterou significativamente o perfil das curvas TGA e DSC (Figs. 6 e 7).

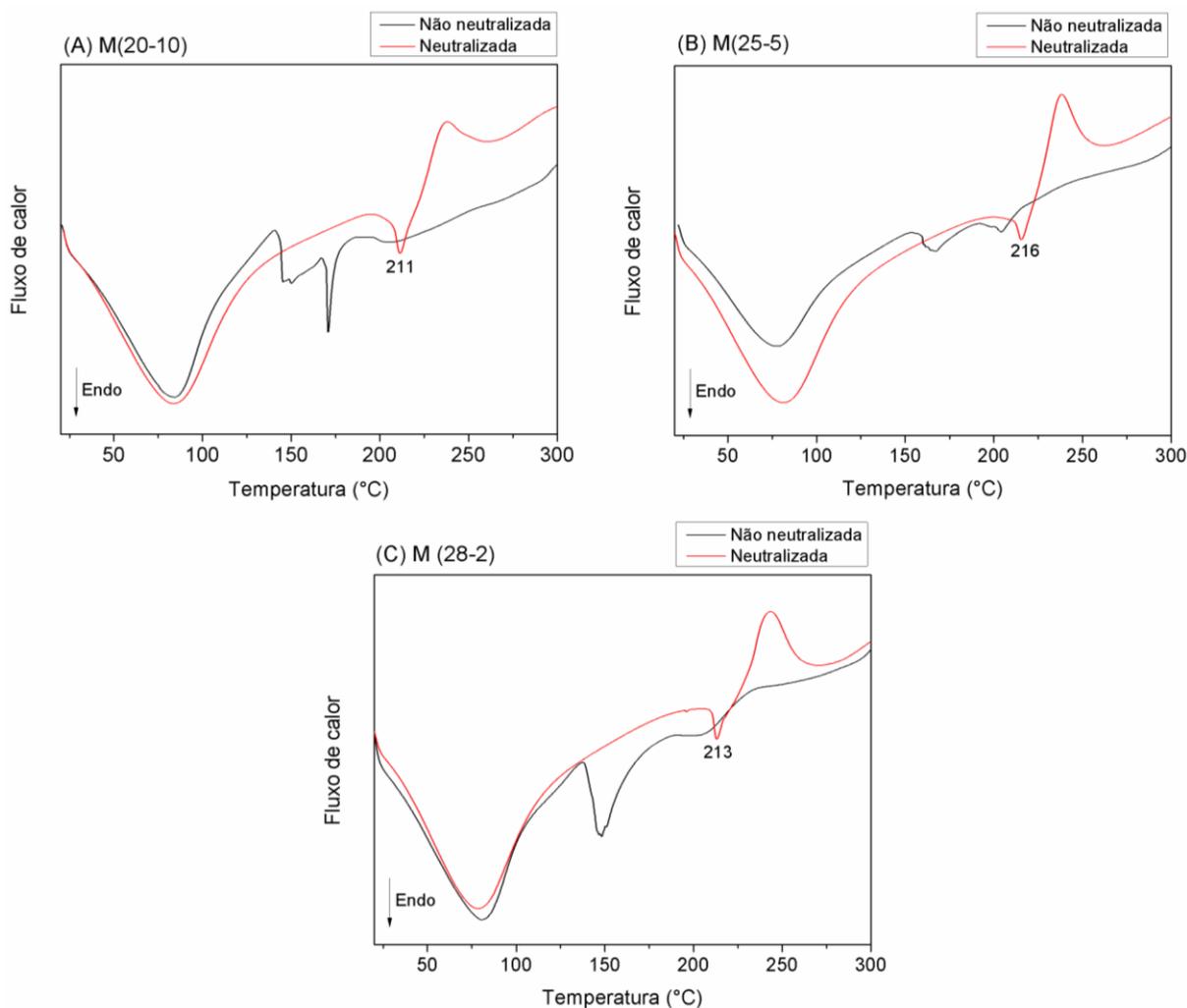


Figura 7. Curvas DSC das membranas M(20-10) (A), M(25-5) (B) e M(28-2) (C).

5.6 Espectroscopia na região do Infravermelho (FTIR-ATR)

Espectros FTIR-ATR das membranas (não neutralizada e neutralizada) estão apresentados na Fig. 8. Os espectros FTIR-ATR da membrana M(20-10) apresentaram mudanças significativas após neutralização (Fig. 8). Antes do processo de lavagem, o espectro FTIR-ATR apresentou uma banda em 1521 cm^{-1} atribuída as ligações -N-H^+ (MARTINS et al., 2011; MARTINS et al., 2012) e sinais em 1622 cm^{-1} e 1732 cm^{-1} referentes aos estiramentos das ligações C=O de amida e ácido carboxílico, respectivamente (SOUTO-MAIOR et al., 2010). Após neutralização, a banda em 1732 cm^{-1} no espectro FTIR-ATR da amostra M(20-10) ocorreu com menor intensidade devido à ionização da QT (Fig. 8A). O sinal em 1584 cm^{-1} foi atribuído ao estiramento das ligações -N-H , -N-H^+ e C=O . A alta intensidade desta banda ocorreu devido à neutralização da amostra e, conseqüente aumento no conteúdo de

íons carboxilato e grupos amino não protonados na estrutura da PT e QT, respectivamente.

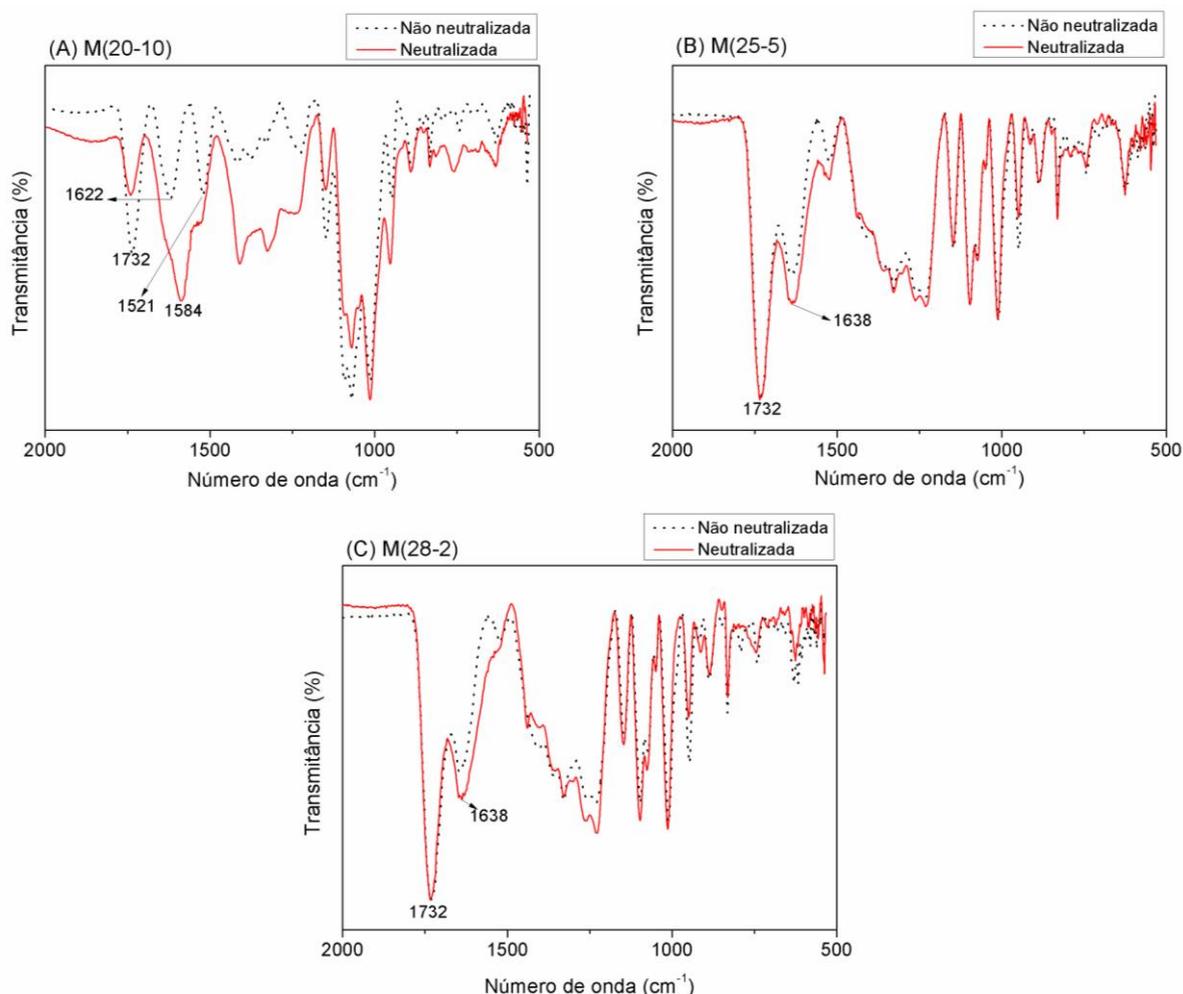


Figura 8. Espectros FTIR-ATR: (A) M(20-10), (B) M(25-5) e (C) M(28-2).

O maior conteúdo de QT na amostra M(20-10) permite maior afinidade as moléculas de água, uma vez que a QT encontra-se protonada na amostra não neutralizada. O excesso de carga positiva na QT gera repulsão e pode alterar a disposição das cadeias poliméricas no material. Por isso, os espectros FTIR-ATR da amostra M(20-10) apresentaram maior diferença entre eles com o processo de neutralização. Já para as membranas M(25-5) e M(28-2) os espectros FTIR-ATR não apresentaram mudanças notáveis, após processo de neutralização. Esse efeito se deve ao maior excesso de PT na estrutura das membranas. No entanto, houve uma leve alteração na banda 1638 cm⁻¹, atribuída ao estiramento das ligações C=O do ânion carboxilato e C=O de amida (Figs. 8B e 8C). Esta banda apresentou aumento

de intensidade, confirmando que o teor de íons -COO^- aumenta na superfície das amostras após etapa de neutralização.

5.7 Espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS)

A composição química da superfície das membranas M(20-10), M(25-5) e M(28-2) neutralizadas foram analisadas por meio de espectroscopia de fotoelétrons de raios-X (XPS). Os espectros estão apresentados na Fig. 9.

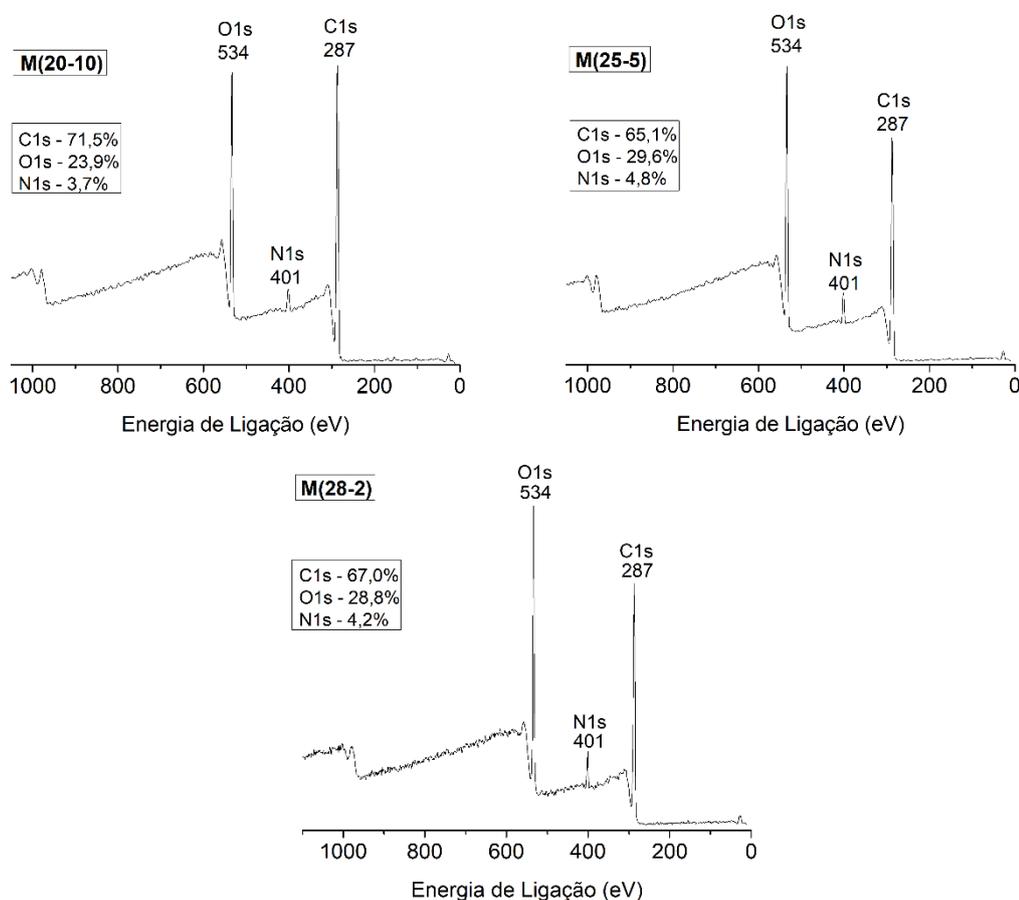


Figura 9. Espectros XPS das superfícies M(20-10), M(25-5) e M(28-2).

Todos os espectros XPS mostraram presença de picos característicos referentes aos elementos O1s (534 eV), N1s (401 eV) e C1s (287 eV) (Fig. 9). Esses elementos ocorrem na estrutura da PT e QT. A presença de nitrogênio nos espectros XPS confirmam que a QT está presente nas superfícies dos PECs. Em relação à composição atômica de cada amostra (Fig. 9), nota-se que o pico N1s foi levemente mais intenso no espectro XPS das membranas M(25-5) e M(28-2), mesmo utilizando

as maiores razões PT/QT na produção dessas membranas (Tabela 4). Por isso, o teor de nitrogênio foi em torno de 4% na superfície das membranas. Além disso, a concentração de carbono na superfície das membranas M(25-5) e M(28-2) diminuem em relação à amostra M(20-10), uma vez que o teor de oxigênio aumenta. A PT apresenta uma proporção maior de oxigênio em relação ao conteúdo de carbono, quando comparada à QT. Isto está relacionado aos grupos químicos $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ e $-\text{COOCH}_3/-\text{COOC}_2\text{H}_5$ presentes na estrutura da PT. Este resultado concorda com os valores das razões PT/QT (m/m) utilizada no preparo das membranas.

As Figs. 10, 11 e 12 apresentam os espectros XPS de alta resolução dos envelopes C1s, O1s e N1s das membranas PT/QT. Os espectros XPS dos envelopes C1s e O1s de alta resolução mostram ocorrência de grupos químicos característicos atribuídos as redes de PT e QT, tais como os grupos $-\text{C}-\text{OH}$, $-\text{C}-\text{NH}_2$, $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ (região de 286-287 eV), $-\text{COOH}$ (região de 288-289 eV), $-\text{C}-\text{C}-$ e $-\text{C}-\text{H}$ (região de 284 eV), $-\text{COOH}$, $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$, $-\text{OH}$, $-\text{COOR}$ ($\text{R} = -\text{CH}_3$ e $-\text{C}_2\text{H}_5$) e $-\text{NHCOCH}_3$ (região de 532 eV), $-\text{COO}^-$ (região de 531 eV), respectivamente. Não se observou alteração significativa nos espectros XPS de alta resolução dos envelopes C1s e O1s. Os sinais relatados nos espectros de alta resolução foram atribuídos de acordo com trabalhos publicados recentemente (ROMERO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2019). Os espectros XPS de alta resolução do envelope N1s mostrou ocorrência dos grupos $-\text{NH}_2$ (faixa de 399 eV), $-\text{NH}_3^+$ (região de 401-402 eV), e $-\text{NHCOCH}_3$ (região de 401 eV) característicos da QT. As amostras foram neutralizadas até pH 6. Nesta condição, os grupos $-\text{NH}_2$ e $-\text{NH}_3^+$ ocorrem na superfície das amostras pois o pK_a da QT é em torno de 6,5. Os resultados de XPS mostram a presença de grupos $-\text{NH}_2$ e $-\text{COO}^-$ que podem atuar na remoção de íons $\text{Cu}(\text{II})$ de sistemas aquosos (ROMERO et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2019).

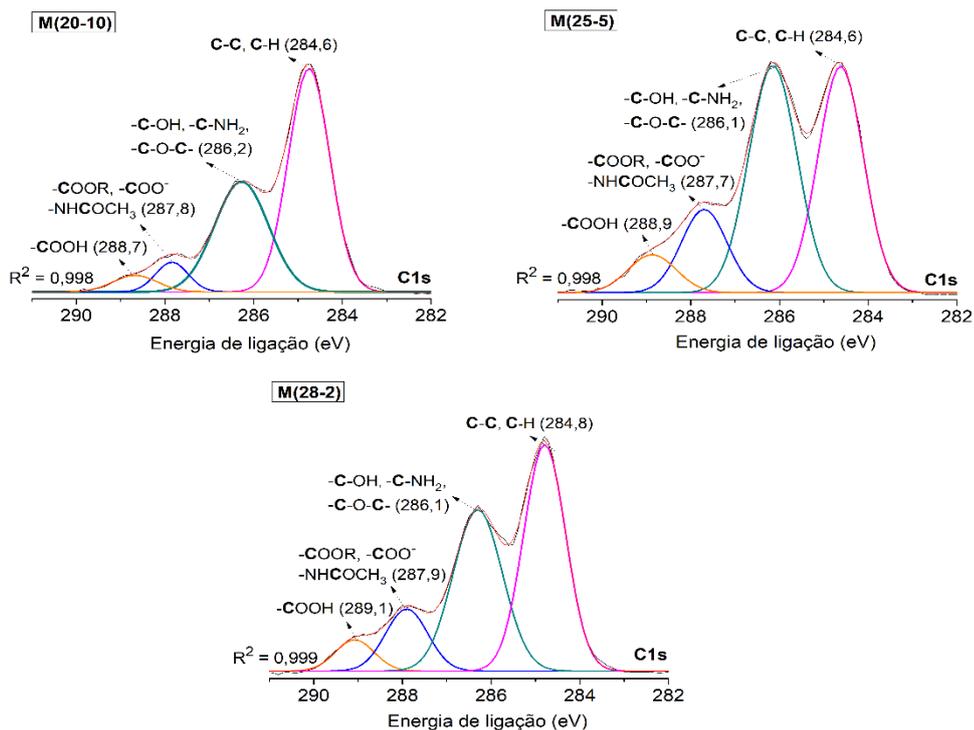


Figura 10. Espectros XPS de alta resolução: envelopes C1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2). R = -CH₃ e -C₂H₅.

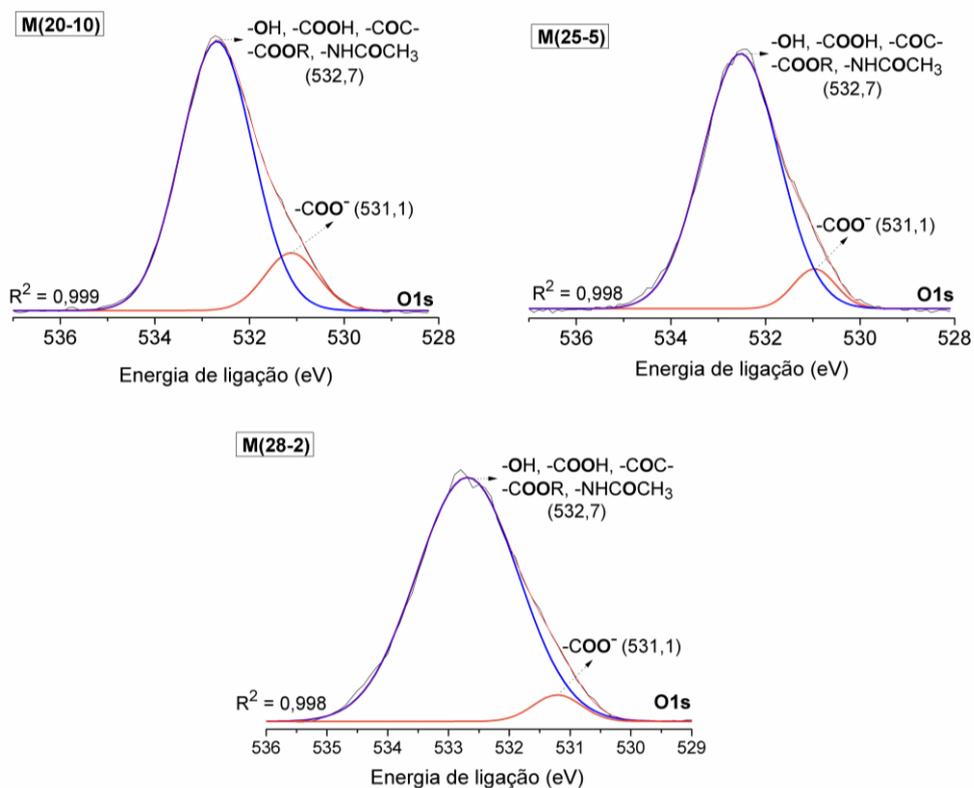


Figura 11. Espectros XPS de alta resolução: envelopes O1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2).

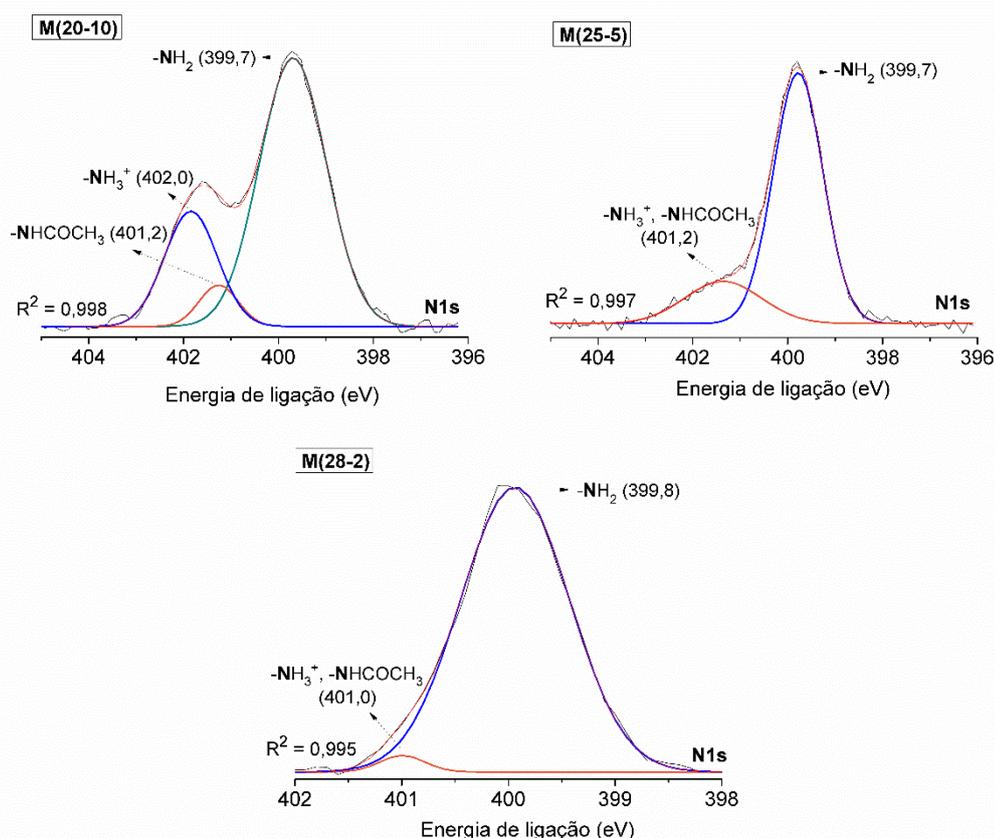


Figura 12. Espectros XPS de alta resolução: envelopes N1s M(20-10), M(25-5) e M(28-2).

5.8 Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

Imagens SEM das superfícies das membranas PECs estão mostradas na Fig. 13. As imagens indicaram que as membranas apresentaram superfícies lisas e compactas. A complexação efetiva entre PT e QT explica este resultado. Esse fato também se relaciona com a alta estabilidade e durabilidade dessas membranas. Não se observou alterações significativas na morfologia das amostras (Fig. 13).

Chen et al (2010) obtiveram membranas PT/QT, utilizando PT com baixo grau de O-metoxilação em pH 4,12, variando a relação de peso PT/QT na faixa 70/30 a 15/85. As amostras obtidas apresentaram estruturas frágeis e superfícies porosas (CHEN et al., 2010). Seguindo um procedimento experimental diferente, Maciel e colaboradores (2015) prepararam membranas PT/QT, usando PT com alto grau de O-metoxilação, variando o pH na faixa de 3,0 a 5,5. As membranas apresentaram morfologia lisa e compacta como as mostradas neste estudo (MACIEL; YOSHIDA; TEIXEIRA, 2015). Porém, este trabalho apresenta o desenvolvimento de membranas PECs estáveis, através do ajuste da razão PT/QT (m/m). Estas membranas

apresentam excesso de PT em suas composições, são resistentes e duráveis; por isso, podem ser utilizadas em estudos de adsorção de metais tóxicos.

Após neutralização, as membranas foram acondicionadas em solução de fluido intestinal simulado (pH 6,8) por 24h a 25°C. Então, as amostras foram removidas do meio SIF, lavadas, congeladas, fraturadas e liofilizadas. Após imagens SEM foram obtidas (Fig. 14). As imagens SEM na Fig. 14 retratam seções transversais das membranas obtidas por fratura. As imagens indicaram morfologia compacta, corroborando com os resultados de resistência à tração e estabilidade.

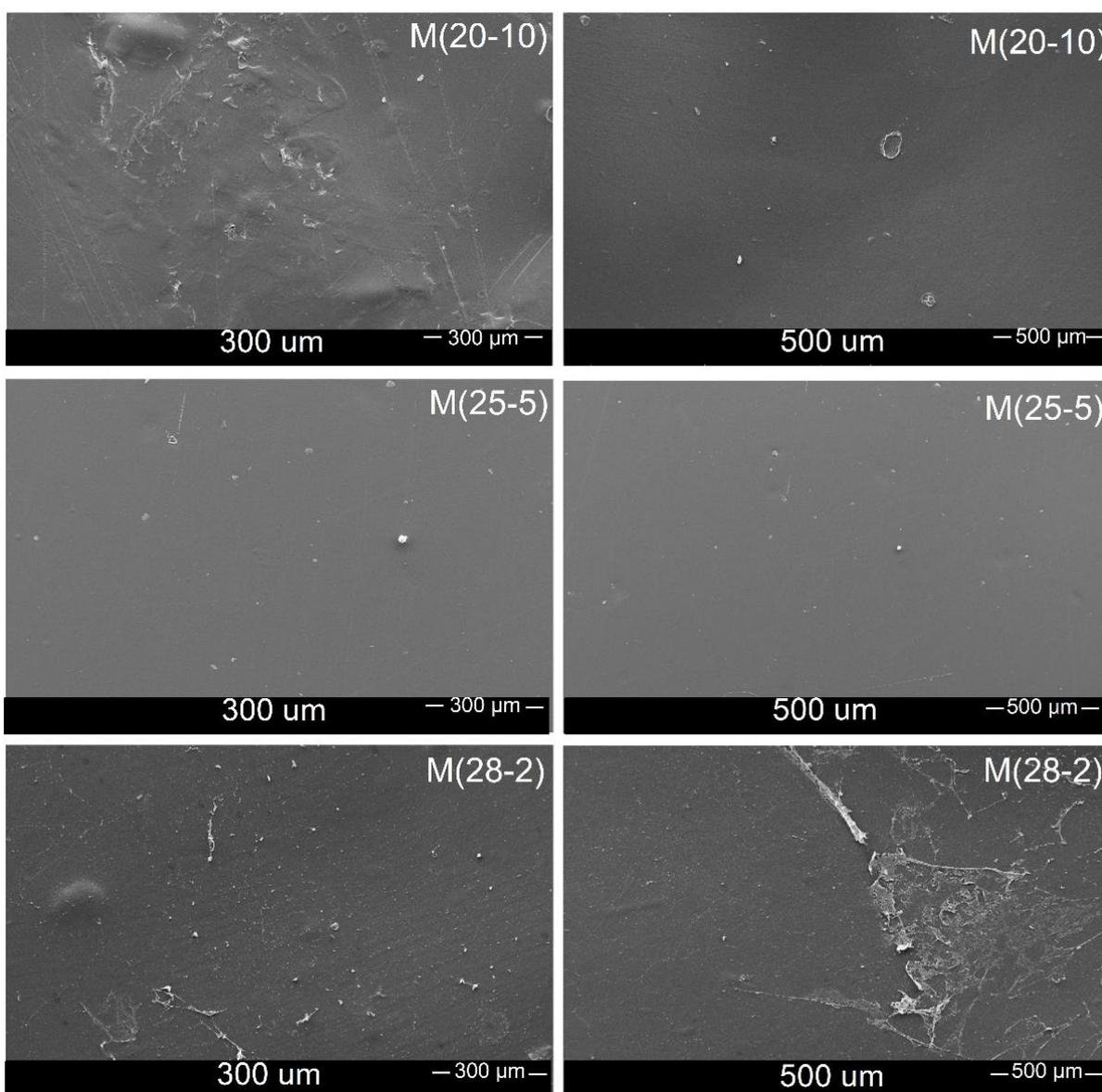


Figura 13. Imagens SEM das membranas: M(20-10), M(25-5) e M(28-2).

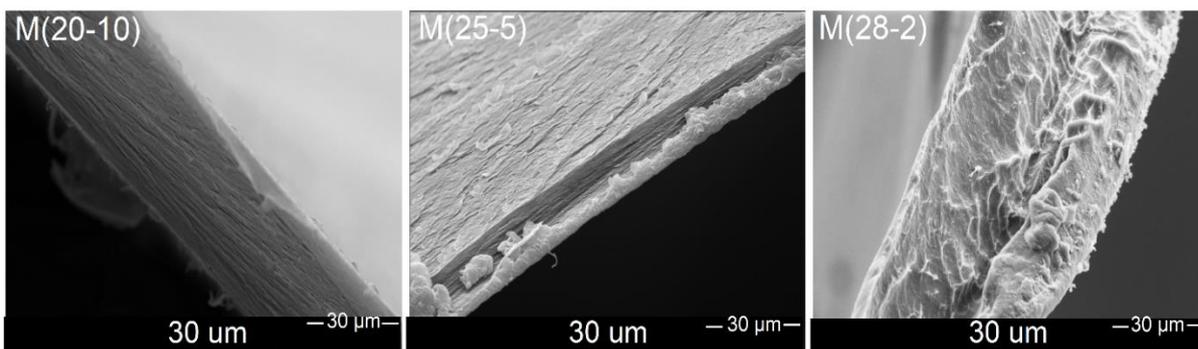


Figura 14. Imagens SEM (fratura) das membranas: M(20-10), M(25-5) e M(28-2).

5.9 Estudos de adsorção de íons Cu(II) utilizando a membrana M(28-2)

A membrana M(28-2) foi escolhida como agente adsorvente uma vez que esta apresenta alto grau de intumescimento em solução SIF (pH 6,8) e, também, excesso de PT na sua composição, além de estabilidade em PBS. A PT é um polieletrólito aniônico e sua maior concentração pode favorecer a adsorção de íons Cu(II) de sistemas aquosos. A partir deste ponto, os estudos de adsorção de íons Cu(II) serão realizados com a membrana M(28-2).

5.9.1. Efeito do pH na adsorção de íons Cu(II)

O pH é um parâmetro importante que governa as interações entre o conjunto adsorvente-adsorbato em meio aquoso, pois a densidade de carga superficial sobre o adsorvente, bem como, o grau de ionização dos grupos químicos do adsorvente dependem do valor de pH do meio (NASCIMENTO et al., 2014; GUPTA; KHARAT, 2018). A Fig. 15 mostra o efeito do pH na remoção de íons Cu(II) a partir de soluções aquosas. A remoção de íons Cu(II) na faixa de pH entre 5,0 e 6,2 apresentou melhores resultados (95%). Em pH 0,5 não aconteceu remoção de íons Cu(II) e, em pH 2,0, a porcentagem de remoção foi de apenas 38%. O teste de adsorção não foi realizado em pHs superiores a 6,2 devido à possível precipitação de hidróxido de cobre(II) em solução (PAULINO; SANTOS; NOZAKI, 2008).

Os resultados obtidos mostram que a remoção de íons Cu(II) depende da condição inicial de pH das soluções de Cu(II). O aumento do pH favorece para o aumento da densidade de carga negativa superficial na membrana M(28-2). Esta membrana contém excesso de PT ($pK_a \approx 3,6-4,1$). Portanto, para valores de pH superiores a 3,0, os grupos carboxílicos ocorrem ionizados (TENTOR et al., 2017),

favorecendo a interação com os íons Cu(II) e, conseqüente remoção destes íons do sistema aquoso. Condições de pH abaixo de 4,0 promovem aumento da concentração de íons H_3O^+ . Estes íons competem com os íons Cu(II) pelos sítios de adsorção do adsorvente (ABOU EL-REASH; ABDELGHANY; ELRAZAK, 2016). Este efeito somado a ionização da QT (favorecida em pHs < 6,5) na amostra, diminui a efetividade de remoção dos íons Cu(II) em condições de pH abaixo de 4,0 (GUPTA; KHARAT, 2018).

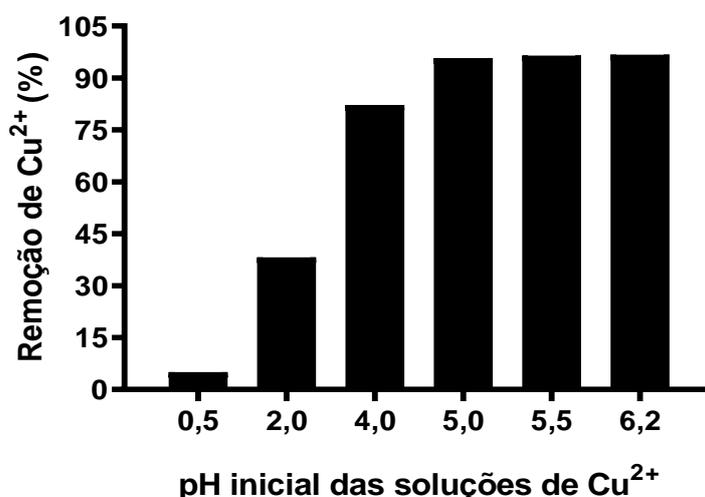


Figura 15. Estudo do efeito do pH nos ensaios de adsorção de íons Cu(II). Condição experimental utilizada no ensaio de adsorção: 2 corpos de prova do adsorvente M(28-2) (50 × 25 mm; massa média de adsorvente = 0,0846 g), 50 mL da solução do adsorbato (40 mg L⁻¹), 100 rpm de agitação, 25°C e 24 h de ensaio.

Após o processo de adsorção realizado com soluções Cu(II) preparadas inicialmente em pH 5,0, 5,5 e 6,2, observou-se que, o pH das soluções (dos sobrenadantes) foi em torno de 4,5. Para as demais condições não houve alteração significativa no valor de pH após os ensaios de adsorção. A diminuição no valor de pH pode estar relacionada ao processo não efetivo de neutralização das membranas e, também, a possível formação de um tampão envolvendo as espécies $-COOH/-COO^-$ e $-NH_3^+/-NH_2$. Este mesmo efeito foi observado em testes de adsorção de íons Pb(II) usando PECs adsorventes a base de alginato e QT (FACCHI et al., 2018). Para as próximas etapas, os ensaios de adsorção serão realizados com soluções Cu(II) inicialmente preparadas na condição de pH 5,5. Após o ensaio de adsorção, o pH diminui de 5,5 para 4,5. Portanto, os demais estudos de adsorção serão realizados a partir desta condição, ou seja, condição de equilíbrio a pH 4,5.

5.9.2. Efeito da dosagem no processo de adsorção de íons Cu(II)

A análise do efeito de dosagem foi realizada variando a quantidade de corpos de prova (50×25 mm) do agente adsorvente M(28-2), mantendo os demais parâmetros fixos. Os resultados de remoção de íons Cu(II) em função da dosagem, estão apresentados na Fig. 16. O corpo de prova da membrana M(28-2) com dimensão de 50×25 mm apresentou massa média de 0,0423 g ($n = 10$). A remoção de íons Cu(II) alcançou 36,8%, 82,1%, 88,2% e 95,5% para as dosagens $0,85 \text{ g L}^{-1}$ (1 corpo de prova), $1,69 \text{ g L}^{-1}$ (2 corpos de prova), $2,5 \text{ g L}^{-1}$ (3 corpos de prova) e $3,38 \text{ g L}^{-1}$ (4 corpos de prova), respectivamente (Fig. 16).

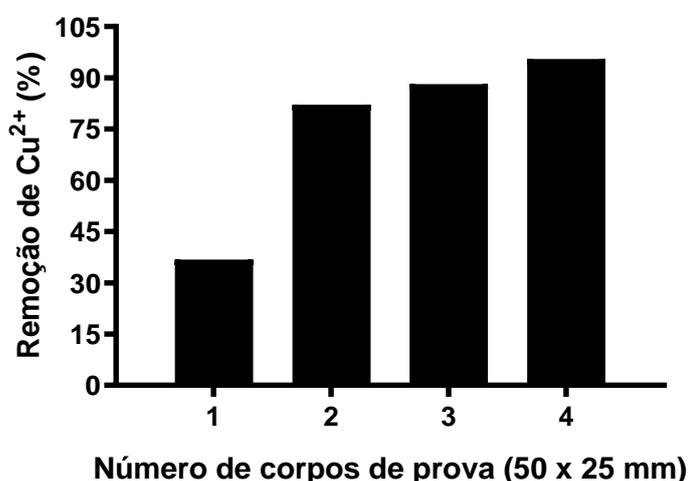


Figura 16. Efeito da dosagem sobre o processo de adsorção de íons Cu(II). Condição experimental utilizada: 50 mL da solução Cu(II) a 40 mg L^{-1} (pH 5,5), 100 rpm de agitação, 25°C , 24 h e pH de equilíbrio 4,5.

A remoção de íons Cu(II) aumentou quando a dosagem de adsorvente também aumentou. Isto ocorre devido à maior disponibilidade de sítios ativos que podem atuar na adsorção dos íons Cu(II). No entanto, a remoção de íons Cu(II) não apresentou diferença notável quando a dosagem foi alterada de $1,69 \text{ g L}^{-1}$ (2 corpos de prova) para $3,38 \text{ g L}^{-1}$ (4 corpos de prova). Quanto maior a dosagem maior a chance de não saturação do sólido adsorvente.

O parâmetro q_e representa a quantidade máxima de íons Cu(II) adsorvidos na condição de equilíbrio. Os valores de q_e determinados foram $16,08 \text{ mg g}^{-1}$ (1 corpo de prova), $17,92 \text{ mg g}^{-1}$ (2 corpos de prova), $12,84 \text{ mg g}^{-1}$ (3 corpos de prova) e $10,43 \text{ mg g}^{-1}$ (4 corpos de prova). Quando a massa do adsorvente aumentou para 3 e 4 corpos de prova, o q_e atingiu valores menores, por causa da redução da razão volume

da solução de adsorvato/massa de adsorvente. Por isso, em estudos posteriores, os estudos de adsorção foram realizados na dosagem de $1,69 \text{ g L}^{-1}$ (2 corpos de prova).

5.9.3. Cinética de adsorção e mecanismo

Os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich foram aplicados aos dados experimentais de cinética descritos na Fig. 17. A condição de equilíbrio foi alcançada após 120 min de ensaio.

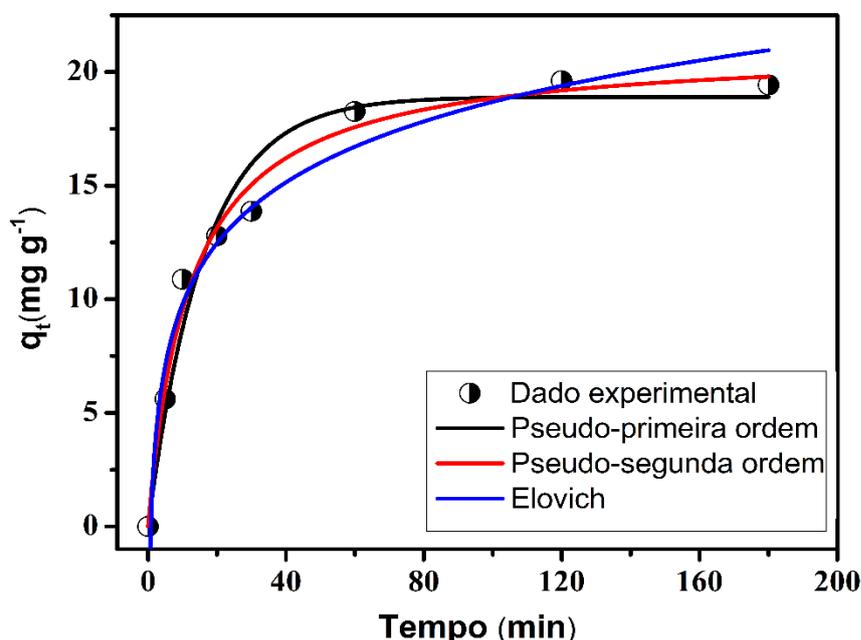


Figura 17. Curva da cinética de adsorção de íons Cu(II) com ajustes não-lineares dos modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich. Condição experimental: 0,0846 g de adsorvente (dois corpos de prova), 50 mL de solução Cu(II) a 40 mg L^{-1} (pH 5,5), 100 rpm de agitação, pH 4,5 (condição de equilíbrio) a 25°C .

Os parâmetros cinéticos obtidos por meio da aplicação dos modelos matemáticos aos dados experimentais estão descritos na Tabela 8. O modelo de pseudo-segunda ordem foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais, uma vez que o coeficiente de determinação R^2 foi de 0,9871 e o desvio padrão normalizado foi o mais baixo em relação aos valores obtidos por meio dos outros modelos matemáticos (Tabela 8).

Tabela 8. Parâmetros cinéticos dos modelos pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich obtidos por meio dos ajustes descritos na Fig. 17.

Amostra	Modelos cinéticos		
	Pseudo-primeira ordem	Pseudo-segunda ordem	Elovich
M(28-2)	$q_e = 18,90$	$q_e = 21,13$	$\alpha = 4,86$
	$k_1 = 0,062$	$k_2 = 0,004$	$\beta = 0,26$
	$R^2 = 0,9690$	$R^2 = 0,9871$	$R^2 = 0,9754$
	$\Delta q_e = 4,56$	$\Delta q_e = 3,43$	$\Delta q_e = 4,38$

O modelo de pseudo-segunda ordem considera que a concentração de adsorbato é constante em relação ao tempo, e que o número total de sítios de ligação na superfície do adsorvente é dependente da quantidade de adsorbato que é adsorvido no equilíbrio (GUPTA; BHATTACHARYYA, 2011). O modelo de pseudo-segunda ordem prediz que o mecanismo que controla o processo de adsorção é governado por quimissorção. Neste caso, o processo de adsorção de íons Cu(II) envolve o compartilhamento de elétrons (formação de complexos metálicos) entre o adsorbato e a superfície da membrana M(28-2). Portanto, os grupos $-\text{COO}^-$ podem interagir eletrostaticamente com íons Cu(II) para formar acetato de cobre(II) e, também podem complexar com os íons Cu(II) via compartilhamento de elétrons (GUPTA; BHATTACHARYYA, 2011). Grupos $-\text{NH}_2$ da QT também podem se coordenar aos íons Cu(II) e auxiliar no processo de adsorção. Porém, esse efeito deve ser mínimo, uma vez que a concentração de QT na amostra M(28-2) é muito baixa.

Membranas de QT associadas com sílica e reticuladas com glutaraldeído foram desenvolvidas por Ghaee e colaboradores (2010). Neste caso, o modelo cinético de pseudo-segunda ordem também foi o que melhor se ajustou aos dados experimentais ($R^2 = 0,9910$). Os modelos cinéticos de pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem têm sido amplamente aplicados para explicar o processo de sorção de íons cobre; porém, o modelo de pseudo-segunda tem fornecido os melhores ajustes (GHAEE et al., 2010; WANG et al., 2016b).

5.9.4. Isotermas de adsorção

Estudos de equilíbrio de adsorção foram realizados para avaliar o desempenho da membrana M(28-2) no processo de adsorção de íons Cu(II). Os ajustes dos modelos isotérmicos aos dados experimentais ajudam a elucidar o

mecanismo de adsorção. Os modelos isotérmicos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson e Sips foram ajustados aos dados experimentais de equilíbrio (Fig. 18).

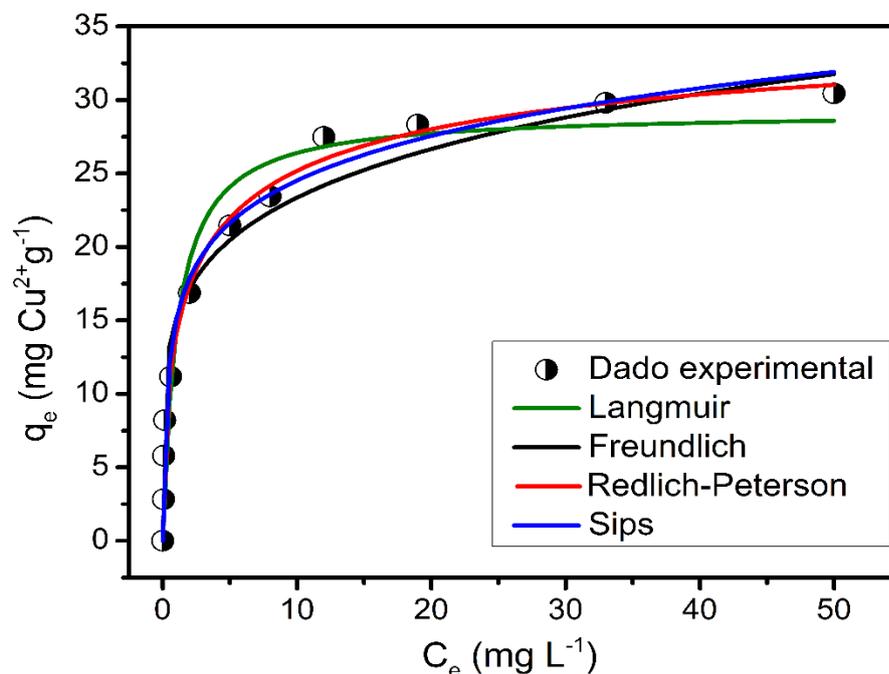


Figura 18. Isotermas de adsorção: Ajustes não lineares dos modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson, e Sips. Condição experimental: 0,0846 g de sólido adsorvente (massa média de dois corpos de prova), 50 mL da solução Cu(II) na faixa de concentração entre 5 a 100 mg L⁻¹ (pH 5,5), 100 rpm de agitação, pH 4,5 no equilíbrio, 25°C, 120 min.

Os parâmetros obtidos com os ajustes dos modelos isotérmicos estão apresentados na Tabela 9. Como pode ser observado, os modelos híbridos das isotermas de Langmuir e Freundlich, tais como os modelos de Redlich-Peterson e Sips se ajustaram melhor aos dados experimentais descritos na Fig. 18. No entanto, o modelo de Sips foi considerado o mais adequado para descrever os dados de equilíbrio de adsorção de íons Cu(II), uma vez que apresentou o maior valor de R^2 (0,9922) e menor valor de Δq_e (3,64%; Tabela 9). Isso significa que a capacidade de adsorção calculada através do modelo está em concordância com a obtida experimentalmente. De acordo com as isotermas de Langmuir e Sips os valores de q_m preditos pelos ajustes foram 29,20 mg g⁻¹ e 22,45 mg g⁻¹, respectivamente.

Tabela 9. Parâmetros de equilíbrio dos modelos de Langmuir, Freundlich, Redlich-Peterson e Sips obtidos com os ajustes dos modelos isotérmicos aos dados experimentais preditos na Fig. 18.

Amostra	Modelos isotérmicos			
	Langmuir	Freundlich	Redlich-Peterson	Sips
M(28-2)	$q_m = 29,20$	$k_F = 15,04$	$a_{RP} = 95,11$	$q_m = 22,45$
	$k_L = 0,94$	$n_f = 5,23$	$b_{RP} = 5,35$	$k_s = 0,54$
			$g = 0,85$	$m_s = 0,61$
	$R^2 = 0,9509$	$R^2 = 0,9434$	$R^2 = 0,9862$	$R^2 = 0,9922$
	$\Delta q_e = 6,09$	$\Delta q_e = 7,89$	$\Delta q_e = 4,86$	$\Delta q_e = 3,64$

O modelo de Sips foi também o mais apropriado para descrever os dados experimentais de equilíbrio de adsorção de outros estudos (ROSTAMIAN; NAJAFI; ABBAS, 2011). No estudo de adsorção apresentado aqui, foi utilizado soluções de adsorbato Cu(II) de concentrações elevadas (10 a 100 mg L⁻¹). Nesta condição, o modelo de Sips prediz o prevailecimento de processos de adsorção em monocamada; processo característico da Isoterma de Langmuir (FOO; HAMEED, 2010; RANGABHASHIYAM et al., 2014). O termo m_s é o expoente do modelo de Sips. O valor de m_s está relacionado ao índice de heterogeneidade da superfície do adsorvente. Valores de m_s mais próximos a unidade, tal como relatado aqui ($m_s = 0,61$), indica que a superfície possui homogeneidade para suportar adsorção em monocamada. Esse fato também confirma que o modelo de Langmuir prevalece sobre o de Freundlich, quando tentamos explicar o processo de adsorção de íons Cu(II). Este fato é ratificado por meio do ajuste de outro modelo híbrido de Langmuir e Freundlich (modelo de Redlich-Peterson) (SHARIPOVA et al., 2016).

Como já relatado, o modelo de Redlich-Peterson prediz a ocorrência de processos de adsorção em superfície heterogênea e homogênea e, admite processos de adsorção com formação de monocamada e, também multicamadas (BRDAR; MARINA, 2012; PEZOTI et al., 2016). Quando o expoente “g” do modelo de Redlich-Peterson apresenta valor próximo da unidade (≤ 1), como observado nesse estudo ($g = 0,85$), a isoterma de Redlich-Peterson prediz processos de adsorção com tendência a isoterma de Langmuir. Assim, no processo de adsorção de íons Cu(II) predomina a formação de monocamada na superfície da membrana PT/QT, conforme estabelecido pela isoterma de Langmuir (BRDAR; MARINA, 2012).

O modelo de Langmuir descreve processos de adsorção em monocamada, sendo que a superfície do adsorvente possui um número definido de sítios de adsorção com energias equivalentes e, cada sítio comporta apenas uma espécie de

adsorbato (FOO; HAMEED, 2010; MCKAY et al., 2014; PATHAK; MANDAVGANE, 2015). A constante k_L da isoterma de Langmuir está relacionada à afinidade entre adsorbato-adsorvente. Por meio da constante k_L é possível determinar o fator de separação de Langmuir (R_L) que é utilizado para avaliar a viabilidade do processo de adsorção. Os valores de R_L foram determinados de acordo com a Eq. descrita na Tabela 3. De acordo com a isoterma de Langmuir, valores de $R_L < 1$ indicam que o par adsorvente-adsorbato possuem alta afinidade um pelo outro. Por outro lado, valores de $R_L > 1$ indicam que o adsorbato tem maior afinidade pelo solvente. Neste estudo, os valores de R_L variaram de 0,9466 a 0,0208 (Fig. 19), indicando que o processo de adsorção de íons $Cu(II)$ é favorável na faixa de concentração avaliada (ERDOG et al., 2005; PATHAK; MANDAVGANE, 2015).

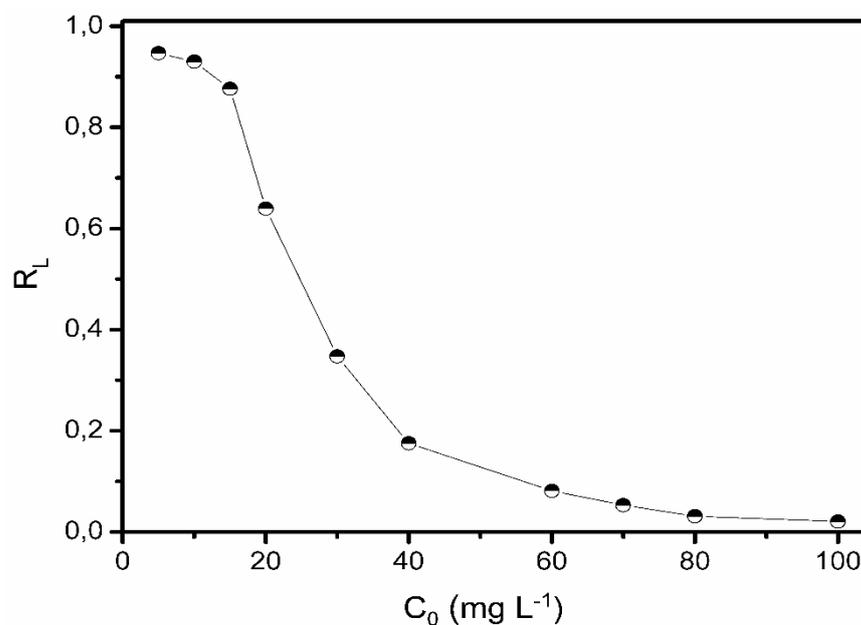


Figura 19. Fator de separação de Langmuir (R_L).

O valor de q_m predito pela isoterma de Langmuir foi de 29,20 mg g⁻¹. Esse valor é maior quando consideramos outros trabalhos relatados na literatura. Ghaee e colaboradores (2010) desenvolveram membranas de QT reticuladas com glutaraldeído e realizaram estudos de adsorção de íons $Cu(II)$. Foi usado dosagem de 2,5 g L⁻¹ e corpos de prova com dimensão de 20 × 30 mm (GHAEE et al., 2010). Os estudos de equilíbrio foram analisados na faixa de concentração de 62,5 a 1000 mg L⁻¹. O q_m obtido (Isoterma de Lagmuir) foi de 17,66 mg g⁻¹ (GHAEE et al., 2010). Comparando este resultado com o resultado obtido neste estudo (onde foi usado

dosagem de 1,69 g L⁻¹; 2 corpos de prova de 50 × 25 mm), verificou-se que o q_m desse estudo foi superior (q_m = 29,20 mg g⁻¹). Este resultado demonstrou que a membrana M(28-2) possui maior capacidade para remover íons Cu(II), quando comparado as membranas desenvolvidas por Ghaee et al., (2010), mesmo utilizando menor dosagem. Além disso, as membranas desenvolvidas neste estudo foram produzidas sem o uso de agentes químicos de reticulação, tal como o glutaraldeído. O glutaraldeído é tóxico e, por isso seu uso deve ser evitado, pois poderia contaminar o meio o qual está sendo tratado.

A Tabela 10 compara valores de q_m (obtidos da isoterma de Langmuir), dosagem e condição de pH utilizada nos ensaios de adsorção de íons Cu(II) divulgados nesse estudo, com outros trabalhos publicados. Nota-se que a membrana M(28-2) possibilitou melhores resultados de remoção de íons Cu(II), quando comparado aos obtidos com membranas convencionais de QT reticuladas com glutaraldeído (GHAEE et al., 2010). Por outro lado, há materiais já reportados que apresentaram melhores resultados que os apresentados nesse estudo (WANG et al., 2016b; SAHEBJAMEE et al., 2019). No entanto, polímeros sintéticos, tais como o poli(álcool vinílico e polietilenoimina (PEI), bem como nanopartículas de sílica (material inorgânico) são utilizados no preparo das membranas adsorventes (Tabela 10). Porém a desvantagem é que polímeros sintéticos elevam o custo de produção do material adsorvente. Além do mais, as membranas já descritas na literatura são obtidas por meio do processo de reticulação química. Estes processos costumam ser complexos e podem induzir citotoxicidade ao material adsorvente. A membrana M(28-2) não possui essas desvantagens.

Tabela 10. Comparação entre resultados de q_m e dosagem obtidos neste estudo com dados relatados na literatura, envolvendo outras membranas adsorventes na remoção de íons Cu(II).

Membrana adsorvente	Adsorbato	Dosagem		q _m (mg g ⁻¹)	Referências
		(g/L)	pH		
M(28-2)	Cu(II)	1,69	4,5	29,20	Neste estudo
QT reticulada com glutaraldeído	Cu(II)	2,5	5	17,66	(GHAEE et al., 2010)
QT/SiO ₂ reticulada com glutaraldeído	Cu(II)	1,0	5	87,5	(WANG et al., 2016b)
QT/poli(álcool vinílico)	Cu(II)	2	5	8,41	(CHENG et al., 2010)
QT/poli(álcool vinílico)/PEI*	Cu(II)	0,2	6	116,28	(SAHEBJAMEE et al., 2019)

*Polietilenoimina (PEI)

5.9.5. Potencial de regeneração da membrana PT/QT

Estudos de dessorção foram realizados nas condições de pH 2,0 e 5,5, durante 1, 3, 5, 7 e 14 dias. A saturação da superfície da membrana (0,0846 g) foi realizada com 50 mL da solução Cu(II) a 100 mg L⁻¹ (pH 5,5), mantendo o sistema em agitação (100 rpm) por 120 min a 25°C e pH de equilíbrio 4,5 (n = 5). Os valores das concentrações de íons Cu(II) adsorvidos, bem como as porcentagens de remoção de íons Cu(II) estão indicados na Tabela 11.

Tabela 11. Avaliação do potencial de reutilização da membrana M(28-2) por meio da realização de ciclos de adsorção/dessorção. Os estudos de adsorção foram realizados em 120 min de ensaio (n=5).

Primeiro Ciclo				
Tempo de dessorção (dia)	(C _{ads})/C _{des} (mg L ⁻¹)	(AD)/DS* (%)	(C _{ads})/C _{des} (mg L ⁻¹)	(AD)/DS* (%)
	pH 2,0	pH 2,0	pH 5,5	pH 5,5
1	(58,76)/30,70	(59,72)/52,26	(51,53)/8,43	(51,49)/16,37
3	(57,48)/30,83	(57,44)/52,56	(50,55)/7,92	(50,52)/15,66
5	(59,32)/30,68	(59,28)/51,72	(59,17)/6,49	(59,13)/10,98
7	(49,21)/30,22	(49,18)/61,39	(58,23)/6,27	(58,19)/10,77
14	(49,32)/30,39	(49,29)/61,61	(58,47)/5,21	(58,43)/8,91
Segundo ciclo				
Tempo de dessorção (dia)	(C _{ads})/C _{des} (mg L ⁻¹)	(AD)/DS* (%)	(C _{ads})/C _{des} (mg L ⁻¹)	(AD)/DS (%)
	pH 2,0	pH 2,0	pH 5,5	pH 5,5
1	(28,81)/16,93	(28,79)/58,76	(43,19)/0,23	(43,17)/0,53
3	(26,63)/14,73	(26,61)/55,31	(43,82)/0,24	(43,79)/0,54
5	(25,68)/13,68	(25,66)/53,27	(44,08)/0,25	(44,06)/0,57
7	(25,22)/7,88	(25,20)/31,24	(38,24)/0,12	(38,21)/0,33
14	(25,15)/5,48	(25,13)/21,79	(37,49)/0,10	(37,47)/0,30

*Adsorção (AD) e Dessorção (DS) descritos em termos de valores de porcentagem.

No processo de dessorção de íons Cu(II) foram depositados 0,0924 g (massa média da membrana M(28-2)/Cu obtida após teste de adsorção referente a dois corpos de prova 50 × 25 mm) do sólido saturado com íons Cu(II), e foi utilizado alíquotas da solução de HNO₃ 0,10 mol L⁻¹ (50 mL) para ajustar os valores de pH 2 e 5,5. Em pH 2,0, e considerando o primeiro ciclo, a concentração e porcentagem média de íons Cu(II) dessorvidos foram de 30,56 mg L⁻¹ e 55,91%, respectivamente. Na mesma sequência, quando o teste de dessorção foi avaliado em pH 5,5, a concentração e porcentagem media dessorvida alcançou apenas 6,86 mg L⁻¹ e 12,54%. Os valores médios foram indicados, pois a concentração de íons Cu(II) dessorvida ao longo de 14 dias não foi uma função do tempo, ou seja, não variou significativamente no intervalo de tempo investigado.

Resultados similares foram encontrados no segundo ciclo de adsorção/dessorção. Por outro lado, em pH 2,0 e considerando o intervalo de 14 dias, a concentração média de íons Cu(II) adsorvida e dessorvida foi de 26,29 mg L⁻¹ (26,27%) e 11,74 mg L⁻¹ (22,04%), respectivamente. No mesmo intervalo de tempo, mas na condição de pH 5,5, a concentração média de íons Cu(II) adsorvida e dessorvida foi de 41,36 mg L⁻¹ (41,34%) e 0,19 mg L⁻¹ (0,45%). Mais uma vez, o tempo não foi um parâmetro que influenciou significativamente nos resultados de dessorção.

A utilização do HNO₃ na solução, em pH 2,0, resulta na protonação das cadeias de PT (pK_a ≈ 3,6–4,1), aumentando a capacidade de dessorção dos íons Cu(II), pois as interações eletrostáticas entre os íons –COO⁻ da PT e Cu(II) podem ser desfeitas. Porém, a porcentagem de regeneração já no primeiro ciclo foi baixa (55,91%). No segundo ciclo, o potencial de regeneração foi ainda menor (44,10%). Isso mostra que o adsorvente e adsorbato estão interagindo eficientemente, indicando que o processo de adsorção é governado por quimissorção. Comparando os dados de dessorção avaliados em pH 2,0 e após 7 dias de análise, verificou-se menor eficiência na dessorção. Isso se deve ao maior tempo de contato das membranas com a solução e, ainda, devido à protonação das cadeias de PT. Esse último efeito deve alterar a solubilidade da PT, resultando no aumento da velocidade de degradação do material. Devido às características apresentadas, a membrana M(28-2) pode ser reutilizada por apenas mais uma ciclo. Para isso, a dessorção deve ser realizada em pH 2,0. Em pH 5,5, a PT continua ionizada, favorecendo ainda mais a efetividade de interação com os íons Cu(II) na superfície do adsorvente. A baixa concentração de íons Cu(II) dessorvidos em pH 5,5 se deve as espécies fracamente ligadas na superfície do adsorvente.

5.10 Caracterização da membrana M(28-2) após ensaio de adsorção

5.10.1. Espectroscopia de fotoelétrons de raio-X (XPS)

A técnica de XPS foi utilizada para caracterizar a superfície da membrana M(28-2), antes e após o processo de adsorção de íons Cu(II). A Fig. 20 apresenta os espectros XPS (survey) das amostras M(28-2) e M(28-2)/Cu, enquanto a Fig. 21, mostra o espectro XPS de alta resolução do envelope Cu2p obtido a partir da

superfície da amostra M(28-2)/Cu (após ensaio de adsorção). A presença de átomos de Cu não foi identificada na superfície da membrana M(28-2). Por outro lado, foi possível identificar a presença de átomos de cobre ($\text{Cu}2p = 0,3\%$) na superfície da membrana M(28-2)/Cu (Fig. 20) (NAUMKIN et al., 2012; DEMEL et al., 2015). Esse resultado confirma o processo de adsorção de íons $\text{Cu}(\text{II})$. Como já relatado anteriormente, os demais elementos (O1s, N1s e C1s), característicos da estrutura da PT e QT também foram identificados nas amostras. Porém o conteúdo de O1s e N1s diminuiu na superfície do material M(28-2)/Cu em relação à superfície do filme antes do processo de adsorção. Esse resultado está relacionado com a formação de monocamada na superfície da membrana, confirmando o processo de adsorção de íons $\text{Cu}(\text{II})$.

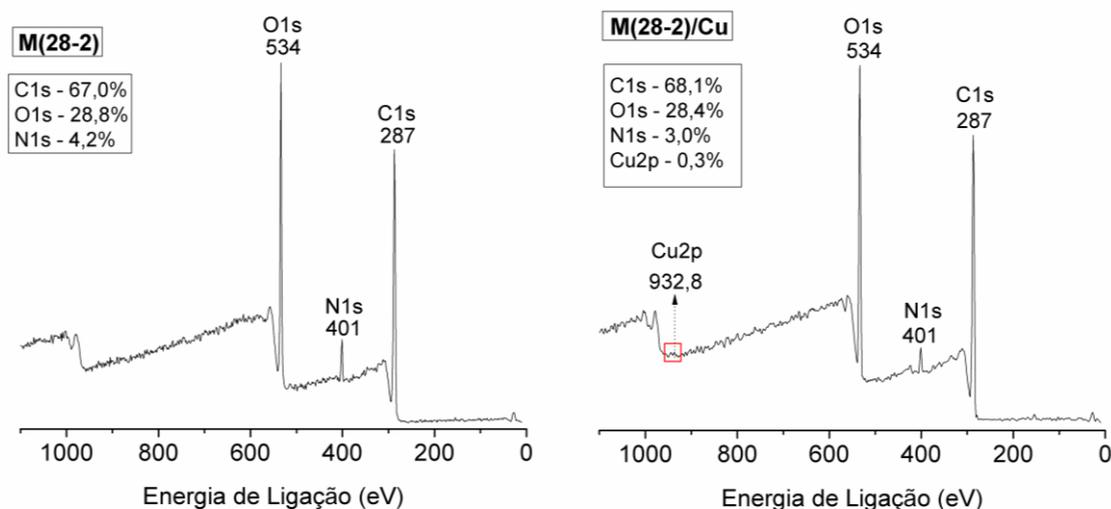


Figura 20. Espectros XPS das membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu (survey).

O espectro de alta resolução do envelope $\text{Cu}2p$ é apresentado na Fig. 21. Essa análise ratifica a ocorrência de átomos Cu na superfície da membrana após ensaio de adsorção. O espectro XPS de alta resolução do envelope $\text{Cu}2p$ indica o surgimento de picos característicos que envolvem as ligações $\text{Cu}-\text{O}$ em 953,8 eV, 952,3 eV, 934,6 eV e 932,8 eV. As ligações $\text{Cu}-\text{O}$ são atribuídas a formação de ligações químicas covalentes entre átomos de oxigênio da PT, provavelmente aqueles encontrados nos grupos $-\text{COO}^-$, os quais devem se coordenar aos íons $\text{Cu}(\text{II})$, promovendo a incidência de ligações $\text{Cu}-\text{O}$ na superfície da amostra M(28-2)/Cu. Esse efeito ratifica o processo de quimissorção, como relatado nas seções anteriores.

Os picos relatados nos espectros de alta resolução do envelope Cu2p estão em acordo com outros dados já reportados (SHAIKH et al., 2011; NAUMKIN et al., 2012; DEMEL et al., 2015).

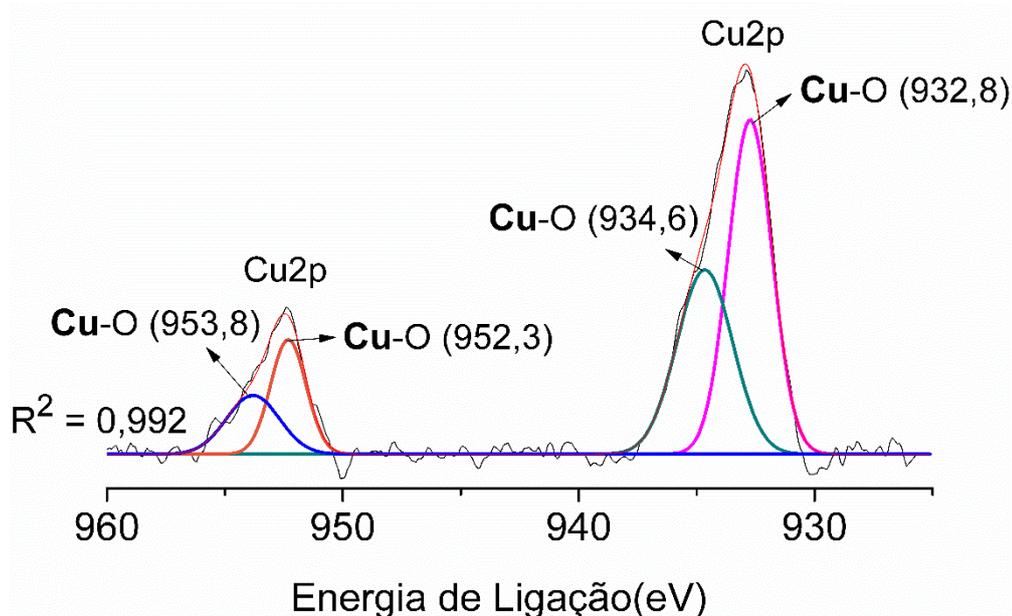


Figura 21. Espectro XPS de alta resolução do envelope Cu2p obtido na superfície da amostra M(28-2)/Cu (após ensaio de adsorção).

5.11 Potencial de aplicação da membrana M(28-2)/Cu

5.11.1. Atividade antimicrobiana

Como o potencial de reutilização da membrana PT/QT como adsorvente foi baixo, pois o processo de adsorção é governado por fenômenos químicos, esse estudo propõe aplicar a membrana contendo íons Cu(II) adsorvidos em aplicações no campo biomédico. O objetivo é dar um destino final ao material, por isso, testamos o potencial biomédico das membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu. O primeiro teste, buscou identificar se a presença de íons Cu(II) na superfície da membrana iria influenciar na atividade antimicrobiana do material, uma vez que, é bem conhecido que íons Cu(II) possuem atividade antimicrobiana. Em 2008, o cobre foi reconhecido pela American Environmental Protection Agency, como o primeiro agente antimicrobiano metálico, se tornando um material com potencial aplicação tecnológica (VINCENT; HARTEMANN; ENGELS-DEUTSCH, 2016). Então, a atividade antimicrobiana das membranas foi avaliada contra *E. coli* (ATCC 25922), em diferentes condições de pH (6,0 e 7,4) por 24 h a 37°C, utilizando a técnica disco-difusão. Também, a bactéria gram-negativa *E.*

coli foi escolhida neste teste por ser um contaminante normalmente encontrado na água potável (EDBERG et al., 2010). Imagens digitais das placas de cultura com discos (6 mm) das membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu estão apresentadas na Fig. 22.

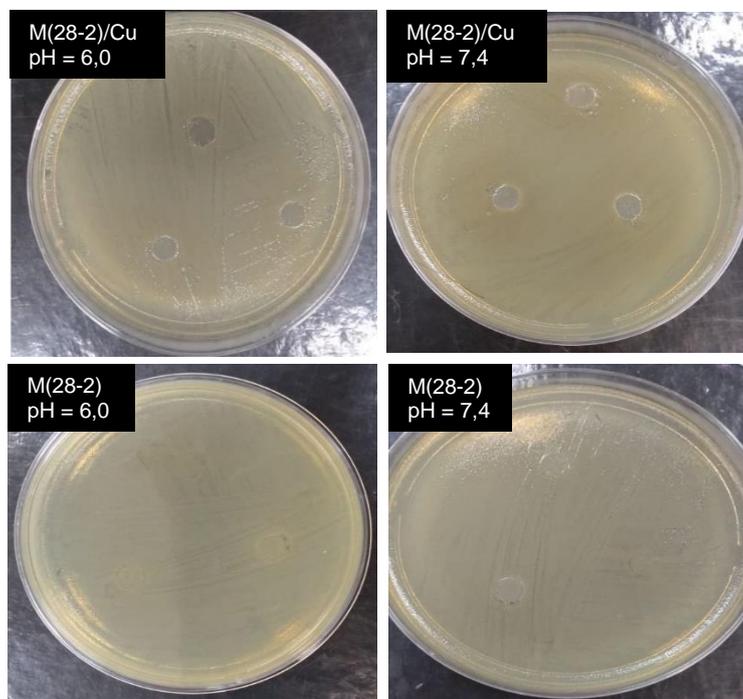


Figura 22. Imagens digitais das placas de cultura de *E. coli* contendo discos (6 mm) das membranas M(28-2)Cu e e M(28-2), após 24h de incubação a 37°C. Os ensaios foram realizados nas condições de pH 6,0 e 7,4.

Como esperado, não houve formação de halos de inibição, mesmo quando o teste foi realizado com a amostra M(28-2)/Cu, uma vez que não há liberação/dessorção significativa de íons Cu(II) dos discos nas condições de pH investigadas (Fig. 22). Esse efeito se deve ao processo de quimissorção. Por outro lado, percebe-se claramente que não há crescimento de *E. coli* sobre os discos da membrana M(28-2)/Cu, fato este que não ocorre na amostra M(28-2). Isso mostra que a membrana contendo íons Cu(II) na superfície apresenta ação bacteriostática. A presença de íons Cu(II) inibiu o crescimento da *E. Coli* em ambas condições de pH avaliadas. Na amostra M(28-2), a *E. coli* cresce sobre os discos, mostrando que a membrana sem íons Cu(II) não tem atividade bacteriostática. Neste caso, a membrana M(28-2)/Cu pode ser empregada como bandagens em aplicações biomédicas, visando a prevenção quanto ao depósito de bactérias na superfície de tecidos da pele humana (PEREIRA et al., 2019).

Os resultados mostraram que a M(28-2) sem a presença de íons Cu(II), não apresentou resultado satisfatório para inibir o crescimento bacteriano, pois apesar da mesma não conter Cu(II), a mesma apresenta baixa concentração de QT (7%). Sabe-se que a QT possui atividade antimicrobiana (MARTINS et al., 2014), no entanto devido ao grande excesso de PT na amostra, a atividade da QT é suprimida. Portanto, o efeito bacteriostático se deve a ocorrência de íons Cu(II) na superfície da amostra. A atividade bacteriostática da membrana M(28-2)/Cu pode ser justificada com base na alteração superficial que ocorre na membrana após processo de adsorção. Essa alteração foi confirmada pela análise de XPS.

5.11.2. Viabilidade celular via método AlamarBlue

Para que a amostra M(28-2)/Cu seja aplicada como bandagem, a mesma não deve promover citotoxicidade. Por isso, investigou-se a ação citotóxica das membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu sobre células tronco mesenquimais do tecido ósseo (MSCs) durante incubação de 4 dias a 37°C (Fig. 23). O teste do AlamarBlue (ou resazurina) foi utilizado para analisar a viabilidade das células MSCs promovida pelas amostras M(28-2), M(28-2)/Cu e controles (negativo = meio de cultura com células sem contato com as membranas e controle positivo = folhas de titânio em contato com as células). O método do AlamarBlue baseia-se em um ensaio colorimétrico direto, no qual a redução do corante resazurina indica presença de células viáveis no meio avaliado (MARTINS et al., 2018b). A relação entre a concentração de células viáveis e a concentração da espécie reduzida do corante resazurina é linear nas condições preditas nesse estudo.

Os resultados de viabilidade celular promovido pelas membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu foram comparados aos resultados obtidos por um controle interno, o metal titânio (controle positivo). O titânio foi escolhido devido à ampla aplicação deste na área biomédica (DE VITERI; FUENTES, 2013). Os resultados foram normalizados em relação ao resultado de viabilidade promovidos pelo titânio e comparado com os valores de viabilidade celular promovido pelo controle negativo. Neste caso, a viabilidade celular promovida pelo titânio foi tomada como sendo 100% e, com isso, a viabilidade celular promovida pelas membranas e controle negativo foram comparadas com a viabilidade celular induzida pelo titânio (100%). Ambas membranas M(28-2) e M((28-2)/Cu promoveram viabilidade celular em torno de 65%

após 4 dias de análise (Fig. 23). O mesmo acontece com a viabilidade celular promovida pelo controle negativo. Esse efeito mostra que as amostras não possuem citotoxicidade, uma vez que a concentração celular não foi alterada depois de 4 dias de análise. Isso ocorre porque a viabilidade celular promovida pelas amostras e controle negativo são similares (não há diferença significativa nos resultados).

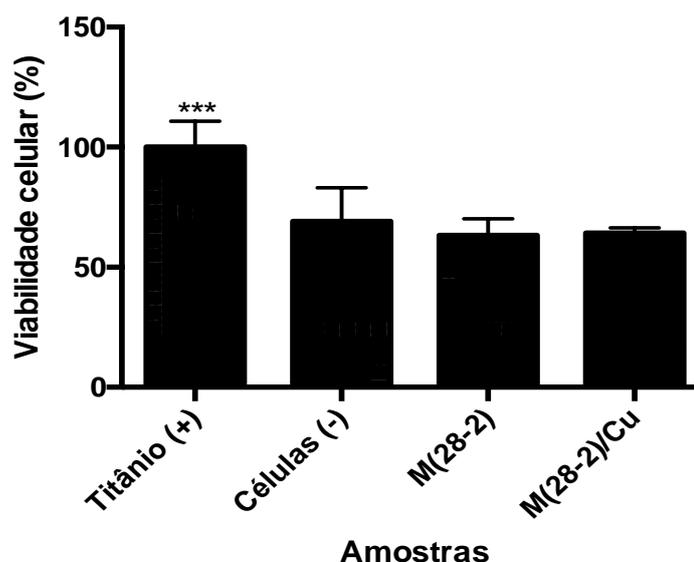


Figura 23. Resultados de viabilidade celular sobre células MSCs promovidas pelas amostras M(28-2), M(28-2)/Cu, células (controle negativo) e titânio (controle positivo) depois de 4 dias de análise a 37°C. O termo *** indica resultado significativamente diferente com $p \leq 0,001$.

Quando comparado ao titânio, os resultados de viabilidade celular foram significativamente diferentes. Neste caso, como já relatado, sabe-se que o titânio possui grande potencial para proliferar e promover o crescimento de células (ALMODÓVAR *et al.*, 2010). Por isso, o titânio promove maior viabilidade celular que as demais condições. A partir dos resultados de citotoxicidade, confirmamos que as membranas M(28-2) e M(28-2)/Cu são citocompatíveis. Dessa forma, a presença de íons Cu(II) não induz citotoxicidade. Isso provavelmente se deve a elevada estabilidade do material e elevada efetividade de interação entre os íons Cu(II) com a superfície do agente adsorvente. Sendo assim, a membrana M(28-2)/Cu pode apresentar potencial aplicação na área biomédica. Neste caso, destacamos o uso deste material como uma bandagem, pois a mesma pode inibir a proliferação e deposição de bactérias sem causar citotoxicidade ao tecido aplicado.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou pela primeira vez o desenvolvimento de membranas constituídas por PT/QT, contendo excesso de PT. A auto-montagem de redes poliméricas alteram as propriedades físico-químicas das membranas PECs, conferindo alterações significativas na resistência à tração, intumescimento e estabilidade térmica, em comparação com outros materiais publicados que se referem à materiais a base de PT e QT. Foram utilizadas diferentes condições experimentais em relação a outros métodos já reportados, afim de obter membranas hidrofílicas, duráveis e com estabilidade contra processos de degradação. Resultados de rendimento de complexação, bem como os dados de FTIR-ATR, TGA/DSC, XPS e SEM indicaram que a PT e QT interagem eficientemente para formar membranas compactas e resistentes. As membranas foram produzidas sem o uso de agentes tóxicos de reticulação, como compostos orgânicos comumente utilizados na reticulação de hidrogéis a base de polissacarídeos.

A membrana contendo maior teor de PT (93%) foi usada como agente adsorvente de íons Cu(II). Estudos de adsorção indicaram que a quimissorção desempenhou grande papel na remoção dos íons Cu(II). Esse efeito foi justificado pelos resultados de cinética, equilíbrio e XPS, sendo que o modelo cinético de pseudo-segunda ordem e o modelo isotérmico de Sips se ajustaram aos dados experimentais, respectivamente. A isoterma de Langmuir indicou q_m de 29,20 mg g⁻¹, sendo este dado maior em relação a outros achados já publicados. Devido ao baixo potencial de reutilização da membrana PT/QT como adsorvente, esta pode ser aplicada como bandagem. Estudos indicaram que a presença de íons Cu(II) na superfície da membrana induz atividade bacteriostática e, ainda, não desempenha efeitos citotóxicos sobre tecidos vivos. Este estudo descreveu o uso de um agente adsorvente de íons Cu(II) com potencial para ser aplicado no campo biomédico e ambiental.

REFERÊNCIAS

- ABOU EL-REASH, Y. G.; ABDELGHANY, A. M.; ELRAZAK, A. A. Removal and separation of Cu(II) from aqueous solutions using nano-silver chitosan/polyacrylamide membranes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 86, p. 789–798, 2016.
- AHMARUZZAMAN, M. Industrial wastes as low-cost potential adsorbents for the treatment of wastewater laden with heavy metals. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 166, n. 1–2, p. 36–59, 2011.
- AKAR, S. T. et al. Removal of copper(II) ions from synthetic solution and real wastewater by the combined action of dried *Trametes versicolor* cells and montmorillonite. **Hydrometallurgy**, v. 97, n. 1–2, p. 98–104, 2009.
- ALI, I.; GUPTA, V. K. Advances in water treatment by adsorption technology. **Nature Protocols**, v. 1, n. 6, p. 2661–2667, 2007.
- ALMODÓVAR, J. et al. Polysaccharide-based polyelectrolyte multilayer surface coatings can enhance mesenchymal stem cell response to adsorbed growth factors. **Biomacromolecules**, v. 11, n. 10, p. 2629–2639, 2010.
- AL-NASIRY, S.; GEUSENS N.; HANSSENS, M.; LUYTEN. C.; PIJNENBORG. R.; The use of AlamarBlue assay for quantitative analysis of viability, migration and invasion of choriocarcinoma cells. **Human Reproduction**, v. 22, n. 5, p. 1304–1309, 2007.
- AWUAL, M. R. et al. Treatment of copper(II) containing wastewater by a newly developed ligand based facial conjugate materials. **Chemical Engineering Journal**, v. 288, p. 368–376, 2016.
- BASHA, C. A. et al. Heavy metals removal from copper smelting effluent using electrochemical filter press cells. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, n. 2, p. 563–571, 2011.
- BERNABÉ, P. et al. Swelling behavior of chitosan / pectin polyelectrolyte complex membranes . Effect of thermal cross-linking. v. 375, p. 367–375, 2005.
- BHALODIA N. R.; SHUKLA V. J. Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. **J Adv Pharm Technol**, v. 2, p. 104–109, 2011.
- BHATTACHARYA, A. K.; MANDAL, S. N.; DAS, S. K. Adsorption of Zn(II) from aqueous solution by using different adsorbents. **Chemical Engineering Journal**, v. 123, n. 1–2, p. 43–51, 2006.
- BHATTARAI, N.; GUNN, J.; ZHANG, M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 1, p. 83–99, 2010.
- BRADBERRY, S. M. Metals (cobalt, copper, lead, mercury). **Medicine (United**

Kingdom), v. 44, n. 3, p. 182–184, 2016.

BRDAR, M.; MARINA, S. Comparison of two and three parameters adsorption isotherm for Cr (VI) onto Kraft lignin. **Chemical Engineering Journal**, v. 183, p. 108–111, 2012.

BUENO, P. V. A. et al. International Journal of Biological Macromolecules N , N - Dimethyl chitosan / heparin polyelectrolyte complex vehicle for efficient heparin delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 186–191, 2015.

CABELLO, S. D. P.; OCHOA, N. A.; TAKARA, E. A. Influence of Pectin as a green polymer electrolyte on the transport properties of Chitosan-Pectin membranes. v. 157, p. 1759–1768, 2017.

CAROLIN, C. F. et al. Efficient techniques for the removal of toxic heavy metals from aquatic environment: A review. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 5, n. 3, p. 2782–2799, 2017.

CHEN, P. H. et al. Novel chitosan-pectin composite membranes with enhanced strength, hydrophilicity and controllable disintegration. **Carbohydrate Polymers**, v. 82, n. 4, p. 1236–1242, 2010.

CHENG, Z. et al. Adsorption kinetic character of copper ions onto a modified chitosan transparent thin membrane from aqueous solution. **Journal of Hazardous Materials**, v. 182, n. 1–3, p. 408–415, 2010.

CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Testing**; Approved standard M02 – A11, v. 32, nº 1, 2012.

COIMBRA, P. et al. Preparation and chemical and biological characterization of a pectin/chitosan polyelectrolyte complex scaffold for possible bone tissue engineering applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 48, n. 1, p. 112–118, 2011.

CONAMA. Resolução CONAMA 430/2011. **Diário Oficial da União**, p. 9, 2011.

DEMEL, J. et al. Journal of Colloid and Interface Science Facile synthesis of CuO nanosheets via the controlled delamination of layered copper hydroxide acetate. **JOURNAL OF COLLOID AND INTERFACE SCIENCE**, v. 452, p. 174–179, 2015.

DENG, S.; BAI, R.; CHEN, J. P. Aminated polyacrylonitrile fibers for lead and copper removal. **Langmuir**, v. 19, n. 12, p. 5058–5064, 2003.

DE VITERI, V. S.; FUENTES, E.; Titanium and titanium alloys as biomaterials. In: **Tribology-Fundamentals and advancements**. InTech, 2013.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). Resolução nº 437, junho 2001. Tratamento de Resíduos Centralizados Diretrizes de Limitações de Efluentes Padrões

de Pré-tratamento (40 CFR 437), altera a Resolução 2003. **United States Environmental Protection Agency** <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-06/documents/cwt_compliancegui_de_2001.pdf> (Acesso em dezembro, 2018).

FACCHI, D. P. et al. New magnetic chitosan/alginate/Fe₃O₄@SiO₂ hydrogel composites applied for removal of Pb(II) ions from aqueous systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 527, p. 595-608, 2018.

FACCHI, D. P. et al. Polysaccharide-Based Materials Associated with or Coordinated to Gold Nanoparticles: Synthesis and Medical Application. **Current Medicinal Chemistry**, v. 24, p. 1-35, 2017.

FISHMAN, M. L. et al. Microwave-assisted extraction of lime pectin. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 8, p. 1170–1177, 2006.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal journal**, v. 156, p. 2–10, 2010.

FRAEYE, I. et al. Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 5, p. 219–228, 2010.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 57, p. 385–471, 1906.

FU, F.; WANG, Q. Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 92, n. 3, p. 407–418, 2011.

GHAEE, A. et al. Effects of chitosan membrane morphology on copper ion adsorption. **Chemical Engineering Journal**, v. 165, n. 1, p. 46–55, 2010.

GHAZY, S. E.; GAD, A. H. M. Lead separation by sorption onto powdered marble waste. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 7, n. 3, p. 277–286, 2014.

GHOSAL, P. S.; GUPTA, A. K. Determination of thermodynamic parameters from Langmuir isotherm constant-revisited. **Journal of Molecular Liquids**, v. 225, p. 137–146, 2017.

GÓMEZ-MASCARAQUE, L. G. et al. Oxidized dextrans as alternative crosslinking agents for polysaccharides: Application to hydrogels of agarose-chitosan. **Acta Biomaterialia**, v. 10, n. 2, p. 798–811, 2014.

GORRASI, G.; BUGATTI, V.; VITTORIA, V. Pectins filled with LDH-antimicrobial molecules: Preparation, characterization and physical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, n. 1, p. 132–137, 2012.

GUO, X. et al. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 2, p. 441–448, 2012.

GUO, Y.; JIA, Z. Sandwiched Zr (IV) -based coordinate porous materials membranes

for adsorption of copper (II) from water. **Materials Letters**, v. 228, p. 239–241, 2018.

GUPTA, M.; GUPTA, H.; KHARAT, D. S. Adsorption of Cu(II) by low cost adsorbents and the cost analysis. **Environmental Technology and Innovation**, v. 10, p. 91–101, 2018.

GUPTA, S. S.; BHATTACHARYYA, K. G. Kinetics of adsorption of metal ions on inorganic materials : A review. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 162, n. 1–2, p. 39–58, 2011.

HALIM, A. et al. Environmental Nanotechnology , Monitoring & Management Removal of toxic metal ions from wastewater using ZnO @ Chitosan core- shell nanocomposite. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 9, n. September 2017, p. 67–75, 2018.

HAMDAOUI, O. Removal of copper (II) from aqueous phase by Purolite C100-MB cation exchange resin in fixed bed columns : Modeling. v. 161, p. 737–746, 2009.

HAMEDI, H. et al. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings : A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, n. June, p. 445–460, 2018.

HAMEDI, H. et al. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings : A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 199, p. 445–460, 2018.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 451–465, 1999.

HU, H. et al. Efficient removal of copper from wastewater by using mechanically activated calcium carbonate. **Journal of Environmental Management**, v. 203, p. 1–7, 2017.

HUA, R.; LI, Z. Sulfhydryl functionalized hydrogel with magnetism: Synthesis, characterization, and adsorption behavior study for heavy metal removal. **Chemical Engineering Journal**, v. 249, p. 189–200, 2014.

JOHNSON, P. D. et al. Peanut hull pellets as a single use sorbent for the capture of Cu(II) from wastewater. **Waste Management**, v. 22, n. 5, p. 471–480, 2002.

JUANG, R.-S.; CHEN, M.-L. Application of the Elovich Equation to the Kinetics of Metal Sorption with Solvent-Impregnated Resins. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 36, n. 3, p. 813–820, 1997.

KACZALA, F.; MARQUES, M.; HOGLAND, W. Lead and vanadium removal from a real industrial wastewater by gravitational settling/sedimentation and sorption onto *Pinus sylvestris* sawdust. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 1, p. 235–243, 2009.

KAMAL, O.; POCHAT-BOHATIER, C.; SANCHEZ-MARCANO, J. Development and stability of gelatin cross-linked membranes for copper (II) ions removal from acid waters. **Separation and Purification Technology**, v. 183, p. 153–161, 2017.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24, p. 1–39, 1898.

LARGITTE, L.; PASQUIER, R. A review of the kinetics adsorption models and their application to the adsorption of lead by an activated carbon. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 109, p. 495–504, 2016.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 38, n. 11, p. 2221–2295, 1916.

LAURA, I. et al. Metals and metalloids treatment in contaminated neutral effluents using modified materials. v. 212, p. 142–159, 2018.

LESSA, E. F. et al. Removal of multi-metals from water using reusable pectin/cellulose microfibers composite beads. **Arabian Journal of Chemistry**, 2017.

LIANG, S. et al. Isotherms, kinetics and thermodynamic studies of adsorption of Cu²⁺ from aqueous solutions by Mg²⁺/K⁺ type orange peel adsorbents. v. 174, p. 756–762, 2010.

LOFRANO, G. **Emerging Compounds Removal from Wastewater**. 1. ed. New York: Springer, 2012.

LUO, Y.; WANG, Q. International Journal of Biological Macromolecules Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 64, p. 353–367, 2014.

MACIEL, V. B.; YOSHIDA, C. M. P.; TEIXEIRA, T. Chitosan / pectin polyelectrolyte complex as a pH indicator. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 537–545, 2015.

MAHINROOSTA, M. et al. Hydrogels as intelligent materials: A brief review of synthesis, properties and applications. **Materials Today Chemistry**, v. 8, p. 42–55, 2018.

MARTINS, A. F. et al. Characterization of polyelectrolytes complexes based on N,N,N-trimethyl chitosan / heparin prepared at different pH conditions. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 3, p. 1266–1272, 2011.

MARTINS, A. F. et al. Chitosan/TPP microparticles obtained by microemulsion method applied in controlled release of heparin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 5, p. 1127–1133, 2012.

MARTINS, A. F. et al. International Journal of Biological Macromolecules Characterization of N-trimethyl chitosan / alginate complexes and curcumin release. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 57, p. 174–184, 2013.

MARTINS, A. F. et al. Antimicrobial Activity of Chitosan Derivatives Containing N-Quaternized Moieties in Its Backbone: A Review. **Int. J. Mol. Sc**, v. 15, p. 20800–20832, 2014.

MARTINS, J. G. et al. Durable pectin / chitosan membranes with self-assembling , water resistance and enhanced mechanical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 188, n. January, p. 136–142, 2018a.

MARTINS, J. G. et al. Pectin-chitosan membrane sca ff old imparts controlled stem cell adhesion and proliferation. **Carbohydrate Polymers**, v. 197, n. February, p. 47–56, 2018b.

MCCABE, W. L.; SMITH, J. C. Unit operations of chemical engineering, 5^o Ed., McGraw-Hill, Inc. 1993.

MEDEIROS BORSAGLI, F. G. L. et al. O-carboxymethyl functionalization of chitosan: Complexation and adsorption of Cd (II) and Cr (VI) as heavy metal pollutant ions. **Reactive and Functional Polymers**, v. 97, p. 37–47, 2015.

MISHRA, R. K.; ANIS, A.; MONDAL, S.; DUTT, M.; BANTHIA, A. K. PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF AMIDATED PECTIN BASED POLYMER ELECTROLYTE MEMBRANES. **Chinese Journal of Polymer Science**, v. 27, n. 5, p. 639–646, 2009.

MUNARIN, F.; TANZI, M. C.; PETRINI, P. Advances in biomedical applications of pectin gels. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, n. 4, p. 681–689, 2012.

MUXIKA, A. et al. Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 105, p. 1358–1368, 2017.

NASCIMENTO, R. F. do; LIMA, A. C. A. de; VIDAL, C. B.; MELO, D. de Q.; RAULINO, G. S. C. **Adsorção: Aspectos teóricos e aplicações ambientais**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2014.

NAUMKIN, A. V; VASS, A. K.; GAARENSTROOM, S. W.; POWELL, C. J. **NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database 20**, Version 4.1, 2012.

NAZARZADEH, E.; MOTAHARI, A.; SILLANPÄÄ, M. Nanoadsorbents based on conducting polymer nanocomposites with main focus on polyaniline and its derivatives for removal of heavy metal ions / dyes : A review. **Environmental Research**, v. 162, n. January, p. 173–195, 2018.

NEBAGHE, K.C.; BOUNDATI, Y. E.; ZIAT, K.; NAJI, A.; RGHIOUI, L.; SAIDI, M. Comparison of linear and non-linear method for determination of optimum equilibrium isotherm for adsorption of copper(II) onto treated Martil sand. **Fluid Phase Equilibria**, v. 430, p. 188–194, 2016.

NEUFELD, L.; BIANCO-PELED, H. Pectin – chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 101, p. 852–861, 2017.

NOOR, N. M. et al. Agricultural biomass-derived magnetic adsorbents: Preparation and application for heavy metals removal. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 78, p. 168–177, 2017.

NOREEN, A. et al. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review. v. 101, p. 254–272, 2017.

OFORI-KWAKYE, K.; FELL, J. T. Biphasic drug release : the permeability of films containing pectin , chitosan and HPMC. v. 226, p. 139–145, 2001.

OLIVEIRA, A. C. DE et al. Chitosan content modulates durability and structural homogeneity of chitosan-gellan gum assemblies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 128, p. 114–123, 2019.

OLSON, K. R. et al. Manual de Toxicologia Clínica. 6ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAUDE (OMS). 2017. Diretrizes para a qualidade da água potável. <<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254637/9789241549950-eng.pdf?s652equence=1>> (Acesso em dezembro, 2018).

OZAY, O. et al. Removal of toxic metal ions with magnetic hydrogels. **Water Research**, v. 43, n. 17, p. 4403–4411, 2009.

PATHAK, P. D.; MANDAVGANE, S. A. Journal of Environmental Chemical Engineering Preparation and characterization of raw and carbon from banana peel by microwave activation: Application in citric acid adsorption. **Biochemical Pharmacology**, v. 3, n. 4, p. 2435–2447, 2015.

PAULINO, A. T. et al. One-pot synthesis of a chitosan-based hydrogel as a potential device for magnetic biomaterial. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, v. 321, n. 17, p. 2636–2642, 2009.

PAULINO, A. T.; SANTOS, L. B.; NOZAKI, J. Removal of Pb²⁺, Cu²⁺, and Fe³⁺ from battery manufacture wastewater by chitosan produced from silkworm chrysalides as a low-cost adsorbent. **Reactive and Functional Polymers**, v. 68, n. 2, p. 634–642, 2008.

PEHLIVAN, E. et al. Lead sorption by waste biomass of hazelnut and almond shell. **Journal of Hazardous Materials**, v. 167, n. 1–3, p. 1203–1208, 2009.

PEREIRA, I. C. et al. Materials Science & Engineering C Chitosan and polyethylene glycol based membranes with antibacterial properties for tissue regeneration. **Materials Science & Engineering C**, v. 96, n. November 2018, p. 606–615, 2019.

RAFATI, L.; EHRAMPOUSH, M. H.; RAFATI, A. A.; MOKHTARI, M.; MAHVI, A. H. Modeling of adsorption kinetic and equilibrium isotherms of naproxen onto functionalized nano-clay composite adsorbent. **Journal of Molecular Liquids**, v. 224, p. 832–841, 2016.

RANGABHASHIYAM, S. et al. Journal of Environmental Chemical Engineering

Relevance of isotherm models in biosorption of pollutants by agricultural byproducts. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 398–414, 2014.

REDLICH, O.; Peterson, D. L.. A useful adsorption isotherm. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 63, p. 1024–1026, 1959.

ROMERO, R. et al. Coating cortical bone allografts with periosteum-mimetic scaffolds made of chitosan , trimethyl chitosan , and heparin. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 144–151, 2015.

RODRIGUES, F. H. A., SPAGNOL, C., PEREIRA, A. G. B., MARTINS, A. F., FAJARDO, A. R., RUBIRA, A. F., MUNIZ, E. C. Superabsorbent hydrogel composites with a focus on hydrogels containing nanofibers or nanowhiskers of cellulose and chitin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 131, n. 2, p. 1-13, 2014.

ROSTAMIAN, R.; NAJAFI, M.; ABBAS, A. Synthesis and characterization of thiol-functionalized silica nano hollow sphere as a novel adsorbent for removal of poisonous heavy metal ions from water: Kinetics , isotherms and error analysis. **Chemical Engineering Journal**, v. 171, n. 3, p. 1004–1011, 2011.

SABELA, M. I. et al. Removal of copper (II) from wastewater using green vegetable waste derived activated carbon : An approach to equilibrium and kinetic study. **Arabian Journal of Chemistry**, 2016.

SAHEBJAMEE, N. et al. Removal of Cu ²⁺ , Cd ²⁺ and Ni ²⁺ ions from aqueous solution using a novel chitosan / polyvinyl alcohol adsorptive membrane. **Carbohydrate Polymers**, v. 210, n. November 2018, p. 264–273, 2019.

SHAIKH, J. S. et al. Applied Surface Science CuO – PAA hybrid films : Chemical synthesis and supercapacitor behavior. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 9, p. 4389–4397, 2011.

SHARIPOVA, A. A.; AIDAROVA, S. B.; BEKTURGANOVA, N. Y.; TLEUOVA, A.; KERIMKULOVA, M.; YESSIMOVA, O.; KAIRALIYEVA, T.; LYGINA, O.; LYUBCHIK, S.; MILLER, R. Triclosan adsorption from model system by mineral sorbent diatomite. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 532, p. 97-101, 2016.

SIMONIN, J. P. On the comparison of pseudo-first order and pseudo-second order rate laws in the modeling of adsorption kinetics. **Chemical Engineering Journal**, v. 300, p. 254–263, 2016.

SOUTO-MAIOR, J. F. A.; REIS, A. V.; PEDREIRO, L. N.; CAVALCANTI, O. A. Phosphated crosslinked pectin as a potential excipient for specific drug delivery: Preparation and physicochemical characterization. **Polymer International**, v. 59, n. 1, p. 127-135, 2010.

SIPS, R. Combined form of Langmuir and Freundlich equations. **Journal of Chemical Physics**, v. 16, p. 490–495, 1948.

TAYLOR, H. A; THON, N. Kinetics of Chemisorption. **Journal of the American Chemical Society**, v. 74, n. 16, p. 4169–4173, 1952.

TENTOR, F. R. et al. Scaffolds based on chitosan/pectin thermosensitive hydrogels containing gold nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 102, p. 1186–1194, 2017.

TSAI, R. Y.; CHEN, P. W.; KUO, T. Y.; LIN, C. M.; WANG, D. M.; HSIEN, T. Y. Chitosan/pectin/gumArabicpolyelectrolyte complex: Process-dependent appearance, microstructure analysis and is application. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, n. 1, p. 752-759, 1053 2014.

UDDIN, M. K. A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. **Chemical Engineering Journal**, v. 308, p. 438–462, 2017.

VINCENT, M.; HARTEMANN, P.; ENGELS-DEUTSCH, M. International Journal of Hygiene and Antimicrobial applications of copper. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 219, n. 7, p. 585–591, 2016.

WANG, W. et al. Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 730–739, 2016a.

WANG, X. et al. Chitosan membrane adsorber for low concentration copper ion removal. **Carbohydrate Polymers**, v. 146, p. 274–281, 2016b.

WANG, X. et al. Adsorption of Copper (II) onto activated carbons from sewage sludge by microwave-induced phosphoric acid and zinc chloride activation. **DES**, v. 278, n. 1–3, p. 231–237, 2011.

WU, F.; TSENG, R.; JUANG, R. Characteristics of Elovich equation used for the analysis of adsorption kinetics in dye-chitosan systems. v. 150, p. 366–373, 2009.

WU, T. et al. Formation of hydrogels based on chitosan/alginate for the delivery of lysozyme and their antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 240, p. 361–369, 2018.

XIA, M. et al. Swelling behavior of thermosensitive nanocomposite hydrogels composed of oligo (ethylene glycol) methacrylates and clay. **European Polymer Journal**, v. 69, p. 472–482, 2015.

ZAIDI, A.; WANI, P. A.; KHAN, M. S. **Toxicity of Heavy Metals to Legumes and Bioremediation**. 6. ed. New York: Springer-Verlag, 2017.