



## **Preparação e Caracterização de Membranas de Ultrafiltração de Acetato de Celulose/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) para Remoção de Toxinas Urémicas na Hemodiálise**

Diogo dos Reis Barradas

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

### Orientadores

Luís Miguel Minhalma (ISEL)  
Maria Norberta Neves Correia de Pinho (IST)

### Júri

Presidente: Manuel José de Matos (ISEL)  
Vogais: Maria Norberta Neves Correia de Pinho (IST)  
Moisés Luzia Gonçalves Pinto (IST)

Setembro de 2023



## **Prefácio**

O presente trabalho final de mestrado foi realizado no laboratório do PharmaLab no Departamento de Engenharia Química do Instituto Superior de Engenharia de Lisboa (ISEL) e nos laboratórios dos Centro de Física e Engenharia de Materiais Avançados (CeFEMA) e Centro de Recursos Naturais e Ambiente (CERENA) no Instituto Superior Técnico (IST). Este trabalho foi realizado ao longo de 2023, sob a supervisão da Professora Maria Norberta Neves Correia de Pinho e do Professor Luís Miguel Minhalma.



## **Agradecimentos**

Desde já o meu agradecimento à Professora Maria Norberta Neves Correia de Pinho e ao Professor Luís Miguel Minhalma, uma vez que sem a sua ajuda e orientação não teria sido possível a execução deste trabalho. Gostaria também de agradecer às professoras Tânia Frade e Isabel Nogueira por toda a ajuda em determinadas etapas desta tese final de mestrado, nomeadamente na síntese e caracterização do UiO-66(Zr) e na análise SEM-EDS. Finalmente, fica também um agradecimento aos meus colegas de laboratório Miguel Pereira da Silva e André Shimura pela ajuda que me prestaram ao longo destes oito meses de trabalho.



## Abstract

There are currently a significant number of chemical, food and biomedical industries where membranes play key roles in the respective processes. Membranes are very versatile films and can undergo structural changes that give them specific properties, such as the asymmetric cellulose acetate (CA) membranes used in hemodialysis.

In the experimental work presented, the MOF: UiO-66(Zr) was incorporated into CA membranes in order to increase their capacity to remove uremic toxins in hemodialysis, such as *p*-Cresyl Sulfate (pCS). UiO-66(Zr) was synthesized and characterized using infrared spectroscopy, X-ray diffraction and thermogravimetry.

The following membranes were synthesized and characterized: CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (1% UiO-66(Zr)), CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (1.5% UiO-66(Zr)), CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (2% UiO-66(Zr)) and CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (2.5% UiO-66(Zr)), all with a 3% amorphous silica content. The membranes were subjected to SEM-EDS analysis which proved the presence of UiO-66(Zr) in their matrices, with a higher prevalence in their support layer. It also revealed that the dispersion of MOF led to agglomerates of this material throughout the film, resulting in larger agglomerates for membranes with a higher UiO-66(Zr) content.

In the permeation characterization of the membranes, a hydraulic permeability,  $L_P$ , range of 14,38 to 33,82 kg/bar/h/m<sup>2</sup> was obtained, with CA22/SiO<sub>2</sub> and CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% being the membranes with the lowest and highest  $L_P$ , respectively. The molecular weight cut-off (MWCO) of the membranes were also calculated, where it was observed that this parameter increases with increasing incorporation of UiO-66(Zr), resulting in MWCOs of 3527, 7491, 9431, 12407 and 14688 Da. Their salt rejections (NaCl and Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) were also calculated, which were very low, <13%, for all the membranes. Rejection coefficients for pCS were 25%, 29%, 20%, 24% and 22% for CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% and CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, respectively. These results show that the incorporation of MOF into the membranes leads to an increase in their permeability and MWCO and to lower rejections of pCS.

A Freundlich adsorption isotherm constructed for pCS at 37° C for UiO-66(Zr), and a Langmuir isotherm for membranes with MOF in their composition. It was concluded that the adsorption, per MOF mass, decreases for membranes with increasing MOF content,

due to the greater agglomeration of MOF that occurs for membranes with a higher content of UiO-66(Zr). A pCS adsorption isotherm was also constructed for BSA. Using the adsorption curves obtained, the Langmuir and Freundlich parameters were calculated for each case. Finally, a last adsorption isotherm was carried out on pCS in the presence of both UiO-66(Zr) and BSA, where it was possible to reduce the adsorption of the toxin to the protein by around 50% with 5 mg/mL of UiO-66.

**Keywords:** Membranes; Cellulose Acetate; UiO-66(Zr); Hemodialysis; pCresil Sulphate; BSA; Isotherms.

## Resumo

Existe atualmente uma quantidade significativa de aplicações nos processos da indústria química, alimentar e biomédica onde as membranas desempenham papéis chave nos mesmos. As membranas são filmes bastantes versáteis e suscetíveis de sofrer alterações estruturais que lhes conferem propriedades específicas, como o caso de membranas assimétricas de acetato de celulose (CA) utilizadas na hemodiálise.

No trabalho experimental apresentado incorporou-se o MOF: UiO-66(Zr), em membranas de CA com o intuito de aumentar a sua capacidade de remoção de toxinas urémicas na hemodiálise como o *p*-Cresil Sulfato (pCS). O UiO-66(Zr) foi sintetizado e caracterizado através de espectroscopia de infravermelhos, difração de raios-X e de termogravimetria.

Sintetizaram-se e caracterizaram-se as seguintes membranas: CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (1% de UiO-66(Zr)), CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (1,5% de UiO-66(Zr)), CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (2% de UiO-66(Zr)) e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) (2,5% de UiO-66(Zr)), todas elas com um teor de 3% de sílica amorfa. As membranas foram submetidas a uma análise SEM-EDS que provou a presença de UiO-66(Zr) nas suas matrizes, com maior prevalência na camada suporte das mesmas. Revelou ainda que a dispersão do MOF originou aglomerados deste material por todo o filme, resultando em aglomerados maiores para membranas com maior teor de UiO-66(Zr).

Na caracterização de permeação das membranas, obteve-se uma gama de  $L_P$  dos 14,38 aos 33,82 Kg/bar/h/m<sup>2</sup>, sendo a CA22/SiO<sub>2</sub> e a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% as membranas com menor e maior  $L_P$ , respetivamente. Os limites de exclusão molecular ( $MWCO$ ) das membranas foram também calculados, onde se observou que este parâmetro aumenta com o aumento da incorporação de UiO-66(Zr) nas mesmas, resultando em  $MWCO$ s de 3527, 7491, 9431, 12407 e 14688 Da. Calculou-se também a sua rejeição a sais (NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), sendo esta muito baixa, <13%, para todas as membranas. Obtiveram-se ainda coeficientes de rejeição ao pCS de 25%, 29%, 20%, 24% e 22% para as membranas CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, respetivamente. Estes resultados mostram que a incorporação de MOF nas membranas leva a um aumento da permeabilidade e  $MWCO$  das mesmas e a uma rejeição menor ao pCS.

Foram ainda construídas isotérmicas de adsorção de Freundlich ao pCS a 37° C para o UiO-66(Zr), bem como de Langmuir para as membranas com MOF na sua

composição, onde se concluiu que a adsorção, por massa de MOF, diminui com o aumento do teor de UiO-66(Zr) na membrana, devido à maior aglomeração de MOF que se verifica para as membranas com maior teor deste material. Construiu-se ainda uma isotérmica de adsorção de pCS à BSA. Através das curvas de adsorção obtidas, foram retirados os parâmetros de Langmuir e Freundlich para cada um dos casos. Por fim, foi efetuada uma última isotérmica de adsorção ao pCS na presença de UiO-66(Zr) e BSA onde foi possível reduzir a adsorção da toxina à proteína em cerca de 50% com 5 mg/mL de UiO-66.

**Palavras-chave:** Membranas; Acetato de Celulose; UiO-66(Zr); Hemodiálise; p-Cresil Sulfato; BSA; Isotérmicas.

# Índice

Prefácio .....	i
Agradecimentos .....	iii
Abstract .....	v
Resumo .....	vii
Índice de Figuras .....	xi
Índice de Tabelas .....	xiv
Lista de Abreviações .....	xv
1. Enquadramento .....	1
2. Introdução .....	3
2.1. Membranas .....	3
2.2. Estruturas das Membranas .....	5
2.3. Membranas de Acetato de Celulose .....	6
2.4. Método de Inversão de Fases .....	8
2.5. Técnica Sol-Gel .....	8
2.6. Força Motriz em Processos de Membranas- Gradiente de Pressão ..	9
2.7. Caracterização de Membranas .....	12
2.8. Dificuldades na Remoção de Toxinas na Hemodiálise .....	13
2.9. Estruturas Organo-Metálicas .....	15
2.9.1. UiO-66(Zr) .....	16
2.10. Rins Artificiais .....	18
3. Objetivo e Estrutura da Tese .....	20
4. Materiais e Métodos .....	21
4.1. Síntese do UiO-66(Zr) .....	21
4.2. Caracterização do UiO-66(Zr) .....	23
4.3. Síntese das Membranas .....	27
4.4. Análise SEM-EDS .....	29
4.5. Ensaio de Adsorção .....	30
4.5.1. UiO-66(Zr) como Adsorvente .....	30
4.5.2. BSA como Adsorvente .....	31
4.5.3. UiO-66(Zr) e BSA como Adsorventes .....	31
4.6. Caracterização das Membranas .....	32
4.6.1. Instalação de Ultrafiltração .....	32

4.6.2. Parâmetros de Caracterização e Ensaio de Permeação .....	33
5. Resultados e Discussão .....	35
5.1. Caracterização do UiO-66(Zr) .....	35
5.2. Membranas .....	39
5.3. Análise SEM-EDS .....	40
5.4. Ensaio de Adsorção .....	43
5.4.1. UiO-66(Zr) como Adsorvente .....	43
5.4.2. BSA como Adsorvente .....	49
5.4.3. UiO-66(Zr) e BSA como Adsorventes .....	50
5.5. Ensaio de Permeação das Membranas .....	52
6. Conclusões .....	55
7. Perspetivas Futuras .....	57
8. Bibliografia .....	59
9. Anexos .....	69
9.1. Anexos A .....	69
9.2. Anexos B .....	70
9.3. Anexos C .....	71
9.4. Anexos D .....	74
9.5. Anexos E .....	76

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Mecanismo de funcionamento da HD (9). .....	3
<b>Figura 2</b> – Representação esquemática de um processo de separação por membrana (24). Adaptado. ....	4
<b>Figura 3</b> – Representação esquemática de: A) filtração frontal e respetivo comportamento do caudal; B) filtração tangencial e respetivo comportamento do caudal (25). ....	4
<b>Figura 4</b> – Representação esquemática das secções transversais de: A) membranas assimétricas; B) membranas simétricas (23).....	6
<b>Figura 5</b> – Representação esquemática das secções transversais de: A) membranas assimétricas integrais; B) membranas assimétricas compostas (21). .....	6
<b>Figura 6</b> – Artigos publicados anualmente com ‘membrana de acetato de celulose’ pesquisado no título no Scopus (23 de Janeiro, 2022) (40). ....	7
<b>Figura 7</b> – Representação esquemática de polarização por concentração (23).11	
<b>Figura 8</b> – Representação de uma molécula de BSA (60). ....	14
<b>Figura 9</b> – Nódulo de zircónio ( $Zr_6$ ) (57). ....	16
<b>Figura 10</b> - Representação da estrutura do UiO-66(Zr). A.) Estrutura unitária cúbica de faces centradas composta pelos nódulos de metal (azul) e ligandos (cizento) com uma representação atómica de um nódulo. B.) Estrutura de nódulo e ligante que compõe uma cavidade de 12 Å. C.) Estrutura de nódulo e ligante que compõe uma cavidade de 7,5 Å. D.) Legenda dos átomos representados (70).17	
<b>Figura 11</b> – Equação reacional da síntese do UiO-66(Zr). <b>1a)</b> Fonte de $Zr^{4+}$ ; <b>2a)</b> Ácido teraftálico; <b>3a)</b> UiO-66(Zr) (68). ....	18
<b>Figura 12</b> – Representação esquemática de um dialisador de fibras ocas (5).19	
<b>Figura 13</b> – Representação de um rim artificial implantável (78). ....	20
<b>Figura 14</b> – Sistema utilizado na síntese do UiO-66(Zr). ....	22
<b>Figura 15</b> – Sistema de extração utilizado na síntese do UiO-66(Zr). ....	23
<b>Figura 16</b> – Representação esquemática do processo de funcionamento de um ATR-FTIR (87). ....	24
<b>Figura 17</b> – Representação esquemática da incidência de raios-x nas diferentes camadas atómicas (91). ....	25

<b>Figura 18</b> - Ilustração esquemática da técnica de <i>casting</i> utilizada.....	28
<b>Figura 19</b> - SEM e respetivo detetor utilizados na análise SEM-EDS. ....	29
<b>Figura 20</b> – Instalação de ultrafiltração utilizada. Legenda: {1} termómetro de mercúrio; {2} tanque de alimentação, {3} bomba, {4} amortecedor de pressão; {5} manómetros; {6} módulos de permeação; {7} <i>vials</i> ; {8} válvula; {9} rotâmetro. 32	
<b>Figura 21</b> - Espectro FTIR-ATR do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem. ....	35
<b>Figura 22</b> - Curvas DTG do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem.....	36
<b>Figura 23</b> - Curvas TG do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem. ....	36
<b>Figura 24</b> – Difractograma do UiO-66(Zr) obtido através da técnica XRD.....	38
<b>Figura 25</b> – Demonstração da CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 6% do primeiro <i>batch</i> de membranas. ....	39
<b>Figura 26</b> – Resultados da análise EDS; Análise ao bottom da CA22/SiO <sub>2</sub> e seu espectro, a) e b), respetivamente; Análise ao bottom da CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1% e seu espectro, c) e d), respetivamente; Análise ao bottom da CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, e) e f), respetivamente; Análise a um aglomerado de MOF na CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, g) e h), respetivamente.....	40
<b>Figura 27</b> - Imagens SEM obtidas com uma amplitude de 1000x ( <i>bottom</i> e <i>top</i> ) e 2000x ( <i>cs</i> ), respetivamente; CA22/SiO <sub>2</sub> - a) a c); CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1% – d) a f); CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5% – g) a i). Todas as imagens da <i>cs</i> estão invertidas ( <i>bottom</i> em cima).....	41
<b>Figura 28</b> – Isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) e membranas com UiO-66(Zr).....	44
<b>Figura 29</b> - Modelo de Langmuir aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-2%. Pontos laranjas são excluídos. ....	46
<b>Figura 30</b> - Modelo de Freundlich aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção do UiO-66(Zr). Pontos laranjas são excluídos. ....	46

<b>Figura 31</b> – Isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) livre e membranas híbridas com UiO-66(Zr) (1%, 1,5%, 2% e 2,5%), com o ajuste dos respectivos parâmetros.....	48
<b>Figura 32</b> Variação da adsorção de pCS por unidade de massa de membrana e de UiO-66(Zr) para as diferentes membranas estudadas.....	49
<b>Figura 33</b> – Comparação entre as isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) e membranas com a BSA. ....	50
<b>Figura 34</b> - Estudo de adsorção de pCS na presença de UiO-66(Zr) e BSA...	51
<b>Figura 35</b> – Variação do fluxo em função da solução em estudo para todas as membranas a 1 bar.....	53
<b>Figura 36</b> – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO <sub>2</sub> .....	53
<b>Figura 37</b> – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO <sub>2</sub> . Pontos laranjas são excluídos.....	53

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Processos de separação intermediados por membranas acionados por pressão. Adaptado (23). .....	10
<b>Tabela 2</b> – Classificação de toxinas urémicas de acordo com a EUTOX (58). 14	
<b>Tabela 3</b> - Composição (m/m %) das soluções de <i>casting</i> das membranas sintetizadas. ....	28
<b>Tabela 4</b> - Picos teóricos e experimentais e respectivos planos cristalográficos do UiO-66(Zr) (107). ....	38
<b>Tabela 5</b> - Resultados EDS quantitativos de Zr em cada membrana (m/m %). 41	
<b>Tabela 6</b> - Adsorção, Q (mg/gUiO-66(Zr)), na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente. ....	43
<b>Tabela 7</b> - % de pCS adsorvido na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente. ....	44
<b>Tabela 8</b> - Parâmetros de Freundlich e de Langmuir para o pCS exposto a UiO-66(Zr) e membranas com UiO-66(Zr). ....	47
<b>Tabela 9</b> - Adsorção Q (mg/gUiO-66(Zr)) e % de pCS adsorvido na presença de BSA como único adsorvente. ....	49
<b>Tabela 10</b> - Parâmetros obtidos durante a caracterização das membranas. ....	52

## Lista de Abreviações

---

<b>ATR-FTIR</b>	Reflexão total atenuada – espectrómetro de infravermelho com transformada de Fourier
<b>BDC</b>	1,4 – benzeno dicarboxilato
<b>BSA</b>	Albumina do soro bovino
<b>CA</b>	Acetato de celulose
<b>CKD</b>	Doença renal crónica
<b>CS</b>	<i>Cross-section</i>
<b>DMF</b>	Dimetilformamida
<b>EDS</b>	Espetroscopia de raio X por dispersão de energia
<b>ESKD</b>	Doença renal em fase terminal
<b>GS</b>	Separação gasosa
<b>HD</b>	Hemodiálise
<b>HSA</b>	Albumina do soro humano
<b>IBU</b>	Unidades de construção inorgânicas
<b>IR</b>	Espetroscopia de infravermelhos
<b>MF</b>	Microfiltração
<b>MOF</b>	Estruturas organo-metálicas
<b>MW</b>	Peso molecular
<b>MWCO</b>	Limite de exclusão molecular

<b>NF</b>	Nanofiltração
<b>PBTUs</b>	Toxinas urémicas ligadas a proteínas
<b>pCS</b>	<i>p</i> -cresil sulfato
<b>PL</b>	Fase pobre em polímero
<b>PR</b>	Fase rica em polímero
<b>RO</b>	Osmose inversa
<b>SEM</b>	Microscopia de varrimento eletrónico
<b>SBU</b>	Unidades de construção secundárias
<b>TGA</b>	Análise termogravimétrica
<b>TEOS</b>	Tetraetoxissilano
<b>UF</b>	Ultrafiltração
<b>UTs</b>	Toxinas urémicas
<b>XRD</b>	Difração de raios-X
<b>Zr</b>	Zircónio

---

# 1. Enquadramento

Nos últimos anos, é notável o avanço tecnológico em processos de separação devido ao desenvolvimento e aperfeiçoamento das membranas. As membranas emergiram como a tecnologia eleita em processos como a separação gasosa (GS), indústria alimentar e farmacêutica, dessalinização e tratamento de águas (1). Isto acontece, uma vez que estas possuem vantagens em relação a outras técnicas de separação convencionais como o seu baixo custo e simplicidade de operação, bem como o facto de se tratar de um processo mais eficiente a nível energético (2). O principal objetivo de uma membrana é separar misturas, permitindo a passagem de algumas espécies através da membrana, permeado, e impedindo a passagem de outras, retentado/concentrado (1–3).

Este avanço tecnológico possibilitou assim que se conseguisse a incorporação de membranas em aplicações biomédicas. Terapias modernas para a insuficiência aguda e crónica de órgãos, bem como o tratamento de doenças imunológicas dependem e são possíveis através de processos membranares. Na verdade, dispositivos à base de membranas são utilizados em quase todas as técnicas de purificação extracorporeal do sangue, sendo também a tecnologia por detrás da mais recente geração de órgãos artificiais como o pulmão, pâncreas e rim (4,5).

Os rins desempenham um papel fundamental na homeostasia. De facto, podem ser considerados os órgãos reguladores com maior importância no que toca à regulação do organismo, uma vez que são responsáveis pelo controlo da sua osmolalidade e osmolaridade, pH, composição iónica do fluido extracelular. São ainda responsáveis pela concentração/remoção de produtos residuais do metabolismo no organismo, como é o caso de algumas toxinas (5,6).

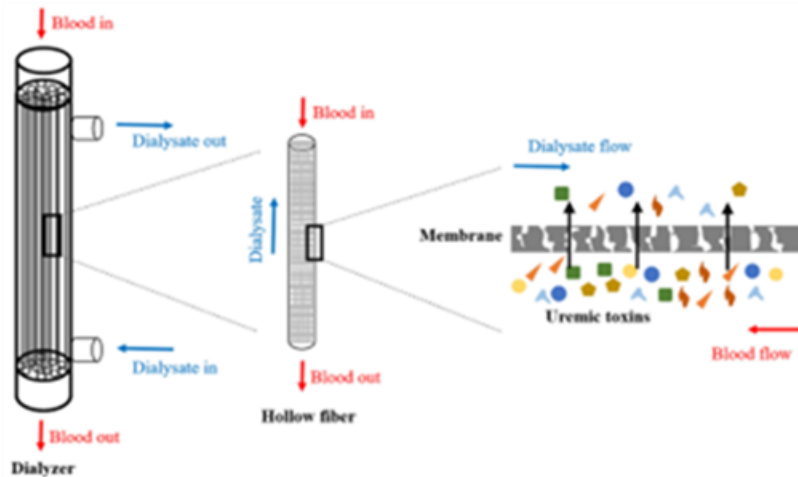
A doença renal crónica (CKD) é uma síndrome responsável por mudanças estruturais e/ou funcionais no rim com implicações adversas para o paciente, impossibilitando o órgão de cumprir as suas funções (7,8). A nível estrutural, o rim começa a apresentar cistos, tumores, má-formações ou atrofia, a passo que a nível funcional, este deixa de conseguir filtrar a corrente sanguínea nas condições desejadas, levando um aumento da concentração de toxinas urémicas (UTs) no sangue no doente. A acumulação de UTs na corrente sanguínea pode levar a uma doença renal em fase terminal (ESKD) (9).

Isto causa uma séria deterioração na saúde destes pacientes, sendo a sua única hipótese de sobrevivência as terapias de substituição renal como a hemodiálise (HD), diálise peritoneal ou transplante renal. Estudos revelam uma redução da mortalidade e

relatos de uma melhor qualidade de vida entre os recetores de rins, contudo, apenas 25% dos pacientes que sofrem de ESKD recebem este tipo de transplante (10). Pensa-se que, a nível mundial, existam cerca de 280 doentes por milhão que recebem tratamentos regulares de HD ou diálise peritoneal e que a sua taxa de sobrevivência em 5 anos seja entre 13% e 60% inferior a pessoas de idades semelhantes (11). Nas próximas décadas, prevê-se que a incidência de ESKD aumente devido ao envelhecimento da população (12). Este tipo de tratamentos são ainda bastante dispendiosos, com os custos de tratamento de pacientes com CKD e ESKD em 2019 a ultrapassar os 100 mil milhões de dólares, apenas nos Estados Unidos, sendo a CKD a principal causa de morte neste país (8).

A CKD leva à acumulação de UTs como a creatinina e ureia na corrente sanguínea. Em concentrações elevadas, UTs como estas são responsáveis pelo desencadeamento de uma série de problemas que aceleram o declínio renal, elevando a taxa de mortalidade e diminuindo a qualidade de vida dos pacientes (9,13). Um outro tipo de toxinas que se encontra em altas concentrações na corrente sanguínea deste tipo de doentes são as toxinas urémicas ligadas a proteínas (PBUTs). Tratam-se de moléculas que se ligam predominantemente à albumina do soro humano (HSA) no sangue. Esta é uma proteína que existe em grandes concentrações na corrente sanguínea humana, 50g/L (14). Os efeitos adversos das PBUTs são conhecidos e incluem a deterioração renal (15), doenças cardiovasculares (16) e mortalidade (17). A remoção destas toxinas do sangue aumenta assim a eficácia da HD, o que, por sua vez, aumenta a taxa de sobrevivência dos doentes com ESKD (9).

A HD é atualmente o tratamento mais utilizado a nível clínico em pacientes com CKD. Através de membranas semipermeáveis, a HD permite a filtração sanguínea de resíduos metabólicos, UTs e PBUTs, fluidos em excesso e sais, restaurando as concentrações de eletrólitos e o pH do sangue (9). É possível observar o mecanismo de funcionamento da HD na Figura 1.



**Figura 1** – Mecanismo de funcionamento da HD (9).

Um dos biomarcadores urémicos mais conhecidos e estudados é o sulfato p-cresil (pCS), que se pensa ser uma molécula modelo das PTBUs, tem a capacidade de se ligar a mais de 90% das proteínas plasmáticas. Estas toxinas ligam-se rapidamente a vários locais de adsorção de diversas proteínas como a HSA, resultando na difícil remoção das mesmas neste tipo de tratamentos (18, 19). Sendo esta uma proteína que não é filtrada na HD convencional, por consequência, todas as PBUTs que se ligem à mesma acabam também elas por não serem filtradas. Menos de 35% do pCS presente na corrente sanguínea dos doentes é removido durante a HD de alto fluxo, uma vez que no plasma de doentes com CKD, cerca de 80% do pCS se encontra ligado à HSA (20).

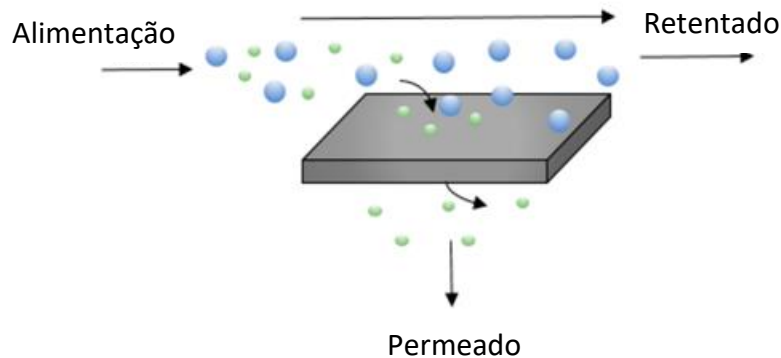
## 2. Introdução

### 2.1. Membranas

Uma membrana trata-se de uma barreira semi-permeável que controla a facilidade com que determinadas espécies químicas podem atravessá-la ao entrarem em contacto com a própria. Através de uma determinada força motriz, como variações na concentração, pressão, temperatura ou potencial elétrico, algumas espécies são movidas mais lentamente ao longo da membrana ou até mesmo retidas, ao passo que outras são transportadas através desta, criando assim uma permeação seletiva de espécies. Membranas podem assim ser utilizadas como forma de purificação de uma dada alimentação (21–23).

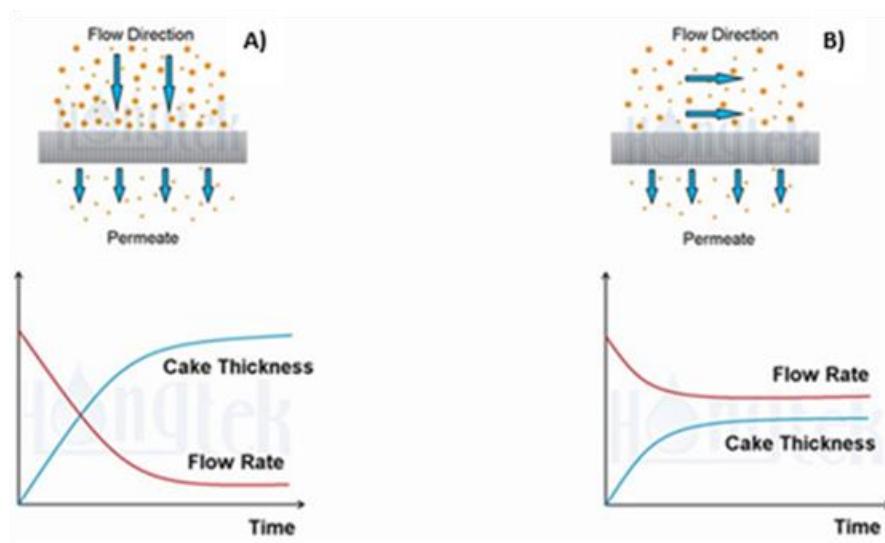
Neste tipo de processos, uma mistura de alimentação, líquida ou gasosa, é separada no concentrado/retentado, e no permeado, como descrito na Figura 2. O concentrado possui uma elevada concentração de elementos químicos que não

conseguem atravessar a membrana, ao passo que o permeado é enriquecido em solutos que conseguem atravessá-la (24).



**Figura 2** – Representação esquemática de um processo de separação por membrana (24). Adaptado.

A filtração intermediada por membranas pode ser categorizada como filtração frontal e filtração tangencial, ambas esquematizadas na Figura 3. Na primeira, a direção da corrente de alimentação é perpendicular à superfície da membrana. Nesta, partículas maiores que o tamanho dos poros da membrana ficam retidas na superfície da mesma e a restante solução passam para o permeado. Na filtração tangencial, a corrente de alimentação circula tangencialmente ao longo da superfície da membrana. Isto faz com que as partículas incapazes de atravessar a membrana não se acumulem na sua superfície (polarização de concentração), sendo arrastadas pela própria corrente de alimentação, evitando acumulações de solutos na superfície da membrana. Assim, com este tipo de filtração, obtém-se um maior caudal de permeado ao longo do tempo (25).



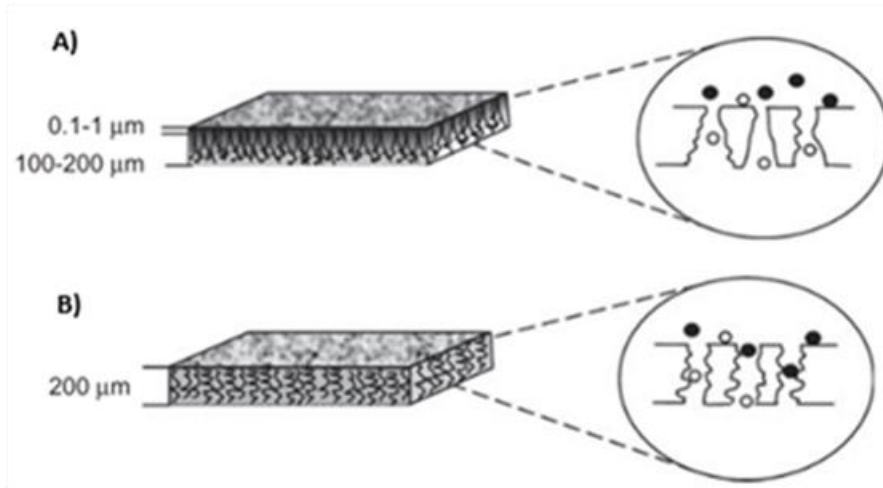
**Figura 3** – Representação esquemática de: A) filtração frontal e respetivo comportamento do caudal; B) filtração tangencial e respetivo comportamento do caudal (25).

## 2.2. Estruturas das Membranas

As características da própria membrana determinam o seu potencial de purificação, separação ou fracionamento, pelo que esta é uma tecnologia com uma grade base na ciência dos materiais. É, portanto, fundamental compreender a relação entre as condições de um processo e a separação que uma respetiva membrana consegue efetuar (21).

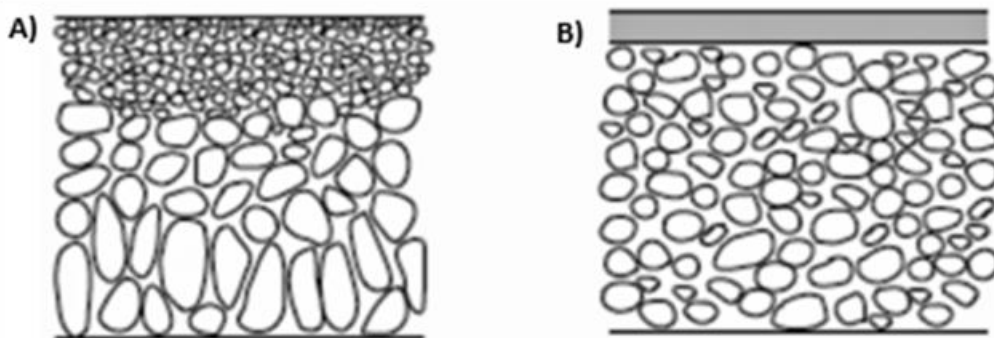
No que toca à sua estrutura, as membranas podem ser classificadas em membranas microporosas ou membranas homogéneas; podem também ser classificadas como membranas simétricas ou membranas assimétricas integrais ou compostas. As membranas microporosas podem ainda ser classificadas numa variedade de estruturas que são definidas consoante o seu processo de fabrico e aplicação. São utilizadas em processos de microfiltração (MF) na remoção de sólidos em suspensão, matéria coloidal e na clarificação de bebidas na indústria alimentar. Membranas homogéneas são constituídas por densas películas que, por apresentarem diferentes solubilidades e difusividades a solutos no interior da sua matriz, permitem a separação de moléculas com dimensões semelhantes entre si. A permeação gasosa e pervaporação são as principais aplicações deste tipo de membranas, com as membranas de permuta iónica, uma subclasse de membranas homogéneas, sendo principalmente utilizadas na eletrodialise (23,26).

Uma vez que combinam elevados fluxos de permeação e elevada seletividade, as membranas assimétricas ocupam uma posição fulcral na tecnologia de separação por membranas, sendo também o alvo de estudo do presente trabalho experimental. Isto acontece, uma vez que a secção transversal que este tipo de membranas apresenta trata-se da combinação de uma camada densa e fina (camada ativa), com espessuras de 0,1 a 1  $\mu\text{m}$  e uma camada porosa com espessuras entre os 100 e os 200  $\mu\text{m}$  que atua como o suporte da membrana, conferindo resistência mecânica. A elevada seletividade destas membranas é obtida pela primeira camada. Esta atua como um filtro à sua superfície, retendo o material descartado nesse mesmo local em vez de no interior dos poros, evitando o eventual bloqueio dos mesmos (colmatação), algo frequente nas membranas simétricas (23,26). Este processo é esquematicamente demonstrado na Figura 4. É frequente o uso de membranas assimétricas em processos de MF, ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF), osmose reversa (RO) e GS (27).



**Figura 4** – Representação esquemática das secções transversais de: A) membranas assimétricas; B) membranas simétricas (23).

As membranas assimétricas podem ainda ser divididas em membranas assimétricas integrais e membranas assimétricas compostas, representadas na Figura 5. Membranas assimétricas são integrais quando a sua camada ativa e camada suporte são feitas do mesmo material. São preparadas pelo método da inversão e fase, o que permite a adaptação das membranas com a incorporação de diversas características estruturais e de permeação aquando da sua síntese (1). Por outro lado, membranas assimétricas compostas são criadas quando uma camada ativa de um dado material é depositada sobre um substrato poroso de um outro material polimérico (28).



**Figura 5** – Representação esquemática das secções transversais de: A) membranas assimétricas integrais; B) membranas assimétricas compostas (21).

### 2.3. Membranas de Acetato de Celulose

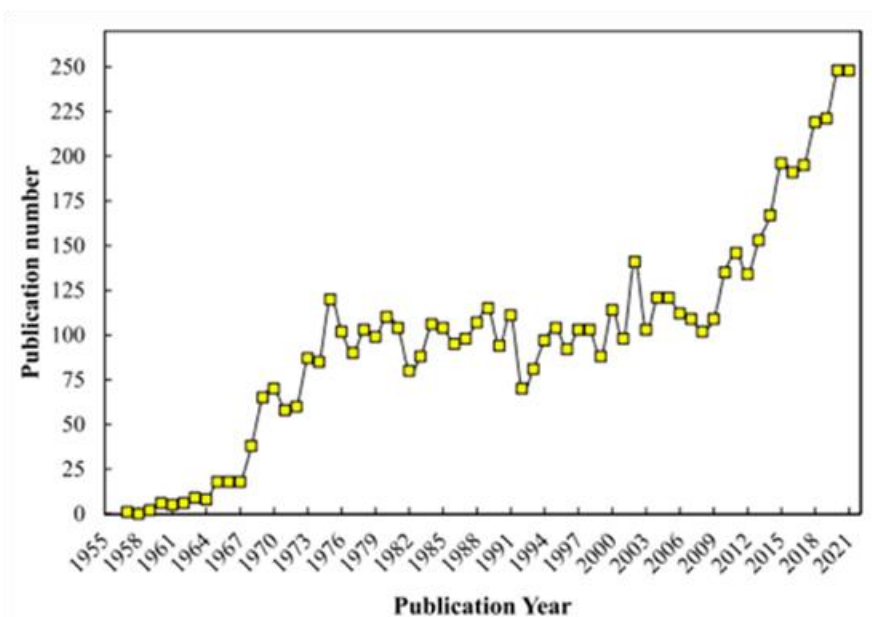
As membranas são predominantemente fabricadas com polímeros sintéticos como a polissulfona, fluoreto de polivinilideno, poli-etileno, álcool polivinílico e acetato

de celulose (CA) (29). Uma vez que o CA é um polímero biodegradável de natureza hidrofílica e pode ser funcionalizado por diferentes grupos para alcançar as propriedades desejadas, é de particular interesse para os investigadores desta área (30). Estas membranas têm excelentes capacidades de formação de filmes, alta estabilidade química e mecânica, elevada hidrofilicidade, propriedades superiores de transporte, baixa adsorção de proteínas e facilidade de disponibilidade (31).

Devido à sua facilidade de processamento, o CA tem sido utilizado na síntese de membranas para a GS (32), RO (33), NF (34), UF (35), MF (36), pervaporação (37) e ainda em membranas de permuta iónica (38). Devido à sua baixa toxicidade e biodegradabilidade, o CA tem ainda o potencial para ser amplamente utilizado em aplicações industriais e biomédicas como na HD (39).

Estas membranas possuem, no entanto, alguns inconvenientes, tais como uma gama limitada de pH e um máximo de temperatura de funcionamento (30° C). Como resultado, a performance das membranas pode ser maximizada ao adicionar aditivos orgânicos e inorgânicos à solução de preparação da membrana durante o método da inversão de fases (descrito no ponto seguinte (2,4)) (40).

Nas últimas décadas, tem-se prestado uma maior atenção a este tipo de membranas, principalmente devido a fatores ambientais. O número de artigos publicados desde 1955 a 2021 encontra-se representado na Figura 6. Nesta é possível observar que após 2009 existiu um aumento considerável na publicação de artigos sobre esta matéria, demonstrando assim o valor do CA na criação e modificação de membranas (40).



**Figura 6** – Artigos publicados anualmente com ‘membrana de acetato de celulose’ pesquisado no título no Scopus (23 de Janeiro, 2022) (40).

## **2.4. Método de Inversão de Fases**

O método de inversão de fases é um método de preparação de membranas a partir de um dado polímero que possa ser homogeneamente disperso por um solvente e que possa precipitar da solução para uma fase contínua. As membranas preparadas através deste método apresentam tipicamente uma superfície superior densa com uma morfologia assimétrica, adequada para processos de UF, NF e RO (41).

Durante o processo de separação de fases, a mistura líquido-líquido é induzida a precipitar por imersão num banho coagulante, resultando na separação de uma fase rica em polímero (PR) e numa fase pobre em polímero (PL). Tanto a matriz sólida da membrana como os poros da mesma são obtidos durante as fases de PR e PL, respetivamente. A camada superior afeta diretamente a camada inferior, regulando a taxa a que solventes e não solventes se difundem através da membrana durante a inversão de fase. Assim, pode ser criada uma membrana integral com uma subcamada altamente porosa e uma camada muito densa e fina (42,43).

Além disso, o sistema ternário do polímero, solvente e não solvente (uma relação termodinâmica e cinética) está envolvido no processo de formação da membrana. A morfologia final e funcionalidade da membrana produzida são altamente influenciadas pelos seus efeitos, que são principalmente influenciados pelo tipo de solvente utilizado. Geralmente, a densidade, viscosidade e polaridade do solvente afetam a taxa de troca no processo de inversão de fase e, por sua vez, a morfologia da própria membrana (simetria, porosidade ou densidade). Uma maior difusão de solvente/não solvente resulta num maior número de poros de pequenas dimensões na membrana (43,44).

Pode também afirmar-se que este é o método de eleição na criação de membranas de CA. É possível criar membranas com vários tamanhos de poros, morfologias e aplicações alterando não só o tipo de solvente, mas também as condições de inversão de fase, concentração de CA, temperatura do banho de coagulação, tempo de evaporação do solvente, etc (45).

## **2.5. Técnica Sol-Gel**

A técnica sol-gel surgiu como um método de síntese de materiais com organização molecular e estrutural controladas, melhorando assim as suas funções e propriedades. Usualmente, o termo sol-gel refere-se a processos químicos que começam com a formação de um sol, sendo este essencialmente uma suspensão coloidal de partículas de tamanho inferior a um micrómetro derivadas da hidrólise

controlada e da condensação de precursores inorgânicos ou metal-orgânicos dentro de um solvente, que prosseguem para a formação de um gel após a adição de um catalisador (como um ácido ou base)(46). Este gel, trata-se de uma estrutura tridimensional de interligação em rede com alta porosidade que retém a fase líquida (47).

O método é crucial uma vez que permite, através de condições de reação muito simples, o processamento de materiais numa variedade de formas estruturadas, incluindo nanopartículas, filmes finos, revestimentos com espessuras controladas e membranas (48,49). A capacidade de criar materiais em estado sólido a partir de uma estrutura molecular permite um controlo preciso sobre a organização molecular nas interfaces materiais, para além do controlo da sua composição. O processamento sol-gel tornou-se conseqüentemente um método de preparação de materiais utilizados nas mais diversas aplicações tais como na libertação de fármacos e na separação (50,51).

O tetraetoxissilano (TEOS) tem sido o principal precursor e agente formador de redes nas técnicas sol-gel desde o desenvolvimento das mesmas. Este permite fáceis ajustes às condições de síntese, tais como pH e temperatura, resultando na formação de redes robustas com reatividade moderada e um elevado grau de controlo. Após a hidrólise/condensação, obtém-se uma matriz de polímero/sílica, proporcionando alta estabilidade térmica, alta hidrofiliabilidade e versatilidade devido à sua funcionalização. Outro fator para a sua utilização tem que ver com a simplicidade com que as moléculas orgânicas são incorporadas, graças às reações de fase líquida que são processadas a baixas temperaturas (52,53).

## **2.6. Força Motriz em Processos de Membranas- Gradiente de Pressão**

Os processos de membrana podem ter vários tipos de força motriz, geradas por diferentes gradientes: Pressão, concentração, etc. Os processos mais comuns têm como força motriz o gradiente de pressão, estes incluem processos de MF, UF, NF e RO (23), como observado na Tabela 1.

**Tabela 1** – Processos de separação intermediados por membranas acionados por pressão. Adaptado (23).

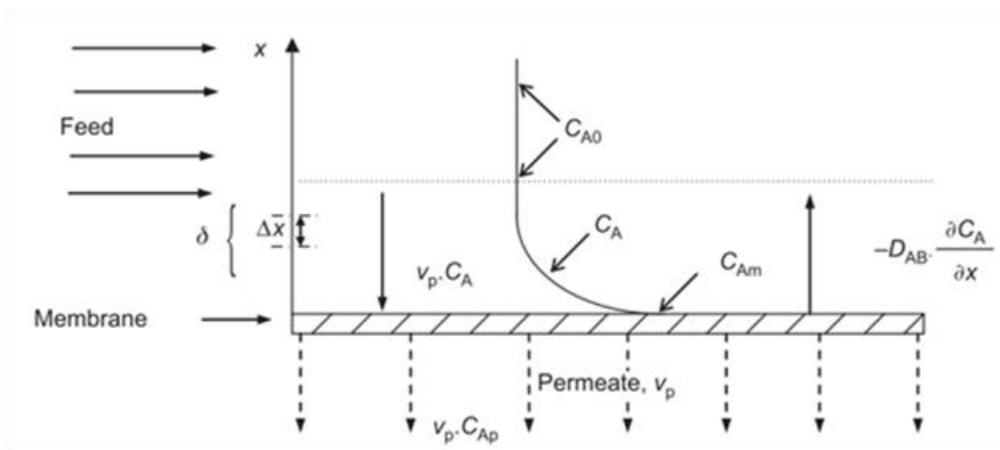
<b>Processos de Separação</b>	<b>Tipo de Membrana</b>	<b>Força Motriz (<math>\Delta P</math>)</b>	<b>Mecanismo de Separação</b>	<b>Aplicações</b>
<b>MF</b>	Simétricas microporosas (poros de 0,1 a 10 $\mu\text{m}$ )	0,1 a 1 bar	Permeação	Esterilização e clarificação
<b>UF</b>	Assimétricas integrais (poros de 1 a 100 nm)	0,5 a 5 bar	Permeação, interações soluto-solvente	Separação de macromoléculas
<b>NF</b>	Assimétricas compostas (poros de 0,5 a 2 nm)	5 a 40 bar	Permeação, interações soluto-solvente, difusão	Separação de sais e pequenos solutos orgânicos
<b>RO</b>	Assimétricas integrais / compostas	20 a 100 bar	Difusão	Separação de sais e microsolutos

Neste tipo de processos, existem dois compartimentos, separados pela membrana. A corrente de alimentação entra pelo compartimento com maior pressão, entrando em contacto com a camada ativa da membrana e separando-se em duas correntes. À corrente que sai no final do compartimento com maior pressão, dá-se o nome de concentrado e esta é enriquecida em solutos que não são permeados pela membrana. À corrente que atravessa a membrana e sai do processo pelo compartimento à menor pressão, dá-se o nome de permeado, sendo este rico em solventes presentes na corrente de alimentação (21,23).

O processo de separação utilizado neste trabalho experimental é o de UF. É atualmente utilizado no tratamento de águas, separação/remoção de contaminantes, clarificação de coloides, HD e como pré-tratamento na RO (54). Funciona a pressões relativamente baixas, conforme descrito na Tabela 1, mas altas o suficiente para que fluxos convectivos gerados pelo o gradiente de pressão regulem o transporte de massa (23). Neste processo, membranas assimétricas, através da sua densa camada ativa, são responsáveis pela resistência da membrana à transferência de massa, baseada na estereoquímica de exclusão molecular e na diferença de tamanho dos solutos, face aos seus poros(55). Além de mecanismos de exclusão molecular, outros mecanismos de

interação solvente/solutos/membrana atuam na operação de UF, sendo que as interações electrostáticas assumem particular importância (56).

Este tipo de processo depende assim do soluto que se pretende separar, bem como das propriedades da membrana utilizada e dos fenómenos de transporte que ocorrem à superfície da mesma (23,56). A eficiência de processos de UF depende também do perfil de concentração próximo da membrana - a polarização de concentração. Este fenómeno trata-se do efeito de acumulação de soluto na superfície da camada ativa da membrana, que induz fluxos de difusão de soluto que tendem a direccionar-se na direcção oposta à pretendida. É possível observar este fenómeno na Figura 7. Uma vez que provoca a diminuição dos fluxos permeados, a polarização de concentração é o principal fator limitante nos processos de membranas cuja força motriz é o gradiente de pressão. Para combater este fenómeno pode-se alterar os parâmetros operacionais do processo e/ou alterar a camada ativa da membrana (21–23).



**Figura 7** – Representação esquemática de polarização por concentração (23).

Na Figura 7, observa-se que quando a pressão é a força motriz, o soluto na corrente de alimentação é levado para a superfície da membrana por um fluxo convectivo perpendicular à superfície da mesma. Os solutos rejeitados pela membrana, acumulam-se gradualmente à sua superfície, onde o desenvolvimento de um gradiente de concentração dos mesmos faz com que se difundam em direcção à corrente de alimentação. Os fluxos convectivos e difusivos acabam por ter direcções opostas, criando um perfil de concentração desde a concentração no seio da alimentação,  $C_{A0}$ , até à concentração à superfície da membrana,  $C_{Am}$ . O rácio entre estas duas concentrações ( $C_{Am}/C_{A0}$ ) indica o módulo de polarização de concentração. Este rácio será maior se o fluxo de permeação for maior e a eficiência de transferência de massa for menor (22,23).

## 2.7. Caracterização de Membranas

As membranas podem ainda ser caracterizadas quanto à sua permeação. A permeabilidade hidráulica, rejeição a sais e solutos orgânicos de referência e limite de exclusão molecular, são os parâmetros mais comuns no que toca à caracterização de membranas de ultrafiltração (23).

A permeabilidade depende não só das características da membrana, como também do material e morfologia da mesma. Quando se pretende obter a permeabilidade hidráulica,  $L_P$ , de uma membrana, utiliza-se água pura como alimentação. Os fluxos de permeado de água pura,  $J_P$ , em função da pressão utilizada no processo, são utilizados segundo a Equação 1 para obter a permeabilidade hidráulica da membrana.

$$J_P = L_P \times \Delta P \quad (1)$$

Onde  $J_P$  vem em kg/h/m<sup>2</sup> e  $\Delta P$  vem em bar. A permeabilidade hidráulica, corresponde assim à variação do volume de permeado por unidade de tempo, área da superfície da membrana e pressão do processo.

O coeficiente de rejeição aparente,  $f_A$ , definido pela Equação 2, indica a capacidade de uma membrana para separar um determinado soluto.

$$f_A = \frac{C_{A0} - C_{AP}}{C_{A0}} \quad (2)$$

Onde  $C_{A0}$  é a concentração de soluto na corrente de alimentação e  $C_{AP}$  é a concentração de soluto no permeado.

O coeficiente de rejeição intrínseco,  $f'_A$ , definido pela Equação 3, resulta da acumulação de um determinado soluto na superfície da membrana, promovido pelo aumento da sua concentração,  $C_{Am}$ .

$$f'_A = \frac{C_{Am} - C_{AP}}{C_{Am}} \quad (3)$$

O limite de exclusão molecular (MWCO), é definido como o menor peso molecular (MW) para o qual um determinado soluto é retido entre os 90 e os 99% pela membrana. Este valor depende dos critérios empregues pelos autores e fabricantes (23). Dependendo do tipo de aplicação, é possível encontrar membranas de ultrafiltração com MWCOs entre os 1000 e os 1 000 000 Da (21). Neste trabalho o MWCO é obtido através da representação gráfica de  $\log\left(\frac{f_A}{1-f_A}\right)$  vs MWs de solutos

orgânicos de referência - polietilenoglicóis (PEGs) com diversos MWs, sendo este processo descrito em pormenor mais à frente no presente trabalho.

## **2.8. Dificuldades na Remoção de Toxinas na Hemodiálise**

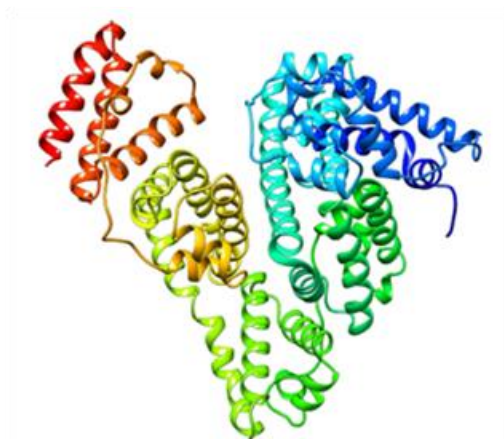
Os solutos de retenção urémica são conhecidos como UTs, estes podem danificar diversos sistemas fisiológicos, levando a problemas como a falência renal. Para o caso de estudo em causa, as bactérias entéricas produzem p-cresol que é sulfatado por ação da enzima sulfotransferase, acabando por se transformar em pCS e causando o mau funcionamento de uma série de processos biológicos. Ao aumentar a produção de espécies reativas de oxigénio nas células tubulares renais, o pCS acumula-se através de transportadores de aniões orgânicos, causando sérios problemas de citotoxicidade (57).

A European Toxin Work Group (EUTOX) classificou, com base no seu peso molecular, bem como a sua afinidade relativa para a ligação a proteínas, mais de 140 UTs e PBUTs relacionadas com a doença renal (58). Esta classificação pode ser observada na Tabela 2. Mais uma vez, o principal problema da HD na atualidade, prende-se com a remoção das PBTUs. A concentração de toxinas urémicas que se ligam a uma determinada proteína depende da afinidade de ligação entre elas. As toxinas possuem um anel aromático na sua constituição, bem como um grupo funcional iónico, que permite a ligação a vários locais de adsorção à HSA através de interações electrostáticas e forças de Van der Waals, como é o caso do pCS (57,59).

**Tabela 2** – Classificação de toxinas urémicas de acordo com a EUTOX (58).

Classe de Moléculas	Gama de MW (Da)	Moléculas Identificadas (%)	Exemplos de Moléculas	MW (Da) dos Exemplos
<b>Moléculas Pequenas</b>	< 500	46	Ureia	60
<b>Moléculas Médias</b>	≥ 500	28	β2-Microglobulina	11818
<b>PBTUs</b>	< 500, quando livres; > 66500 quando ligadas a proteínas	26	pCS	188

A albumina de soro bovino (BSA), demonstrada na Figura 8, é frequentemente utilizada em laboratório como proteína modelo devido à sua semelhança com a HSA, elevada pureza, preço e boa solubilidade com a água. A BSA é uma proteína globular com 4 nm x 4nm x 14 nm de tamanho e apresenta um ponto isoelétrico de pH 4,5. É também classificada como uma substância colmatante, devido à facilidade com que se consegue aderir à camada ativa das membranas, acabando por não atravessar as mesmas (60,61).



**Figura 8** – Representação de uma molécula de BSA (60).

Estas moléculas apresentam na sua constituição cerca de 585 aminoácidos que dão origem a uma cadeia polipeptídica com um MW de 66439 Da. Quanto à sua estrutura secundária, a BSA não possui nenhuma folha β, sendo composta por 67% de estruturas helicoidais e 33% de topologias de cadeias e voltas. A sua estrutura

tridimensional é caracterizada por três domínios homólogos I, II e III, sendo que cada um deles contém dois subdomínios A e B (60,62). Embora a albumina seja carregada negativamente a pH fisiológico (7,4) os locais de ligação de compostos aniônicos, neutros ou catiónicos podem coexistir na mesma molécula devido a diferenças regionais na distribuição de cargas. Esta possui dois locais de adsorção, Sudlow I e II (60). Quando adsorvido à proteína, o pCS fica retido no Sudlow II, local onde os ligandos aromáticos podem ser neutros ou possuir uma pequena quantidade de carga negativa (59).

O pCS liga-se reversivelmente à albumina, devido à sua elevada afinidade para com a mesma. Estabelece-se um equilíbrio entre a fração de pCS que se liga à proteína e ao pCS que se encontra livre na corrente sanguínea. Em condições saudáveis, a fração livre de pCS é filtrada no local do glomérulo ao passo que a fração ligada à proteína é segregada nas células epiteliais tubulares, acabando por ser eliminada na urina. Os doentes de CKD, acabam por reter o pCS na corrente sanguínea, sendo necessário recorrer à HD (63).

No contexto da HD, a albumina é uma proteína que normalmente fica retida no sangue do paciente. Isto acaba por se tornar um grande problema na medida em que, juntamente com a albumina, também as PBUTs como o pCS acabam retidos, purificando apenas a parte livre de pCS (18). Existe por isso uma necessidade de melhorar a eficiência das membranas utilizadas em HD para a remoção destas toxinas. A incorporação nas membranas de HD de materiais para os quais o pCS tenha uma maior afinidade pelos mesmos do que para a HSA pode ser decisiva. Carvão ativado, nanotubos de carbono e MOFs à base de zircónio como o UiO-66(Zr) são as mais recentes técnicas em estudo para a resolução deste problema (9).

## **2.9. Estruturas Metalico-orgânicas**

Recentemente, estruturas metálico-orgânicas (MOFs) têm recebido bastante atenção a nível mundial por parte da comunidade científica. Estes são fabricados através de iões metálicos e ligandos orgânicos, exibindo estruturas a 1D, 2D ou 3D, sob a forma de um pó cristalino (64). Embora exibam um elevado grau de cristalinidade, áreas superficiais notáveis e grande volume de poros, estes também possuem superfícies de área específica, porosidade e tamanho de poros ajustáveis. A sua morfologia, estrutura e funcionalidade podem ainda ser adaptadas com precisão através da modulação de iões metálicos e ligandos orgânicos que os constituem (65,66).

Ao contrário de outros tipos de materiais cristalinos, os MOFs apresentam uma capacidade de adsorção excepcional são estudados e integrados numa variedade de funcionalidades e aplicações (57). Os MOFs têm assim um vasto histórico de aplicações como a adsorção de toxinas, proteção ambiental, catálise, medicina e mais recentemente na remoção de toxinas urémicas (57,67).

Um dos grandes grupos de MOFs estudados mundialmente tratam-se dos MOFs à base de zircónio (Zr) e nódulos do mesmo, encontrando-se um destes nódulos retratado na Figura 9. Dentro deste grupo, existem algumas estruturas já submetidas a alguns estudos no que toca à sua capacidade de remoção de toxinas urémicas, como o NU-1000 e o UiO-66(Zr) (57).

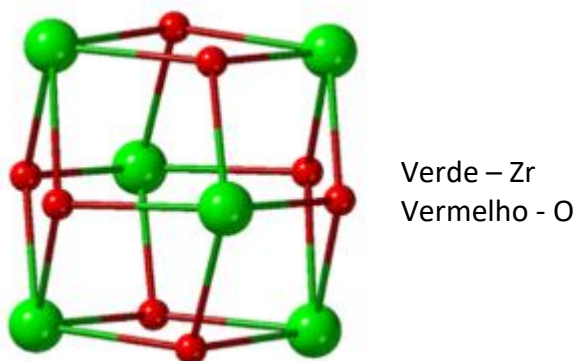


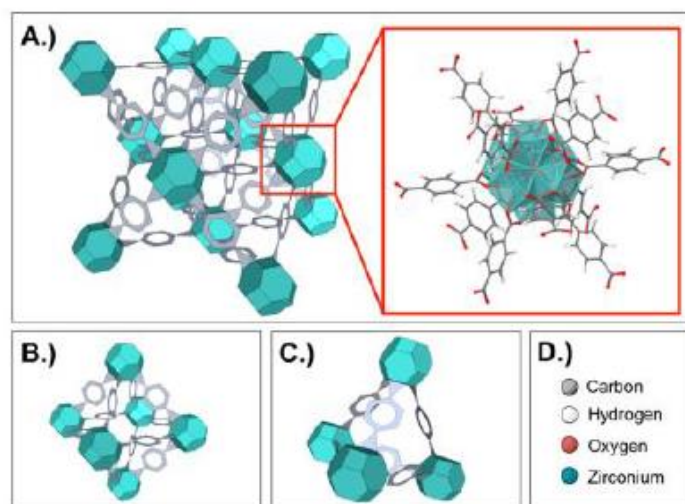
Figura 9 – Nódulo de zircónio ( $Zr_6O_8$ ) (57).

### 2.9.1. UiO-66(Zr)

O UiO-66(Zr) ( $Zr_6O_4(OH)_4(C_6H_4C_2O_4)_6$ ) trata-se de uma estrutura organometálica à base de zircónio, sendo atualmente considerado como um dos compostos de referência entre os MOFs mais estáveis, recebendo uma atenção bastante considerável pela comunidade científica (68). Uma representação do mesmo pode ser encontrada na Figura 10. Este composto foi pela primeira vez reportado em 2008 por Lillerud *et al.* (69), existindo mais de 1500 artigos científicos citando este MOF desde a sua descoberta. Trata-se de um material com uma síntese laboratorial e com grande potencial, devido aos seus elevados níveis de estabilidade mecânica, ácida, aquosa e térmica, possuindo uma temperatura de decomposição de 300° C (70,71).

Existem atualmente muitos estudos a serem realizados para que se perceba com um maior rigor o completo potencial deste MOF. Existe na literatura uma panóplia de potencialidades do UiO-66(Zr), desde a sua utilidade na entrega controlada de fármacos e uso para a síntese de novos biossensores (72), passando pela sua performance enquanto catalisador em sínteses orgânicas (73) até à sua incorporação

em membranas para aplicações em GS (74). Mais recentemente, e no contexto do atual trabalho experimental, já se encontra documentado na literatura no que toca à capacidade de remoção de toxinas urémicas por parte do UiO-66(Zr) (57), bem como o seu futuro papel na incorporação de membranas aplicadas a rins artificiais (67), encontrando-se atualmente informação promissora no que toca à sua toxicidade hematológica para concentrações até 1,5 mg/mL (67).



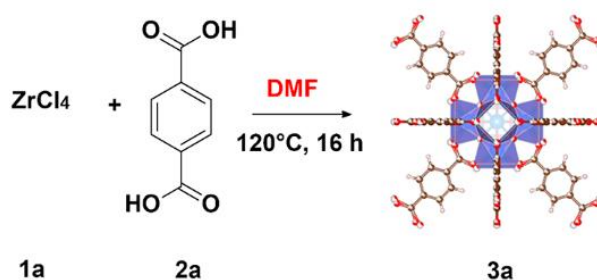
**Figura 10** - Representação da estrutura do UiO-66(Zr). A.) Estrutura unitária cúbica de faces centradas composta pelos nódulos de metal (azul) e ligandos (cizento) com uma representação atômica de um nódulo. B.) Estrutura de nódulo e ligante que compõe uma cavidade de 12 Å. C.) Estrutura de nódulo e ligante que compõe uma cavidade de 7,5 Å. D.) Legenda dos átomos representados (70).

Este MOF apresenta uma estrutura cristalina tridimensional, constituída por um complexo de nódulos metálicos que contêm aglomerados hexanucleares de óxido de zircónio  $[Zr_6O_4(OH)_4]$  conectados entre si via ligandos da base conjugada de ácido tereltálico, 1,4-benzeno dicarboxilato (BDC) (70). Quando se apresenta na sua forma mais estável, hidroxilada, este cristal com uma estrutura unitária cúbica de faces centradas, apresenta um parâmetro de rede de 20,7 Å, com uma cavidade tetraédrica de 7,5 Å, uma outra cavidade de 12 Å e um poro com 6,9 Å de abertura (75). Com um volume teórico de 0,77 cm<sup>3</sup>/g por poro, o UiO-66(Zr) possui uma área superficial de 1160 m<sup>2</sup>/g (76).

Os nódulos inorgânicos presentes em cada MOF são designados por unidades de construção secundárias (SBU) ou unidades de construção inorgânica (IBU). No caso do MOF em estudo, o nódulo inorgânico do aglomerado hexanuclear de óxido de zircónio é classificado como um cuboctaedro e permite a coordenação de até 12

ligandos BDC, induzindo uma estrutura cúbica de corpo centrado (77). Adicionalmente, a superfície destes aglomerados contem grupos hidroxilo, permitindo uma adsorção de metais de transição ao MOF (69).

Na síntese deste MOF, é necessário recorrer a um reagente como fonte de  $Zr^{4+}$ . Inicialmente, este ião era obtido através de cloreto de zircónio ( $ZrCl_4$ ) como é possível observar na Figura 11, sendo atualmente utilizados brometo de zircónio ( $ZrBr_4$ ) ou óxido de dicloreto de zircónio ( $ZrOCl_2$ ) (70). A dissolução deste reagente, juntamente com a do ácido teraftálico utilizado na síntese, serve para que o segundo se transforme na sua forma conjugada e se ligue ao zircónio. Este passo é habitualmente intermediado com a ajuda de um solvente como o etanol ou dimetilformamida (DMF), recorrendo preferencialmente ao primeiro, devido a todo o custo e toxicidade associada ao DMF. Finalmente, para que ocorram os aglomerados de zircónio, é necessário recorrer a fontes de oxigénio, como a adição de água à mistura reacional ou pela hidratação do próprio sal de zircónio (68).



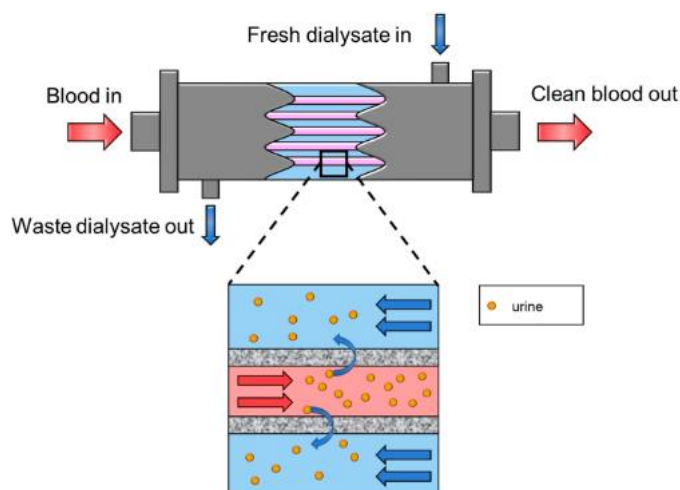
**Figura 11** – Equação reacional da síntese do UiO-66(Zr). **1a)** Fonte de  $Zr^{4+}$ ; **2a)** Ácido teraftálico; **3a)** UiO-66(Zr) (68).

## 2.10. Rins Artificiais

O rim artificial, ou dialisador, é o principal componente da terapia moderna de substituição renal, tendo como principal objetivo, a purificação extracorporeal do sangue do paciente. Como demonstrado na Figura 12, na HD, as toxinas são removidas do sangue para o dialisado através da difusão natural pelo seu gradiente de concentração (5,78).

Desde o início do século XX, que esta tecnologia tem vindo a ser intensivamente desenvolvida. Em 1928, Hass foi o primeiro a utilizar membranas de celulose num tratamento de diálise a seis pacientes, mas sem eficácia(79). O primeiro caso tratado com diálise de sucesso deu-se em 1943, quando o médico holandês Willem Kolff, utilizando um rim de tambor rotativo criado pelo próprio, conseguiu evitar a morte de um doente de 67 anos (78).

O rim artificial foi rapidamente desenvolvido após o primeiro procedimento de diálise bem-sucedido. Hoje em dia, os dialisadores mais modernos são compostos por módulos de fibras ocas, representados na Figura 12. Este estabeleceu-se rapidamente como o tratamento padrão em todo o globo para doentes que sofrem desde lesões renais agudas a doenças renais em fase terminal (78).



**Figura 12** – Representação esquemática de um dialisador de fibras ocas (5).

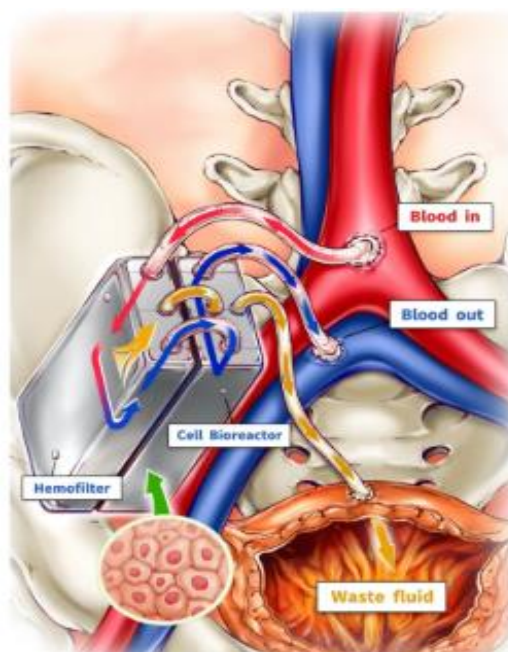
Nos dialisadores de fibras ocas a circulação de sangue ocorre no interior das fibras e no exterior ocorre a circulação do fluido de diálise como recetor de toxinas e água. Este trata-se de um design que permite uma regulação simples da pressão no compartimento sanguíneo para uma UF mais precisa (80).

Apesar de se tratar de tecnologia de ponta, existem algumas complicações que podem surgir durante um tratamento de diálise. As interações entre o sangue e estas fibras podem resultar em efeitos secundários indesejáveis tais como inflamação, coagulação do sangue, resistência à eritropoietina e desnutrição proteica. Constata-se assim que os dialisadores atuais necessitam de alguma modificação ao nível da engenharia de membranas para reduzir os problemas existentes de biocompatibilidade. Um dos possíveis caminhos seria a modificação da porosidade e da geometria das membranas(78). Uma outra possibilidade, seria a modificação da camada ativa das membranas com heparina ou vitamina E, que, segundo alguns estudos, reduzem a coagulação sanguínea durante a diálise (81).

Um outro problema existente prende-se com o facto de que os dialisadores atuais dão prioridade à remoção de fluidos e à eficácia da diálise, em detrimento das funções metabólicas que um rim saudável executaria. Para que um sistema renal seja

substituído com sucesso, é necessário que o equipamento que o vai substituir também possua a capacidade de efetuar os mecanismos metabólicos do primeiro (78).

Para além de todas as restrições logísticas associadas ao estilo vida de um paciente de diálise, a rápida remoção de sangue três vezes por semana e em sessões de quatro horas também tem implicações para os pacientes. Esta remoção contribui para um elevado risco cardiovascular dos doentes. Está demonstrado que a HD noturna durante longos períodos de tempo melhora a pressão arterial, a função cardíaca e a hipertrofia cardíaca (82). Contudo, este tipo de tratamentos apenas é possível se os doentes tiverem a capacidade de realizar a diálise em casa ou utilizarem dialisadores portáteis/implantáveis, como o demonstrado na Figura 13 (83).



**Figura 13** – Representação de um rim artificial implantável (78).

Para além de todos estes problemas, e como explicado anteriormente em contexto do presente trabalho experimental, os dialisadores atuais não conseguem filtrar todas as toxinas nas quantidades que seriam filtradas por um rim saudável, como o pCS. Isto leva a uma panóplia de consequências, consoante a toxina em questão (57).

### **3. Objetivo e Estrutura da Tese**

Existe atualmente uma grande problemática no que toca à filtração de determinadas toxinas como o pCS em hemodiálise, já que estas tendem a adsorver-se a proteínas como a albumina, resultando na sua não filtração e que continuem a circular

na corrente sanguínea dos doentes. A existência de pCS no sangue de doentes cujos rins não funcionam corretamente resulta numa degradação acelerada da saúde dos mesmos, existindo a necessidade de retirar a maior quantidade possível de pCS do sangue durante uma sessão de hemodiálise. Para atingir este objetivo, este trabalho pretende sintetizar membranas de acetato de celulose (utilizadas em hemodiálise) e incorporar UiO-66(Zr) na sua estrutura, criando membranas capazes de filtrar a maior quantidade possível de pCS, competindo com a albumina.

O trabalho foi então dividido em várias etapas para alcançar o objetivo anteriormente mencionado:

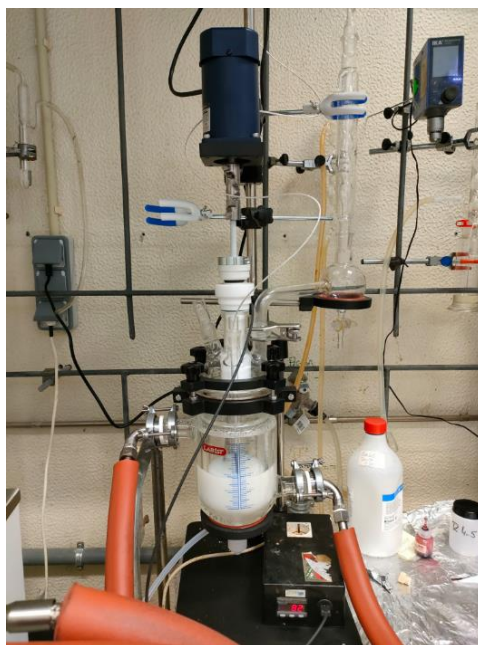
- Sintetizar e caracterizar o UiO-66(Zr);
- Sintetizar e caracterizar membranas com e sem UiO-66(Zr);
- Observar a morfologia das membranas com e sem UiO-66(Zr) através de imagens SEM;
- Criar isotérmicas de adsorção ao pCS na ausência e na presença de albumina;
- Realizar ensaios de permeação com membranas com e sem UiO-66(Zr);
- Conjuguar todos os resultados obtidos para que se consiga concluir quanto à eficácia da adição de UiO-66(Zr) nas membranas de hemodiálise na remoção de pCS.

## 4. Materiais e Métodos

### 4.1. Síntese do UiO-66(Zr)

O presente trabalho experimental começou pela síntese do MOF UiO-66(Zr). Para tal, recorreu-se a uma balança digital (AB204-S/FACT, Mettler Toledo) com uma incerteza de 0,1 mg. Nesta, foram pesadas 13,6095 g de ácido teraftálico ( $C_6H_4(COOH)_2$ , 166,13 g/mol, 99%, Thermo Scientific) e 26,3050 g de óxido de dicloreto de zircónio octa-hidratado ( $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ , 98%, Alfa Aesar). Mediu-se ainda 27 mL de ácido clorídrico (HCl, 1M, Fisher Scientific) utilizando uma proveta de  $50 \pm 0,5$  mL da VWR e 400 mL de dimetilformamida (DMF,  $CH_2)_2NCH$ , 73,09 g/mol, 99,5%, Fisher Scientific) utilizando uma proveta de  $500 \pm 2,5$  mL da VWR. Embora esta síntese seja preferencialmente possível com a substituição de DMF por etanol, este não foi o caso no presente trabalho experimental, já que tentativas anteriores se revelaram menos eficientes na produção do UiO-66(Zr).

Todos estes reagentes foram posteriormente colocados num reator da Lab1st, sob uma agitação de 170 rpm e a uma temperatura de 80 °C, utilizando um permutador de calor da mesma marca durante 72 horas. É possível observar uma imagem do sistema em funcionamento na Figura 14.

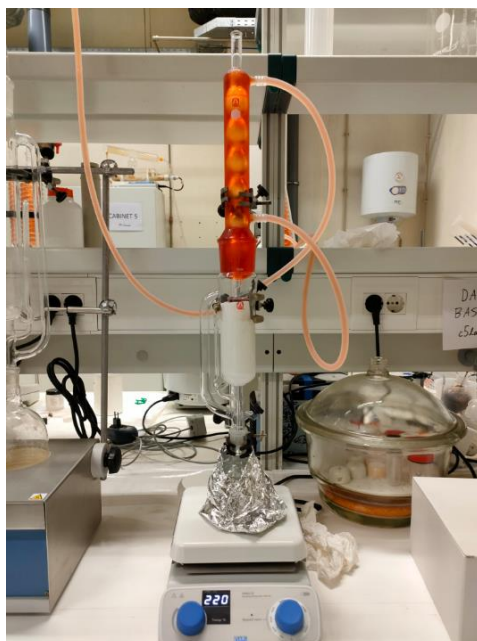


**Figura 14** – Sistema utilizado na síntese do UiO-66(Zr).

No final da síntese, a mistura reacional foi colocada num filtro e submetida a sucessivas extrações de Soxhlet para que os reagentes que não reagiram fossem removidos da mesma. Nesta técnica, um solvente é aquecido até à sua temperatura de ebulição, fazendo com que o vapor do mesmo suba pelo extrator até a um condensador colocado por cima do extrator, acabando por condensar dentro do último. Quando o extrator de Soxhlet fica cheio, o solvente é descarregado para o balão volumétrico que se encontra na parte inferior do extrator, arrastando consigo as impurezas presentes no material que se encontrar no interior do filtro (84). Para esta extração, utilizou-se diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 84,93 g/mol, 99,8%, Fisher Scientific) devido à sua baixa temperatura de ebulição de apenas 39 °C (85). Foram efetuadas extrações de forma contínua durante 72 horas, aquecendo o solvente a 40 °C com uma placa de aquecimento (modelo AREC.X, Velp. Scientifica) e com um extrator de 200 mL da

Sigma-Aldrich. A Figura 15 demonstra o sistema de Soxhlet utilizado no presente trabalho.

**Figura 15** – Sistema de extração utilizado na síntese do UiO-66(Zr).

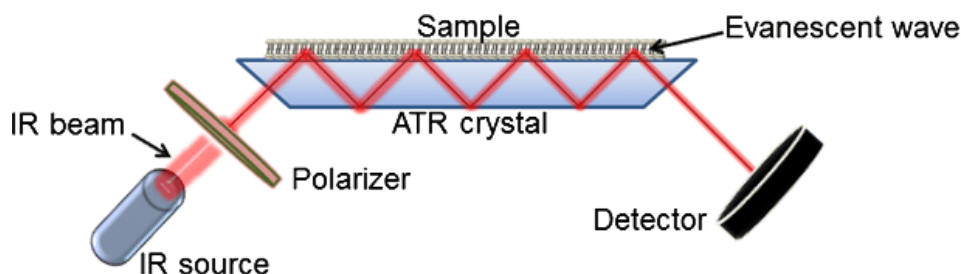


No final das extrações, o material no interior do filtro foi colocado a secar a uma temperatura de 100 °C numa estufa (Ibx Instruments) durante 72h.

## 4.2. Caracterização do UiO-66(Zr)

Como forma de verificação da qualidade do MOF sintetizado, existiu a necessidade de caracterizar o mesmo. Para tal, é importante recorrer a quatro técnicas de caracterização: espectroscopia de infravermelho, difração de raios-X, termogravimetria e adsorção de azoto. Não foi, no entanto, possível a caracterização do mesmo através de adsorções de azoto uma vez que o equipamento utilizado neste tipo de ensaio não se encontrava disponível, estando este em manutenção.

Começou-se pela espectroscopia de infravermelhos (IV), que se trata de um método instrumental para a obtenção de espectros de emissão e/ou absorção de amostras gasosas, líquidas ou sólidas, sendo a espectroscopia de infravermelhos com transformada de Fourier (FTIR) a técnica mais utilizada. Nesta, é medida a quantidade de luz que uma amostra absorve e/ou emite a um determinado comprimento de onda. O acessório de reflexão total atenuada (ATR) assegura a do feixe de radiação IV na superfície de uma amostra que se encontra em contacto com um cristal (86,87). A Figura 16 demonstra na prática o processo mencionado.



**Figura 16** – Representação esquemática do processo de funcionamento de um ATR-FTIR (87).

O interferômetro de Michelson trata-se da parte principal de um espectrômetro FTIR. Este aparelho é responsável pela emissão de um feixe de IR que é posteriormente dividido ao meio por um divisor de feixe, resultando na incidência de um dos feixes sobre um espelho fixo e na incidência do outro sobre um espelho móvel que se desloca ao longo do mesmo eixo do feixe incidente. Cada feixe é posteriormente redirecionado ao separador de feixes, onde se recombinam antes de passar pela amostra. É então produzido um interferograma neste local, onde parte da radiação é absorvida por um sensor, sendo finalmente criado um espectro através de processamento matemático com recurso à transformada de Fourier (87,88).

Nesta técnica, é prática comum a utilização de feixes de radiação para varrimento de amostras com um comprimento de onda de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , uma vez que a maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos absorve e/ou emite radiação desta gama. Diferentes ligações interatômicas absorvem radiação com intensidades diferentes a frequências diferentes, pelo que o espectro resultante apresenta bandas características das ligações presentes na constituição da amostra. Assim, é possível identificar a estrutura molecular de uma determinada amostra através do seu espectro FTIR, já que neste apenas se encontram apresentadas as bandas características de certas ligações da mesma (88).

Para a obtenção do espectro FTIR do UiO-66(Zr) utilizou-se um espectrômetro FTIR (Spectrum Two, PerkinElmer) equipado com um acessório ATR. Uma pequena quantidade de MOF foi então colocada sobre o cristal, cobrindo totalmente a sua superfície. Utilizando o software associado ao equipamento, obteve-se o espectro da amostra.

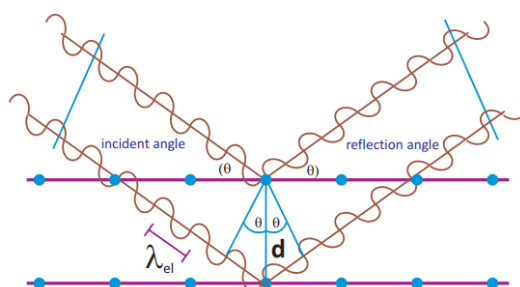
Na caracterização de MOFs, a sua cristalinidade é uma característica importante a ter em conta, uma vez que é esta que permite a deteção de estruturas cristalinas

distintas. Assim, uma outra técnica utilizada foi a difração de raios-X (XRD), que se trata de uma técnica recorrente na detecção de materiais cristalinos. Neste tipo de difratômetros, um feixe acelerado de elétrons incide sobre uma fonte metálica, produzindo raios-X que atingem posteriormente uma determinada amostra policristalina, sendo difratados e refletidos para um detector Bragg-Brentano que se desloca unidireccionalmente numa gama variável de ângulos pré-definidos. Este mesmo detector, encontra-se localizado no mesmo plano que o feixe de raios-X e a amostra durante a execução da técnica (89).

Um tubo catódico é responsável pela produção de raios-X, que são filtrados para criar radiação cromática. Os raios-X são posteriormente focados na amostra, onde atingem as camadas atômicas dos cristais presentes na mesma, induzindo à vibração, na mesma frequência que os raios-X, dos elétrons presentes nos cristais. O detector de Bragg-Brentano dispersa a luz na amostra quando as condições de funcionamento estão de acordo com a lei de Bragg (Equação 4), resultando em picos de intensidades específicas, provenientes de um plano cristalográfico proporcional a  $2\theta$ . No entanto, sempre que o ângulo de incidência dos raios-X não satisfazem a lei de Bragg, os raios acabam por se cancelar, não existindo qualquer intensidade difratada (90,91). Este processo pode ser observado na ilustração presente na Figura 17.

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (4)$$

Os picos já mencionados, formam-se devido à interferência construtiva da luz nas diferentes camadas atômicas da amostra. No entanto, para que a interferência construtiva aconteça, a luz que entra nas camadas profundas deve ser mantida num múltiplo inteiro,  $n$ , do comprimento de onda. Assim, a lei de Bragg estabelece uma relação entre o comprimento de onda da radiação magnética,  $\lambda$ , o ângulo de difração,  $\theta$ , e a distância interplanar entre planos cristalinos paralelos,  $d$  (90,91).



**Figura 17** – Representação esquemática da incidência de raios-x nas diferentes camadas atômicas (91).

Para a obtenção da análise XRD do UiO-66(Zr), foi utilizado um difratómetro (AXS Advance D8, Bruker) equipado com um detetor 1D (SSD 160) com um filtro de níquel. A gama de varrimento utilizada foi de 5 a 40° (2 $\theta$ ), com um tamanho de passo de 0,03 ° e um tempo de passo de 0,5 s.

A análise termogravimétrica (TGA) foi um outro método utilizado na caracterização do MOF. Trata-se essencialmente de uma técnica experimental capaz de caracterizar um sistema, sob a forma de mistura, composto ou elemento, através da observação da forma como as suas propriedades físico-químicas se alteram com o aumento da temperatura. Com a TGA é possível observar a diferença de massa de uma determinada amostra em função da temperatura a que esta é submetida. Estas alterações de massa são posteriormente registadas pelo equipamento, obtendo um resultado em forma de curva (TG), que descreve a perda de massa em % da amostra, em função da temperatura e uma outra curva (dTG) que representa a derivada da curva anterior. Com a análise destes resultados, é possível a caracterização da amostra (92). Durante a TGA, a análise decorre num meio de azoto ou ar sintético, cuidadosamente controlado. Uma balança existente no interior do equipamento, mede ao longo do tempo, e de forma contínua, a massa da amostra em estudo, em função de um incremento linear pré-definido da temperatura (92, 93).

As curvas resultantes deste estudo permitem identificar diversos fenómenos responsáveis pela perda de massa na amostra. É possível detetar a oxidação de metais expostos ao ar ou oxigénio, decomposição oxidativa de substâncias orgânicas no ar ou oxigénio e decomposição térmica de compostos orgânicos em atmosfera inerte com formação de produtos gasosos. É possível a deteção de reações químicas heterogéneas em que o material de partida é retirado da atmosfera, como nas reações de descarboxilação. Consegue-se identificar a evaporação de componentes voláteis na amostra, bem como a sua secagem, adsorção e dessorção de gases, humidade e outras substâncias voláteis. Também é possível observar a absorção ou perda de água na amostra (92).

Para a obtenção das curvas TG, utilizou-se um analisador termogravimétrico (STA7200, HITACHI) no qual as amostras foram colocadas em pequenas 'painéis' de alumínio. Em cada análise, foi utilizada uma taxa de aquecimento de 2 °C/minuto, começando na temperatura ambiente até um máximo de 600 °C, sob o fluxo de azoto.

Um último processo de caracterização do UiO-66(Zr) passa pela análise do seu comportamento em adsorções gasosas. Estes tipos de análises de adsorção gasosa tornaram-se possíveis dado o desenvolvimento de materiais nano-porosos, permitindo a avaliação e caracterização das suas respetivas propriedades como a área superficial,

volume, tamanho e distribuição de poros (94), infelizmente devido à avaria do equipamento estas análises não foram realizadas nesta tese.

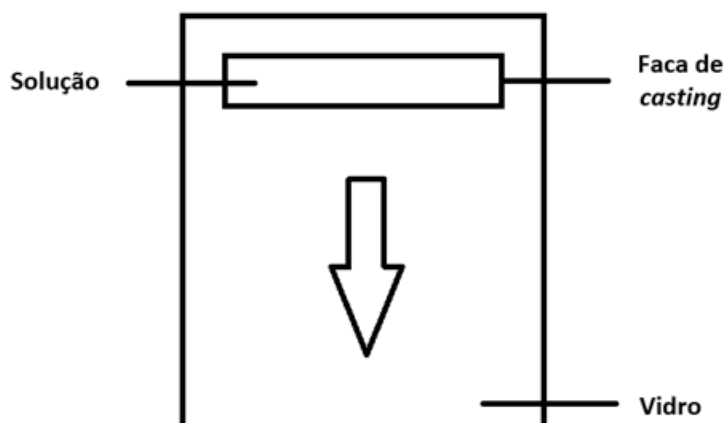
### 4.3. Síntese das Membranas

Começou-se por preparar as soluções poliméricas de acetato de celulose com concentrações (m/m %) de UiO-66(Zr) de 2, 4 e 6%: CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 4% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 6%. Posteriormente, e baseado no que se observou acerca das mesmas, decidiu-se preparar as membranas que seriam utilizadas ao longo de todo o trabalho experimental: CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%. Estas soluções foram preparadas de acordo com a Tabela 3, sendo os seus reagentes misturados segundo a sua ordem de ocorrência na mesma. Nesta tabela constam também as composições das três primeiras membranas preparadas. As soluções foram primeiramente homogeneizadas agitando os respetivos recipientes até que não existissem partículas de polímero adsorvidas às paredes dos mesmos. Posteriormente, colocaram-se os recipientes a homogeneizar durante 24 horas e a 700 rpm num agitador (S 50, CAT), à temperatura ambiente. As soluções poliméricas foram preparadas recorrendo a: acetato de celulose (CA, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>(OH)<sub>3</sub> ~30000 Daltons, grau de pureza ≥ 97%, densidade igual a 1,3 g/mL a 25° C, Sigma-Aldrich); formamida (CH<sub>3</sub>NO, 45,02 g/mol, reagente ACS, Honeywell); acetona pura (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O, 58,08 g/mol, grau de pureza ≥ 99,7%, José M. dos Santos, LDA); tetraetoxissilano (TEOS, Si(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>, 208,33 g/mol, grau de pureza 98%, Alfa Aesar); ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>, 63,01 g/mol, 65% v/v, Chem-Lab); água ultra pura (filtrada com o equipamento MILLIPORE Elix 3 e armazenada num depósito INTERLAB PK/1); UiO-66(Zr) (Zr<sub>6</sub>O<sub>4</sub>(OH)<sub>4</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>6</sub>), 1664,1 g/mol, sintetizado em laboratório e previamente triturado com um almofariz e pilão de ágata. Toda a água utilizada neste trabalho é proveniente do equipamento acima mencionado. A massa de reagentes foi pesada numa balança analítica (CM-360-SX, COBOS, com um máximo de 600 g e uma incerteza de 0,001 g.

**Tabela 3** - Composição (m/m %) das soluções poliméricas das membranas sintetizadas.

Membrana	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 4%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 6%	CA22/SiO <sub>2</sub>	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1,5%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2,5%
CA	16,07	15,73	15,39	16,41	16,24	16,15	15,98
Formamida	20,79	20,35	19,91	21,23	21,01	20,90	20,68
Acetona	57,65	56,43	55,21	58,87	58,26	57,95	57,34
UiO-66(Zr)	2,00	4,00	6,00	-	1,00	1,50	2,50
TEOS	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Água	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Ácido Nítrico (Gotas)	4	4	4	4	4	4	4

De seguida, as soluções foram colocadas no interior de uma “faca de *casting*” metálica (com 250 µm de abertura) e espalhadas a uma velocidade constante, em cima de um vidro imóvel, de acordo com a Figura 18. Após 30 segundos de tempo de evaporação, os filmes foram mergulhados num banho de coagulação que se encontrava a 1-3 °C. Depois da coagulação, as membranas separavam-se do vidro, sendo armazenadas num frigorífico, dentro de um recipiente contendo uma solução de etanol 15% (v/v).



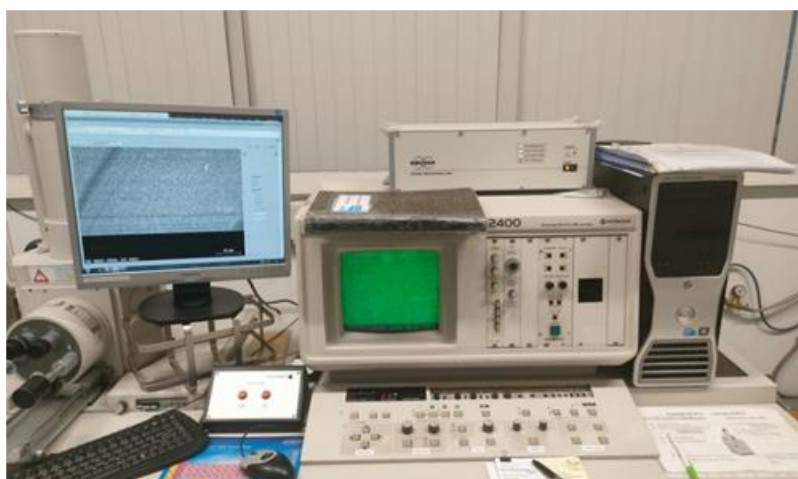
**Figura 18** - Ilustração esquemática da técnica de *casting* utilizada.

#### 4.4. Análise SEM-EDS

Num microscópio de varrimento eletrónico (SEM), um feixe focado de eletrões é utilizado para analisar a superfície de uma determinada amostra, criando uma imagem da mesma. A topografia da superfície da amostra é posteriormente revelada pelos sinais criados, resultantes das interações dos eletrões da amostra. Uma imagem é criada combinando a posição do feixe de eletrões com a intensidade do sinal detetado, enquanto este é digitalizado num padrão de varrimento (95).

A espectroscopia de raios-X por dispersão de energia (EDS), é um método eficaz na examinação da composição química à escala microscópica. O EDS consegue extrair informações sobre a composição a partir dos raios-X que são emitidos quando o feixe de eletrões percorre uma amostra em conjunto com o SEM. Este método permite identificar quase todos os elementos da tabela periódica. As aplicações desta análise vão desde o controlo de processos de qualidade à análise de falhas e à investigação laboratorial, pelo que é comum os equipamentos SEM possuírem um sistema EDS (96).

Após a síntese das membranas, procedeu-se a uma análise SEM das mesmas. Para tal, retiraram-se pequenas amostras de cada uma das membranas. As amostras foram colocadas sobre uma superfície de alumínio utilizando fita de carbono de dupla face e revestidas por pulverização com uma fina película de paládio e ouro, num revestidor (Q150T ES, Quorum Technologies). Estas foram analisadas num SEM (S2400, Hitachi), equipado com um detetor Brucker EDS, visualizado na Figura 19.



**Figura 19** - SEM e respetivo detetor utilizados na análise SEM-EDS.

Obtiveram-se imagens com ampliações de 500, 1000 e 5000 para cada *top* (camada ativa) e *bottom* (camada suporte) de cada membrana, bem como imagens com ampliações de 500, 1000 e 2000x para as suas *cross sections* (cs). As análises EDS foram obtidas a uma amplitude de 500x para que se contabilizasse uma maior superfície de amostra.

## 4.5. Ensaio de Adsorção

### 4.5.1. UiO-66(Zr) como Adsorvente

Para perceber o comportamento de adsorção do UiO-66(Zr) face ao pCS, efetuaram-se isotérmicas de adsorção desta toxina. Para tal, colocou-se 1,5 mg de UiO-66(Zr) em *vials* com 2,5 mL de soluções aquosas com concentrações de pCS entre as 0,01 e as 0,15 g/L. Os *vials* foram colocados sob agitação numa orbital (TH 30, Edmund Bühler GmbH) a uma temperatura constante de 37° C durante 24 horas para que se alcançasse o equilíbrio. Após esse tempo, as amostras foram filtradas com filtros de seringa de 0,45 µm de acetato de celulose (Chmlab). As concentrações iniciais e de equilíbrio foram obtidas utilizando um HPLC (Waters 2695, alliance) e um detetor UV/Vis (2489, alliance), utilizando uma coluna de HPLC C18 (5 µm, 150 x 4,6 mm<sup>2</sup>, Inertsil) a 40° C e estabeleceu-se um caudal de 1 mL/min de uma fase móvel de acetonitrilo (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N, 41,05 g/mol, grau de pureza 99,9%, Honeywell) e acetato de amónio a 10 mM (E. Merck) (10:90 v/v %), previamente sonicada num sonicador (USC-THD, VWR) para remover potenciais bolhas de ar da mesma (57).

Os valores de adsorção  $Q$  foram calculados de acordo com a Equação (5),

$$Q = (C_i - C_f) \times \frac{V}{m} \quad (5)$$

Onde  $V$  é o volume de solução exposta ao MOF e  $m$  a massa do mesmo.

Posteriormente, todas as isotérmicas foram caracterizadas de acordo com o modelo de Langmuir ou modelo de Freundlich, representados pelas equações (6) e (7), respetivamente.

$$Q_e = \frac{K_L \times Q_{max} \times C}{1 + K_L \times C} \quad (6)$$

Onde  $Q_e$  (mg/g<sub>UiO-66(Zr)</sub>) diz respeito à quantidade adsorvida por unidade de adsorvente no equilíbrio,  $K_L$  (g/L) a constante de equilíbrio de Langmuir,  $Q_{max}$  é a adsorção máxima e  $C$  a concentração residual de pCS.

$$Q_e = K_F \times C^{1/n} \quad (7)$$

Onde  $K_F$  ((mg/g<sub>UiO-66(Zr)</sub>)(L/mg)<sup>1/n</sup>) é a constante de adsorção de Freundlich e 1/n o grau de não linearidade e intensidade de adsorção dos adsorventes.

Depois, para se perceber qual a diferença entre a adsorção no UiO-66(Zr) livre e nas membranas incorporadas com MOF, efetuaram-se, de forma idêntica, novas isotérmicas. Nestas, substituíram-se as 1,5 mg de UiO-66(Zr) pela massa de cada uma das membranas que possuiria a mesma quantidade de MOF. Desta forma, as membranas foram cortadas para que se obtivessem as massas pretendidas para cada ponto das isotérmicas, sendo posteriormente retiradas das soluções de pCS, para que as últimas pudessem ser processadas no HPLC.

Foi ainda efetuada uma curva de calibração de pCS para que fosse possível os cálculos da concentração residual ( $C_f$ ) de pCS existente em cada ponto das isotérmicas. Esta pode ser observada nos Anexos A.

#### **4.5.2. BSA como Adsorvente**

Para comparar a adsorção de pCS na albumina ao UiO-66(Zr), foi também efetuada uma isotérmica com BSA (grau de pureza 98%, Sigma). Nesta, expôs-se 50 mg de BSA em 1 mL de soluções aquosas de 0,2 M de NaCl (58,44 g/mol, Panreac) com as mesmas concentrações de pCS das isotérmicas anteriores. Após 24h a 37° C, as soluções foram centrifugadas e filtradas com tubos Amicons (10 kDa, Milipore) a 4600 rpm durante 15 minutos numa centrífuga (Rotanta 460 R, Hettich). As adsorções foram posteriormente calculadas de forma idêntica às isotérmicas anteriores. Foi também criada uma curva de calibração de pCS na presença de 0,2 M de NaCl que pode ser observada nos Anexos A.

#### **4.5.3. UiO-66(Zr) e BSA como Adsorventes**

Finalmente, para averiguar a competitividade entre a BSA e o UiO-66(Zr) foi realizado um último ensaio de adsorção, expondo pCS a ambos os adsorventes. Neste estudo colocou-se 50 mg de BSA em 1 mL de soluções aquosas de 0,2 M de NaCl com 1 g/L de pCS, em contacto com diferentes quantidades de UiO-66(Zr), 5 a 30 mg. Após 24 horas sob agitação a 37° C, as soluções foram divididas em duas metades. Uma metade foi submetida a filtração e centrifugação idêntica à isotérmica previamente mencionada, sendo o sobrenadante posteriormente analisado em HPLC. A outra

metade foi previamente aquecida a 100° C durante 5 minutos, para que o pCS adsorvido à proteína precipitasse, e só depois submetida à centrifugação e filtração seguida de análise.

## 4.6. Caracterização das Membranas

### 4.6.1. Instalação de Ultrafiltração

A Figura 20 ilustra a instalação de ultrafiltração utilizada no decorrer do trabalho.



**Figura 20** – Instalação de ultrafiltração utilizada. Legenda: {1} termómetro de mercúrio; {2} tanque de alimentação, {3} bomba, {4} amortecedor de pressão; {5} manómetros; {6} módulos de permeação; {7} vials; {8} válvula; {9} rotâmetro.

Esta instalação é constituída por um {1} termómetro de mercúrio onde se verifica a que temperatura ocorrem os ensaios; {2} um tanque de alimentação; {3} uma bomba trifásica (AS 71 B 4, ISGEV) que possui um dispositivo para auxiliar no controle da frequência da mesma, impondo a alimentação; {4} amortecedor de pressão; {5} dois manómetros (ARMANO Messtechnik GmbH); {6} cinco módulos de permeação (aço 316, Matsuura & Sourirajan) onde são colocadas as membranas a testar; {7} cinco vials para recolha dos permeados; {8} uma válvula para controlar a pressão em sintonia com o controlador da bomba e {9} um rotâmetro (10A1197A, Fischer Porter) utilizado para controlar o caudal.

Foi efetuada uma curva de calibração ao rotâmetro, medindo vários caudais em várias posições do mesmo, para que posteriormente se soubesse qual a posição em que este deveria encontrar para que se efetuassem ensaios a determinados caudais. Esta curva de calibração pode encontrar-se nos Anexos B.

Nesta instalação, as membranas são cortadas à medida dos módulos e colocadas sobre um papel de filtro, também este, ajustado à medida, que por sua vez é colocado sobre uma placa porosa de aço inoxidável que se encontra no interior de cada módulo. Na câmara superior de cada módulo existe um estágio cônico que aumenta a turbulência do fluido tangencial à membrana, minimizando a polarização da concentração na camada limite junto da interface fluida da membrana. A alimentação entra em cada módulo axialmente à membrana e sai radialmente ao longo do seu perímetro como retentado.

A área de permeação de cada membrana nesta instalação é de apenas 13,2 cm<sup>2</sup>. Isto permite que os volumes de permeado retirados da mesma durante curtos períodos de tempo sejam substancialmente inferiores aos 5 L de solução de alimentação utilizados em cada ensaio, não interferindo nas concentrações da alimentação. Assumindo que pode considerar-se esta operação de permeação em recirculação total, as flutuações na concentração da solução de alimentação não são significativas.

#### **4.6.2. Parâmetros de Caracterização e Ensaio de Permeação**

Após a instalação das membranas nos diversos módulos, procedeu-se à compactação das mesmas para minimizar as alterações estruturais durante os ensaios devido à pressão (97). A compactação foi feita a uma pressão de 4,8 bar, uma pressão 25% superior à maior pressão de trabalho nos ensaios de caracterização e a um caudal de 2 L/min durante 3 horas.

Apenas após a compactação foi possível passar à caracterização das membranas. Começou-se pela determinação da permeabilidade hidráulica das membranas,  $L_P$ , de acordo com a Equação (1), onde esta é o declive de uma reta originada através da representação gráfica entre o fluxo de permeação,  $J_P$ , e a pressão transmembranar. Assim, começou-se por determinar os fluxos de permeação através da Equação (8).

$$J_P = \frac{M_P}{t \times A} \quad (8)$$

Onde  $M_p$  é a massa de permeado,  $t$  o tempo de recolha e  $A$  a área de superfície da membrana. No entanto, o fluxo é um parâmetro que varia consoante a temperatura a que a solução da alimentação se encontra. Existe por isso a necessidade de corrigir o fluxo de permeação previamente obtido de acordo com a temperatura a que o sistema se encontra, de acordo com a equação (9).

$$J_{Corrigido} = \left( \frac{J_P}{0,901} \right) \times e^{(-6,96 + \left( \frac{2044}{273,15 + T} \right))} \quad (9)$$

Os ensaios efetuaram-se com um caudal de 2 L/min a diferentes pressões de 0,5 a 4 bar, onde os copos de recolha de permeado foram previamente pesados para que se conseguisse calcular qual a massa de permeado recolhida num determinado período de tempo. Para a pressão da instalação, foi considerada uma média entre as pressões indicadas nos barómetros à entrada e saída da instalação.

O seguinte parâmetro a calcular foi o MWCO. Foi construída uma curva de retenção através da determinação da rejeição aparente a diferentes PEGs, tendo sido utilizados PEGs com 2, 6, 10, 20 e 30 kDa (Merck). Os ensaios foram efetuados com uma concentração de 600 ppm de cada PEG e submetidos a 1 bar de pressão e a um caudal constante de 2 L/min. Após cada ensaio de permeação e recorrendo novamente a um HPLC, utilizando água ultrapura como fase móvel, foram calculados os fatores de rejeição de cada uma das membranas a cada um dos PEGs de acordo com a Equação (2). Posteriormente, o MWCO foi obtido através da interseção da reta  $y=1$  num gráfico  $\log \left( \frac{f_A}{1-f_A} \right)$  vs MWs.

Os últimos parâmetros determinados foram os coeficientes de rejeição aparente a NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e pCS. Estes ensaios foram conduzidos a uma pressão de 1 bar e um caudal de 2 L/min, sendo utilizadas soluções de alimentação com 600 ppm para o NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e 100 ppm para o pCS(98). Após a recolha dos permeados de NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, estes foram levados a um condutímetro (Com-B200E, Infitek), bem como amostras das soluções de alimentação, para que a sua condutividade fosse calculada, sendo esta automaticamente ajustada para 25° C pelo equipamento. Depois de se possuir os valores de condutividade a 25° C, os coeficientes de rejeição aparente foram calculados segundo a Equação (2). No ensaio do pCS, as recolhas e uma amostra da solução de alimentação foram analisadas em HPLC, recorrendo também à Equação (2) no cálculo do seu coeficiente de rejeição. As curvas de calibração da condutividade para o NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> estão disponíveis nos Anexos B.

Deve ser referido que antes de cada ensaio aumentou-se gradualmente a velocidade da bomba ajustando a pressão do sistema com a válvula do mesmo, deixando este a estabilizar durante 30 minutos antes serem recolhidos quaisquer permeados. No fim de cada ensaio abriu-se primeiramente a válvula na sua totalidade e só depois se baixou progressivamente a velocidade da bomba. Entre ensaios o sistema foi lavado com 15 L de água desionizada a um caudal de 2 L/min, seguida de uma recirculação de 5 L de água desionizada durante 15 minutos com o maior caudal possível da instalação.

## 5. Resultados e Discussão

### 5.1. Caracterização do UiO-66(Zr)

A caracterização do UiO-66(Zr) começou pela obtenção do seu espectro FTIR-ATR, seguida da análise TGA. Os resultados destas caracterizações podem ser observados nas Figuras 21 a 23.

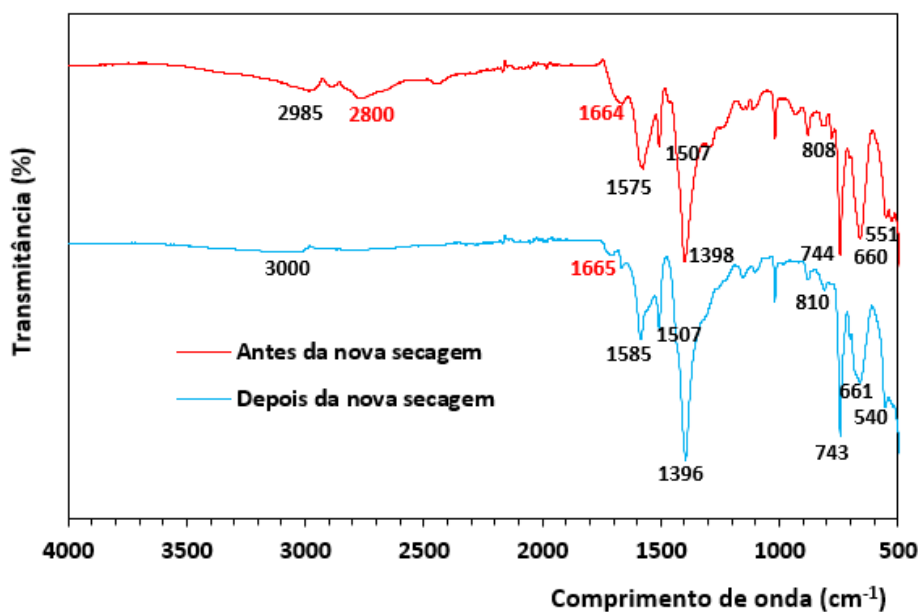
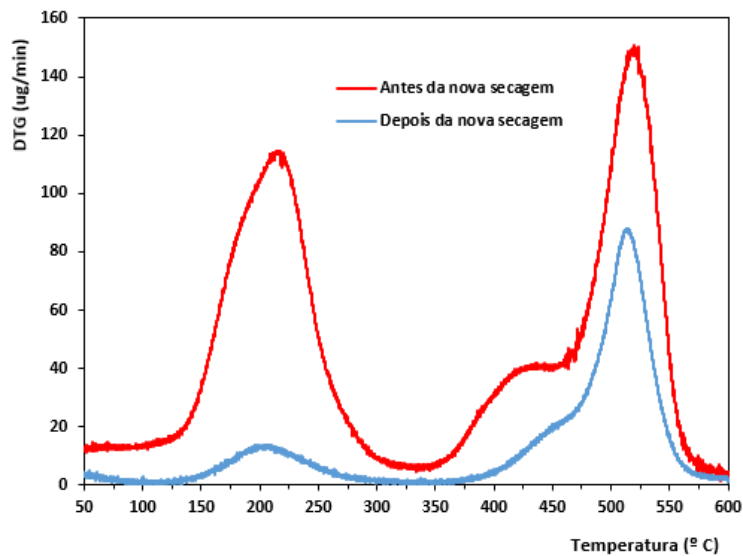
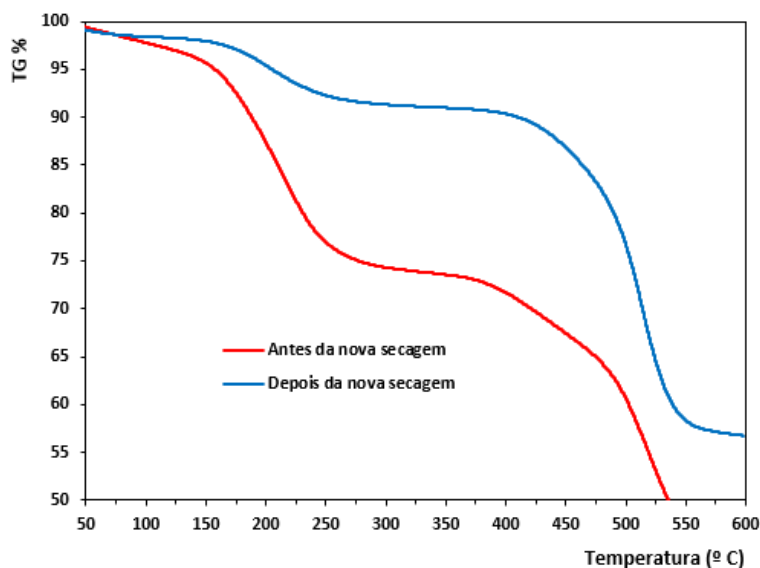


Figura 21 - Espectro FTIR-ATR do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem.



**Figura 22** - Curvas DTG do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem.



**Figura 23** - Curvas TG do UiO-66(Zr) antes e depois da nova secagem.

Nas Figuras acima retratadas, estão presentes dois resultados para cada uma das primeiras caracterizações ao MOF. Um resultado FTIR-ATR e curva DTG antes e um resultado FTIR-ATR e curva DTG depois de uma nova secagem ao UiO-66(Zr). Esta secagem mostrou-se necessária, uma vez que a análise do primeiro espectro e curva DTG revelaram a presença de DFM na amostra. A segunda secagem foi efetuada a 160° C, durante 72h.

No primeiro espectro FTIR-ATR acima retratado, é possível identificar várias bandas características do MOF em questão. Da direita para a esquerda, a 2985  $\text{cm}^{-1}$  aparece a banda de vibração do estiramento das ligações O-H, dos grupos hidroxilo presentes nos ligandos BDC; a 1575  $\text{cm}^{-1}$  aparece a banda de vibração do estiramento

das ligações O-C-O assimétricas dos ligandos BDC; a  $1507\text{ cm}^{-1}$  aparece a banda que representa a vibração do estiramento das ligações C=C dos anéis de benzeno presentes nas moléculas BDC que por sua vez, encontram-se ligadas à unidade estrutural  $[\text{Zr}_6\text{O}_4(\text{OH})_4(\text{CO}_2)_n]$  formada pela coordenação de BDC com os nódulos de Zr; a  $1398\text{ cm}^{-1}$  aparece a banda de vibração do estiramento das ligações O-C-O simétricas dos ligandos BDC; a  $808\text{ cm}^{-1}$  e  $660\text{ cm}^{-1}$  aparecem as bandas responsáveis pela combinação das vibrações dos estiramentos das ligações C=C, vibrações de flexão das ligações O-H e vibrações de flexão O-C-O nos ligandos BDC; a  $744\text{ cm}^{-1}$  aparece a banda responsável pelas vibrações de flexão das ligações C-H fora do plano; a banda com menor comprimento de onda,  $551\text{ cm}^{-1}$  corresponde às vibrações dos estiramentos das ligações Zr-O dos nódulos de Zr (99,100). Existem, no entanto, duas bandas retratadas a vermelho no espectro. A  $2800\text{ cm}^{-1}$  obteve-se a banda correspondente às vibrações do estiramento de ligações N-H pertencentes ao DMF (solvente utilizado na síntese do MOF). Por fim, a  $1664\text{ cm}^{-1}$  volta a aparecer uma banda pertencente ao DMF, desta vez representativa das vibrações do estiramento das ligações C=O presentes no mesmo (99). A presença destes dois picos no espectro de FTIR-ATR da amostra de MOF, revelou a existência de DMF nos poros do mesmo.

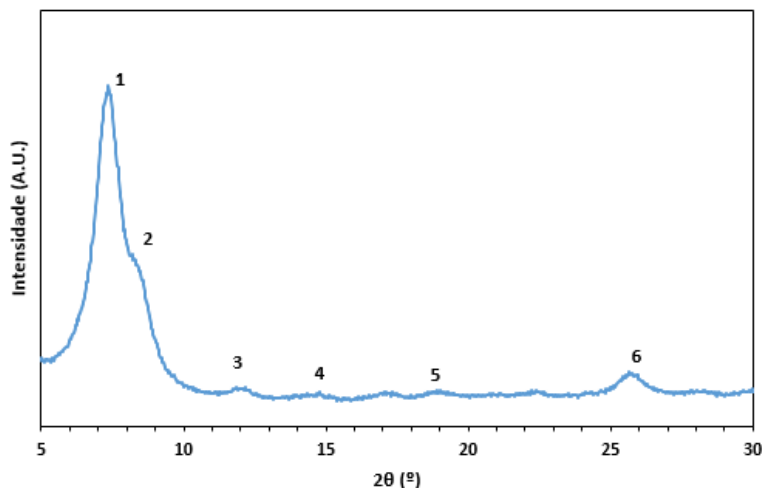
Após a nova secagem a  $160^\circ\text{ C}$ , observa-se que as principais bandas correspondentes ao UiO-66(Zr) mantêm-se inalteradas no espectro, revelando que o aquecimento não impactou as ligações do mesmo. Observa-se ainda que no que toca às bandas correspondentes a DMF, que estas diminuíram consideravelmente de amplitude, indicando assim que a quantidade de DMF, nos poros do UiO-66(Zr), é substancialmente inferior à observada anteriormente.

Por outro lado, através da análise das primeiras curvas da análise TGA das Figuras 22 e 23, observa-se que existe uma grande perda de massa (sensivelmente 25%) quando a amostra se encontra entre os  $150$  e os  $250^\circ\text{ C}$ . Isto reforça a ideia de que DMF estaria ainda presente na amostra. O ponto de ebulição do DMF é de  $153^\circ\text{ C}$  (101), o que justificaria a perda substancial de massa que existe, quando a amostra é aquecida acima desta temperatura. A segunda perda de massa considerável encontra-se entre os  $450$  e os  $550^\circ\text{ C}$ . Nesta gama de temperaturas ocorre a queima dos ligandos BDC, levando à decomposição do UiO-66(Zr) (71).

Após a nova secagem, a passo que na primeira análise TGA, existia uma grande quantidade de amostra que acabava por se decompor numa gama de temperaturas entre  $150$  e os  $250^\circ\text{ C}$ , nesta segunda análise, a quantidade de amostra que se decompõe para a mesma gama de temperaturas é bastante inferior, ou  $\sim 10\%$ . Conclui-

se assim que a nova secagem se revelou eficaz no que toca à remoção de DMF do UiO-66(Zr), deixando apenas uma quantidade residual do mesmo presente.

Seguidamente foi efetuada uma análise XRD. Esta encontra-se ilustrada na Figura 24.



**Figura 24** – Difractograma do UiO-66(Zr) obtido através da técnica XRD.

Todos os picos do difractograma obtido foram comparados com os picos teóricos, de acordo com os seus planos cristalográficos, do UiO-66(Zr) (102), com o intuito de entender e compreender a cristalinidade do MOF sintetizado. A Tabela 4 demonstra quais as gamas de  $2\theta$  em que se esperam encontrar os picos teóricos do UiO-66(Zr), bem como os valores experimentais obtidos.

**Tabela 4** - Picos teóricos e experimentais e respetivos planos cristalográficos do UiO-66(Zr) (102).

Pico	$2\theta$ (°) Teórico	$2\theta$ (°) Experimental	Plano Cristalográfico
1	7,2 – 7,7	7,3	(111)
2	8,4 – 8,8	8,5	(002)
3	11,9 – 12,3	11,9	(022)
4	14,7 – 15,1	14,8	(044)
5	16,9 – 17,2	17,1	(006)
6	25,6 – 25,9	25,7	(115)

O que se observa a partir da Figura 24 e Tabela 4, é que o MOF sintetizado aparenta ser parcialmente amorfo e não totalmente cristalino. Apesar de todos os seus picos se apresentarem dentro da gama expectável para os mesmos, nenhum deles se encontra bem definido. Além disso, foi ainda calculada a largura total a meio-máximo (FWHM em  $2\theta$ ), obtendo-se um valor de 1,57. A FWHM trata-se de um parâmetro indicativo do tamanho e da qualidade do cristal (103). Quanto menor for o valor de FWHM, maior será o cristal. Comparando o valor de FWHM do MOF sintetizado do presente trabalho experimental, com o mesmo MOF sintetizado numa outra TFM com o valor de 0,227 (104), constata-se que o primeiro apresenta um valor significativamente superior. Isto poder-se-á vir a tornar (ou não) num problema, aquando da adsorção do pCS. Falando em particular do primeiro pico do difractograma, o alargamento do mesmo pode ter que ver com a existência de defeitos cristalinos de alta densidade tais como deslocações (89).

## 5.2. Membranas

Após o *casting* do primeiro batch de membranas, observou-se que estas não apresentavam a mesma morfologia entre si. A membrana com baixo teor de MOF, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2%, apresentou um filme liso e totalmente homogéneo, a passo que as membranas CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 4% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 6% apresentaram aglomerados deste material por toda a sua superfície. Observa-se ainda que com o aumento de MOF na composição das membranas, o filme resultante tende a apresentar fissuras cada vez mais nítidas. A Figura 25 retrata a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 6% do primeiro batch.

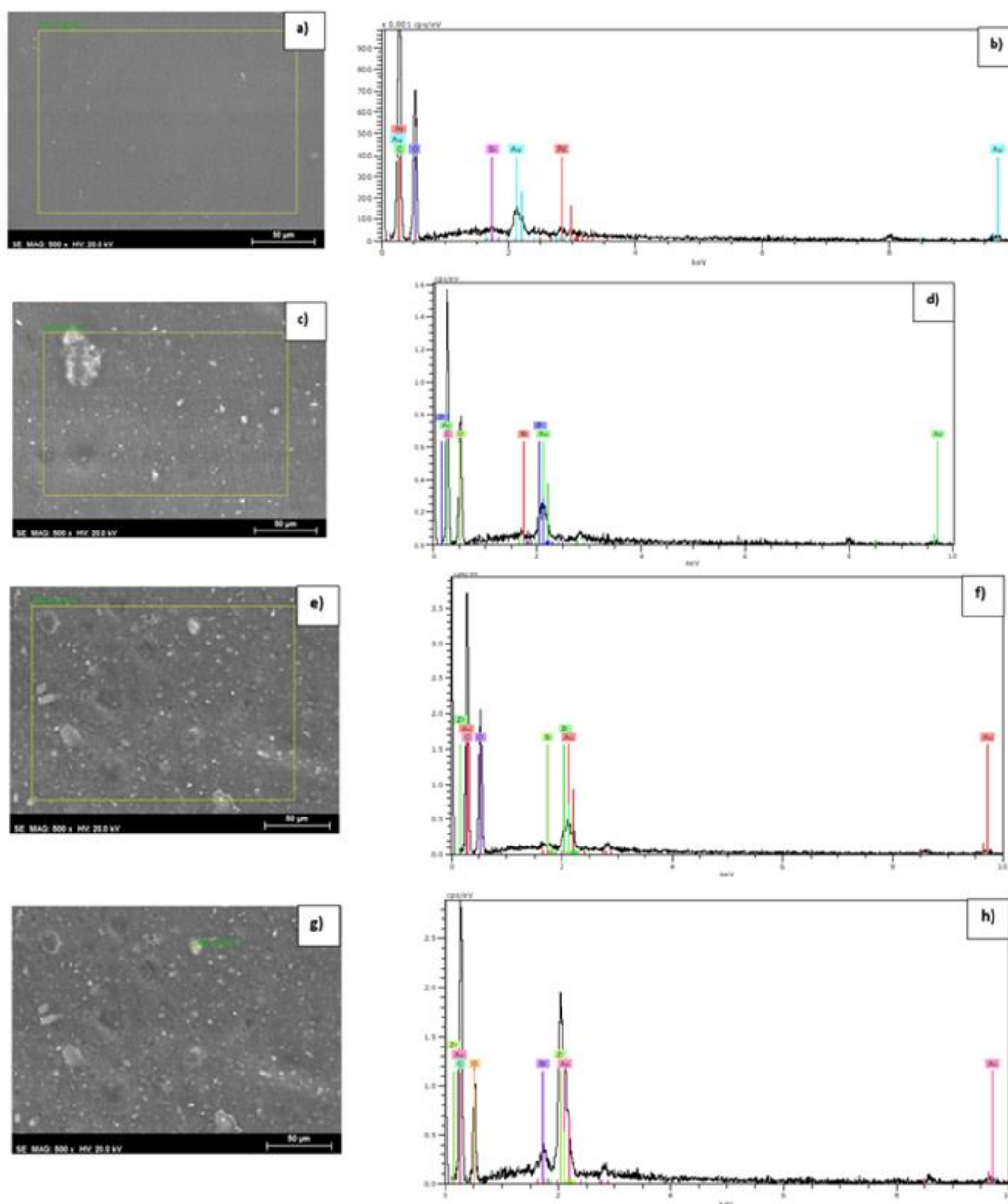


**Figura 25** – Demonstração da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 6% do primeiro *batch* de membranas.

Por esta razão, decidiu-se descartar estas membranas e sintetizar novas com concentrações de 1 a 2,5%, conforme descrito anteriormente na Tabela 3. Neste segundo *batch* de membranas, obtiveram-se sempre filmes lisos e sem lacerações. Por esta razão, estas foram as membranas empregues no restante trabalho experimental.

### 5.3. Análise SEM-EDS

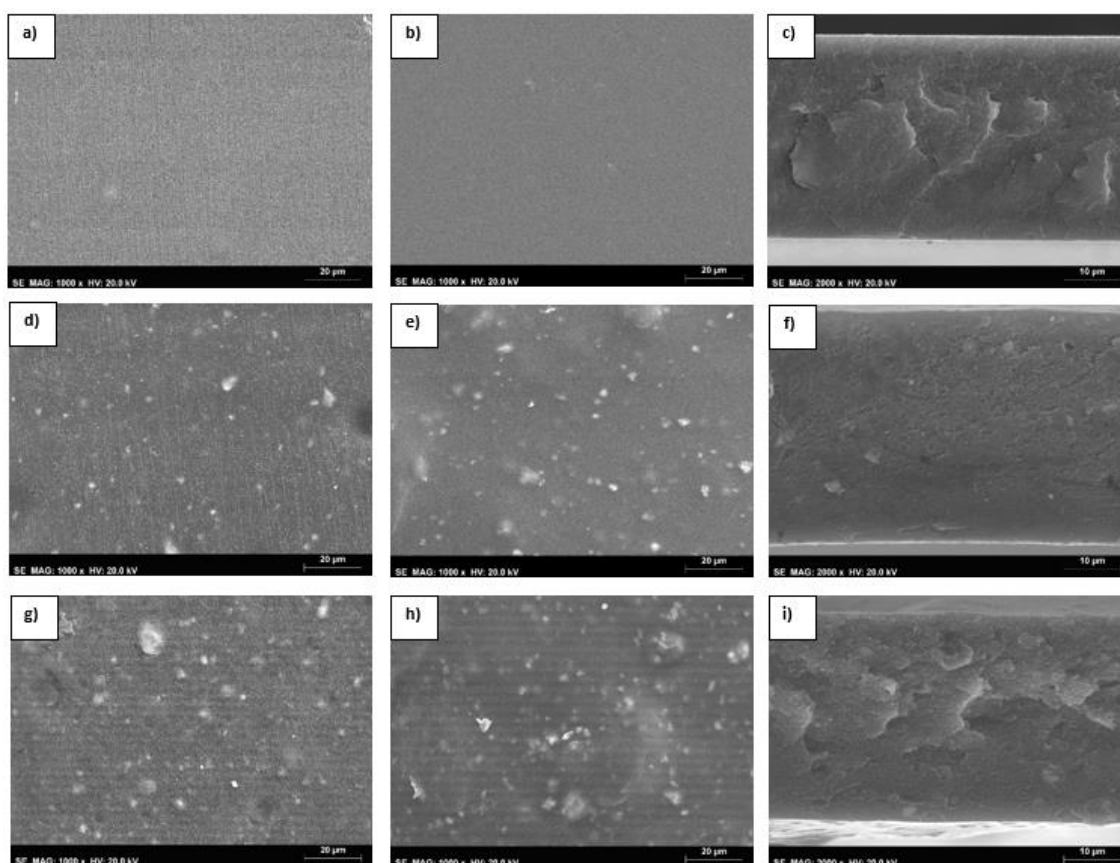
A Figura 26 revela os resultados obtidos através da análise EDS, bem a Tabela 5. Na Figura 27 encontram-se representados os resultados obtidos na análise SEM.



**Figura 26** – Resultados da análise EDS; Análise ao bottom da CA22/SiO<sub>2</sub> e seu espectro, a) e b), respetivamente; Análise ao bottom da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% e seu espectro, c) e d), respetivamente; Análise ao bottom da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, e) e f), respetivamente; Análise a um aglomerado de MOF na CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, g) e h), respetivamente.

**Tabela 5** - Resultados EDS quantitativos de Zr em cada membrana (m/m %).

Membrana	% Zr <i>bottom</i>	% Zr <i>top</i>	Média
CA22/SiO <sub>2</sub> /	0	0	0
CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1%	2,32	0,71	1,52
CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1,5%	1,65	1,06	1,36
CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2%	1,23	1,47	1,35
CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5%	2,12	1,8	1,99



**Figura 27** - Imagens SEM obtidas com uma amplitude de 1000x (*bottom* e *top*) e 2000x (*cs*), respectivamente; CA22/SiO<sub>2</sub> - a) a c); CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% – d) a f); CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% – g) a i). Todas as imagens da *cs* estão invertidas (*bottom* em cima).

Começando pela Figura 26, observa-se que todos os espectros apresentam picos de ouro e paládio, algo esperado, já que como dito anteriormente, as amostras foram ‘revestidas por pulverização com uma fina película de paládio e ouro’. É também possível observar a ausência de Zr na CA22/SiO<sub>2</sub>, indicando assim a ausência de MOF. É também importante referir, que apesar do indicador de sílica (Si) estar presente no

espectro EDS da CA22/SiO<sub>2</sub>, não foi possível quantificar o elemento, uma vez que a quantidade de TEOS e consequentemente de Si presente nas membranas é bastante reduzida. Por outro lado, nas CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, já é possível observar o pico de Zr, indicando assim a presença de MOF na membrana.

A mais, como forma de identificar o MOF nas imagens SEM, foi efetuada uma análise EDS a um dos aglomerados brancos que se pode observar na Figura 26 g). Comparando o espectro dessa análise, com o espectro mais 'geral' da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, observa-se que o primeiro apresenta um pico muito maior de Zr. Isto confirma uma maior concentração deste elemento naquela região, indicando que os aglomerados brancos visíveis nas imagens são, de facto, UiO-66(Zr). Nesse mesmo espectro, Figura 26 h), é, no entanto, possível observar um pico relativamente elevado de Si, quando comparado aos restantes, demonstrando que este elemento se adsorve ao MOF. As restantes análises EDS obtidas durante este trabalho experimental encontram-se nos Anexos.

Através da Tabela 5, é possível observar que, de forma geral, existe uma maior quantidade de Zr (e consequentemente de MOF) nas camadas suporte das membranas, relativamente às suas camadas ativas. No entanto, não se pode afirmar que este é um resultado completamente fidedigno. Isto porque, apesar dos filmes dos quais as amostras foram retiradas para esta análise apresentarem uma morfologia uniforme, é possível que nas pequenas secções de membrana cortada, o mesmo não se observe. Chega-se a esta conclusão ao observar que a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, segundo a análise feita, demonstra uma maior % de Zr na sua constituição na face *bottom* da mesma que a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, apesar da segunda possuir mais 1,5% de MOF na sua constituição.

Observando a Figura 27, é possível concluir que as morfologias de ambas as superfícies da CA22/SiO<sub>2</sub> são muito diferentes das CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, devido à ausência de MOF na primeira. A principal diferença entre as superfícies da CA22/SiO<sub>2</sub> é a prevalência de sílica no *bottom* da mesma, proveniente do TEOS. Isto é algo que apenas é possível constatar pela observação das imagens com maior ampliação, visto que pela análise EDS não existe quantidade de Si suficiente para tirar esta conclusão. É também possível observar um maior número de aglomerados de MOF em ambas as superfícies da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, comparativamente com a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, o que seria de

esperar, visto que a primeira possui 2,5% deste composto na sua constituição, face ao 1% da segunda. As restantes imagens SEM obtidas encontram-se nos Anexos C.

## 5.4. Ensaio de Adsorção

### 5.4.1. UiO-66(Zr) como Adsorvente

Nas Tabelas 6 e 7 estão representados todos os valores de adsorção, Q, bem como a % de pCS adsorvido, respetivamente, para cada ponto de todas as isotérmicas realizadas na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente. A Figura 28 retrata as isotérmicas de adsorção na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente para o UiO-66(Zr), bem como as membranas.

**Tabela 6** - Adsorção, Q (mg/gUiO-66(Zr)), na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente.

Concentração de pCS	UiO-66(Zr)	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1,5%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5%
0,01	0,75	1,94	2,06	1,64	1,62
0,025	2,45	4,39	1,05	1,45	0,80
0,05	7,52	10,54	-	5,86	4,19
0,1	24,19	10,89	9,39	8,22	7,20
0,15	36,64	8,15	7,70	9,28	6,63

Tabela 7 - % de pCS adsorvido na presença de UiO-66(Zr) como único adsorvente.

Concentração de pCS (g/L)	UiO-66(Zr)	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 1,5%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2%	CA22/SiO <sub>2</sub> /UiO-66(Zr) 2,5%
0,01	4,52	11,62	12,35	9,83	9,69
0,025	5,89	10,54	2,53	3,47	1,93
0,05	9,03	12,64	-	7,03	5,02
0,1	14,52	6,53	5,63	4,93	4,32
0,15	14,66	3,26	3,08	3,71	2,65

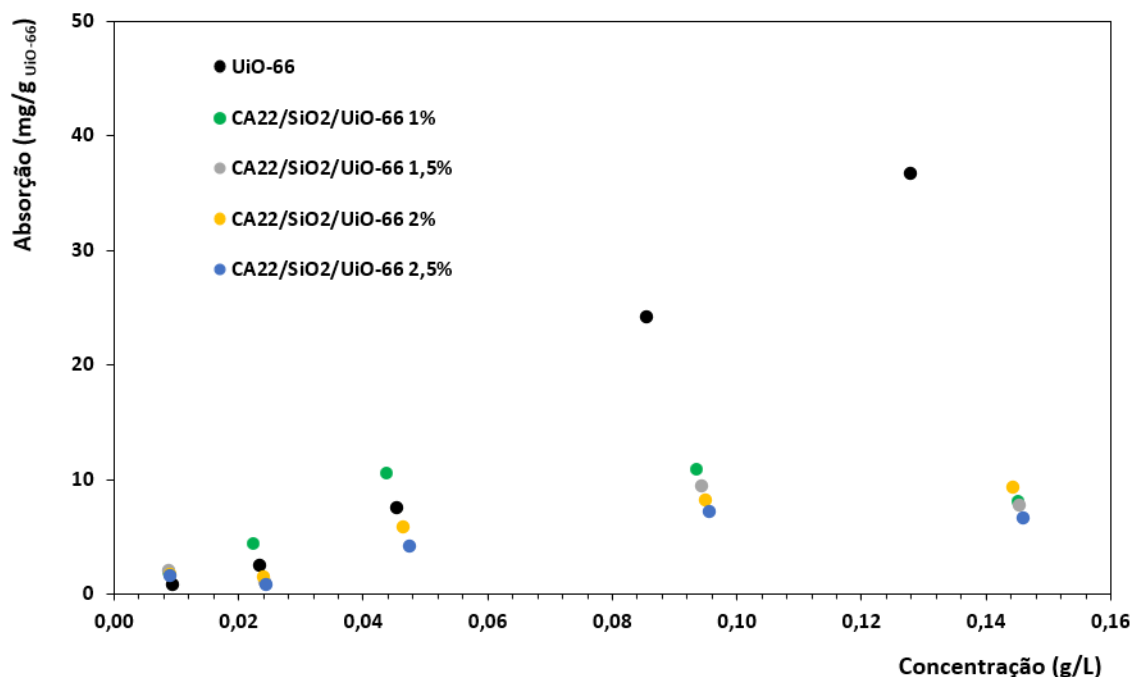


Figura 18 – Isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) e membranas com UiO-66(Zr).

Começando pela análise dos resultados do UiO-66(Zr) livre, aquilo que se observa é que à medida que se aumenta a concentração de pCS presente na solução, o MOF tende a adsorver mais toxina. Isto conclui-se uma vez que os seus valores de adsorção aumentam, bem como a % de pCS adsorvida pelo mesmo, com o aumentar da concentração de pCS. Observa-se também através da Figura 28, que as 1,5 mg de MOF presentes, ainda não alcançaram a saturação, uma vez que na isotérmica resultante deste teste não é alcançado um limite. Nota-se, no entanto, que a % de pCS

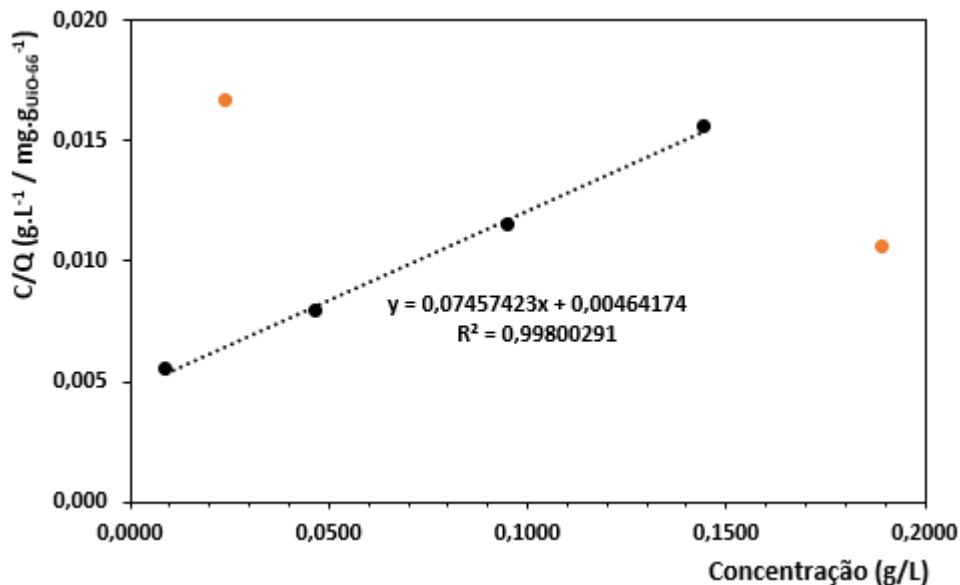
adsorvido de 0,1 g/L para 0,15 g/L não aumenta na mesma proporção que para concentrações menores, indicando que para concentrações não muito superiores à maior aqui testada, este pode vir a apresentar um limite de saturação.

Analisando os resultados das membranas impregnadas com o UiO-66(Zr), aquilo que se observa de forma geral, é que a quantidade de pCS que as mesmas adsorvem tende a aumentar para concentrações mais baixas da toxina, atingindo-se para o valor de cerca de 0.045 g/L um patamar na adsorção. Isto é nítido quando se olha para o comportamento das isotérmicas resultantes deste teste, onde todas as membranas apresentam um limite de adsorção por volta das 10 mg/g<sub>UiO-66(Zr)</sub>. É possível que este fenómeno aconteça uma vez que o MOF presente na matriz das membranas não se encontra completamente disperso entre si, mas sim em grande parte aglomerado, criando pequenos 'grãos' de MOF por todo o filme. Isto pode resultar numa 'disponibilidade' inferior pela parte do UiO-66(Zr) para se ligar ao pCS, acabando o segundo apenas por se adsorver às partículas de MOF que se encontram à superfície de cada aglomerado, resultando num limite de saturação mais precoce face ao MOF livre.

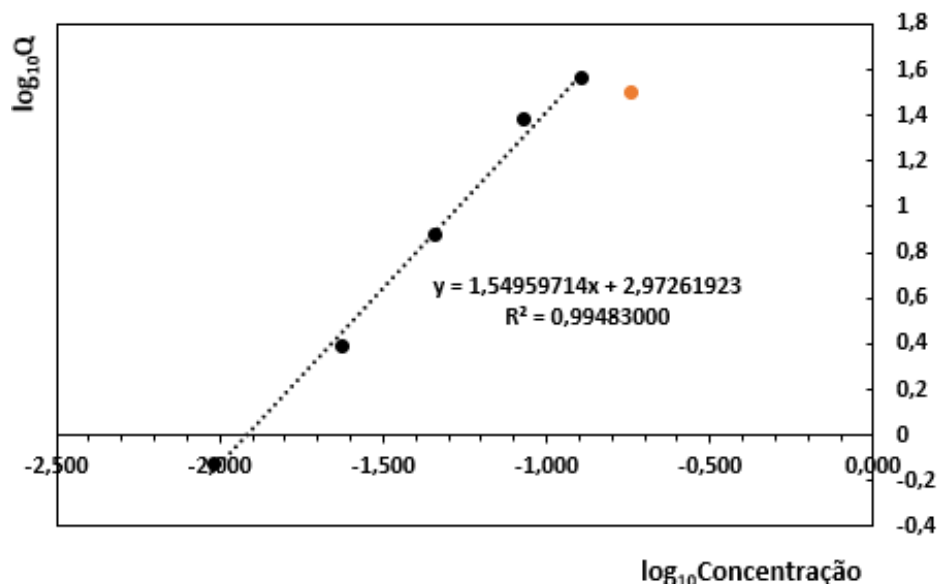
Observa-se ainda, que, de forma geral, membranas com um maior teor de MOF não apresentam necessariamente uma maior capacidade de adsorção face a membranas com uma menor quantidade de UiO-66(Zr) na sua constituição. Isto pode acontecer devido ao facto de membranas com um menor teor de UiO-66(Zr) na sua matriz apresentarem menos e/ou menores aglomerados deste material, levando a que estas partículas se encontrem mais dispersas pelo filme, resultando numa maior disponibilidade de MOF e de locais onde o pCS se consiga adsorver.

Depois, é importante lembrar que para estes ensaios utilizaram-se quantidades de cada membrana que no seu todo possuísem 1,5 mg de UiO-66(Zr). Comparando a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, com a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, por exemplo, a primeira tem menos MOF na sua matriz, o que resulta numa maior quantidade de membrana inserida em cada *vial* para se alcançar as tais 1,5 mg. Assim, quanto menor o teor de UiO-66(Zr), maior a massa necessária de membrana em cada ensaio. Caso o pCS fique adsorvido, ainda que em muito pouca quantidade, à própria matriz da membrana, uma maior quantidade de membrana à qual a toxina se pode adsorver significa que essa mesma membrana irá possuir uma adsorção superior a uma outra com um maior teor de MOF.

Após a obtenção das isotérmicas, verificou-se que para as membranas com o UiO-66(Zr) se atingiu o limite de adsorção, tendo-se por isso aplicado o modelo de Langmuir. Para a isotérmica do MOF livre não se atingiu o limite de adsorção, pelo que se aplicou o modelo de Freundlich. Para isso, e dando como exemplo a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-2% e o UiO-66(Zr) livre, foram traçados os gráficos retratados nas Figuras 29 e 30, cada um retratando o modelo de Langmuir e Freundlich, respetivamente.



**Figura 29** - Modelo de Langmuir aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-2%. Pontos laranjas são excluídos.



**Figura 30** - Modelo de Freundlich aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção do UiO-66(Zr). Pontos laranjas são excluídos.

Observando as Figuras 29 e 30, para as isotérmicas das membranas retiraram-se os parâmetros  $K_L$  e  $Q_{max}$  de acordo com a equação linearizada (10), para a isotérmica

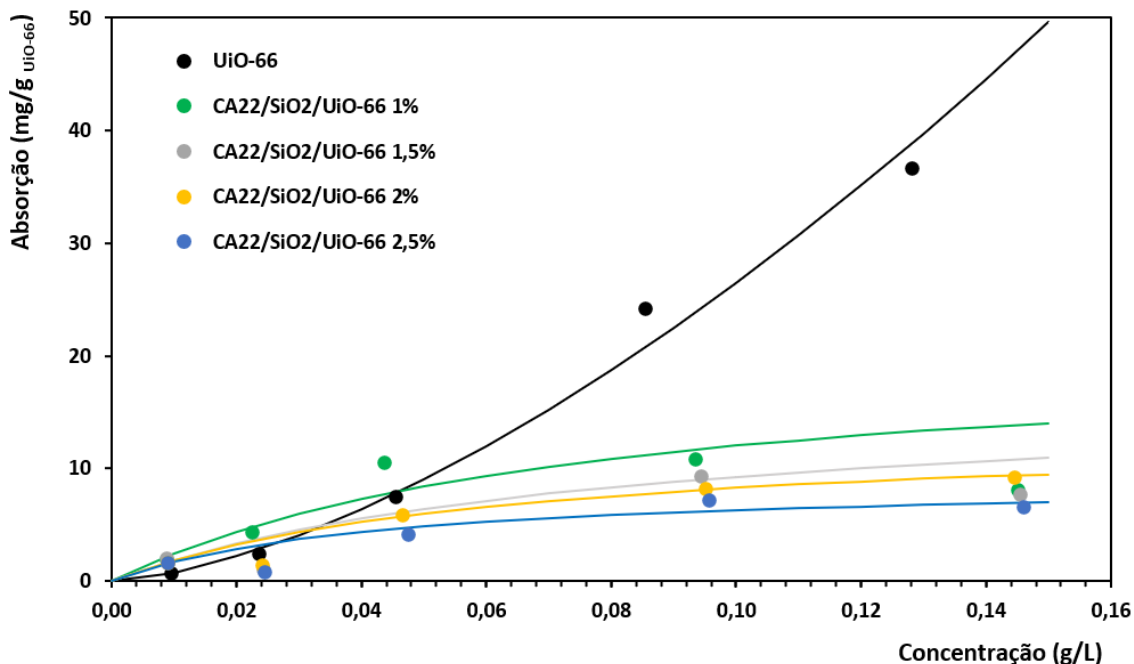
do UiO-66(Zr) retiraram-se os parâmetros  $K_F$  e  $1/n$  de acordo com a equação linearizada (11). O Para as outras membranas foi seguido o mesmo procedimento, podendo-se encontrar as equações de cada uma delas nos Anexos D. Os parâmetros podem ser consultados na Tabela 8, encontrando-se retratado na Figura 31 as isotérmicas de adsorção com o ajuste dos respectivos parâmetros.

$$\text{Langmuir} \quad \frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{Q_{max}K_L} + \frac{1}{Q_{max}}C \quad (10)$$

$$\text{Freundlich} \quad \ln(Q_e) = \ln(K_F) + \frac{1}{n} \ln(C_e) \quad (11)$$

**Tabela 8** - Parâmetros de Freundlich e de Langmuir para o pCS exposto a UiO-66(Zr) e membranas com UiO-66(Zr).

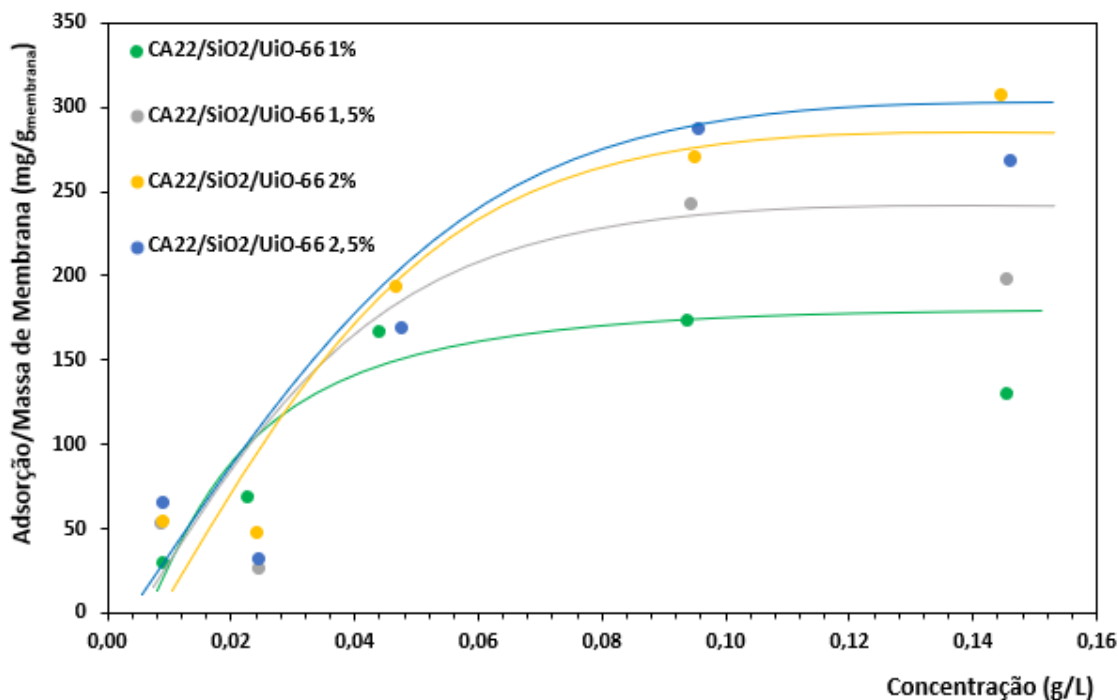
	Freundlich		Langmuir	
	$K_F$ ((mg/g)(L/mg) <sup>1/n</sup> )	1/n	$K_L$ (g/L)	$Q_{max}$ (mg/g <sub>UiO-66(Zr)</sub> )
UiO-66(Zr)	938,90	1,55	-	-
CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1%	-	-	13,14	21,14
CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1,5%	-	-	12,12	16,91
CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2%	-	-	16,07	13,41
CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2,5%	-	-	23,55	8,96



**Figura 31** – Isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) livre e membranas híbridas com UiO-66(Zr) (1%, 1,5%, 2% e 2,5%), com o ajuste dos respectivos parâmetros.

Os parâmetros evidenciados na Tabela 8 e Figura 31 indicam que as membranas com menor teor de UiO-66(Zr) na sua composição apresentam a maior capacidade de adsorção por unidade de massa de MOF. Isto constata-se ao observar-se que o  $Q_{\max}$  diminui à medida que se aumenta o teor de UiO-66(Zr) nas membranas. Esta observação, estará relacionada com o facto de que nas membranas com maior teor de UiO-66(Zr), este se encontra mais aglomerado, levando a que haja menos área total de MOF para adsorção. Conclui-se também que a afinidade das membranas com o pCS pouco varia, uma vez que ambas possuem o mesmo tipo de MOF.

Os dados da Tabela 8 e Figura 31 foram obtidos para a mesma quantidade de MOF, 1,5 mg, o que implica ter massas diferentes de membrana consoante o seu teor em UiO-66(Zr). Na Figura 32 está representada a adsorção por massa de membrana usada.



**Figura 32** Variação da adsorção de pCS por unidade de massa de membrana e de UiO-66(Zr) para as diferentes membranas estudadas.

Como espectável, as membranas com maior teor de MOF, são as que apresentam uma maior adsorção por massa de membrana, visto terem maior quantidade deste material na sua composição.

#### 5.4.2. BSA como Adsorvente

Na Tabela 9 estão representados todos os valores de adsorção, Q, bem como a % de pCS adsorvido para cada ponto da isotérmica realizada na presença de BSA como único adsorvente. A Figura 33 retrata a isotérmica de adsorção obtida, comparando-a às restantes.

**Tabela 9** - Adsorção Q (mg/gUiO-66(Zr)) e % de pCS adsorvido na presença de BSA como único adsorvente.

Concentração de pCS	Q	% adsorvida
0,01	0,20	100,00
0,025	0,48	95,778
0,05	0,92	92,04
0,1	1,78	89,14
0,15	2,61	86,83

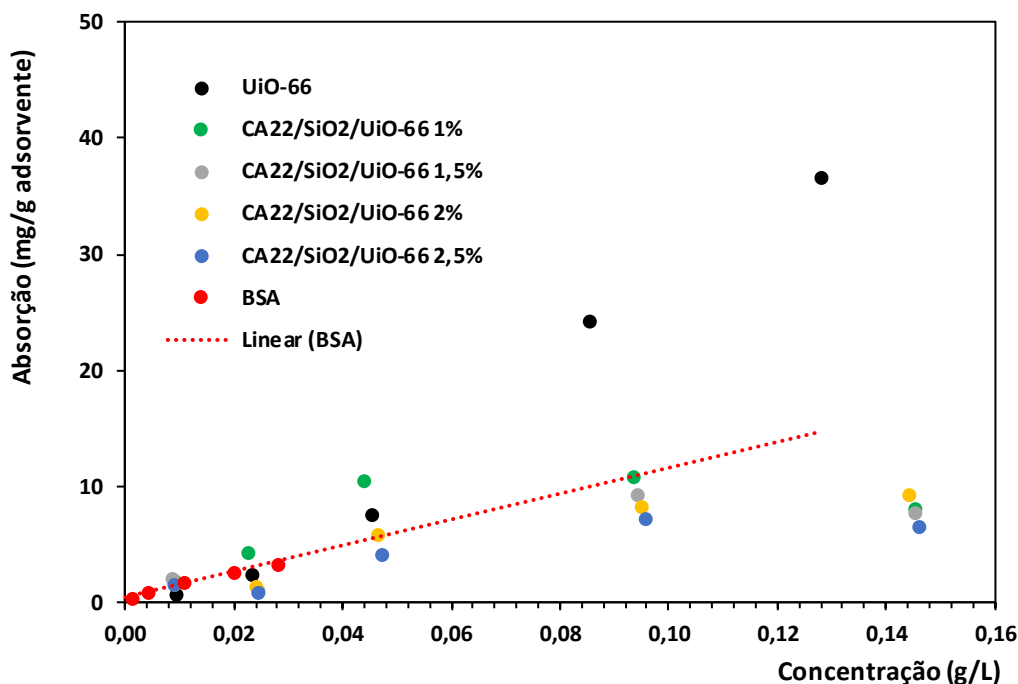


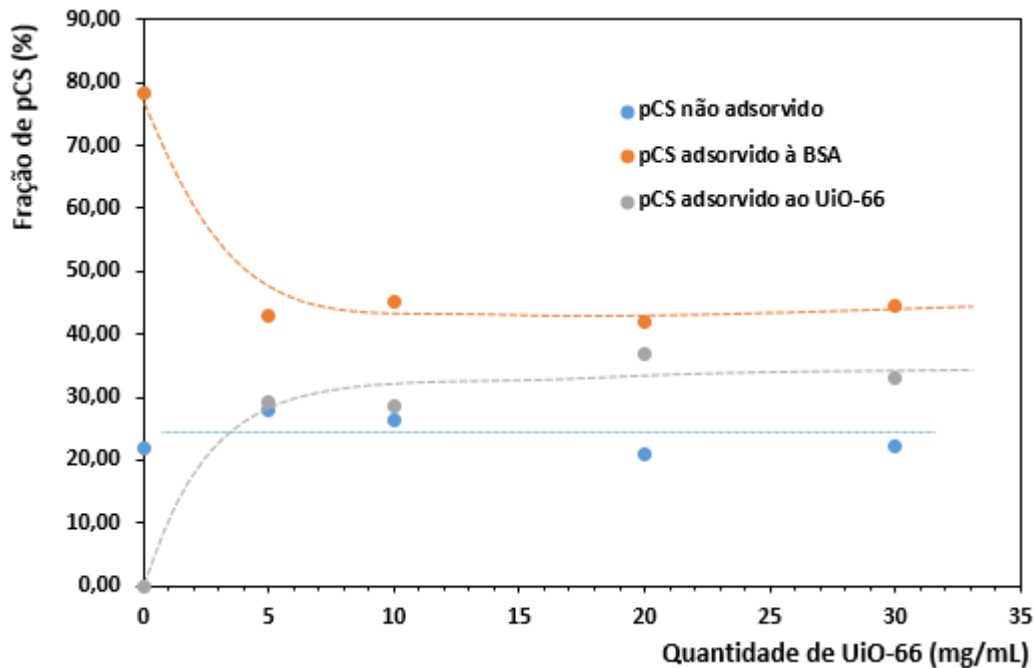
Figura 33 – Comparação entre as isotérmicas de adsorção do pCS na presença de UiO-66(Zr) e membranas com a BSA.

Comparando os resultados apresentados na Tabela 9 com os resultados do UiO-66(Zr) livre, verifica-se que a BSA apresenta uma % de adsorção de pCS é muito superior ao MOF. Isto acontece, uma vez que foram utilizadas cerca de 33x mais BSA do que UiO-66(Zr) nos ensaios, para que se trabalhasse nas concentrações reais de albumina no sangue. Assim, por existir em muito maior quantidade, esta acaba por conseguir adsorver muito mais pCS.

O cálculo dos parâmetros de Freundlich para a isotérmica da BSA resultaram em um  $K_F$  de 35,10  $((\text{mg/g})(\text{L/mg})^{1/n})$  e num  $1/n$  de 0,76, estes valores mostram que a BSA possui uma capacidade de adsorção inferior à do MOF, já que o seu  $K_F$  é cerca de 25x inferior ao do UiO-66(Zr). Os modelos matemáticos aplicados para a BSA podem ser consultados nos Anexos D.

#### 5.4.3. UiO-66(Zr) e BSA como Adsorventes

A Figura 34 estão representados os resultados obtidos no teste de competitividade entre o UiO-66(Zr) e a BSA.



**Figura 34** - Estudo de adsorção de pCS na presença de UiO-66(Zr) e BSA.

A análise da Figura 34 mostra a competitividade existente entre o UiO-66(Zr) e a BSA no que toca à adsorção de pCS. Observa-se que na ausência de MOF, cerca de 80% do pCS encontra-se adsorvido à proteína. Este número baixa para uma gama entre os 40% e os 50% quando o UiO-66(Zr) é introduzido no meio. Observa-se também que na presença de MOF, cerca de 30% a 35% do pCS encontra-se adsorvido ao mesmo, existindo sempre uma quantidade de 20 a 25% desta toxina que nunca chega a ser adsorvida por nenhum dos adsorventes. Assim, 5 mg/mL de UiO-66(Zr) conseguiram reduzir a quantidade de pCS adsorvido à BSA para metade, dos ~80% para os ~40%.

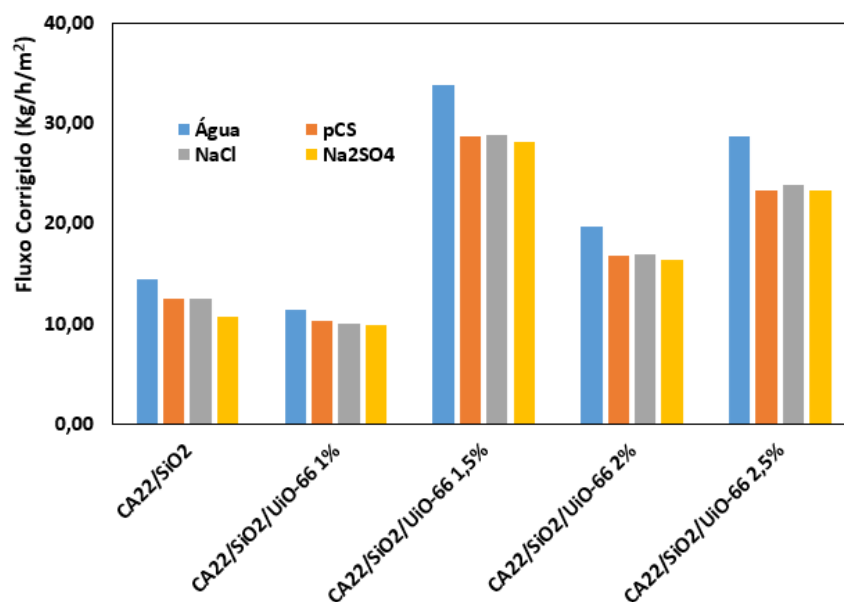
É também possível concluir que a adição de maiores quantidades de MOF no sistema, pouco influenciam a quantidade de pCS que se adsorve ao mesmo, uma vez que o limite de adsorção parece ser atingido para 5 mg/mL de UiO-66(Zr), uma vez que a fração de pCS que se adsorve ao MOF não aumenta muito mais do que 30%. A adição de mais MOF também não influencia a quantidade de pCS não adsorvido existente no meio. Isto é um resultado importante quando se tem em consideração a toxicidade deste material, sendo por isso necessário a utilização da menor quantidade possível de UiO-66(Zr) que ofereça o melhor resultado possível.

## 5.5. Ensaio de Permeação das Membranas

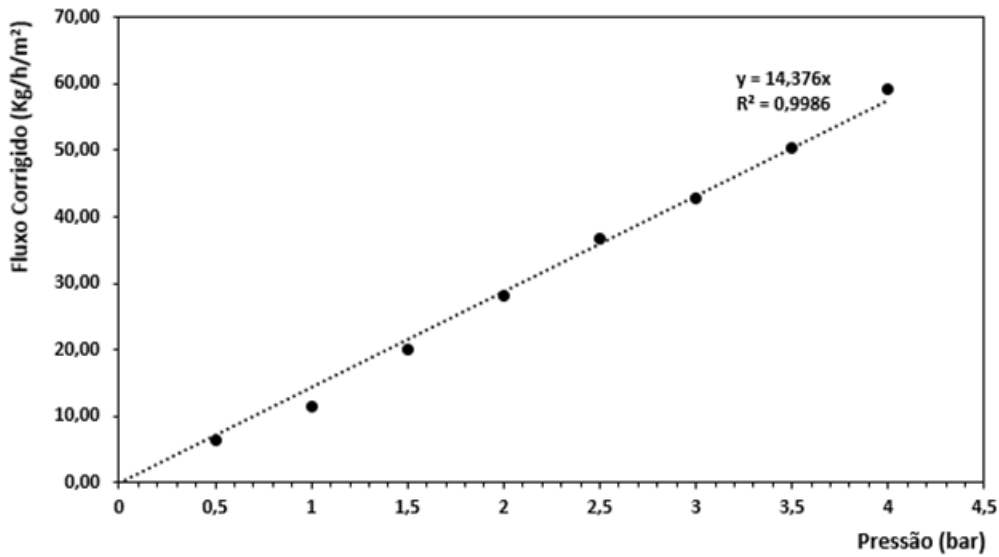
A Tabela 10 e Figura 35 resumam os resultados obtidos durante a caracterização e ensaios de permeação com pCS das membranas. É ainda possível observar a forma como foram calculados os diversos parâmetros para a CA22/SiO<sub>2</sub> nas Figuras 36 e 37 no que toca à sua permeabilidade hidráulica e MWCO, respetivamente, sendo possível consultar os gráficos das restantes membranas nos Anexos E.

**Tabela 10** - Parâmetros obtidos durante a caracterização das membranas.

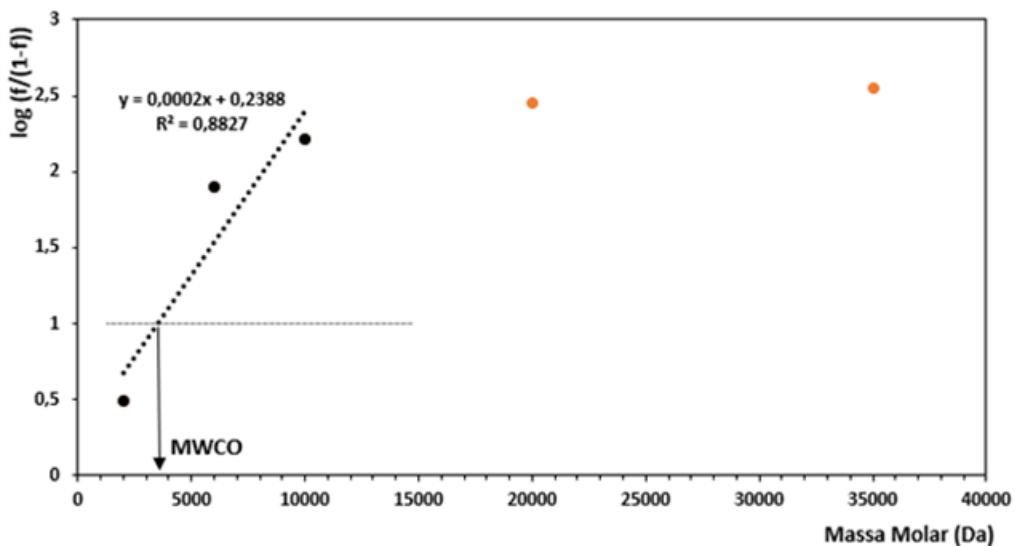
Parâmetros	CA22/SiO <sub>2</sub>	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 1,5%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2%	CA22/SiO <sub>2</sub> / UiO-66(Zr) 2,5%
<b>L<sub>P</sub></b> <b>(Kg/bar/h/m<sup>2</sup>)</b>	14,38	11,41	33,82	19,72	28,65
<b>MWCO</b>	3527	7491	9431	12407	14688
<b>f (NaCl)</b>	3%	7%	3%	4%	3%
<b>f (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)</b>	8%	13%	5%	8%	5%
<b>f (pCS)</b>	25%	29%	20%	24%	22%



**Figura 35** – Variação do fluxo de água e das restantes soluções aquosas em função da solução em estudo para todas as membranas a 1 bar.



**Figura 36** – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO<sub>2</sub>.



**Figura 37** – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO<sub>2</sub>. Pontos laranjas são excluídos.

Com os resultados apresentados na Tabela 10 constata-se, de forma geral, um aumento na permeabilidade hidráulica com o aumento de teor de MOF nas membranas. Semelhante à permeabilidade hidráulica, também o MWCO, e consequentemente o tamanho de poros das membranas, aumenta de forma gradual com o aumento do teor de UiO-66(Zr). É importante ressaltar que apesar da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% ser a que apresenta o maior valor de  $L_P$ , esperava-se que este lugar pertencesse à CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, uma vez que este é um parâmetro relacionado com o MWCO. Não é assim possível justificar o porquê de a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%

apresentar o maior valor de permeabilidade hidráulica, uma vez que o seu MWCO é apenas o intermédio face a todas as membranas.

No que toca à rejeição dos sais NaCl e Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, observa-se que em todos os casos a rejeição ao primeiro é inferior à do segundo. Este resultado já era expectável, uma vez que a molécula de NaCl possui um tamanho inferior à do Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, fazendo com que mais partículas de NaCl permeiem as membranas, resultando numa menor rejeição ao sal por parte das mesmas. De qualquer forma, sendo estas membranas de UF, a rejeição aos sais é muito baixa, <13%, para todas as membranas.

Finalmente, a adição de UiO-66(Zr) resulta numa menor rejeição ao pCS por parte das membranas, com a exceção da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%. Juntando este dado, ao facto de também existir um aumento progressivo na permeabilidade hidráulica com o aumento de teor de MOF nas membranas, é possível afirmar que as melhores membranas, no que toca à filtração de pCS, serão aquelas que possuem um maior teor de UiO-66(Zr), entre os 1,5% e os 2,5%. Isto porque, são as membranas que menos pCS rejeitam, como também são as que mais solução permitem filtrar num menor período de tempo.

Deve também ser mencionado que, no que toca aos fluxos de permeação de ambos os sais e do pCS, existem decréscimos pouco significativos em relação ao fluxo da água. Isto seria de esperar uma vez que nos ensaios de sais e pCS trabalha-se na presença de soluções aquosas diluída, não havendo fenómenos de polarização de concentração significativos.

## 6. Conclusões

Numa primeira etapa da atividade experimental, é possível concluir que o MOF sintetizado encontra-se dentro dos parâmetros retratados na literatura e que o mesmo era viável para prosseguir com os restantes testes. Não foi, no entanto, possível a sua caracterização através de adsorções de azoto.

Com o MOF foram sintetizadas primeiramente três membranas com 2, 4 e 6% teor de MOF (m/m %), onde se observou que as membranas com os maiores teores destas partículas apresentavam vários cortes, não se conseguindo criar um filme estável. Decidiu-se assim continuar os estudos com novas membranas, CA22/SiO<sub>2</sub>, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%, as quais não apresentaram quaisquer tipos de cortes.

Seguiu-se uma análise SEM-EDS, onde foi possível confirmar a existência de partículas de UiO-66(Zr) em ambas as superfícies das membranas. Concluiu-se ainda que nas membranas com MOF, este aglomerava-se em *clusters*, sendo estes maiores e mais prevalentes para membranas com maiores concentrações de UiO-66(Zr). Também foi possível observar um decréscimo de porosidade nas membranas quando se adicionava MOF em pequenas quantidades, sendo que a mesma aumentava de forma progressiva para membranas com maior teor desta substância.

Posteriormente, foram construídas isotérmicas de adsorção de pCS a 37° C para o UiO-66(Zr), bem como todas as membranas que tinham MOF na sua constituição. Destas concluiu-se que o UiO-66(Zr) tende a adsorver muito mais pCS quando livre, face a quando se encontra impregnado nas membranas. Concluiu-se também que o aumento de MOF na matriz das membranas não implica necessariamente uma maior adsorção/(g MOF) por parte da mesma, possivelmente devido aos aglomerados de MOF existentes no filme das mesmas, levando a que menos partículas de UiO-66(Zr) se encontrem disponíveis para adsorver pCS. Fazendo assim com que a saturação de adsorção seja alcançada prematuramente nas membranas, comparativamente ao MOF livre.

Também se efetuou uma isotérmica de adsorção de pCS a 37° C na presença de BSA, onde se observou uma % de adsorção do pCS muito superior à do MOF. Seguiram-se testes de isotérmicas de adsorção de pCS a 37° C na presença de BSA + MOF. Deste ensaio observou-se que com cerca de 5 mg/mL, o UiO-66(Zr) tem a

capacidade de competir com a BSA e reduzir a quantidade de pCS adsorvido à mesma de ~80% para ~40%.

Por fim, as membranas foram caracterizadas numa instalação de ultrafiltração. Desta caracterização pôde observar-se que a adição de UiO-66(Zr) e o aumento de teor do mesmo, resulta em maiores MWCO das membranas e conseqüentemente das suas permeabilidades hidráulicas.

Nos ensaios de permeação com o pCS, foi também possível observar uma diminuição do coeficiente de rejeição ao pCS para membranas com maior teor de MOF, concluindo-se que as membranas CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%, CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% serão as melhores a empregar em filtrações de soluções com pCS, por conjugarem os menores valores de rejeição à toxina com as maiores permeabilidades hidráulicas.

## 7. Perspetivas Futuras

De acordo com o trabalho desenvolvido nesta tese final de mestrado, seria ainda importante efetuar:

- Estudos de adsorção de azoto ao UiO-66(Zr);
- Estudos na instalação de ultrafiltração de rejeição ao pCS na presença de albumina a 50g/L;
- Optimização da dispersão do MOF na matriz das membranas;
- Testes de hemocompatibilidade do UiO-66(Zr) e posteriormente das membranas impregnadas com o mesmo;
- Sintetizar outras variantes destas membranas com diferentes teores de outros tipos de MOF, efetuando os mesmos estudos realizados nesta TFM para que seja possível uma comparação entre os resultados aqui apresentados e os resultados eventualmente obtidos.



## 8. Bibliografia

1. Sourirajan SL and S. Sea Water Demineralization by Means of an Osmotic Membrane. *J Colloid Sci.* 1961;16(3):311.
2. Dai Z, Ottesen V, Deng J, Helberg RML, Deng L. A Brief Review of Nanocellulose Based Hybrid. *Fibers.* 2019;7(40):1–18.
3. Warsinger DM, Chakraborty S, Tow EW, Plumlee MH, Bellona C, Loutatidou S, et al. A review of polymeric membranes and processes for potable water reuse. *Prog Polym Sci.* 2018;81:209–37.
4. Schmidt B. Membranes in artificial organs. *Artif Organs.* 1996;20(6):375–80.
5. Nguyen BTD, Thi HYN, Thi BPN, Kang DK, Kim JF. The roles of membrane technology in artificial organs: Current challenges and perspectives. *Membranes (Basel).* 2021;11(4).
6. Lote CJ. Principles of renal physiology. *Principles of Renal Physiology.* 2013;1–204.
7. Romagnani P, Remuzzi G, Glassock R, Levin A, Jager KJ, Tonelli M, et al. Chronic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3(May 2023).
8. Chronic Kidney Disease Basics | Chronic Kidney Disease Initiative | CDC [Internet]. [cited 2023 May 24]. Available from: <https://www.cdc.gov/kidneydisease/basics.html>
9. Gao C, Zhang Q, Yang Y, Li Y, Lin W. Recent trends in therapeutic application of engineered blood purification materials for kidney disease. *Biomater Res.* 2022;26(1):1–25.
10. Webster AC, Nagler E V, Morton RL, Masson P. Chronic Kidney Disease. *The Lancet.* 2016;6736(16):1–15.
11. Nordio M, Limido A, Maggiore U, Nichelatti M, Postorino M, Quintaliani G, et al. Survival in Patients Treated by Long-term Dialysis Compared With the General Population. *YAJKD.* 2012;59(6):819–28.
12. Liyanage T, Ninomiya T, Jha V, Neal B, Patrice HM, Okpechi I, et al. Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease : *The Lancet.* 2015;6736(14):1–8.
13. Panasyuk-delaney T, Mirsky VM, Wolfbeis OS. Capacitive Creatinine Sensor Based on a Photografted Molecularly Imprinted Polymer. 2002;221–4.
14. Eetjen JUPA, Odriguez MAR, Tegmayr BES. Review on uremic toxins : Classification , concentration , and interindividual variability " RRES , H ORST D

- IETER L EMKE , Z IAD A . M ASSY , P ETER S TENVINKEL , C IRO T ETTA , C HRISTOPH W ANNER , and W ALTER Z IDEK ,. 2003;63:1934–43.
15. S S, Wu I wen, Hsu K hung, Lee C chan, Sun C yin, Hsu H jung, et al. p -Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease. 2010;219–27.
  16. Wu PH, Lin YT, Chiu YW, Baldanzi G, Huang JC. The relationship of indoxyl sulfate and p - cresyl sulfate with target cardiovascular proteins in hemodialysis patients. *Sci Rep.* 2021;1–11.
  17. Bammens B, Evenepoel P, Keuleers H, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Free serum concentrations of the protein-bound retention solute p -cresol predict mortality in hemodialysis patients. 2006;1081–7.
  18. Ghuman J, Zunszain PA, Petitpas I, Bhattacharya AA, Otagiri M, Curry S. Structural Basis of the Drug-binding Specificity of Human Serum Albumin. 2005;38–52.
  19. Berge D, Ce C. Thermodynamic study of indoxylsulfate interaction with human serum albumin and competitive binding with p -cresylsulfate. 2013;
  20. Itoh Y, Ezawa A, Kikuchi K. Protein-bound uremic toxins in hemodialysis patients measured by liquid chromatography / tandem mass spectrometry and their effects on endothelial ROS production. 2012;1841–50.
  21. Fergus I. Membrane technology. Vol. 26, *Water.* 1999. 20–21 p.
  22. Mulder M. Basic Principle of Membra. Vol. 110, *Journal of Chemical Information and Modeling.* 1991. 1689–1699 p.
  23. de Pinho MN, Minhalma M. Introduction in Membrane Technologies. In: *Separation of Functional Molecules in Food by Membrane Technology.* Elsevier; 2019. p. 1–29.
  24. Vermaak L, Neomagus HWJP, Bessarabov DG. Recent advances in membrane-based electrochemical hydrogen separation: A review. *Membranes (Basel).* 2021;11(2):1–32.
  25. Comparison Between Dead End and Cross Flow Filtration [Internet]. [cited 2023 May 26]. Available from: <https://www.hongtefiltration.com/news/comparison-of-dead-end-and-cross-flow-filtration.html>
  26. Pusch W, Walch A. Synthetic Membranes—Preparation, Structure, and Application. *Angewandte Chemie International Edition in English.* 1982;21(9):660–85.
  27. Khulbe KC, Matsuura T. Nanotechnology in Membrane Processes. 2021;364.

28. Cadotte JE, King RS, Majerle RJ, Petersen RJ. *Journal of Macromolecular Science : Part A - Chemistry : Pure and Applied Chemistry Interfacial Synthesis in the Preparation of Reverse Osmosis Membranes*. 37–41 p.
29. Vatanpour V, Yavuzturk Gul B, Zeytuncu B, Korkut S, İlyasoğlu G, Turken T, et al. Polysaccharides in fabrication of membranes: A review. *Carbohydr Polym*. 2022 Apr 1;281:119041.
30. Miao X, Lin J, Bian F. Utilization of discarded crop straw to produce cellulose nanofibrils and their assemblies. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 2020 Feb 1;5(1):26–36.
31. Fischer S, Thümmel K, Volkert B, Hettrich K, Schmidt I, Fischer K. Properties and Applications of Cellulose Acetate. *Macromol Symp*. 2008 Jan 1;262(1):89–96.
32. Nikolaeva D, Verachtert K, Azcune I, Jansen JC, Vankelecom IFJ. Influence of ionic liquid-like cationic pendants composition in cellulose based polyelectrolytes on membrane-based CO<sub>2</sub> separation. *Carbohydr Polym*. 2021 Mar 1;255:117375.
33. Sabir A, Shafiq M, Islam A, Jabeen F, Shafeeq A, Ahmad A, et al. Conjugation of silica nanoparticles with cellulose acetate/polyethylene glycol 300 membrane for reverse osmosis using MgSO<sub>4</sub> solution. *Carbohydr Polym*. 2016 Jan 20;136:551–9.
34. Li S, Wang D, Xiao H, Zhang H, Cao S, Chen L, et al. Ultra-low pressure cellulose-based nanofiltration membrane fabricated on layer-by-layer assembly for efficient sodium chloride removal. *Carbohydr Polym*. 2021 Mar 1;255:117352.
35. Silva MA, Belmonte-Reche E, de Amorim MTP. Morphology and water flux of produced cellulose acetate membranes reinforced by the design of experiments (DOE). *Carbohydr Polym*. 2021 Feb 15;254:117407.
36. Hashino M, Hiramiki K, Katagiri T, Kubota N, Ohmukai Y, Ishigami T, et al. Effects of three natural organic matter types on cellulose acetate butyrate microfiltration membrane fouling. *J Memb Sci*. 2011 Sep 1;379(1–2):233–8.
37. Zhou Z, Lin W, Wu XF. Electrospinning ultrathin continuous cellulose acetate fibers for high-flux water filtration. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp*. 2016 Apr 5;494:21–9.
38. Ang MBMY, Devanadera KPO, Duena ANR, Luo ZY, Chiao YH, Millare JC, et al. Modifying Cellulose Acetate Mixed-Matrix Membranes for Improved Oil–Water Separation: Comparison between Sodium and Organo-Montmorillonite as Particle Additives. *Membranes* 2021, Volume 11, Pág 80. 2021 Jan 22;11(2):80.

39. Ali M, Jahan Z, Sher F, Khan Niazi MB, Kakar SJ, Gul S. Nano architected cues as sustainable membranes for ultrafiltration in blood hemodialysis. *Materials Science and Engineering: C*. 2021 Sep 1;128:112260.
40. Vatanpour V, Pasaoglu ME, Barzegar H, Teber OO, Kaya R, Bastug M, et al. Cellulose acetate in fabrication of polymeric membranes: A review. *Chemosphere*. 2022;295(Novembro de 2021).
41. Safarpour M, Safikhani A, Vatanpour V. Polyvinyl chloride-based membranes: A review on fabrication techniques, applications and future perspectives. *Sep Purif Technol*. 2021 Dec 15;279:119678.
42. Guillen GR, Pan Y, Li M, Hoek EMV. Preparation and characterization of membranes formed by nonsolvent induced phase separation: A review. *Ind Eng Chem Res*. 2011 Apr 6;50(7):3798–817.
43. Poolachira S, Velmurugan S. Effect of solvents in the formation of PES-based asymmetric flat sheet membranes in phase inversion method: phase separation and rheological studies. *Iranian Polymer Journal (English Edition)*. 2023;32(3):365–76.
44. Marino T, Galiano F, Simone S, Figoli A. DMSO EVOL™ as novel non-toxic solvent for polyethersulfone membrane preparation. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019 May 1;26(15):14774–85.
45. Bolandi S, Ashtiani FZ, Okhovat A, Ghandashtani MB. The Effects of Surfactant Additives on Properties and Morphologies of Cellulose Acetate Membranes Prepared by Phase Inversion. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*. 2020 Sep 1;54(5):931–9.
46. Brinker CJ, Scherer GW. *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing. 2013 Oct 22;1–908.
47. Sumida K, Liang K, Reboul J, Ibarra IA, Furukawa S, Falcaro P. Sol-Gel Processing of Metal-Organic Frameworks. *Chemistry of Materials*. 2017;29(7):2626–45.
48. Sakka S. History of the sol-gel chemistry and technology. *Handbook of Sol-Gel Science and Technology: Processing, Characterization and Applications*. 2018 Jul 9;3–29.
49. Owens GJ, Singh RK, Foroutan F, Alqaysi M, Han CM, Mahapatra C, et al. Sol-gel based materials for biomedical applications. *Prog Mater Sci*. 2016;77:1–79.
50. Böttcher H, Slowik P, Süß W. Sol-Gel Carrier Systems for Controlled Drug Delivery. *J Solgel Sci Technol*. 1998 Jan 1;13(1–3):277–81.

51. Yang HH, Zhang SQ, Yang W, Chen XL, Zhuang ZX, Xu JG, et al. Molecularly Imprinted Sol-Gel Nanotubes Membrane for Biochemical Separations. *J Am Chem Soc.* 2004 Apr 7;126(13):4054–5.
52. Yang P, Gai S, Lin J. Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery. *Chem Soc Rev.* 2012 Apr 9;41(9):3679–98.
53. Mendes G, Faria M, Carvalho A, Gonçalves MC, de Pinho MN. Structure of water in hybrid cellulose acetate-silica ultrafiltration membranes and permeation properties. *Carbohydr Polym.* 2018;189(January):342–51.
54. Zhu B hua, Chen P. The industrial application of ultrafiltration membranes. *Desalination.* 1993;90(1–3):119–26.
55. Angelo Basile, Sylwia Mozia RM, editor. *Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes.*
56. Singh R. Introduction to membrane technology. *Hybrid Membrane Systems for Water Purification.* 2005;1–56.
57. Kato S, Otake KI, Chen H, Akpinar I, Buru CT, Islamoglu T, et al. Zirconium-Based Metal-Organic Frameworks for the Removal of Protein-Bound Uremic Toxin from Human Serum Albumin. *J Am Chem Soc.* 2019;141(6):2568–76.
58. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: Classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int.* 2003;63(5):1934–43.
59. Meijers BKI, Bammens B, Verbeke K, Evenepoel P. A Review of Albumin Binding in CKD. *American Journal of Kidney Diseases.* 2008;51(5):839–50.
60. Beconi O, Ahlstrand E, Salis A, Friedman R. Protein-ion Interactions: Simulations of Bovine Serum Albumin in Physiological Solutions of NaCl, KCl and LiCl. *Isr J Chem.* 2017;57(5):403–12.
61. *Membrane Handbook.* Membrane Handbook. 1992.
62. Lu R, Li WW, Katzir A, Raichlin Y, Yu HQ, Mizaikoff B. Probing the secondary structure of bovine serum albumin during heat-induced denaturation using mid-infrared fiberoptic sensors. *Analyst.* 2015;140(3):765–70.
63. Liesbeth Viaene, Pieter Annaert, Henriette de Loor, Ruben Poesena, Pieter Evenepoela A, Meijers B. Albumin is the main plasma binding protein for indoxyl sulfate. *Biopharm Drug Dispos.* 2007;28(3):135–43.
64. Furukawa H, Cordova KE, O’Keeffe M, Yaghi OM. The chemistry and applications of metal-organic frameworks. *Science.* 2013;341(6149).
65. Pilgrim BS, Champness NR. Metal-Organic Frameworks and Metal-Organic Cages – A Perspective. *Chempluschem.* 2020 Aug 1;85(8):1842–56.

66. Bailey JB, Zhang L, Chiong JA, Ahn S, Tezcan FA. Synthetic Modularity of Protein-Metal-Organic Frameworks. *J Am Chem Soc.* 2017 Jun 21;139(24):8160–6.
67. Dymek K, Kurowski G, Kuterasiński Ł, Jędrzejczyk R, Szumera M, Sitarz M, et al. In Search of Effective UiO-66(Zr) Metal-Organic Frameworks for Artificial Kidney Application. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2021;13(38):45149–60.
68. Venturi DM, Campana F, Marmottini F, Costantino F, Vaccaro L. Extensive screening of green solvents for safe and sustainable UiO-66(Zr) synthesis. *ACS Sustain Chem Eng.* 2020;8(46):17154–64.
69. Cavka JH, Jakobsen S, Olsbye U, Guillou N, Lamberti C, Bordiga S, et al. A new zirconium inorganic building brick forming metal organic frameworks with exceptional stability. *J Am Chem Soc.* 2008 Oct 22;130(42):13850–1.
70. Winarta J, Shan B, McIntyre SM, Ye L, Wang C, Liu J, et al. A Decade of UiO-66(Zr) Research: A Historic Review of Dynamic Structure, Synthesis Mechanisms, and Characterization Techniques of an Archetypal Metal – Organic Framework. 2020;
71. Yang Q, Zhang HY, Wang L, Zhang Y, Zhao J. Ru/UiO-66(Zr) Catalyst for the Reduction of Nitroarenes and Tandem Reaction of Alcohol Oxidation/Knoevenagel Condensation. *ACS Omega.* 2018;3(4):4199–212.
72. Rabiee N, Ghadiri AM, Alinezhad V, Sedaghat A, Ahmadi S, Fatahi Y, et al. Synthesis of green benzamide-decorated UiO-66(Zr)-NH<sub>2</sub> for biomedical applications. *Chemosphere.* 2022;299(January):134359.
73. Askari S, Khodaei MM, Jafarzadeh M, Mikaeili A. In-situ formation of Ag NPs on the ribonic  $\gamma$ -lactone-modified UiO-66(Zr)-NH<sub>2</sub>: An effective catalyst for organic synthesis and antibacterial applications. *Process Biochemistry.* 2022;122(August):149–65.
74. Rasoul Sarmadi, Salimi M, Pirouzfard V. Pebax2533 Gas Separation Membrane for CO<sub>2</sub> Capture Applications: Incorporation and Assessment of New Configured UiO-66(Zr) Metal-organic Frameworks. *Polymer Science - Series A.* 2022;64(6):781–93.
75. Valenzano L, Civalleri B, Chavan S, Bordiga S, Nilsen MH, Jakobsen S, et al. Disclosing the complex structure of UiO-66(Zr) metal organic framework: A synergic combination of experiment and theory. *Chemistry of Materials.* 2011;23(7):1700–18.
76. Wu H, Chua YS, Krungleviciute V, Tyagi M, Chen P, Yildirim T, et al. Unusual and highly tunable missing-linker defects in zirconium metal-organic framework UiO-

- 66(Zr) and their important effects on gas adsorption. *J Am Chem Soc.* 2013;135(28):10525–32.
77. Furukawa H, Cordova KE, O'Keeffe M, Yaghi OM. The chemistry and applications of metal-organic frameworks. *Science* (1979). 2013;341(6149).
  78. Tang YS, Tsai YC, Chen TW, Li SY. Artificial Kidney Engineering: The Development of Dialysis Membranes for Blood Purification. *Membranes* (Basel). 2022;12(2):1–16.
  79. Markwardt F. Hirudin as alternative anticoagulant - A historical review. *Semin Thromb Hemost.* 2002;28(5):405–13.
  80. Von Hartitzsch B, Hoenich NA, Samson P, Erickson J, Ashcroft RA, Kerr DN. A clinical evaluation of the new dialysers. *Kidney Int.* 1973;3(1):35–45.
  81. Huang J, Yi B, Li AM, Zhang H. Effects of vitamin E-coated dialysis membranes on anemia, nutrition and dyslipidemia status in hemodialysis patients: A meta-analysis. *Ren Fail.* 2015;37(3):398–407.
  82. Rocco M V., Lockridge RS, Beck GJ, Eggers PW, Gassman JJ, Greene T, et al. The effects of frequent nocturnal home hemodialysis: The Frequent Hemodialysis Network Nocturnal Trial. *Kidney Int.* 2011;80(10):1080–91.
  83. Kim S, Feinberg B, Kant R, Chui B, Goldman K, Park J, et al. Diffusive silicon nanopore membranes for hemodialysis applications. *PLoS One.* 2016;11(7):1–20.
  84. Cranwell PB, Harwood LM, Moody CJ. *Experimental organic chemistry.* :671.
  85. Dichloromethane, for HPLC, Stabilised with Amylene, Fisher Chemical | Fisher Scientific [Internet]. [cited 2023 Apr 26]. Available from: <https://www.fishersci.pt/shop/products/dichloromethane-hplc-stabilised-amylene-fisher-chemical/10468210?searchHijack=true&searchTerm=dichloromethane-hplc-stabilised-amylene-fisher-chemical&searchType=Rapid&matchedCatNo=10468210>
  86. Murphy D, de Pinho MN. An ATR-FTIR study of water in cellulose acetate membranes prepared by phase inversion. *J Memb Sci.* 1995 Oct 31;106(3):245–57.
  87. Ausili A, Sánchez M, Gómez-Fernández JC. Attenuated total reflectance infrared spectroscopy: A powerful method for the simultaneous study of structure and spatial orientation of lipids and membrane proteins. *Biomed Spectrosc Imaging.* 2015;4(2):159–70.
  88. Griffiths PR, De Haseth JA. *Fourier Transform Infrared Spectrometry: Second Edition.* Fourier Transform Infrared Spectrometry: Second Edition. 2006;1–529.

89. Chester AW. Zeolite Characterization and Catalysis: a tutorial. Vol. 2010, Focus on Catalysts. 2010. 8 p.
90. Yuan S, Wang L, Liu F, Bass JD, Li Y, Ginsberg PA, et al. Early crystallization of amorphous selenium under high pressure studied by synchrotron XRD method. *J Phys Condens Matter*. 2023;35(26).
91. Bragg's Law and Diffraction [Internet]. [cited 2023 May 15]. Available from: <http://skuld.bmsc.washington.edu/~merritt/bc530/bragg/>
92. Bottom R. Thermogravimetric Analysis. Principles and Applications of Thermal Analysis. 2008;1(906):87–118.
93. MACKENZIE RC. Differential Thermal Analysis. 1970;(420).
94. Thommes M, Kaneko K, Neimark A V., Olivier JP, Rodriguez-Reinoso F, Rouquerol J, et al. Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 2015;87(9–10):1051–69.
95. Stokes DJ. Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM). Principles and Practice of Variable Pressure/Environmental Scanning Electron Microscopy (VP-ESEM). 2008. 1–221 p.
96. Li L, Lin CT. SEM-EDS Investigations of Self-Phosphating Coatings. *Ind Eng Chem Res*. 1994;33(12):3241–6.
97. Lonsdale HK, Merten U, Riley RL, Jay J. Transport Properties of Cellulose Acetate Osmotic Membranes\*. Vol. 9, *JOURNAL OF APPLIED POLYMER SCIENCE*. 1965.
98. Falconi CA, Junho CV da C, Fogaça-Ruiz F, Vernier ICS, da Cunha RS, Stinghen AEM, et al. Uremic Toxins: An Alarming Danger Concerning the Cardiovascular System. Vol. 12, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media S.A.; 2021.
99. IR Spectrum Table [Internet]. [cited 2023 Jul 13]. Available from: <https://www.sigmaaldrich.com/PT/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/photometry-and-reflectometry/ir-spectrum-table>
100. Zaboon S, Abid HR, Yao Z, Gubner R, Wang S, Barifcani A. Removal of monoethylene glycol from wastewater by using Zr-metal organic frameworks. Vol. 523, *Journal of Colloid and Interface Science*. 2018. 75–85 p.
101. N,N-Dimethylformamide | HCON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> | CID 6228 - PubChem [Internet]. [cited 2023 Jul 13]. Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N\\_N-Dimethylformamide#section=Boiling-Point](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N_N-Dimethylformamide#section=Boiling-Point)

102. Øien S, Wragg D, Reinsch H, Svelle S, Bordiga S, Lamberti C, et al. Detailed structure analysis of atomic positions and defects in zirconium metal-organic frameworks. *Cryst Growth Des.* 2014;14(11):5370–2.
103. Shiraishi M, Inagaki M. X-ray Diffraction Methods to Study Crystallite Size and Lattice Constants of Carbon Materials. *Carbon Alloys: Novel Concepts to Develop Carbon Science and Technology.* Elsevier Ltd; 2003. 161–173 p.
104. Francisco J, Sousa C De. Ultrafiltration Membranes for Spent Dialysate Regeneration in Hemodialysis. 2022;(November).



## 9. Anexos

### 9.1. Anexos A

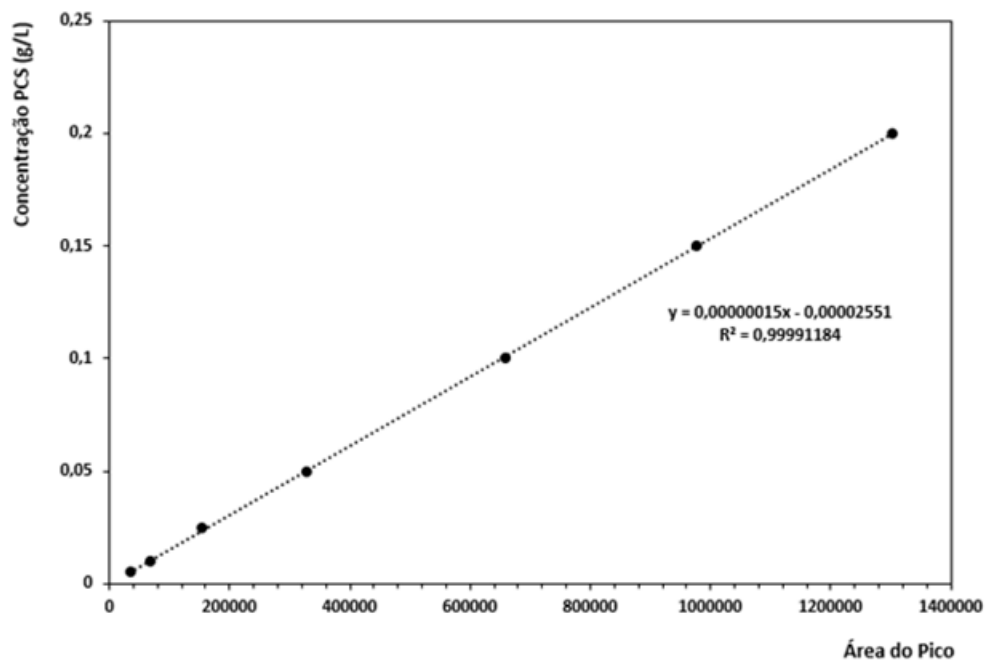


Figura A.1 – Curva de calibração de pCS obtida em HPLC. Utilizada nos ensaios de adsorção.

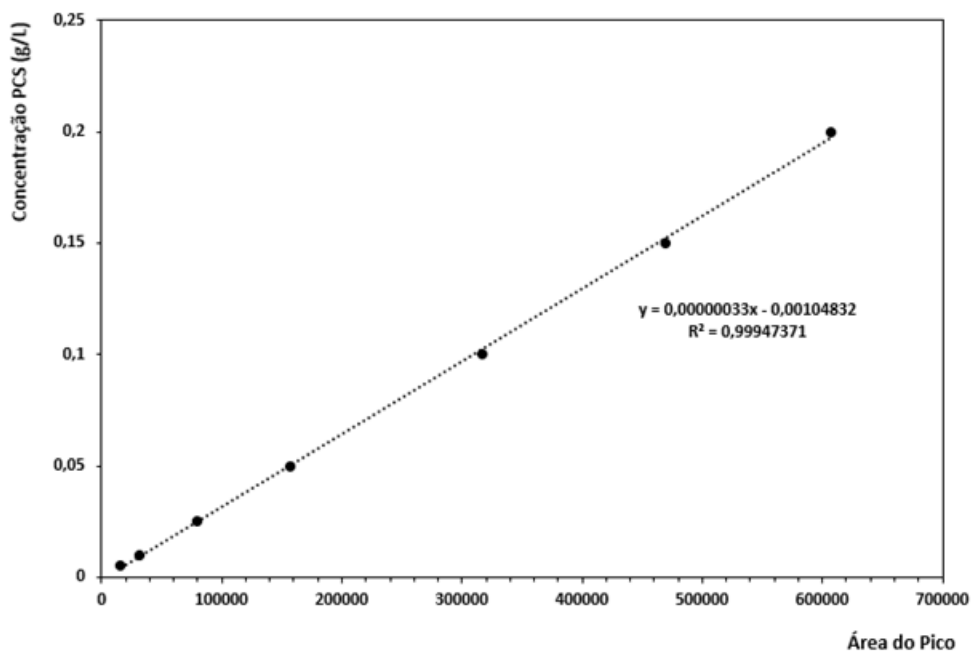
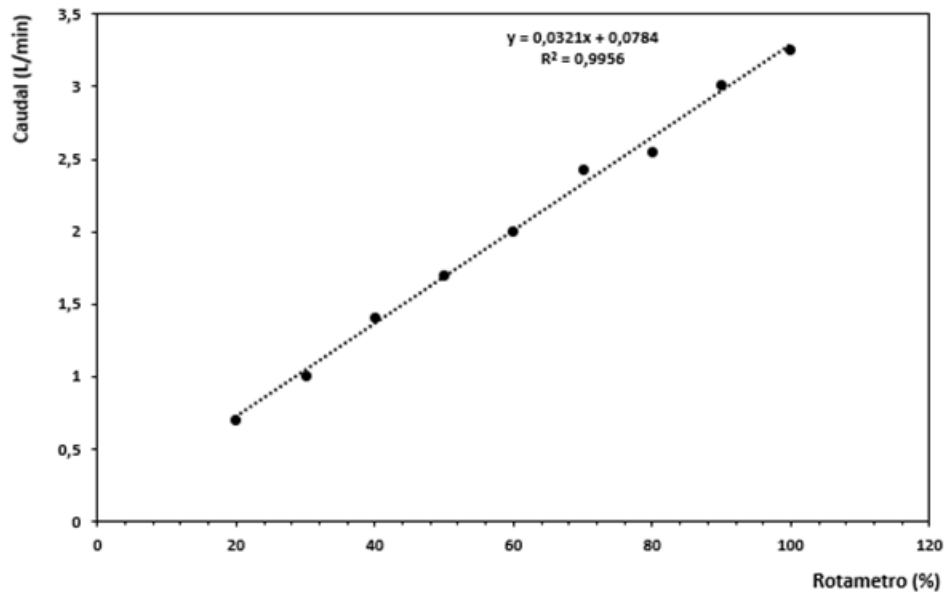
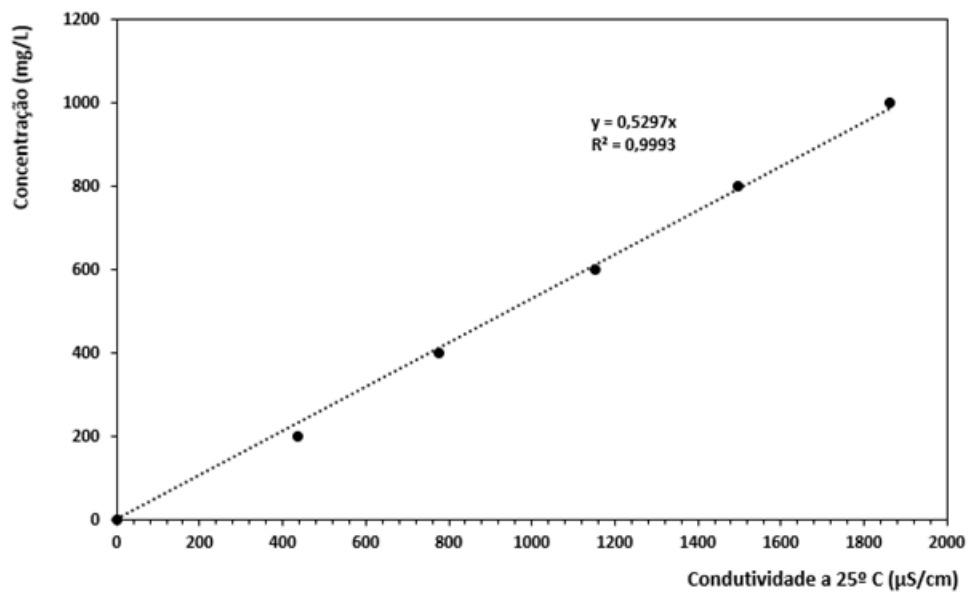


Figura A.2 – Curva de calibração de pCS na presença de 0,2 M de NaCl obtida em HPLC. Utilizada nos ensaios de adsorção.

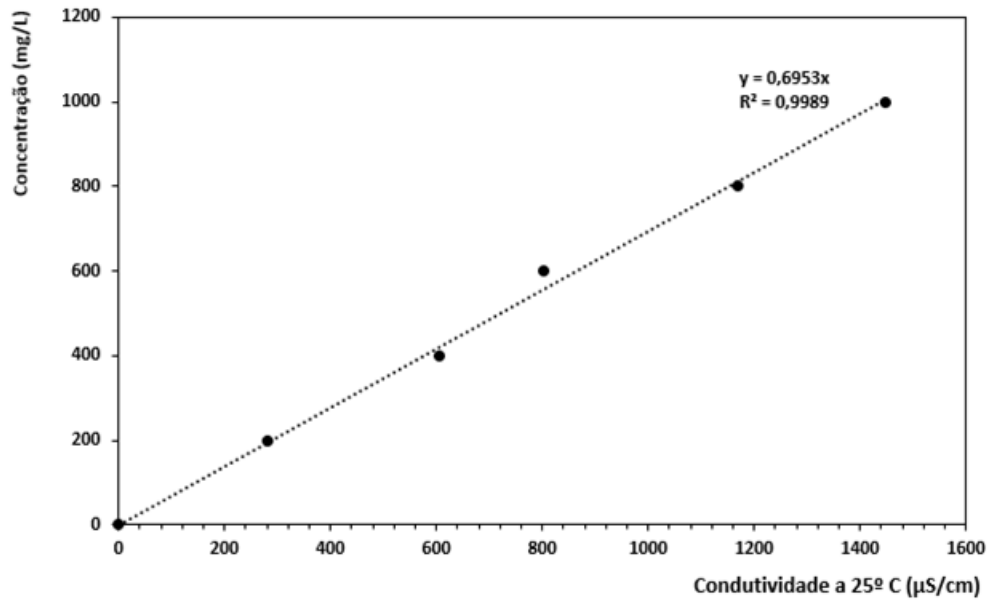
## 9.2. Anexos B



**Figura B.1** – Curva de calibração do rotâmetro da instalação de ultrafiltração. Utilizada nos ensaios de caracterização das membranas.

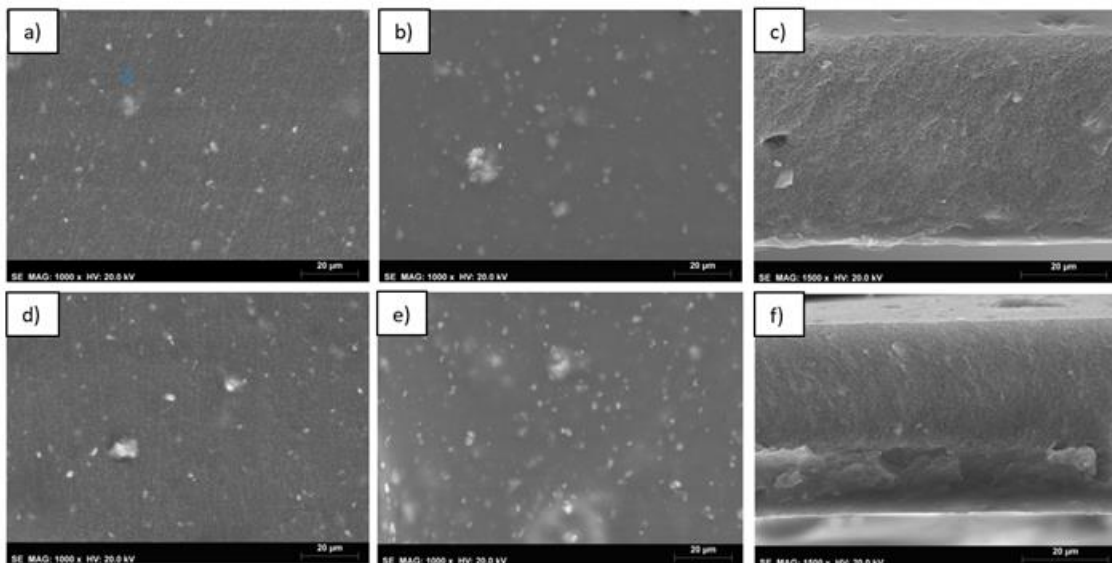


**Figura B.2** – Curva de calibração de NaCl na determinação do coeficiente de rejeição aparente. Utilizada nos ensaios de caracterização das membranas.

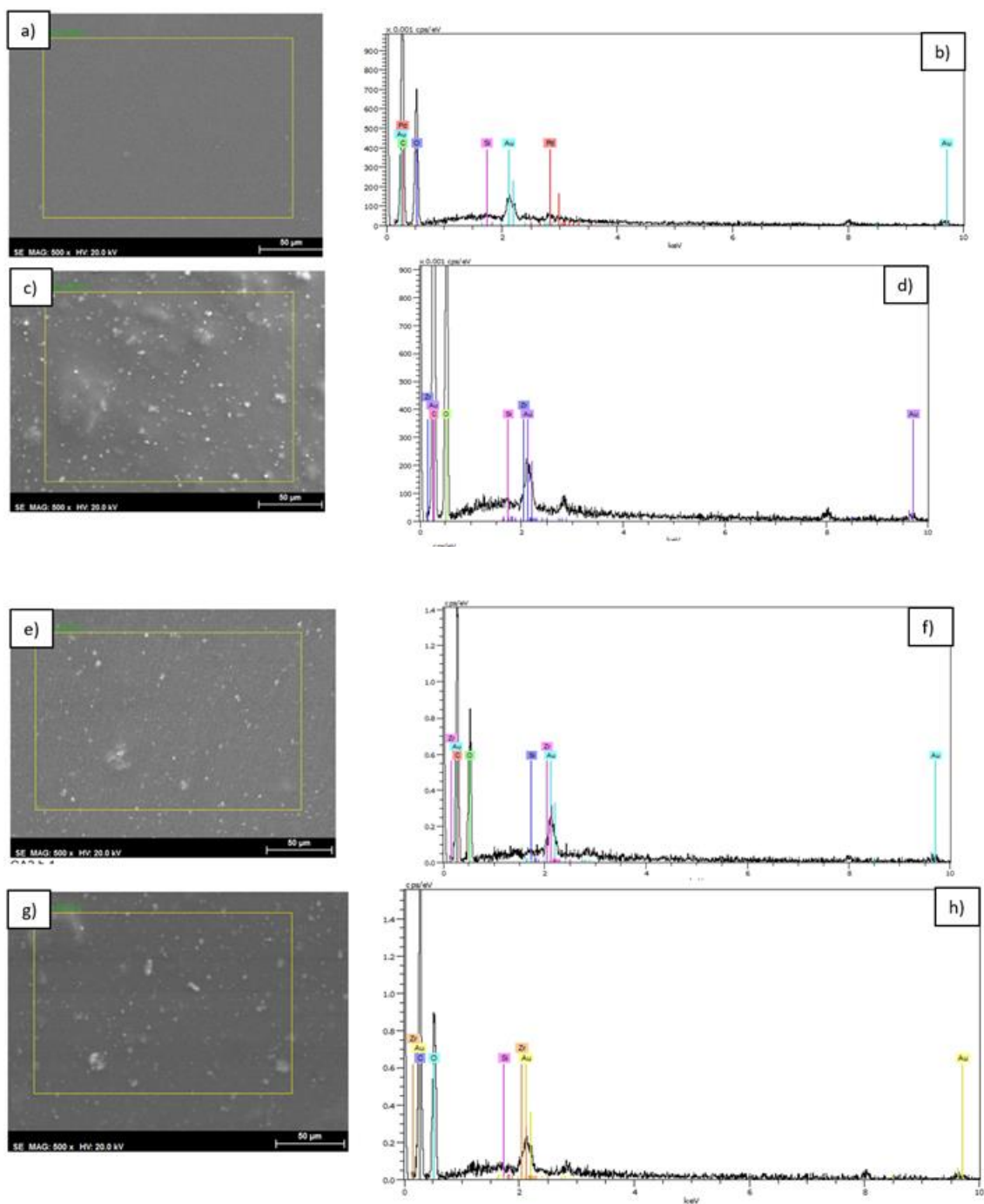


**Figura B.3** – Curva de calibração de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na determinação do coeficiente de rejeição aparente. Utilizada nos ensaios de caracterização das membranas.

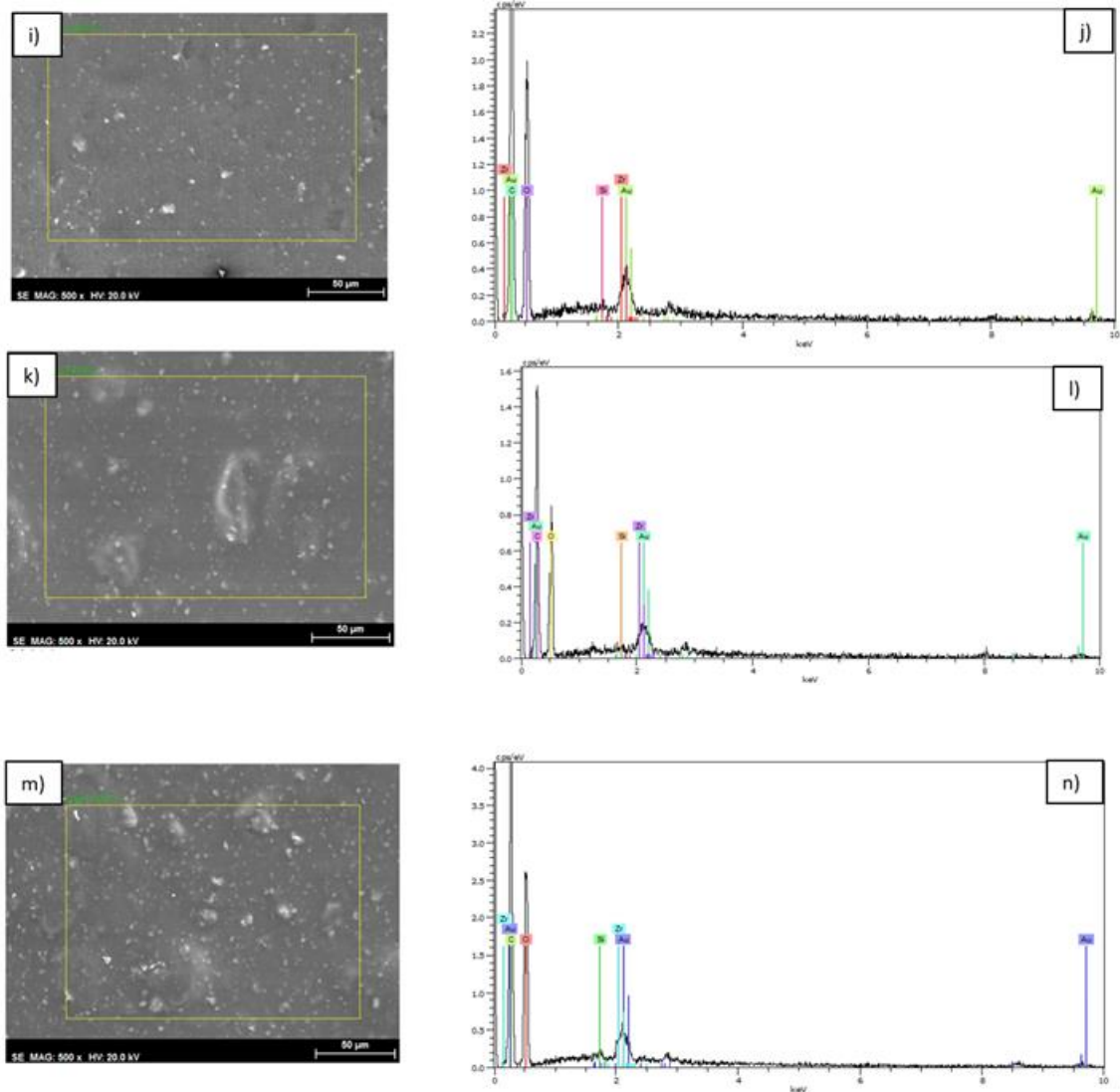
### 9.3. Anexos C



**Figura C.1** – Imagens SEM obtidas com uma amplitude de 1000x (*bottom* e *top*) e 1500x (*cs*), respetivamente; CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% - a) a c); CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% – d) a f). Todas as imagens da *cs* estão invertidas (*bottom* em cima).



**Figura C.2** – Resultados da análise EDS; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub> e seu espectro, a) e b), respectivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% e seu espectro, c) e d), respectivamente; Análise ao *bottom* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% e seu espectro, e) e f), respectivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% e seu espectro, g) e h), respectivamente; Análise ao *bottom* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e seu espectro, i) e j), respectivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e seu espectro, k) e l), respectivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, m) e n), respectivamente.



**Figura C.2** (Continuação) – Resultados da análise EDS; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub> e seu espectro, a) e b), respetivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1% e seu espectro, c) e d), respetivamente; Análise ao *bottom* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% e seu espectro, e) e f), respetivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% e seu espectro, g) e h), respetivamente; Análise ao *bottom* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e seu espectro, i) e j), respetivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2% e seu espectro, k) e l), respetivamente; Análise ao *top* da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% e seu espectro, m) e n), respetivamente.

## 9.4. Anexos D

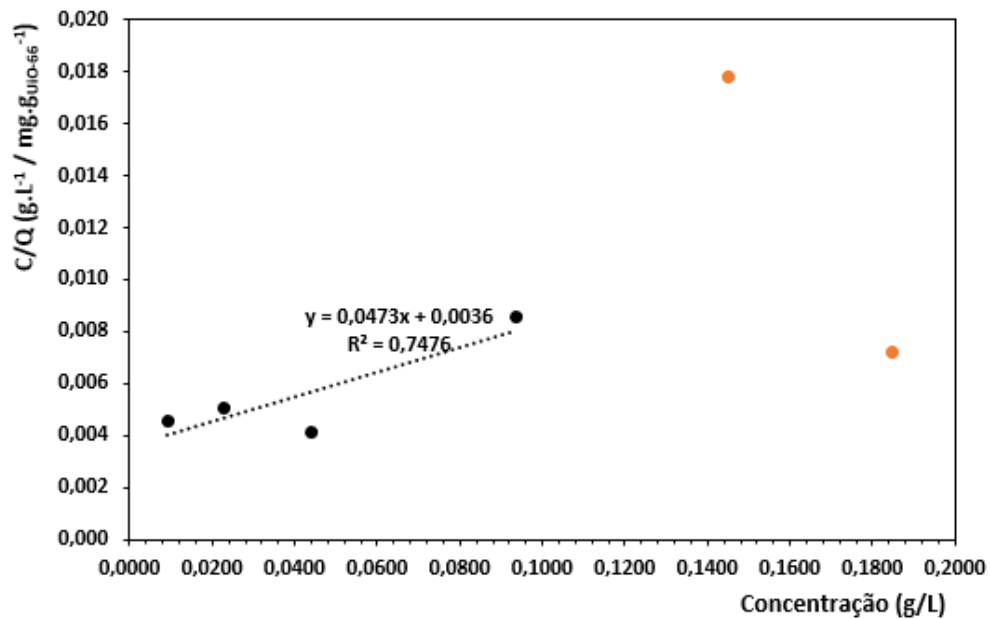


Figura D.1 – Modelo de Langmuir aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%. Pontos laranjas são excluídos

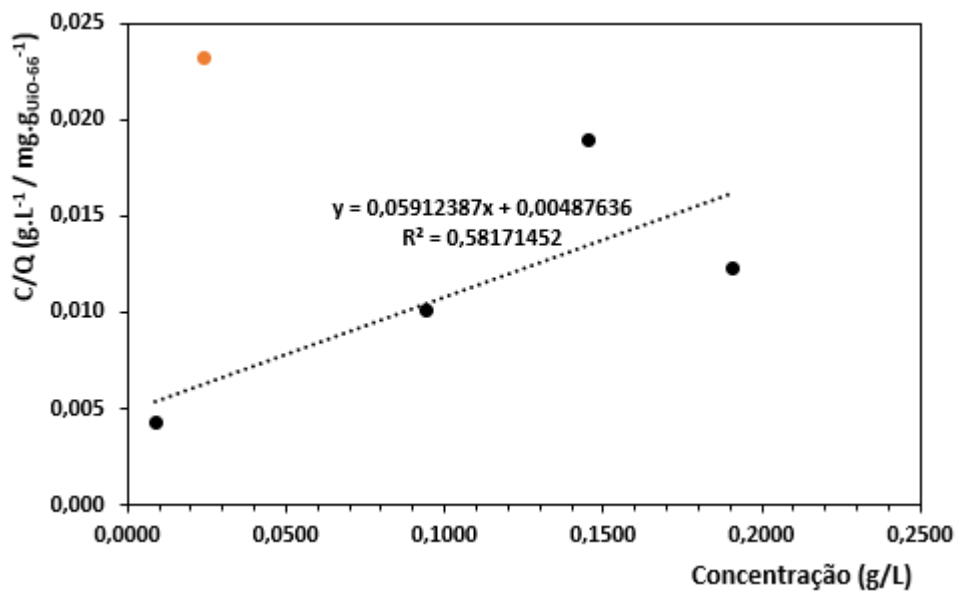


Figura D.2 – Modelo de Langmuir aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%. Pontos laranjas são excluídos

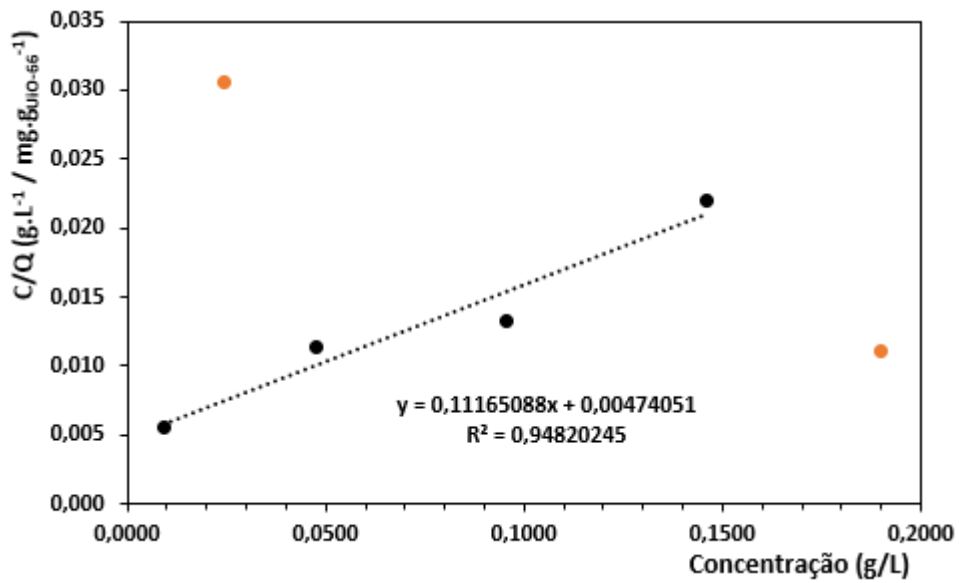


Figura D.3 – Modelo de Langmuir aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%. Pontos laranjas são excluídos

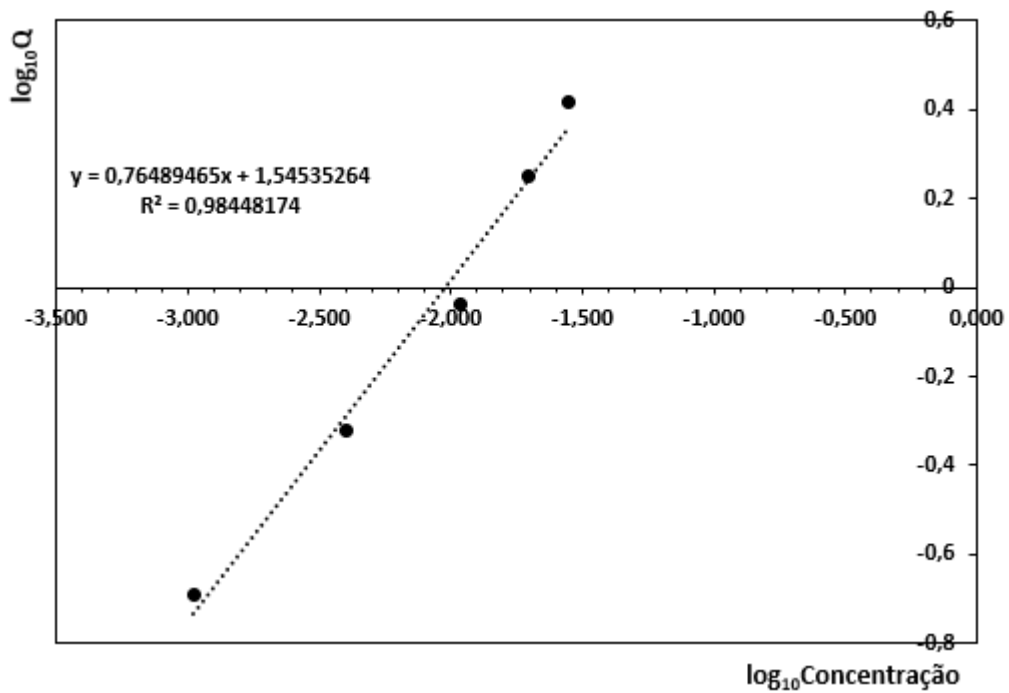


Figura D.4 – Modelo de Freundlich aplicado à isotérmica resultante dos ensaios de adsorção da BSA.

## 9.5. Anexos E

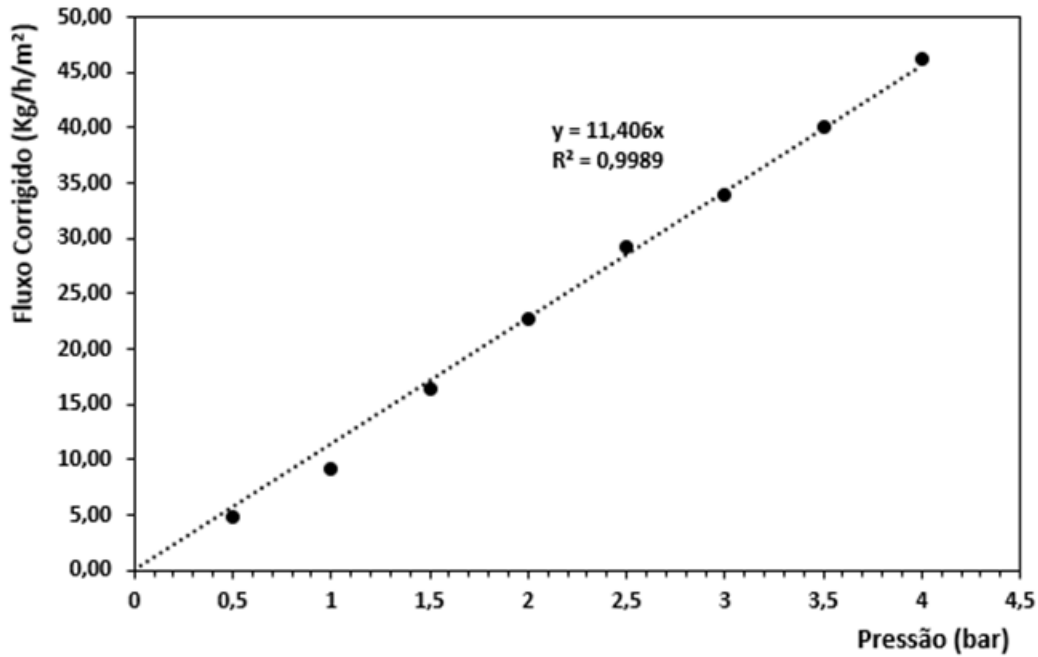


Figura E.1 – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%.

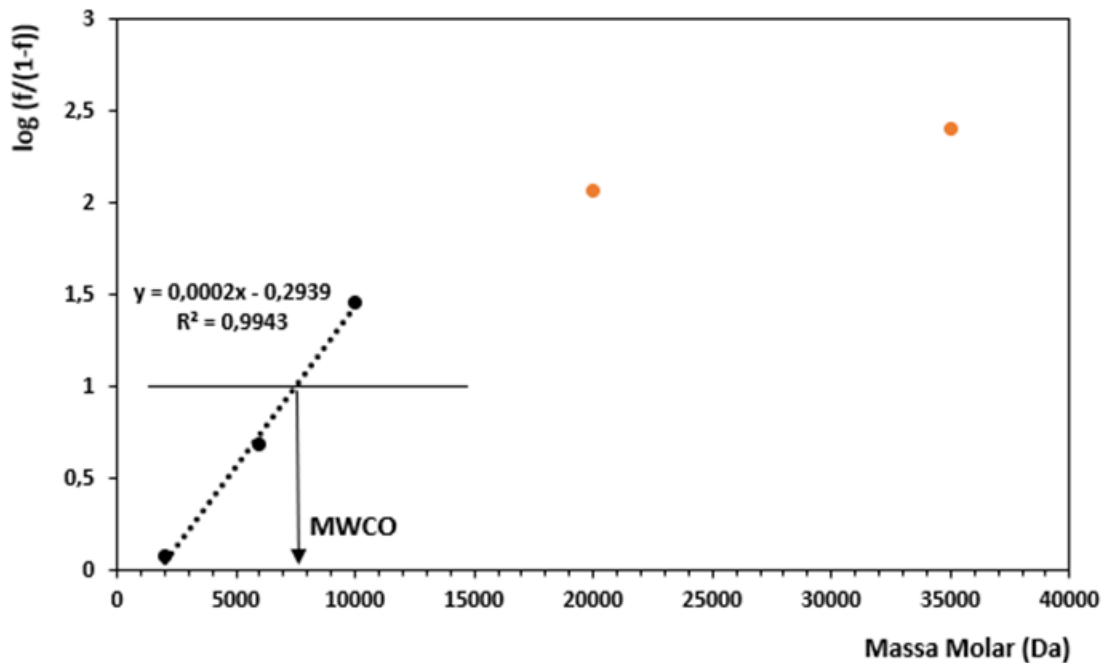


Figura E.2 – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1%. Pontos laranjas são excluídos

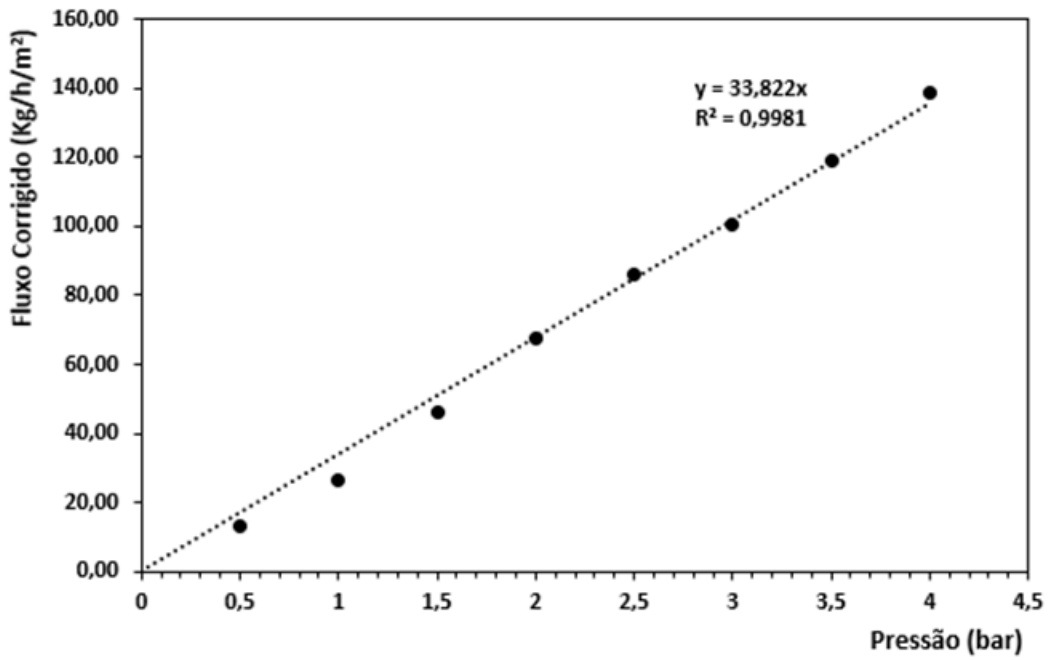


Figura E.3 – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5%.

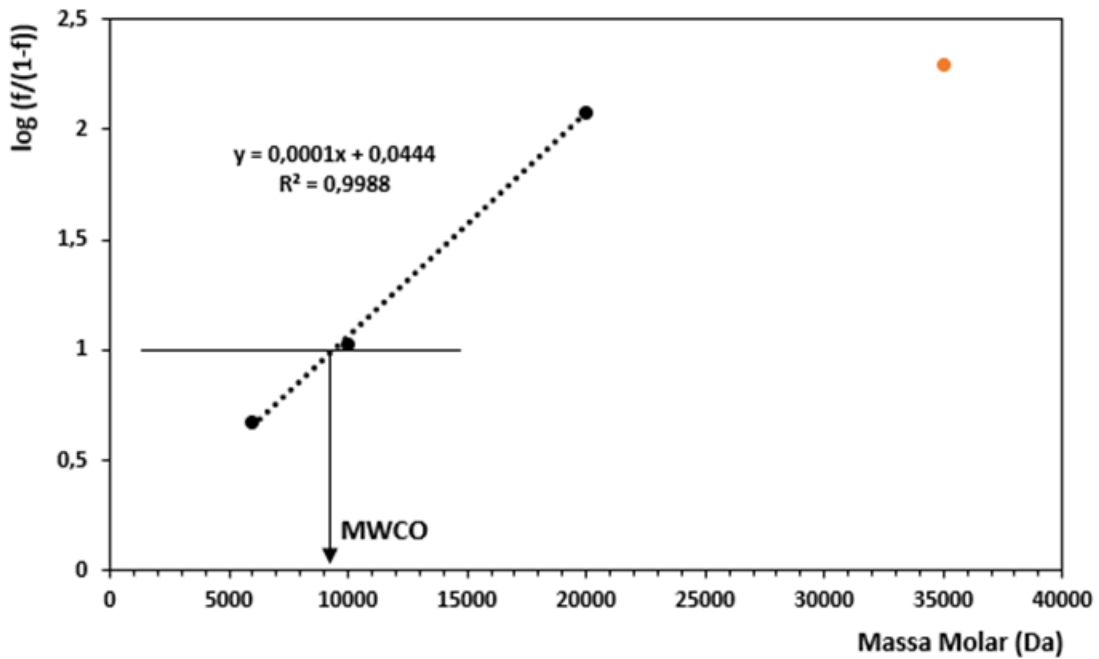


Figura E.4 – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 1,5% Pontos laranjas são excluídos

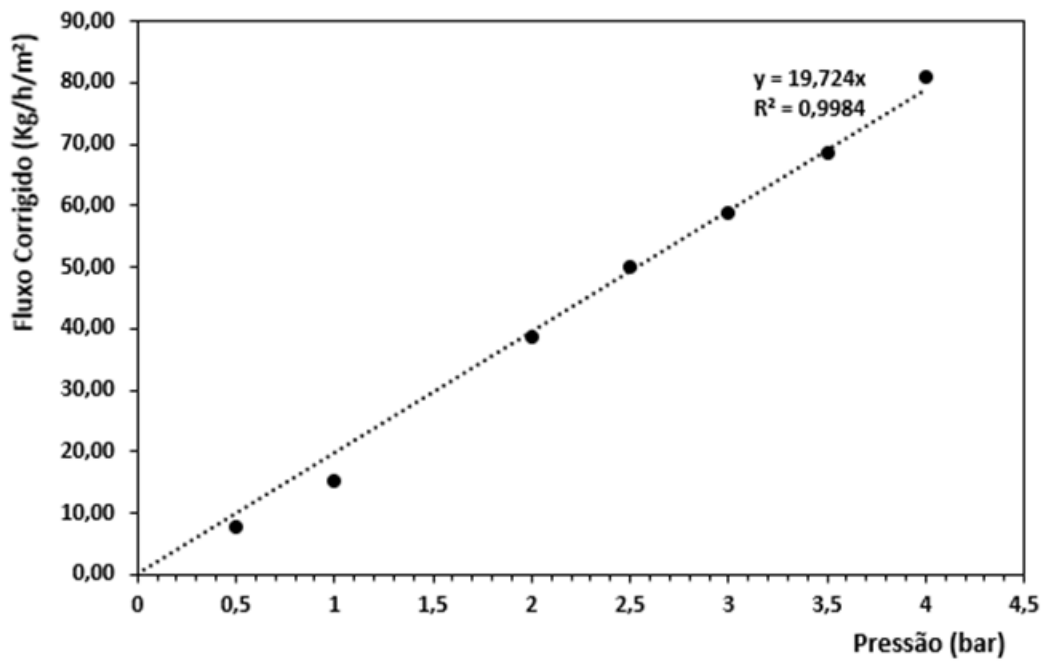


Figura E.5 – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2%.

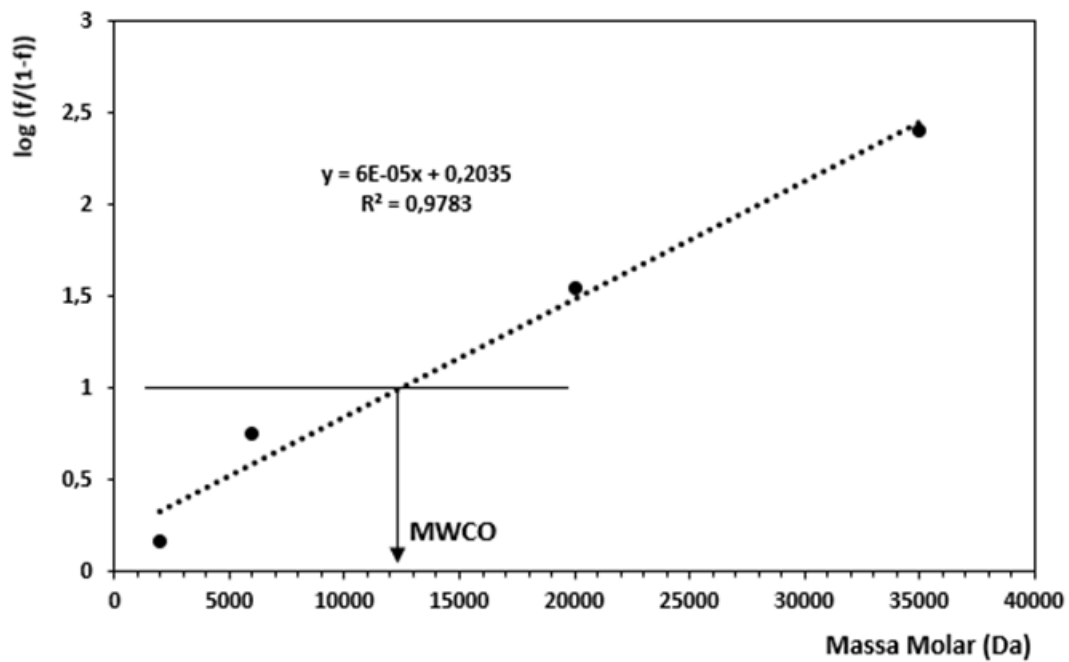


Figura E.6 – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2%

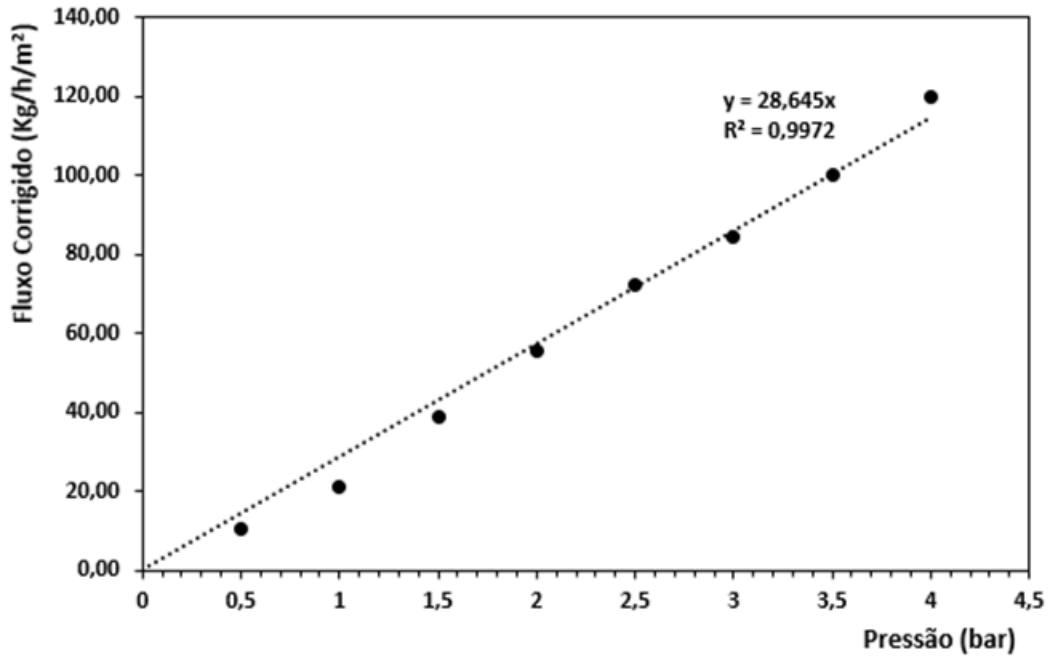


Figura E.7 – Fluxo corrigido da permeação de água ultrapura em função das diferentes pressões de trabalho aplicadas à CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5%.

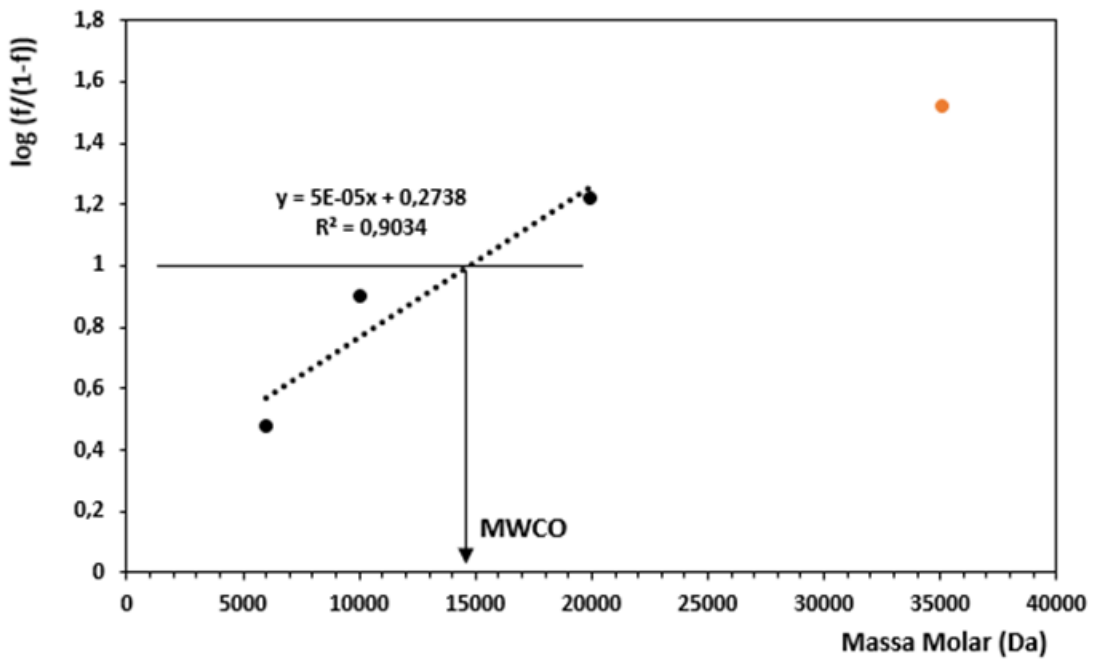


Figura E.8 – Demonstração gráfica da obtenção do MWCO para a CA22/SiO<sub>2</sub>/UiO-66(Zr) 2,5% Pontos laranjas são excluídos