



COPPE/UFRJ

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE OSMOSE INVERSA RESISTENTES
À DEPOSIÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E BIOINCRUSTAÇÕES

Ana Carolina Miranda Costa

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador(es): Cristiano Piacsek Borges

Maria Elizabeth Ferreira Garcia

Rio de Janeiro

Junho de 2009

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE OSMOSE INVERSA RESISTENTES
À DEPOSIÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E BIOINCRUSTAÇÕES

Ana Carolina Miranda Costa

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA QUÍMICA.

Aprovada por:

Prof. Cristiano Piacsek Borges, D.Sc

Dr^a Maria Elizabeth Ferreira Garcia, D.Sc

Prof^a. Magali Christe Cammarota, D.Sc.

Prof^a. Maria José de Oliveira Cavalcanti Guimarães, D.Sc

Prof. Tito Livio Moitinho Alves, D.Sc

Dr. Ronaldo Nobrega, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

JUNHO DE 2009

Costa, Ana Carolina Miranda

Desenvolvimento de membranas de osmose inversa resistentes à deposição de matéria orgânica e bioincrustações/ Ana Carolina Miranda Costa. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2009.

X, 122 p.: il.; 29,7 cm.

Orientador: Cristiano Piacsek Borges

Maria Elizabeth Ferreira Garcia

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2009.

Referencias Bibliográficas: p. 101-122.

1. Osmose inversa. 2. Bioincrustações. 3. Modificação de membranas I. Borges, Cristiano Piacsek *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Ao querido e amado José Maurício e também a minha pequenininha Laura, pela ajuda e compreensão durante esses anos, que foram difíceis e de tanta dedicação ao trabalho.

Aos meus maravilhosos pais, Paulo e Sonia, e irmãos, Nadja, Carlos e Paula, pelo apoio e pela força que sempre me deram, principalmente agora no final da tese.

Aos meus queridos orientadores, Cristiano e Beth, por me incentivarem e me indicarem sempre qual o melhor caminho a seguir para obter os melhores resultados.

Aos meus familiares: Alice, Rogério, Naná, Gaby, Bia, Marina, Pedro, Olivia, Ana, Andréa, Maurinho, Luciana, Paulo Henrique, Arthur e Flavio, vovó Tereza e Tia Silvinha.

Ao pessoal do Laboratório de Membranas (PAM), agradeço toda a ajuda recebida, que não foi pouca. Em especial, agradeço ao Bob e a Mariana, que estão sempre prontos para nos ajudar. E ainda agradeço a Gaby, a Dani e a Paula pela compreensão e apoio.

Agradeço também aos meus amigos da sala 33, Fred, Walter, Alan e Rafael que conviveram e ainda convivem comigo e sempre me auxiliaram.

A minha querida amiga e irmã do coração Luzia, por me entender e me aturar nos momentos bons e ruins.

Agradeço especialmente a Lívia, por ter me ajudado com os experimentos durante minha gravidez e ainda ao professor Ulisses, pelas análises de epifluorescência e ao Eduardo do IMA, pelas análises de RMN.

Por fim, agradeço a todos que direta e indiretamente me ajudaram para que eu atingisse com sucesso os objetivos propostos nesta tese.

Agradeço também o apoio financeiro recebido pelo CNPQ.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANAS DE OSMOSE INVERSA RESISTENTES À DEPOSIÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E BIOINCRUSTAÇÕES

Ana Carolina Miranda Costa

Junho/2009

Orientadores: Cristiano Piacsek Borges

Maria Elizabeth Ferreira Garcia

Programa: Engenharia Química

Um dos maiores problemas das membranas de osmose inversa é o surgimento de bioincrustações em suas superfícies, que pode resultar em perdas irreversíveis da produtividade. Um grande desafio desse processo é o desenvolvimento de novas membranas resistentes a essas incrustações.

Na presente tese, foi proposta a modificação da superfície de uma membrana comercial de poliamida através de recobrimento com poli(álcool vinílico) (PVA). Esse polímero foi escolhido por ser um material hidrofílico e com baixo potencial a incrustações. Além disso, foi estudada a introdução da própolis verde brasileira na solução de PVA, de modo a tornar as membranas mais resistentes à formação de biofilmes. Após o recobrimento, a membrana foi analisada quanto às propriedades de transporte (rejeição e permeabilidade hidráulica) e quanto à resistência a formação da bioincrustação.

As membranas recobertas com soluções de PVA e própolis apresentaram permeabilidade hidráulica relativamente baixa, em torno de 0,6 L/h.m².bar, mas bom resultado de rejeição salina, 98%. Quanto a resistência à formação de biofilme, a própolis inserida na solução de cobertura trouxe resultados promissores, indicando que quanto maior sua concentração na camada de recobrimento, melhor a resistência da membrana às bioincrustações.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

REVERSE OSMOSIS MEMBRANES RESISTANT TO ORGANIC MATTER
DEPOSITION AND BIOUFOULING

Ana Carolina Miranda Costa

June/2009

Advisors: Cristiano Piacsek Borges

Maria Elizabeth Ferreira Garcia.

Department: Chemical Engineering

Biofouling is one of the most serious fouling problems in reverse osmosis membranes, reducing the process efficiency and increasing operational cost. The main challenge of this process is to develop membranes with enhanced resistance to biofouling.

This work investigates an alternative to reduce biofouling modifying the surface of a commercial reverse osmosis membrane inserting a thin layer of polyvinylalcohol, wich is a hydrophilic and low fouling polymer. Besides, propolis was introduced in PVA solution to give a biocide characteristic to it. The water permeate flux and NaCl rejection of the modified membranes was evaluated and the anti-microbial properties were analyzed using *Listeria monocytogenes* as standard microorganism.

Modified membranes presented a low hydraulic permeability, 0.6 L/h.m².bar and the saline rejection remained around 98%, a characteristic value of reverse osmosis membranes. The anti-microbial property of the membrane coated with PVA and propolis was demonstrated by a drastic decrease on cell viability of *Listeria monocytogenes*. It seems that Propolis acted as an inhibitory agent for the adhesion of the microorganisms to the membrane surfaces and subsequent biofilm development.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1	Fundamentos da Osmose Inversa.....	5
2.2	A Polarização de Concentração.....	12
2.3	Formação de Incrustações.....	14
2.3.1	<i>Incrustações por deposição.....</i>	14
2.3.2	<i>Incrustações por precipitação.....</i>	16
2.4	Bioincrustações.....	17
2.4.1	<i>Biofilmes.....</i>	18
2.4.2	<i>Consequências da Formação de Biofilmes nos PSM.....</i>	23
2.4.3.	<i>Prevenção e Controle das Bioincrustações.....</i>	26
2.5	Fabricação de Membranas.....	30
2.6	Modificação de Membranas.....	33
2.6.1.	<i>Polimerização na superfície: inserção de cadeias laterais.....</i>	34
2.6.2	<i>Tratamento com plasma.....</i>	40
2.6.3	<i>Cobrimento de superfícies: imersão em soluções.....</i>	42
2.7	A Própolis.....	46
2.7.1	<i>Composição química da própolis.....</i>	47
2.7.2.	<i>Propriedades biológicas e farmacológicas da própolis.....</i>	50
3	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	53
3.1	Preparo das soluções de PVA.....	53
3.1.1	<i>Reticulação do PVA com ácido maleico.....</i>	54
3.1.3	<i>Preparo da solução de PVA com adição de própolis.....</i>	54
3.2	Reação química entre a própolis e o PVA.....	55
3.3	Preparação de filmes densos.....	56
3.4.	Caracterização da incorporação da própolis no PVA.....	56
3.4.1	<i>Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).....</i>	56
3.4.2	<i>Espectroscopia no UV-visível.....</i>	57
3.4.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	57
3.4.4	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....</i>	57
3.4.5	<i>Termogravimetria (TG).....</i>	57
3.5	Modificação de Membranas de OI.....	58
3.5.1	<i>Recobrimento com polímero hidrofílico.....</i>	58

3.5.2	<i>Recobrimento com solução contendo própolis</i>	58
3.6	Caracterização das Membranas de Osmose Inversa	59
3.6.1	<i>Propriedades de Transporte</i>	59
3.6.2	<i>Propriedades Morfológicas e Superficiais</i>	60
3.6.3	<i>Adsorção de Matéria Orgânica</i>	61
3.6.4	<i>Deposição de Matéria Orgânica – Teste de Permeação</i>	61
3.6.5	<i>Formação do Biofilme</i>	62
3.6.5.1	<i>Adesão e Crescimento do Biofilme</i>	62
3.6.5.2	<i>Contagem de Células Viáveis Aderidas</i>	63
3.6.5.3	<i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	64
3.6.5.4	<i>Microscopia de Epifluorescência</i>	64
3.6.5.5	<i>Teste de permeação – Longa duração</i>	65
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1	Estudo da incorporação da própolis no PVA	66
4.1.1	<i>Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)</i>	67
4.1.2	<i>Espectroscopia na região do UV-visível</i>	78
4.1.3	<i>Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do ¹³C</i>	79
4.1.4	<i>Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	80
4.1.5	<i>Análise da Estabilidade Térmica (TGA)</i>	81
4.2	Modificação superficial de membranas de OI	82
4.2.1	<i>Propriedades de Transporte e Rejeição Salina</i>	83
4.2.2	<i>Propriedades Morfológicas e Superficiais</i>	88
4.2.3	<i>Adsorção de Matéria Orgânica</i>	90
4.2.3.1	<i>Adsorção de Albumina de Soro Bovino</i>	90
4.2.3.2	<i>Teste de Permeação</i>	92
4.2.4	<i>Formação do Biofilme</i>	93
4.2.4.1	<i>Quantificação: Contagem de Células Viáveis Aderidas</i>	93
4.2.4.2	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	94
4.2.4.3	<i>Microscopia de Epifluorescência</i>	95
4.2.4.4	<i>Teste de permeação - Longa duração</i>	96
5	CONCLUSÕES E SUGESTÕES	98
5.1	Conclusões	98
5.2	Sugestões	100
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101

LISTA DE SIGLAS

AA – Ácido acrílico

AAG - Ácido 2-acrilamido glicólico

AC – Acetato de celulose

ATR – Refletância Total Atenuada

BFR – Taxa de formação de biofilme

BSA – Albumina de soro bovino

CCD - Cromatografia em camada delgada

CCDAE – Cromatografia em camada delgada de alta eficiência

CG - Cromatografia gasosa

CG – MS - Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CPMAS – Polarização Cruzada e rotação no ângulo mágico

DMSO – Dimetil-sulfóxido

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

ED – Eletrodiálise

EP – Extrato de própolis

FR – Fouling resistant

FTIR – Espectroscopia no Infra-vermelho com Transformada de Fourier

GA – Glutaraldeído

HEMA - Metacrilato de 2-hidróxi-etila

MA – Ácido metacrílico

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

MEV-EC – Microscopia eletrônica de emissão de campo

MF – Microfiltração

MFA – Microscopia de Força Atômica

NF – Nanofiltração

NVF - N-vinil-formamida

OI - Osmose Inversa

PA – Poliamida

PAM – Laboratório de Processos com Membranas

PEGMA - Poli(metacrilato de glicol etilênico)
PES – Poli (éter sulfona)
PET – Poli(tereftalato de etileno)
PSM - Processos de Separação por Membranas
PVA – Poli (álcool vinílico)
R – Rejeição
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
SPE – Substância polimérica extracelular
SPM - Metacrilato de 3-sulfo-propila na forma de sal de potássio
T_g – Temperatura de transição vítrea
TGA – Termogravimetria
UF – Ultrafiltração
UV – Ultravioleta
VTC – Variação de tempo de contato

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a ONU, o cenário atual de escassez de água é bastante assustador: mais de 1 bilhão de pessoas - cerca de 18% da população mundial - estão sem acesso a uma quantidade mínima de água de boa qualidade para consumo. A questão é que, mantidos os atuais padrões de consumo e de danos ao meio ambiente, o quadro pode piorar muito e rapidamente: calcula-se que, em 2025, dois terços da população global - 5,5 bilhões de pessoas - poderão ter dificuldade de acesso à água potável; em 2050, já seria cerca de 75% da humanidade. Segundo a FAO, agência das Nações Unidas para agricultura e alimentação, sediada em Roma, o consumo de água dobrou em relação ao crescimento populacional no último século (WILLEY, 2009). Para minimizar esses problemas vêm sendo utilizadas novas técnicas de tratamento e recuperação dos recursos hídricos, onde se incluem os processos de separação com membranas (PSM), que vêm ganhando espaço como técnica de separação viável e segura. Dentre os PSM, a osmose inversa (OI) se destaca principalmente para o tratamento de águas e reuso de efluentes líquidos. Sua principal aplicação no mercado americano é na dessalinização de águas, como pode ser observado na Figura 1.1 (RAMOS, 2008).

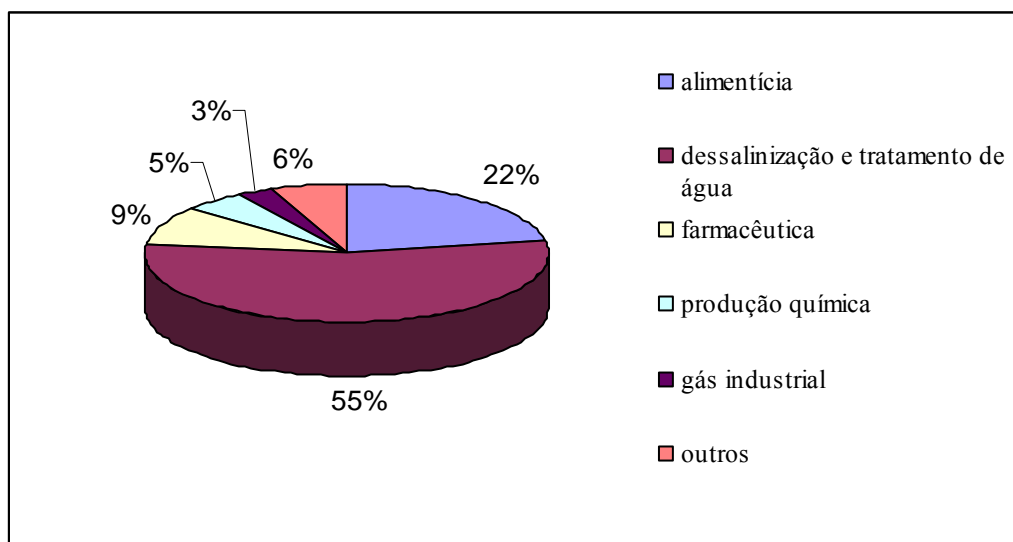


Figura 1.1. Distribuição das aplicações dos PSM no mercado norte americano, estimado em US\$ 1,5 bilhões em 2001. Adaptado de: The Freedonia Group Inc., Membrane Technology, ATKINSON, 2002.

As propriedades de transporte das membranas são de fundamental importância para sua competitividade em uma determinada aplicação. Essas propriedades compreendem o fluxo de permeado e a seletividade da membrana a um determinado componente presente na solução de alimentação. Usualmente, durante o processo de separação, como a osmose inversa, por exemplo, observa-se uma queda da permeabilidade com o tempo, que pode ocorrer devido a mudanças na morfologia da membrana pela pressão aplicada, à polarização de concentração ou à formação de incrustações (HABERT *et al.*, 2005).

A formação das incrustações aumenta os custos operacionais, pois gera uma maior demanda de energia (pelo aumento da pressão de operação), diminui os intervalos entre as limpezas químicas e reduz significativamente o tempo de vida útil das membranas. A ocorrência de incrustações é, praticamente, inevitável, mas pode ser minimizada pela escolha dos pré-tratamentos adequados, pelo correto dimensionamento da planta e pela melhor seleção das condições de operação do sistema (SEIDEL e ELIMELECH, 2002).

Como a redução do fluxo permeado por deposição de matéria orgânica é um dos efeitos mais nocivos para o desempenho dos sistemas de osmose inversa, o desenvolvimento de novas membranas, apresentando propriedades superficiais que as tornem capazes de reduzir a evolução da camada de deposição é de grande relevância para a tecnologia dos processos com membranas e, conseqüentemente, para o reuso de água.

O desenvolvimento de novos materiais para as diversas aplicações em que as membranas podem estar incluídas envolve um grande esforço e custo ainda elevado, porém, muitas pesquisas têm sido impulsionadas pelo fato de reações simples de modificação de polímeros conseguirem promover boas características de transporte às membranas, além de reduzirem a formação das incrustações.

Os processos de modificação de uma membrana envolvem a adição de um polímero na superfície (recobrimento) ou a reação de polimerização na superfície da membrana, visando minimizar interações secundárias indesejadas (adsorção ou adesão)

ou introduzir interações adicionais (afinidade, propriedades catalíticas) para aumentar a seletividade. O sucesso da funcionalização da superfície é a sinergia entre as propriedades superficiais da membrana original com o novo polímero a ser introduzido.

Nos últimos 30 anos, alguns polímeros foram utilizados com sucesso na fabricação de membranas. As membranas comerciais de celulose regenerada podem ser consideradas como as primeiras a entrarem no mercado como membranas *low fouling*, ou seja, com baixa tendência à formação de incrustações (ULBRICHT, 2006). Atualmente, as membranas mais utilizadas nas unidades de OI, dentro e fora do país, são membranas poliméricas compostas, formadas por uma pele densa de poliamida (PA). O uso das poliamidas aromáticas tem vantagens em relação aos outros polímeros devido às suas excelentes características de fluxo de permeado e rejeição salina (RAMOS, 2008). Apesar disso, essas membranas apresentam baixa tolerância a agentes oxidantes, como o cloro, o que inviabiliza o pré-tratamento, podendo trazer, conseqüentemente, uma maior proliferação de microrganismos e o aumento da formação de biofilmes em suas superfícies.

Sendo assim, a limitação causada na membrana pela formação de bioincrustações em sua superfície pode ser destacada como a principal motivação deste trabalho. Dentro deste contexto, o objetivo geral desta tese é investigar as condições adequadas para o desenvolvimento de membranas com baixa tendência à formação de bioincrustações, sem afetar em demasia suas propriedades de transporte. Os objetivos específicos deste trabalho incluem: i) o desenvolvimento de técnicas de modificação de membranas de osmose inversa a partir do recobrimento de suas superfícies com polímeros hidrofílicos; ii) a melhor compreensão dos fenômenos envolvidos na formação das incrustações; iii) o estudo da incorporação de um agente antimicrobiano na matriz do polímero de recobrimento.

Para o desenvolvimento desta tese foi selecionada uma membrana comercial, com camada seletiva baseada em poliamida, para o estudo dos procedimentos de modificação superficial. Esta membrana e as membranas modificadas foram submetidas a testes de caracterização de suas propriedades físico-químicas e de transporte. Além disso, elas foram investigadas quanto a sua eficácia na redução da formação de bioincrustações. Os resultados obtidos se inserem nas pesquisas do Laboratório de

Processos com Membranas (PAM) voltadas ao desenvolvimento de membranas de osmose inversa e possibilitam a geração de uma nova classe de membranas.

Um dos aspectos originais deste trabalho consiste na utilização de um agente antibiótico natural (própolis) inserido na solução polimérica de revestimento, de modo a tornar a membrana mais resistente às bioincrustações.

Esta tese está dividida em cinco Capítulos: esse primeiro apresenta uma introdução geral sobre o assunto a ser abordado. No Capítulo 2 foi realizado o levantamento bibliográfico dos principais aspectos relacionados às membranas, os materiais mais utilizados em sua fabricação e as principais rotas de modificação desses materiais. A metodologia seguida para a realização dos testes experimentais é apresentada no Capítulo 3, sendo os resultados apresentados e discutidos no Capítulo 4. Por fim, as conclusões desta tese bem como as sugestões para trabalhos futuros estão descritos no Capítulo 5.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Neste capítulo são abordados os principais aspectos relacionados a esta tese de doutorado, procurando resumir os fundamentos teóricos e os avanços registrados na literatura. Neste sentido, será apresentado o estado da arte do processo de Osmose Inversa (OI), com suas principais aplicações e situação atual no mercado mundial. Além disso, serão descritas as principais limitações do processo de OI, como a polarização de concentração e as incrustações.

Como o tema principal deste trabalho é a modificação de superfícies de membranas para a redução da deposição de material orgânico e de microrganismos, será dada maior ênfase nas bioincrustações e os seus principais efeitos adversos nas membranas e serão descritos os principais métodos para pré-tratamento da corrente de alimentação de sistemas de OI, utilizados com o objetivo de minimizar a formação dessas incrustações.

Também será apresentada uma discussão sobre os materiais comumente utilizados na fabricação de membranas de OI, bem como um levantamento das principais pesquisas sobre modificação desses materiais para a redução da camada de deposição de material orgânico e de microrganismos.

Finalmente, será abordado o uso da própolis como bactericida que, experimentalmente, será incorporada à solução polimérica de recobrimento para a modificação da superfície das membranas, visando a redução da formação de biofilme.

2.1 Fundamentos da Osmose Inversa

As membranas podem ser definidas como barreiras seletivas ao transporte, separando duas fases fluidas. Desta forma, nos processos de separação com membranas (PSM), a corrente de alimentação é separada em duas: concentrado e permeado, como representado esquematicamente na Figura 2.1.

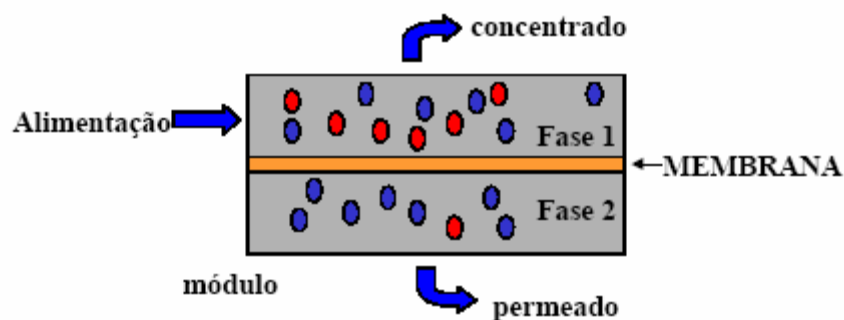


Figura 2.1 Representação esquemática do fracionamento de uma solução utilizando permeação seletiva através de uma membrana.

A separação utilizando membranas pode ocorrer por diferença na interação dos permeantes com o material que forma a membrana (mecanismo de sorção-difusão) ou por exclusão devido à diferença de tamanho entre as partículas ou moléculas. Na primeira situação as membranas são consideradas densas, ou seja, o transporte dos permeantes ocorre por processos difusivos através dos espaços intersticiais (volume livre) do material que forma a membrana. Na segunda situação as membranas são consideradas porosas e o transporte ocorre preferencialmente através dos poros, predominando o mecanismo de transporte convectivo. Desta forma, a aplicação de determinada membrana depende basicamente de sua morfologia e do material que a constitui (MULDER, 1987).

Na Figura 2.2, os PSM que utilizam gradiente de pressão como força motriz são classificados de acordo com o tamanho das partículas ou moléculas a serem separadas. Quanto menor o tamanho destas espécies, menor o tamanho de poro da membrana e, conseqüentemente, maior deve ser a diferença de pressão aplicada (BORGES *et al.*, 1997). No caso das membranas de osmose inversa, considera-se que a separação ocorre através do mecanismo de sorção-difusão, ou seja, a membrana não apresenta poros nem escoamento convectivo. Entretanto, o fluxo do solvente também é proporcional ao gradiente de pressão, pois a pressão é o principal parâmetro que influencia o seu potencial químico (HABERT *et al.*, 2005).

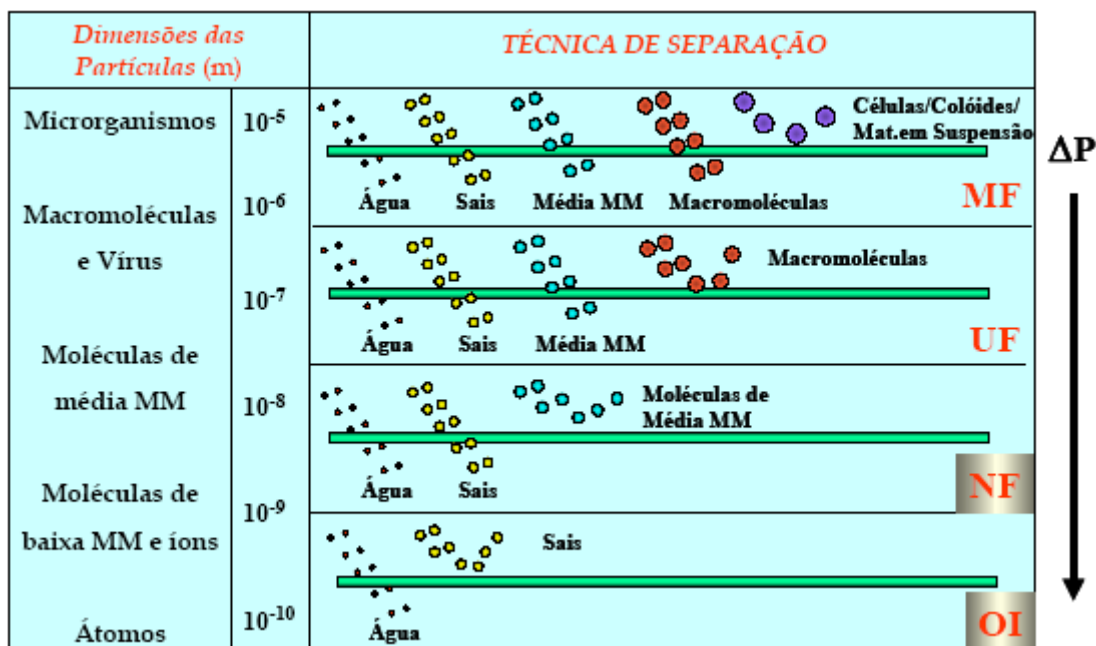


Figura 2.2 Classificação dos Processos de Separação por Membranas.

A osmose inversa (OI) é um PSM empregado quando se deseja reter solutos de baixa massa molar, tais como sais inorgânicos dissolvidos e pequenas moléculas orgânicas (glicose, por exemplo). O nome “osmose inversa” se deve ao fato de que neste tipo de processo o fluxo permeado ocorre no sentido contrário ao sentido do fluxo osmótico normal (CARVALHO *et al.*, 2001).

O fenômeno da osmose é observado quando duas soluções de concentrações diferentes são separadas por uma membrana permeável ao solvente e praticamente impermeável ao soluto. O solvente permeia a membrana no sentido do meio mais diluído para o meio mais concentrado até ser atingido o equilíbrio termodinâmico, representado pela igualdade dos potenciais químicos (μ_i) de cada componente em cada fase. Nesta condição, a diferença de pressão hidráulica é equivalente à diferença de concentração, mantendo-se um equilíbrio dinâmico para o transporte do solvente através da membrana. Esse fenômeno está esquematizado nas Figura 2.3-a e 2.3.-b, onde uma solução é inicialmente separada de seu solvente puro por uma membrana semi-permeável (HABERT *et al.*, 2005).

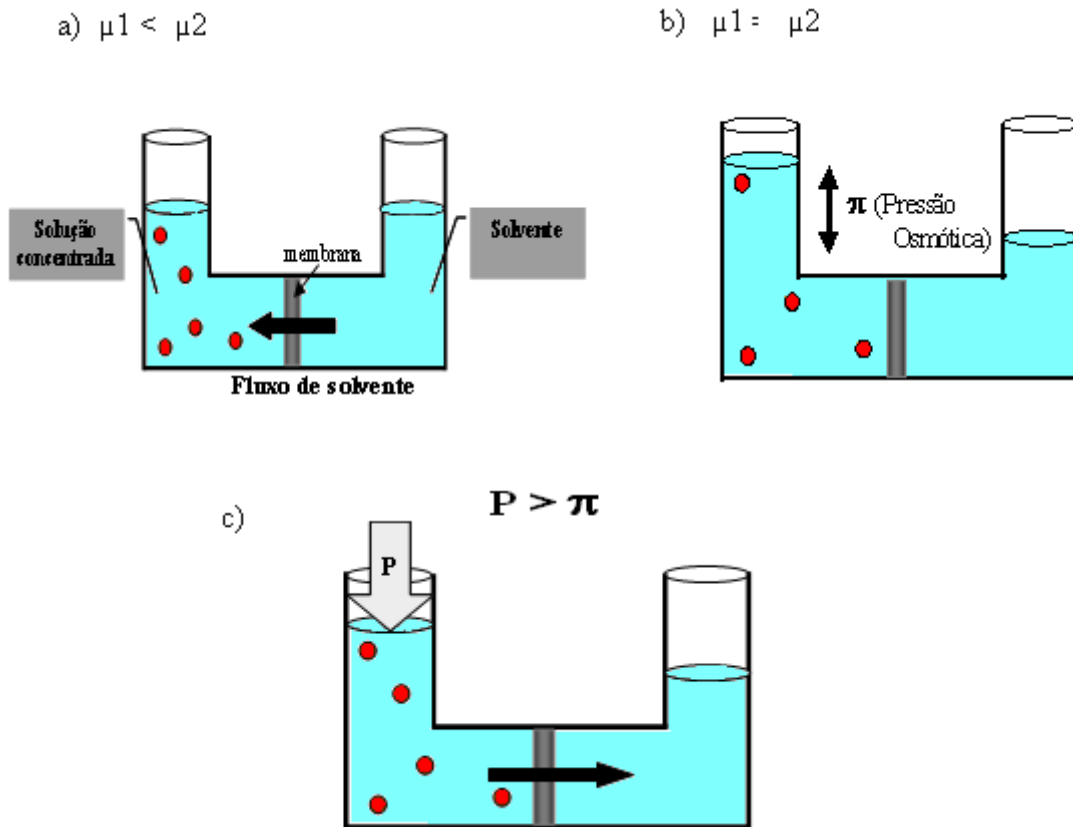


Figura 2.3 O fenômeno osmótico e o processo de Osmose Inversa. a) Condição inicial; b) Equilíbrio osmótico; c) Condição da Osmose Inversa.

No equilíbrio osmótico, o desnível atingido entre as colunas caracteriza a pressão osmótica (π) da solução, na temperatura do teste. No caso de duas soluções de concentrações diferentes, o desnível corresponderá à diferença de pressão osmótica das soluções (HABERT *et al.*, 2005).

A Osmose Inversa é provocada quando se aplica na solução com maior concentração de solutos uma pressão de valor maior que o de sua pressão osmótica. Neste caso, para se restabelecer o equilíbrio, o solvente difunde no sentido da solução mais concentrada para a menos concentrada, que no exemplo da Figura 2.3-c é o compartimento do solvente puro. Inverte-se assim o sentido do escoamento do solvente que ocorreria na osmose, daí a denominação de Osmose Inversa (HABERT *et al.*, 2005).

A pressão de operação no processo de OI é elevada e, dependendo da solução a ser processada, pode atingir valores em torno de 15 a 80 bar. No caso da água do mar,

por exemplo, a pressão osmótica está em torno de 25 bar e para produzir água potável, usualmente, emprega-se pressões de operação que chegam a 40 bar (HABERT *et al.*, 2005).

A OI vem se tornando uma tecnologia com bastante aceitação no setor industrial e de tratamento de água, cuja aplicação mais comum envolve simplesmente a remoção de contaminantes indesejáveis. Na Tabela 2.1 são apresentadas diversas aplicações atuais e algumas em potencial dos processos de Osmose Inversa (OI) e Nanofiltração (NF). Seu principal campo de aplicação é a dessalinização de águas salobras e marinhas, para uso em navios, plataformas de extração de petróleo, em poços artesianos nas regiões áridas, etc. Este processo é também aplicado em larga escala na produção de água ultrapura nas indústrias eletrônicas, nos hospitais, indústrias farmacêuticas, etc (CARVALHO, 2003).

Tabela 2.1 Principais aplicações da Osmose Inversa e da Nanofiltração

Atividade	Aplicação
Produção de água	Dessalinização de água do mar e água salobra, desmineralização de água para caldeira, água ultrapura, pré-tratamento de água industrial, etc.
Indústria de alimentos	Concentração e clarificação de sucos de frutas, recuperação de aromas, fragrâncias, pectinas e proteínas, concentração de leite e soro de queijo recuperação de produtos e insumos, etc.
Indústria farmacêutica e médica de uso laboratorial	Recuperação de produtos da fermentação, estudos bioquímicos e genéticos, fabricação de medicamentos, análises químicas, preparação de meios para cultivo de tecidos, produção de água pura esterilizada, biorreator a membrana, etc.
Indústria de bioprodutos	Separação, concentração e produção de aminoácidos, recuperação de enzimas, produção de antibióticos, etc.
Tratamento de efluentes oleosos	Tratamento de águas residuais: da indústria petroquímica, do processamento de petróleo, do processamento de gorduras vegetais e animais emulsificadas, etc.
Indústria do açúcar	Pré-concentração do caldo de cana limpo e descoloração do açúcar.
Indústria automobilística	Reuso de água e recuperação de produtos químicos.
Tratamento de esgoto	Desnitrificação, desfosforização e dessalinização de esgotos para recuperação e reciclo.
Indústria de couro	Tratamento de efluentes aquosos.
Indústria de papel e celulose	Recuperação de lignina.
Indústria eletrônica	Produção de água ultrapura para a fabricação de condutores e para lavagem de microcircuitos.
Indústria nuclear	Despejo de águas radiativas.

*CARVALHO, 2003.

Na dessalinização de água o processo de OI, juntamente com o processo de evaporação (“Flash”), é o mais utilizado, ficando uma pequena parcela do mercado para o processo de eletrodialise (ED), conforme mostrado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 Processos de dessalinização mais utilizados.

País	Capacidade (m ³ /dia)	Produção mundial (%)	“Flash” (%)	OI (%)	ED (%)
Arábia Saudita	5.253.200	25,9	65,7	31	1,9
Estados Unidos	3.092.500	15,2	1,7	78	11,4
Emirados Árabes	2.164.500	10,7	89,8	6,5	0,2
Kuwait	1.538.400	7,6	95,5	3,4	0,3
Japão	745.300	3,7	4,7	86,4	6,8
Líbia	683.300	3,4	67,7	19,6	9,8
Quatar	566.900	2,8	94,4	0,0	0,0
Espanha	529.900	2,6	10,6	68,9	10,9
Itália	518.700	2,6	43,2	20,4	19,2
Bahrain	309.200	1,5	52,0	41,7	4,5
Oman	192.000	0,9	84,1	11,7	0,0
TOTAL	15.594.500	76,9	54,8	36,1	4,8

*MILER, 2003.

Segundo relatório do BCC Research (HANFT, 2008), o mercado mundial de plantas de dessalinização aumentou 1,9 bilhões em 2007 e deve atingir a marca de 3,6 bilhões até 2012, com um crescimento anual de 13,4%. O gráfico da Figura 2.4 mostra a projeção do mercado mundial de plantas de dessalinização até 2012.

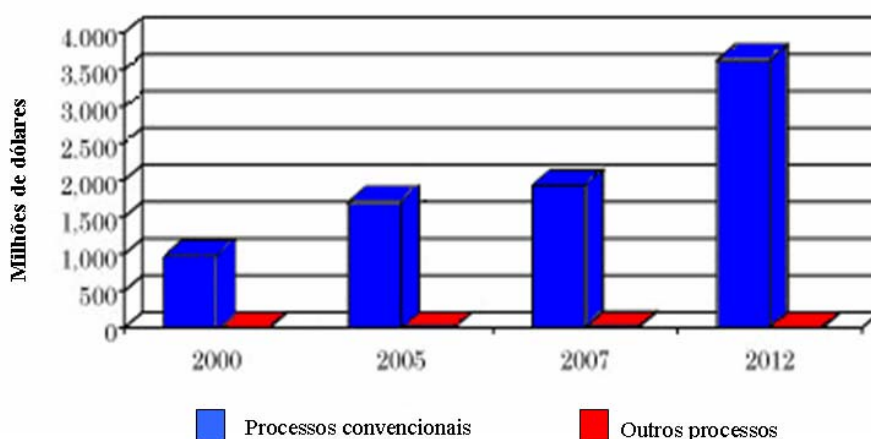


Figura 2.4. Previsão do mercado mundial de plantas de dessalinização desde 2000 até 2012.

As membranas de OI podem ser avaliadas em termos de rejeição, fluxo permeado e recuperação. A caracterização das membranas quanto ao fluxo permeado é dada através da seguinte relação (MULDER, 1987):

$$J = L_p (\Delta p - \Delta \pi) \quad (2.1)$$

Onde, J é o fluxo permeado, L_p é a permeabilidade hidráulica, Δp é a diferença de pressão entre os dois lados da membrana e $\Delta \pi$ é a diferença de pressão osmótica entre os dois lados da membrana.

A capacidade seletiva das membranas de OI pode ser avaliada através da rejeição ao soluto R(%), dada por:

$$R(\%) = \left[\frac{C_o - C_p}{C_o} \right] \times 100 \quad (2.2)$$

Onde, C_o e C_p representam a concentração do soluto na alimentação e no permeado, respectivamente (MULDER, 1987).

A recuperação é definida como a razão entre as vazões de permeado e da alimentação, expressa em termos de porcentagem (Equação 2.3). Ela é utilizada para descrever a eficiência de operação de um sistema e está relacionada ao potencial de formação de incrustações (MULDER, 1987)

$$\text{Recuperação}(\%) = \frac{Q_p}{Q_A} \times 100 \quad (2.3)$$

Onde Q_p é a vazão de permeado e Q_A é a vazão da alimentação.

Quanto mais alta a recuperação, mais alta será a concentração dos solutos rejeitados pela membrana na corrente do concentrado, aumentando o potencial para a formação de incrustações. Quando não se pode modificar a solubilidade dos sais, através do uso de anti-incrustantes ou pela adição de ácidos, haverá um limite de recuperação para a planta de OI. As pequenas unidades de OI trabalham com uma recuperação de 30% ou ainda menor. As plantas mais modernas usadas para

dessalinização de água do mar têm sido projetadas para trabalharem com uma recuperação mais alta que 50%, enquanto as utilizadas para água salobra podem operar com valores de recuperação na faixa de 50 – 80% (BYRNE, 2002).

A permeação seletiva da água pela membrana leva a um aumento da concentração dos solutos rejeitados próximo a sua superfície, sendo gerado um gradiente de concentração, que atua para que haja a difusão desses solutos de volta para o seio da alimentação. Esse fenômeno é chamado de polarização de concentração.

2.2 A Polarização de Concentração

A polarização de concentração é um fenômeno inerente a todo PSM. Toda vez que os componentes de uma solução permeiam seletivamente através de uma membrana, ocorre um aumento da concentração do soluto com menor permeabilidade na interface membrana/solução. Na condição de regime estabelecido, o arraste por convecção dos solutos em direção a superfície da membrana é igual ao fluxo difusivo destes para o seio da solução (MULDER, 1987). Este fenômeno é ilustrado esquematicamente na Figura 2.5.

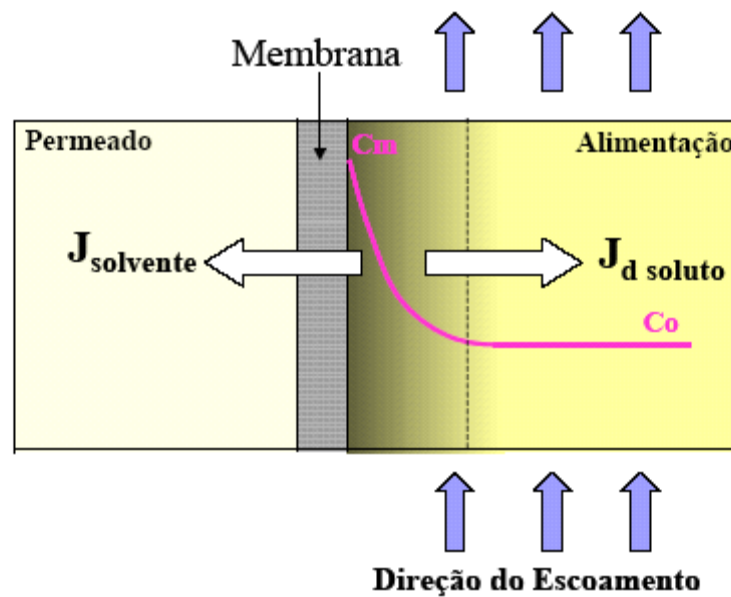


Figura 2.5. O fenômeno da polarização de concentração.

Os possíveis efeitos negativos da polarização por concentração são (MULDER, 1987):

- decréscimo do fluxo de permeado devido ao aumento da pressão osmótica na superfície da membrana;
- aumento da passagem de soluto através da membrana;
- precipitação de soluto se a concentração exceder o limite de solubilidade do sal;
- favorecimento de incrustações por deposição.

Embora a polarização de concentração seja reversível, a sua ocorrência pode dar origem a outros tipos de fenômenos que prejudicam irremediavelmente o desempenho da membrana, como incrustações por deposição, incrustações por precipitação e bioincrustações (HABERT *et al.*, 2005), os quais serão comentados mais adiante.

Em um sistema de OI é comum observar uma queda contínua no fluxo de permeado, indicando que outros fenômenos além da polarização de concentração, devem estar presentes. Em alguns casos, o fluxo de permeado fica tão reduzido que inviabiliza a operação. A variação continuada do fluxo permeado com o tempo é atribuída a possíveis alterações na membrana, provocada pelas espécies presentes na solução processada. Essas alterações, em geral, são relacionadas à formação de incrustações na superfície da membrana (*fouling*). A Figura 2.6 ilustra a redução do fluxo de permeado provocado pela polarização de concentração e pela formação de incrustações na membrana (MULDER, 1987).

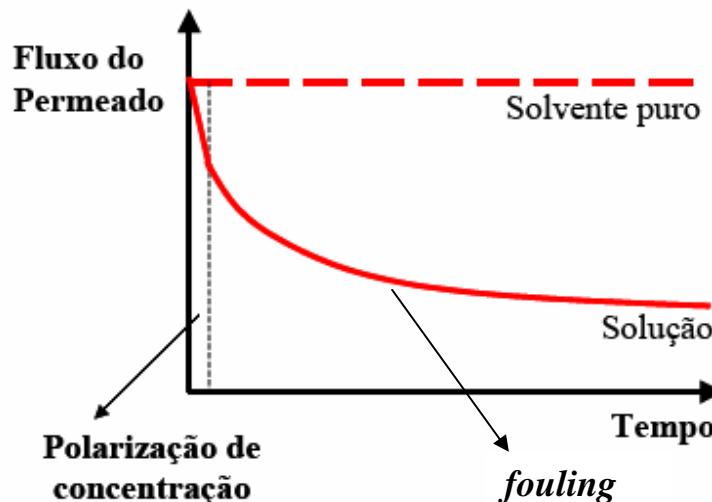


Figura 2.6. Queda no fluxo permeado causada pela polarização de concentração e pela formação de incrustações.

2.3 Formação de Incrustações

Os principais problemas operacionais dos PSM são causados por vários tipos de incrustações, que incluem: incrustações por deposição, incrustações por precipitação e bioincrustações. A formação das incrustações aumenta os custos operacionais, pois gera uma maior demanda de energia (pelo aumento da pressão de operação), diminui os intervalos entre as limpezas químicas e reduz significativamente o tempo de vida útil das membranas (SEIDEL e ELIMELECH, 2002).

2.3.1 Incrustações por deposição

A deposição de sólidos suspensos, tais como: colóides, moléculas orgânicas, produtos de corrosão, hidróxido de ferro, algas e materiais particulados finos, pode ocorrer gradativamente na superfície da membrana. Estes materiais podem ainda causar entupimento do canal de alimentação dos módulos de membranas. Alguns tipos de depósitos são extremamente difíceis de remover, podendo levar a incrustações irreversíveis, conduzindo à perda do desempenho do sistema de OI pela diminuição do fluxo e da rejeição (HABERT *et al.*, 2005).

Os colóides representam uma categoria bem ampla de compostos como óxidos metálicos, sabões, detergentes, proteínas, matéria orgânica, silicatos e argila. Normalmente, na faixa de pH das águas naturais, estas substâncias possuem carga superficial negativa, enquanto que os íons solúveis com carga positiva encontram-se dispersos em torno das partículas coloidais (ZHU e ELIMELECH, 1997). O aumento da concentração de partículas coloidais leva à compressão da camada iônica e à coalescência das partículas (coagulação). Este efeito é intensificado na superfície da membrana pelo efeito de polarização de concentração, especialmente em altas pressões de operação, que são características dos processos de OI e, normalmente, estão associadas a elevados fluxos permeados de solvente. O resultado deste efeito é a formação de uma camada gelificada sobre a superfície da membrana, que é difícil de ser removida (HABERT *et al.*, 2005).

A técnica mais utilizada para o pré-tratamento visando à remoção dos colóides é coagulação/floculação seguida de uma filtração convencional. Os coagulantes típicos são sulfato de alumínio [$Al_2(SO_4)_3$], cloreto férrico ($FeCl_3$) e materiais poliméricos ou polieletrólitos (BHATTACHARYYA e WILLIAMS, 1992). Como a adição desses produtos pode acabar causando incrustações nas membranas, também são utilizadas membranas de microfiltração e ultrafiltração para a retenção quase completa de partículas em suspensão, além de material celular e microrganismos (HABERT *et al.*, 2005).

Materiais orgânicos como os ácidos fúlvico e húmico podem interagir com as membranas de diversas maneiras. O mecanismo de interação depende das características da molécula orgânica e da sua afinidade com o material da membrana. Os compostos orgânicos adsorvidos ou depositados na superfície da membrana modificam suas características superficiais, tais como hidrofobicidade e carga, conduzindo a variações no fluxo. Além disso, podem atuar como nutrientes para microrganismos e, portanto, facilitar o aparecimento de bioincrustações (JARUSUTTHIRAK *et al.*, 2002).

A incrustação causada pelas substâncias orgânicas conduz ao declínio do fluxo devido aos seguintes fatores: adsorção na superfície e no poro da membrana, formação de uma camada de gel, deposição e formação da torta por colóides orgânicos e entupimento ou bloqueio dos poros por moléculas com diâmetro menor ou igual aos

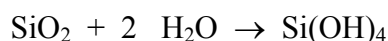
poros superficiais da membrana. As incrustações orgânicas podem ser severas e persistentes. Os mecanismos que governam a adsorção não são totalmente compreendidos. Alguns autores sugerem a predominância de interações ácido-base e a formação de pontes de hidrogênio entre a matéria orgânica e a membrana. Quanto mais forte é a adsorção do composto pela membrana, maior é a queda do fluxo (HABERT *et al.*, 2005).

Os métodos mais utilizados para a remoção de compostos orgânicos incluem pré-tratamento por coagulação e filtração, adsorção por carbono, oxidação química, ultrafiltração ou microfiltração (BHATTACHARYYA e WILLIAMS, 1992).

2.3.2 Incrustações por precipitação

A incrustação por precipitação decorre da precipitação de compostos solúveis presentes na alimentação, quando estes atingem o limite de solubilidade. Como o permeado consiste de água com baixa concentração de sal, a concentração de íons na alimentação aumenta. Devido à polarização de concentração, este efeito se intensifica próximo à superfície da membrana, podendo atingir o limite de solubilidade dos sais e ocorrer a precipitação. Os sais mais comuns de precipitar, em ordem de importância são: carbonato de cálcio, sulfato de cálcio, complexos de sílica, sulfato de bário, sulfato de estrôncio e fosfato de cálcio (VROUWENVELDER *et al.*, 2003).

Além dos sais, a sílica, um dos materiais mais abundantes na superfície terrestre, também pode precipitar na superfície da membrana. A presença de sílica na água é devido à dissolução da sílica baseada na seguinte reação:



A solubilidade da sílica é fortemente afetada pela temperatura, pH e presença de sais. A 25°C e pH neutro, a solubilidade da sílica está em torno de 96 mg/L. Em concentrações maiores que 96 mg/L é possível que a sílica comece a precipitar, porém sua cristalização é lenta e o baixo tempo de residência da solução de alimentação no sistema de OI permite exceder ligeiramente este limite. Muitos sistemas de OI podem

operar com segurança com concentrações de sílica de até 140 mg/L na corrente do concentrado, sem que haja precipitação. Quando o pH da água é menor que 8, o ácido silícico (H_4SiO_4) se dissocia no ânion silicato (SiO_3^{2-}), aumentando a solubilidade da sílica. Porém, na presença de cátions multivalentes em altas concentrações, formam-se silicatos insolúveis, que depositam na superfície da membrana. Em pH maior que 8, a solubilidade também aumenta, mas a presença de ferro ou alumínio irá provocar a precipitação dos silicatos (BYRNE, 2002).

A sílica e os silicatos são difíceis de remover. Soluções de bifluoreto de amônio, embora considerados muito perigosos, podem ser eficientes quando a incrustação não for severa (BYRNE, 2002).

A Figura 2.7 mostra a superfície de uma membrana comercial de poliamida com incrustação por precipitação.

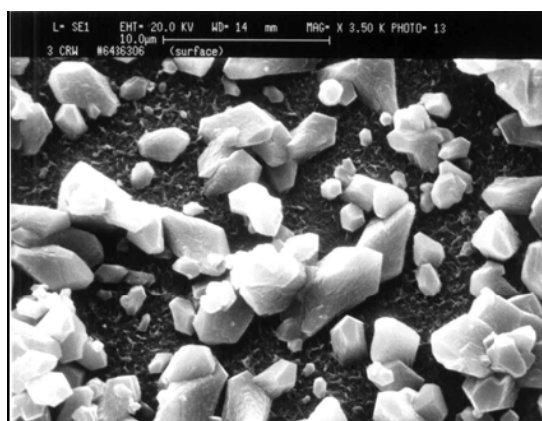


Figura 2.7. Fotomicrografia da superfície de uma membrana comercial (ESPA, Hydranautics) após sofrer incrustação por precipitação (GABELICH *et al.*, 2002).

2.4 Bioincrustações

Segundo BAKER e DUDLEY (1998), as bioincrustações ocorrem devido ao acúmulo de material orgânico na superfície da membrana, incluindo fragmentos celulares, substância polimérica extracelular (SPE) e microrganismos, que resulta na formação de biofilmes.

Os biofilmes podem ser benéficos em várias áreas: nas estações de tratamento de águas ou efluentes, quando se removem organismos patogênicos e reduz-se a quantidade de matéria orgânica; na produção de vinagre e de ácido cítrico; em aplicações farmacêuticas, através da produção de metabólitos secundários (OKITA e KIRWAN, 1986); e em processos biológicos para a extração de metais a partir de minério (RAWLINGS, 2002).

Em contrapartida, o crescimento não desejado dos biofilmes tem um impacto negativo em diversas atividades e representam perdas significativas para as indústrias (XAVIER *et al.*, 2005). Biofilmes formados no interior de tubulações podem reduzir a vazão. Outras conseqüências negativas do aumento das bioincrustações são: queda da transferência de calor, contaminação do produto, corrosão dos tubos, etc. Nas indústrias de alimentos, os biofilmes podem resultar na contaminação total dos equipamentos e conseqüentemente dos alimentos, colocando em risco a segurança alimentar, principalmente se essa contaminação ocorrer após uma etapa de pasteurização/esterilização do produto (HOOD e ZOTTOLA, 1995, POULSEN, 1999, DJORDJEVIC *et al.*, 2002, MAUKONEN *et al.*, 2003). No caso dos processos de OI e NF a formação de biofilme aumenta a resistência ao transporte, reduzindo o fluxo permeado ou levando a necessidade de maior consumo de energia pelo aumento da pressão de operação (HABERT *et al.*, 2005).

Para a melhor compreensão dos efeitos das bioincrustações é importante entender os processos naturais de formação e desenvolvimento de biofilme.

2.4.1 Biofilmes

Biofilmes são sistemas muito complexos que consistem de células microbianas e colônias introduzidas em um gel de um polissacarídeo cuja estrutura e composição são função da idade do biofilme e das condições ambientais (CAMMAROTA, 1998). Os biofilmes contêm partículas de proteínas, lipídeos, fosfolipídeos, carboidratos, sais minerais, vitaminas, entre outros, formando uma crosta onde os microrganismos de uma ou mais espécies se desenvolvem. Eles podem ser formados por vários tipos de organismos, incluindo os patogênicos (NIVENS *et al.*, 1995).

Existem divergências entre os pesquisadores sobre a divisão dos microrganismos em grupos formadores e não formadores de biofilmes, pois o termo biofilme se refere à interação dinâmica entre as populações bacterianas compostas por uma ou mais espécies, caracterizadas por heterogeneidades temporais (desenvolvimento), espaciais (organização espacial), funcionais (variação na atividade metabólica), estrutura hierárquica e estágios evolucionários bem definidos. Deve-se entender bem o papel da superfície no crescimento da população bacteriana e se existe comunicação célula a célula dentro da população (KALMOKOFF *et al.*, 2001, TAKHISTOV e GEORGE, 2004).

Há 50 anos, Claude Zobell investigou o crescimento de algumas bactérias marinhas em superfícies, confirmado mais tarde por outros pesquisadores, que observaram o crescimento de diversos ecossistemas microbianos (STOODLEY *et al.*, 2002). As bactérias crescem e se reproduzem ao longo da superfície, formando o biofilme. Conforme o biofilme vai crescendo, as bactérias vão morrendo e servindo de alimento para outras bactérias (BYRNE, 2002). Nas águas industriais ou naturais, o biofilme pode ser formado mesmo em locais onde há baixa concentração de nutrientes.

Existem várias teorias sobre a formação dos biofilmes, sendo os mecanismos mais usualmente aceitos, aqueles que ocorrem em processos de duas ou três fases. No modelo de duas fases, a primeira fase é um processo reversível que envolve a aproximação da bactéria à superfície e sua adsorção. Esse processo de adesão do microrganismo ocorre mediado principalmente por forças de Van der Waals e atrações eletrostáticas. A segunda fase é tempo-dependente e só ocorre após o processo inicial de adesão superficial. Nesta fase ocorre interação física da célula com a superfície que ancora a bactéria. (HOOD e ZOTTOLA, 1995, LINDSAY e HOLY, 1997, KALMOKOFF *et al.*, 2001, TAKHISTOV e GEORGE, 2004).

No modelo de três fases o processo é observado em termos de distância da bactéria em relação à superfície. Em distâncias maiores que 50nm, somente forças de longo alcance operam e a ligação é reversível. Conforme a distância de separação se aproxima de 20nm, tanto forças de longo alcance (força de Van der Waals e eletrostática) quanto interações de curto alcance (ligação química e interações

hidrofóbicas) estão operando. Esta fase pode ser reversível, mas com o tempo se torna irreversível. A terceira fase ocorre em distâncias menores que 15nm onde forças adicionais entram em ação como a produção de polímeros adesivos que levam à fixação irreversível (HOOD e ZOTTOLA, 1995).

Segundo BRUINSMA *et al.* (2001) o processo de formação do biofilme é iniciado pela adsorção de microrganismos à superfície da membrana, que passa a ser uma superfície condicionada. O pré-tratamento ou condicionamento de superfícies pode ter efeito inibitório ou estimulante na adesão dos microrganismos (HOOD e ZOTTOLA, 1995). O segundo estágio na formação do biofilme é o transporte de células que pode ser intensificado pelo efeito de polarização de concentração nos processos de OI e NF. Uma bactéria pode estar sujeita ao arraste convectivo, promovido pela permeação da água através da membrana e alcançar a sua superfície. A espessura da camada limite hidrodinâmica depende do fluxo de permeado, da viscosidade do fluido e da rugosidade da superfície da membrana (GHAYENI *et al.*, 1998).

Em resumo, a formação do biofilme é iniciada pela adesão de microrganismos à superfície da membrana, que passa a ser uma superfície condicionada. Durante o processo de adesão, as células começam a crescer pela conversão de matéria orgânica e outros nutrientes, liberando materiais extracelulares, denominados SPE e gerando, por fim, o biofilme (BRUINSMA, 2001).

A SPE é uma mistura de polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos, lipídeos e outros compostos poliméricos que são encontrados entre as células. É a principal responsável pela estrutura e integridade funcional dos agregados, pois sua matriz possui estabilidade mecânica, podendo absorver nutrientes e funcionando como barreira protetora contra biocidas e agentes químicos (POULSEN, 1999). A matriz SPE possibilita as ligações célula a célula e as ligações de células individuais às superfícies, além de ser hidratada e servir como reserva de nutrientes (LINDSAY e HOLY, 1997; JENKINSON e LAPPIN-SCOTT, 2001; TAKHISTOV e GEORGE, 2004).

Enquanto o termo biofilme se refere a um microambiente complexo, existem vários outros termos que se referem à adesão das bactérias às superfícies. Quando células planctônicas se associam a uma superfície, o termo usual é aderência. Os termos

adsorção e absorção também são usados para descrever o evento inicial da célula bacteriana ao associar-se a uma superfície, a qual é referida também como substrato. A aderência é baseada em forças físico-químicas atrativas entre o microrganismo e o substrato. Quando o microrganismo se torna firmemente ancorado, geralmente com a ajuda de material extracelular, o termo fixação pode ser aplicado (HOOD e ZOTTOLA, 1995).

A adesão é um processo físico-químico controlado inicialmente por forças atrativas e repulsivas, que termina quando são formadas fortes ligações entre a célula aderida e a superfície da membrana (BOS *et al.*, 1999). A adesão da célula bacteriana a uma superfície condicionada é considerada um evento aleatório. As células aderem, reproduzem e acumulam-se produzindo uma película, na qual pode ocorrer o acúmulo de células. Essa película também providencia um meio de estabilizar comunidades que estão continuamente sujeitas às forças de cisalhamento (JENKINSON e LAPPIN-SCOTT, 2001).

O processo de adesão pode gerar o crescimento microbiano e formação de biofilme e pode ser iniciado com uma única célula bacteriana, podendo ser afetado por uma série de fatores, como a espécie do microrganismo, as condições de crescimento e a produção de substância polimérica extracelular. (LINDSAY e HOLY, 1997; PARRIZI *et al.*, 2004; TAKHISTOV e GEORGE, 2004).

Existem outros princípios gerais que foram referidos como aplicáveis à adesão bacteriana, como os de superfícies livres de energia. A premissa dessa teoria é que a adesão vai ocorrer se isso resultar em um decréscimo da energia livre do sistema (HOOD e ZOTTOLA, 1995). Interações hidrofóbicas foram sugeridas como responsáveis por uma ampla gama de fenômenos de aderência. Existe evidência para sugerir que a hidrofobicidade pode estar relacionada a estruturas protéicas na superfície da célula, podendo este ser um dos fatores envolvidos na aderência inicial dos microrganismos. (HOOD e ZOTTOLA, 1995, DJORDJEVIC *et al.*, 2002).

Nos anos 80, os biofilmes eram representados por uma estrutura simplificada plana de espessura constante. Os avanços das técnicas de microscopia, das análises físico-químicas e da biologia molecular revelaram uma estrutura tridimensional

complexa (MATTILA-SANDHOLM e WIRTANEN, 1992). Um dos modelos recentes representa a estrutura sob a forma de cogumelos. Entre os caules dos cogumelos se formam canais que permitem a circulação de líquido e a transferência de oxigênio (CERQUEIRA, 2005).

A estrutura básica de um biofilme, mostrada na Figura 2.8, foi obtida através de imagens de computador, onde o biofilme foi formado por culturas puras de diversas bactérias. Essa microcolônia possui uma arquitetura que inclui canais hidratados, os quais possuem a função de levar nutrientes para o interior da complexa comunidade (STOODLEY *et al.*, 2002).

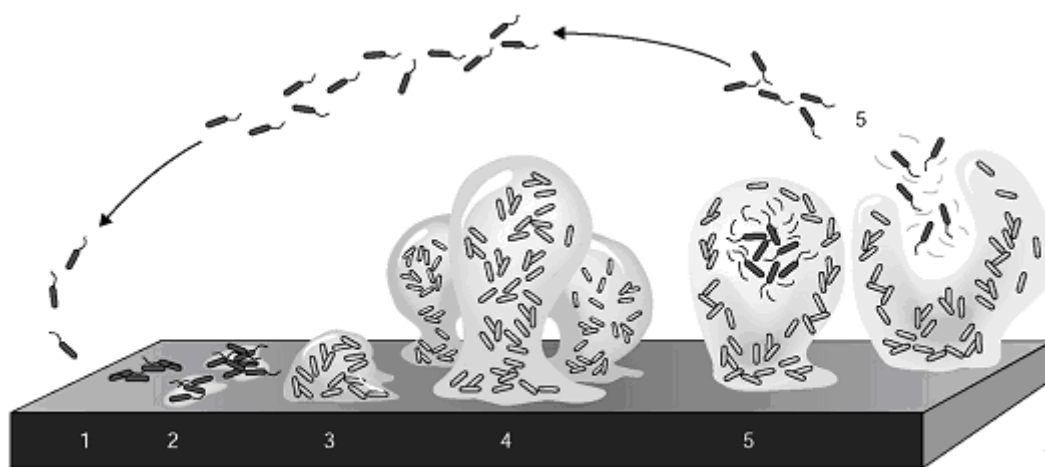


Figura 2.8 Desenvolvimento do biofilme. Estágio 1: adesão inicial das células à superfície. Estágio 2: produção dos SPEs, resultando na adesão irreversível. Estágio 3: desenvolvimento da arquitetura do biofilme. Estágio 4: maturação da arquitetura do biofilme. Estágio 5: dispersão das células no biofilme. (SAUER, 2003)

Nos biofilmes, os microrganismos são mais resistentes à ação de agentes químicos e físicos do que as células de vida livre (CHAE e SCHRAFT, 2000; MEYLHEUC *et al.*, 2006). Esta resistência das células do biofilme às influências externas como antibióticos, defesas do hospedeiro, anti-sépticos e forças de cisalhamento, é uma preocupação constante nas indústrias e na medicina (JENKINSON e LAPPIN-SCOTT, 2001).

Para justificar a maior resistência dos microrganismos presentes nos biofilmes, são aceitos os seguintes fatores: a capacidade das substâncias poliméricas extracelulares

impedirem o contato do agente com os microrganismos, funcionando como um filtro; o fato de que os microrganismos apresentam um estado metabólico diferenciado (metabolismo mais lento) e a capacidade de modificar o agente (principalmente em biofilmes com mais de uma espécie). Logo, a SPE não providencia necessariamente uma barreira de difusão contra compostos inibitórios (antimicrobianos), mas as bactérias do biofilme podem ser inerentemente mais resistentes. Em biofilmes com várias espécies, as espécies podem se beneficiar entre si através da troca de substrato e/ou remoção mútua de metabólitos (JENKINSON e LAPPIN-SCOTT, 2001; MAUKONEN *et al.*, 2003).

Ainda pouco se sabe sobre a ecologia fisiológica e a genética das incrustações causadas pelos microrganismos, ou sobre os mecanismos de adesão das bactérias nas superfícies das membranas. A cinética de crescimento dos microrganismos e sua relação com a disponibilidade de nutrientes presentes no meio ainda está pouco estudada. Sem essas informações, não será possível estabelecer estratégias de controle adequadas sobre as bioincrustações; por isso, são necessárias pesquisas mais aprofundadas para o melhor entendimento dos mecanismos de adesão microbiana e para definir o papel dos nutrientes no crescimento dos biofilmes.

2.4.2 Consequências da Formação de Biofilmes nos PSM

A formação dos biofilmes pode acarretar em diversas consequências nos PSM e em outros processos, e por isso, grupos de especialistas de diversas áreas (microbiologistas, engenheiros, ecologistas, químicos) mostram interesse especial na formação e crescimento dos biofilmes. Estima-se que, apenas nos EUA, as bioincrustações custem mais de dez milhões de dólares anualmente, devido à perda de produtividade, à necessidade do uso de um pré-tratamento, ao aumento de custos com manutenção, ao aumento do consumo de energia e à diminuição do tempo de vida útil da membrana (BYRNE, 2002).

Mesmo após décadas de desenvolvimento e operação de sistemas industriais com membranas, as bioincrustações ainda permanecem como a principal razão para o declínio do fluxo de permeado (HABERT *et al.*, 2005).

Nos PSM, a formação de bioincrustações aumenta a resistência ao transporte e reduz o fluxo permeado e a rejeição; o biofilme se torna uma segunda membrana que participa do processo de separação. No biofilme, a transferência de massa por difusão prevalece sobre a convecção, levando ao aumento da polarização de concentração próximo à superfície da membrana e, conseqüentemente, a problemas com incrustações (FLEMMING, 1997).

A Figura 2.9 mostra a fotomicrografia da superfície de uma membrana de NF ilustrando a bioincrustação. O experimento foi conduzido com uma concentração inicial de uma espécie de Flavobacteria de 10^5 UFC/mL. A análise foi realizada após 16 dias de filtração utilizando-se um efluente sintético baseado em glicose (IVNITSKY *et al.*, 2005).

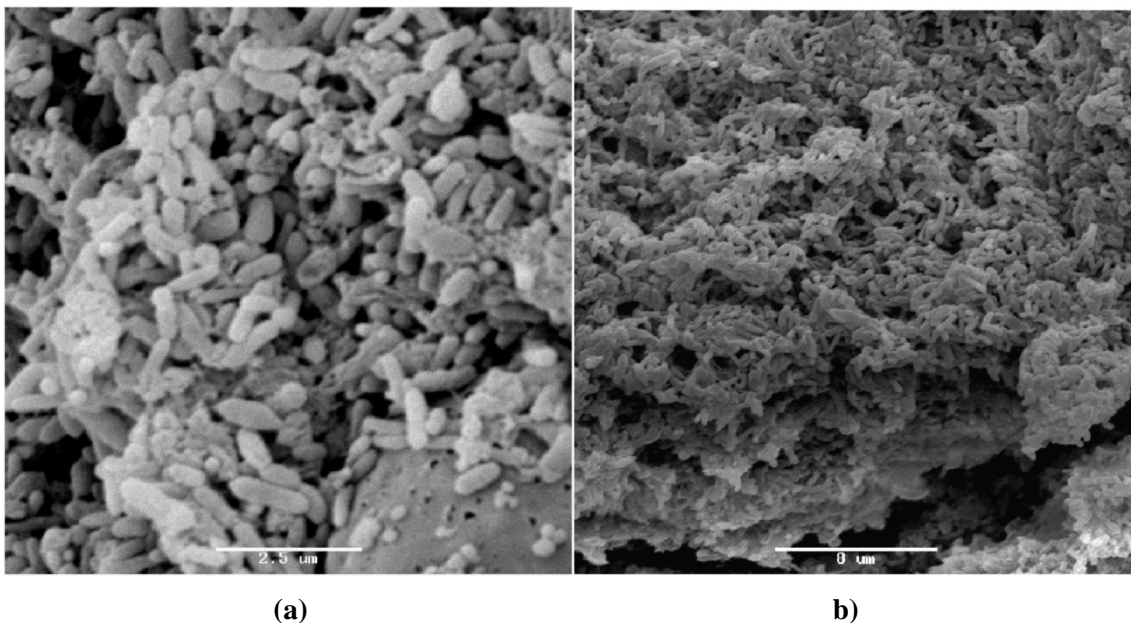


Figura 2.9. Fotomicrografia de uma membrana de NF após 16 dias de operação. (a) microrganismos e SPE. (b) biofilme desenvolvido.

A formação de biofilmes pode trazer efeitos adversos para os sistemas de OI (FLEMMING, 1997; AL-AHMAD *et al.*, 2000):

- Aumento da resistência da membrana devido à presença do biofilme, o que causa o decréscimo da produção de permeado, aumento do consumo de energia e aumento da diferença de pressão.

- Formação de uma camada gel entre a membrana e a fase aquosa.
- Queda do fluxo: devido à formação de um filme de baixa permeabilidade na superfície da membrana.
- Aumento da perda de carga nos módulos de permeação e aumento da pressão de alimentação. Podem ocorrer danos no módulo se a pressão de operação e a perda de carga por módulo exceder às recomendações do fabricante.
- Biodegradação da membrana: os microrganismos podem produzir subprodutos ácidos que irão se concentrar na superfície da membrana e causar degradação.
- Queda da rejeição: pela redução dos efeitos convectivos, o biofilme aumenta o acúmulo de íons dissolvidos na superfície da membrana, aumentando, com isso, a polarização de concentração. Conseqüentemente, há o aumento da passagem de sais através da membrana, reduzindo a qualidade do permeado.
- Aumento dos gastos energéticos: está relacionado ao aumento de pressão necessário para vencer a resistência do biofilme e a queda do fluxo.

Dentre 70 plantas de osmose inversa instaladas nos EUA, 58 apresentaram problemas de bioincrustações. Apenas no Sudoeste da Ásia e no norte da África, cerca de 70% das plantas de OI para dessalinização de água sofrem com problemas de incrustações (VROUWENVELDER *et al.*, 2008).

Alguns pesquisadores documentaram estudos de caso, mostrando as principais características químicas, físicas e microbiológicas das incrustações encontradas em plantas que operam com membranas. Podem ser encontrados nesses estudos dados sobre análises microbiológicas, programações de limpeza, manutenções periódicas e pré-

tratamentos utilizados para minimizar os efeitos das incrustações nas membranas (BAKER e DUDLEY, 1998; ALEEM *et al.*, 1998).

Os resultados combinados dos efeitos adversos contribuem para reduzir o tempo de vida útil das membranas e aumentar os gastos com procedimentos de operação e manutenção da planta, pois poderão ser necessários pré-tratamentos com custos mais elevados (por exemplo, dosagem periódica de biocida, filtração multimeio, etc.) para combater mais efetivamente a formação das bioincrustações (BYRNE, 2002).

2.4.3. Prevenção e Controle das Bioincrustações

Para que possa ser prevenido e controlado, o potencial para ocorrência da bioincrustação deve ser sempre antecipado. A identificação detalhada do problema – o biofilme – é necessária para permitir que a decisão mais eficiente seja tomada. Nesse caso, é razoável adotar o seguinte procedimento: identificação da causa e localização do problema; sanitização (a limpeza é ainda mais importante que simplesmente matar os microrganismos) e prevenção (FLEMMING, 2002).

Nas plantas de OI e NF, o biofilme pode crescer em todas as superfícies do sistema, incluindo as membranas, paredes dos tubos, filtros cartuchos, válvulas, *o-rings*. A prevenção e o controle da formação de bioincrustações podem ser feitos através da redução da concentração dos microrganismos presentes na corrente de alimentação e/ou redução da concentração dos seus nutrientes, por meio do pré-tratamento, ou ainda através de um programa de limpeza das membranas. Para tanto, os diagnósticos que comprovam a presença do biofilme podem ser obtidos através das autópsias dos módulos (FLEMMING, 2002).

A autópsia poderá ser uma ferramenta de grande importância, pois se tornou uma das técnicas mais eficazes no auxílio da avaliação de uma superfície incrustada. As melhores análises por autópsia devem incluir monitoramento *in situ* (KHEDR, 2003; AL-AMOUDI e FAROOQUE, 2005; PONTIÉ *et al.*, 2005; SHON *et al.*, 2009).

O primeiro passo da autópsia é a seleção apropriada dos elementos nos quais ela será realizada, preservando a composição da biomassa original

(VROUWENVELDER *et al.*, 2001). Instruções específicas de como as membranas devem ser estocadas e guardadas podem ser obtidas com os fabricantes. A autópsia deve incluir: inspeção visual após a retirada do elemento de dentro do módulo (análise e interpretação macroscópica); abertura do elemento; nova inspeção visual, agora na parte interna do elemento; amostragem e análises (contagens microbianas; composição geral da camada de incrustação; análises por microscopia eletrônica de varredura, raios-X por energia dispersiva, microscopia de força atômica, potencial zeta, ângulo de contato, microscopia de infravermelho). Além disso, devem ser analisados parâmetros físico-químicos da qualidade da corrente de alimentação (incluindo quantidade de carbono orgânico total - COT, pH, temperatura), quantidade de carbono orgânico assimilável para estimar o potencial de crescimento de biofilme na corrente de alimentação. (HABERT *et al.*, 2005; SHON *et al.*, 2004, 2009).

Uma vez que as características da alimentação são conhecidas, a escolha do pré-tratamento mais adequado irá proteger a membrana contra a perda da sua integridade física, bem como do seu desempenho no processo de separação. O controle da formação de incrustações é feito, na maioria das vezes, através de uma etapa de filtração, microfiltração (MF) ou ultrafiltração (UF) antes de o efluente ser alimentado no módulo de OI (PEREIRA *et al.*, 2002).

Diversas pesquisas sobre pré-tratamento de sistemas de OI são encontradas na literatura. As operações incluem dosagem de ácido para controle do pH, etapas de coagulação/floculação, filtração com carvão ativado, filtração com areia, cloração, adição de biocidas e anti-incrustantes e microfiltração/ultrafiltração (ALEEM *et al.*, 1998; MUKHOPADHYAY, 1999; VIAL *et al.*, 2003; BONNELYE *et al.*, 2004; PEARCE *et al.*, 2004; SCHNEIDER *et al.*, 2005).

Procedimentos de limpeza apropriados são vitais para manter a eficiência das membranas de OI. Normalmente, a necessidade de uma limpeza é indicada pela redução da qualidade do permeado. Uma modificação de 10-15% nos seguintes parâmetros também pode ser um indicativo: redução no fluxo de permeado, redução na rejeição salina, aumento na perda de carga, aumento da pressão de alimentação (AL-AHMAD *et al.*, 2000).

A manutenção com limpezas é realizada pela adição de biocidas ou aplicações (dosagem) intermitentes de biocidas em pequenas quantidades. O método mais eficaz e barato para remoção dos microrganismos é a cloração, porém como a maioria das membranas poliméricas tem baixa resistência ao cloro, seu excesso precisa ser removido, por meio de absorção em carvão ativado ou pela adição do bissulfito de sódio (MEYER, 2003).

Existe uma grande variedade de biocidas e a escolha adequada requer experiência e deve ser baseada em testes em escala de laboratório. O ideal é associar temperatura, biocidas e forças mecânicas, que ajudem na remoção do biofilme. Muitos biocidas oxidantes estão disponíveis para uso industrial: cloro, bromo, cloraminas, peróxido de hidrogênio, ozônio. A utilização desses biocidas requer cautela, pois muitos deles são prejudiciais às membranas de poliamida (KIM *et al.*, 2009). O ozônio tem sido bastante utilizado como biocida, pois são formados menos subprodutos tóxicos. Ele pode enfraquecer a matriz do biofilme e facilitar a remoção da biomassa. Como desvantagem, o uso do ozônio apresenta custo muito elevado (BAKER e DUDLEY, 1998; AGUS *et al.*, 2009; OH *et al.*, 2009).

A eficiência do uso de bissulfito de sódio (NaHSO_3) como biocida depende de sua concentração, tempo de exposição e do tipo de microrganismo presente. Como o bissulfito reage com agentes oxidantes, reduz a concentração de oxigênio dissolvido, dificultando a propagação de microrganismos aeróbios (APPLEGATE e ERKENBRECHER, 1987).

Vários biocidas não-oxidantes como formaldeído e glutaraldeído são usados pelas indústrias, embora não sejam aprovados na legislação para a produção de água potável. Eles são compatíveis com as membranas e biologicamente eficazes. Normalmente, são utilizados em doses pequenas e intermitentes (BAKER e DUDLEY, 1998).

Após o procedimento de limpeza, em que se pode dissolver o biofilme e o material orgânico a que o biofilme está aderido, é necessário o uso de desinfetante para matar os microrganismos. Quando a limpeza não é eficaz, a desinfecção também não o será, pois o desinfetante não poderá atravessar a camada polimérica formada

(POULSEN, 1999). A Figura 2.10 mostra o processo de limpeza no qual são utilizados detergentes e desinfetantes.

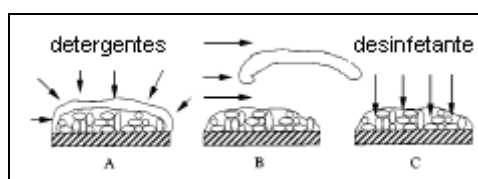


Figura 2.10 Processo de limpeza. **A.** Processo de solubilização da matéria orgânica. **B.** Lavagem com detergentes, que faz a retirada da camada superior do biofilme, deixando expostos os microrganismos. **C.** Lavagem com desinfetante para desativação dos microrganismos.

Além do uso de produtos químicos, também podem ser utilizadas enzimas ou misturas delas para degradarem o biofilme. Esse processo ainda é bastante limitado, principalmente devido ao seu alto custo quando comparado ao custo dos produtos químicos. Alguns pesquisadores (GRIEBE e FLEMMING, 1998; BROUWER *et al.*, 2006) propuseram uma estratégia de prevenção e controle das bioincrustações utilizando um biofiltro, onde ocorre o crescimento do biofilme devido à disponibilidade de nutrientes. Assim, na saída do biofiltro a concentração de nutrientes estará reduzida, contribuindo para a redução na formação das bioincrustações na superfície da membrana.

Outra maneira de se limpar uma superfície é utilizar o aparelho de ultra-som. Esse método tem sido aplicado em equipamentos médicos, instrumentos odontológicos, trocadores de calor, entre outros. Entretanto, deve-se estar atento ao fato de que o ultra-som pode danificar a superfície em que o biofilme está crescendo (ZIPS *et al.*, 1990).

Muito se tem feito para reduzir os problemas relacionados às bioincrustações, como por exemplo, o pré-tratamento da solução de alimentação, limpezas periódicas, otimização do arranjo do módulo e das condições de processo, modificação das propriedades superficiais das membranas, com o objetivo de produzir uma membrana mais hidrofílica, mais resistente à oxidação ou com grupos iônicos fixos na matriz polimérica (KIM *et al.*, 2003; SCHÄFER *et al.*, 2005).

2.5 Fabricação de Membranas

Um grande número de materiais e técnicas de preparação tem sido utilizados na fabricação de membranas de OI. O foco principal dos trabalhos mais recentes é a fabricação de membranas para uso em dessalinização de água do mar, as quais devem ter rejeições maiores que 99,3% para produzir um permeado contendo menos de 500 mg/L de sal (BAKER, 2004).

Os materiais mais comumente utilizados para a síntese de membranas são os polímeros. As membranas de MF e UF podem ser utilizadas como suporte na fabricação de membranas compostas de OI e NF. A Tabela 2.3 mostra os polímeros mais utilizados na fabricação de membranas (ULBRICHT, 2006).

Tabela 2.3 Polímeros mais utilizados para o preparo de membranas.

Polímero	Morfologia		Processo
	Tipo	Espessura da pele (μm)	
Acetato de celulose	Densa	0,1	OI, separação de gases
	Porosa	0,1	UF
	Porosa	50-300	MF
Nitrato de celulose	Porosa	100-500	MF
Poliacrilonitrila	Porosa	0,1	UF
Poli(éter imida)	Porosa	0,1	UF
Poli(éter sulfona)	Porosa	0,1	UF
	Porosa	50-300	MF
Poli(tereftalato de etileno)	Porosa	6-35	MF
Poli(óxido de fenileno)	Densa	0,1	Separação de gases
Poliamida alifática	Porosa	100-500	MF
Poliamida aromática	Porosa	0,1	UF
	Densa	0,05	OI, NF
Policarbonato	Densa	0,1	Separação de gases
	Porosa	6-35	MF
Poliéter	Densa	0,05	OI, NF
Polietileno	Porosa	50-500	MF
Poliimida	Densa	0,1	Separação de gases, NF
Polipropileno	Porosa	50-500	MF
Poli(siloxano)	Densa	0,1	Pervaporação, NF
Polisulfona	Densa	0,1	Separação de gases
Poli(álcool vinílico)	Densa	1-10	Pervaporação
Poli(flúoreto de vinilideno)	Porosa	0,1	UF
	Porosa	50-300	MF

O mercado mundial de membranas de OI é dominado basicamente por dois polímeros: o acetato de celulose (AC) e a poliamida (PA) (PETERSEN, 1993).

O AC foi um dos primeiros materiais a ser utilizado e ainda continua sendo usado com sucesso, especialmente para tratamento de água. A principal vantagem das membranas preparadas a partir deste polímero, quando comparada com membranas de outros materiais, é a maior tolerância ao cloro, acima de 1 mg/L (HABERT *et al.*, 2005). Um dos problemas de aplicação das membranas de acetato é sua sensibilidade à hidrólise (quebra dos grupos acetila), que é função do pH e da temperatura, limitando muitas vezes, as condições operacionais (KHEDR, 2002).

Uma membrana de AC é considerada como uma membrana sem cargas, o que somado a sua relativa hidrofiliabilidade faz com que os compostos incrustantes sejam menos atraídos, transformam essas membranas numa boa alternativa para o uso em aplicações com alto potencial para as bioincrustações (BYRNE, 2002). Entretanto, suas principais limitações estão relacionadas à baixa estabilidade química (hidrólise dos grupos acetato) e biológica, o que resulta na queda do fluxo e da rejeição (LINDER e KEDEM, 2005).

Outra classe de polímeros utilizados para a preparação de membranas é a das poliamidas. As poliamidas alifáticas podem ser utilizadas, porém suas membranas possuem baixos valores de rejeição e fluxos modestos. As mais usadas pelas indústrias de membranas de OI são as poliamidas aromáticas, pois possuem maior estabilidade térmica, química e mecânica, além de boas propriedades de transporte (permeabilidade e rejeição) (BAKER, 2004).

As propriedades das membranas de poliamida aromática (PA) são determinadas pelos grupos aromáticos, os quais reduzem significativamente a flexibilidade da cadeia polimérica. Como consequência, elas possuem temperatura de transição vítrea (T_g) acima de 280° C. Sua estrutura química é constituída de ligações cruzadas, o que proporciona a essas membranas uma resistência a solventes orgânicos mais elevada. A estrutura química da camada seletiva de uma membrana de poliamida aromática é mostrada na Figura 2.11 (MULDER, 1997).

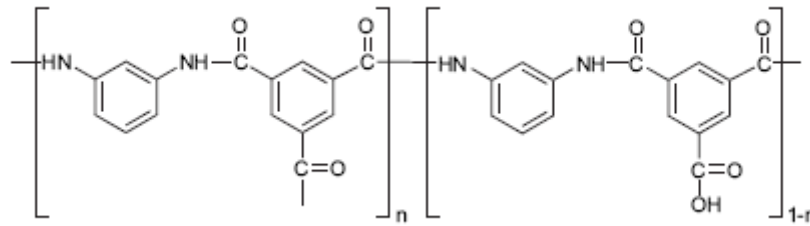


Figura 2.11. Estrutura química da camada seletiva de uma membrana de poliamida aromática.

As membranas de PA possuem um fluxo de permeado maior que as membranas de AC, o que permite que elas sejam operadas a pressões bem mais baixas, e ainda assim sejam obtidas maiores rejeições salinas. Conseqüentemente, há o menor gasto de energia. A principal desvantagem no uso dessas membranas é a baixa tolerância a agentes oxidantes, como cloro e iodo (BYRNE, 2002).

Na década de 70 foi desenvolvida a primeira membrana comercial composta para OI. As membranas compostas são feitas pela deposição de um filme ultrafino em uma membrana microporosa, o que a torna mecanicamente mais estável (JENKINS e TANNER, 1998). A Figura 2.12 ilustra a morfologia de uma membrana composta.

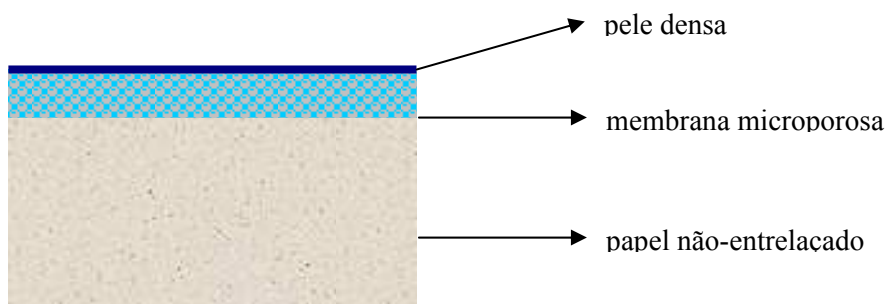


Figura 2.12. Membrana plana composta com três camadas: papel não entrelaçado como suporte, membrana microporosa e filme denso (pele) ultrafino.

Estas membranas possuem alta estabilidade química, apesar da tolerância ao cloro ainda ser muito baixa. Elas não são biodegradáveis e podem ser operadas em valores de pH entre 2 e 11 (HABERT *et al.*, 2005). Membranas típicas, testadas com soluções a 3,5% em NaCl, possuem rejeição salina de 99,5% e permeabilidade

hidráulica em torno de 1 a 2 L/h.m².bar. Além disso, a rejeição a compostos orgânicos é mais alta quando comparada com as membranas de AC (BYRNE, 2002).

A Tabela 2.4 mostra as principais membranas compostas comercializadas para as diversas aplicações no processo de OI.

Tabela 2.4. Membranas Comerciais mais vendidas para OI

Nome Comercial	Fabricante	Material da Pele Densa
BW-30, SW-30, XLE, NF90	FilmTec	Poliamida aromática
NTR-750, NTR-759, NTR-7250	Nitto Denko Company	Poliamida aromática
NTR-729	Nitto Denko Company	Poli(álcool vinílico)
DESAL TFM-100	GE Osmonics	Polipropileno
DESAL TFM-50	GE Osmonics	Poliamida aromática
ROGA-HR	Koch Membranes	Acetato de celulose
TFC-SS	Koch Membranes	Poliamida aromática
CPA, LFC, ESPA	Hydranautics	Poliamida aromática

As membranas de PA mais usadas comercialmente possuem carga negativa, o que pode atrair alguns compostos incrustantes, aumentando o potencial para a ocorrência de incrustações na superfície da membrana (BYRNE, 2002). Várias alterações no processo de fabricação dessas membranas têm sido feitas com o objetivo de modificar as características do polímero através do aumento das ligações cruzadas, eliminando grupos funcionais que poderiam atrair os agentes causadores de incrustações.

2.6 Modificação de Membranas

As principais pesquisas para minimizar os problemas relacionados às incrustações têm se desenvolvido no sentido de prevenir a adsorção ou a adesão de compostos indesejáveis na superfície das membranas. A modificação superficial vem

sendo utilizada como a principal rota de preparação de membranas *low fouling* (baixa tendência a formar incrustações) através do aumento da sua hidrofiliçidade ou modificando suas cargas superficiais (KANG *et al.*, 2007).

Para a modificação de superfícies de membranas, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura citam técnicas que variam desde uma simples adsorção física (WILBERT *et al.*, 1998, HACHISUKA *et al.*, 2001; LOUIE *et al.*, 2006) até a formação de ligações químicas (BELFER *et al.*, 1998; FREGER *et al.*, 2002; COMBELLAS *et al.*, 2004; NIE *et al.*, 2004; CHE *et al.*, 2005; TU *et al.*, 2005; HUANG *et al.*, 2006, CHEN *et al.*, 2006), sendo as seguintes consideradas como as mais promissoras: inserção de grupos laterais (graftização) através da polimerização na superfície da membrana, tratamento com plasma e cobrimento das superfícies utilizando soluções diversas (NYSTROM e JARVINEN, 1987; LAI e CHAO, 1990; ASFARDJANI, 1993; MUKHERJEE *et al.*, 1996).

2.6.1. Polimerização na superfície: inserção de cadeias laterais

Vários pesquisadores têm trabalhado na modificação de membranas através da inserção de grupos mais hidrofílicos em suas superfícies com o objetivo principal de reduzir as incrustações. Essa técnica se baseia na introdução de grupos funcionais ativos ou radicais livres na superfície da membrana para uma posterior ligação química entre os monômeros e a membrana. Os procedimentos mais comuns utilizando esta técnica envolvem a poliradiação iniciada por radiações ou por compostos químicos através de radicais livres. Alguns autores também indicam o uso da policondensação através da técnica de polimerização interfacial (HILAL *et al.*, 2004).

O método da polimerização iniciada por radiação consiste no uso de calor, radiação ultravioleta (UV), microondas, raios γ , raios X ou corrente elétrica para provocar a iniciação da reação de polimerização (MANO e MENDES, 1999). A iniciação através de UV consiste basicamente de duas etapas, conforme mostrado na Figura 2.13. Inicialmente, utiliza-se benzofenona para abstrair átomos de hidrogênio do substrato gerando radicais na superfície. Na segunda etapa, os monômeros entram em contato com a superfície ativa do substrato e os iniciadores presentes na superfície

começam as reações de inserção (enxerto) sob irradiação UV. Esse método apresenta as vantagens de reduzir a formação de homopolímeros e polímeros reticulados indesejados, além de afetar apenas a superfície da membrana (MA *et al.*, 2000).

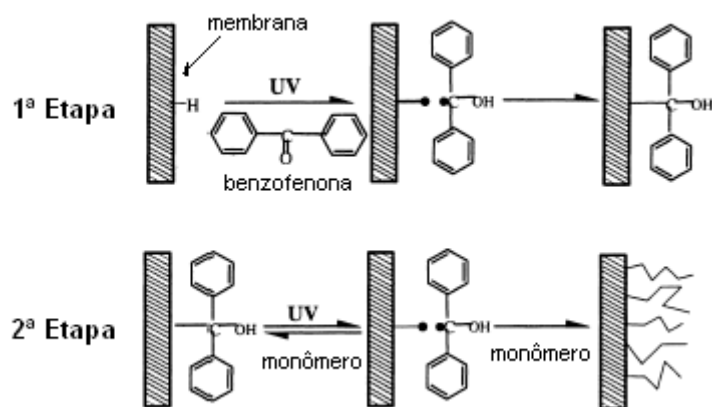


Figura 2.13 Esquema do método de polimerização iniciada por radiação UV usando-se benzofenona. (MA *et al.*, 2000)

HILAL *et al* (2004) estudaram a formação de bioincrustações em superfícies de membranas modificadas e fizeram uma comparação com membranas não modificadas. Esses pesquisadores propuseram a modificação de membranas de MF de [poli (fluoreto de vinilideno)] através da polimerização iniciada por radiação UV, utilizando como monômero o ácido 2-acrilamida-2-metil-1-propano-sulfônico. As membranas foram submetidas à filtração usando-se como alimentação uma suspensão contendo células de *Escherichia coli* (*E. coli*), que é uma bactéria bastante utilizada por se tratar de um indicativo de contaminação da água, além de ser útil na avaliação da eficiência de desinfecção de diferentes agentes bactericidas usados no tratamento da água. Os resultados do estudo mostraram que as superfícies modificadas possuem propriedades bactericidas contra *E. coli* e podem ser mais resistentes às bioincrustações. Os pesquisadores atribuíram a ação antimicrobiana das membranas modificadas à penetração das cadeias poliméricas catiônicas nas paredes das células, o que leva à destruição da camada celular externa.

MA *et al* (2000) também utilizaram o método descrito para modificar a superfície de membranas de acetato de celulose e de polipropileno, com o objetivo de reduzir a formação de biofilmes. As membranas foram testadas em um sistema de MF usando-se suspensão de *E. coli* na corrente de alimentação. De acordo com os resultados

obtidos, os autores concluíram que a eficiência do tratamento da superfície das membranas diminuiu com o aumento da concentração de *E. coli* na suspensão, o que pode ser explicado pelo aumento da concentração de agentes incrustantes, reduzindo o efeito da ação dos segmentos de cadeia enxertados.

PIERACCI *et al* (1999) seguiram o método proposto por MA *et al* (2000) e modificaram as superfícies de membranas de poli(éter sulfona) utilizando três monômeros hidrofílicos: N-vinil-2-pirrolidona, N-vinil-caprolactona e N-vinil-formamida. Após a modificação, as membranas foram analisadas em sistema de UF, com soluções de albumina de soro bovino (BSA) na alimentação. Os resultados obtidos mostraram que as membranas modificadas possuíam maior hidrofilicidade e eram menos suscetíveis às incrustações causadas por deposições de proteínas.

XI *et al* (2006) propuseram uma nova técnica de modificação de superfícies que combina a deposição de polieletrólitos com a inserção de grupos laterais iniciada por UV, com o objetivo de induzir o aparecimento de cargas negativas na superfície da membrana. Nesse trabalho, foram modificadas membranas de poli(éter sulfona) com 5 monômeros diferentes, incluindo 3 polieletrólitos fortes (ácido metacrílico - MA, ácido acrílico - AA, e ácido 2-acrilamido glicólico - AAG) e dois fracos (metacrilato de 2-hidróxi-etila- HEMA e N-vinil-formamida - NVF). As estruturas dos monômeros estão mostradas na Figura 2.14. Uma etapa adicional de eletroforese foi utilizada para favorecer a deposição homogênea dos monômeros, o que pode levar à formação de uma camada uniforme na superfície da membrana após a polimerização. O estudo incluiu a análise das propriedades de transporte das membranas utilizando uma solução contendo compostos orgânicos e a análise de suas superfícies através de microscopia eletrônica de emissão de campo (MEV-EC) para o melhor entendimento dos mecanismos de modificação. Os autores concluíram que as membranas modificadas apresentaram menor tendência à formação de incrustações devido às suas características hidrofílicas e à presença das cargas negativas fixas.

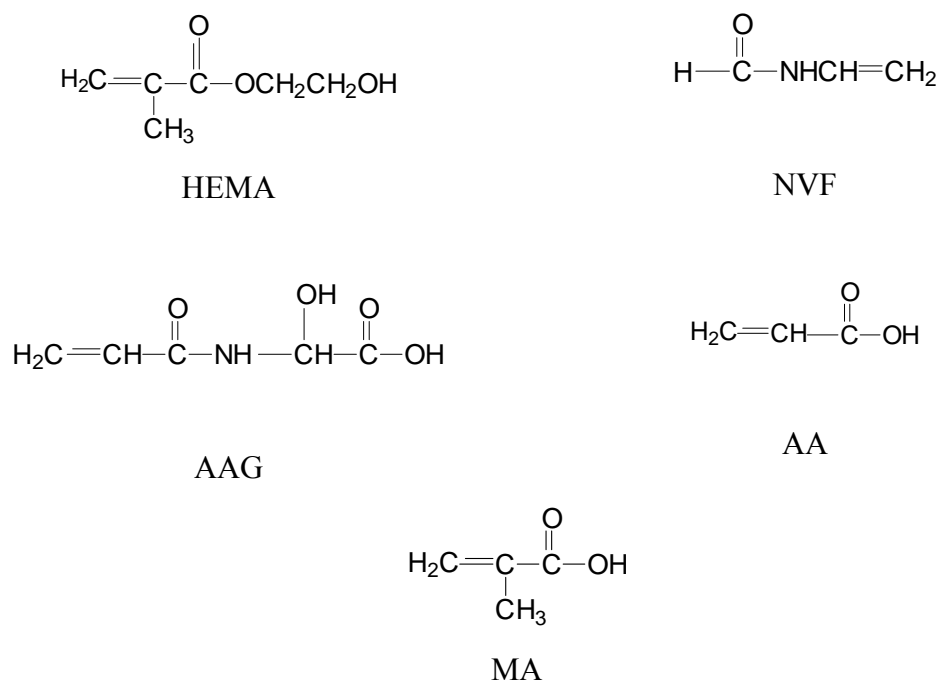


Figura 2.14 Estruturas químicas dos diferentes monômeros utilizados para a modificação das membranas de PES. (XI *et al.*, 2006)

SUSANTO *et al.* (2007) investigaram o poli(metacrilato de glicol etilênico) (PEGMA) para modificar membranas de poli(éter sulfona) (PES). Os experimentos foram realizados com duas soluções contendo matéria orgânica (polissacarídeos e albumina de soro bovino). Os resultados mostraram a maior resistência das membranas modificadas à formação das incrustações, com um aumento da rejeição a esses compostos. Porém, também foi observada a queda na permeabilidade, atribuída ao entupimento dos poros devido à reação de polimerização do PEGMA na superfície das membranas.

Alguns pesquisadores propõem o uso do poli(glicol etilênico) como monômero hidrofílico, para modificar membranas de poliamida (KANG *et al.* 2007; TARBOUSH, 2008). Em ambos os trabalhos, os testes experimentais mostraram que a membrana modificada se apresentou mais resistente à formação de incrustações, mas os autores consideram que sejam necessários novos testes experimentais para a otimização da técnica de modificação e para que possam ser alcançados melhores resultados.

A modificação através de polimerização iniciada por compostos químicos inclui o uso de percompostos (peróxidos, hidroperóxidos), azoderivados (azonitrilas), ácidos de Lewis (AlCl_3 , FeBr_3 , BF_3 , TiCl_4 , SnCl_4), bases de Lewis (Na, K, complexo

sódio-naftaleno e reagentes de Grignard), sistemas catalíticos de Ziegler-Natta ($\text{TiCl}_3/\text{AlEt}_3$) e de metalocênicos (metil-aluminoxano/zirconoceno) (MANO e MENDES, 1999).

A iniciação química pode ocorrer através de radicais livres por decomposição térmica ou por reações de oxi-redução, ou ainda através de íons ou por complexos de coordenação. Na iniciação por decomposição térmica de peróxidos, hidroperóxidos e azocompostos ocorre a cisão de uma ligação covalente fraca na molécula do iniciador. A espécie ativa formada ataca imediatamente o monômero, gerando um radical livre que inicia a polimerização. A iniciação por reações de óxido-redução pode ser conseguida pela decomposição de peróxidos, hidroperóxidos e azocompostos, a temperaturas mais baixas, minimizando a ocorrência de reações secundárias. Sais ferrosos e tiosulfato de potássio são normalmente usados como agentes redutores. Na iniciação química iônica, a cisão de uma ligação covalente no iniciador é promovida por cátions e ânions, que prontamente atacam o monômero (MANO e MENDES, 1999).

Vários pesquisadores (BELFER *et al.*, 1998, 1999, 2000, 2001, 2004, 2005; GILRON *et al.*, 2001; FREGER *et al.*, 2002) propuseram a modificação de membranas através da polimerização iniciada por reação de óxido-redução. Os radicais são gerados em um monômero vinílico, sendo que este determina a hidrofiliicidade e a carga adquirida pela superfície da membrana.

BELFER *et al.* (1998) foram os primeiros autores a utilizarem o método de polimerização iniciada por reação de oxi-redução para modificar membranas comerciais de poliamida. O sistema redox utilizado para iniciar a polimerização consistia de uma mistura de metabisulfito de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$)-persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), sendo usados como monômeros uma mistura de ácido metacrílico (MA) e poli (metacrilato de glicol etilênico) (PEGMA). As membranas permaneciam em contato com a mistura reacional por cerca de 30 minutos e eram monitoradas por espectroscopia no infravermelho. O surgimento de novas bandas indicava a inclusão de grupos laterais. Além disso, as membranas eram caracterizadas quanto ao potencial eletrocinético (zeta) e quanto à queda do fluxo permeado.

Posteriormente, o mesmo sistema de iniciação foi utilizado para modificar membranas de UF e NF (BELFER *et al.*, 1999, 2000, 2001, 2004, 2005), sendo que nesse caso, os monômeros utilizados foram ácido metacrílico e metacrilato de 3-sulfo-propila na forma de sal de potássio (SPM). Os autores observaram que quando ocorrem reações de inserção mais severas, há queda de 25-30% no fluxo. Além disso, quando a modificação é realizada utilizando-se monômeros hidrofílicos, a superfície se torna menos suscetível à adsorção de compostos orgânicos.

KIM *et al.* (2008) propuseram a modificação de membranas de poliamida por etapas, que se inicia com a polimerização na superfície com o uso do ácido metacrílico (membrana – MA), seguida da reticulação com etileno-diamina e finalizando com a substituição dos grupos funcionais com o ácido succínico. A seqüência proposta está mostrada na Figura 2.15. Os autores verificaram o aumento da hidroflicidade e da rejeição aos compostos orgânicos utilizados nos experimentos.

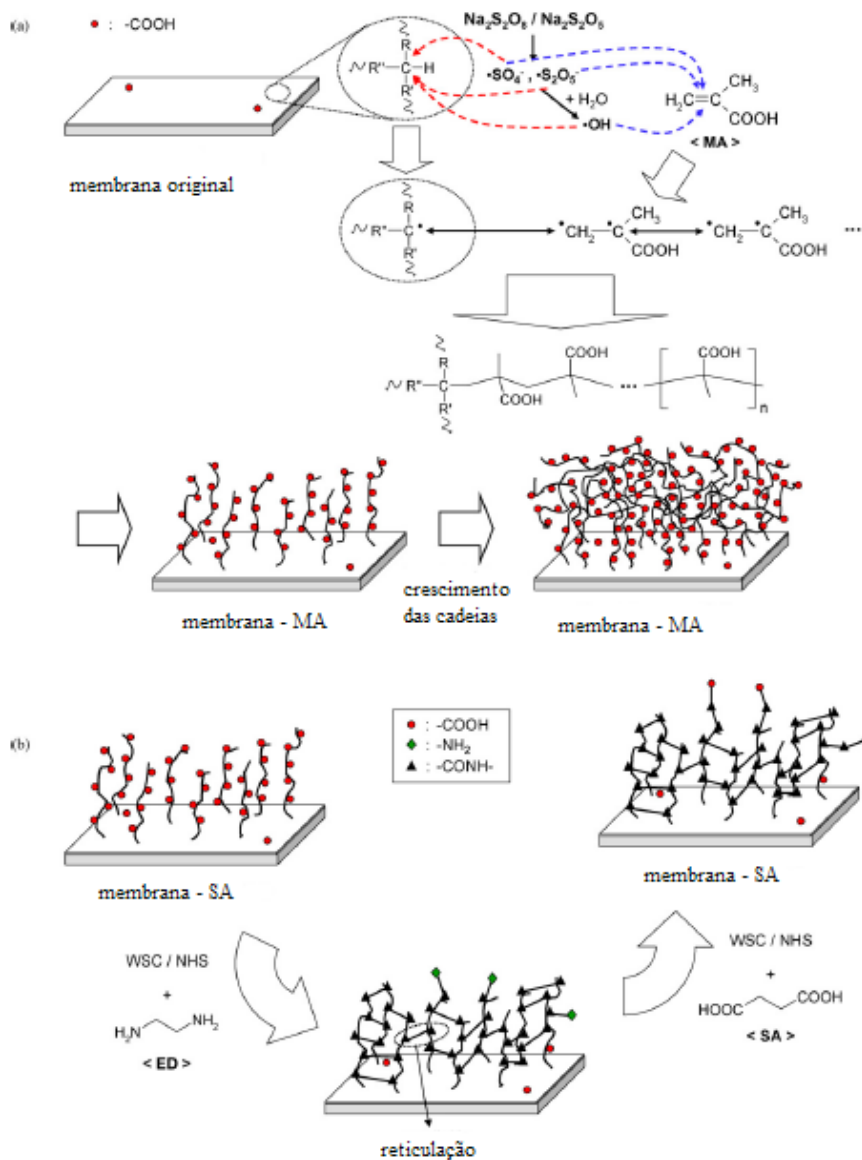


Figura 2.15. Esquema proposto para a modificação de membrana de poliamida através da polimerização em sua superfície. a. polimerização. b. reticulação do polímero e substituição dos grupos funcionais. (KIM *et al*, 2008)

2.6.2 Tratamento com plasma

Tratamentos com plasma podem alterar a superfície de vários polímeros, modificando sua polaridade, molhabilidade e suas características adesivas (OZDEMIR *et al.*, 2002). Durante o processo de modificação utilizando plasma, ocorre a ativação da superfície principalmente por abstração de átomos de hidrogênio e formação de radicais, o que resulta na modificação de apenas alguns nanômetros da superfície superior do

polímero. Isto significa dizer que a superfície pode ser modificada seletivamente sem que as propriedades globais do polímero sejam alteradas.

KULL *et al* (2005) utilizaram o plasma baseado em compostos de nitrogênio, especificamente N₂, NH₃, Ar/NH₃ e O₂/NH₃, para modificar membranas de poli(éter sulfona). As membranas foram caracterizadas por espectroscopia no infra-vermelho (FTIR), ângulo de contato, microscopia eletrônica de varredura (MEV), calorimetria diferencial de varredura (DSC), e quanto à queda do fluxo permeado devido à presença de incrustações através de um sistema de UF, utilizando-se albumina de soro bovino (BSA) na corrente de alimentação. Para o tratamento com plasma, as membranas eram dispostas em um reator tubular e os gases eram introduzidos mantendo-se uma quantidade admitida no reator de $\pm 2\%$. Após o tratamento, as membranas eram submetidas aos testes de caracterização. Os resultados mostraram que as membranas modificadas com O₂/NH₃ apresentaram caráter hidrofílico, confirmado pelos dados de ângulos de contato. Os resultados obtidos após a filtração em sistema de UF mostraram que as membranas mais hidrofílicas apresentaram menos incrustações, o que ficou comprovado pelas menores quedas de fluxo.

STEEN *et al* (2002) investigaram o uso do plasma baseado em H₂O na modificação de membranas de poli(éter sulfona) e polietileno. O tratamento com esse tipo de plasma atribui hidrofiliidade permanente às membranas hidrofóbicas, como resultado das ligações covalentes O—H, C—O e C—O_x. A modificação foi realizada em um reator tubular que permitiu que o tratamento ocorresse em toda a seção transversal das membranas. As membranas modificadas foram analisadas pelas técnicas de ângulo de contato e MEV e os resultados mostraram que todas as membranas apresentaram maior molhabilidade após o tratamento.

PAL *et al.* (2008) utilizaram o plasma de CO₂ para tratar a superfície de membranas de poli(éter sulfona), que foram caracterizadas por ângulo de contato, microscopia de força atômica (MFA) e permeabilidade com solução de albumina de soro bovino. As membranas tratadas se mostraram mais hidrofílicas, menos rugosas e a combinação desses dois fatores contribuiu para o aumento da permeabilidade das membranas.

2.6.3 Cobrimento de superfícies: imersão em soluções

Além da modificação de superfícies através de reações ou tratamento com plasma, são encontrados trabalhos na literatura que propõem a modificação das membranas através do cobrimento utilizando-se a técnica de imersão em soluções.

O dióxido de titânio (TiO_2) tem sido bastante investigado nos últimos anos para tratar a superfície de membranas, pois possui efeitos fotocatalíticos capazes de decompor matéria orgânica e de matar bactérias. A incorporação do dióxido de titânio na superfície de membranas foi utilizada por KIM *et al* (2003) como uma tentativa de diminuir os efeitos das bioincrustações. Nesse estudo, nanopartículas (10nm ou menos) de TiO_2 foram preparadas por hidrólise controlada do tetraisopropóxido de titânio e introduzidas na superfície de membranas comerciais de poliamida, através da imersão das membranas na solução coloidal de TiO_2 . As membranas foram colocadas em contato com uma suspensão contendo células de *E. coli* e o efeito do TiO_2 foi analisado mediante medidas de rejeição e queda no fluxo permeado. Os experimentos demonstraram a prevenção substancial das membranas modificadas contra as incrustações causadas por microrganismos.

LI *et al.*(2007) investigaram o uso do copolímero de poliéster - poliamida como solução de cobrimento em membranas comerciais de OI. Após a caracterização das membranas por MFA, ângulo de contato e propriedades de transporte, os autores concluíram que quando se reduz a rugosidade da superfície das membranas, elas se tornam mais resistentes às bioincrustações. Os pesquisadores não obtiveram dados satisfatórios quanto às propriedades de transporte das membranas, pois elas apresentaram maior resistência hidráulica, sendo necessária uma maior pressão de operação para manter a recuperação inicial, o que implica em maiores custos.

Com o objetivo de avaliar os efeitos do envelhecimento e do contato com substâncias químicas, BENAVENTE e VÁZQUEZ (2004) trataram quimicamente membranas de poliamida com soluções a 1M de HCl, HNO_3 e NaOH, separadamente. A modificação afetou a estrutura das membranas, causando variações nos parâmetros de transporte, o que foi atribuído à oxidação da poliamida.

Nos últimos anos, alguns pesquisadores tem utilizado o poli(álcool vinílico) (PVA) para modificar a superfície de membranas, com o objetivo de torná-las menos rugosas, mais hidrofílicas e, conseqüentemente mais resistentes a incrustações orgânicas e bioincrustações (JIAN e MING, 1987; LI e BARBARI, 1994, 1995; NA *et al.*, 2000; ZHANG *et al.*, 2003; KIM e LEE, 2006; WANG *et al.*, 2006; MA *et al.*, 2007). Como o PVA é altamente solúvel em água, são promovidas reações de reticulação para aumentar a estabilidade dos filmes de PVA em água. Muitos métodos de reticulação podem ser encontrados na literatura, sendo os compostos mais utilizados o glutaraldeído (GA) e ácidos dicarboxílicos (HIROTSU e NAKAJIMA, 1988; HIROTSU *et al.*, 1988; HUANG e YEOM, 1990, 1991a, 1991b; KRUMOVA *et al.*, 2000; PRAPTOWIDODO, 2005). De um modo geral, quando uma membrana polimérica é reticulada com um agente químico, à medida que a densidade de reticulação aumenta, a estrutura da rede da membrana se torna mais compacta, reduzindo a mobilidade das cadeias, o volume livre e o grau de inchamento das membranas (PRAPTOWIDODO, 2005).

KIM E LEE (2006) modificaram membranas comerciais de OI e NF através do uso de uma solução de PVA, com o objetivo de reduzir a carga superficial e a rugosidade da superfície. Os autores reportaram a diminuição da formação de incrustações nas membranas após a realização de testes de permeação.

LIU *et al.*(2009) prepararam membranas de poli(tereftalato de etileno) (PET) e modificaram suas superfícies com PVA e partículas de TiO₂. Para a reticulação do PVA, os autores utilizaram glutaraldeído, cuja reação está mostrada na Figura 2.16. A modificação com o polímero aumentou o número de grupos hidroxila na superfície das membranas, contribuindo para o aumento de suas propriedades hidrofílicas. Os experimentos de permeação mostraram um bom desempenho das membranas frente à adsorção de tolueno.

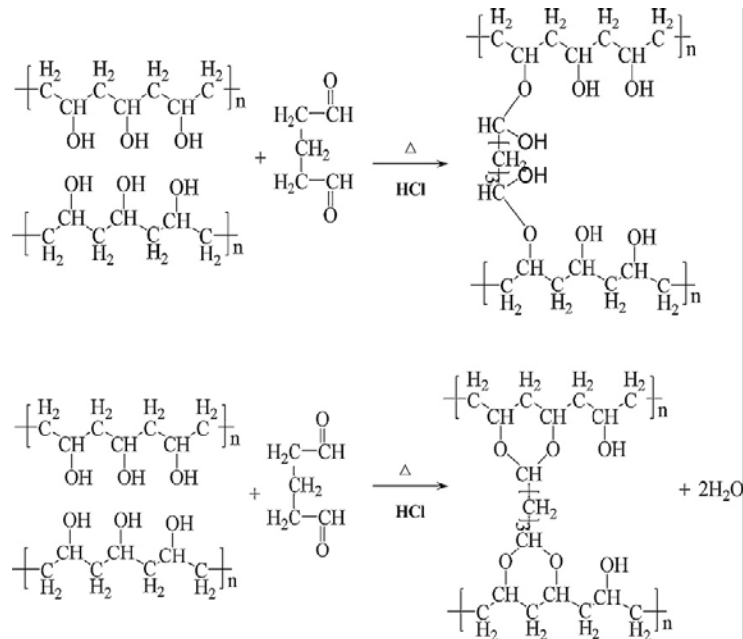


Figura 2.16. Mecanismo de reação do PVA com o GA.

Membranas comerciais foram desenvolvidas recentemente, com propriedades melhores que as membranas já estabelecidas no mercado quanto à resistência à formação das incrustações. A membrana LFC1 da Hydranautics, por exemplo, combina alta rejeição salina com boa resistência a formação de incrustações. Sua superfície passou por processos de modificação durante sua fabricação para originar essas características (GERARD *et al.*, 1998). A superfície de uma membrana LFC1 foi analisada quanto às medidas de ângulo de contato e comparada com três outras membranas, CPA2 (membrana composta convencional de poliamida), CAB2 (membrana de acetato de celulose) e LFC2 (membrana composta de poliamida com carga positiva). Seus resultados mostram que a LFC1 (47°) é mais hidrofílica que a CAB2 (50°) e que a LFC2 e LFC1 (62°). O efeito da hidrofilicidade na adsorção de compostos orgânicos é mostrado na Figura 2.17, após as membranas terem sido expostas a diferentes surfactantes. Como esperado, a membrana LFC2 (cargas positivas) apresentou maior queda do fluxo na presença de surfactantes aniônicos. As membranas LFC1 e CAB2 não apresentaram queda.

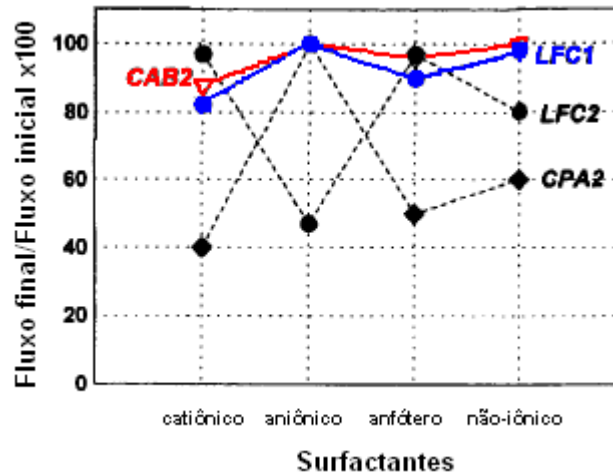


Figura 2.17 Razão fluxo final/fluxo inicial das diferentes membranas após exposição aos diferentes surfactantes (GERARD *et al.*, 1998)

Uma alternativa no mercado para as chamadas membranas *low fouling* é a Ultracell PLC da Millipore. Essa membrana é recomendada para aplicações que demandam correntes com alto teor de incrustantes como DNA, RNA e lipídios, pois é fabricada com celulose modificada, sendo naturalmente hidrofílica e exibindo menos tendência a adsorver proteínas. O gráfico da

Figura 2.18, mostra a comparação da adsorção da imunoglobulina pela membrana Ultracell e por outras membranas de UF convencionais preparadas com poli(éter sulfona) ou acetato de celulose (MILLIPORE, 2007).

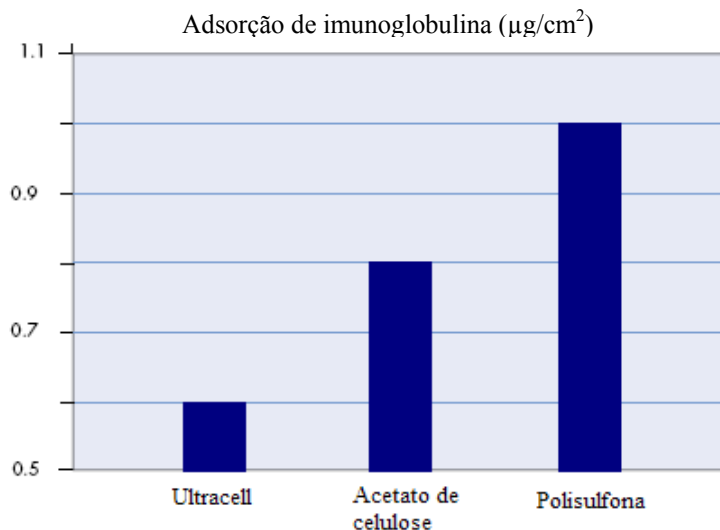


Figura 2.18. Comparação da adsorção de proteína (Imunoglobulina) pelas membranas Ultracell e convencionais de UF.

A DOW Liquid Separations também desenvolveu membranas resistentes a incrustações, chamadas FR (*fouling resistant*). Essas membranas foram submetidas a testes de permeação com alimentação rica em microrganismos, cuja contagem excedia a 2×10^6 UFC/mL. Após aproximadamente 100 horas de operação, os resultados mostraram que a queda do fluxo foi menor para as membranas FR e que a recuperação do fluxo permeado após o ciclo de limpeza chegou a 80%, o que é considerado excelente em termos operacionais e econômicos (SEHN, 2007).

Como se pode perceber, as membranas da nova geração serão mais funcionais e deixarão de ser conhecidas apenas como barreira seletiva. Os novos materiais possuem um forte potencial para as aplicações futuras, e de acordo com essa teoria, se decidiu estudar um agente bactericida (própolis) para modificar as membranas de modo a investigar os efeitos de sua adição na redução das bioincrustações em suas superfícies.

2.7 A Própolis

A própolis é uma substância resinosa obtida pelas abelhas através da coleta de resinas da flora (pasto apícola) da região, e alteradas pela ação das enzimas contidas em sua saliva (GHISALBERTI, 1979). Essa substância é usada pelo homem desde os tempos remotos, principalmente para fins preventivos e curativos. Porém, o interesse pela própolis foi intensificado nas últimas quatro décadas, encontrando-se na literatura um grande número de publicações sobre a sua composição química (BANKOVA *et al.*, 1992; MARCUCCI, 1995; CUNHA *et al.*, 1997; KOO e PARK, 1997; BANSKOTA *et al.*, 1998), atividades biológicas e farmacológicas (BRUMFIT *et al.*, 1990; GRANGE e DAVEY, 1990; PARK *et al.*, 1998; KUJUMGIEV *et al.* 1999; SFORCIN *et al.* 2000).

A própolis bruta encontra-se no estado sólido, sendo dura a 15°C e maleável a partir dos 30°C. Suas propriedades físicas, como cor, odor e faixa de fusão (60° - 70°C) variam de uma amostra para outra. Sua composição química é extremamente complexa, sendo constituída de um modo geral por 55% de resinas e bálsamos, 30% de cera, 10% de compostos voláteis e 5% de pólen e outros compostos inorgânicos (NEGRI *et al.*, 2000) A diferença entre os tipos de própolis está vinculada à sua origem botânica e à espécie de abelha que a produziu. A própolis verde do Brasil, por exemplo, está

associada a planta *Baccharis dracunculifolia*, conhecida também como alecrim-do-campo (LEITÃO *et al.*, 2004).

2.7.1 Composição química da própolis

A própolis tem sido reconhecida por suas características bactericidas e antifúngicas, porém sua estrutura química é bastante complexa e varia de acordo com a origem botânica e fitogeográfica (BONHEVI *et al.*, 1994, BANKOVA e MARCUCCI, 2000). Ela é constituída de uma grande variedade de substâncias como polifenóis, quinonas, cumáricos, esteróides, aminoácidos e compostos inorgânicos. A maioria dos componentes são de natureza aromática, principalmente flavonóides, os quais são agentes bactericidas (BANSKOTA *et al*, 1998; COWAN, 1999; PISCO *et al*, 2006).

Os flavonóides são sintetizados pelas plantas e são reconhecidos como tendo efeitos bactericidas contra uma grande variedade de microrganismos (RECIO *et al*, 1989). As estruturas das principais classes de flavonóides presentes na própolis estão mostradas na Figura 2.19 (PUUPPONEM-PIMIA *et al*, 2001).

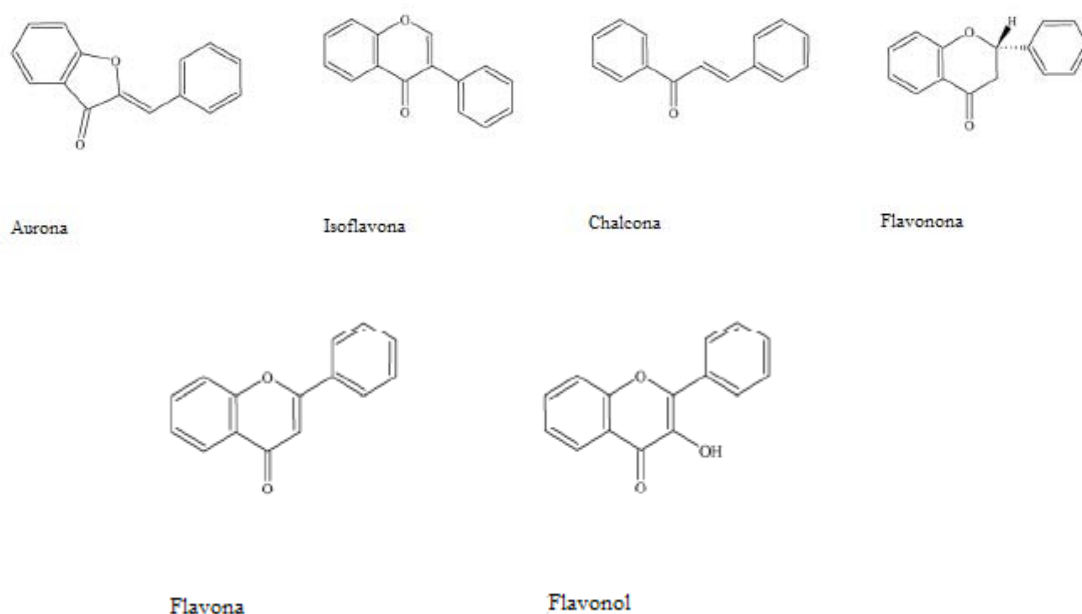
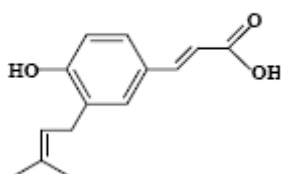


Figura 2.19. Estrutura das principais classes de flavonóides presentes na própolis.

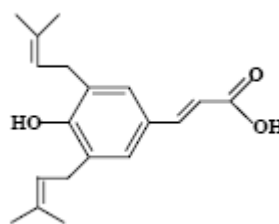
A determinação da composição da própolis é bastante complicado devido a sua composição complexa. Podem ser utilizados vários métodos analíticos, incluindo

cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (CG), espectrometria de absorção atômica, cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (CG-MS), camada delgada de alta eficiência (CCDAE) e espectroscopia no ultravioleta-visível (UV-vis) (MARKHAM *et al.*, 1996; PARK e KOO, 1997; PEREIRA *et al.*, 2000).

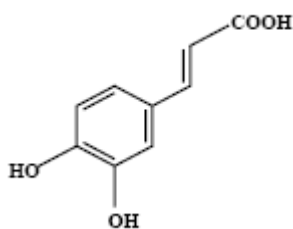
Alguns pesquisadores encontraram e isolaram diversos compostos na própolis brasileira. Suas estruturas químicas estão mostradas na Figura 2.20 (BANSKOTA *et al.*, 1998; MARCUCCI *et al.*, 2001; SANTOS *et al.*, 2002; SAWAYA *et al.*, 2004; SALATINO *et al.*, 2005). Um novo composto foi identificado como ácido 3,4-dihidroxi-5-prenilcinâmico através das análises de espectrometria de massa, infravermelho e ressonância magnética nuclear (HAYASHI *et al.*, 1999).



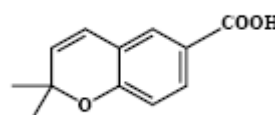
Ácido 3-prenil-4-hidroxicinâmico



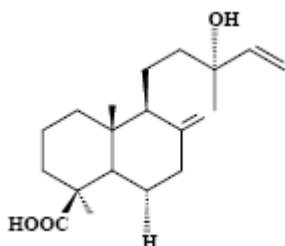
Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico



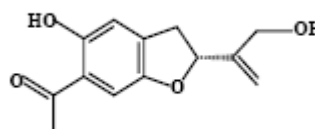
Ácido cafeico



Ácido 2,2-dimetil-2H-1-benzopirano-6-carboxílico



Ácido cuprêssico



Viscidona

2-[1-hidroximetil]vinil-5-acetil-
hidroxicumarano (I)

Figura 2.20. Estruturas químicas dos principais compostos encontrados na própolis brasileira.

BANSKOTA *et al* (1998) analisaram amostras de própolis coletadas em diferentes partes do Brasil e encontraram um novo derivado prenilado, o ácido 3-hidroxi-2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenoico (cuja estrutura está mostrada na Figura 2.21) juntamente com 22 compostos já conhecidos. As estruturas foram descobertas através de análises por cromatografia líquida, espectroscopia no ultravioleta, espectroscopia no infravermelho e ressonância magnética nuclear.

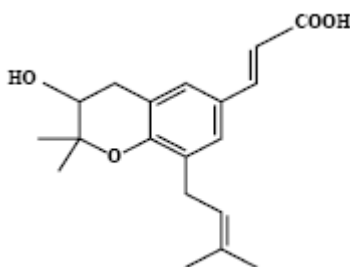
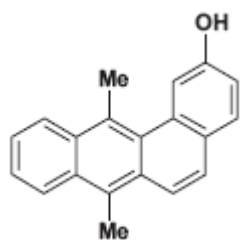
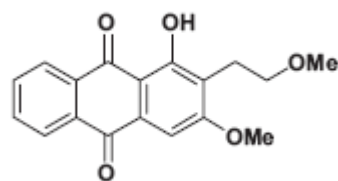


Figura 2.21. Estrutura do ácido 3-hidroxi-2,2-dimetil-8-prenil-2H-1-benzopirano-6-propenóico, encontrado na própolis brasileira.

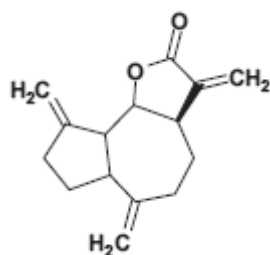
TEIXEIRA *et al* (2005) verificaram a composição química da própolis verde e identificaram diversos compostos prenilados e não-prenilados, terpenóides e compostos de outras classes, mostrados na Figura 2.22.



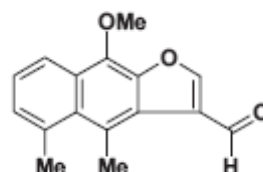
2-hidroxi-7,12-dimetil-benzantraceno



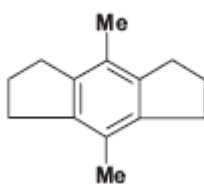
1-hidroxi-2-(1-metoxietil)-3-metoxi-antraquinona



Lactona



Isomaturin



4,8-dimetil-5-hidrindaceno

Figura 2.22. Estruturas dos compostos encontrados na própolis por TEIXEIRA *et al.* (2005).

2.7.2. *Propriedades biológicas e farmacológicas da própolis*

O aproveitamento do potencial farmacológico dos produtos naturais tem se intensificado, e dentro deste contexto, a própolis vem ganhando destaque à medida que se correlaciona sua composição química com suas propriedades biológicas (anti-microbianas, anti-inflamatórias, anti-virais, etc.). O interesse em se caracterizar o tipo de própolis para cada uma das aplicações, em função de sua composição, representa a tendência atual (MIDORIKAWA *et al.*, 2001).

Vários pesquisadores têm estudado as atividades antimicrobianas, hepatoprotetoras e antitumorais da própolis de diferentes localidades. Após identificarem as substâncias presentes, os autores correlacionaram essas atividades à presença de compostos fenólicos (KUJUMGIEV *et al.*, 1999; BANSKOTA *et al.*, 2002; CHEN *et al.*, 2003).

KUMAZAWA *et al.* (2004) compararam as atividades antioxidantes de própolis de diferentes origens: Argentina, Áustria, Brasil, Bulgária, Chile, China, Hungria, Nova Zelândia, África do Sul, Tailândia, Ucrânia, Uruguai, EUA e Uzbequistão. A maioria dos constituintes foram identificados e quantificados por cromatografia líquida. A própolis com forte atividade antioxidante continha compostos antioxidativos, o que foi relacionado com a alta concentração de ácido cafeico.

MARCUCCI *et al.* (2001) testaram os compostos encontrados na própolis brasileira contra *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus* e *Streptococcus faecalis*. Os compostos mostraram atividade bactericida contra todas as bactérias.

GAREDEW *et al.* (2004) propuseram o estudo da ação bactericida de três extratos de própolis: própolis-água, própolis adicionado de compostos voláteis e própolis-etanol. Segundo os autores, o extrato feito com água obteve a pior ação bactericida e anti-fúngica.

Alguns trabalhos mostram a sensibilidade de cepas bacterianas a extratos de própolis, os quais inibem o crescimento de diversas bactérias dos gêneros *Streptococcus* e *Bacillus*. (GONZALES *et al.*, 1985; MERESTA e MERESTA, 1985).

A própolis foi testada como conservante de alimentos, devido às suas propriedades bactericidas e bacteriostáticas, por TOSI *et al.* (2007). Os experimentos foram realizados com extratos a 20% m/m em etanol utilizando-se como microrganismo *Escherichia coli*. Os extratos testados tiveram sucesso em inibir o desenvolvimento da *E. coli*, e conseqüentemente podem ser úteis como conservante natural de alimentos.

A própolis tem sido bastante pesquisada em diversos campos da medicina e por isso merece atenção especial quanto aos experimentos bactericidas. No presente trabalho, foi utilizada a própolis (extrato glicólico 30%) proveniente da região Sul do Estado de Minas Gerais, também conhecida como própolis verde. Ela foi usada como bactericida com o objetivo de reduzir a formação de bioincrustações na superfície das membranas.

3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

Esse capítulo apresenta a metodologia utilizada para a realização dos testes experimentais, bem como a descrição dos materiais e equipamentos utilizados para as caracterizações dos filmes preparados e das membranas modificadas. O objetivo deste capítulo é descrever os procedimentos empregados no recobrimento de uma membrana comercial de osmose inversa utilizando poli(álcool vinílico), assim como a investigação do uso da própolis como composto anti-microbiano para a redução da formação de bioincrustação na superfície da membrana.

A caracterização estrutural dos filmes preparados e das membranas modificadas foi conduzida por análise térmica (DSC e TGA) e espectroscopias no infravermelho, no ultravioleta e por ressonância magnética nuclear. As propriedades de transporte, fluxo permeado e rejeição salina, foram determinadas em sistema de permeação de bancada.

*Para investigar a tendência para a formação de incrustações por deposição de matéria orgânica e microrganismos, as membranas originais e modificadas foram caracterizadas quanto à adsorção utilizando uma proteína modelo, albumina de soro bovino, e quanto à formação de biofilme, utilizando como microrganismos modelos a *Listeria monocytogenes* e leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*).*

3.1 Preparo das soluções de PVA

O poli(álcool vinílico), PVA, tem sido amplamente investigado como material para recobrimento de membranas (RAMOS, 2008) pelo fato de ser um polímero hidrofílico, com baixo potencial a incrustações, biocompatível, quimicamente estável, com habilidade para formação de filmes densos, facilidade de reticulação com diversos compostos multifuncionais e custo reduzido. Seu uso para a síntese de membranas é bastante conhecido, porém, devido à solubilidade do PVA em água, reações de reticulação são necessárias para reduzir o inchamento da matriz polimérica e aumentar a seletividade da membrana.

PVA com massa molar entre 85.000 a 146.000 Da, 99% hidrolisado, foi adquirido da Aldrich Chemical Company, Inc. As soluções poliméricas foram preparadas fixando a concentração do polímero em 0,1 e 1,0 %m/m.

O polímero era pesado em balão e adicionado o solvente (água destilada, microfiltrada e deionizada). Após o término da pesagem o balão era conectado a um condensador. A mistura solvente-polímero era homogeneizada por aproximadamente 24 horas sob agitação magnética. Após a completa solubilização do polímero, a solução era deixada em repouso para garantir a eliminação das bolhas formadas durante a agitação e resfriamento do sistema até temperatura ambiente.

3.1.1 Reticulação do PVA com ácido maleico

Para a reticulação do PVA foi utilizado ácido maleico, adquirido da Aldrich Chemical Company, Inc. Após o preparo da solução de PVA, adicionava-se o ácido maleico na razão mássica de 1:5 (ácido maleico:PVA). A reação de reticulação com ácido maleico era concluída em estufa a 60°C, por aproximadamente 24 horas.

3.1.2. Reticulação do PVA com glutaraldeído

Com o objetivo de melhorar as propriedades das membranas recobertas, também foi utilizado glutaraldeído, adquirido da VETEC na forma de solução aquosa 25% v/v, como agente de reticulação do PVA. A reação de reticulação foi realizada a temperatura ambiente através da mistura das soluções aquosas de PVA e de glutaraldeído, mantendo a razão mássica glutaraldeído:PVA igual a 1:10 (FIGUEIREDO, 2008).

3.1.3 Preparo da solução de PVA com adição de própolis

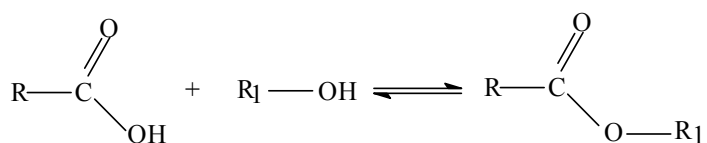
Para a realização desta etapa foi utilizado extrato de própolis (solução glicólica a 30% em propileno glicol) proveniente da região Sul de Minas Gerais. A solução de PVA (1% m/m) foi preparada conforme descrito anteriormente, acrescentando-se quantidades de extrato de própolis (EP) nas proporções PVA/EP de 10/1, 2/1, 1/1, 1/10 (em massa).

A mistura PVA/EP era levada rapidamente ao homogeneizador tipo Turrax por 5 minutos na velocidade de 22.000 rpm. Após esse procedimento, o glutaraldeído era adicionado na temperatura ambiente, mantendo a razão 1:10 em relação ao PVA.

3.2 Reação química entre a própolis e o PVA

Como a própolis bruta não foi totalmente solúvel em água, foi utilizado o dimetilsulfóxido (DMSO) para a solubilização da mesma. O DMSO utilizado como solvente nesta etapa foi obtido da ISOFAR. A própolis bruta é proveniente de apiário da região Sul de Minas Gerais, também conhecida como própolis verde bruta. O álcool etílico P.A. foi obtido da VETEC.

A reação dos componentes da própolis com o PVA deve ser promovida para melhorar sua fixação na matriz polimérica. A principal hipótese para a reação é a formação de éster a partir da reação entre álcool e ácido, conforme o esquema abaixo:



grupo ácido da própolis + hidroxila do PVA \rightleftharpoons grupo éster

Figura 3.1. Reação esperada entre álcool (representada pelo PVA) e ácido carboxílico (representado pelos componentes da própolis).

Primeiramente, foi preparada a solução de PVA utilizando-se como solvente o dimetilsulfóxido (DMSO), na concentração de 10% em massa de polímero. De maneira similar às soluções aquosas, o polímero era pesado e adicionado o solvente. Após o término da pesagem, a mistura solvente-polímero era homogeneizada por aproximadamente 24 horas sob agitação magnética. Após a completa solubilização do polímero, a própolis bruta era adicionada à mistura, em duas proporções, PVA:própolis 2:1 e 10:1 (em massa). Esta mistura era deixada sob agitação por mais 24 horas. As reações foram processadas em duas temperaturas diferentes, 60 e 80°C.

A purificação do PVA reagido com a própolis foi conduzida através de uma etapa de precipitação, na qual 10mL da mistura PVA-própolis era adicionada a 40 mL

de álcool etílico P.A. Após filtração do material precipitado, o solvente residual era evaporado a temperatura ambiente até a secagem completa, caracterizada medindo-se a variação da massa com o tempo.

3.3 Preparação de filmes densos

Com o objetivo de avaliar a incorporação da própolis na solução de PVA, foram preparados filmes densos, vertendo-se as soluções poliméricas preparadas com PVA, extrato de própolis e glutaraldeído (conforme descrito no item 3.1) em placas de Petri. Posteriormente, as placas eram deixadas em capela para secagem a temperatura ambiente, por aproximadamente 48 horas.

3.4. Caracterização da incorporação da própolis no PVA

Após a reação química entre a própolis e o PVA, as amostras preparadas e purificadas, bem como os filmes densos preparados com soluções PVA/extrato de própolis/glutaraldeído foram caracterizadas por espectroscopias no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), no Ultravioleta-visível e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), e por análise térmica (Calorimetria Exploratória Diferencial e Termogravimetria).

3.4.1 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

As análises de infravermelho foram conduzidas em um espectrômetro FTIR da Perkin-Elmer, modelo Spectrum 100, utilizando refletância total atenuada (ATR). Os espectros foram analisados na região de 4.000 a 500 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} , utilizando em média 16 varreduras para cada amostra. As análises de FTIR permitiram avaliar a diferença estrutural entre as amostras, antes e após a mistura da própolis com o PVA.

3.4.2 Espectroscopia no UV-visível

As medidas de espectroscopia na faixa do ultravioleta das amostras foram obtidas em espectrofotômetro UV-VIS da Shimadzu, modelo Mini 1240. Foram realizadas varreduras para a obtenção dos espectros e posterior avaliação do comprimento de onda de maior absorção (DRAPAK, 2006). Com o comprimento de onda obtido, foram feitas as leituras para todas as amostras.

3.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Através da espectroscopia de RMN podem ser obtidos dados sobre o processo de modificação do polímero. As análises foram realizadas em espectrômetro Varian, modelo Mercury 300. As amostras (aproximadamente 100 mg) foram dissolvidas em DMSO e colocadas em tubos de 5 mm.

Para a visualização do núcleo de ^{13}C , foi realizada a análise com intervalo de 2s entre os pulsos, frequência de observação de 75,4 MHz, janela espectral de 18.000 Hz e pulso de 90°C. Foram utilizadas as técnicas de polarização cruzada e rotação no ângulo mágico (CPMAS) e variação de tempo de contato (VTC), que fornecem informações sobre a mobilidade molecular, interações entre os componentes e homogeneidade em nível molecular dos materiais (MACIEL, 2008).

3.4.4 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise por DSC foi conduzida em um calorímetro da Perkin-Elmer, modelo DSC-7, em cápsulas de alumínio fechadas com massa de amostra em torno de 10 mg. As análises foram realizadas no intervalo de temperatura de 10 a 200°C, sob uma razão de aquecimento de 10°C/min e a uma vazão de nitrogênio de 22,5 mL/min.

3.4.5 Termogravimetria (TG)

As curvas de TG das amostras foram obtidas em um analisador termogravimétrico da Perkin-Elmer, modelo TGA 7. A amostra (aproximadamente 5 mg) foi colocada em uma cápsula de platina e submetida a aquecimento na razão de 10°C/min, sob atmosfera de nitrogênio, no intervalo de temperatura de 50 a 900°C. O

acompanhamento da perda de massa com a temperatura possibilitou avaliar as mudanças ocorridas na degradação térmica de cada amostra.

3.5 Modificação de Membranas de OI

Como os principais polímeros utilizados para a fabricação de membranas de osmose inversa são o acetato de celulose (CA) e a poliamida (PA), foi utilizada uma membrana comercial baseada em poliamida (BW30), adquirida da Filmtec/Dow, para o desenvolvimento desse trabalho.

3.5.1 *Recobrimento com polímero hidrofílico*

A modificação superficial da membrana de osmose inversa foi feita por recobrimento, utilizando soluções a 0,1 e 1,0 % m/m de poli(álcool vinílico), contendo ácido maleico para promover a sua reticulação.

A membrana era cortada e fixada em placas de vidro com fita impermeável, de modo a permitir que somente a camada seletiva da membrana entrasse em contato com a solução. Posteriormente, as placas eram mergulhadas na solução de PVA/ácido maleico, e rapidamente eram retiradas e levadas a estufa a 60°C por 24 horas, para a reticulação do PVA com o ácido maleico.

3.5.2 *Recobrimento com solução contendo própolis*

Para a realização desta etapa, foram utilizadas as soluções contendo PVA, glutaraldeído e extrato de própolis, preparadas segundo o item 3.1. As amostras de membrana eram fixadas em placas de vidro e imersas na solução de recobrimento. As membranas eram secas em capela por aproximadamente 24 horas, à temperatura ambiente.

3.6 Caracterização das Membranas de Osmose Inversa

3.6.1 Propriedades de Transporte

As propriedades de transporte (fluxo permeado e rejeição salina) das membranas originais e modificadas foram analisadas em testes de permeação, com água pura e com solução de NaCl a 2.000 mg/L, de modo a avaliar o desempenho das membranas.

Para a realização dos testes de permeação, foi montado um sistema de osmose inversa em escala de bancada, conforme mostra a Figura 3.2.

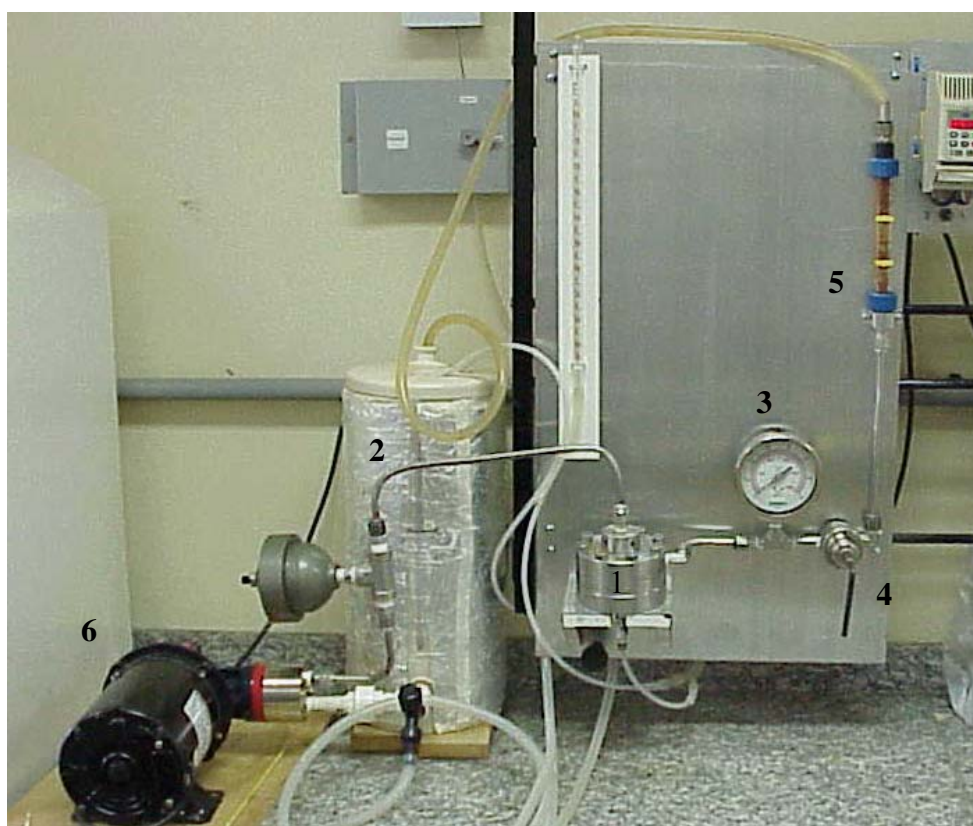


Figura 3.2. Sistema de Osmose Inversa utilizado para a caracterização das membranas originais e recobertas com solução de PVA.

O sistema de permeação consiste de uma célula de aço inoxidável (1), onde fica condicionada a membrana, um tanque de alimentação (2) com volume de aproximadamente 4 litros, um manômetro (3) na saída da célula de permeação, válvula reguladora de pressão (4), rotâmetro (5) e uma bomba (6) para recirculação da solução de alimentação. O sistema opera com reciclo do concentrado e do permeado.

As características de transporte das membranas se alteram quando submetidas à pressão, devido a efeitos mecânicos de compressão da subcamada porosa. Por isso, antes dos testes de permeação, a membrana foi submetida a uma etapa de compactação, com água destilada, microfiltrada e desmineralizada na pressão de 30 bar, até a estabilização do fluxo permeado.

Após a compactação, a pressão do sistema foi variada em 30, 20 e 10 bar para a obtenção da permeabilidade hidráulica.

Por fim, foram realizados os testes de rejeição salina, alimentando-se o sistema com aproximadamente 4 litros de solução de NaCl a 2.000 mg/L. Para cada medida de pressão foram obtidos valores do fluxo permeado e foram coletadas amostras de permeado e da alimentação para as medidas da condutividade e para os cálculos da rejeição (R) seguindo a equação:

$$R = \left[1 - \left(\frac{C_p}{C_a} \right) \right] \times 100 \quad (3.1)$$

onde C_a e C_p são os valores das concentrações de NaCl na alimentação e no permeado, respectivamente. A concentração de NaCl é relacionada com a condutividade da solução através de uma curva de calibração.

3.6.2 Propriedades Morfológicas e Superficiais

A caracterização da morfologia das membranas pode ser feita através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que é uma das principais ferramentas disponíveis para o estudo da morfologia de materiais. O objetivo da utilização desta técnica é a determinação da espessura de recobrimento, assim como a sua influência na morfologia da membrana resultante.

As membranas recobertas com solução de PVA e original foram analisadas por MEV, FEI Company, Quanta 200 com Micro Análise, Oxford Instruments - Penta

FETx3. As amostras foram preparadas por fratura na temperatura do nitrogênio líquido, minimizando-se efeitos associados à deformação mecânica da membrana.

3.6.3 Adsorção de Matéria Orgânica

Nesta etapa, adotou-se como estratégia experimental expor as membranas a uma solução a 0,5g/L de albumina de soro bovino (BSA) (LIU e BAI, 2005) por um determinado tempo e remover a massa aderida para quantificação. Foram utilizados o equipamento de ultrassom Microson Ultrasonic Cell Disruptor XL da Misonic e o espectrofotômetro UV-VIS UV Mini 1240 da Shimadzu.

Uma área conhecida de cada membrana era transferida para uma placa de Petri contendo 20 mL de solução de albumina e deixados por aproximadamente 20 horas, a 25°C e pH neutro, para a verificação da adesão.

Após a exposição ao meio líquido, os filmes eram retirados, lavados com água destilada, transferidos para um recipiente com volume conhecido de água microfiltrada (10 mL) e levados ao aparelho de ultrassom em um ciclo de 1 min e potência de 10 Watts, para a remoção do material aderido durante o tempo de experimento. Posteriormente, a absorbância da água microfiltrada com o material que foi removido da superfície das membranas pelo ultrassom era medida e correlacionada com a concentração de albumina, calculada a partir da curva de calibração. A curva de calibração foi construída preparando uma solução de BSA de concentração 1g/L. Esta solução foi diluída 10; 4; 2 e 1,3 vezes e as absorbâncias das soluções diluídas foram medidas a 280 nm.

3.6.4 Deposição de Matéria Orgânica – Teste de Permeação

Com o objetivo de se estudar a tendência das membranas à deposição de matéria orgânica, foi verificada a variação do fluxo permeado com o tempo de operação. Para a realização dos testes, o sistema de osmose inversa foi alimentado com 4 litros de solução 1g/L de BSA, a pressão foi mantida a 30 bar e a vazão de alimentação foi de 76 L/h.

O decaimento do fluxo permeado foi registrado durante 150 horas de teste e a variação percentual (fluxo inicial/fluxo após 150 h) foi utilizada para quantificar o processo de deposição de matéria orgânica.

3.6.5 Formação do Biofilme

Para a quantificação da intensidade de formação de biofilme, selecionou-se como microrganismo modelo a *Listeria monocytogenes* 7644, pois foi verificado que este microrganismo é capaz de formar biofilmes em curtos períodos de tempo em determinadas superfícies, porém deve-se atentar ao fato de que se trata de um microrganismo patogênico (ARAUJO, 2007).

3.6.5.1 Adesão e Crescimento do Biofilme

Após a inoculação padrão do microrganismo, as células foram cultivadas com ágar TSYE por 24 horas a 35°C. O ágar TSYE foi preparado utilizando-se 40g de ágar tripticase (MERCK) e 6g de extrato de levedura (MERCK), dissolvidos em 1 L de água destilada. O pH foi ajustado para $7,3 \pm 0,1$ com auxílio de potenciômetro (TECNOPON, mPA 210 P) e o meio fundido em microondas (SHARP, Carousel II) foi posteriormente esterilizado em autoclave a 121° C por 20 minutos (FABBE PRIMAR industrial Ltda, autoclave vertical modelo 103). Após a esterilização, o meio foi vertido em placas de Petri estéreis descartáveis ou em tubos de vidro esterilizados, no caso do preparo do meio em tubo inclinado.

Após o tempo de cultivo em ágar TSYE, foram adicionados 6mL de água destilada esterilizada e a superfície do meio foi raspada com auxílio de alça de platina para a remoção da massa celular, formando uma suspensão. Dessa suspensão, foi retirada uma alíquota e colocada em cubeta para se medir a densidade óptica em espectrofotômetro (Analytik Jena Specord 210) com comprimento de onda de 610nm, garantindo que todas as suspensões teriam aproximadamente a mesma quantidade de microrganismo por unidade de volume.

Segundo metodologia descrita por PARRIZZI *et al.* (2004), as amostras de membranas com área 1cm² foram colocadas, em duplicata, em contato com 36mL de TSYE. Para o preparo do meio TSYE foram utilizados 30g de caldo tripticase

(MERCK), 6g de extrato de levedura (MERCK), dissolvidos em 1 L de água destilada morna. O pH foi ajustado para $7,3\pm 0,1$ com auxílio de potenciômetro (TECNOPON, mPA 210 P) e o meio distribuído em frascos com tampa de rosca para esterilização em autoclave a 121°C , por 20 minutos (FABBE PRIMAR industrial Ltda, autoclave vertical modelo 103).

Em seguida, uma alíquota de 4mL da suspensão bacteriana foi inoculada em cada erlenmeyer contendo a amostra de membrana para completar o volume de 40mL (inóculo representando 10% do volume total). Os conjuntos foram incubados a 35°C com agitação de 100rpm em shaker (430RDB-Nova Ética), até a caracterização do biofilme formado por contagem de células viáveis aderidas, MEV e microscopia de epifluorescência.

3.6.5.2 Contagem de Células Viáveis Aderidas

Após 28 horas de adesão, as amostras foram retiradas do meio e lavadas com água destilada para a remoção das células não aderidas. Cada amostra foi adicionada a tubos contendo pérolas de vidro e 10mL de solução salina. Os tubos contendo as amostras foram submetidos a agitação em vórtex com velocidade máxima por 2 minutos para que houvesse a remoção mecânica das células aderidas. A partir da primeira diluição, foi realizada a diluição seriada até 10^{-10} , em tubos contendo 9mL de solução salina. O inóculo foi realizado através do método da gota (MILES e MISRA, 1938).

De cada tubo contendo as diluições, foram retiradas alíquotas de 20 μL para inocular em placas contendo ágar TSYE. As alíquotas foram dispostas sobre o meio em forma de gotas, sem espalhamento. Após a absorção da gota pelo meio, as placas foram incubadas a 35°C por 24 horas, então foi realizada a contagem das colônias presentes em cada gota. Foram consideradas ideais para contagem as gotas que possuíam entre 5 e 50 UFC. O número de células viáveis foi determinado através da média do número de colônias multiplicado pela diluição e por 50 (para a correção do volume para 1 cm^3) (ARAÚJO, 2006, FERREIRA *et al.*, 2007; PIRES *et al.*, 2007).

3.6.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com o objetivo de avaliar a evolução do crescimento microbiano foram realizadas análises de imagens obtidas por MEV. Nesta etapa, foi utilizado o Microscópio Eletrônico de Varredura FEI Company Quanta 200 com Micro Análise Oxiford Instruments - Penta FETx3.

As amostras não passaram pelos procedimentos de fixação, que envolvem o uso de substâncias químicas que, geralmente, reagem com alguns componentes da matriz biológica, o que poderia modificar a estrutura real dos biofilmes (SIMÕES *et al.*, 2007).

Conforme descrito por MACHADO (2005) e SIMÕES *et al.* (2007), foi realizada uma desidratação das amostras através de imersão em soluções de etanol absoluto de concentração crescente até 100% (10, 25, 40, 50, 70, 80, 90 e 100%), permanecendo 15 minutos em cada solução.

Após secagem, as amostras foram metalizadas (banho de ouro) e levadas para a visualização da superfície no MEV, em alto vácuo.

3.6.5.4 Microscopia de Epifluorescência

As células aderidas às amostras das membranas foram coradas para a microscopia como descrito no protocolo experimental fornecido pelo distribuidor do kit de viabilidade bacteriana para ensaios microscópicos e quantitativos L7012 LIVE/DEAD® (Molecular Probes Inc., EUA).

Foram misturados volumes iguais dos componentes A (SYTO 9 - 3,34mM) e B (Iodeto de Propídeo – 20mM). Foram adicionados 3µL desta mistura de corantes nas superfícies testadas e após 15 minutos em temperatura ambiente e no escuro, as amostras foram colocadas entre lâmina e lamínula e levadas ao microscópio Zeiss Axioplan 2. Este microscópio é equipado com sistema de fluorescência e câmera digital Color View XS, permitindo a observação das células viáveis aderidas.

3.6.5.5 *Teste de permeação – Longa duração*

Com o objetivo de se avaliar a resistência das membranas (em operação) quanto à formação do biofilme foram realizados testes de permeação de longa duração no sistema de osmose inversa, mostrado na Figura 3.1. O teste foi realizado alimentando-se o sistema com uma solução a 200 mg/L de levedura comercial liofilizada (*Saccharomyces cerevisiae*), a 30 bar e vazão de 76 L/h. O decaimento do fluxo permeado foi registrado durante 150 horas de operação e a variação percentual (fluxo inicial/fluxo após 150 h) foi utilizada para se avaliar o efeito da formação de biofilme.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos durante o desenvolvimento desta tese. Primeiramente, foi realizado o estudo da reação química entre a própolis e o PVA. Nesta etapa, foram preparadas soluções de PVA e própolis em diversas proporções, variando-se a temperatura de reação. Para uma melhor avaliação da incorporação da própolis no PVA, também foram preparados filmes densos, utilizando-se soluções de PVA e extrato de própolis. As amostras obtidas após a reação química e os filmes densos foram submetidos à análise térmica (DSC e TGA) e espectroscopias de infravermelho, de UV-visível e de ressonância magnética nuclear, para a verificação dos grupos funcionais existentes.

*Para a investigação da resistência à deposição de matéria orgânica e formação de biofilme, uma membrana comercial de osmose inversa foi recoberta com solução de PVA e própolis e, posteriormente, caracterizada quanto às propriedades de transporte (permeabilidade hidráulica e rejeição salina). A adsorção de matéria orgânica foi estudada, utilizando-se solução de albumina de soro bovino e a resistência à formação de biofilme foi caracterizada utilizando um microrganismo modelo (*Lysteria monocytogenes*) e um tipo de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*).*

4.1 Estudo da incorporação da própolis no PVA

Para que houvesse incorporação efetiva dos componentes da própolis na matriz polimérica do PVA, após a dissolução dos componentes, a solução foi mantida aquecida por 24 horas com o objetivo de facilitar a reação entre os grupos hidroxila do PVA com grupos ácidos presentes em vários dos compostos representativos da própolis. Após este período, procedia-se a etapa de purificação, conforme descrito no Capítulo 3. As amostras do material obtido e os filmes densos correspondentes foram analisados através de espectroscopias no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), do UV-visível (UV) e de ressonância magnética nuclear (RMN), e quanto à análise térmica (DSC e TGA).

Através da comparação dos resultados de caracterização das amostras obtidas com ou sem a adição do extrato de própolis, procurou-se identificar a presença de novos grupos funcionais oriundos da incorporação da própolis na matriz do PVA.

4.1.1 Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

As análises por espectrometria de infravermelho foram realizadas com o objetivo de investigar o aparecimento de bandas características de grupos químicos resultantes da reação da própolis com o PVA, como os grupos éster formados pela reação entre as hidroxilas e ácidos carboxílicos. Por outro lado, a presença de bandas características dos compostos da própolis no espectro pode indicar que houve a incorporação da própolis na matriz polimérica sem a ocorrência da reação química.

A Figura 4.1 mostra o espectro de FTIR obtido para a própolis bruta. Pode-se observar próximo a 3.200 cm^{-1} a banda característica do grupo OH. Na faixa de 3.000 a 2.800 cm^{-1} aparecem duas bandas intensas, que podem ser relacionadas a grupos metilênicos.

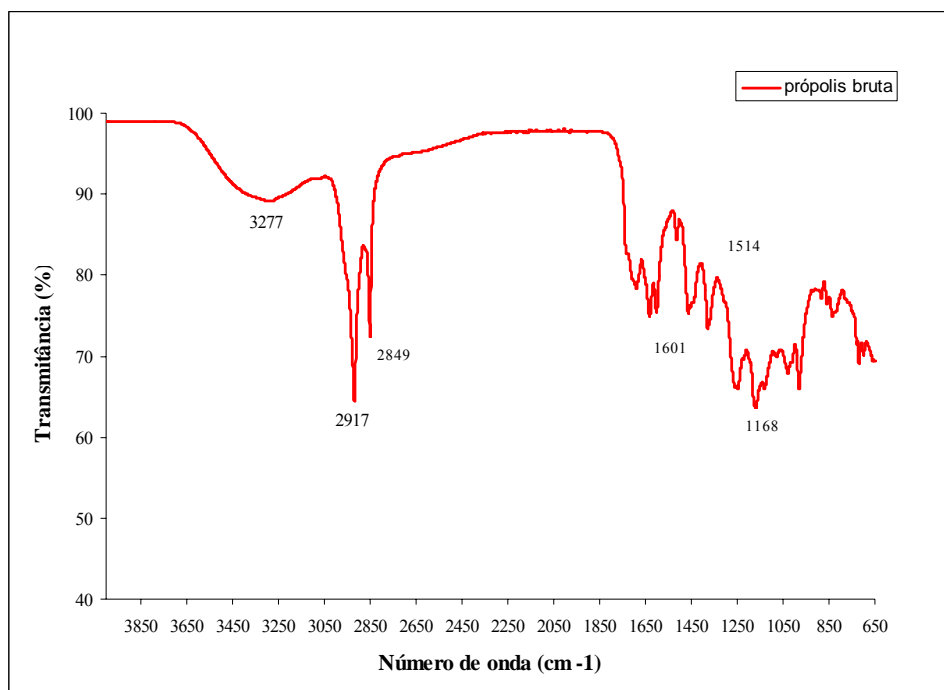


Figura 4.1. Espectro de FTIR obtido para a própolis bruta.

Segundo WU *et al.* (2008) de 1.600 a 1.500 cm^{-1} podem ser observadas bandas relativas aos flavonóides, como as dos anéis aromáticos em 1.601 cm^{-1} e 1.514 cm^{-1} . Na área que compreende a região de 1.300 a 900 cm^{-1} , a banda intensa que ocorre em torno de 1.160 cm^{-1} leva à identificação do grupo OH como sendo característico de fenol. As bandas registradas na região de 900 a 675 cm^{-1} podem estar ligadas a alcenos, presentes na estrutura da própolis (SILVERSTEIN *et al.*, 1991, WU *et al.*, 2008). Sendo assim, o espectro obtido para a própolis bruta corrobora com a literatura, sendo os principais compostos encontrados os flavonóides (formados por anéis aromáticos) e compostos prenilados e não-prenilados (BANSKOTA *et al.*, 1998, MARCUCCI *et al.*, 2001, SANTOS *et al.*, 2002, SAWAYA *et al.*, 2004, SALATINO *et al.*, 2005).

A Figura 4.2 mostra o espectro de FTIR correspondente ao filme de PVA obtido a partir da solubilização em DMSO, a 60°C. Nesse caso, destacam-se duas bandas bem intensas: uma banda de absorção em torno de 3.200 cm^{-1} relativa ao grupo OH do PVA e uma relativa à ligação S=O do DMSO, em 1.050 cm^{-1} .

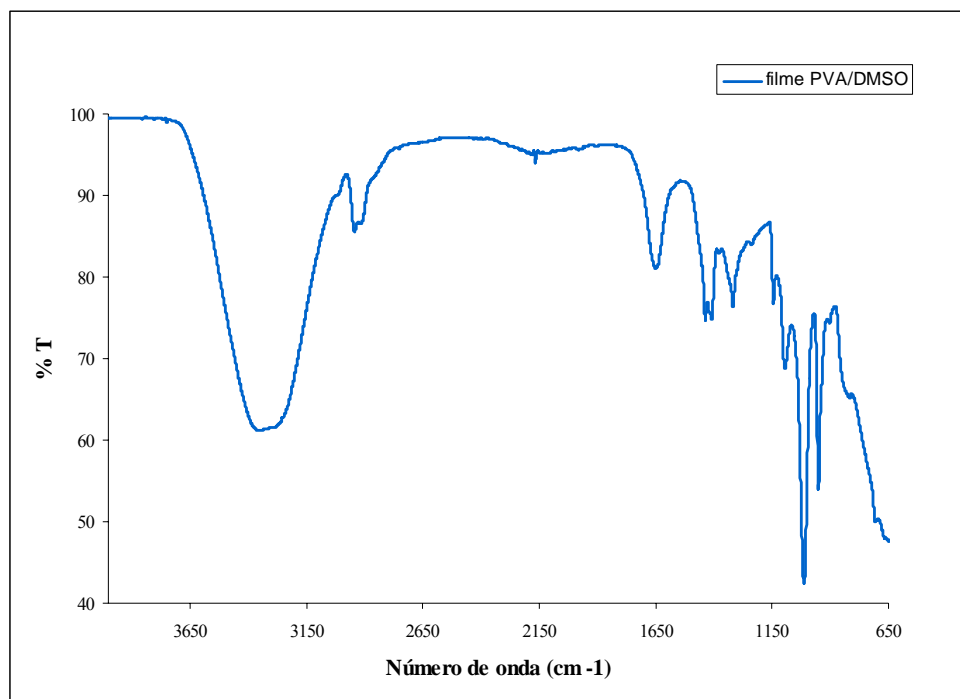


Figura 4.2 Espectro de FTIR obtido para o filme de PVA/DMSO obtido após a solubilização do PVA em DMSO. Proporção PVA/DMSO 10% em massa de polímero.

Para o melhor entendimento e caracterização da incorporação dos componentes da própolis, a Figura 4.3 compara os espectros de FTIR de filmes de PVA/própolis em

diferentes proporções, obtidos a partir de soluções em DMSO, com os espectros da própolis bruta e do filme de PVA obtido também a partir de soluções com DMSO. No caso da mistura PVA/própolis, a solução em DMSO foi mantida a 60°C por 24 horas para propiciar a reação entre os componentes.

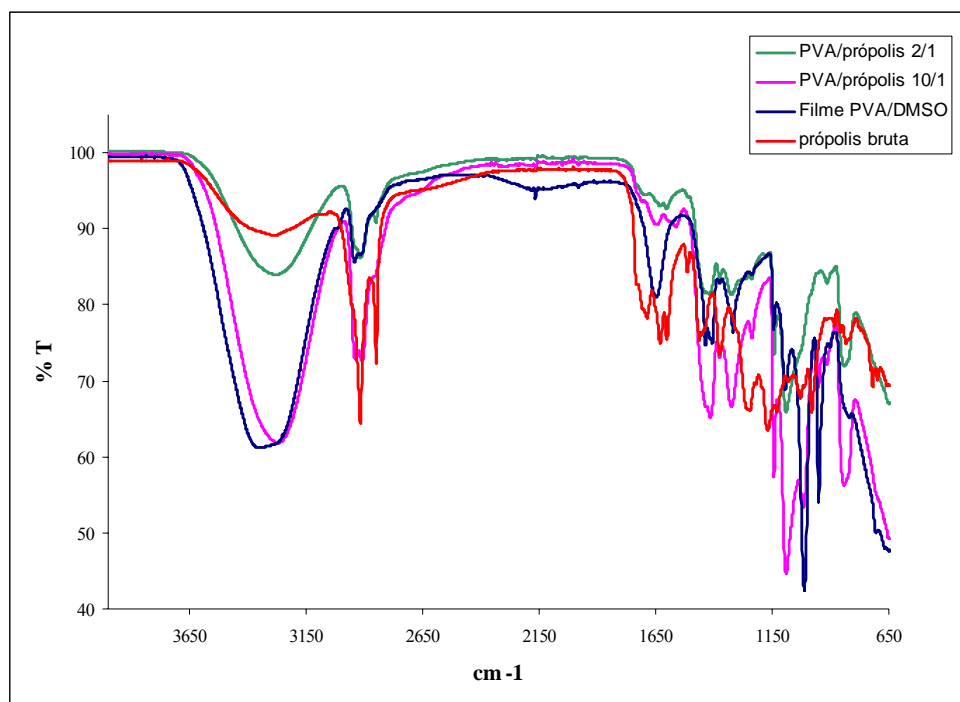


Figura 4.3 Espectros de FTIR obtidos para os filmes de PVA/própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, comparados aos espectros da própolis bruta e do filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

De modo a facilitar a análise comparativa, a Figura 4.4 destaca as bandas dos espectros na região do grupo OH. Pode-se observar que tanto as misturas PVA/própolis, quanto o filme de PVA apresentam uma banda referente a esse grupo, em torno de 3.200 cm^{-1} . Esta banda é mais discreta para a própolis, sendo característica do PVA. A redução da absorção neste número de onda, com o aumento do teor de própolis na solução, pode indicar o consumo dos grupos hidroxila em reações com os grupos funcionais dos compostos da própolis.

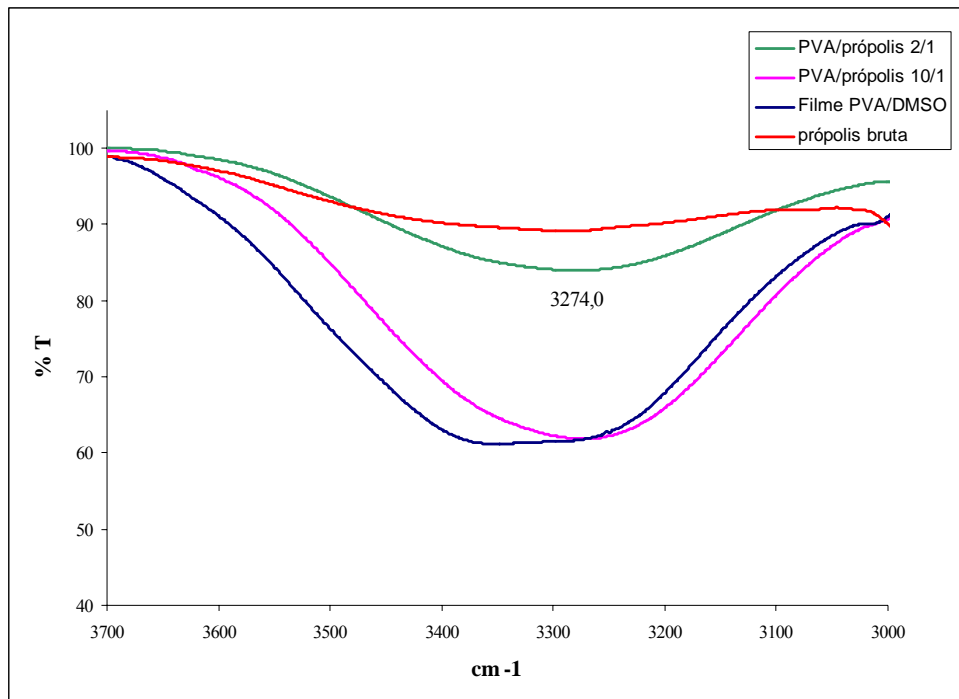


Figura 4.4. Espectros de FTIR na região do grupamento OH dos filmes de PVA/própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, e dos componentes isolados, própolis bruta e filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

A Figura 4.5 apresenta os espectros na faixa de 3.000 – 2.800 cm⁻¹, que compreende bandas características da própolis em torno de 2.849 cm⁻¹.

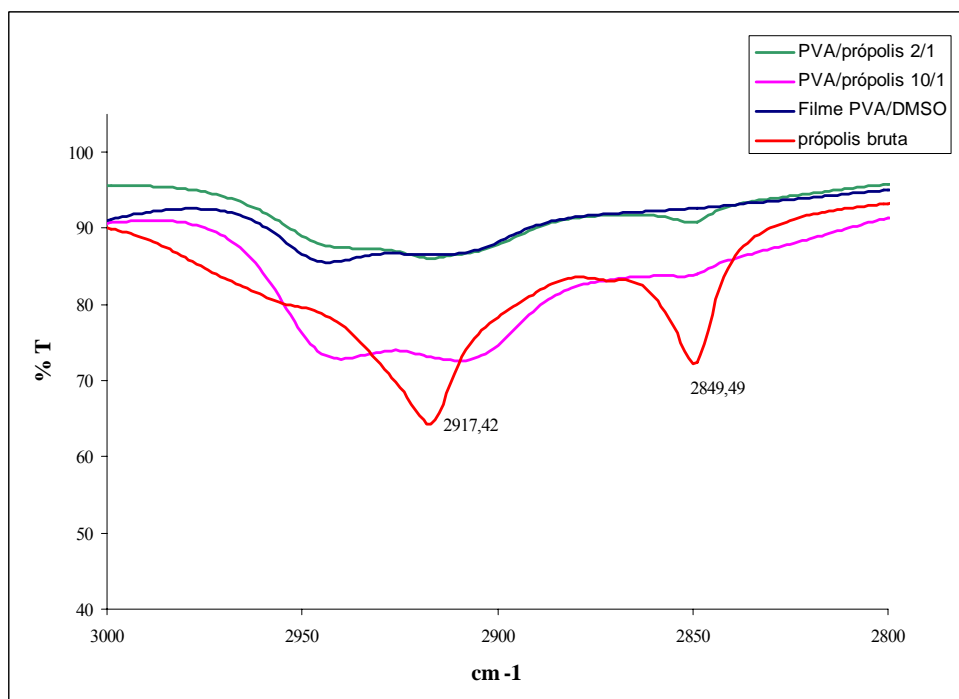


Figura 4.5. Espectros de FTIR na faixa 3.000-2.800 cm⁻¹ dos filmes de PVA/própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, da própolis bruta e do filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

A comparação com os espectros das misturas PVA/própolis e do filme de PVA mostra que, possivelmente, a própolis foi incorporada ao PVA, já que houve redução da intensidade desta banda nos filmes PVA/própolis. Essa banda não é observada no espectro do filme de PVA.

De modo a confirmar a incorporação da própolis no PVA, foi realizada a análise de FTIR na faixa de 1.800 a 1.300 cm^{-1} (Figura 4.6). Essa região mostra a presença de anéis aromáticos (em torno de 1.600 cm^{-1}), conforme se observa no espectro da própolis bruta e com pequena intensidade nos espectros das misturas. Em 1.514 cm^{-1} se observa uma banda característica de compostos aromáticos presentes em flavonóides, conforme descrito por WU *et al.*, 2008. Essa banda não foi encontrada no espectro do PVA. Em torno de 1.370 cm^{-1} pode ser observada em todos os espectros, com exceção do filme de PVA, uma banda que pode ser relacionada aos ácidos carboxílicos.

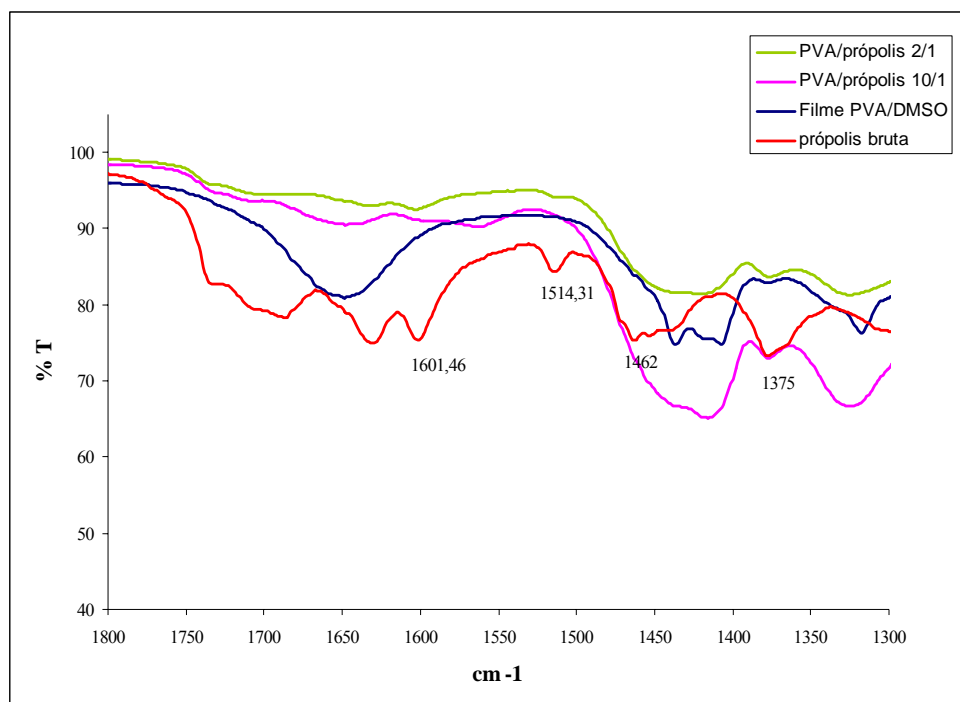


Figura 4.6. Espectros de FTIR na região de 1.800 a 1.300 cm^{-1} dos filmes de PVA/ própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, da própolis bruta e do filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

A região intermediária do espectro, 1.300 - 900 cm^{-1} , é conhecida como a região da “impressão digital” da molécula, na qual podem ser observadas as bandas

originadas de modos de vibração acoplados. A Figura 4.7 mostra os espectros correspondentes, podendo-se observar que os espectros das misturas se assemelham ao do filme de PVA. Entretanto, nesta região não é possível observar evidências conclusivas sobre a presença ou ausência de grupos funcionais característicos (SILVERSTEIN *et al.*, 1991).

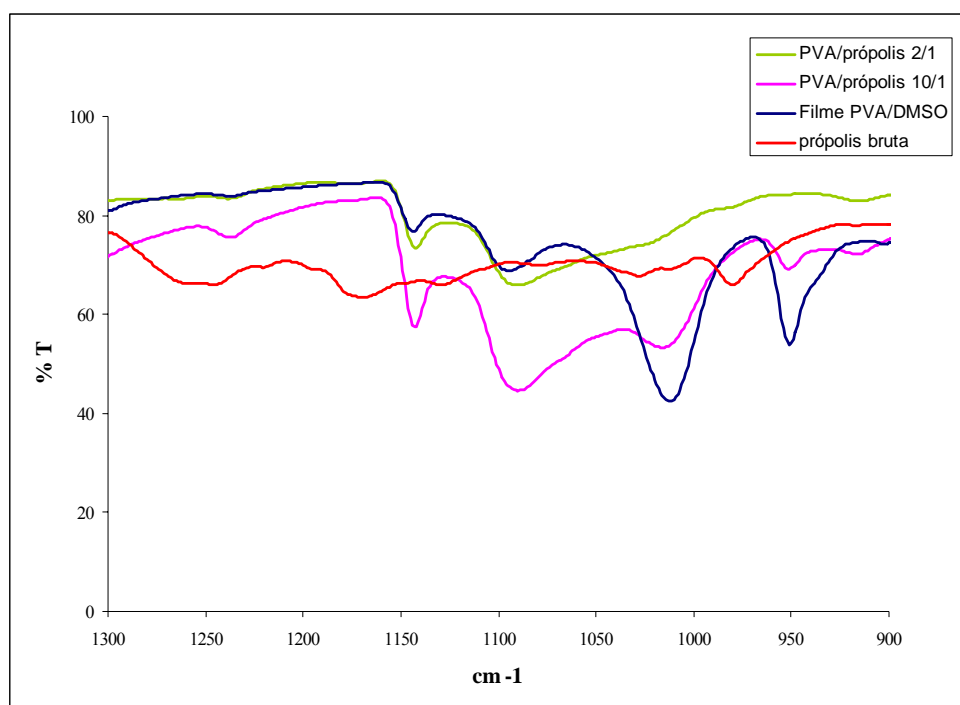


Figura 4.7. Espectros de FTIR na região de 900 a 1.300 cm^{-1} dos filmes de PVA/ própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, da própolis bruta e do filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

Além disso, foi realizada análise da região de comprimentos de onda mais baixos, de 900 a 650 cm^{-1} . Nessa região, os compostos aromáticos e heteroaromáticos produzem bandas intensas. A Figura 4.8 mostra os espectros, podendo-se observar que os filmes preparados com as misturas de PVA e própolis se assemelham ao espectro do filme de PVA, sem indicar, portanto, a presença da própolis.

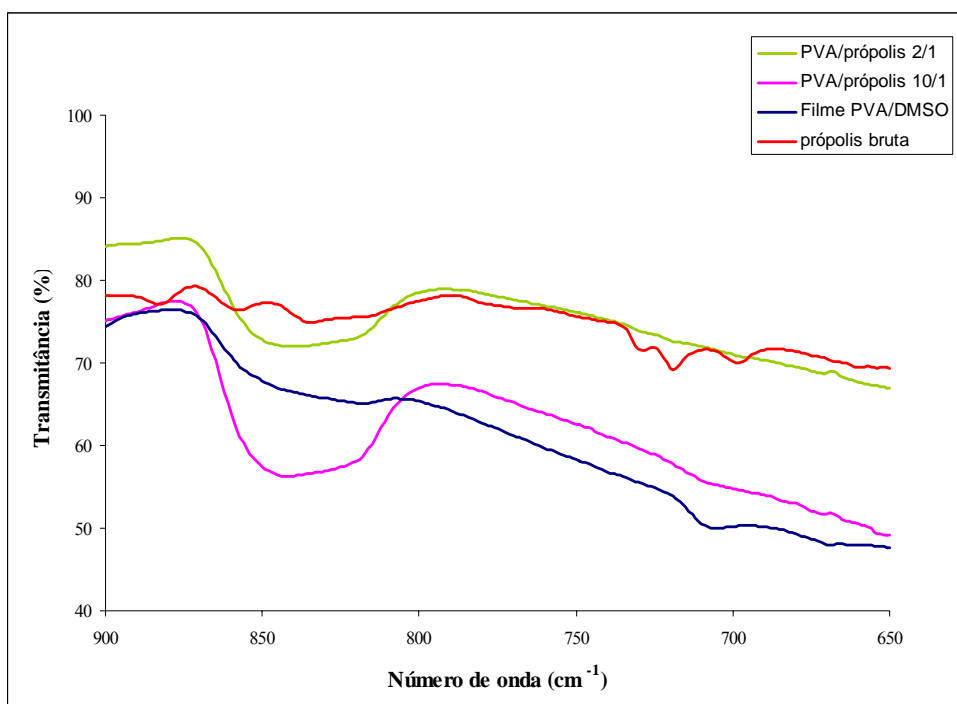


Figura 4.8. Espectros de FTIR na região de 900 a 650 cm^{-1} dos filmes de PVA/ própolis nas proporções 2/1 e 10/1 em massa, da própolis bruta e do filme de PVA. Solução PVA/própolis mantida a 60°C/24 h antes do preparo do filme denso.

Para avaliar o efeito da temperatura na reação de incorporação da própolis no PVA, foram realizadas análises de FTIR das amostras preparadas a partir do aquecimento da solução a 60 e 80°C. A Figura 4.9 mostra os espectros de FTIR dos filmes obtidos a partir da solução PVA/própolis 2/1 após aquecimento a 60° ou a 80°C. Praticamente não são observadas diferenças entre os espectros dos filmes obtidos com o acondicionamento da solução em diferentes temperaturas, tendo sido mantida a presença das principais bandas características em ambos os espectros.

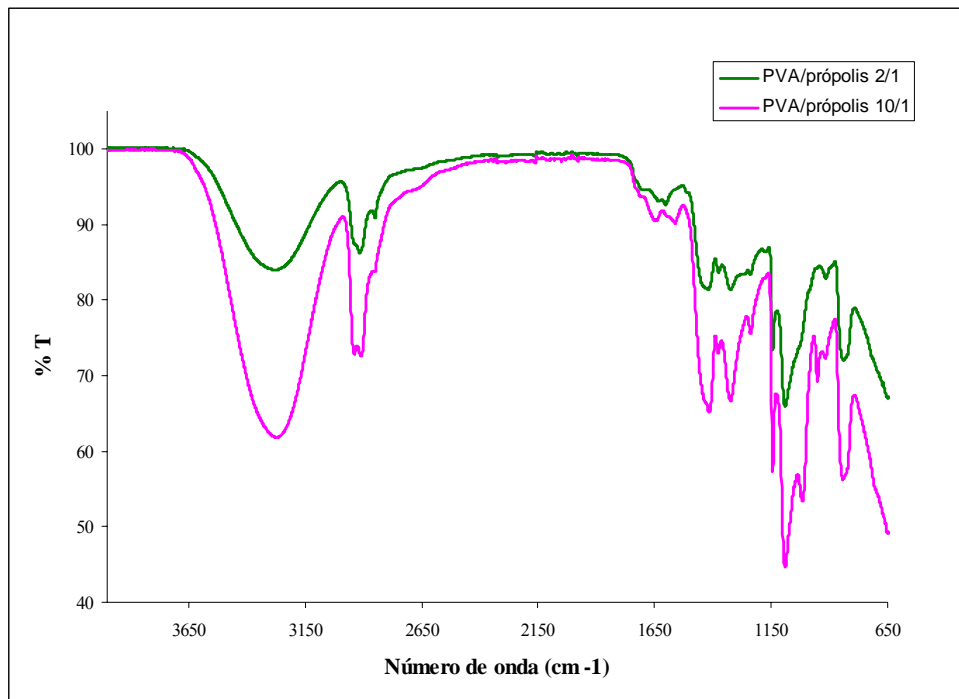


Figura 4.9 Espectros de FTIR obtidos para os filmes de PVA/própolis na proporção 2/1. Solução PVA/própolis mantida a 60 ou 80°C/24 h antes do preparo do filme denso.

Além das amostras obtidas após o aquecimento da solução de PVA com própolis bruta, também foram avaliados filmes obtidos a partir de misturas de PVA (1% m/m) com extrato de própolis nas proporções 1/2 e 1/10, preparadas em Turrax, conforme descrito no Capítulo 3. A Figura 4.10 mostra os espectros do filme de PVA e dos filmes de PVA/própolis, comparados ao espectro do extrato de própolis.

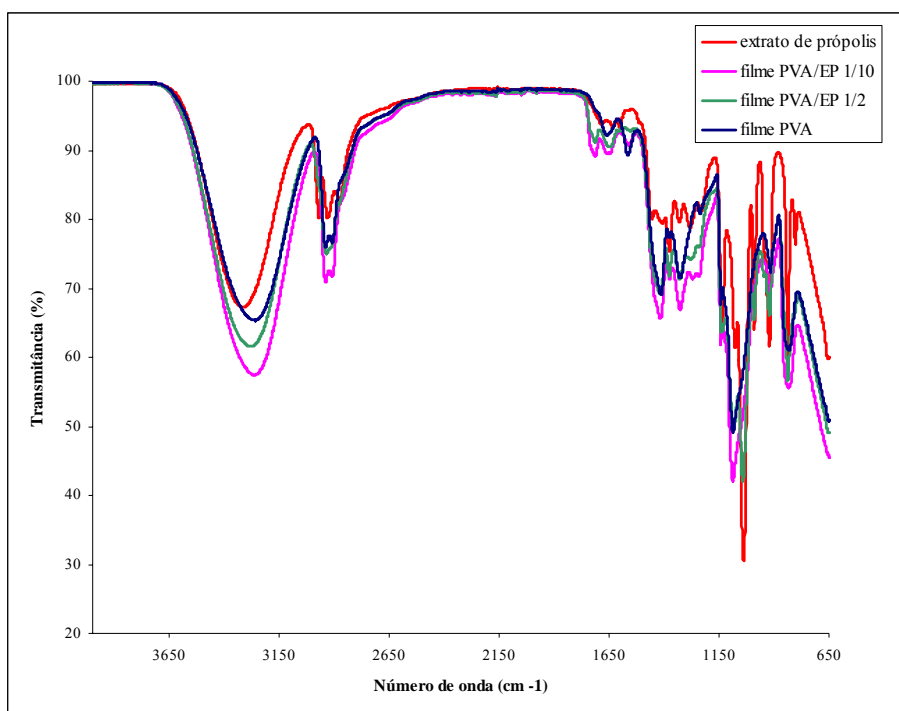


Figura 4.10. Espectros de FTIR para o filme de PVA e para os filmes de PVA com extrato de própolis nas proporções 1/2 e 1/10, comparados ao espectro do extrato de própolis puro.

Pode-se observar na Figura 4.10 que a região do espectro referente ao grupo OH (em torno de 3.200 cm^{-1}) é bem semelhante para todas as amostras, indicando a presença desses grupos tanto nas misturas, quanto nas amostras puras. Para facilitar a comparação e confirmação da incorporação da própolis através de outras regiões do espectro, foi feita análise na região de $3.000\text{-}2.800\text{ cm}^{-1}$.

A Figura 4.11 mostra os espectros das amostras.

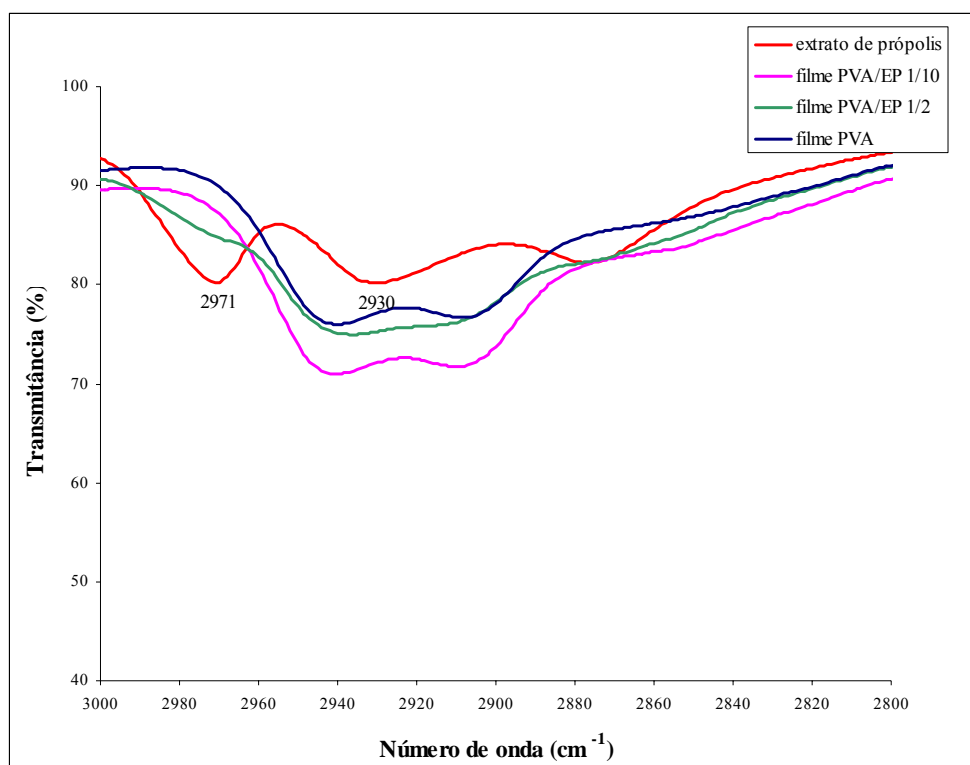


Figura 4.11. Espectros de FTIR na faixa 3.000- 2.800 cm^{-1} dos filmes de PVA/extrato de própolis nas proporções 1/2 e 1/10 em massa, do extrato de própolis puro e do filme de PVA em H_2O .

Pode-se observar que o espectro do filme preparado com a solução com maior teor de extrato de própolis se assemelha ao espectro do extrato de própolis puro, indicando a presença dos seus componentes nos filmes de PVA.

A Figura 4.12 mostra os espectros de FTIR das amostras na faixa de 1.800 - 1.300 cm^{-1} , que compreende a região dos anéis aromáticos (em torno de 1.601 cm^{-1}) e a região relativa ao grupo dos ácidos ou à ligação C-O presente em fenóis (em torno de 1.370 cm^{-1}). Observa-se que a primeira banda somente está presente no espectro do extrato de própolis, enquanto a segunda está presente tanto no espectro do extrato de própolis, quanto nos espectros das misturas, indicando mais uma vez que a própolis foi de fato incorporada ao PVA.

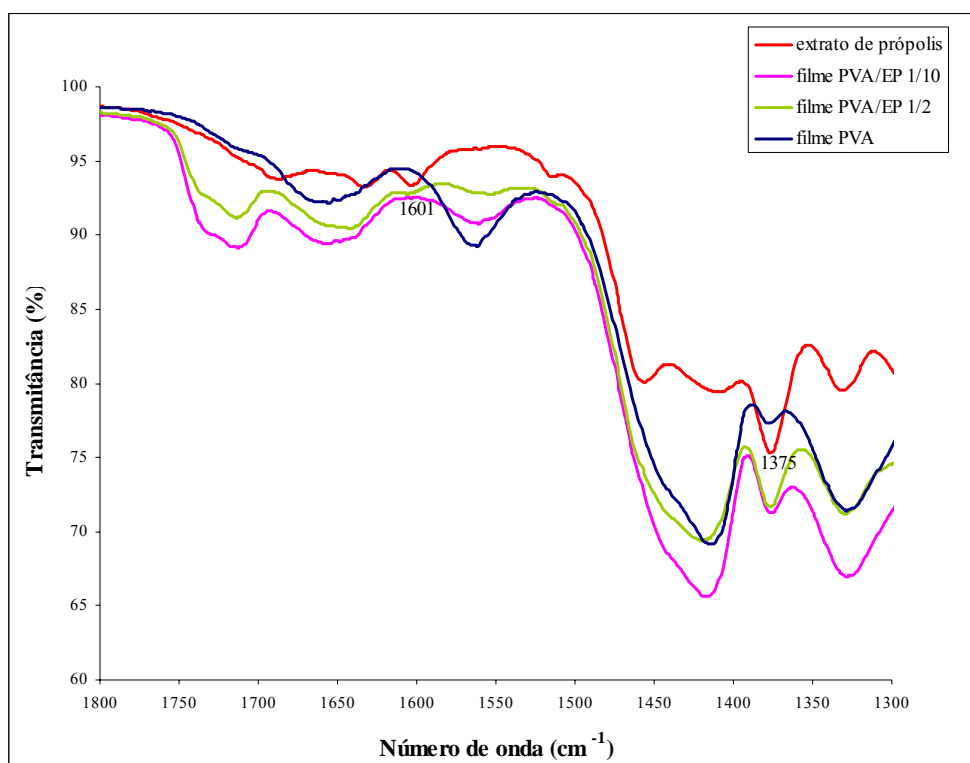


Figura 4.12. Espectros de FTIR na faixa 1.800 – 1.300 cm^{-1} dos filmes de PVA adicionados de extrato de própolis nas proporções 1/2 e 1/10 em massa, do extrato de própolis e do filme de PVA.

A Figura 4.13 mostra os espectros na faixa de 1.300 a 650 cm^{-1} .

Nesse caso, podem ser observadas mais semelhanças entre os espectros do extrato de própolis (EP) e dos filmes resultantes da solução com maior teor de extrato de própolis (PVA/EP 1/2), como indicado pelas bandas em 1.036, 989, 945 e 835 cm^{-1} . Este fato confirma, portanto, a incorporação da própolis na matriz polimérica do PVA.

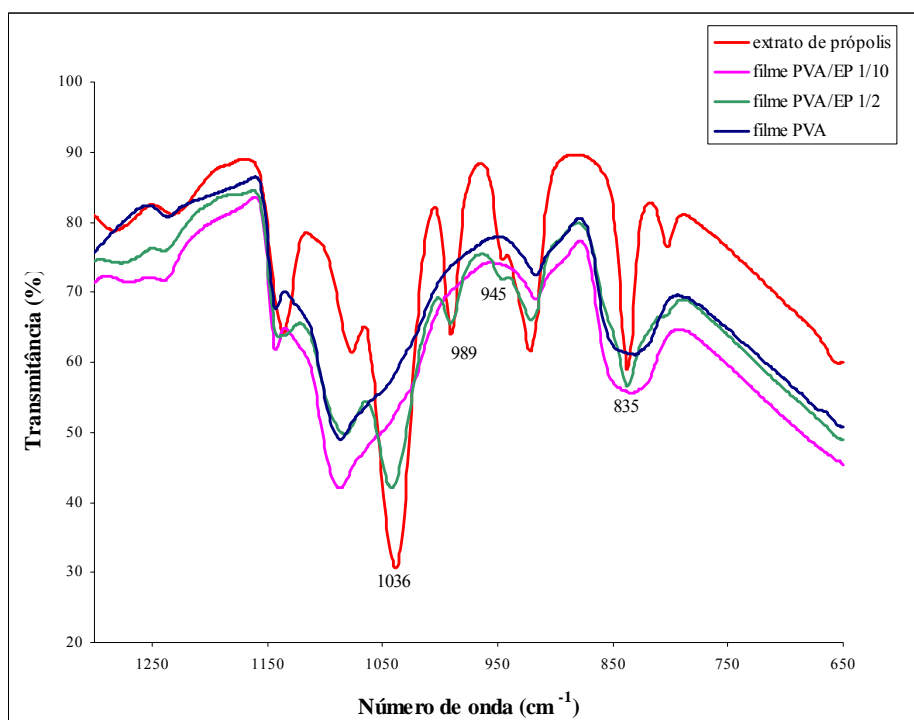


Figura 4.13. Espectros de FTIR na faixa 1.300- 650 cm^{-1} dos filmes de PVA adicionados de extrato de própolis nas proporções 1/2 e 1/10 em massa, do extrato de própolis e do filme de PVA.

4.1.2 Espectroscopia na região do UV-visível

Com o objetivo de confirmar os resultados obtidos por FTIR, os quais indicam a incorporação da própolis na matriz polimérica do PVA, foram realizadas análises na faixa do UV-visível. A Tabela 4.1 mostra os resultados obtidos no comprimento de onda de 425 nm para as amostras dos filmes PVA/própolis bruta nas proporções 2/1 e 10/1, nas duas temperaturas analisadas.

Tabela 4.1. Resultados das análises realizadas a 425 nm para as amostras dos filmes de PVA/própolis bruta obtidos a partir de soluções mantidas a 60°C ou a 80°C.

FILME ^a	ABSORBÂNCIA	TEMPERATURA DE ACONDICIONAMENTO DA SOLUÇÃO
PVA	0	60°C
PVA/própolis (proporção 10/1)	0,246	
PVA/própolis (proporção 2/1)	0,617	
PVA	0	80°C
PVA/própolis (proporção 10/1)	0,705	
PVA/própolis (proporção 2/1)	2,493	

^aTodos filmes obtidos a partir de soluções em DMSO

Pode-se observar pelos resultados obtidos na região de UV-visível que quanto maior o teor de própolis na mistura, maior a absorbância, comprovando sua presença na amostra. Além disso, são observados maiores valores para as amostras obtidas a partir da solução mantida a 80°C/24 h, o que pode indicar o favorecimento da reação entre os grupos hidroxila do PVA com os grupos ácidos dos componentes da própolis.

Os filmes obtidos a partir da mistura de PVA com extrato de própolis também foram analisados por espectrometria de UV-visível e a Tabela 4.2 mostra os valores de absorbância no comprimento de onda de 425nm para os filmes correspondentes.

Tabela 4.2. Análises realizadas a 425 nm para as amostras dos filmes de PVA/extrato de própolis obtidos a partir de soluções preparadas em Turrax.

FILME	ABSORBÂNCIA
PVA	0
PVA/extrato de própolis (proporção 1/2)	0,560
PVA/extrato de própolis (proporção 1/10)	0,655

Como esperado, a amostra com maior teor de extrato de própolis apresentou maior valor de absorbância, confirmando a presença da própolis na mistura com o PVA.

4.1.3 Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) do ¹³C

Com o objetivo de obter dados sobre o processo de modificação do PVA, foram realizadas análises de RMN do PVA puro e da mistura PVA/própolis 1/10. A Figura 4.14 mostra os resultados obtidos.

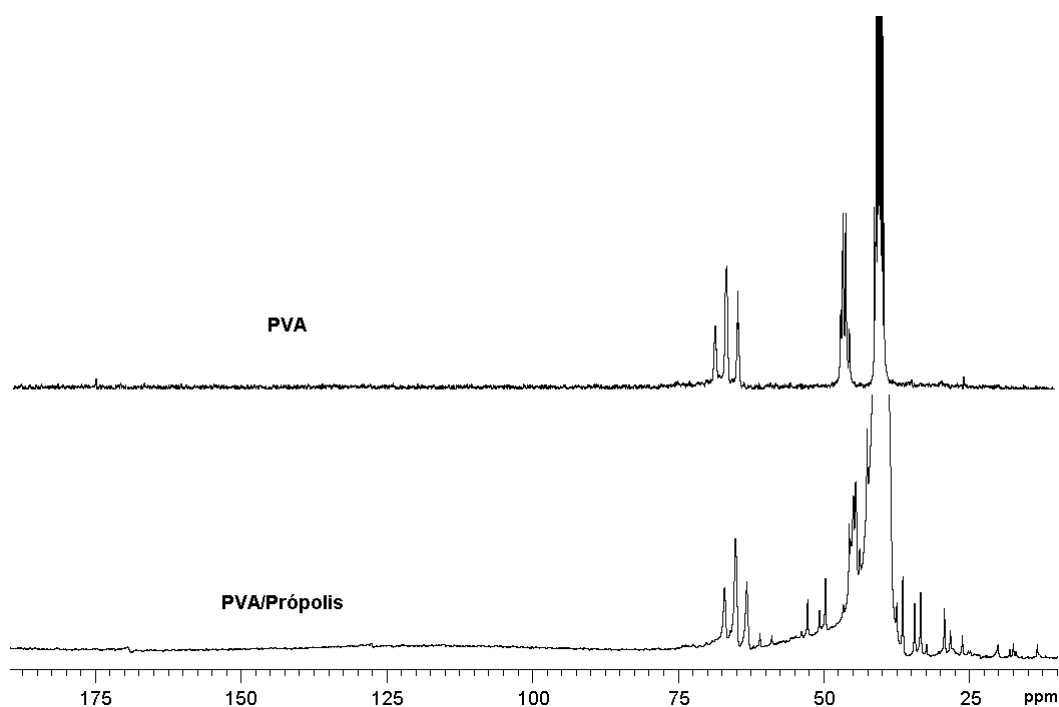


Figura 4.14. Espectros de RMN do PVA e dos filmes obtidos a partir da mistura PVA/própolis na proporção 1/10.

Pode-se observar que os deslocamentos que correspondem ao C ligado ao grupo OH (faixa de 64-68 ppm) do PVA aparecem nos dois espectros. O pico que ocorre em torno de 40 ppm é referente ao solvente utilizado na técnica, DMSO. Para caracterizar a presença da própolis podem ser observados os deslocamentos na faixa de 50 ppm, que só ocorrem no espectro da mistura PVA/própolis. Pela espectroscopia de RMN também não foi possível detectar deslocamentos característicos de grupos ésteres (faixa de 150 a 185 ppm).

4.1.4 *Análise Térmica por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)*

As curvas de calorimetria exploratória diferencial das amostras são mostradas na Figura 4.15. O perfil encontrado para o filme de PVA com extrato de própolis foi comparado com o perfil da própolis pura e com o do PVA puro. Pode-se observar que não houve modificação significativa entre as curvas obtidas para os filmes com PVA na presença e na ausência de própolis. Também não foi possível determinar a temperatura

de transição vítrea, T_g , das amostras, sendo necessário um estudo adicional mais detalhado para caracterizar a presença da própolis nos filmes de PVA/extrato de própolis.

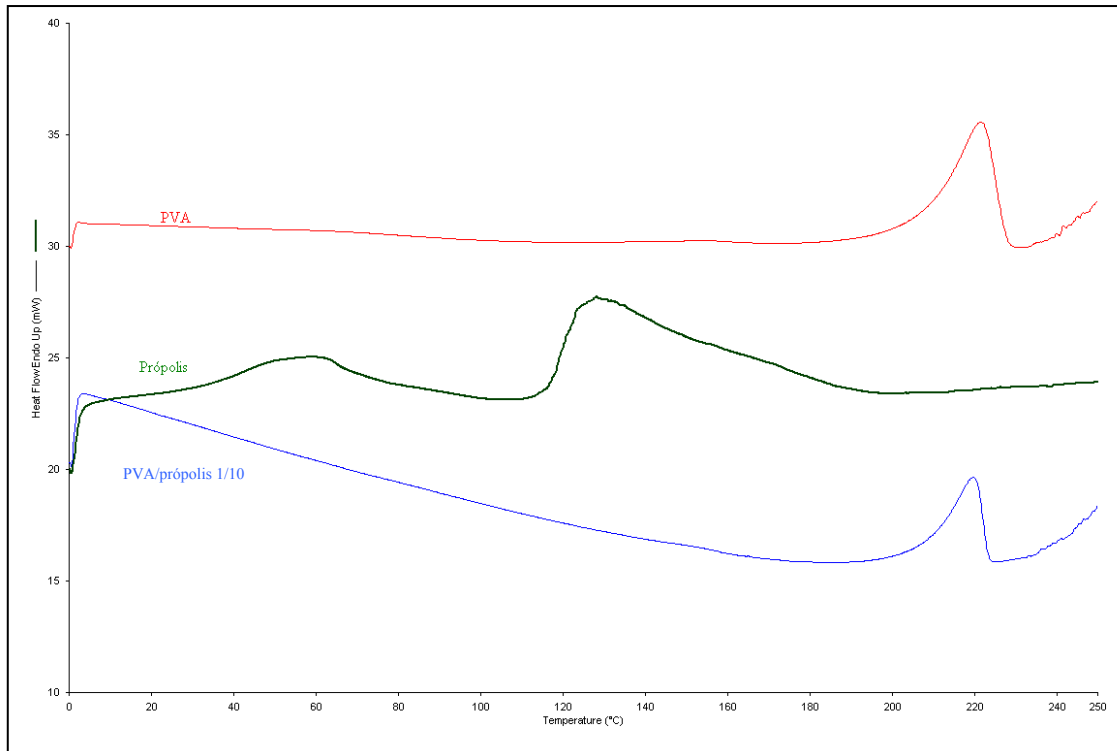


Figura 4.15. Curvas de DSC para a própolis pura e para os filmes de PVA puro e adicionado de própolis na proporção de 1/10.

4.1.5 Análise da Estabilidade Térmica (TGA)

As curvas de termogravimetria das amostras são apresentadas na Figura 4.16. Segundo TSUCHIA e SUMI (ROBERT *et al.*, 1973), a decomposição do PVA ocorre em dois estágios. O primeiro estágio se inicia em torno de 200°C e envolve a desidratação acompanhada pela formação de produtos voláteis. A segunda etapa, a 450°C, corresponde à degradação de políenos para formar carbonetos e hidrocarbonetos.

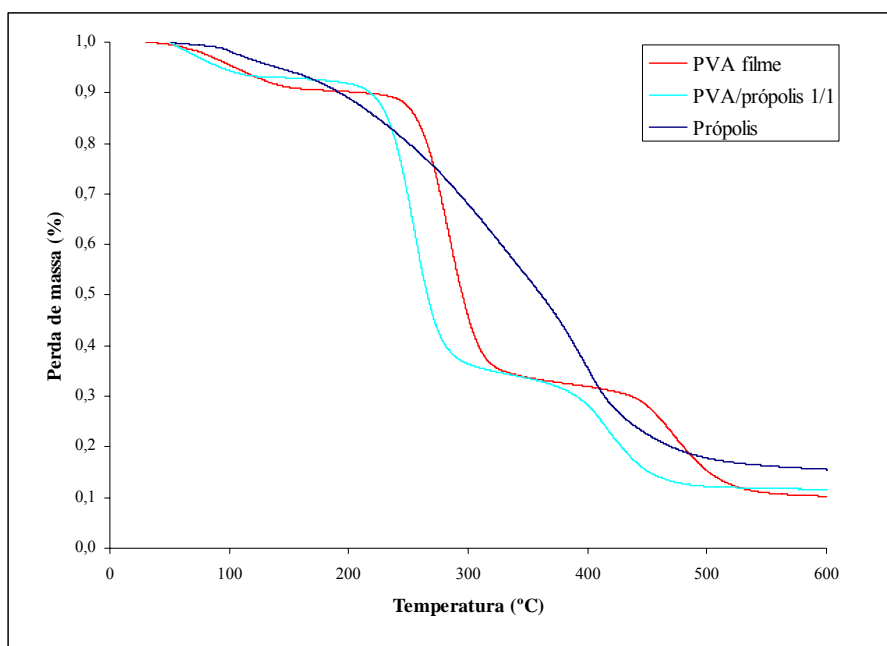


Figura 4.16. Análise termogravimétrica dos filmes de PVA puro e adicionado de extrato de própolis na proporção de 1/10.

Comparando-se as três curvas, observa-se que o perfil de degradação do filme de PVA adicionado de própolis foi alterado, embora seja semelhante à do PVA. Como os estágios de perda de massa ocorrem em temperaturas menores, pode-se dizer que os filmes adicionados de própolis possuem menor estabilidade térmica.

4.2 Modificação superficial de membranas de OI

Membranas comerciais de osmose inversa (BW30, Filmtec/Dow) tiveram suas características superficiais modificadas por deposição de uma fina camada de PVA, contendo ou não os componentes da própolis. O principal objetivo foi aumentar a resistência à adsorção de matéria orgânica e ao desenvolvimento de microorganismos, através do aumento da hidrofiliabilidade e pela inclusão de componentes com características anti-microbianas, respectivamente. A seguir, os principais resultados obtidos são apresentados.

4.2.1 Propriedades de Transporte e Rejeição Salina

As membranas modificadas foram caracterizadas quanto a suas propriedades de transporte, comparando com as propriedades das membranas originais. Neste sentido, determinou-se a permeabilidade hidráulica para verificar o aumento da resistência ao transporte introduzida pela camada depositada, assim como a rejeição salina para verificar se o procedimento de modificação superficial acarretava em defeitos na camada seletiva da membrana de osmose inversa.

Como as características de transporte das membranas se alteram quando submetidas à pressão, antes dos testes de permeação, as membranas foram submetidas a uma etapa de compactação, com água destilada, microfiltrada e desmineralizada, mantendo a pressão no lado de alimentação em 30 bar, até a estabilização do fluxo permeado.

A Figura 4.17 mostra, para a membrana original, o decaimento do fluxo em função do tempo durante as quatro primeiras horas de operação.

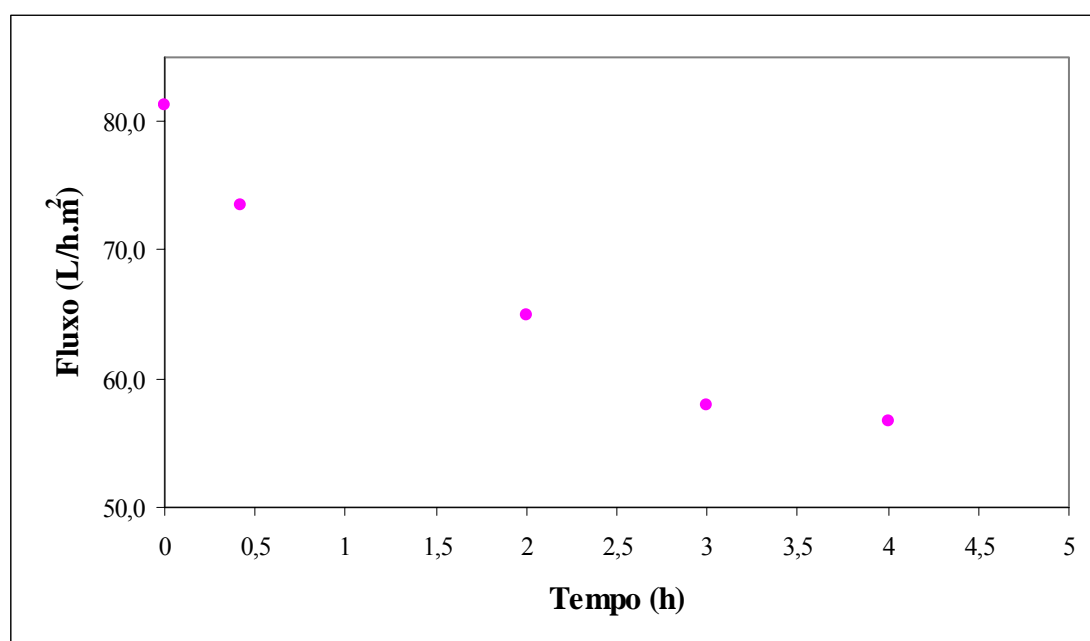


Figura 4.17. Compactação da membrana original (Filmtec – BW 30) durante a permeação de água destilada na pressão de 30 bar.

Após a etapa de compactação, a permeabilidade hidráulica da membrana foi obtida conforme procedimento descrito no Capítulo anterior. Nos processos com membranas em que o gradiente de pressão é a força motriz para o transporte, o fluxo de água pura pode ser descrito pela lei de Darcy e apresenta uma dependência linear com a diferença de pressão através da membrana. O coeficiente angular da reta obtida representa a permeabilidade hidráulica da membrana, normalmente expressa em $L/h.m^2.bar$.

A Figura 4.18 apresenta para a membrana original e para a membrana modificada através do recobrimento com solução aquosa de PVA (1 e 0,1 %m/m) os valores obtidos para o fluxo permeado de água pura em função da diferença de pressão através da membrana. As membranas após o procedimento de recobrimento são mantidas a 60°C para promover a reticulação das cadeias de PVA e aumentar sua resistência à dissolução em água. Para efeitos comparativos, a Figura 4.18 também apresenta os resultados obtidos com a membrana original submetida ao mesmo tratamento térmico das membranas modificadas.

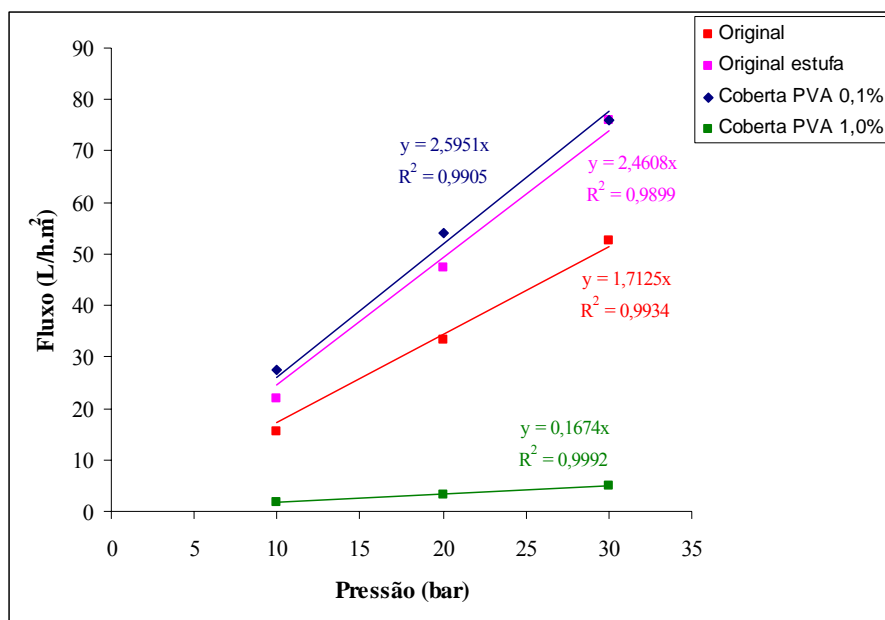


Figura 4.18. Fluxo de água em função da diferença de pressão através da membrana de poliamida original e recoberta. Ácido maleico foi utilizado como agente reticulante.

A permeabilidade hidráulica encontrada para a membrana original foi aproximadamente $1,7 L/h.m^2.bar$, valor característico de membranas de OI. Para as membranas cobertas com soluções de PVA (0,1 e 1 %m/m) reticulado com ácido

maleico, obteve-se valores de 2,6 e 0,2 L/h.m².bar, respectivamente. O valor da permeabilidade hidráulica foi superior ao da membrana original quando se utilizou a solução menos concentrada para o recobrimento, o que pode ser atribuído ao surgimento de possíveis defeitos na superfície da membrana durante a etapa de tratamento térmico para a reação de reticulação. Com a utilização da solução mais concentrada esses defeitos devem ter sido recobertos, já que houve uma queda brusca da permeabilidade. Para avaliar se a temperatura de reticulação estaria afetando as propriedades da membrana, manteve-se a mesma em estufa a 60°C por 24 horas, simulando as condições de reticulação do PVA. Após esse tempo, a membrana foi analisada quanto à permeabilidade hidráulica, encontrando-se um valor aproximado de 2,5 L/h.m².bar, confirmando a hipótese anterior.

A rejeição salina das membranas foi calculada através da equação 3.1, após a etapa inicial de compactação da membrana e utilizando, aproximadamente, 4 L de solução a 2.000 mg/L de NaCl. A Tabela 4.3 mostra os resultados obtidos para as membranas originais e recobertas.

Tabela 4.3. Rejeição salina da membrana original e das membranas reticuladas com ácido maleico, após a etapa inicial de compactação.

Membrana	Pressão (ba)	Rejeição (%)
Original (sem recobrimento)	10	98,8
	20	98,4
	30	98,5
Original mantida em estufa a 60°C	10	51,0
	20	55,2
	30	59,3
Recoberta com PVA 0,1%/m	10	31,6
	20	27,7
	30	32,3
Recoberta com PVA 1%/m	10	96,8
	20	98,3
	30	98,5

Pode-se observar na Tabela 4.3 uma queda brusca da rejeição após a membrana ter passado pelo processo de cobertura com solução a 0,1% em PVA, o que confirma a presença de defeitos na superfície da membrana.

Para evitar a formação de defeitos na camada seletiva da membrana, foi testado o glutaraldeído como agente reticulante, de modo que as membranas pudessem passar pela reação de reticulação a temperatura ambiente (FIGUEIREDO, 2008). A Figura 4.19 apresenta os resultados obtidos para o fluxo permeado de água pura em função da diferença de pressão através da membrana. Para a permeabilidade hidráulica das membranas cobertas com soluções aquosas de PVA 0,5 e 1 %m/m, utilizando-se glutaraldeído como agente reticulante, foram encontrados valores de 0,6 e 0,8 L/h.m².bar, respectivamente.

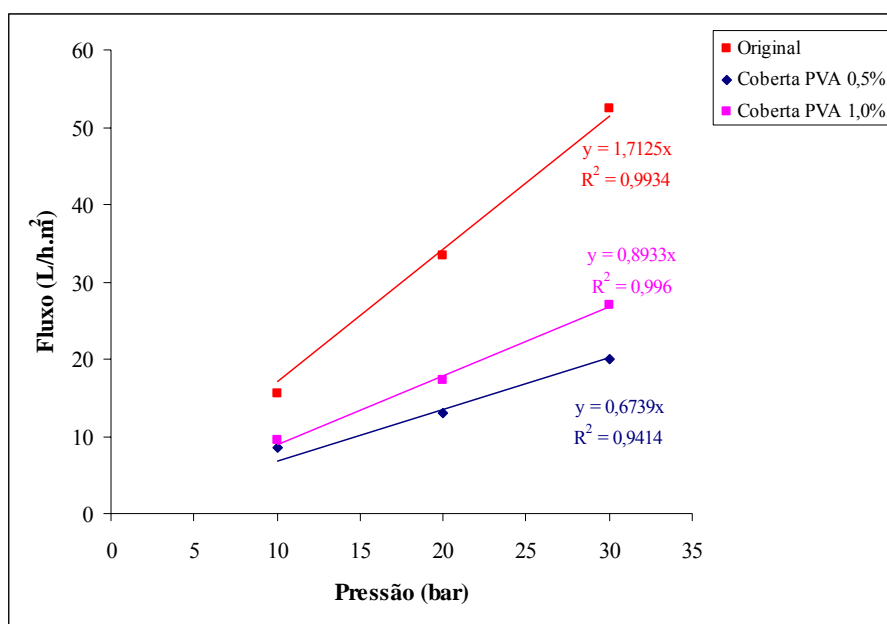


Figura 4.19. Fluxo de água em função da diferença de pressão através da membrana original e recobertas, utilizando-se glutaraldeído como reticulante.

A rejeição salina das membranas foi calculada conforme explicado anteriormente. Os valores encontrados estão mostrados na

Tabela 4.4. Nesse caso, comparando-se os resultados encontrados para as membranas originais com os resultados das membranas modificadas, a rejeição se manteve praticamente constante, o que contribuiu para a escolha do glutaraldeído como agente de reticulação do PVA nos demais testes experimentais.

Tabela 4.4. Rejeição salina das membranas recobertas com solução de PVA e reticuladas com glutaraldeído.

Membrana	Pressão (bar)	Rejeição (%)
Original	10	98,8
	20	98,4
	30	98,5
Recoberta com PVA 0,5% m/m	10	98,9
	20	99,5
	30	99,8
Recoberta com PVA 1,0% m/m	10	98
	20	98,5
	30	98,9

Com o objetivo de se analisar a influência da própolis na formação do biofilme na superfície da membrana, foram preparadas soluções de cobrimento com PVA e extrato de própolis (EP) em diferentes proporções, contendo glutaraldeído como agente reticulante. Os resultados da permeabilidade hidráulica dessas membranas estão mostrados na Figura 4.20.

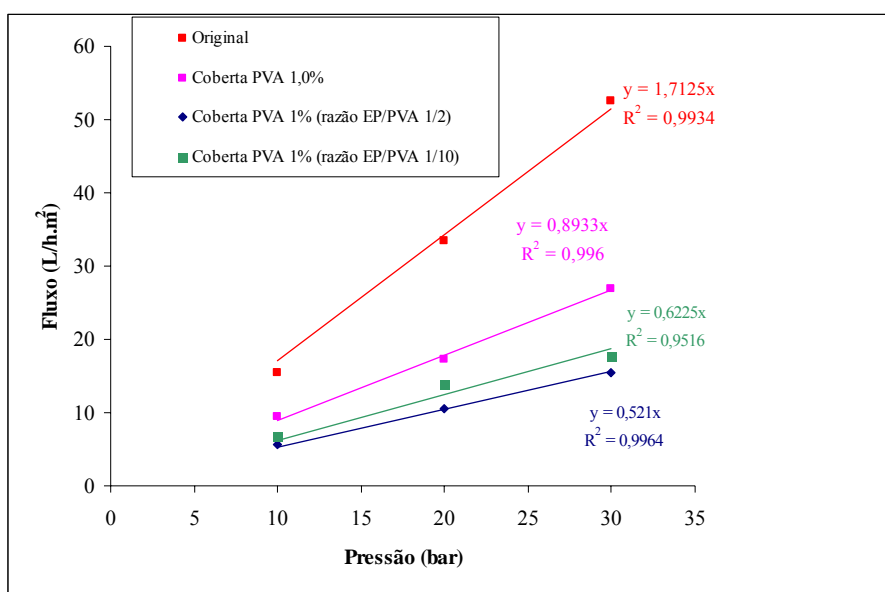


Figura 4.20. Fluxo de água em função da diferença de pressão através das membranas originais e recobertas com soluções de PVA e extrato de própolis (agente de reticulação: glutaraldeído).

As membranas cobertas com solução de PVA 1% e com soluções de PVA e extrato de própolis nas proporções 2/1 e 10/1, apresentaram menor permeabilidade hidráulica (0,9; 0,6 e 0,5 L/h.m².bar, respectivamente) que a membrana original (1,7 L/h.m².bar) indicando que a solução de cobrimento se tornou uma barreira adicional ao

fluxo de água, embora não tenham afetado a rejeição salina, conforme mostrado na Tabela 4.5.

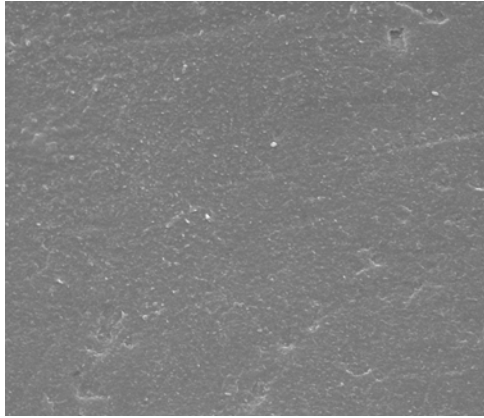
Tabela 4.5. Rejeição salina das membranas originais e recobertas com solução de PVA (concentração 1% m/m) e própolis, contendo glutaraldeído com agente reticulante.

Membrana	Pressão (bar)	Rejeição (%)
Original	10	98,8
	20	98,4
	30	98,5
Recoberta com PVA	10	98,0
	20	98,5
	30	98,9
Recoberta com PVA (PVA/EP 2/1)	10	98,0
	20	93,9
	30	92,9
Recoberta com PVA (PVA/EP 10/1)	10	97,1
	20	97,2
	30	97,1

Pode-se observar que não houve queda significativa da rejeição salina após o cobrimento das membranas, indicando que a solução de cobrimento não causa prejuízo efetivo a essa propriedade.

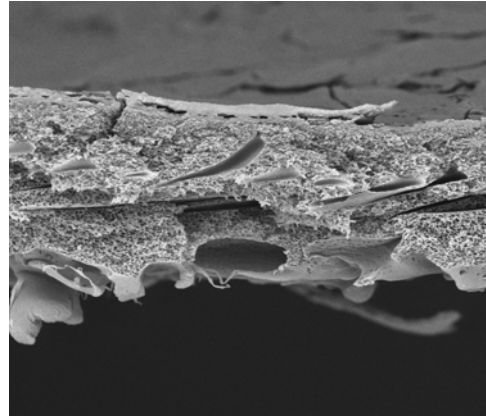
4.2.2 Propriedades Morfológicas e Superficiais

Com o objetivo de se avaliar a espessura da camada de recobrimento na superfície das membranas, foram realizadas análises de microscopia eletrônica de varredura. A Figura 4.21 mostra as fotomicrografias das superfícies e das seções transversais das membranas cobertas e original, com aumento de 5000 vezes.



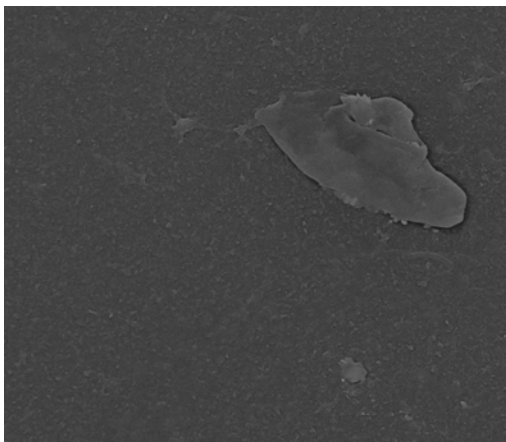
Membrana original. Superfície superior

(a)



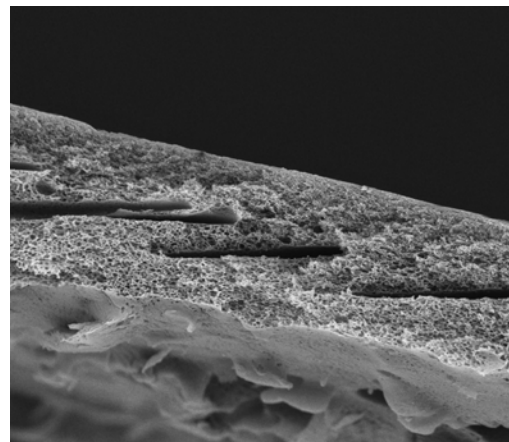
Membrana original. Seção transversal

(b)



Membrana coberta. Superfície superior.
Solução de recobrimento: PVA/extrato
de própolis 10/1

(c)



Membrana coberta. Seção transversal.
Solução de recobrimento: PVA/extrato de
própolis 10/1

(d)

Figura 4.21. Fotomicrografias da superfície superior e da seção transversal das membranas BW-30 originais e cobertas. (a) Superfície superior da membrana original. (b) Seção transversal da membrana original. (c). Superfície superior da membrana coberta. (d). Seção transversal da membrana coberta.

As fotomicrografias das superfícies das membranas mostram ausência de poros, caracterizando o material como denso. A seção transversal mostra macrovazios digitiforme e poros, aparentemente, interconectados. Pode-se verificar que não houve muita diferença entre as superfícies das membranas e a presença da camada de recobrimento. Não foi possível a identificação da espessura dessa camada, pois de acordo com a técnica de recobrimento utilizada, a deposição obtida deve ser de espessura bem pequena e não homogênea.

4.2.3 Adsorção de Matéria Orgânica

Em geral, compostos orgânicos aderem fortemente a superfícies hidrofóbicas, constituindo uma barreira a permeação e levando a necessidade freqüente de parada do sistema de permeação para limpezas periódicas. Por outro lado, superfícies hidrofílicas apresentam forte interação com a água, dificultando a adesão de moléculas orgânicas. Neste sentido, foram realizados testes de adsorção de matéria orgânica e queda do fluxo permeado, utilizando albumina de soro bovino (BSA) para a verificação da deposição de matéria orgânica na superfície das membranas.

4.2.3.1 Adsorção de Albumina de Soro Bovino

Para a determinação da quantidade de BSA adsorvida, desenvolveu-se um procedimento para extração da proteína aderida na superfície das membranas e, a partir de uma solução, foi feita a quantificação através de medidas por espectrofotometria na região de UV-visível a 280 nm. O valor da absorbância foi correlacionado à concentração, observando-se a curva de calibração construída previamente a partir de soluções diluídas.

A curva de calibração para a determinação da concentração de células foi construída conforme procedimento descrito no capítulo anterior. A Figura 4.22 mostra a curva de calibração obtida, representando-se as medidas da absorbância em relação à concentração.

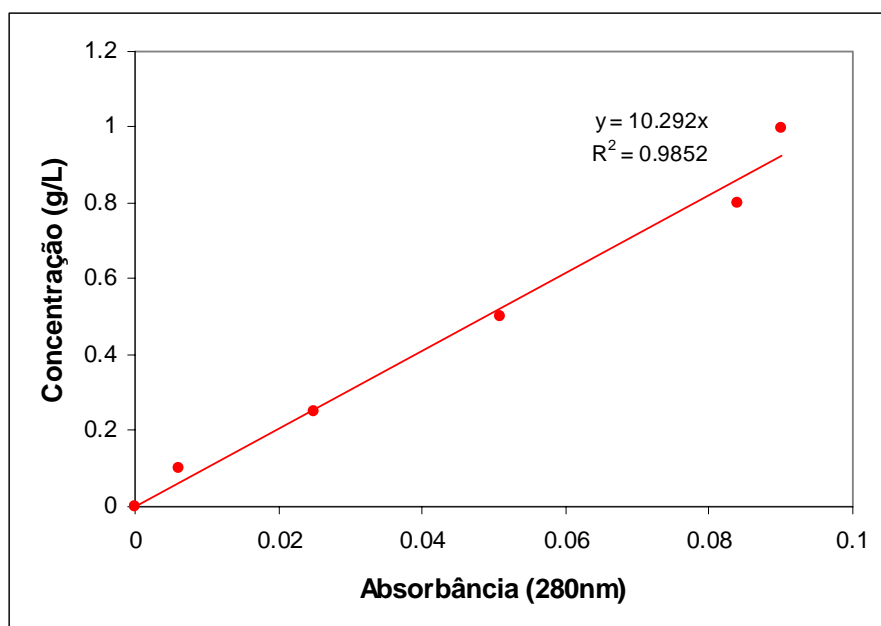


Figura 4.22 Curva de calibração para a determinação da concentração de BSA adsorvida na superfície das amostras.

Dessa forma, para cada amostra de membrana investigada, após a extração da matéria orgânica aderida em sua superfície e determinação da absorbância da solução resultante, obteve-se a concentração de BSA aderida, através da curva de calibração. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A Tabela 4.6 mostra os resultados encontrados.

Tabela 4.6. Resultados de absorbância e concentração de BSA adsorvida na superfície da membrana original e das membranas recobertas com soluções de PVA.

Membrana	Abs	Concentração (g/L)	Concentração superficial (g/m ²)	Desvio Padrão
original	0,012	0,12	6,4	1,7
coberta com PVA 0,1% m/m	0,004	0,04	2,2	1,9
coberta com PVA 1,0% m/m	0,006	0,06	3,1	0,9

Pode-se observar pela Tabela 4.6 que todas as amostras apresentaram valores de concentração superficial de proteína (g/cm²) menores que a membrana original, com uma redução de aproximadamente 50% da concentração inicial de massa aderida à membrana. Isso significa que a presença de PVA na superfície de membranas de osmose inversa é eficaz para a prevenção da adesão de matéria orgânica.

4.2.3.2 Teste de Permeação

Para confirmar a resistência à deposição de matéria orgânica na superfície das membranas, foram realizados testes de permeação, alimentando-se o sistema de OI com uma solução de BSA 1g/L. O decaimento do fluxo permeado foi registrado durante 150 horas de teste e a variação percentual (fluxo inicial/fluxo após 150 h) foi utilizada para quantificar o processo de deposição de matéria orgânica. A Figura 4.23 mostra os resultados obtidos para o fluxo permeado normalizado (fluxo final/fluxo inicial) das membranas originais e recobertas com PVA. Esses experimentos foram realizados apenas com a membrana original e com as cobertas com PVA, pois se considera que a própolis não influencia acentuadamente a deposição de matéria orgânica.

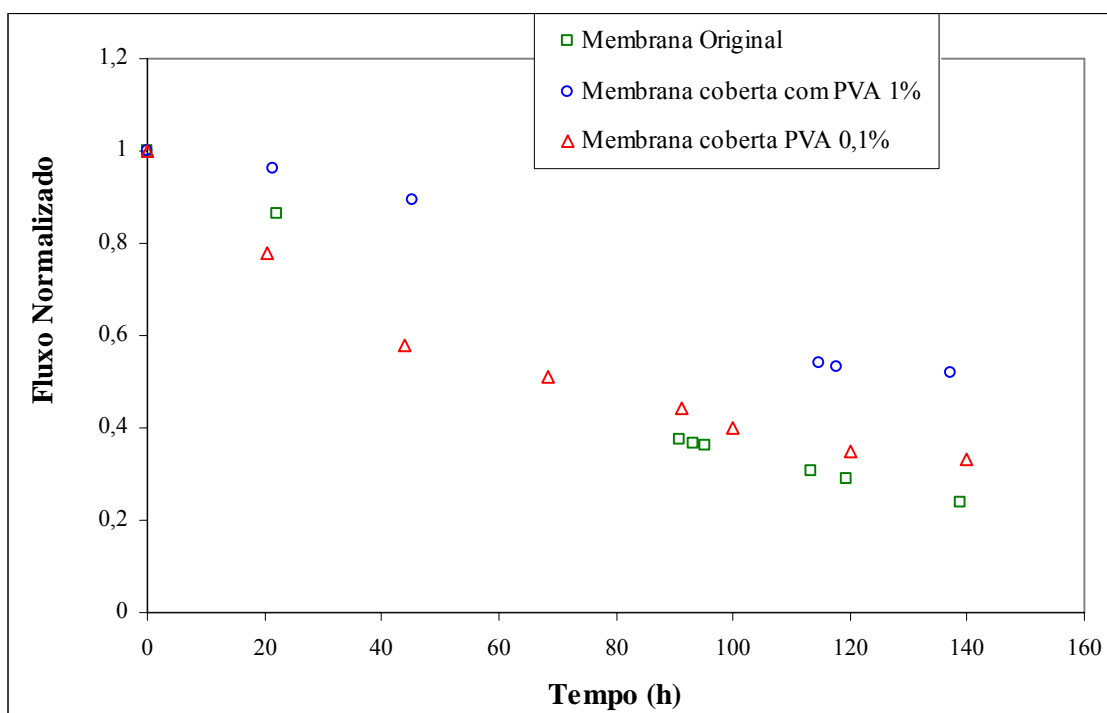


Figura 4.23. Fluxo permeado em função do tempo de operação para a membrana original e membranas recobertas. Teste realizado com solução de BSA 1g/L na alimentação, pressão de 30 bar e tempo de operação aproximado de 200 horas.

Pode-se observar que a membrana original apresentou maior queda do fluxo após o tempo de operação, 76%, comparando com as membranas cobertas com soluções a 0,1% e 1% de PVA, que apresentaram valores de queda de 45% e 55%, respectivamente. Isso significa que a solução de PVA deixou as membranas mais resistentes à deposição de matéria orgânica.

4.2.4 Formação do Biofilme

Para avaliar a resistência das membranas à formação de biofilme, foram realizados experimentos de crescimento de microrganismo em suas superfícies. Após a inoculação e cultivo do microrganismo e posterior crescimento do biofilme, as amostras foram levadas à quantificação de biomassa aderida.

4.2.4.1 Quantificação: Contagem de Células Viáveis Aderidas

Com o objetivo de quantificar o processo de bioincrustação presente na superfície da membrana, foram realizados testes de contagem de células viáveis. A Tabela 4.7 mostra o resultado da redução na adesão de células na superfície da membrana, expresso a partir da contagem de células viáveis encontradas nas membranas recobertas com soluções de extrato de própolis/PVA e na membrana original.

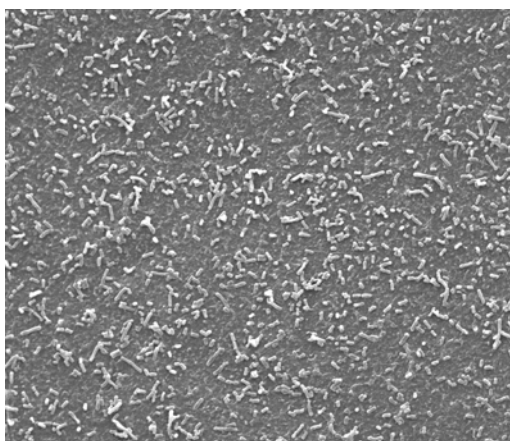
Tabela 4.7. Redução de adesão nas membranas recobertas com solução de PVA e extrato de própolis e na membrana original.

Membrana	Redução na adesão (%)	Desvio padrão
original	----	----
Recoberta com PVA 1%	1,47	2,12
Recoberta com PVA/EP (razão 10/1)	0,92	2,02
Recoberta com PVA/EP (razão 2/1)	9,46	2,2
Recoberta com PVA/EP (razão 1/1)	5,68	0,62
Recoberta com PVA/EP (razão 1/10)	7,29	0,59

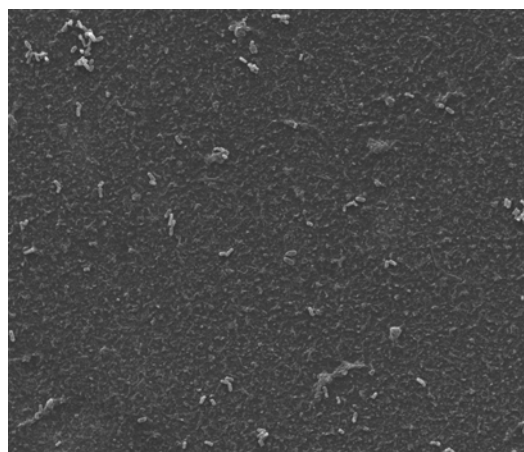
Pode-se observar que as membranas recobertas apresentaram menos células aderidas, indicando que a solução de cobertura fez com que as membranas adquirissem maior resistência à formação de biofilme. Quanto à presença da própolis, aparentemente, os resultados indicam uma tendência de redução na adesão de células com aumento da quantidade de própolis na solução de cobertura, indicando a eficiência da própolis como agente anti-microbiano.

4.2.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

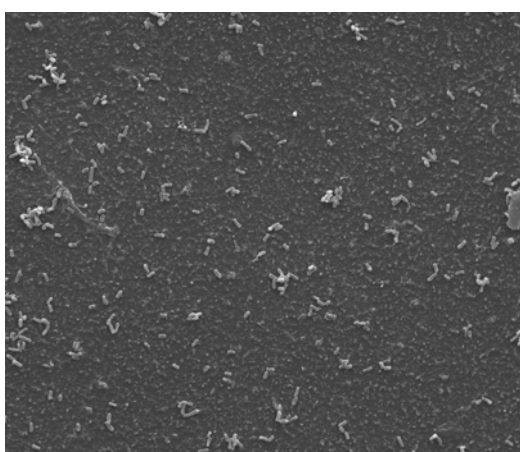
Com o objetivo de avaliar por análise de imagem a evolução do crescimento microbiano, foram realizadas inspeções por microscopia eletrônica de varredura. A Figura 4.24 mostra as fotomicrografias das superfícies das membranas originais e recobertas com soluções PVA/extrato de própolis nas razões 2/1, 1/1 e 1/10. Pode-se observar que as membranas recobertas apresentaram menor adesão de microrganismos comparando-as com a membrana original, confirmando os resultados obtidos na contagem de células viáveis.



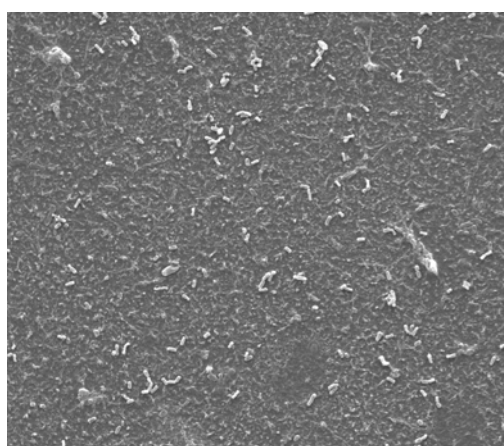
(a) Membrana original



(b) Membrana coberta PVA/EP 2/1



(c) Membrana coberta PVA/EP 1/1

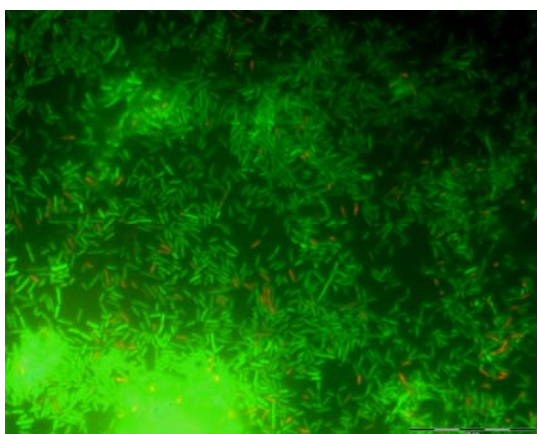


(d) Membrana coberta EP/PVA 10/1

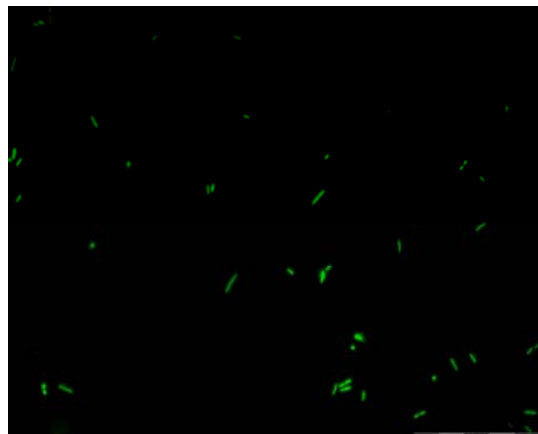
Figura 4.24. Fotomicrografias das membranas originais e recobertas com PVA/Extrato de própolis. Magnitude 5000 vezes.

4.2.4.3 Microscopia de Epifluorescência

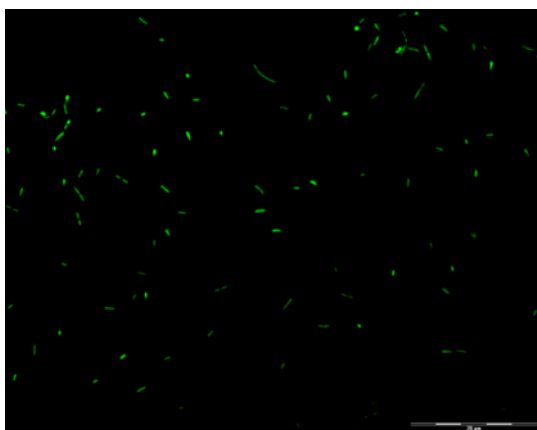
Para a observação das células viáveis aderidas, foi realizada microscopia de epifluorescência das membranas originais e recobertas. A Figura 4.25 mostra os resultados da análise para as membranas originais e recobertas com soluções de extrato de própolis/PVA



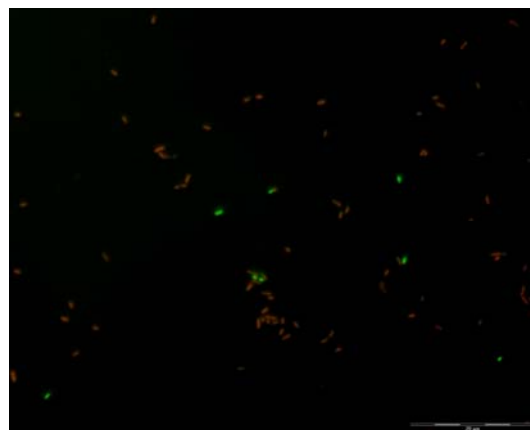
(a) Membrana original



(b) Membrana coberta PVA/EP 2/1



(c) Membrana coberta EP/PVA 1/1



(d) Membrana coberta EP/PVA 10/1

Figura 4.25 Resultados de epifluorescência das membranas originais e recobertas com solução de extrato de própolis/PVA, após passarem pelos procedimentos de crescimento e adesão de microrganismo.

Os resultados de epifluorescência mostram que as membranas cobertas com as soluções de extrato de própolis apresentam um número muito menor de células viáveis aderidas, mostrando a eficiência da própolis como antibiótico e corroborando com os resultados de contagem de células viáveis e microscopia eletrônica de varredura.

4.2.4.4 Teste de permeação - Longa duração

Com o objetivo de se avaliar a resistência das membranas em operação quanto à formação do biofilme foi realizado um teste de permeação de longa duração, alimentando-se o sistema de osmose inversa com uma solução a 200 mg/L de levedura (*Saccharomises cerevisiae*). O fluxo permeado foi registrado durante 150 horas de operação e a variação percentual (fluxo inicial/fluxo após 150 horas) foi utilizada para quantificar o processo de formação de biofilme.

A Figura 4.26 mostra os resultados obtidos para o fluxo permeado em função do tempo de operação para as membranas analisadas.

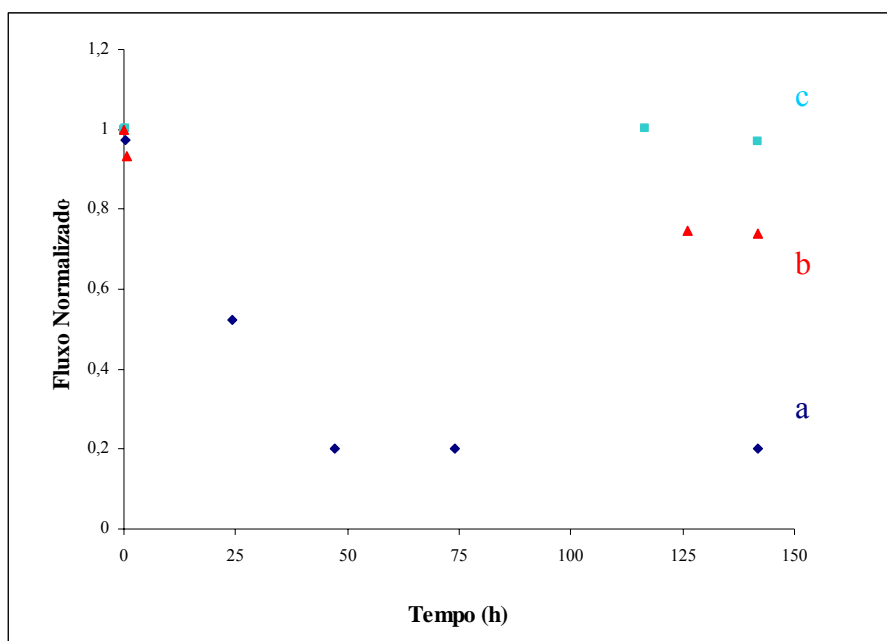


Figura 4.26. Fluxo permeado em função do tempo de operação para membranas originais e recobertas. (a) Membrana original. (b). Membrana recoberta com solução PVA/EP 1/10. (c). Membrana recoberta com solução PVA/EP 1/1. Testes realizado com solução de levedura 200mg/L e pressão de 30 bar.

Os resultados mostram que a solução de recobrimento contendo PVA/própolis apresenta, nitidamente, uma maior resistência à formação do biofilme. Este fato ficou evidente de acordo com os menores valores registrados para a redução do fluxo permeado das membranas recobertas com soluções PVA/extrato de própolis, nas

proporções de 1/1 e 1/10, que foram de 3 e 26%, respectivamente, enquanto para a membrana original, a queda do fluxo devido à bioincrustação chegou a 80% após 150 horas de operação.

De modo a se obter uma avaliação visual das membranas após o processo de formação de bioincrustação, foram tiradas fotografias das superfícies das membranas analisadas. A Figura 4.27 mostra a superfície das membranas originais e recobertas, após terem sido submetidas ao teste de permeação de longa duração com solução de alimentação de 200 mg/L de levedura. Pode-se observar que a membrana original apresentou a superfície com uma coloração mais escura, confirmando a presença do biofilme e indicando que a solução de recobrimento foi eficiente para evitar a formação de bioincrustação.

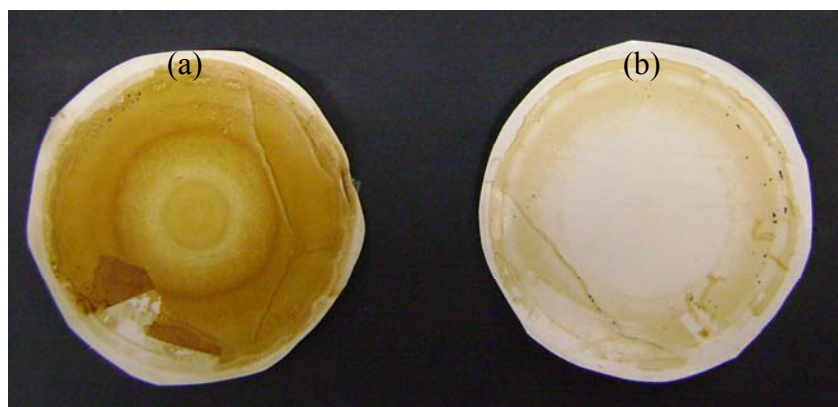


Figura 4.27. Fotografias das membranas após terem sido submetidas ao teste de permeação, por aproximadamente 150 horas, utilizando-se solução de levedura (200 mg/L) na alimentação. (a) Membrana original. (b) Membrana coberta com solução extrato de própolis/PVA na proporção 1/1.

5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Neste capítulo são destacadas as principais conclusões obtidas no decorrer da tese, assim como são apresentadas algumas sugestões para a posterior continuidade deste trabalho.

5.1 Conclusões

De acordo com os objetivos propostos neste trabalho, foi realizado o preparo de uma nova membrana de osmose inversa resistente às bioincrustações. Para tanto, uma membrana comercial de poliamida foi recoberta com solução de poli(álcool vinílico), tornando-se mais hidrofílica e ficando, portanto, mais resistente à deposição de matéria orgânica. Com a introdução de um agente anti-microbiano natural, a própolis, foi realizada a investigação das novas características de transporte e físico-químicas adquiridas pela membrana, bem como foram feitos os testes de resistência à formação de biofilme. Diante desse cenário, as principais conclusões obtidas com o desenvolvimento desta tese foram:

i) O poli(álcool vinílico) se mostrou um polímero promissor para o recobrimento de membranas, pois por ser hidrofílico, reduz a tendência à deposição de matéria orgânica na superfície das membranas;

ii) A técnica de recobrimento deve ser aprimorada para permitir um melhor controle da espessura, de modo que a mesma não afete em demasia as propriedades da membrana;

iii) As membranas recobertas com soluções mais concentradas de poli(álcool vinílico) mostraram queda na permeabilidade hidráulica, indicando que a camada de recobrimento se tornou uma barreira adicional para a permeação;

iv) A utilização do ácido maleico como agente reticulante do PVA não atingiu as expectativas, já que a temperatura da reação de reticulação, 60°C, pode ter causado a formação de rachaduras ou pequenos defeitos, acarretando em prejuízo às propriedades de transporte das membranas;

v) O glutaraldeído se mostrou viável como agente de reticulação do PVA, pois a reação pôde ser realizada a temperatura ambiente; reduzindo, desse modo, o efeito sobre a permeabilidade hidráulica da membrana;

vi) A membrana coberta com solução de PVA 1% em água, reticulado com glutaraldeído, apresentou boas propriedades de transporte e os melhores resultados quanto à eficiência na redução da camada de deposição de orgânicos, segundo o teste de permeação utilizando BSA na alimentação;

vii) A rejeição salina das membranas cobertas, praticamente, não sofreu alteração, indicando ser o processo de recobrimento, um excelente método de modificação de membranas;

viii) O uso da própolis como agente anti-microbiano adicionado à solução de recobrimento apresentou excelentes resultados quanto à redução da formação de biofilme na superfície das membranas;

ix) É necessário aprofundar a caracterização dos filmes contendo PVA/própolis para a melhor caracterização dos principais grupos presentes na própolis verde, de modo a se obter um melhor entendimento da incorporação da própolis na matriz do poli(álcool vinílico);

x) A própolis é um material cuja composição envolve vários componentes com diversos grupos químicos. Desta forma, as técnicas de caracterização devem ser estudadas em conjunto, de modo a se obter resultados mais precisos;

xi) A membrana coberta com solução de PVA e extrato de própolis na proporção 1/10 (PVA/extrato de própolis) apresentou os melhores resultados em relação à inibição da formação do biofilme;

xii) Os resultados experimentais empregando a membrana coberta com solução de PVA e própolis levam ao entendimento de que, quanto maior o teor de própolis na solução de recobrimento, maior a resistência da membrana em relação às bioincrustações.

xiii)

5.2 Sugestões

Os objetivos do presente trabalho foram alcançados de maneira bastante promissora, possibilitando diversos aprofundamentos em futura investigação. Assim, as sugestões para a continuação desta tese são:

i) Aprimorar a técnica de modificação de membranas planas por recobrimento, controlando a espessura da camada polimérica;

ii) Investigar outras técnicas de modificação, como a polimerização na superfície das membranas;

iii) Estudar a modificação de membranas do tipo fibra oca, variando a espessura da camada de recobrimento;

iv) Caracterizar os grupos funcionais presentes na própolis verde por cromatografia líquida e RMN;

v) Testar novos solventes para a própolis bruta, de modo a buscar informações adicionais sobre a posterior incorporação da própolis no polímero de cobertura;

vi) Otimizar a proporção polímero de cobertura/própolis, com o objetivo de obter uma membrana com boas propriedades de transporte e resistente a bioincrustações;

vii) Investigar a resistência da própolis sobre outros microrganismos, simulando condições operacionais;

viii) Investigar o uso de novos agentes bactericidas, de modo a promover a resistência à formação de biofilme.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUS, E., VOUTCHKOV, N., SEDLAK, D. L. “Disinfection by-products and their potential impact on the quality of water produced by desalination systems: A literature review” *Desalination*, v. 237, pp. 214-237, 2009.

AL-AHMAD, M., ALEEM, A. F. A., MUTIRI, A. *et al.* “Biofouling in RO membrane systems. Part 1: Fundamentals and control”. *Desalination*, v. 132, pp. 173-179, 2000.

AL-AMOUDI, A. S.; FAROOQUE, A. M. “Performance restoration and autopsy of NF membranes used in seawater pretreatment”. *Desalination*, v. 178, pp. 261-271, 2005.

ALEEM, F. A. A., AL-SUGAIR, K. A., ALAHMAD, M. I. “Biofouling problems in membrane processes for water desalination and reuse in Saudi Arabia”. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 41, pp. 19-23, 1998.

APPLEGATE, L.E., ERKENBRECHER, C. W. “Monitoring and control of biological activity in Permasep seawater RO plants”. *Desalination*, v. 65, pp. 331-359, 1987.

ARAUJO, L.V. *Biossurfatantes como agentes inibidores da adesão de Listeria monocytogenes em superfícies de aço inox*. Monografia (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Centro de Estudos e Recuperação Animal, Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, Brasil, 2006.

ARAUJO, L. V. *Biossurfatantes e seu potencial de uso na inibição da formação de biofilmes*. Monografia de Especialização para obtenção de grau *Lato-sensu*, UFF, Rio de Janeiro, Brasil, 2007.

ASFARDJANI, K., SEGUI, Y., AURELLE, Y., *et al.* “Effect of plasma treatments on wettability of polysulfone and polyetherimide”. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 43, pp. 271-281, 1993.

- ATKINSON, S., "US Membrane Separation Technology Markets Analyzed", *Membrane Technology*, 9, pp 10-13, 2002.
- BANKOVA, V., CHRISTOY, R., SOTEV, G., *et al.* "Determination of phenolics from propolis by capillary gas chromatography", *Journal of Chromatography*, v. 607, pp.150-153, 1992.
- BANKOVA, V., MARCUCCI, M.C. "Standardization of propolis: present status and perspectives". *Bee World*, 8, v.4, pp. 182-188, 2000.
- BANSKOTA, A. H., TEZUKA, Y., PRASAIN, J. K. *et al.* "Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities" *Journal of Natural Products*, v.61, p.896-900, 1998.
- BANSKOTA, A. H., NAGAOKA, T., SUMIKA, L. Y. *et al.* "Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines". *Journal of Ethnopharmacology*, v. 80, pp. 67–73, 2002.
- BAKER, J. S., DUDLEY, L. Y. "Biofouling in membrane systems – a review". *Desalination*, v.118, pp. 81-90, 1998.
- BAKER, R. W. "Reverse Osmosis". In: *Membrane Technology and Applications*, cap. V, England, John Wiley & Sons, 2004.
- BELFER, S., GILRON, J., DALTRAPHE, N., *et al.* "Comparative study of NF modified membrane at SHAFDAN". *Desalination*, v. 184, pp. 13-21, 2005.
- BELFER, S., FAINCHTAIN, R., PURINSON, Y., *et al.* "Modification of NF membrane properties by in situ redox initiated graft polymerization with hydrophilic monomers". *Journal of Membrane Science*, v. 239, pp. 55-64, 2004.

BELFER, S., GILRON, J., PURINSON, Y., *et al.* “Effect of surface modification in preventing fouling of commercial SWRO membranes at the Eilat seawater desalination pilot plant”. *Desalination*, v. 139, pp. 169-176, 2001.

BELFER, S., FAINCHTAIN, R., PURINSON, Y., *et al.* “Surface characterization by FTIR-ATR spectroscopy of polyethersulfone membranes-unmodified, modified and protein fouled”. *Journal of Membrane Science*, v. 172, pp. 113-124, 2000.

BELFER, S., GILRON, J., KEDEM, O. “Characterization of commercial RO and UF modified and fouled membranes by means of ATR/FTIR”. *Desalination*, v. 124, pp. 175-180, 1999.

BELFER, S., PURINSON, Y., FAINCHTAIN, R. *et al.* “Surface modification of commercial composite polyamide reverse osmosis membranes”. *Journal of Membrane Science*, v. 139, pp. 175-181, 1998.

BENAVENTE, J., VÁSQUEZ, M. I. “Effect of age and chemical treatments on characteristics parameters for active and porous sublayers of polymeric composite membranes”. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 273, pp. 547-555, 2004.

BHATTACHARYYA, D., WILLIAMS, M. E. “Reverse Osmosis – Introduction and Definitions”. In: Winston, W. S. and Sirkar, K. K. (eds.) *Membrane Handbook*, cap. VI, New York, USA, Van Nostrand Reinhold, 1992.

BONHEVI, J. S., COLL, F. V., JORDA, R. E. “The composition, active components and bacteriostatic activity of propolis in dietetics”. *Journal of the American Oil Chemist’s Society*, v. 71, pp. 529-532, 1994.

BONNELYE, V., SANZ, M. A., DURAND, J. P., *et al.* “Reverse osmosis on open intake seawater: pretreatment strategy”. *Desalination*, v. 167, pp. 191-200, 2004.

BORGES, C. P., NOBREGA, R., HABERT, A. C. *Escola Piloto em Engenharia Química, Processos de Separação com Membranas*, 1997.

BOS, R., VAN DER MEI, H. C., BUSSCHER, H. J. "Phyicochemistry of initial microbial adhesive interactions – its mechanisms and methods of study. *FEMS Microbiology Reviews*, v.23, pp. 179-230, 1999.

BROUWER, H., MEESTERS, K., GROENESTIJN, J. "Biofouling control in reverse osmosis membranes using rapid biofiltration technology". *Desalination*, v. 199, pp. 15-17, 2006.

BRUINSMA, G. M., VAN DER MEI, H. C., BUSSCHER, H. J. "Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses". *Biomaterials*, v. 22, pp. 3217-3224, 2001.

BRUMFIT, W., HAMILTON-MILLER, J. M. T., FLANKLIN, I. "Antibiotic activity of natural product: Propolis", *Microbios*, v. 62, pp.19-20, 1990.

BYRNE, W. *Reverse Osmosis – A practical guide for industrial users*. Tall Oaks Publishing, Inc., 2nd edition, USA, 2002.

CAMMAROTA, M. C. "Produção de Exopolissacarídeos e Adesão Microbiana". Tese de DSc., Departamento de Bioquímica, IQ/UFRJ, 1998.

CARVALHO, R. B., BORGES, C. P., NOBREGA, R. "Formação de membranas planas celulósicas por espalhamento duplo para os processos de nanofiltração e osmose inversa". *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, v. 11, p. 65-75, 2001.

CARVALHO, R. B. "Desenvolvimento de membranas de osmose inversa e de nanofiltração através do processamento simultâneo de duas soluções poliméricas", *Exame de qualificação ao doutorado*, PEQ-COPPE, UFRJ, 2003.

CERQUEIRA, A. C. F. P. "Avaliação de membrana composta para transferência de oxigênio em biorreatores". *Tese de DSc.*, Programa de Engenharia Química, COPPE/UFRJ, 2005.

CHAE, M. S., SCHRAFT, H. “Comparative evaluation of adhesion and biofilm formation of different *Listeria monocytogenes* strains”. *International Journal of Food Microbiology*, v. 62, pp. 103-111, 2000.

CHE, A., NIE, F., HUANG, X. *et al.* “Acrylonitrile-based copolymer membranes containing reactive groups: Surface modification by the immobilization of biomacromolecules” *Polymer*, v. 46, pp. 11060-11065, 2005.

CHEN, W., SHY, H., LIN, J. “Cytotoxic prenylflavones from Taiwanese propolis”. *Journal of Natural Products*, v. 66, pp.503–506, 2003.

CHEN, R., FENG, W., ZHU, S. *et al.* “Surface-initiated atom transfer radical polymerization of polyhedral oligomeric silsesquioxane (POSS) methacrylate from flat silicon wafer”. *Polymer*, v. 47, pp. 1119-1123, 2006.

COMBELLAS, C., FUCHS, A., KANOUI, F. *et al.* “Surface modification of halogenated polymers. 6. Graft copolymerization of poly(tetrafluoroethylene) surfaces by polyacrylic acid”. *Polymer*, v. 45, pp. 4669-4675, 2004.

COWAN, M. M. “Plant products as antimicrobial agents”. *Clinical Microbiological Review*, v. 12, pp. 564-582, 1999.

CUNHA, I. B. S., BUENO, M. I. M.; MARCUCCI, M. C. R., *et al.* "Caracterização de Própolis Brasileira por Fluorescência de Raio-X: Evidência de Contaminação de Chumbo", *Lecta - Revista de Farmácia e Biologia*, v. 15(12): pp. 99-102, 1997.

DJORDJEVIC, D., WIEDMANN, M., McLANDSBOROUGH, L. “A. Microtiter plate assay for assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation.” *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, pp. 2950-2958, 2002.

DRAPAK, S. I. “Spectral luminescence properties of blue glue (propolis)”. *Technical Physics*, v. 52, pp. 1036-1039, 2007.

FERREIRA, F. S. *et al.* “Surfactina como inibidor da adesão de *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 em diferentes superfícies.” In: *VII Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos – Ciência e Tecnologia de Alimentos em Benefício a Sociedade: Ligando a Agricultura à Saúde*, Campinas, SP, 2007.

FIGUEIREDO, K. C. S. *Desenvolvimento de membrana com mioglobina para a permeação seletiva de oxigênio*. Tese de Doutorado, PEQ-COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 2008.

FLEMMING, H. C. “Reverse Osmosis Membrane Biofouling” *Experimental Thermal and Fluid Science*, v. 14, pp. 382-391, 1997.

FLEMMING, H. C. “Biofouling in water systems – cases, causes and countermeasures” *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 59, pp. 629-640, 2002.

FREGER, G., GILRON, J., BELFER, S. “TFC polyamide membranes modified by grafting of hydrophilic polymers: an FT-IR/AFM/TEM study”. *Journal of Membrane Science*, v. 209, pp. 283-292, 2002.

GABELICH, C., YUN, T. I., GREEN, J. F. *et al.* *Evaluation of precipitative fouling for colorado river water desalination using reverse osmosis*. Desalination and Water Purification Research and Development Program Report No. 85, 2002.

GAREDEW, A., SCHMOLZ, E., LAMPRECHT, I. “Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actives of different propolis extracts: an in vitro approach”. *Thermochimica Acta*, v. 422, pp. 115-124, 2004.

GERARD, R., HACHISUKA, H., HIROSE, M. “New membrane developments expanding the horizon for the application of reverse osmosis technology”. *Desalination*, v. 119, pp. 47-55, 1998.

GHAYENI, S. B. S., BEATSON, P. J., SCHNEIDER, R. P., *et al.* “Adhesion of waste water bacteria to reverse osmosis membranes”. *Journal of Membrane Science*, v. 138, pp. 29-42, 1998.

GHISALBERTI, E. L. "Propolis: a review", *Bee World*, v. 60, pp. 59-84, 1979.

GILRON, J., BELFER, S., VAISÄNEN, P. *et al.* “Effects of surface modification on antifouling and performance properties of reverse osmosis membranes”. *Desalination*, v. 140, pp. 167-179, 2001.

GONZÁLES, G., HERNANDEZ, N. M. R., VERA, C. M. “Estúdio comparativo de la acción antimicrobiana del propóleos com antibióticos y desinfectantes convencionales”. *Cienc Tec Agric, Apicultura* 1, pp. 23-36, 1985.

GRANGE, J.M.; DAVEY, R.W. “Antibacterial properties of propolis (bee glue)”. *Journal of the Royal Society of Medicine*, v. 83, pp. 159-160, 1990.

GRIEBE, T., FLEMMING, H-C. “Biocide free antifouling strategy to protect RO membranes from biofouling”. *Desalination*, v. 118, pp. 153-156, 1998.

HABERT, A. C., BORGES, C. P., NÓBREGA R. *et al.* *Fundamentos e Operação dos Processos de Nanofiltração e Osmose Inversa*, Apostila, 2005.

HACHISUKA, HISAO, K., KENICHI. “Composite reverse osmosis membrane having a separation layer with polyvinyl alcohol coating and method of reverse osmotic treatment of water using the same”. US Patent 6,177,011, 2001.

HANFT, S. Report highlights. *Membrane & Separation Technology*, 2008. Disponível em: <http://www.bccresearch.com/report/MST052A.html>. Acesso em: 24 de fevereiro de 2009.

HAYASHI, K., KOMURA, S., ISAJI, N. *et al.* "Isolation of antioxidative compounds from brazilian propolis: 3,4-dihydroxy-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant". *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, v. 47, pp- 1521-1524, 1999.

HILAL, N., KOCHKODAN, V., AL-KHATIB, L., *et al.* "Surface modified polymeric membranes to reduce (bio)fouling: a microbiological study using E. coli". *Desalination*, v. 167, pp. 293-300, 2004.

HIROTSU, K., ICHIMURA, K., MIZOGUCHI K., *et al.* "Water-ethanol permseparation by pervaporation through photocrosslinked poly(vinyl alcohol) composite membranes". *Journal of Applied Polymer Science*, v. 36, pp. 1717-1729, 1988.

HIROTSU, T., NAKAJIMA, S. "Water-ethanol permseparation by pervaporation through the plasma graft copolymeric membranes of acrylic acid and acrylamide". *Journal of Applied Polymer Science*, v. 36, pp. 177-189, 1988.

HOOD, S. K., ZOTTOLA, E. A. "Biofilms in food processing". *Food control*, v. 6, p. 9-18, 1995.

HUANG, R. Y. M., YEOM, C. K. "Pervaporation separation of aqueous mixtures using crosslinked poly(vinyl alcohol)(PVA). II. Permeation of ethanol-water mixtures". *Journal of Membrane Science*, v. 51, pp. 273-292, 1990.

HUANG, R. Y. M., YEOM, C. K. "Pervaporation separation of aqueous mixtures using crosslinked polyvinyl alcohol membranes. III. Permeation of acetic acid-water mixtures". *Journal of Membrane Science*, v. 58, pp. 33-47, 1991a.

HUANG, R. Y. M., YEOM, C. K. "Development of crosslinked poly(vinyl alcohol) (type 2) and permeation of acetic acid-water mixtures". *Journal of Membrane Science*, v. 62, pp. 59-73, 1991b.

HUANG, X., XU, Z., HUANG, X. et al. "Biomimetic surface modification on polyacrylonitrile-based asymmetric membranes via direct formation of phospholipid moieties". *Polymer*, v. 47, pp. 3141-3149, 2006.

IVNITSKY, H., KATZ, I., MINZ, D., et al. "Characterization of membrane biofouling in nanofiltration processes of wastewater treatment". *Desalination*, v. 185, pp. 255-268, 2005.

JARUSUTTHIRAK, C., AMYB, G., CROU, J. "Fouling characteristics of wastewater effluent organic matter (EfOM) isolates on NF and UF membranes". *Desalination*, v. 145, pp. 247-255, 2002.

JENKINS, M., TUNNER, M. B. "Operational experience with a new fouling resistant reverse osmosis membrane". *Desalination*, v. 119, pp. 243-250, 1998.

JENKINSON, H. F.; LAPPIN-SCOTT, H. M. "Biofilms adhere to stay". *Trends in microbiology*, v. 9, pp. 9-10, 2001.

JIAN, S., MING, S. X. "Crosslinked PVA-PS thin-film composite membrane for reverse osmosis". *Desalination*, v. 62, pp. 395-403, 1987.

KALMOKOFF, M. L., AUSTIN, J. W., WAN, X. D. et al. "Adsorption, attachment and biofilm formation among isolates of *Listeria monocytogenes* using model conditions". *Journal of Applied Microbiology*, v. 91, p. 725-734, 2001.

KANG, G., LIU, M., LIN, B., et al. "A novel method of surface modification on thin-film composite reverse osmosis membrane by grafting poly(ethylene glycol)". *Polymer*, v. 48, pp. 1165-1170, 2007.

KATZ, M. G., WYDEVEN, T. "Selective permeability of PVA membranes. II. Heat-treated membranes". *Journal of Applied Polymer Science*, v. 27, pp. 79-87, 1982.

KHEDR, M. G. "Development of reverse osmosis desalination membranes composition and configuration: Future prospects". *Desalination*, v.153, pp. 295-304, 2002.

KIM, S. H, KWAK, S., SOHN, B. *et al.* "Design of TiO₂ nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem". *Journal of Membrane Science*, v. 211, pp. 157-165, 2003.

KIM, I., LEE, C. "Dyeing process wastewater treatment using fouling resistant nanofiltration and reverse osmosis membranes" *Desalination*, v.192, pp. 246–251, 2006.

KIM, D., JUNG, S., SOHN, J. *et al.* "Biocide application for controlling biofouling of SWRO membranes — an overview" *Desalination*, v.238, pp. 43-52, 2009.

KIM, J. PARK, P., LEE, C. *et al.* "Surface modification of nanofiltration membranes to improve the removal of organic micro-pollutants (EDCs and PhACs) in drinking water treatment: Graft polymerization and cross-linking followed by functional group substitution" *Journal of Membrane Science*, v.321, pp. 190-198, 2008.

KOO, M. H., PARK, Y. K. "Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* Propolis from various regions of Brazil". *Brazilian Archives of Biology and Tecnology*, v. 40, pp. 97-106, 1997.

KRUMOVA, M., LÓPEZ, D., BENAVENTE, R., *et al.* "Effect of crosslinking on the mechanical and thermal properties of poly(vinyl alcohol)". *Polymer*, v. 41, pp. 9265-9272, 2000.

KUJUMGIEV, A., TSVETKOVA, I., SERKEDJIEVA, Y., *et al.* "Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin", *Journal of Ethnopharmacology*, v. 64, pp. 235-240, 1999.

KULL, K. R., STEEN, M. L., FISHER, E. R. "Surface modification with nitrogen-containing plasmas to produce hydrophilic, low-fouling membranes". *Journal of Membrane Science*, v. 246, pp. 203-215, 2005.

KUMAZAWA, S., HAMASAKA, T., NAKAYAMA, T. "Antioxidant activity of propolis of various geographic origins". *Food Chemistry*, v. 84, pp.329–339, 2004.

LAI J. Y., CHAO, Y. C. "Plasma-modified nylon 4 membranes for reverse osmosis desalination" *Journal of Applied Polymer Science*, v. 39, pp. 2293-2303, 1990.

LEITÃO, D. P. S., SILVA, A. A., POLIZELLO, A. C. M. *et al.* "Comparative evaluation of in-vitro effects of Brazilian green propolis and *Baccharis dracunculifolia* extracts on cariogenic factors of streptococcus mutans". *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, v. 27, 1834-1839, 2004.

LI, R. H., BARBARI, T. A. "Protein transport through membranes based on toluene diisocyanate surface-modified poly(vinyl alcohol) gels". *Journal of Membrane Science*, v 88, pp. 115-125, 1994.

LI, R. H., BARBARI, T. A. "Performance of poly(vinyl alcohol) thin-gel composite ultrafiltration membranes". *Journal of Membrane Science*, v. 105, pp. 71-78, 1995.

LI, Q., XU, Z., PINNAU, I. "Fouling of reverse osmosis membranes by biopolymers in wastewater secondary effluent: Role of membrane surface properties and initial permeate flux". *Journal of Membrane Science*, v.290, pp.173–181, 2007.

LINDER, C., KEDEM, O. "History of nanofiltration membranes 1960 to 1990". In: Schäfer, A. I., Fane, A. G., Waite, T. D. (eds) *Nanofiltration Principles and Applications*, cap. 2, New York, USA, Elsevier Advanced Technology, 2005.

LINDSAY, D.; HOLY, A. "Evaluation of dislodging methods for laboratory-grown bacterial biofilms." *Food Microbiology*, v. 14, pp. 383-390, 1997.

LIU C., BAI, R. "Preparation of chitosan/cellulose acetate blend hollow fibers for adsorptive performance". *Journal of Membrane Science*, 267, pp. 68-77, 2005.

LIU, L., XIAO, L., YANG, F. "Terylene membrane modification with polyrotaxanes, TiO₂ and polyvinyl alcohol for better antifouling and adsorption property". *Journal of Membrane Science*, v. 333, pp. 110-117, 2009.

LOUIE, J. S., PINNAU, I., CIOBANU, I. *et al.* "Effects of polyether-polyamide block copolymer coating on performance and fouling of reverse osmosis membranes". *Journal of Membrane Science*, v. 280, pp. 762-770, 2006.

MA, H., BOWMAN, C. N., DAVIS, R. H. "Membrane fouling reduction by backpulsing and surface modification". *Journal of Membrane Science*, v. 173, pp. 191-200, 2000.

MA, X., SU, Y., SUN, Q. *et al.* "Enhancing the antifouling property of polyethersulfone ultrafiltration membranes through surface adsorption-crosslinking of poly(vinyl alcohol)" *Journal of Membrane Science*, v.300, pp. 71-78, 2007.

MACHADO, S. M. O. "Avaliação do efeito antimicrobiano do surfatante cloreto de benzalcônio no controlo da formação de biofilmes indesejáveis". *Dissertação de Mestrado*, Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Portugal, 2005.

MACIEL, P. M. C. "Preparação da mistura cumbaru-PVP-colágeno e caracterização por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear no estado sólido". *Tese de doutorado*, Instituto de Macromoléculas (IMA), UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2008.

MANO, E. B., MENDES, L. C. *Introdução a Polímeros*. Editora Edgard Blucher, 2^a Ed., 1999.

MARCUCCI, M. C. "Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity". *Apodologie*, v. 26, pp. 83-99, 1995.

MARCUCCI, F., FERRERES, F., GARCIA-VIGUERA, C., *et al.* "Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities". *Journal of Ethnopharmacology*, v.74, pp. 105-112, 2001.

MARKHAM, K. R., MITCHELL, K. A., WILKINS, A. L. *et al.* "HPLC and CG-MS identification of the major organic constituents in New Zealand propolis". *Phytochemistry*, v. 42, pp. 205-211, 1996.

MATTILA-SANDHOLM, T., WIRTANEN, G. "Biofilm formation in the industry: a review." *Food Reviews International*, v.8 (4), pp.573-603, 1992.

MAUKONEN, J., MATTO, J., WIRTANEN, G. *et al.* "Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: a review". *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, v. 30, p. 327-356, 2003.

MCNEILL, I. C. "Thermal degradation mechanisms of some addition polymers and copolymers". *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, v. 40-41, pp. 21-41, 1997.

MERESTA, L., MERESTA, T. "Antibacterial activity of flavonoid compounds of propolis, occurring in flora in Poland". *Bulletin of Veterinary Institute Pulawy*, pp. 28-29, 1985.

MEYER, B. "Approaches to prevention, removal and killing of biofilms". *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 51, pp. 249-253, 2003.

MEYLHEUC, T.; RENAULT, M.; BELLON-FONTAINE. “Adsorption of a biosurfactant on surfaces to enhance the disinfection of surfaces contaminated with *Listeria monocytogenes*”. *International Journal of Food Microbiology*, v. 109, pp. 71-78, 2006.

MIDORIKAWA, K., BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y. *et al.* “Liquid chromatography-mass spectrometry analysis of propolis”. *Phytochemical Analysis*, v. 12, pp. 366-373, 2001.

MILER, J., “Review of Water Resources and Desalination Technologies”, *Sandia National Laboratories*, 2003.

MILES, A. A., MISRA, S. S. “Estimation of the bactericidal power of the blood”. *Journal of hygiene (Cambridge)*, v. 38, pp. 732-749, 1938.

MILLIPORE. Ultracell PLC Membranes Data Sheet. Disponível em: <http://millipore.com.br>. Acessado em 30/07/2007.

MUKHERJEE, D., KULKARNI, A., GILL, W. N. “Chemical treatment for improved performance of reverse osmosis membranes”. *Desalination*, v. 104, pp. 239-249, 1996.

MUKHOPADYAY, D. “Method and apparatus for high efficiency reverse osmosis operation”. United States Patent number 5,925,255, 1999.

MULDER, M. *Basic principles of Membrane Technology*. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1987.

NA, L., ZHONGZHOU, L., SHUGUANG, X. “Dynamically formed poly(vinyl alcohol) ultrafiltration membranes with good anti-fouling characteristics”. *Journal of Membrane Science*, v. 169, pp. 17-28, 2000.

NEGRI, G.; MARCUCCI, M. C.; SALATINO, A. *et al.* “Comb and propolis waxes from Brazil”. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.11, pp.453-457, 2000.

NIE, F., XU, Z., YE, P. et al. "Acrylonitrile-based copolymer membranes containing reactive groups: effects of surface-immobilized poly(ethylene glycol)s on anti-fouling properties and blood compatibility". *Polymer*, v. 45, pp. 399-407, 2004.

NIVENS, D. E., PALMER, R. Jr., WHITE, D. C. "Continuous nondestructive monitoring of microbial biofilms: A review of analytical techniques." *Journal of Industrial Microbiology*, v. 15, pp. 263-276, 1995.

NYSTROM, M., JARVINEN, P. "Modification of polysulfone ultrafiltration membranes with UV irradiation and hydrophilicity increasing agents". *Journal of Membrane Science*, v. 60, pp. 275-296, 1987.

OH, B. S., JANG, H. Y., CHO, J. et al., "Effect of ozone on microfiltration as a pretreatment of seawater reverse osmosis". *Desalination*, v.238, pp.90–97, 2009.

OKITA, W. B., KIRWAN, D. J. "Simulation of secondary metabolite production by immobilized living cells: penicillin production". *Biotechnology Progress*, v. 2, pp. 83-90, 1986.

OZDEMIR, Y., HASIRCI, N., SERBETCI, K. "Oxygen plasma modification of polyurethane membranes". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 13, pp. 1147-1152, 2002.

PAL, S., GHATAK, S. K., DE, S., et al. "Evaluation of surface roughness of a plasma treated polymeric membrane by wavelet analysis and quantification of its enhanced performance". *Applied Surface Science*, v. 255, 2504-2511, 2008.

PARK, Y. K., KOO, M. H. "Investigation of flavonoid aglycones in propolis collected by two different varieties of bees in the same regions". *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v. 61, pp. 367-369, 1997.

PARK, Y. K.; KOO, M. H.; ABREU, J. A. S., et al. "Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms". *Current Microbiology*, v.36, pp. 24-38, 1998.

PARRIZZI, S. Q., ANDRADE, N. J., SILVA, C. A. S. *et al.* “Bacterial adherence to different inert surfaces evaluated by epifluorescence microscopy and plate count method.” *Brazilian Archives of Biology and technology*, v. 47, n. 1, p. 77-83, 2004.

PEARCE, G., TALO, S., CHIDA, K., *et al.* “Pretreatment options for large scale SWRO plants: case studies of UF trials at Kinshasa, Saudi Arabia, and conventional pretreatment in Spain”. *Desalination*, v. 167, pp. 175-189, 2004.

PEPELJNJAK,S., KOSALEC, I. “Galangin expresses bactericidal activity against multiple- resistant bacteria: MSSA, *Enterococcus* ssp. and *Pseudomonas aeruginosa*”. *FEMS Microbiology Letters*, v. 240, pp. 111-116, 2004.

PEREIRA, A. S.; NORSELL, M.; CARDOSO, J. N. *et al.* “Rapid screening of polar compounds in Brazilian propolis by high-temperature high-resolution gas chromatography-mass spectrometry”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, pp. 5226-5230, 2000.

PEREIRA, C. C., FERRAZ, H. C., DUARTE, L. T. *et al.* *Processos de Separação Avançados Aplicados ao Tratamento e Reciclo de Efluentes de Processo*. Projeto Integrante do edital Fundo Verde-Amarelo/Finep 02/2002 – 520039/03-3, 2002.

PETERSEN, R. J. “Composite reverse osmosis and nanofiltration membranes”. *Journal of Membrane Science*, v. 83, pp. 81-150, 1993.

PIERACCI, J., CRIVELLO, J. V., BELFORT, G. “Photochemical modification of 10 kDa polyethersulfone ultrafiltration membranes for reduction of biofouling”. *Journal of Membrane Science*, v. 156, pp. 223-240, 1999.

PIRES, R. C. *et al.* “Potencial de uso do biossurfatante surfactina como agente inibidor da adesão de patógenos em superfície de aço inox.” *Congresso Latino-americano de Higienistas de Alimentos*, Porto Seguro, Brasil, 2007.

PISCO L., KORDIAN, M., PESEKE, K. *et al.* “Synthesis of compounds with atiproliferative activity as analogues of prenylated natural products existing in Brazilian propolis”. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 41, pp. 401-407, 2006.

PONTIÉ, M., RAPENNE, S., THEKKEDATH, A., *et al.* “Tools for membrane autopsies and antifouling strategies in seawater feeds: a review.” *Desalination*, v. 181, pp. 75-90, 2005.

POULSEN, L. V. “Microbial Biofilm in Food Processing”. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v. 32, pp. 321-326, 1999.

PRAPTOWIDODO, V. S. “Influence of swelling on water transport through PVA-based membrane”. *Journal of Molecular Structure*, v.739, pp. 207-212, 2005.

PUUPPONEM-PIMIA, R., NOHYNEK, L., MEIER, C. *et al.* “Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries”. *Journal of Applied Microbiology*, v. 90, pp. 494-507, 2001.

RAMOS, G. M. *Fibras ocas compostas para osmose inversa e nanofiltração baseadas em poli(álcool vinílico) com resistência a agentes oxidantes e incrustações orgânicas*, Tese de Doutorado, PEQ-COPPE, UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 2008.

RAWLINGS, D. E. “Heavy metal mining using microbes”. *Annual Review of Microbiology*, v. 56, pp. 65-91, 2002.

RECIO, M. C., RIOS, L. L.; VILLAR, A. “A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature” *Phytotherapy Research*, v. 3, pp. 117-125, 1989.

ROBERT, K., TUBS, K., WU, T. “Thermal properties of polyvinyl alcohol”. In: FINCH, C. A. (ed.) *Polyvinil alcohol – properties and applications*, chapter 8, Londres, John Wiley & Sons, 1973.

SALATINO, A., TEIXIERA, E. W., NEGRI, G. *et al.* “Origin and chemical variation of Brazilian propolis – REVIEW”. *Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2, pp. 33-38, 2005.

SANTOS, F. A., BASTOS, E. M. A., UZEDA, M. *et al.* “Antibacterial activity of brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria”. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 80, pp. 1-7, 2002.

SAUER, K. “The genomics and proteomics of biofilm formation”. *Genome Biology*, v. 4 (21), pp.219.1-219.5, 2003.

SAWAYA, A. C. F. H., SOUZA, K. S. , MARCUCCI, M. C., *et al.* “Analysis of the composition of Brazilian propolis extracts by chromatography and evaluation of their in vitro activity against gram-positive bacteria”. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 35, pp. 104-109, 2004.

SCHÄFER, A. I., ANDRITSOS, N., KARABELAS, A. I., *et al.* “Fouling in Nanofiltration”. In: Schäfer, A. I., Fane, A. G., Waite, T. D. (eds) *Nanofiltration Principles and Applications*, cap. 8, New York, USA, Elsevier Advanced Technology, 2005.

SCHNEIDER, R. P., FERREIRA, L. M., BINDER, P., *et al.* “Dynamics of organic carbon and of bacterial populations in a conventional pretreatment train of a reverse osmosis unit experiencing severe biofouling”. *Journal of Membrane Science*, v. 266, pp. 18-29, 2005.

SEHN, P. Experiences with fouling resistant membranes in combination with intermittent biocide dosage. Disponível em: <http://www.dow.com>. Acessado em: 30/07/2007.

SEIDEL, A., ELIMELECH, M. "Coupling between chemical and physical interactions in natural organic matter (NOM) fouling of nanofiltration membranes: implications for fouling control". *Journal of Membrane Science*, v. 203, pp. 245-255, 2002.

SFORCIN, J. M.; FERNANDES, A.; LOPES, C. A. M., *et al.* "Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity", *Journal of Ethnopharmacology*, 73, v.1-2, pp. 243 -249, 2000.

SHON, H. K., VIGNESWARANA, S., KIM, I. S., *et al.* "Effect of pretreatment on the fouling of membranes: application in biologically treated sewage effluent". *Journal of Membrane Science*, v. 234, pp. 111-120, 2004.

SHON, H. K., VIGNESWARANA, S., ZAREIEA, M. H., *et al.* "Physico-chemical pretreatment to seawater reverse osmosis (SWRO): organic characterization and membrane autopsy". *Desalination*, v. 236, pp. 282-290, 2009.

SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 5th edition, John Wiley & Sons, Inc., Canadá, 1991.

SIMÕES, M., PEREIRA, M. O., SILLANKORVA, S. *et al.* "The effect of hydrodynamic conditions on the phenotype of *Pseudomonas fluorescens* biofilmes". *Biofouling*, v. 23, pp. 249-258, 2007.

STEEN, M. L., JORDAN, A. C., FISHER, E. R. "Hydrophilic modification of polymeric membranes by low temperature H₂O plasma treatment". *Journal of Membrane Science*, v. 204, pp. 341-357, 2002.

STOODLEY, P., SAUER, K., DAVIES, D. G., *et al.* "Biofilms as Complex Differentiated Communities". *Annual Review of Microbiology*, v. 56, pp. 187-209, 2002.

SUSANTO, H., BALAKRISHNAN, M., ULBRICHT, M. "Via surface functionalization by photograft copolymerization to low-fouling polyethersulfone-based ultrafiltration membranes". *Journal of Membrane Science*, v. 288, pp. 157-167, 2007.

TAKHISTOV, P., GEORGE, B. “Linearized kinetic model of *Listeria monocytogenes* biofilm growth”. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 26, p. 259-270, 2004.

TARBOUSH, B. J. A., RANA, D., MATSUURA, T. *et al.* “Preparation of thin-film-composite polyamide membranes for desalination using novel hydrophilic surface modifying macromolecules”. *Journal of Membrane Science*, v. 325, pp. 166-175, 2008.

TOSI, E. A., RÉ, E., ORTEGA, M. E. *et al.* “Food preservative based on propolis: bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*”. *Food Chemistry*, v. 104, pp. 1025-1029, 2007.

TU, C., LIU, Y., LEE, K. *et al.* “Surface grafting polymerization and modification on poly(tetrafluoroethylene) films by means of ozone treatment”. *Polymer*, v. 46, pp. 6976-6985, 2005.

ULBRICHT, M. “Advanced functional membranes”. *Polymer*, v. 47, pp. 2217-2262, 2006.

VIAL, D., DOUSSAU, G., GALINDO, R. “Comparison of three pilot studies using Microza membranes for Mediterranean seawater pre-treatment”. *Desalination*, v. 156, pp. 43-50, 2003.

VIGO, F., ULIANA, C. “Ultrafiltration membranes obtained by grafting hydrophilic monomers onto poly(vinyl chloride)”. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 38, pp. 1197-1209, 1989.

VROUWENVELDER, J.S., KAPPELHOF, J. W. N. M, HEIJMAN, S. G. J. *et al.* “Diagnostics, prediction and prevention on biofouling of NF and RO membranes”. *Desalination*, v. 139, pp. 65-71, 2001.

VROUWENVELDER, J.S., KAPPELHOF, J. W. N. M, HEIJMAN, S. G. J. *et al.* “Tools for fouling diagnostics of NF and RO membranes and assessment of the fouling potential of feed water”. *Desalination*, v. 157, pp. 361-365, 2003.

VROUWENVELDER, J.S., MANOLARAKIS, S. A., VAN DER HOEK, J. P. *et al.* “Quantitative biofouling diagnosis in full scale nanofiltration and reverse osmosis installations”. *Water Research*, v. 42, pp. 4856-4868, 2008.

WANG, X., FANG, D., YOON, K. *et al.* “High performance ultrafiltration composite membranes based on poly(vinyl alcohol) hydrogel coating on crosslinked nanofibrous poly(vinyl alcohol) scaffold”. *Journal of Membrane Science*, v. 278, pp. 261-268, 2006.

WILBERT, M. C., PELLEGRINO, J., ZYDNEY, A. “Bench-scale testing of surfactant-modified reverse osmosis/nanofiltration membranes”. *Desalination*, v. 115, pp. 15-32, 1998.

WILLEY, D. Escassez de água no horizonte. Disponível em <http://www.folha.uol.com.br>. Acesso em: 19 de abril de 2009.

WU, Y., SUN, S., ZHAO, J. *et al.* “Rapid discrimination of extracts of Chinese propolis and poplar buds by FT-IR and 2D IR correlation spectroscopy”. *Journal of Molecular Structure*, v. 883–884, pp. 48–54, 2008.

XAVIER, J. B., PICIOREANU, C., ALMEIDA, J. S., *et al.* “Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes”. *Boletim de Biotecnologia*, pp. 2-13, 2005.

XI, W., RONG, W., ZHANSHENG, L., *et al.* “Development of a novel electrophoresis-UV grafting technique to modify PES UF membranes used for NOM removal”. *Journal of Membrane Science*, v. 273, pp. 47-57, 2006.

ZHANG, W., GAOHONG, H., GAO, P. *et al.* “Development and characterization of composite nanofiltration membranes and their application in concentration of antibiotics”. *Separation and Purification Technology*, v. 30, pp. 27-35, 2003.

ZHU, X., ELIMELECH, M. “Colloidal fouling of reverse osmosis membranes: measurements and fouling mechanisms”. *Environmental Science and Technology*, v.31, pp.3654-3662, 1997.

ZIPS, A., SHAULE, G., FLEMMING, H. –C. “Ultrasound as a means for detachment of biofilms”. *Biofouling*, v. 2, pp. 323-336, 1990.