

I-057 - USO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA A DESINFECÇÃO DA ÁGUA PARA CONSUMO

Lorena Fernanda Altava Cara⁽¹⁾

Acadêmica da sétima fase Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina/UDESC-CEAVI. Bolsista de iniciação científica.

Endereço⁽¹⁾: Rua Engenheiro José Gomes, 448 - Floresta - Joinville - SC - CEP: 89232060 - Brasil - Tel: (47) 97676429 - e-mail: lorena.cara@outlook.com

Heros Horst⁽²⁾

Professor do Departamento de Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina. Coordenador do grupo de pesquisa Saúde e Meio Ambiente da UDESC-CEAVI.

Cristiane Luisa Jost⁽³⁾

Professora do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. Pesquisadora do Centro de Ciências Físicas e Matemáticas da UFSC.

André Nogueira⁽⁴⁾

Professor do Departamento de Engenharia Química da Universidade da Região de Joinville-Univille. Pesquisador do Mestrado em Engenharia de Processos da Univille.

Luciano André Deitos Koslowski⁽⁵⁾

Professor do Departamento de Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina. Doutorando em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC.

RESUMO

Neste trabalho, foi avaliada a eficiência na desinfecção da água empregando nanopartículas de prata funcionalizadas (AgNPs) em percentuais de 0,05%, 0,10% e 0,50% em massa em matriz polimérica (poliamida-66) para o tempo de residência de 3 horas. Os ensaios foram realizados empregando a metodologia preconizada no *Standard Test Method for determining the Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions* (ASTME-21,49,2001), avaliando as análises microbiológicas de coliformes fecais, especificamente a *E.coli*. Observou-se que após 24 horas de incubação, as amostras com 0,05% de AgNPs, sob agitação à temperatura ambiente (25°C) e 35°C, apresentaram respectivamente 97% e 98,2% de ação antibacteriana, quando avaliado o índice de unidades formadoras de colônia (UFC) por 100 mL com a amostra branco. Os pellets funcionalizados, foram submetidos a ensaios de lixiviação para avaliar a taxa de migração da prata para a água empregando-se a técnica de Espectroscopia de Massa Atômica com Plasma Induzido (ICP-MS). Pode-se observar que a concentrações de 0,05% e 0,10% de AgNPs, na matriz polimérica, apresentaram valores de detecção inferior ao limite reportado pelo Conama 357/2005 (0,010 mg/L para a prata) e superior para a concentração de 0,50% (0,052 mg/L).

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas de prata, desinfecção, ICP-MS.

INTRODUÇÃO

A água é um recurso natural de valor inestimável. Mais que um insumo indispensável à produção, é um recurso estratégico para o desenvolvimento econômico, vital para a manutenção dos ciclos biológicos, geológicos e químicos, além de manter em equilíbrio os ecossistemas.

O mundo está enfrentando desafios em atender às demandas crescentes de água potável, uma vez que as fontes disponíveis de água doce estão diminuindo devido a secas prolongadas (VOROSMARTY et al, 2000). Antes de chegar às residências, a água deve receber um tratamento de desinfecção para assim assegurar a sua qualidade. Estudos recentes reportam a existência de 1 bilhão de pessoas sem acesso a água potável no mundo. Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU, 2010), a cada oito segundos morre uma criança no planeta em decorrência de doenças relacionadas ao consumo de água contaminada. O mesmo estudo revela que cerca de 17 milhões de brasileiros não possuem acesso à água potável.

Grande parte dos agentes patogênicos de veiculação hídrica possuem origem nas fezes de indivíduos doentes. Por esta razão, uma condição para a avaliação da qualidade microbiológica da água é o exame de indicadores

de contaminação fecal (AMARAL et al., 2003). Os coliformes estão presentes em quantidades elevadas nas fezes humana e de animais de sangue quente. A sua ocorrência na água indica a possível presença de agentes patogênicos. Os principais indicadores de contaminações fecais são as concentrações elevadas de coliformes totais e fecais, expressa em número de micro-organismos por 100 mililitros de água. Amson (2001), reporta que as doenças transmitidas por alimentos (DTAs) são causadas por agentes biológicos, químicos ou físicos, adquiridos pelo organismo humano por meio da ingestão de água ou alimentos contaminados.

Os bioindicadores são espécies, nas quais a presença, quantidade e distribuição sugerem o potencial impacto ambiental em um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem, permitindo a avaliação integrada dos efeitos ecológicos causados por múltiplas fontes de poluição (CALLISTO; GONÇALVES, 2005). Para a análise da água, utiliza-se a bactéria *E.coli* como organismo indicador de contaminação fecal, uma vez que a presença desta aponta para uma possível contaminação, impactando no decréscimo da qualidade microbiológica dessa. Este microrganismo, quando detectado em uma amostra de água, evidência diretamente a contaminação fecal recente, sugerindo a presença de patógenos entéricos (POPE et al, 2003).

O desenvolvimento dos novos materiais com propriedades específicas e controláveis à nível molecular, é objeto de estudo de muitos pesquisadores, do que se convencionou chamar de nanociência e nanotecnologia (SCEMAN, 2003).

Os nanomateriais possuem dimensões na escala nanométrica (entre 1 e 100 nm) e usualmente exibem significativas alterações nas diversas propriedades que os mesmos materiais apresentam na escala macroscópica de tamanho. A principal razão pra isso é a elevada área superficial por volume exibida pelos materiais quando se encontram na escala nanométrica de tamanhos.

A ciência da nanotecnologia tem despertado interesse significativo de linhas de pesquisa no âmbito das aplicações dos nanomateriais em questões relacionadas notadamente ao meio ambiente (YEHA, 2007). Neste contexto, um dos principais objetivos tem sido explorar o potencial dos nanomateriais para aprimorar processos convencionais de tratamento de água. No decorrer dos últimos anos, intensas pesquisas foram realizadas com a utilização de prata na desinfecção de água, já que a mesma apresenta propriedades antimicrobianas para um largo espectro de micro-organismos (ZHANG, 2012). O uso de materiais inorgânicos ou poliméricos como bactericidas supera o uso de materiais orgânicos por estes apresentarem melhor resposta frente ao calor, durabilidade, seletividade, toxicidade entre outras características (KIM, 2007).

Dentre os nanomateriais com propriedades antibacterianas, as nanopartículas de prata, por apresentarem elevada área superficial por volume, resultam numa aceleração da cinética de oxidação, aumentando a liberação de íons de prata, consequentemente, aumentando a eficiência da ação bactericida. Conforme reportado por Alizadeh (2013), diferentes estudos têm apresentado resultados da atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata em bactérias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhi*. Estes estudos sugerem que as nanopartículas de prata rompem a superfície da membrana celular e se difundem para o interior da bactéria.

Neste contexto, o uso da nanotecnologia no tratamento de água e de efluentes promove não somente a superação dos desafios enfrentados pelas tecnologias convencionais de tratamento, mas também possibilita o desenvolvimento de novas formas de tratamento, as quais permitam a utilização sustentável dos recursos hídricos, visando globalizar o abastecimento de água (THERON, 2008). Muitas estações de tratamento de água brasileiras encontram-se ou trabalhando acima de sua capacidade ou produzindo água com qualidade insatisfatória. Procurando suprir a demanda sempre crescente de água, mantendo sua qualidade, defronta-se com a escassez de recursos. A partir de tal constatação, faz-se necessário que se investiguem em laboratório novas tecnologias, que permitam estudar as inúmeras possibilidades de se obter água em quantidade mantendo a qualidade e custos baixos.

MATERIAIS E MÉTODOS

A síntese das nanopartículas de prata consiste basicamente na redução dos íons de prata provenientes de uma solução de de nitrato de prata (AgNO_3), seguido da estabilização das nanopartículas resultantes (PRAUS et al., 2009). As reações de síntese das nanopartículas de prata foram conduzidas em um reator de boro-silicato com

capacidade de 200 ml, operando em regime semi-contínuo e sob condições de temperatura e agitação controladas.

De acordo com o procedimento adotado, o reator é inicialmente preenchido com 180 ml de água deionizada e, em seguida, são dosados o sal do metal precursor (nitrato de prata) e o agente estabilizante. Após a completa dissolução do sal metálico e mistura com a agente estabilizante, 20 ml de uma solução aquosa gelada contendo o agente redutor é adicionado ao meio reacional com vazão controlada por uma bureta. Ao término da dosagem do agente redutor, o sistema é mantido sob frequência de agitação de 600 min^{-1} , 20°C por 10 minutos para garantir o término da reação.

Na etapa seguinte sílica em pó é adicionada à dispersão coloidal de prata metálica e a suspensão originada é mantida sob agitação por 30 minutos. Após a agitação, o sistema é mantido em repouso para sedimentação das partículas de sílica funcionalizadas com as nanopartículas de prata. Esta sílica é então separada do sobrenadante mediante o uso de um funil de separação e, posteriormente, submetida a um processo de secagem à 50°C por 48 horas. O pó resultante de coloração amarronzada, conforme mostrado na Figura 1, foi utilizado como aditivo antibacteriano incorporado na matriz de poliamida 66 para produção dos *pellets* que foram usados na desinfecção da água



Figura 1 – AgNPs obtido após a etapa de moagem.

O sistema de incorporação do pó com AgNPs na poliamida 66 como substrato foi realizada em uma extrusora da marca Cristal Master Modelo GR 001 (Figura 2) a uma temperatura de 250°C e velocidade de dosagem de $12,60 \text{ min}^{-1}$. Na etapa final os filamentos de Poliamida incorporados com AgNPs foram inseridos em um granulador da marca SAGEC Modelo S650/2 e *pellets* funcionalizados com aproximadamente 1 cm^2 de área e 2,5 g cada e concentrações de 0,05%, 0,10% e 0,50% foram obtidos.



Figura 2 – Extrusora empregada na obtenção de AgNPs incorporadas na poliamida.



Após a obtenção dos pellets, os mesmos foram submetidos a ensaios microbiológicos. Optou-se em usar a bactéria *E.coli* como bioindicador de contaminação fecal testando a quantidade da mesma por meio do teste dos tubos múltiplos sugerido pelo manual de procedimentos ASTM E-2149.

Primeiramente foi preparada uma solução aquosa destilada e deionizada, e como inóculo foi utilizado *E. coli* em meio de cultura própria sob agitação por um período de 24 horas. Essa solução foi submetida a uma diluição 10 ml de água destilada e esterilizada a qual foi inoculada 1 ml de solução concentrada de *E.coli*, por meio de 5 diluições sucessivas. Presume-se que a técnica permite simular uma demanda de concentração de bactérias em meio aquoso próxima às encontradas em águas para consumo sem tratamento prévio com alta concentração de contaminação fecal.

O teste de eficiência microbiana dos pellets foi avaliado primeiramente de maneira qualitativa e posteriormente quantitativa.

Primeiramente, uma solução inóculo de 1 ml de solução aquosa de *E.coli* com nanopartículas de prata funcionalizadas por um tempo de residência de 3 horas, foram despejados em uma placa de petri com meio de cultura próprio para o crescimento de bactérias do grupo das *E.coli*. Em outra placa com o mesmo meio, foi inoculado uma amostra branco, contendo apenas 1 ml de solução aquosa da bactéria em questão. O teste foi realizado em duplicata e após inoculação, as mostras foram incubadas por 24 horas a 35C. A verificação do crescimento bacteriano na placa contendo apenas a amostra branco foi muito maior que a placa com AgNPs na qual não houve crescimento bacteriano algum. A Tabela 1 a seguir mostra o resultado obtido.

Tabela 1- Comparação entre placas

Amostra Branco após 24 horas		Amostra com AgNPs após 24 horas	
			

Verificou-se pela técnica que não há presença de *E.coli* no meio com nanopartículas de prata. Procedeu-se o ensaio de quantificação da eficiência do mesmo por meio da inserção de 20 g de *pellets* funcionalizados com AgNPs em 100 ml de água deionizada e esterilizada. Nesta mistura adicionou-se 1 ml de solução aquosa diluída de *E.coli* e posteriormente a mistura foi submetida a agitação constante por um tempo de residência de 3 horas. Este procedimento foi realizado em duplicata para cada uma das concentrações de prata estudadas: 0,05%, 0,10% e 0,50%.

Os ensaios microbiológicos referentes à potabilidade da água foram realizados via Técnica em Fermentação de Tubos Múltiplos (TFTM). Conforme referenciado por Apha (1998), nesta técnica, após homogeneização, alíquotas e ou diluições do produto a ser analisado são transferidas para tubos de ensaios contendo o meio de cultura apropriado e um tubo coletor de gás (tubo de Durham). Todos os tubos são incubados, e, em seguida, os positivos são identificados. Posteriormente, as amostras que apresentarem resultado positivo quanto a presença de coliformes, são submetidas a 5 diluições e subdivididas em 5 grupos de 5 tubos de ensaio.

Após o intervalo de 24 horas, esses tubos com as respectivas diluições, são submetidos à luz ultravioleta para identificar aqueles com luminescência azul, indicando a presença de *E.coli*. Na Figura 4 é apresentada uma comparação de coloração entre tubos. O tubo situado à direita, com coloração verde, indica que não há presença de *E.coli* enquanto que o da esquerda com coloração azul indica a presença de *E.coli*.

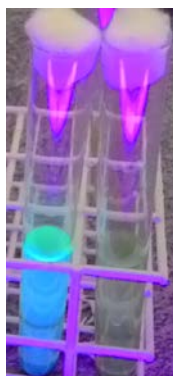


Figura 4 - Luminescência azulada indicando a presença de *E.coli*.

A técnica ICP-MS (Espectroscopia de massa atômica de plasma acoplado indutivamente) foi selecionada para quantificar a concentração de íons de prata lixiviados dos *pellets* de poliamida com AgNPs após 3 horas de contato com as amostras de água contaminadas com *E. coli*. O teste de lixiviação de prata foi realizado pelo Laboratório Beckauser e Barros (LABB) da cidade de Blumenau/SC. As amostras com 0,05%, 0,10% e 0,50% foram preparadas para a determinação de Ag^+ com a adição de Ródio como padrão interno na concentração de 5 $\mu g/L$ e de HNO_3 na proporção 1% v/v. A mesma metodologia foi empregada para as soluções de calibração e para o branco. Utilizou-se a nebulização pneumática e gás argônio 99,996%.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

Os resultados apresentados na Tabela 2 abaixo representam os testes quantitativos da presença de *E. Coli* relativo aos ensaios com tempo de residência de 3 horas nas condições de temperatura ambiente e 35°C com os *pellets* funcionalizados com 0,05% AgNPs. A temperatura de 35°C foi escolhida, visto que é a temperatura ótima para crescimento bacteriológico em meio de cultura para a *E.coli*.

Os testes microbiológicos foram realizados apenas com os *pellets* na concentração de 0,05% em função dos resultados de ICP, indicam uma lixiviação de prata das amostras com 0,10 e 0,50% de AgNPs acima da permitida pela legislação. Todos os ensaios foram realizados em duplicata e os resultados a seguir são a média aritmética dos resultados obtido em laboratório.

Tabela 2 – Ensaios microbiológicos de *E. Coli* em água artificialmente contaminada de acordo com a norma ASTM E-2149 - % da média de redução em UFC/100mL.

	Branco com agitação por 3 horas a temperatura ambiente	Branco com agitação por 3 horas a 35°C	0,05 % com agitação por 3 horas a temperatura ambiente	0,05 % com agitação por 3 horas a 35°C
UFC/100ml	30000	50000	900	900

Os resultados apresentados na Tabela 1 sugerem uma eficiência de 97% de declínio bacteriano de *E.coli* nas condições de agitação a temperatura ambiente e nas condições de agitação a 35°C, uma eficiência de 98,2 %. Vale ressaltar que os valores obtidos não enquadram a amostra nos padrões de potabilidade, porém em amostras com um menor valor inicial deste indicador pode ocorrer a possibilidade de se alcançar o índice de 0 UFC/100 ml, tornando assim a água própria para consumo de acordo com a portaria 2914/11 do Ministério da Saúde. Exemplo de métodos de remoção de *E.coli*, com índices satisfatórios, porém não suficientes para o padrão de potabilidade, é apresentado por ANDRIOTTI. C et al, 2004. Em estudos de sistemas de desinfecção convencionais, com uso de decantadores e filtros de areia, o índice de remoção deste indicador atingiu valores de 96%, porém também não alcançando a eficiência exigida pela norma.

Os resultados apresentados Tabela 3 representam a lixiviação da prata referentes aos ensaios realizados de Espectroscopia de Massa Atômica com Plasma Induzido (ICP-MS). Foram empregadas diferentes

concentrações de *pellets* funcionalizados de AgNPs aderidas nos substratos de Poliamida (PA) 66 nas seguintes concentrações: 0,05%, 0,10% e 0,50%.

Tabela 3- Resultados provenientes de lixiviação da prata via técnica de ICP-MS.

Tempo de residência 3 h	Concentração de prata na água (mg/L)
0,05%	< 0,010
0,10%	< 0,010
0,50%	0,052
Branco	- x -

Os resultados apresentados na Tabela 3 representam a lixiviação de prata proveniente dos *pellets* de poliamida para a água durante os ensaios com tempo de residência de 3 horas. Comparando-se as concentrações das AgNPs empregadas, os *pellets* com 0,50% e 0,10% apresentam valores de concentração de lixiviação maiores da prata para a água em teste. Somente os *pellets* em concentração de 0,05% apontaram valores mínimos de lixiviação de prata abaixo do permitido pela legislação e, por esta razão, foram utilizados nos testes microbiológicos.

Liu e Hurt (2010) relataram a liberação iônica da prata na água em testes com formulação de 0,10% de prata, justificados pela sua elevada força iônica e solubilidade. Testes sub-agudos de toxicidade mostraram que ratos toleraram doses de 1000 mg.kg-1 de Ag-NPs sem alterações significativas no peso corporal, porém houve aumento da fosfatase alcalina e dos níveis de colesterol com doses acima de 300 mg.Kg-1, o que indica alterações funcionais do tecido hepático (KIM et al., 2008)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIZADEH, H.; SALOUTI, M.; Shapouri, R.; Bactericidal effect of silver nanoparticles on intramacrophage *Brucella abortus* 544. Jundishapur J Microbiol., p 1-5, 2014.
- AMARAL, L.A, et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. Revista de Saúde Pública. São Paulo, v.37, n.4, 2003.
- AMSON, Gisele Van; HARACEMIV, Sônia Maria Chaves; MASSON, Maria Lucia. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no estado do Paraná Brasil, no período de 1978 a 2000. In: Ciênc. agrotec., Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, nov./dez., 2001.
- ANDRIOTTI, C et al. Avaliação da eficiência do tratamento de água na ETA José Loureiro da Silva, através de parametros bacteriologicos. 2004
- APHA (AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION). Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th ed. Washington, D.C., 2012. p. 9-70.
- ASTM E 2149 – 01. Standard test method for determining the antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions. 2001.
- BRASIL, PORTARIA MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução 2914. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. 2011.
- CALLISTO, M.; GONÇALVES Jr., J.F.; MORENO, P. Invertebrados aquáticos como bioindicadores. In: GOULART, E.M.A. (Org.) Navegando o Rio das Velhas das Minas aos Gerais: Proj. Manuelzão. Belo Horizonte: Coopmed, p. 555-567, 2005.
- KIM, J. S. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. In: Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine, v. 3, p.95-101, 2007
- KIM, Y. S.; Song, M. Y.; Park, J. D. Subchronic oral toxicity of silver nanoparticles, Particle and Fibre Toxicology, v.7, p.20, 2010.
- LIU, J., HURT, R. H. (2010).“ Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids.” Environmental Science Technology. V. 44, p. 2169–2175, 2010.
- ONU (Organização das Nações Unidas). Ações conjuntas do sistema das Nações Unidas no Brasil. Disponível em: <http://www.onu-brasil.org.br.org>. Acesso em: 27 de março 2015.

13. POPE, M.L.; et al. Assessment of the Effects of Holding Time and Temperature on Escherichia coli Densities in Surface Water Samples. Appl Environ Microbiol. October; 69(10): 6201-6207, 2003.
14. PRAUS, P.; TURICOVÁ, M.; KLEMENTOVÁ, M.; Preparation of silver-montmorillonite nanocomposites by reduction with formaldehyde and borohydride. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 20, n. 7, p. 1351-1357, 2009.
15. QU, X.; ALVAREZ, P. J. J.; LI, Q. Water Research, v. 47, n. 12, Aug 2013, p. 3931-3946, 2013.
16. SEEMAN, N.C DNA Nanotechnology. Materials Today. Jan. 2003, p.24-29.
17. THERON, J, WALKER, A, CLOETE, T. Nanotechnology and Water treatment: applications and emerging opportunities. Critical reviews in Microbiology, Vol. 34, n°1, p.43-69. 2008.
18. VOROSMARTY et al. 2000 Global water resources: vulnerability from climate change and population growth. Science 289:284–288
19. YEHIA, H. N.; Draper, R. K.; Mikoryak, C.; Walker, E. K.; Baja, P.; Musselman, I. H.; Daigrepoint, M. C.; Dieckmann, G. R.; Pantano, P.; J. Nanobiotechnol. P. 5-8, 2007.
20. ZHANG, H.; CRAVER, V. O.; ASCE, A.M.; Evaluation of the disinfectant performance of silver nanoparticles in diferente water chemistry conditions. Journal of Environmental Engineering, p.58-65, 2012.