

I-131 - DESINFECÇÃO MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA EMPREGANDO NANOPARTÍCULAS DE PRATA IMPREGNADAS EM ESFERAS DE SÍLICA

Luciano André Deitos Koslowski⁽¹⁾

Engenheiro Químico pela Universidade Regional de Blumenau- FURB, Mestre em Química pela Universidade Regional de Blumenau-FURB. Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Docente do Centro de Educação do Alto Vale do Itajaí-CEAVI, Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC.

Ana Flavia Costa⁽²⁾

Graduada de Engenharia Sanitária pelo Centro de Educação do Alto Vale do Itajaí-CEAVI, Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC.

André Lourenço Nogueira⁽³⁾

Engenheiro Químico pela Universidade Federal de Santa Catarina- UFSC, Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina –UFSC. Pesquisador do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos da Universidade da Região de Joinville-Univille.

Aline Scheller Coan⁽⁴⁾

Graduada em Engenharia Ambiental pela Universidade da Região de Joinville- Univille. Mestre em Engenharia de Processos pela Universidade da Região de Joinville-Univille. Pesquisadora do Laboratório de Meio Ambiente Universidade da Região de Joinville- Univille.

Silvana Licodiedoff⁽⁵⁾

Engenheira de Alimentos pela Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões-URI. Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná-UFPR Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Paraná-UFPR

Endereço⁽¹⁾: Rua Getúlio Vargas, 2822 – Bela Vista – Ibirama – SC- CEP: 89.217-365 - Brasil - Tel: (47) 3357-8484 - e-mail: luciano.koslowski@udesc.br

RESUMO

O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a eficiência de desinfecção da água empregando nanopartículas de prata funcionalizadas (AgNPs), em percentual de 0.010% em massa, empregando como material suporte sílica, cuja eficiência foi avaliada por meio de decaimento bacteriano considerando o tempo de residência de 3h. o tempo de residência de 3 horas. A quantificação de *E.coli* foi baseada no modelo de contagem do Número Mais Provável (NMP) preconizada no American Public Health Association Standard Methods. Os resultados evidenciam que após 24 horas de incubação, as amostras com 0,5% de AgNPs, sob agitação à temperatura ambiente (25°C), apresentou uma eficiência correspondente a 100% de ação antibacteriana e na condição de repouso 98,91%, de eficiência. Posteriormente, foi realizada a quantificação de íons prata lixiviada da matriz (sílica) para a água no período de 3 horas. O melhor resultado consistiu na aplicação de 0.010% de AgNPs na sílica, lixiviando uma quantidade equivalente a uma concentração média de íons prata de 0.047 mg L⁻¹, 0,107 mg L⁻¹ para 0,10% de AgNPs e 0,154 mg L⁻¹ para 0,50% de AgNPs. .

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas de prata, sílica, desinfecção microbiológica, lixiviação.

INTRODUÇÃO

A importância da preservação dos recursos hídricos tem resultado na aplicação de tecnologias, tais como o uso de materiais nanoestruturados, para minimizar o impacto associado à contaminação da água. A Organização Mundial de Saúde estima que mais de 5 milhões de pessoas venham a óbito por ano, por doenças relacionadas ao consumo de água não potável. Os números incluem 3 milhões de crianças que morrem de doenças decorrentes da diarreia, transmissíveis pela água (Furriela, 2001). Nos últimos anos, intensas pesquisas foram realizadas com o uso da prata no processo de desinfecção de água, cujo objetivo principal tem sido a sua aplicação em processos convencionais de tratamento de água (Zhang, 2012). De acordo com Alizadeh (2013), tem-se realizado diversos estudos em termos de atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata como

agente antibacteriano, especificamente em bactérias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhi*. De forma geral, vislumbra-se a aplicação destas nanoestruturas no processo de desinfecção de água potável para consumo humano (Polte et al., 2012). No entanto, existem algumas hipóteses não conclusivas sobre o mecanismo de ação, sendo necessário avaliar que a prata pode apresentar uma ação sinérgica e não um só modo de atuação na atividade antibacteriana (Mohanty et al., 2011). O presente estudo teve por finalidade produzir nanopartículas funcionais de prata impregnadas em matrizes funcionalizadas de sílica, com o propósito de avaliar a atividade antimicrobiana dos mesmos sobre os microrganismos, especificamente a bactéria *E.coli*, organismo indicador de contaminação fecal.

OBJETIVO

- a) Avaliar a desinfecção microbiológica da água empregando nanopartículas de prata impregnadas em matrizes funcionalizadas de sílica;
- b) Comparar os testes de lixiviação da prata na água empregando diferentes concentrações de prata impregnadas em matrizes funcionalizadas de sílica.

METODOLOGIA UTILIZADA

Obtenção das nanopartículas (AgNPs)

A síntese das nanopartículas de prata foi conduzida empregando-se nitrato de prata (Cennabras, Brasil) como sal metálico precursor, borohidreto de sódio (NaBH_4 , Cinética) como agente redutor e funcionalizante da dispersão de prata coloidal com o intuito de se obter partículas de tamanho reduzido. As reações de síntese das nanopartículas de prata foram realizadas em um reator de boro-silicato com volume útil de 200 ml, operando em regime semi-contínuo sob condições de temperatura (20°C) e agitação magnética controlada (600 RPM). O procedimento foi realizado com a introdução no interior do reator de 180 ml de água deionizada e, em seguida, adicionou-se o sal do metal precursor e o agente estabilizante. Durante a síntese das nanopartículas de prata pelo método da redução química, a concentração de íons prata atinge um nível de supersaturação, com a formação de pequenos *clusters* dando origem aos nanocristais de prata. Após a completa dissolução do sal metálico e mistura com a agente estabilizante, adicionou-se ao meio reacional, 20 ml de uma solução aquosa gelada contendo o agente redutor, borohidreto de sódio, com vazão controlada por meio de uma bureta. Fez-se uso de uma concentração mássica de $0,84 \text{ g L}^{-1}$ de material ativo da cera de silicone contendo grupos funcionais amina com o intuito de estabilizar e funcionalizar as nanopartículas de prata produzidas. Ao término da dosagem do agente redutor, manteve-se o sistema sob agitação por 10 minutos para garantir o término da reação.

Na etapa seguinte à síntese das nanopartículas de prata funcionalizadas com moléculas de aminosilano, a sílica em pó foi adicionada à dispersão coloidal no reator, e manteve-se a suspensão originada sob agitação de 600 RPM pelo período de 30 minutos a fim de possibilitar a adsorção dos colóides de prata na superfície da sílica. Posteriormente, à separação dos sólidos sedimentados do sobrenadante, os mesmos foram submetidos a um processo de secagem em estufa a temperatura de 50°C por 48 horas. A Figura 1, apresenta o material (sílica/AgNPs) obtido no processo.



Figura 1 – Material suporte (sílica) impregnado com AgNPs.

2.2 Ensaios microbiológicos

Os testes de avaliação da atividade antibacteriana das nanopartículas de prata foram realizados com base na norma ASTM E2149. A bactéria *Escherichia coli* foi selecionada para os ensaios pelo fato desta bactéria estar diretamente relacionada com problemas de saúde gerados consumo de água contaminada. Para quantificação dos coliformes totais e *Escherichia coli* foi utilizado o sistema Quanti-Tray, com meio de cultura Colilert, e

seladora Quanti-Tray(IDEXX). A metodologia de quantificação da eficiência dos pellets funcionalizados consistiu da inserção de 0,5 g de pellets em 100 ml de água deionizada e esterilizada. Nesta mistura adicionou-se 1 ml de solução aquosa diluída de *E.coli* e submeteu-se, em seguida, a mistura às diferentes condições de teste para as temperaturas de 25 e 35°C.

2.3 Ensaios de lixiviação via ICP-MS

A técnica de ICP-MS (Optima 8300 Perkin-Elmer) foi selecionada para quantificar a concentração de íons prata lixiviados do suporte de sílica após 3,0-h de contato com as amostras de água contaminadas com o bioindicador *E. coli*. Os ensaios para a quantificação da prata foram realizados empregando as soluções utilizadas nos ensaios microbiológicos na presença das nanopartículas de prata empregando metodologia do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, (22º ed.), método SMEWW - 3120 B e SMEWW-3030 E. As amostras com 0,05%, 0,10% e 0,50% de AgNps foram preparadas para a determinação de íon Ag+ com a adição de Ródio como padrão interno na concentração de 5 µg L⁻¹ e HNO₃ 1% (v/v). A mesma metodologia foi empregada para as soluções de calibração e branco. Em seguida, realizou-se a nebulização pneumática com gás argônio (99,99 % pureza), evitando assim a presença de interferentes nos ensaios.

RESULTADOS OBTIDOS

As análises para determinação da atividade antibacteriana foram realizadas de acordo com as recomendações da norma ASTM-2149, a fim de se obter o percentual de redução do número de células e quantificar o potencial bactericida das nanopartículas de prata em estudo conforme Equação 1.

$$\text{Redução \%} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} \right) = \frac{B-A}{B} \times 100$$

(1)

Sendo:

A: UFC/mL na amostra contendo o agente antibacteriano;

B: UFC/mL na amostra isenta do agente antibacteriano.

A análise dos resultados sumarizadas na Tabela 1 indica que independente da condição de repouso ou agitação, os resultados comprovam a redução do crescimento bacteriano, de forma acentuada para a condição de tempo de residência de 3 horas e temperatura de 35°C.

Tabela 1. Redução antibacteriana empregando AgNPs/sílica para temperaturas de (25°C), e (35°C), tempos de residências de 1,2 e 3h, na condição de repouso e agitação.

Condição	Temperatura (°C)	Tempo de residência (horas)		
		1	2	3
Agitação	25°C	83,39 %	97,42 %	100 %
	35°C	91,34 %	94,43 %	100 %
Sem Agitação	25°C	91,68 %	92,93 %	98,91 %
	35°C	91,67 %	99,07 %	100 %

Fonte: elaborado pelos autores.

A Tabela 2 sumariza os resultados estatísticos (Coeficiente de Person) para as seguintes variáveis: agitação e temperatura.

Tabela 2. Resultados estatísticos com a correlação de Pearson considerando os efeitos de temperatura e agitação.

Condição	Temperatura (°C)	Função	Coefficiente de Pearson R ²
Com agitação	25°C	$y = 15,671\ln(x) + 84,244$	0,9486
	35°C	$y = 86,946e^{0,0453x}$	0,9771
Sem agitação	25°C	$y = 87,55e^{0,038x}$	0,8788
	35°C	$y = 7,9154\ln(x) + 92,186$	0,9281

A Tabela 3 sumariza os resultados obtidos com os testes de lixiviação de íons prata na água realizadas em triplicata (n=3), para um tempo de desinfecção de 3 h, aplicando concentrações de 0,010%, 0,10% e 0,50% de AgNPs, com concentração média de sílica, lixiviando uma quantidade equivalente a uma concentração média de íons prata de 0,047 mg L⁻¹, 0,107 mg L⁻¹ e 0,154 mg L⁻¹ respectivamente.

Tabela 3. Dados relativos à média e desvio padrão do teste (n=3) de lixiviação de íons prata para solução aquosa via técnica ICP-MS.

% AgNPs/Sílica	Média (mg L ⁻¹) - desvio padrão	(VMP) ¹ (mg L ⁻¹)
0,010%	0,047 ± 0,007	0,010
0,10%	0,107 ± 0,013	0,010
0,50%)	0,154 ± 0,025	0,010

Fonte: Elaborado pelos autores, 2018.

⁽¹⁾ Valor Máximo Permitido Portaria MS 2914/2011.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

Os resultados evidenciam a elevada eficiência bacteriana do agente antibacteriano sintetizado e incorporado na sílica. Portanto, variáveis como o tipo e concentração dos reagentes (sal precursor e agente redutor) e dos estabilizantes, pH e temperatura, representam importante parâmetro no controle do tamanho das partículas e de sua morfologia (Nogueira et al., 2014; Kraehnert et al., 2012). Neste sentido, o óxido de prata sintetizado e empregado nestes ensaios, seja pela elevada relação área superficial-volume, que promove efeito bactericida capaz de danificar a membrana celular bacteriana (Liu, 2010). Franci et al., 2015, sugerem que as nanopartículas de prata estabelecem interações bioquímicas e biofísicas com a proteína e o ácido nucléico por meio de ligações covalentes e interações eletrostáticas. Os resultados obtidos nas análises microbiológicas explicitam que, em ambas as condições (com agitação e sem agitação), resultam em ação bactericida relevante (Tan et al., 2015).

O teste estatístico indica que a desinfecção microbiológica sob agitação constitui importante influência concomitante ao efeito do aumento do tempo de contato. Neste sentido, as esferas de sílica demonstraram excelente funcionalidade no que tange a adesão das AgNPs na dispersão coloidal, sendo capazes de funcionalizar as nanopartículas de prata via ligação química.

Os testes de lixiviação indicam que as nanopartículas de prata foram efetivas na redução dos micro-organismos. Entretanto, foi observada lixiviação de prata do substrato para a água na ordem de (40%), muito acima do permitido para fins potáveis, sendo necessário o ajuste da concentração de nas esferas de sílica.

CONCLUSÕES

O estudo realizado evidencia resultado promissor relativo à incorporação de nanopartículas de prata empregando como matriz de adesão das AgNPs esferas de sílica. Portanto, ressalta-se que as esferas de sílica apresentaram eficiência (100%) em termos de ação antibacteriana, sendo possível obter uma inibição completa de crescimento de E. coli. As condições de agitação e temperatura de 35°C mostraram-se determinantes para

uma melhor eficiência antibacteriana, pois os produtos catalisados pelos íons prata efetivamente funcionalizados estabelecem ligações químicas com o enxofre e o fósforo presentes no DNA, impedindo a divisão celular e determinando a letalidade da bactéria. Entretanto estudos devem ser aprofundados no que tange a lixiviação de íons prata na água, já que todos os testes utilizados na incorporação % (AgNPs/sílica) apresentaram concentrações superiores em relação a potabilidade da água preconizada pela Portaria 2914/2011.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALIZADEH, H.; SALOUTI, M.; Shapouri, R. 2014.; Bactericidal effect of silver nanoparticles on intramacrophage *Brucella abortus* 544. *Jundishapur J Microbiol.*, p 1-5.
2. APHA – American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22.ed. Washington: American Public Health Association, 2012. 1496p.
3. ASTM E 2149 – 01. 2001. Standard test method for determining the antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. 2011.
5. FRANCI, G.; FALANGA, A.; GALDIERO, S.; PALOMBA, L.; RAI, M.; MORELLI, G.; GALDIERO, M. Silver nanoparticles as potential antibacterial agents. *Molecules*, v. 20, n. 5, p. 8856-8874, 2015.
6. FURRIELA, RACHEL BIDERMAN. "Educação para o consumo sustentável." Ciclo de Palestras sobre Meio Ambiente. MEC/SEF/COEA (2001): 47-55.
7. LIU, J., HURT, R. H. 2010. "Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids." *Environmental Science Technology*. 44: 2169–2175
8. MOHANTY, S.; MISHRA, S.; JENA, P.; JACOB, B.; SARKAR, B.; SONAWANE, A. An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 8, p. 916-924, 2012.
9. NOGUEIRA, A. L.; MACHADO, R. A.; DE SOUZA, A. Z.; MARTINELLO, F., FRANCO, C. V., DUTRA, G. B. Synthesis and characterization of silver nanoparticles produced with a bifunctional stabilizing agent. *Ind. Eng. Chem. Research*. v. 53, p. 3426-3434, 2014.
10. POLTE, J.; TUAEV, X.; WUITHSCHICK, M.; FISCHER, A.; TGUENEMANN, A. F; RADEMANN, K.; KRAEHNERT, R.; EMMERLING, F. Formation mechanism of colloidal silver nanoparticles: analogies and differences to the growth of gold nanoparticles. *Acs Nano*, v. 6, n. 7, p. 5791-5802, 2012.
11. TAN, Z. Q.; LIU, J. F.; GUO, X. R.; YIN, Y. G.; BYEON, S. K.; MOON, M. H.; JIANG, G. B. Toward full spectrum speciation of silver nanoparticles and ionic silver by on-line coupling of hollow fiber flow field-flow fractionation and minicolumn concentration with multiple detectors. *Anal. Chem*, v. 87, n.16, p. 8441-8447, 2015.