



Desinfecção de água para consumo com Nanopartículas de prata suportada em poliamida 66

Lorena Fernanda Altava Cara¹, Adrieny Taliny Comper², Cristiane Gracieli Kloth³, Emerson Souza⁴, Luciano André Deitos Koslowski⁵

¹Universidade do Estado de Santa Catarina/ UDESC/CEAVI (lorena.cara@outlook.com)

²Universidade do Estado de Santa Catarina/ UDESC/CEAVI (adri.comper@hotmail.com)

³Universidade do Estado de Santa Catarina/ UDESC/CEAVI (cristianekloth@hotmail.com)

⁴Universidade do Estado de Santa Catarina/ UDESC/CEAVI (emeersons@hotmail.com)

⁵Universidade do Estado de Santa Catarina/ UDESC/CEAVI (lucianoandre@yahoo.com)

Resumo

No decorrer dos últimos anos, intensas pesquisas foram realizadas com a utilização de prata na desinfecção de água, cujo objetivo principal tem sido aprimorar processos convencionais de tratamento de água. Diferentes estudos têm apresentado resultados da atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata em bactérias como *Escherichia coli*, no entanto, íons prata têm sua utilização antimicrobiana limitada devido à sua elevada toxicidade e baixa estabilidade. Neste trabalho, foi avaliada a eficiência na desinfecção da água empregando nanopartículas de prata funcionalizadas (AgNPs) em percentual de 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 ASTM 9222-D, 2001, avaliando as análises microbiológicas de coliformes fecais, especificamente a *E.coli*. Observou-se que após 24 horas de incubação, as amostras com 0,5% de AgNPs, sob agitação à temperatura ambiente (25°C) e 35°C, apresentaram respectivamente 97,24% e 100% de ação antibacteriana e em repouso 81,65%, e 100% para as mesmas temperaturas 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.

Área Temática: Tema 14 – Tecnologias Ambientais.

Analysis of drinking water derived from water springs in Imbuia SC Brazil

Abstract

Several research works have been undertaken with silver for the disinfection of water so that conventional processes in water treatment would be improved. Many studies have shown antimicrobial activity of silver nanoparticles on bacteria, such as *Escherichia coli*, even though silver ions have limited antimicrobial use due to high toxicity and low stability. The



efficiency of water disinfection was evaluated when functionalized silver nanoparticles (AgNPs) at a 0.50% of mass in polymer matrix (polyamide 66) were employed at a residence time of 3 hours. Methodology recommended by ASTM 9222-D (2001) was used in the assays by evaluating microbiological analyses of fecal coliforms, especially *E. coli*. After a 24-h incubation, samples with 0.5% AgNPs, by stirring, at room temperature (25°C) and 35°C, revealed respectively 97.24% and 100% of antibacterial activity and 81.65% and 100%, at rest, for the same temperatures when the CFU index per 100 mL was compared to control. Functionalized pellets underwent leaching assays to evaluate the migration rate of silver to water, employing Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). Concentrations 0.05% and 0.10% of AgNPs in the polymer matrix revealed detection rates which were lower than the limit by Conama 357/2005 (0.010 mg/L for silver) and higher for 0.50% concentration (0.052 mg/L).

Key Words: Silver nanoparticles; disinfection; ICP-MS.

Theme Area:14 – Environmental Technologies

1 Introdução

O crescimento populacional e as atividades industriais estão diretamente associados à degradação ambiental da biosfera. A qualidade da água doce diminuiu acentuadamente nos últimos anos devido a ações antrópicas, principalmente ligadas ao descarte de esgotos, devido à presença de uma diversidade de microrganismos presentes na microbiota intestinal humana, como os membros da família Enterobacteriaceae que apresentam características patogênicas resultando em infecções no organismo humano[1].

Bioindicadores são espécies, nas quais a presença, quantidade e distribuição sugerem um impacto em potencial a um ecossistema aquático e sua bacia de drenagem, permitindo assim uma avaliação detalhada dos efeitos ecológicos causados por meio da poluição [2]. Para a análise da água, utiliza-se a bactéria *E.coli* como organismo indicador. A ciência da nanotecnologia tem despertado interesse significativo de linhas de pesquisa no âmbito das aplicações dos nanomateriais [3]. No decorrer dos últimos anos, intensas pesquisas foram realizadas com a utilização da prata na desinfecção de água, cujo objetivo principal tem sido a sua aplicação em processos convencionais de tratamento de água [1]. Conforme reportado por Alizadeh (2013) [2], diversos estudos têm sido realizados resultantes da atividade antimicrobiana das nanopartículas de prata em bactérias como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella typhi*.

No entanto, íons prata têm sua utilização antimicrobiana limitada devido à sua elevada toxicidade e baixa estabilidade. Estas limitações podem ser minimizadas utilizando-se nanopartículas de prata estáveis. Existem algumas hipóteses não conclusivas sobre o mecanismo de ação, sendo necessário avaliar a ação sinérgica no modo de atuação na atividade antibacteriana [4].

O controle rigoroso de variáveis, tais como pH do meio reacional, temperatura de calcinação e a dispersão das espécies químicas de interesse, é considerado crítico, especialmente quando se considera o controle do tamanho de partícula. Nesse contexto, tem-se investigado como os diferentes métodos de preparação dos catalisadores, a natureza do suporte e a interação metal-suporte afetam o tamanho e a forma das nanopartículas, visando a aumentar e estabilizar a atividade catalítica[5].

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 processos de baixo custo para a produção de AgNPs aplicadas na formulação de novos tipos de materiais bactericidas.

Metodologia

A síntese das nanopartículas de prata foi realizada empregando-se o nitrato de prata (Cennabras, Brasil) como sal metálico precursor, borohidreto de sódio (NaBH_4 , marca Cinética) como agente redutor e uma cera de silicone contendo grupos funcionais amina (Quimisa, 14% em massa de material ativo) como agente estabilizante e funcionalizante da dispersão de prata coloidal. Sílica em pó com granulometria de 5 μm (Grace Division) foi utilizado como suporte para imobilizar as nanopartículas de prata e permitir que as mesmas fossem incorporadas em pellets de poliamida 66 adquiridas à empresa Cristal Master.

As reações de síntese das nanopartículas de prata realizadas no presente estudo foram conduzidas em um reator de boro-silicato com capacidade de 200 ml, operando em regime semi-contínuo e sob condições de temperatura (20°C) e agitação controladas (600 RPM). De acordo com o procedimento adotado, inicialmente preencheu-se o reator com 180 ml de água deionizada e, posteriormente, adicionou-se o sal do metal precursor 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, borohidreto de sódio, foi adicionada ao meio reacional com vazão controlada por uma bureta. Uma concentração mássica de 0,84 g/L de material ativo da cera de silicone contendo grupos funcionais amina foi utilizada para 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 a suspensão originada foi mantida sob agitação de 600 RPM por 30 minutos para permitir a adsorção dos colóides de prata na superfície da sílica. Posteriormente à separação dos sólidos sedimentados do sobrenadante, os mesmos foram submetidos submetida a um processo de secagem em estufa à 50°C por 48 horas. Após a completa secagem da sílica funcionalizada, obteve-se um pó de coloração amarronzada, conforme mostrado na Figura 2, que foi posteriormente utilizado como aditivo antibacteriano para a produção dos nanocompósitos poliméricos usados na desinfecção da água.

Figura 1 - Pó de sílica contendo nanopartículas de prata obtido após a etapa de secagem.





A incorporação do pó de sílica funcionalizado com as nanopartículas de prata na poliamida 66 foi realizada em uma extrusora da marca Cristal Master Modelo GR 001 operando com uma temperatura de 250°C e velocidade de dosagem de 12,60 RPM. Os filamentos de poliamida contendo as nanopartículas de prata foram alimentados em um granulador da marca SAGEC Modelo S650/2 para a obtenção de pellets do nanocompósito e concentrações de 0,05% em massa da sílica funcionalizada com as nanopartículas de prata, conforme apresentado na Figura 2.

Figura 2 - Pellets do nanocompósito de poliamida 66 contendo 0,05 % em massa.



Os pellets poliméricos funcionalizados com as nanopartículas de prata foram submetidos a ensaios microbiológicos de caráter qualitativo utilizando-se a bactéria Gram negativa *E.coli* como bioindicador de contaminação fecal. Inicialmente, uma solução concentrada de *E.coli* foi preparada realizando-se 5 diluições sucessivas, nas quais um 1 ml de solução concentrada foi inserida em 9 ml de água estéril. Assumiu-se que o emprego desta técnica permitiu 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.

Na etapa seguinte, 1,0 ml de solução diluída de *E.coli*, com nanopartículas de prata funcionalizadas em concentração de 0,05%, foram mantidos sob agitação por 3 horas, e inoculados em uma placa de Petri com meio de cultura MacConkey, próprio para o crescimento bacteriano em questão. Em outra placa, com o mesmo meio de cultura, 1,0 ml da solução bacteriana, sem as nanopartículas de prata, denominada de “branco”, foi inoculada. O teste foi realizado em duplicata, e após inoculação, as amostras foram incubadas por 24 horas a 35°C e comparadas sob o parâmetro de crescimento de colônias.

Os ensaios microbiológicos quantitativos foram realizados empregando-se a Técnica em Fermentação de Tubos Múltiplos (TFTM). Conforme referenciado por Apha (1998) [10], nesta técnica, após homogeneização, alíquotas ou diluições do produto a ser analisado são transferidas para tubos de ensaios contendo um meio de cultura apropriado, e um tubo coletor de gás (tubo de Durham). Todos os tubos são incubados e, posteriormente, os positivos com relação ao crescimento bacteriano são identificados. Posteriormente, as amostras que apresentarem resultado positivo, devem ser submetidas a 5 diluições, e subdivididas em 5 grupos com 5 tubos de ensaio cada, contendo o meio de cultura próprio.

No presente estudo, os ensaios microbiológicos quantitativos por TFTM foram conduzidos utilizando-se a bactéria Gram negativa *E. coli*. Após o intervalo de 24 horas de incubação, os tubos com as respectivas diluições foram submetidos à luz ultravioleta para




identificar aqueles com luminescência azul e, conseqüentemente, aqueles com a presença de E.coli.

A técnica ICP-MS (Espectroscopia de massa atômica de plasma acoplado indutivamente) foi utilizada 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. Procedeu-se a preparação de 0,05% em massa de prata no substrato polimérico para a determinação de Ag⁺ com a adição de Ródio como padrão interno na concentração de 5 µg/L, e de HNO₃ na proporção 1% v/v. A mesma metodologia foi empregada para as soluções de calibração e para a amostra denominada “branco”. Utilizou-se a nebulização pneumática e gás argônio 99,996%.

3 Resultados

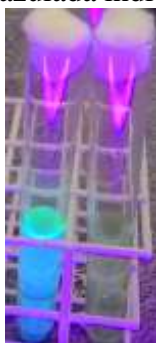
Em termos de resultados qualitativos, após o período de incubação, verificou-se um significativo crescimento bacteriano na placa contendo a amostra “branco”. A placa com a presença da solução tratada com nanopartículas de prata não apresentou crescimento bacteriano conforme a apresentado no Quadro 1:

Quadro 1 - Comparação entre placas.

Amostra Branco após 24 horas Amostra Branco após 24 horas	Amostra com AgNPs após 24 horas Amostra com AgNPs após 24 horas
	

Os resultados apresentados no Quadro 1 indicam que não ocorreu crescimento de colônias de bactérias tipo E.coli, no meio na presença de nanopartículas de prata. Por meio das análises quantitativas, conforme a Figura 3, realizou-se uma comparação de coloração nos tubos múltiplos. O tubo situado à direita, com coloração verde, indica que não há presença de E.coli enquanto que o da esquerda como coloração azul indica a presença de E.coli.

Figura 3 - Luminescência azulada indicando a presença de E.coli.





De acordo com os resultados obtidos calculou-se a média aritmética entre as duplicatas, das amostras branco em comparação com as amostras contendo AgNPs, sob as mesmas condições de temperatura, tempo de residência e agitação. Os resultados obtidos em termos de porcentagem de redução são apresentados no Quadro 2 a seguir.

Quadro 2 - Porcentagem de redução de E.coli das amostras sob mesmas condições de temperatura e tempo de residência sem e com agitação.

Temperatura	Sem agitação			Agitação		
	1 hora	2 horas	3 horas	1 hora	2 horas	3 horas
25°C	17,65%	33,33%	72,09%	20,00%	74,70%	86%
35°C	18,60%	51,43%	85,37%	21,42%	79,28%	90,85%

Como se pode observar no Quadro 2, uma temperatura mais elevada (35°C) sob condição de agitação, tempo de residência de 2 horas e 3 horas respectivamente, apresentou resultado mais significativo na redução de UFC/100ml. Esta redução pode ser relacionada ao aumento da temperatura que acelera o metabolismo e a reação antimicrobiana da nanopartículas de prata, rompendo rapidamente a membrana celular da bactéria em questão[6].

A baixa eficiência no processo de desinfecção para o tempo de detenção de 2 horas sugere que o agente antimicrobiano necessita de um tempo de detenção mais prolongado para garantir o processo de desinfecção da água. Os resultados na temperatura de 35°C apresentaram valores satisfatórios, comparativamente aos ensaios à temperatura de 25°C, visto que, dos fatores físicos que afetam o crescimento microbiano, a temperatura é um dos parâmetros mais significativos em termos de seleção das espécies [7]. Entretanto, as porcentagens de eficiência são inferiores nas amostras que não foram submetidas à agitação. Pode-se justificar que a prata metálica apresenta elevada área superficial por volume, relação que acelera a cinética de oxidação principalmente em agitação constante, aumentando a liberação de íons de prata potencializando a ação bactericida.

4 Conclusões

Os materiais nanoestruturados apresentam grandes promessas e oportunidades para uma nova geração de materiais com propriedades controladas e otimizadas, para diferentes aplicações, incluindo a catálise. Neste caso, se deseja alcançar atividades e seletividade perfeitas, similares àquelas das enzimas. Por meio dos ensaios de lixiviação pode-se utilizar um referencial padrão de concentração para as AgNPs sem efeitos tóxicos conforme a legislação vigente, CONAMA 357/2005, além de verificar que o suporte escolhido, a poliamida 66, não se mostrou adequado devido a migração da prata para a água. Assim como nos artigos base de referência, as nanopartículas de prata apresentaram relevante atividade antimicrobiana, principalmente para o tempo de residência de 3 horas sob condição de agitação e temperatura de 35°C.



5 Referências

- [1] ZHANG, H.; CRAVER, V. O.; ASCE, A.M. 2012; Evaluation of the disinfectant performance of silver nanoparticles in different water chemistry conditions. *Journal of Environmental Engineering*, p.58-65, 2012.
- [2] ALIZADEH, H.; SALOUTI, M.; Shapouri, R.; Bactericidal effect of silver nanoparticles on intramacrophage *Brucella abortus* 544. *Jundishapur J Microbiol.*, p 1-5, 2014.
- [3] ASTM E 2149 – 01. Standard test method for determining the antimicrobial activity of immobilized antimicrobial agents under dynamic contact conditions, 2001.
- [4] NASCIMENTO, S, F, V; ARAUJO, F, F, M. Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista de Ciências Ambientais-RCA*,7(1), 91-104, 2013.
- [5] ZHAO, Q. Q.; Boxman, A.; Chowdhry, U.; *Journal Nanoparticle Research*. V. 5, p.567-573, 2003.
- [6] SERRANO, M. I. P. Mineralização, absorção e lixiviação de nitrogênio em povoamentos de *Eucalyptus grandis* sob cultivo mínimo e intensivo do solo. 86f. Dissertação (Mestrado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba., 1997.
- [7] CHERNICHARO, C. A., FORESTI, E., SANTOS, M. D. L. F. D., & MONTEGGIA, L. O. Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng. Sanitária e Ambiental*. 12(2), p. 192-201, 2007.