



Nanocompósito de PHBV com montmorilonita e nanopartículas de prata para a desinfecção de efluentes industriais

Laricy Janaina Dias do Amaral¹, Janaina da Silva Crespo¹, Larissa Nardini Carli², Marcelo Giovanela¹

¹Universidade de Caxias do Sul (ljdamara@ucs.br), (jscrespo@ucs.br), (mgiovan1@ucs.br);

²Universidade Federal de Santa Catarina-Campus Blumenau, (larissa.carli@ufsc.br);

Resumo

A utilização de águas de reuso na indústria é uma solução para a escassez e contaminação dos recursos hídricos. Neste sentido, diferentes métodos vêm sendo estudados para a remoção dos micro-organismos presentes em efluentes industriais, dentre os quais se destaca o uso de nanopartículas de prata (AgNPs) como agente bactericida. Assim, este trabalho teve por objetivo preparar nanocompósitos bactericidas à base de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), com a adição de AgNPs dispersas em montmorilonita (MMT), para posterior utilização na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso. As AgNPs foram sintetizadas e inicialmente dispersas na argila, sendo em seguida dispersas no polímero durante o processamento em câmara de mistura. A fim de avaliar a ação bactericida do nanocompósito foi feito o ensaio de difusão em ágar utilizando dois tipos de micro-organismos (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), o que resultou na formação de um halo de inibição para ambas as bactérias. O potencial desse nanocompósito em atuar como agente bactericida com aplicação prática no tratamento de efluentes industriais para águas de reuso foi evidenciado pela taxa de redução de micro-organismos em aproximadamente 98%, sendo necessário um tempo de 60 min para atingir sua máxima atuação.

Palavras-chave: Nanocompósitos, Desinfecção, Efluente industrial.

Área Temática: Águas Residuárias.

PHBV nanocomposites with montmorillonite and silver nanoparticles for the disinfection of industrial wastewaters

Abstract

*The use of the reused waters in the industry is a solution to the scarcity and contamination of water resources. In this sense, different methods have been studied for the removal of microorganisms present in industrial wastewaters, among which stands out the use of silver nanoparticles (AgNPs) as bactericidal agent. Within this context, this study aimed to prepare antibacterial nanocomposites based on poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) (PHBV) with the addition AgNPs dispersed in montmorillonite (MMT) for the use in disinfection of industrial wastewaters for the reuse of water. The AgNPs were synthesized and initially dispersed in the clay, and then added in the polymer during processing in an internal mixer. In order to evaluate the bactericidal action of the nanocomposite, the agar diffusion test was performed using two types of microorganisms (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*), which resulted in the formation of a zone of inhibition for both bacteria. The potential of this nanocomposite to act as bactericidal agent with practical application in the treatment of industrial wastewaters for reuse of water has been evidenced by the rate of reduction of*



microorganisms in approximately 98%, requiring a time of 60 min to achieve its maximum performance.

Keywords: Nanocomposites, Disinfection, Industrial Wastewater.

Theme Area: Wastewaters.

1 Introdução

A crescente demanda por água, tanto em usos domésticos como industriais, faz com que seja necessário que muitas formas de economia e de reuso sejam estudadas. O desenvolvimento de novas tecnologias e materiais vem sendo mais do que nunca uma necessidade urgente. A cada dia, novas técnicas e novos materiais são estudados, mostrando que é possível a ciência contribuir de forma sustentável com a vida no planeta (MATSUMURA, 2008).

O desafio é encontrar soluções utilizando materiais que sejam provenientes de fontes renováveis, não poluentes e capazes de promover a adequação da água para reuso, sem que haja geração de uma quantidade adicional de resíduos. Um campo bastante promissor nesse contexto é o estudo da produção de materiais híbridos como, por exemplo, nanopartículas de prata (AgNPs) dispersas em argilas (VALÁSKOVÁ, 2010; ANTUNES, 2013). A propriedade bactericida da prata é conhecida há muitos anos e tem grande eficácia na área médica. A utilização da prata em tamanho nanométrico faz com que os materiais apresentem efeito bactericida sobre micro-organismos multirresistentes e altamente patogênicos (DURÁN, 2010).

Na composição de materiais híbridos, o uso de poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato) (PHBV), um polímero de fonte renovável e biodegradável, torna todo o ciclo do tratamento do efluente não poluente e sem oferecer risco à saúde. O PHBV tem processamento similar aos polímeros convencionais e é insolúvel em água, podendo ser removido do efluente após tratamento por um processo simples de separação, como peneiramento ou filtração.

2 Materiais e métodos

A preparação do nanocompósito teve início com a síntese das AgNPs, preparadas em meio aquoso pela redução química de uma solução de nitrato de prata por boroidreto de sódio, na presença de citrato de sódio, sob agitação, a 23 °C e ao abrigo da luz, em uma concentração de 100 mg L⁻¹. Essa etapa foi realizada com base no método descrito por Jana et al. (2001).

A montmorilonita (MMT) foi adicionada à solução contendo as AgNPs e mantida sob agitação magnética por 48 h, com posterior secagem à 60 °C em uma estufa com circulação de ar até atingir massa constante. Posteriormente, o material foi cominuído em almofariz.

O processamento do nanocompósito foi feito em câmara de mistura, com velocidade dos rotores de 90 rpm, a 180 °C. O compósito foi preparado usando PHBV previamente seco a 70 °C em estufa a vácuo. A composição do nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs foi de 95/5 (% em massa).

O nanocompósito foi moído em moinho de facas e o tamanho das partículas reduzido a valores inferiores a 5 mm. Em seguida, o material foi submetido a uma segunda moagem em moinho criogênico e o tamanho das partículas reduzido a valores inferiores a 0,595 mm.



A ação bactericida dos nanocompósitos foi testada sobre a inibição de crescimento de *Escherichia coli* (*E. coli*) (ATCC – 25922) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (ATCC – 25923). Os ensaios microbiológicos foram realizados em placas de Petri com ágar nutriente (HIMEDIA), em uma estufa bacteriológica, a 37 °C por 48 h (DURÁN et al., 2010).

A desinfecção do efluente industrial para reuso foi feito com a adição de 200 mg do nanocompósito em 100 mL de efluente e agitação de 150 rpm por 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240 e 360 min. O efluente tratado foi analisado de acordo com a Instrução Normativa do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003) para a contagem de coliformes totais e *E. coli*.

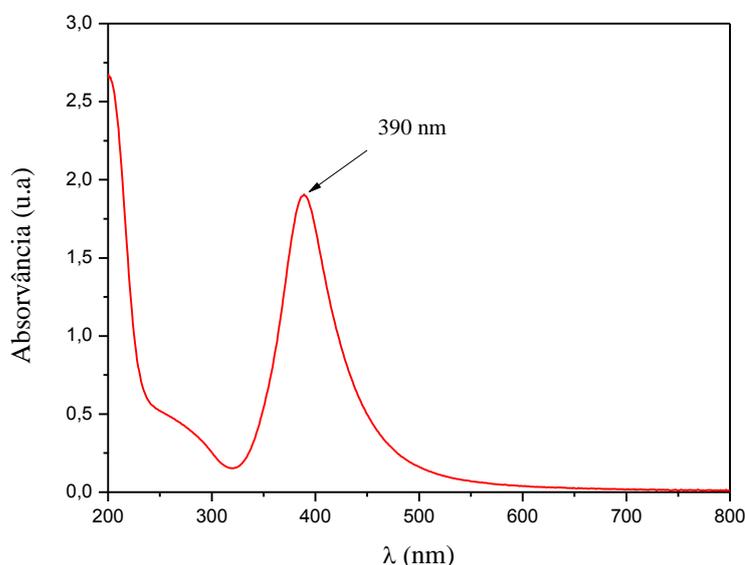
Após o tratamento do efluente, a quantidade de prata lixiviada foi determinada por espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), usando o método EPA 200.7.

A solução contendo as AgNPs foi caracterizada por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), e o nanocompósito por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG).

3 Resultados e Discussão

No espectro de UV-Vis da solução contendo as AgNPs foi observada apenas um comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) em aproximadamente 390 nm (Figura 1). Segundo a literatura, esses espectros fornecem informações importantes sobre o tamanho e geometria das partículas analisadas. Uma banda plasmônica bem definida em torno de 400 nm indica a presença de AgNPs com formato esférico (PINTO et al., 2010). Esse resultado é corroborado pela análise de MEV-FEG (Figuras 3(a) e (b)).

Figura 1: Espectro de UV-Vis da solução contendo as AgNPs em concentração de 100 mg L⁻¹.

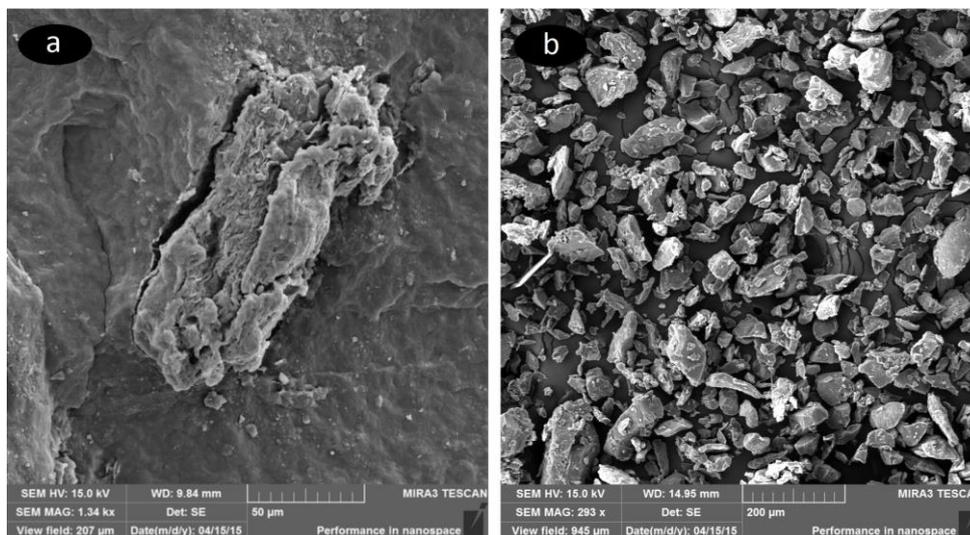


A morfologia do nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs foi estudada a fim de investigar a dispersão da argila na matriz polimérica, visando relacioná-la com a ação das AgNPs sobre os micro-organismos. Na Figura 2(a) é possível observar uma pobre dispersão da argila na matriz polimérica.

A argila foi adicionada com o intuito de servir como um suporte às AgNPs na matriz polimérica. Dessa forma, foi realizada a moagem criogênica do material, visando promover a exposição da argila e das AgNPs. A Figura 2(b) mostra a morfologia do material resultante da moagem criogênica.

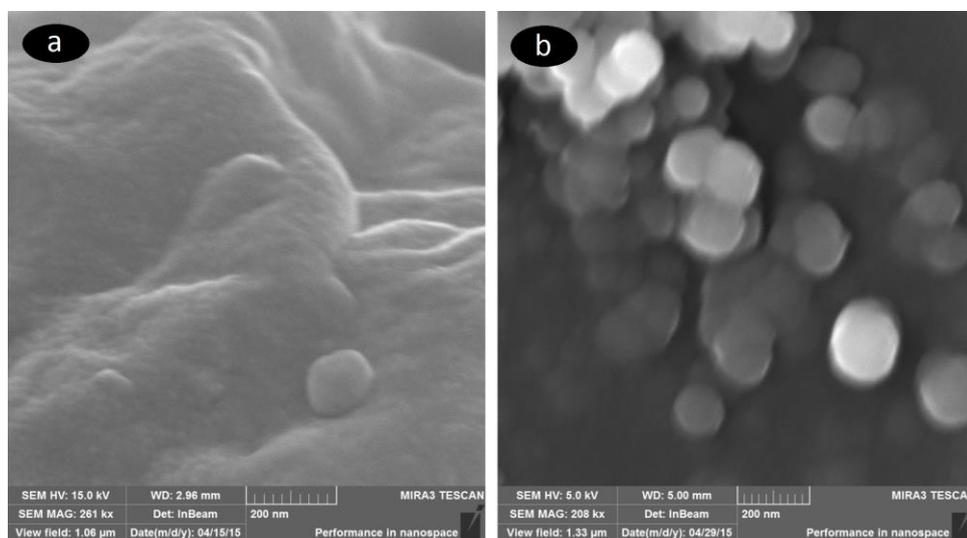


Figura 2: Imagens de MEV-FEG da (a) superfície de fratura do nanocompósito e do (b) nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs, após moagem criogênica. Magnificação de 1340 k e 293 k, respectivamente.



Na Figura 3(a), é possível observar uma partícula esférica de prata na superfície do nanocompósito e que foi incorporada à argila. A Figura 3(b), por sua vez, mostra a predominância de nanopartículas de formato esférico na solução contendo as AgNPs.

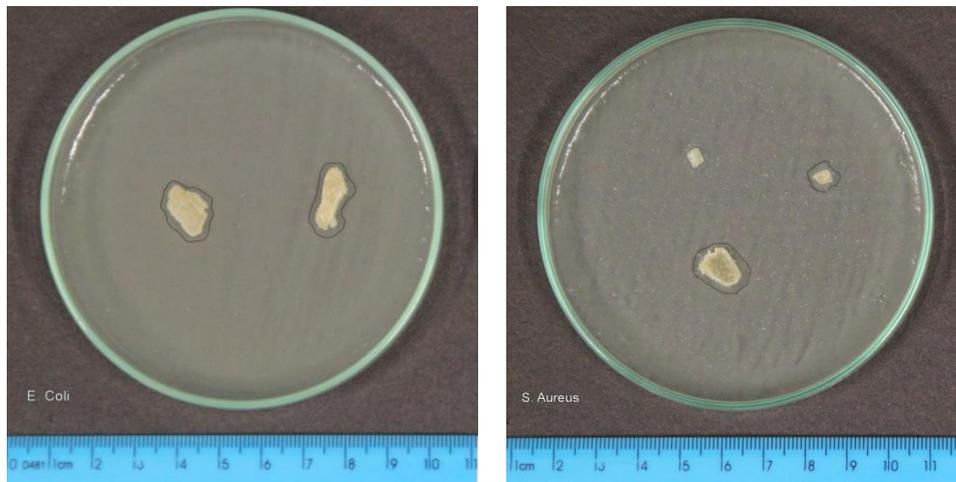
Figura 3: Imagens de MEV-FEG da (a) superfície de fratura do nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs e da (b) solução contendo as AgNPs. Magnificação de 261 k e 208 k, respectivamente.



O surgimento de um *halo* sugere a inibição de crescimento do micro-organismo durante o ensaio microbiológico. Como pode ser observado, os ensaios mostraram que o nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs apresenta ação inibitória tanto contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*), como Gram-negativas (*E. coli*) (Figura 4). De modo geral, a maior atividade de inibição foi observada nos ensaios com a bactéria *E. coli*, uma vez que micro-organismos Gram-negativos apresentam uma camada de peptidoglicanos a nível de parede celular muito menos espessa do que os micro-organismos Gram-positivos, o que acaba facilitando a entrada e conseqüentemente a difusão das AgNPs nas primeiras, aumentando a eficiência de inibição (DURÁN et al., 2010).

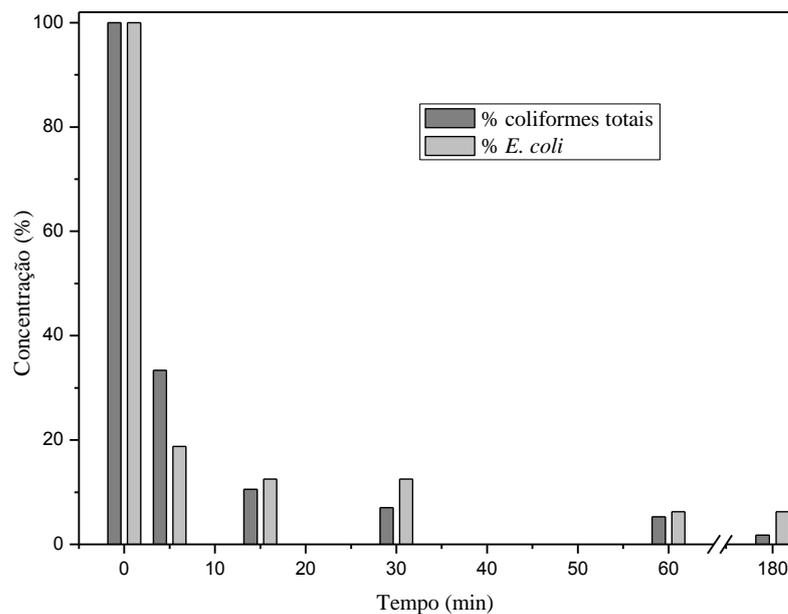


Figura 4: Imagens do ensaio microbiológico em placas de ágar nutriente com *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente.



O efluente industrial para reuso foi tratado durante diferentes tempos. A Figura 5 apresenta a contagem de coliformes totais e *E. coli*, após o tratamento ao qual o efluente foi submetido. Observou-se que nos primeiros 5 min de tratamento ocorreu uma redução de aproximadamente 77% dos coliformes totais. Nos demais tempos, a taxa de redução foi menor, mas ainda assim existente até o tempo de 60 min. Após esse período, não ocorreu uma redução detectável. O teor de prata presente no efluente apresentou valores que variaram de 0,006 mg/L em 5 min, até 0,010 mg/L em 60 min. Esses valores representam 6 e 10% da quantidade máxima de prata permitida por lei em efluentes. Em tempos superiores a 60 min, a quantidade prata permaneceu praticamente constante, indicando que a capacidade máxima de redução de micro-organismos e prata disponível para lixiviação na solução foi alcançada (BRASIL, 2011).

Figura 5: Influência o tempo de contato na eficácia do tratamento do efluente industrial com o nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs





4 Considerações Finais

O nanocompósito de PHBV/MMT-AgNPs apresentou ação inibitória contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. O potencial desse nanocompósito em atuar como agente bactericida com aplicação prática no tratamento de efluentes industriais para águas de reuso foi evidenciado pela taxa de redução de micro-organismos em aproximadamente 98%, sendo necessário um tempo de 60 min para atingir sua máxima atuação. O nanocompósito também apresentou uma taxa de liberação de prata para o efluente tratado abaixo do limite recomendado pelas diretrizes nacionais.

5 Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pelo apoio financeiro.

6 Referências

ANTUNES, F. S.; DAL'ACQUA, N.; BERGMANN, C. P.; GIOVANELA, M. **Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos**. Estudos tecnológicos de Engenharia, v. 9, p. 20-26. 2013

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Secretaria de Defesa Agropecuária, **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, 27 ago. 2003.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente - Conselho Nacional do Meio Ambiente, **Resolução nº 430, de 13 de maio de 2011**. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União, 16 maio 2011.

DURÁN, N.; MARCATO, P. D.; CONTI, R. D.; ALVES, O. L.; COSTA, F. T. M.; BROCCHI, M. **Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action**, Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 21, p. 949-959, 2010.

JANA, N. R.; GEARHEART, L.; MURPHY, C. J. **Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio**. Chemical Communications, n. 7, p. 617-618, 2001.

MATSUMURA E. M.; MIERZWA J. C. **Water conservation and reuse in poultry processing plant**. Resources, Conservation and Recycling, v. 52, p. 835-842, 2008.

PINTO, V. V.; FERREIRA, M. J.; SILVA, R.; SANTOS, H. A.; SILVA, F.; PEREIRA, C. M. **Long time effect on the stability of silver nanoparticles in aqueous medium: effect of the synthesis and storage conditions**, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, v. 364, p. 19-25, 2010

VALÁSKOVÁ, M.; HUNDÁKOVÁ, M.; KUTLÁKOVÁ, K. M.; SEIDLEROVÁ, J.; CAPCOVÁ, P.; PAZDZIORA, E.; MATEJOVÁ, K.; HERMÁNEK, M.; KLEMM, V.; RAFAJA, D. **Preparation and characterization of antibacterial silver/vermiculites and silver/montmorillonites**. Geochimica et Cosmochimica Acta, v. 74, p. 6287-6300, 2010.