

I-080 - ESTUDO DA EFICIÊNCIA ANTIMICROBIANA DE SÍLICA E POLIAMIDA 66 IMPREGNADAS COM NANOPARTICULAS DE PRATA

Lorena Fernanda Altava Cara⁽¹⁾

Acadêmica da nona fase Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina/UDESC-CEAVI.

Adrieny Tailiny Comper⁽²⁾

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

Bolsista de iniciação científica

Jarina Costa Moreira⁽³⁾

Doutoranda em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina

Luciano André Deitos Koslowski⁽⁴⁾

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

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

RESUMO

Avaliou-se, no presente estudo, a eficiência de desinfecção da água empregando nanopartículas de prata funcionalizadas (AgNPs), em percentual de 0.50% em massa, em matriz polimérica (P-66) e sílica, realizando um comparativo de percentual de decaimento bacteriano entre as duas, para o tempo de residência compreendido entre uma, duas e três horas sob condição de repouso e agitação. A quantificação de *E.coli* procedeu-se com o sistema Quanti-Tray. Observou-se, após 24 horas de incubação, que as amostras com 0,5% de AgNPs, sob agitação à temperatura ambiente (25°C) com 3 horas de tempo de residência, para ambos os materiais suportes, sílica e poliamida, apresentaram respectivamente 99,27% e 99,29% de ação antibacteriana. Em repouso, as eficiências foram de 98,91%, e 82,42% para a mesma temperatura quando avaliado o índice de unidades formadoras de colônia (UFC) por 100 mL com a amostra branco. Quando submetido à 35°C, nas mesmas condições de residência, sob repouso, a eficiência obtida foi de 100% e 97,41% para o material suporte sílica e poliamida. Já na condição de agitação, a eficiência da sílica manteve-se a 100% enquanto para a poliamida houve uma ligeira melhora, atingindo 99,71%. Tais resultados sugerem que ambos os materiais suportes, funcionalizados com AgNPs, apresentam boa ação bactericida, sendo que apenas a sílica atingiu valores de padrões de potabilidade em termos de *E.coli*.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas de prata, desinfecção, sílica, poliamida-66.

INTRODUÇÃO

Encontrada na natureza como recurso mais abundante, a água, chega a cobrir cerca de dois terços da superfície terrestre, com volume total aproximado de 1,4 bilhões de quilômetros cúbicos. Apesar disso, atualmente, cerca de um quinto da população mundial não tem acesso água em condições de potabilidade. A Organização Mundial de Saúde estima que mais de 5 milhões de pessoas morrem, por ano, por doenças relacionadas ao consumo de água não potável. De maneira implícita, incluem-se nessa estimativa, 3 milhões de crianças que morrem devido a doenças de veiculação hídrica, como por exemplo as diarreicas (FURRIELA, 2001).

Provenientes, principalmente, de microrganismos patogênicos, do grupo de coliformes, as doenças de veiculação hídrica possuem origem entérica, animal ou humana, com ciclo de transmissão basicamente pela rota fecal-oral, ou seja, são excretados nas fezes de indivíduos infectados e ingeridos na forma de água ou alimento contaminado (AMARAL, 2003).

É de fundamental importância que exista a constante busca por tecnologias alternativas em termos de tratamento de água, a fim de não somente atender os padrões de potabilidade, mas também a demanda desse bem para o consumo humano. Nesse contexto, a ciência da nanotecnologia tem despertado interesse significativo de linhas de pesquisa no âmbito das aplicações dos nanomateriais em questões relacionadas ao

meio ambiente (YEHA, *et al.*, 2007). Desta maneira, 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 *et al.*, 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).

Uma das grandes possibilidades de uso dos nanomateriais é a desinfecção da água para o consumo humano, cujo método tradicional, embora eficiente, pode vir a produzir subprodutos prejudiciais à saúde humana (CABALA, 2013). Estudos sugerem que ação de desinfecção das nanopartículas de prata ocorre por meio do rompimento da superfície da membrana celular e difundindo as partículas para o interior da bactéria. No entanto, existem algumas hipóteses não conclusivas sobre o mecanismo dessa ação, havendo de se considerar que a prata pode apresentar uma ação sinérgica e não um só modo de atuação na atividade antibacteriana (MOHANTY *et al.*, 2011).

Baseado nos fatos mencionados, buscou-se, no presente estudo, produzir nanopartículas de prata impregnadas em matérias suportes de poliamida 66 e sílica, com o propósito de avaliar a atividade antimicrobiana dos mesmos sobre os microrganismos, especificamente a bactéria *E.coli*, organismo indicador de contaminação fecal.

MATERIAIS E MÉTODOS

A nanotecnologia, essa forma de manipulação de materiais em escala atômica tem potencial para trazer grandes benefícios para a sociedade contemporânea. Para o desenvolvimento do estudo proposto, foi realizada a síntese das nanopartículas de prata e avaliação antimicrobiana. A primeira etapa consistiu na redução dos íons de prata (Cennabras, Brasil), com borohidreto de sódio (NaBH_4 , marca Cinética), provenientes de uma solução de nitrato de prata (AgNO_3), seguido da estabilização, por citrato de sódio. Em seguida, utilizou-se sílica em pó com granulometria de 5 μm (Grace Division) como suporte para imobilizar as nanopartículas de prata e permitir que as mesmas fossem incorporadas nos materiais suportes.

Na etapa final, o pó resultante de coloração amarronzada, conforme apresentado na Figura 1 “a”, foi utilizado como aditivo antibacteriano incorporado nas matrizes de sílica (Figura 1 “b”) e poliamida 66 (Figura 1 “c”) para produção dos pellets que foram usados na desinfecção da água.

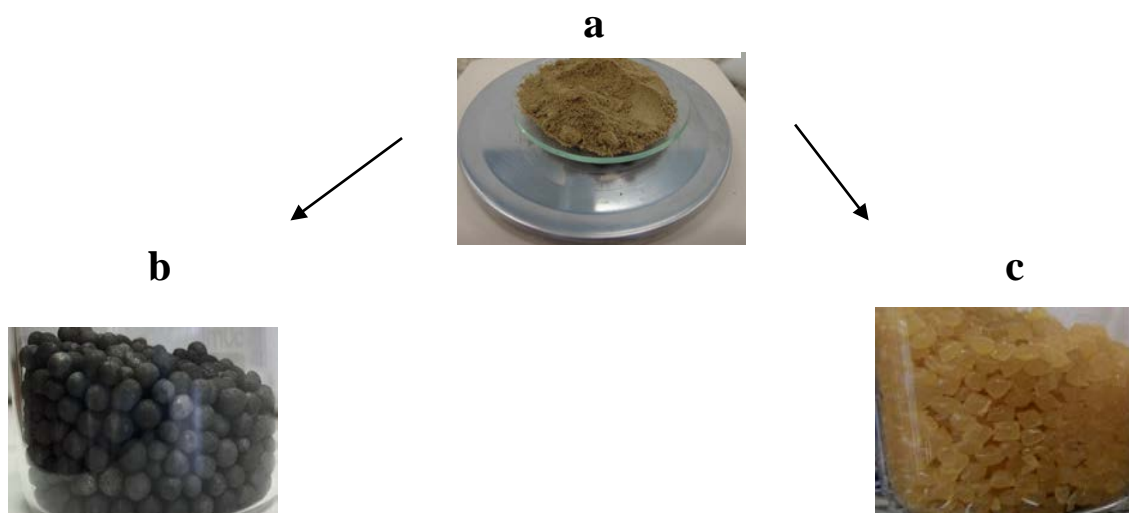


Figura 1: Pó resultante da incorporação de AgNPs e as respectivas incorporações em matérias suporte.

Após a obtenção dos pellets, os mesmos foram submetidos a ensaios microbiológicos. A metodologia utilizada foi baseada no modelo de contagem do Número Mais Provável (NMP) do Standard Methods ASTM 9222D, empregando a bactéria *E.coli* como bioindicador de contaminação fecal, mensurando os efeitos das AgNPs na taxa de mortalidade destes organismos. A bactéria *Escherichia coli* foi selecionada para os ensaios pelo fato desta bactéria estar diretamente relacionada com problemas de saúde gerados pelo consumo de água contaminada. A análise de controle foi realizada empregando frascos estéreis graduados com capacidade para 100 mL, flaconetes com meio de cultura Colilert®-18, cartelas estéreis com 97 cavidades e seladora Quanti-Tray, marca IDEXX.

Para esta análise, procedeu-se o ensaio de quantificação da eficiência dos pellets funcionalizados por meio da inserção de 0,5 g de pellets em 100 ml de água deionizada e esterilizada. Para a preparação do inóculo, utilizou-se o microrganismo *Escherichia Coli*, solubilizando 0,8 g de ágar bacteriológico em 100 mL de água destilada. Nessa solução, após seu resfriamento, foi adicionada em cabine de segurança biológica, certa quantidade desconhecida de bactérias *E.coli* e em seguida, incubada por 18 h na temperatura de 37 °C e agitação de 130 rpm. Após o tempo de incubação, a solução apresentou coloração dourada e aspecto turvo, que visualmente comprovou o crescimento bacteriológico. Na etapa final foi adicionado 1 ml de solução aquosa diluída de *E.coli* e submeteu-se, em seguida a mistura às condições apresentadas na Tabela 1, para as temperaturas de 25 e 35°C respectivamente.

Tabela-1 Condições de testes microbiológicos

Condição	Tempo de residência (h)
Agitação	1
Agitação	2
Agitação	3
Repouso	1
Repouso	2
Repouso	3

As condições de ensaio foram propostas com o intuito de relacionar os dados obtidos com a cinética das reações. Desta maneira, padronizou-se as temperaturas de 25 e 35°C a fim de realizar os ensaios, visto que, a primeira temperatura em questão, 25°C, refere-se à condição de temperatura média ambiente. Já a temperatura de 35°C, assim como reportado por Bell e Kyriakides (1998), favorece a fase exponencial de desenvolvimento da *E.coli* a qual é obtida na faixa de 35 a 40°C, criando-se uma situação crítica na avaliação da eficiência dos materiais em estudo.

RESULTADOS

De acordo com os ensaios realizados, pode-se observar, na tabela-2, que os melhores comportamentos de decaimento bacteriano, e consequentemente, aumento da eficiência foi obtida com temperatura de 35°C e sob a condição de agitação. Os resultados demonstram que a temperatura é um dos fatores mais importantes na seleção das espécies conforme reportado Chernicharo (2007).

Conforme Liu *et al* (2010), produtos catalisados por prata, apresentam elevada capacidade em danificar um grande número de membranas celulares bacterianos, resultando na ruptura do conteúdo intracelular e posterior letalidade das células bacterianas.

Portanto, uma possível análise para esse resultado é o fato de que em temperaturas maiores e em agitação, as reações químicas ocorrem mais rapidamente, ou seja, as AgNPs, ligaram-se ao enxofre e ao fósforo presentes no DNA, impedindo a divisão celular, causando a morte da bactéria (MORONES *et al.*, 2005). Conforme a norma ASTM-2149, a equação (01), a seguir, foi usada para calcular a porcentagem de redução das colônias de bactérias e quantificar o potencial bactericida das AgNPs sintetizadas no estudo.

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

Equação (01)

Definido como:

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

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

Tabela-2 Resultados de eficiência para todas as condições de ensaio e diferentes suportes.

Temperatura	Material suporte	Sem agitação			Agitação		
		1 hora	2 horas	3 horas	1 hora	2 horas	3 horas
25°C	Sílica	91,68%	92,93%	98,91%	83,39%	97,42%	99,27%
25°C	Poliamida	53,9%	73,5%	82,42%	65,95%	94,5%	99,29%
35°C	Sílica	91,67%	99,07%	100%	91,34%	94,43%	100%
35°C	Poliamida	89,43%	89,67%	97,41%	72,45%	96,64%	99,71%

Para a definição da eficiência antibacteriana das AgNPs sob condição de agitação, adotou-se a coloração azul para os resultados correspondentes ao material suporte sílica e a coloração laranja para a representação dos resultados da poliamida. O gráfico-1 a seguir expressa o aumento da eficiência da reação sob agitação a 35°C, condições nas quais obteve-se os resultados mais satisfatórios.

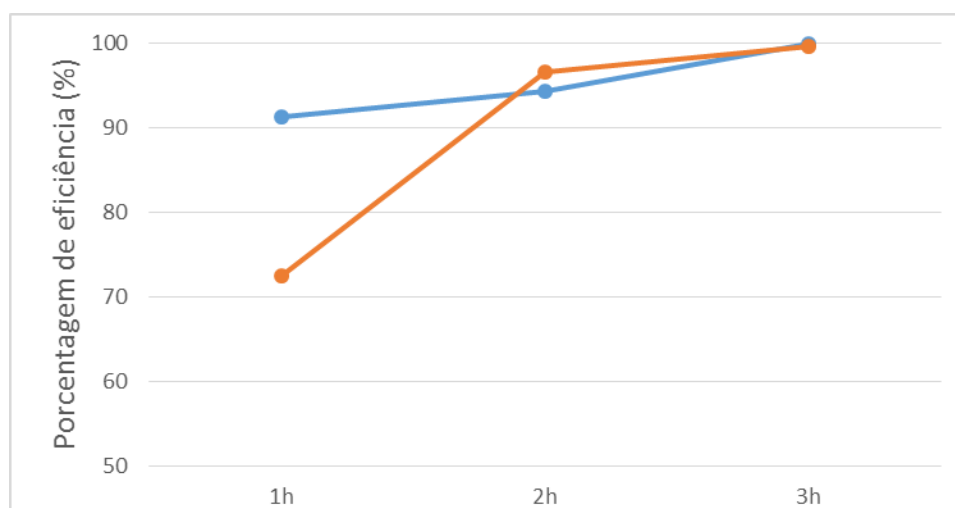


Gráfico-1: Eficiência para condição de agitação a 35°C.

Como é possível identificar no gráfico 1, para o tempo de residência de 3 horas, obteve-se um percentual próximo de 100% de eficiência para ambos os materiais suportes. Estes resultados demonstram que, o agente antibacteriano, nanoestruturado, sintetizado neste estudo apresentou elevada eficiência bactericida. O óxido de prata sintetizado e empregado nestes ensaios, por se encontrar na escala nanométrica de tamanho, possui uma elevada relação área superficial-volume, intensificando a mortalidade das bactérias.

De acordo com as linhas de tendência obtidas no gráfico, a equação-2 a qual avalia a eficiência do material suporte sílica, apresenta comportamento exponencial com um coeficiente de Person próximo a 98%.

$$y = 86,946e^{0,0453x}$$

Equação (2)

Em contrapartida, o comportamento da equação-3, corresponde à eficiência do material suporte poliamida, apresenta escala logarítmica com valor de coeficiente de Pearson aproximadamente de 93%. Santos (2012), em seus estudos, obteve uma eficiência média de uma unidade logarítmica em termos de ação antimicrobiana, reforçando este resultado.

$$y = 25,899\ln(x) + 74,132$$

Equação (3)

As tabelas 3 e 4, a seguir, expressam as demais equações e coeficientes de correlação de Pearson para as condições de ensaios adotadas na metodologia e expressos na tabela 2.

Tabela 3: Resultados estatísticos em condição de agitação

Material suporte	Temperatura (°C)	Função	Coefficiente de Pearson R ²
Sílica	25°C	$y = 15,671\ln(x) + 84,244$	0,9486
	35°C	$y = 86,946e^{0,0453x}$	0,9771
Poliamida 66	25°C	$y = 31,515\ln(x) + 67,758$	0,9434
	35°C	$y = 25,899\ln(x) + 74,132$	0,9286

Tabela 4: Resultados estatísticos em condição de repouso

Material suporte	Temperatura (°C)	Função	Coefficiente de Pearson R ²
Sílica	25°C	$y = 87,55e^{0,038x}$	0,8788
	35°C	$y = 7,9154\ln(x) + 92,186$	0,9281
Poliamida 66	25°C	$y = 26,21\ln(x) + 54,286$	0,9961
	35°C	$y = 84,552e^{0,0427x}$	0,7735

A partir das equações apresentadas, foi evidenciado a excelente ação antibacteriana contra as bactérias *E. coli*, sob diferentes tempos de residência, com um grau de confiança significativo devido aos coeficientes de Pearson encontrados. Por meio das equações e dos seus respectivos coeficientes, além de se demonstrar o grau de confiabilidade dos resultados, pode-se analisar qual o comportamento da eficiência em diferentes tempos de contato substituindo-se valores de tempo em x.

CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos nas condições propostas da presente pesquisa permite enunciar as seguintes conclusões:

- Comparando-se os materiais suportes propostos, a sílica demonstrou-se mais eficiente em termos de ação antibacteriana.
- As condições de agitação e temperatura de 35°C mostraram-se determinantes para uma melhor eficiência antimicrobiana em termos de *E.coli*.
- O estudo demonstra que as nanopartículas de prata possuem grande potencial de aplicação em sistemas de desinfecção de água para o consumo humano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater: part 9222D: microbiological examination. 19. ed. Washington, 1995. p. 9-51.
2. BELL, C. KYRIAKIDES, A. *E. coli* – A practical approach to the organism and its control in foods. Pratical Food Microbiology Series. London, 1998.

3. CABALA, Guillermo Van Erven. Desenvolvimento de filtros cerâmicos impregnados com nanopartículas de prata para desinfecção de água potável. 2013.
4. CHERNICHARO, C. A., FORESTI, E., SANTOS, M. D. L. F. D., & MONTEGGIA, L.O. (2007). Metodologias para determinação da atividade metanogênica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng. sanit. ambient*, 12(2), 192-201
5. KIM, J. S. et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. In: *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 3, p.95-101, 2007. LIU, J., HURT, R. H. 2010. " Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids." *Environmental Science Technology*. 44: 2169–2175.
6. MARONES, J. R; et al. 2005. The bacterial effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology*, 16: 2346-2353.
7. 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.
8. POLTE, J.; TUAEV, X.; WUTHSCHICK, 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.
9. SANTOS, J,G; et al. 2012. Análise parasitológica em efluentes de estações de tratamento de águas residuárias. *Revista de Patologia Tropical*, 41,.
10. 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.
11. 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.