

I-104 – DESINFECÇÃO DA ÁGUA PARA CONSUMO COM USO DE NANOPARTÍCULAS DE ZINCO SUPORTADA EM POLIAMIDA 66

Adrieny Taliny Comper⁽¹⁾

Acadêmica da sétima fase do curso de Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina/UDESC-CEAVI-IBIRAMA. Bolsista PROIP (Pró-Iniciação à Pesquisa).

Lorena Fernanda Altava Cara⁽²⁾

Acadêmica da nona fase do curso de Engenharia Sanitária da Universidade do Estado de Santa Catarina/UDESC-CEAVI-IBIRAMA. Bolsista PROIP (Pró-Iniciação à Pesquisa).

Luciano André Deitos Koslowski⁽³⁾

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 Getúlio Vargas, 2222 – Bela Vista - Ibirama - SC - CEP: 89140000 - Brasil - Tel: (47) 3357-8484 e-mail: adri.comper@hotmail.com

RESUMO

A importância da água na manutenção da vida é evidentemente uma preocupação mundial. Embora seja um recurso abundante no planeta, cerca de 70% da superfície é composto por água, sendo que apenas 4% é doce, ou seja, própria para o consumo. Deste modo, faz-se necessário a busca de alternativas para o processo de desinfecção da água, com o intuito de atender aos padrões de potabilidade requeridos para o consumo humano. O uso de nanopartículas metálicas para aplicação como agentes antibacterianos pode ser considerado uma proposta vantajosa devida a sua excelente eficiência bactericida e fungicida. O presente estudo visa investigar a utilização de nanopartículas de zinco (ZnO-NPs) funcionalizadas (3% em massa) suportada em matriz polimérica (Poliamida 66), de forma a avaliar a atividade antibacteriana no tratamento de água contaminada com a bactéria Gram negativa *E.coli* (organismo indicador de contaminação fecal). O estudo buscou comprovar o efeito bactericida das nanopartículas de zinco, empregando as variáveis tempo de residência (1, 2 e 3 h), temperatura (25 e 35°C) e condição de agitação ou repouso. Os resultados demonstram a efetividade antibacteriana das nanopartículas de zinco (ZnO-NPs), cujas médias de valores se apresentaram mais eficientes nas seguintes condições: sem agitação (estática), temperatura de 35°C, e intervalo de tempo de 3h. Os testes mais promissores indicam a inibição da atividade microbiana na faixa de 86% da população inicial.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas de zinco, Desinfecção da água, Poliamida 66, Nanotecnologia.

INTRODUÇÃO

O planeta está enfrentando diversos desafios com o propósito de atender às demandas crescentes de água potável, tendo em vista que as fontes disponíveis de água doce estão diminuindo devido às secas prolongadas (VOROSMARTY ET AL, 2000). Portanto, torna-se imprescindível a procura por tecnologias alternativas a fim de atender os padrões de potabilidade da água requeridos para o consumo humano, impostos pela Portaria MS 2.914/2011. O estudo em questão tem como proposta avaliar a atividade antimicrobiana sobre os microrganismos, notadamente a bactéria *E.coli*, um organismo indicador de contaminação fecal e que segundo a Portaria citada anteriormente, deve-se mostrar ausente na água. Desta forma, empregam-se nanopartículas de zinco funcionalizadas em percentual de 3% em massa sobre uma matriz polimérica (Poliamida PA-66).

O óxido de zinco constitui um importante material industrial e atualmente tem despertado interesse por apresentar uma combinação de propriedades físicas, como a condutividade elétrica e térmica, absorção óptica no ultravioleta e estabilidade em temperaturas elevadas, químicas, por meio da estabilidade em pH neutro, e biológica com ação antibacteriana.

A síntese de nanopartículas de óxido de zinco (ZnO-NPs) tem sido investigada quanto ao seu potencial uso como agente antibacteriano devido a sua elevada propriedade catalítica e atividade fotoquímica. O óxido de

zinco (ZnO) apresenta refletância total difusa na faixa de comprimento de onda entre 300 e 800 nm com pico localizado na faixa de comprimento de onda de 315–400 nm (SIRELKHATIM, 2015).

Os atributos do óxido de zinco são bastante relevantes, com destaque para as propriedades antifúngicas e pela capacidade de destruição seletiva de células tumorais (MISHRA, 2011). O mecanismo proposto para a atividade antibacteriana do óxido de zinco sugere três possíveis caminhos: a) interação química entre o ZnO e componentes da membrana celular da bactéria; b) interação física entre as nanopartículas de ZnO e a membrana celular da bactéria; c) combinação sinérgica da interação química e física (MISHRA, 2011).

Bell (2014) reporta que o óxido de zinco na forma de nanopartículas apresenta controle efetivo de uma grande quantidade de microrganismos, pois apresentam a capacidade de alterar os componentes da membrana celular da bactéria, distorcendo-a e resultando na perda do componente intracelular, pois o óxido de zinco promove a ruptura da membrana celular, causando a morte do microrganismo. A Figura 1 apresenta o mecanismo de influência físico-químico e os fatores estruturais que evidenciam o impacto potencial sobre a toxicidade resultante do mecanismo proposto (SIRELKHATIM, 2015).

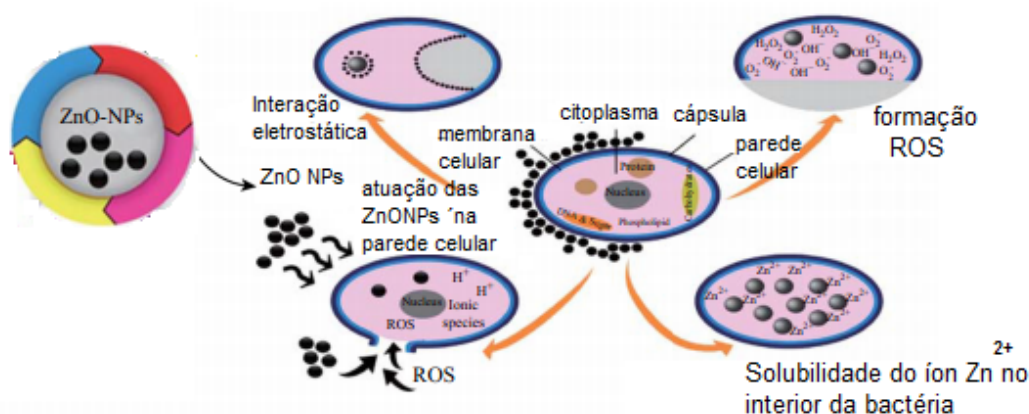


Figura 1: Mecanismos da atividade antibacteriana das ZnO – NPs: formação de ROS, liberação de íon Zn^{2+} , difusão das ZnO-NPs no interior das bactérias e interação eletrostática.

Fonte: Sirelkhathim, 2015.

Saliani (2015) reporta que em comparação com os compostos orgânicos, as nanopartículas de ZnO-NPs são extremamente vantajosas, pois apresentam atividade inibitória destacada, acentuada resistência ao calor e biocompatibilidade.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo foi realizada a síntese das nanopartículas de óxido de zinco (ZnO-NPs), a incorporação das ZnO-NPs no substrato polimérico (poliamida PA-66) e foi avaliado a atividade antibacteriana empregando como espécie indicadora a bactéria *Escherichia coli*.

PRODUÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINCO (ZnO-NPs)

Nesta etapa, as nanopartículas de zinco foram preparadas dissolvendo-se acetato de zinco di-hidratado em monoetileno glicol, sob controle de temperatura (200°C) e agitação constante conforme metodologia preconizada por Lee et al (2008). O sistema foi mantido nestas condições por 180 minutos e, ao término da reação, o produto foi diluído em acetona, e realizada separação por centrifugação. Na etapa seguinte, procedeu-se a secagem em estufa à 70°C por 24 horas. Na etapa final, o pó resultante (Figura 2) de coloração branca, foi utilizado como aditivo antibacteriano e incorporado nas matrizes de poliamida 66 para produção dos pellets.



Figura 2: ZnO-NPs obtido após a etapa de moagem.

PRODUÇÃO DOS PELLETS DE POLIAMIDA 66 COM ZnO-NPs

O sistema de incorporação do pó com ZnO-NPs na poliamida 66 como substrato foi realizada em uma extrusora da marca Cristal Master Modelo GR 001 (Figura 3) a uma temperatura de 250°C e velocidade de dosagem de 12,60 min⁻¹, com a adição de 3% em massa de óxido de zinco em relação a massa de poliamida 66 utilizada. Na etapa final os filamentos de Poliamida incorporados com ZnO-NPs foram inseridos em um granulador da marca SAGEC Modelo S650/2 e pellets funcionalizados com aproximadamente 1 cm² de área e 2,5 g cada e concentrações de 3% foram obtidos.



Figura 3: Produção por extrusão da poliamida 66 suportadas com ZnNPs.

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DAS ZnO-NPs

Os testes de avaliação antibacteriana das ZnO-NPs foram realizadas conforme metodologia preconizada no Standard Methods (ASTM E2149) por meio do modelo de contagem do Número Mais provável (NMP), utilizando a bactéria *E.coli* como bioindicador de contaminação fecal. A espécie *E. coli* corresponde a um grupo de bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, com temperatura ótima de crescimento de 35 a 37°C sendo parte da flora intestinal dos seres humanos e relacionada com problemas de saúde gerados pelo consumo de água contaminada. Neste contexto, pretendeu-se analisar os efeitos das Zn-NPs na taxa de mortalidade destes microorganismos.

A análise de controle foi realizada empregando frascos estéreis graduados com capacidade para 100 mL, e flaconetes com meio de cultura, com 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.

A solução foi autoclavada durante o intervalo de tempo de 15 min a 121°C e pressão de 10 kg/cm². Nessa solução, após seu resfriamento, foi adicionada em cabine de segurança biológica, certa quantidade desconhecida de bactérias *E.coli* e incubada por 18h à 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 dos testes microbiológicos.

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

As temperaturas citadas representam a temperatura média ambiente (25°C) que favorece o desenvolvimento das bactérias psicrófilas facultativas e a temperatura ótima (37°C) mais favorável ao crescimento das bactérias mesófilas.

RESULTADOS

Para os testes de avaliação da atividade antibacteriana do ZnO-NPs, procedeu-se a diluição de 1.10³ e concentração de 100 ppm de nanoparticulado para avaliar o crescimento das colônias de bactérias nas placas de Petri conforme apresentado nas Figuras 4(a)-amostra branco, 4(b) ZnO-NPs a 35°C e 4(c) ZnO-NPs a 25°C. Na presença das ZnO-NPs para as temperaturas de 25°C e 35°C ocorreu crescimento pouco significativo das colônias de bactérias para a temperatura de 35°C e mais acentuada para a temperatura de 25°C conforme apresentado nas figuras 2b e 2c respectivamente. Estes resultados evidenciam que o óxido de zinco sintetizado, inibiu parcialmente o crescimento das bactérias *E.coli*, conforme reportado na literatura (LIU et al.,2009).

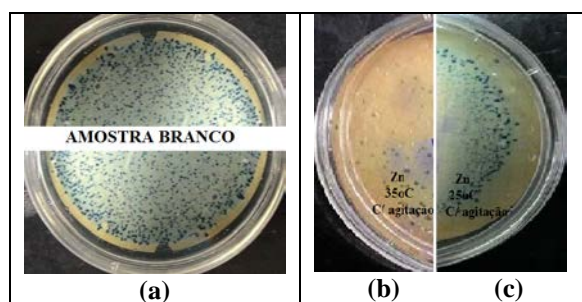


Figura 4: Avaliação da atividade antibacteriana do ZnO

As análises foram realizadas utilizando como variáveis as condições de agitação (Tabela 2) e repouso (Tabela 3), empregando como variáveis o tempo de residência (1, 2 e 3h) e a temperatura (25 e 35°C), com o objetivo de encontrar a maior redução de *E.coli*. Com os dados obtidos em laboratório, procedeu-se a média aritmética entre as amostras de branco (duplicata) sendo as mesmas comparadas às amostras contendo Zinco, conforme apresentado nas tabelas a seguir.

Tabela 2: Eficiência obtida na condição de agitação

Condição	Temperatura	Tempo	Resultado 1	Resultado 2	NMP	% redução
Agitação	25°C	1h	20,7	25,4	2,39	60,33
Agitação	25°C	2h	8,4	10,9	3,22	83,4
Agitação	25°C	3h	9,8	7,5	6,96	85,12
Agitação	35°C	1h	22,3	20,4	39,81	26,55
Agitação	35°C	2h	14,5	16	47,96	47,53
Agitação	35°C	3h	13,1	14,2	54,44	53,09

Tabela 3: Eficiência obtida na condição de repouso

Condição	Temperatura	Tempo	Resultado 1	Resultado 2	NMP	% redução
Sem agitação	25°C	1h	3	4,1	20,53	66,83
Sem agitação	25°C	2h	7,1	0	30,27	66,88
Sem agitação	25°C	3h	3	0	5,30	85
Sem agitação	35°C	1h	5,2	5,1	27,17	51,87
Sem agitação	35°C	2h	4,1	2	15,52	71,05
Sem agitação	35°C	3h	3,1	1	8,17	85,99

Pode-se observar que os resultados mais significativos foram obtidos para a temperatura de 35°C e tempo de residência de 3h, cuja redução da atividade antimicrobiana foi de 85,99%. Estes resultados demonstram que mesmo em baixas concentrações, o agente antibacteriano nanoestruturado e sintetizado neste trabalho apresentou relevante ação bactericida. O óxido de zinco sintetizado e empregado nestes ensaios, por se encontrar na escala nanométrica de tamanho, possui uma elevada relação área superficial-volume, sendo assim capaz de promover uma maior taxa de mortalidade de bactérias. Li et al. (2011), sugere que as ZnO-NPs são capazes de promover ruptura de um grande número de membranas celulares bacterianas, resultando na quebra do conteúdo intracelular por meio da liberação de íons Zn^{2+} que interrompe vários processos celulares em bactérias gram-negativas. As alterações estão associadas ao aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ao aumento da permeabilidade da membrana causando letalidade às células bacterianas.

CONCLUSÕES

Os estudos presumem que na condição de temperatura (35°C), sem agitação e tempo de residência (3h), resulta em redução significativa de *E. coli*, se comparada a temperatura ambiente (25°C). Desta forma percebe-se que a interação química entre ZnO-NPs e a membrana celular da bactéria, permite uma interação física entre as Nanopartículas de ZnO e a membrana celular da bactéria, sendo possível afirmar que o tempo de contato influencia na redução da atividade microbiana. Comprovou-se também, que a temperatura deve ser considerada quando o intuito é promover a seleção de espécies. Por fim, ressalta-se que seja necessária sequência aos estudos, com a finalidade de atingir os padrões impostos pela Portaria vigente (MS 2.914/2011), garantindo a potabilidade necessária para o abastecimento humano no quesito avaliado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ASTM INTERNATIONAL. ASTM -E 2149-01: Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions. Pensilvânia: Wed, 2009.
2. BELL, M. F. Atividade antibacteriana de cimentos de ionômero de vidro modificados por nanopartículas de óxido de zinco. 2014. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista. Araraquara.SP, 2014.
3. LEE, S. JEONG, S. KIM, D. ZnO nanoparticles with controlled shapes and sizes prepared using a simple polyol synthesis. Superlattices and microstructures: 2008 Elsevier, South Korea, 43, p.330-339, 2008.



4. LI, M. ZHU, L. LIN, D. Toxicity of ZnO nanoparticles to Escherichia coli : mechanism and the influence of medium components. Environ. Sci. Technol. 45(5), 1977–1983, 2011.
5. LIU Y, He L, MUSTAPHA A, Li H, Hu ZQ, Lin M. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against Escheria coli O157:H7. J Appl Microbiological. 107(4): 1193-201, 2009.
6. MISHRA, Y. K. Virostatic Potntial of micro-nano filopodia-like ZnO structures against herpes simples virus-1. Antiviral Research., n. 92, 305-312, 2011.
7. SALIANI, M.; JALAL, R.; GOHARSHADI, E. K. J. Microbiological. 8(2):e17115, 1., 2015
8. SIRELKHATIM, A., MAHMUD, S., SEENI, A., MOHAD ad KAUS, N.H., ANN, L.C., BAKHO RI, S. K., HASSAN, H., MOHAM, D. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. Nano-Micro Lett. 7(3)p. 219–242. DOI 10.1007/s40820-015-0040-x, 2015.
9. VOROSMARTY et al. Global water resources: vulnerability from climate change and population growth. Science. p. 284–288, 2000.