

## HÍBRIDOS DE MONTMORILONITA E ALGINATO DECORADOS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE EFLUENTES INDUSTRIAIS DE REUSO

Rosa H. Lovatel<sup>1</sup>, Gabriele R. Oliveira<sup>1</sup>, Raquel S. Mauler<sup>2</sup>, Larissa N. Carli<sup>1</sup>, Marcelo Giovanela<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Centro de Ciências Exatas e Tecnologia – Universidade de Caxias do Sul – UCS – RS – Brazil (mgiovanl@ucs.br)

<sup>2</sup>Instituto de Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS – RS – Brazil

**Resumo** – O objetivo deste trabalho foi preparar híbridos de alginato de sódio (ALG) e montmorilonita (MMT) decorados com nanopartículas de prata (AgNPs), visando aplicação na remoção de micro-organismos de efluentes para reuso. As nanopartículas, sintetizadas por redução química, foram incorporadas em uma suspensão contendo MMT e ALG, e os híbridos foram obtidos a partir do gotejamento desta em uma solução de cloreto de cálcio. O potencial bactericida desses materiais foi avaliado por meio do ensaio de difusão em ágar com dois tipos de micro-organismos (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*). Os testes preliminares mostraram a formação de um halo de inibição para ambas as bactérias. Em seguida, os híbridos foram utilizados no tratamento de um efluente industrial rico em coliformes (1300 UFC/mL). Os resultados indicaram uma redução de até 99,9% de coliformes, confirmando o potencial deste material para o objetivo proposto.

**Palavras-chave:** montmorilonita, alginato de sódio, nanopartículas de prata, tratamento de efluentes, reuso.

### Introdução

A necessidade da preservação do meio ambiente tem levado muitos pesquisadores a desenvolverem produtos e processos com menor potencial poluidor. No entanto, em alguns processos industriais, tais como a fabricação de artigos de cutelaria, a geração de poluentes é inevitável. Assim, o desenvolvimento de estudos específicos para minimizar os impactos ambientais que podem ser causados por efluentes originados neste tipo de processo industrial é de primordial importância. A reutilização de efluentes industriais tem sido incentivada no Brasil, uma vez que esta prática pode trazer inúmeros benefícios econômicos e ambientais. No entanto, não há ainda no país uma legislação que especifica os parâmetros físico-químicos e microbiológicos aceitáveis para esta prática. Assim, estes parâmetros dependerão da aplicação futura do efluente a ser reutilizado [1-3].

O uso de nanopartículas metálicas ancoradas em substratos sólidos tem um grande campo de aplicação (pontos quânticos, baterias solares, catalisadores, fotocatalisadores, materiais antibacterianos, sensores) [4]. Recentemente, as nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido muito utilizadas como agentes bactericidas, devido a muitas vantagens sobre os desinfetantes tradicionais, tais como a estabilidade química, a segurança para o utilizador, o período de longa duração, e a atividade bactericida [5]. Graças às suas propriedades únicas, os silicatos lamelares representam um excelente substrato para a fixação dessas nanopartículas metálicas [4]. Assim, os compostos de argila e AgNPs são uma alternativa ao processo de desinfecção, sobretudo no tratamento de efluentes para reuso [4-7].

Alguns estudos têm sido realizados utilizando-se matrizes poliméricas como material de suporte para as nanopartículas, proporcionando maior resistência mecânica e estabilidade para tal aplicação [8]. O alginato é um biopolímero extraído principalmente de algas marrons, e tem sido extensivamente testado para remover contaminantes presente em meio aquoso. Sais formados por íons monovalentes (como sódio, potássio e amônio) são geralmente solúveis em água, ao passo que aqueles formados por íons polivalentes são insolúveis [9].

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve por objetivo preparar híbridos de MMT-ALG-AgNPs, visando sua posterior aplicação na remoção de micro-organismos presentes em efluentes industriais para reuso. Os híbridos foram inicialmente caracterizados e o potencial bactericida foi avaliado contra dois tipos de micro-organismos: bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli*) e bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*).

### Parte Experimental

#### Reagentes

Todos os produtos químicos utilizados neste trabalho possuem grau analítico: nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>, Merck), cloreto de cálcio dihidratado (CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, Merck), boroidreto de sódio (NaBH<sub>4</sub>, Merck), alginato de sódio de média viscosidade (ALG, Vetec), citrato de sódio tribásico dihidratado (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>, Sigma-Aldrich). A MMT na forma sódica (MMT-Na<sup>+</sup>) foi adquirida diretamente da Argel T. As soluções aquosas foram preparadas com água ultrapura (resistividade 18,2 MΩ/cm), obtida a partir de um sistema Milli-Q (Millipore).

### Síntese das AgNPs

As AgNPs foram preparadas pela redução química de íons  $\text{Ag}^+$  por  $\text{NaBH}_4$  na presença de citrato de sódio tribásico dihidratado (estabilizante). Esse procedimento foi baseado no método descrito por Jana *et al.* [10]. O processo de preparação das AgNPs foi o seguinte: 100 mL de uma solução contendo 50 mL de  $\text{AgNO}_3$  e 50 mL de  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ , ambas na concentração de 0,25 mmol/L, foram misturadas e mantidas sob agitação durante 30 s. Em seguida, uma solução de  $\text{NaBH}_4$  1,00 mmol/L (recém-preparada) foi adicionada à mistura. O conjunto adquiriu imediatamente uma coloração amarelada (confirmação da formação das AgNPs), e o sistema foi agitado por mais 60s, sendo em seguida armazenado em geladeira. O processo de síntese foi realizado em ambiente climatizado ( $23,0 \pm 2,0$  °C) e ao abrigo da luz.

### Caracterização das AgNPs

As AgNPs foram caracterizadas por meio das técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). A solução de AgNPs foi analisada em um espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60 na faixa de comprimento de onda situada entre 200 e 800 nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm. O branco foi medido com uma amostra de água Milli-Q, previamente ao registro do espectro da solução de AgNPs.

A análise de MET foi realizada em um microscópio Jeol JEM-1200 Ex II, operando em uma voltagem de 80 kV. Para tanto, as AgNPs foram previamente dispersas em água deionizada (1 gota da solução coloidal de prata em 20 mL desse solvente) utilizando um ultrassom (Unique USC 1400) por 30 min. Em seguida, uma gota dessa nova solução foi depositada sobre um *grid* de cobre com filme de Formvar (300 mesh) e deixada secar por 48 h, sendo finalmente analisada no microscópio.

### Preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs

O processo de preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs foi baseado no método proposto por Liu *et al.* [8]. Inicialmente, a MMT (5,0 g) foi misturada a 100 mL de uma solução de AgNPs durante 12 h. Em seguida, adicionou-se à suspensão o ALG (1,0 g), sendo o sistema mantido sob agitação por mais 12 h. Ao término desse procedimento, a mistura foi lentamente gotejada com o auxílio de uma seringa em uma solução de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (4,0% m/v). Os pellets formados foram deixados nessa solução por mais 48 h, em geladeira e ao abrigo da luz, sendo finalmente lavados várias vezes com água deionizada para remover o excesso da solução de cloreto de cálcio, e armazenados a 10 °C para os ensaios microbiológicos.

### Ensaio microbiológicos

Para avaliar as propriedades bactericidas dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram selecionados dois micro-organismos: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Um método adequado para se avaliar a eficiência de um agente bactericida é o de determinar a sua zona de inibição [7,8]. Um inóculo padrão do micro-organismo de teste foi esfregado sobre a superfície de uma placa de ágar, onde os pellets de MMT-ALG-AgNPs foram colocados. Em seguida, as placas foram incubadas durante 48 h e a 37 °C em uma estufa, e as zonas de inibição formadas ao redor dos híbridos foram então medidas [7].

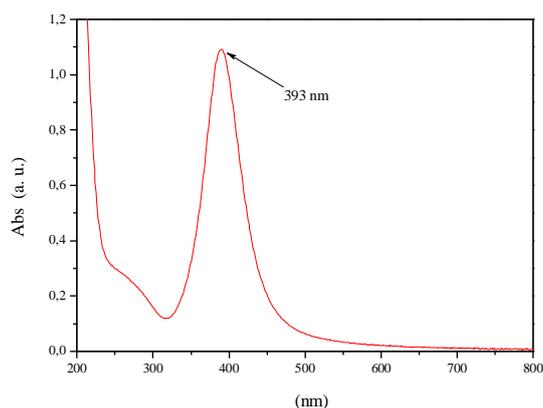
### Tratamento do efluente industrial com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs

Após a realização dos ensaios microbiológicos preliminares, os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram utilizados no tratamento de um efluente industrial para reuso de uma indústria metalúrgica rico em coliformes (1300 UFC/mL). O ensaio consistiu em agitar (~150 rpm) cerca de 100 mL da amostra do efluente com 100 mg de híbrido por períodos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240 e 360 min. No final deste processo, a contagem de coliformes totais foi realizada novamente em todos os sistemas.

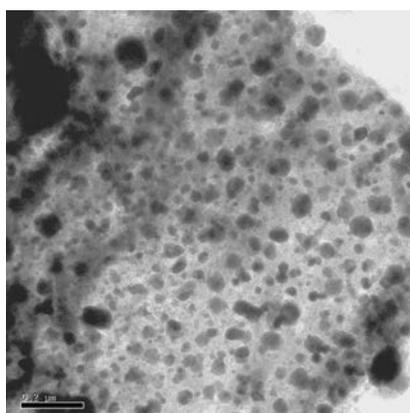
## Resultados e Discussão

### Caracterização de AgNPs

A Figura 1 mostra o espectro de absorção molecular na região do UV-Vis da solução de AgNPs. Como pode ser observado, o espectro apresenta apenas um máximo em ~393 nm. De acordo com a literatura, esses espectros podem fornecer informações importantes sobre o tamanho e geometria das nanopartículas estudadas [11]. Tipicamente, uma banda em torno de 400 nm indica a presença de AgNPs com formato esférico [12]. Esta constatação é corroborada pela análise de MET (Figura 2), onde foi possível observar nanopartículas com diâmetros que variam de 10 a 150 nm.



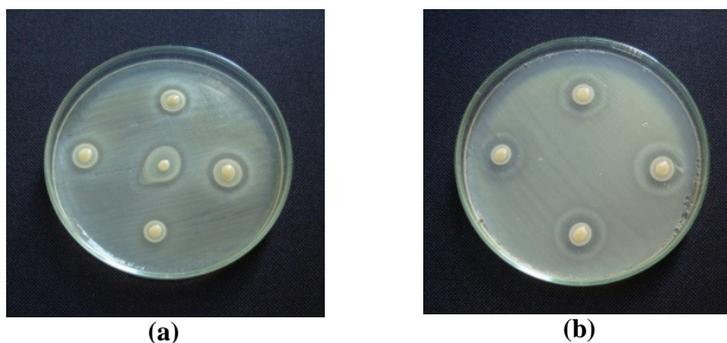
**Figura 1** – Espectro de absorção molecular na região do UV-Vis da solução de AgNPs.



**Figura 2** – Imagem de MET das AgNPs.

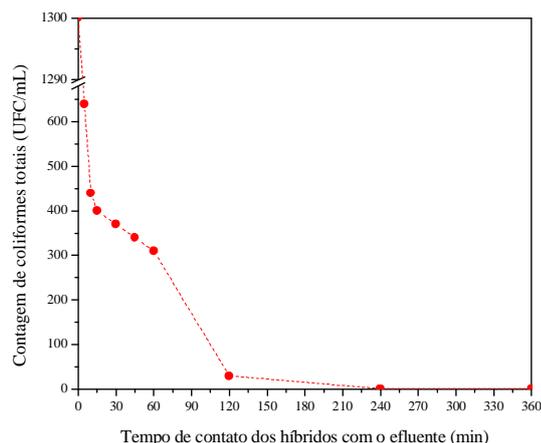
### Ensaio microbiológicos e tratamento do efluente industrial com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs

As Figuras 3a e 3b apresentam os resultados obtidos nos ensaios microbiológicos para os micro-organismos *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Como pode ser constatado, os dois sistemas avaliados mostraram a presença de halos de inibição bastante nítidos ao redor dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs, o que indica que os mesmos têm atividade bactericida em relação às duas bactérias testadas. Além disso, o tamanho desses halos de inibição foi menor para o *S. aureus* (17-21 nm) do que para o *E. coli* (23-29 nm). A *E. coli*, por ser uma bactéria Gram-negativa, apresenta uma camada de peptidoglicanos (a nível de parede celular) menos espessa do que a *S. aureus* (que é Gram-positiva), o que acaba facilitando a entrada e consequentemente a difusão das AgNPs nas primeiras, aumentando a eficiência de inibição [13].



**Figura 3** – Ensaio de difusão em ágar: (a) *Escherichia coli*, (b) *Staphylococcus aureus*.

Após a realização dos ensaios preliminares, os híbridos de MMT-ALG-AGNPS foram utilizados no tratamento de um efluente para reuso, proveniente de uma indústria metalúrgica rico em coliformes (1300 UFC/mL). A Figura 4 mostra o efeito do tempo de contato dos híbridos com as amostras do efluente na contagem de coliformes totais. Como pode ser verificado, a capacidade de remoção foi bastante efetiva nos primeiros 5 min do ensaio, sendo que a contagem total de coliformes foi reduzida pela metade. Depois de 240 min, a contagem de coliformes totais foi reduzida para 1,0 UFC/mL, mantendo-se praticamente constante até ao final do ensaio (360 min). Os dados obtidos indicaram uma redução de até 99,9% de coliformes totais em relação à contagem total inicial (efluente sem tratamento).



**Figura 4** – Efeito do tempo de contato na contagem total de coliformes para o efluente testado.

## Conclusão

Os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram preparados com sucesso por meio do método proposto neste trabalho. De modo geral, os híbridos apresentaram uma excelente atividade bactericida em relação aos dois microorganismos testados (*E. coli* e *S. aureus*). Além disso, esses novos materiais parecem ser muito promissores no tratamento microbiológico de efluentes industriais para reuso.

## Agradecimentos

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

## Referências

- BRASIL. Conselho Nacional de Recursos Hídricos, Moção nº 61 de 10 de julho de 2012. Diário Oficial da União, 14 ago. 2012.
- BRASIL. Conselho Nacional de Recursos Hídricos, Resolução CNRH nº54, de 28 de novembro de 2005. Diário Oficial da União, 09 mar. 2006.
- A. H. N. Cunha; A. L. M. Milhardes; A. R. Ferrari; J. B. A. França; M. T. Grassiem VIII Seminário de Iniciação Científica e V Jornada de Pesquisa e Pós-graduação, Goiás, 2010.
- J. Tokarský; P. Capková; V. Klemm; D. Rafaja; J. Kukutschová *J. Phys. Chem. Solids* 2010, 71, 634.
- G. Xu; X. Qiao; X. Qiu; J. Chen *J. Mater. Sci. Technol.* 2011, 27, 685.
- P. Praus; M. Turicová; V. Machovic; S. Studentová; M. Klementová *Appl. Clay Sci.* 2010, 49, 341.
- M. Valásková; M. Hundáková; K. M. Kutlákova; J. Seidlerová; P. Capcová; E. Pazdziora; K. Matejová; M. Hermánek; V. Klemm; D. Rafaja *Geochim. Cosmochim. Acta* 2010, 74, 6287.
- D. Gangadharan; K. Harshvardan; G. Gnanasekar; D. Dixit; K. M. Popat; P. S. Anand *Water Res.* 2010, 44, 5481.
- L. Liu; Y. Wan; Y. Xie; R. Zhai; B. Zhang; J. Liu *Chem. Eng. J.* 2012, 187, 210.
- N. R. Jana; L. Gearheart; C. J. Murphy *Chem. Commun.* 2001, 37, 617.
- S. Pal; Y. K. Tak; J. M. Song *Appl. Environ. Microbiol.* 2007, 73, 1712.
- C. Noguez *J. Phys. Chem.* 2007, 11, 3806.
- N. Durán; P. D. Marcato; R. de Conti; O. L. Alves; F. T. M. Costa; M. Brocchi *J. of the Brazilian Chem. Society* 2010, 21, 949.