



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, INOVAÇÃO E  
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
COORDENADORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
*STRICTO SENSU*  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E  
CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

## **Filmes de PAH/PAA com Nanopartículas Metálicas para a Desinfecção de Efluentes Industriais**

**Fabiana Zarpelon Eltz**

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanela  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaina da Silva Crespo

Caxias do Sul, 2017

Fabiana Zarpelon Eltz

## **Filmes de PAH/PAA com Nanopartículas Metálicas para a Desinfecção de Efluentes Industriais**

“Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do grau de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais”, com orientação do Prof. Dr. Marcelo Giovanela e coorientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaina da Silva Crespo.

Caxias do Sul, 2017

E51f Eltz, Fabiana Zarpelon  
Filmes de PAH/PAA com Nanopartículas Metálicas para a  
Desinfecção de Efluentes Industriais / Fabiana Zarpelon Eltz – 2017.  
101 f.: il.

Tese (Doutorado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-  
Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2017.

Orientação: Marcelo Giovanela.

Coorientação: Janaina da Silva Crespo.

1. Nanopartículas de prata (AgNPs). 2. Nanopartículas de cobre  
(CuNPs). 3. Filmes finos. 4. Atividade bactericida. 5. Tratamento  
terciário. I. Giovanela, Marcelo, orient. II. Crespo, Janaina da Silva,  
coorient. III. Título.

# Filmes de PAH/PAA com Nanopartículas Metálicas para a Desinfecção de Efluentes Industriais

Fabiana Zarpelon Eltz

Tese de Doutorado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais, Área de Concentração: Processamento e Simulação de Materiais.

Caxias do Sul, 22 de novembro de 2017.

## Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcelo Giovanela (Orientador)

Universidade de Caxias do Sul

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaina da Silva Crespo (Coorientadora)

Universidade de Caxias do Sul

Prof. Dr. Valdir Soldi

Instituto Brasileiro de Tecnologia do Couro, Calçado e Artefatos

Prof. Dr. Marcos Antonio Villetti

Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. César Aguzzoli

Universidade de Caxias do Sul

Prof. Dr. Thiago Barcellos da Silva

Universidade de Caxias do Sul

## TRABALHOS APRESENTADOS

**Congresso:** XIV Latin American Symposium on Polymers and XII Ibero American Congress on Polymers, 2014, Porto de Galinhas.

**Título:** Utilização de filmes finos de PAH/PAA contendo nanopartículas de prata no tratamento microbiológico de efluentes industriais para reuso.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela, Giovanna Machado e Janaina da Silva Crespo.

**Congresso:** Eurasia Waste Management Symposium, 2014, Istanbul.

**Título:** Thin Films of Polyelectrolytes with Silver Nanoparticles as Potential Bactericidal Agents in the Microbiological Treatment of Industrial Wastewater.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela, Larissa N. Carli, Giovanna Machado e Janaina da Silva Crespo.

**Congresso:** 4º Congresso Internacional para Tecnologia para o Meio Ambiente, 2014, Bento Gonçalves.

**Título:** Filmes finos de PAH/PAA com nanopartículas de prata como agentes bactericidas no tratamento microbiológico de efluentes industriais para reuso.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela, Larissa N. Carli e Janaina da Silva Crespo.

**Congresso:** 28º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2015, Rio de Janeiro.

**Título:** Tratamento microbiológico de efluentes industriais utilizando filmes finos com nanopartículas de prata.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela e Janaina da Silva Crespo.

**Congresso:** Congresso de Engenharia Ambiental do Sul do Brasil, 2015, Porto Alegre.

**Título:** Filmes finos com nanopartículas de prata para a desinfecção de efluentes industriais.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela e Janaina da Silva Crespo.

**Congresso:** 5º Congresso Internacional de Tecnologia para o Meio Ambiente, 2016, Bento Gonçalves.

**Título:** Filmes finos com nanopartículas metálicas para a desinfecção de efluentes industriais.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Marcelo Giovanela e Janaina da Silva Crespo.

### **ARTIGO PUBLICADO**

**Título:** Removal of coliform bacteria from industrial wastewaters using polyelectrolytes/silver nanoparticles self-assembled thin films.

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, Deise Galiotto, César Aguzzoli, Larissa Nardini Carli, Carlos Alejandro Figueroa, Israel Jacob Rabin Baumvol, Marcelo Giovanela, Janaina da Silva Crespo, Giovanna Machado.

**Periódico:** Journal of Environmental Chemical Engineering, v. 4, p. 137-146, 2016.

### **DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE**

**Título:** Filme bactericida, processo de preparação do mesmo e método de tratamento de efluente.

**Data Depósito:** 10/04/2014

**Autores:** Fabiana Zarpelon Eltz, César Aguzzoli, Marcelo Giovanela, Janaina da Silva Crespo.

## **PALESTRA EM EVENTOS**

**Evento:** Feira TEC – Feira de Tecnologia e Inovação, 2015, Carlos Barbosa.

**Título:** Tratamento de efluentes: uma alternativa para a reutilização de água.

**Palestrante:** Fabiana Zarpelon Eltz.

**Evento:** Semana Acadêmica Escola Técnica São Pelegrino (Relacionamentos que geram ideias inovadoras), 2015, Carlos Barbosa.

**Título:** Preparação, Caracterização e Aplicação de Filmes Finos de PAH/PAA com Nanopartículas de Prata no Tratamento Microbiológico de Efluentes Industriais para Reuso.

**Palestrante:** Fabiana Zarpelon Eltz.

**Evento:** 2ª Semana Acadêmica de Gestão Ambiental FTEC, 2016, Bento Gonçalves.

**Título:** Filmes finos de PAH/PAA com nanopartículas de prata para o tratamento microbiológico de efluentes industriais.

**Palestrante:** Fabiana Zarpelon Eltz.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Giovanela e a minha co-orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janaina da Silva Crespo pela confiança em mim depositada, bem como pelo apoio, ensinamentos, dedicação, incentivo, disponibilidade e amizade;

Aos colegas Ana Cláudia Rangel Faria, Nicolle Dal'Acqua e Mário César Vebber, por toda ajuda, paciência, amizade e pelas colaborações neste trabalho;

À Amanda Klamer de Almeida, bolsista de iniciação científica, pela ajuda na preparação dos filmes;

Ao professor Prof. Dr. César Aguzzoli pela ajuda com as análises de XPS, GD-OES e *MEV-FEG*, bem como pela disponibilidade em esclarecer essas técnicas;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Giovanna Machado pelas análises de MET dos filmes;

Aos meus colegas de trabalho pela compreensão e pela substituição durante minhas ausências;

Aos meus pais, Honório e Lourdes, minha irmã, Morgana, e meu esposo, Jefferson, pela compreensão, apoio, incentivo e pelas contribuições neste trabalho;

Aos demais professores, colegas e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul, e a todos que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;

À CAPES pelo apoio financeiro.

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução</b> .....	<b>17</b>
<b>2. Objetivos</b> .....	<b>20</b>
2.1. Objetivo Geral .....	20
2.2. Objetivos Específicos .....	20
<b>3. Revisão Bibliográfica</b> .....	<b>21</b>
3.1. Filmes Finos .....	21
3.2. Polieletrólitos .....	22
3.2.1. <i>Definição do pH dos Polieletrólitos</i> .....	24
3.3. Técnica de LbL .....	27
3.3.1. <i>LbL por Dip Coating</i> .....	30
3.4. Nanopartículas Metálicas .....	31
3.4.1. <i>Nanopartículas de Prata</i> .....	32
3.4.2. <i>Nanopartículas de Cobre</i> .....	36
3.5. Filmes com Nanopartículas Metálicas para a Desinfecção de Efluentes .....	37
3.6. Reticulantes .....	40
3.6.1. <i>Glutaraldeído</i> .....	40
3.6.2. <i>Enzima Transglutaminase</i> .....	41
<b>4. Materiais e Métodos</b> .....	<b>43</b>
4.1. Materiais .....	43
4.2. Preparação e Caracterização dos Filmes com AgNPs e CuNPs .....	43
4.2.1. <i>Limpeza dos Substratos</i> .....	43
4.2.2. <i>Preparação dos Filmes Finos</i> .....	43
4.3. Síntese das Nanopartículas Metálicas .....	45
4.3.1. <i>Síntese das AgNPs e das CuNPs em Meio Aquoso</i> .....	45
4.3.2. <i>Síntese das AgNPs e das CuNPs por Irradiação no Ultravioleta</i> .....	46
4.4. Reticulação dos Filmes Finos com Glutaraldeído e Enzima Transglutaminase .....	48
4.5. Tratamento de Efluente Industrial para Reuso .....	48
4.5.1. <i>Desinfecção do Efluente Industrial com os Filmes Finos</i> .....	48
4.5.2. <i>Contagem de Coliformes Totais no Efluente Industrial após a Desinfecção</i> .....	49
4.5.3. <i>Quantificação de Prata e Cobre no Efluente Industrial e nos Filmes Finos</i> .....	50
4.6. Caracterização dos Filmes Finos com AgNPs e CuNPs .....	50
4.6.1. <i>MEV-FEG</i> .....	51
4.6.2. <i>MET</i> .....	51

4.6.3. <i>UV-Vis</i> .....	51
4.6.4. <i>GD-OES</i> .....	52
4.6.5. <i>AFM</i> .....	52
4.6.6. <i>XPS</i> .....	52
<b>5. Resultados e Discussões</b> .....	<b>53</b>
5.1. Tratamento do Efluente Industrial para Reuso .....	53
5.1.1. <i>Desinfecção do Efluente Industrial com os Filmes Finos</i> .....	53
5.1.2. <i>Quantificação de Prata e Cobre no Efluente Industrial e nos Filmes Finos</i> .....	57
5.2. Caracterização dos Filmes Finos com AgNPs e CuNPs .....	59
5.2.1. <i>MEV-FEG</i> .....	59
5.2.2. <i>MET</i> .....	67
5.2.3. <i>UV-Vis</i> .....	71
5.2.4. <i>GD-OES</i> .....	73
5.2.5. <i>AFM</i> .....	76
5.2.6. <i>XPS</i> .....	78
<b>6. Conclusão</b> .....	<b>85</b>
<b>7. Referências</b> .....	<b>87</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fórmulas estruturais dos polieletrólitos PAH e PAA em meio ácido.....	23
<b>Figura 2.</b> Representação das cadeias poliméricas dos polieletrólitos PAH e PAA em diferentes valores de pH e sua conformação nas multicamadas.....	25
<b>Figura 3. (a)</b> Representação esquemática do processo de preparação de um filme pela técnica LbL sobre um substrato sólido. <b>(b)</b> Preparação da estrutura idealizada de um filme contendo as duas primeiras camadas de polieletrólitos.....	28
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por <i>dip coating</i> ....	30
<b>Figura 5:</b> Fórmula estrutural do glutaraldeído.....	40
<b>Figura 6.</b> Fluxograma esquemático da preparação dos filmes .....	44
<b>Figura 7.</b> Bicamadas poliméricas: <b>(a)</b> filme (PAH <sub>4,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> e <b>(b)</b> filme (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub>	45
<b>Figura 8.</b> Imagem do Petrifilm™ utilizado no ensaio de contagem de coliformes totais. Colônias vermelhas: coliformes totais. Colônias azuis: <i>Escherichia coli</i> .....	49
<b>Figura 9.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Ag_0.1098.....	59
<b>Figura 10. (a)</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Ag_0.2196.....	60
<b>Figura 10. (b)</b> Detalhe de <b>(a)</b> para visualização do tamanho das AgNPs.....	61
<b>Figura 11.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Ag_0.4392.....	62
<b>Figura 12.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Cu_0.1098.....	63
<b>Figura 13.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Cu_0.2196.....	63
<b>Figura 14.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> do filme 8/4 - luz UV Cu_0.4392.....	64
<b>Figura 15.</b> Imagem de <i>MEV-FEG</i> do filme (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> sem incorporação de nanopartículas e reticulado com GA .....	65
<b>Figura 16.</b> Imagens de <i>MEV-FEG</i> dos filmes: <b>(a)</b> 8/4 - luz UV Ag_0.1098, <b>(b)</b> 8/4 - luz UV Cu_0.1098, <b>(c)</b> 8/4 - luz UV Ag_0.2196, <b>(d)</b> 8/4 - luz UV Cu_0.2196, <b>(e)</b> 8/4 - luz UV Ag_0.4392 e <b>(f)</b> 8/4 - luz UV Cu_0.4392.....	66
<b>Figura 17.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag_0.1098 .....	67
<b>Figura 18.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag_0.2196 .....	68
<b>Figura 19.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag_0.4392 .....	68
<b>Figura 20.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu_0.1098.....	69
<b>Figura 21.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu_0.2196.....	69
<b>Figura 22.</b> Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu_0.4392.....	70
<b>Figura 23.</b> Espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Ag_0.1098, 8/4 - luz UV Ag_0.2196 e 8/4 - luz UV Ag_0.4392 .....	71

<b>Figura 24.</b> Espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Cu_0.1098, 8/4 - luz UV Cu_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu_0.4392 .....	72
<b>Figura 25.</b> Perfil de concentração de prata: (a) filme 8/4 - luz UV Ag_0.1098, (b) filme 8/4 - luz UV Ag_0.2196, (c) filme 8/4 - luz UV Ag_0.4392, (d) detalhe de (a, b e c) para melhor visualização das AgNP .....	74
<b>Figura 26.</b> Perfil de concentração do cobre: (a) filme 8/4 - luz UV Cu_0.1098, (b) filme 8/4 - luz UV Cu_0.2196, (c) filme 8/4 - luz UV Cu_0.4392, (d) detalhe de (a, b e c) para melhor visualização das CuNPs.....	75
<b>Figura 27.</b> Imagens de AFM: (a) substrato de silício, (b) filme (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> sem nanopartículas e reticulação, (c) filme 8/4 - luz UV Ag_0.1098, (d) filme 8/4 - luz UV Cu_0.1098, (e) filme 8/4 - luz UV Ag_0.2196, (f) filme 8/4 - luz UV Cu_0.2196, (g) filme 8/4 - luz UV Ag_0.4392 e (h) filme 8/4 - luz UV Cu_0.4392 .....	77
<b>Figura 28.</b> Espectro de alta resolução na faixa de energia dos elétrons da prata do filme 8/4 - luz UV Ag_0.2196 .....	79
<b>Figura 29.</b> Espectros de alta resolução na faixa de energia dos elétrons do cobre do filme 8/4 - luz UV Cu_0.2196 .....	79
<b>Figura 30.</b> Espectros de alta resolução na faixa de energia dos elétrons do carbono para os filmes: (a) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> sem reticulação, (b) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> reticulado com GA, (c) 8/4 - luz UV Cu_0.2196 e (d) 8/4 - luz UV Ag_0.2196.....	81
<b>Figura 31.</b> Espectros de alta resolução na faixa de energia dos elétrons do oxigênio para os filmes: (a) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> sem reticulação, (b) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> reticulado com GA, (c) 8/4 - luz UV Cu_0.2196 e (d) 8/4 - luz UV Ag_0.2196.....	82
<b>Figura 32.</b> Espectros de alta resolução na faixa de energia dos elétrons do nitrogênio para os filmes: (a) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> sem reticulação, (b) (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> reticulado com GA, (c) 8/4 - luz UV Cu_0.2196 e (d) 8/4 - luz UV Ag_0.2196.....	83

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Mudança do $pK_a$ aparente de uma solução diluída para filmes multicamadas (+ ou – indicam aumento ou diminuição no $pK_a$ aparente quando comparados aos valores da solução diluída) .....	25
<b>Tabela 2.</b> Codificação das amostras para os filmes (PAH <sub>4,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> e (PAH <sub>8,0</sub> /PAA <sub>4,0</sub> ) <sub>21</sub> ..	47
<b>Tabela 3.</b> Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após o tratamento com os filmes finos.....	53
<b>Tabela 4.</b> Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após 360 min de tratamento com os filmes finos.....	55
<b>Tabela 5.</b> Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após 30 e 120 min de tratamento com os filmes finos.....	56
<b>Tabela 6.</b> Percentuais de redução da <i>E. coli</i> no efluente industrial após 5, 120 e 360 min de tratamento com os filmes 8/4 - luz UV Ag_0.2196 reticulados com a enzima TG e o GA.....	57
<b>Tabela 7.</b> Concentração de prata e cobre no efluente industrial, após o tratamento por 120 min, e nos filmes não utilizados .....	58
<b>Tabela 8.</b> Variação do tamanho médio das AgNPs e CuNPs visualizadas nos filmes por MET ..	70
<b>Tabela 9.</b> Rugosidades calculadas a partir das imagens de AFM.....	78
<b>Tabela 10.</b> Composição dos elementos químicos presentes nos filmes.....	84

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\lambda$ : comprimento de onda

°C: graus Celsius

$\mu\text{m}$ : micrômetro

$\mu\text{g}$ : micrograma

AFM: microscopia de força atômica

AgNPs: nanopartículas de prata

ALD: deposição atômica por vapor

CETENE: Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste

$\text{cm}^2$ : centímetro quadrado

CuNPs: nanopartículas de cobre

CVD: deposição química em fase vapor

DNA: ácido desoxirribonucleico

GA: glutaraldeído

GD-OES: espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente

h: hora

$K_a$ : constante de acidez

kV: quilovolt

L: litro

LbL: *Layer-by-Layer*

m: massa

MET: microscopia eletrônica de transmissão

MEV-FEG: microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo

mg: miligrama

min: minuto

mL: mililitro

$M_w$ : massa molar em massa

mmol: milimol

m/V: massa/volume

nm: nanômetro

PAA: poli(ácido acrílico)

PAH: poli(hidrocloro de alilamina)

PEM: multicamadas de polieletrólitos

pH: potencial hidrogeniônico

$pK_a$ : cologaritmo da constante de acidez

PVD: deposição física por vapor

PECVD: deposição química por vapor reforçada por plasma

s: segundo

TG: transglutaminase

UV: ultravioleta

v: volume

v/v: volume/volume

Vis: visível

XPS: espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X

## RESUMO

O fornecimento e o acesso à água potável é um dos grandes desafios deste século. Nesta perspectiva, o rápido avanço da Nanotecnologia tem contribuído significativamente para o desenvolvimento e a produção de nanomateriais, objetivando melhorar o desempenho e a eficiência dos processos de descontaminação da água. Desse modo, o presente trabalho teve por objetivo preparar e caracterizar filmes automontados de poli(hidroclorato de alilamina) (PAH) e poli(ácido acrílico) (PAA) contendo nanopartículas de prata (AgNPs) e de cobre (CuNPs), visando sua posterior aplicação no tratamento terciário de efluentes industriais para reuso. As AgNPs e CuNPs foram sintetizadas por meio da (i) redução de sais de prata e de cobre (II) em meio aquoso, com posterior incorporação das mesmas nos filmes finos de PAH/PAA, e (ii) pela irradiação direta dos filmes finos de PAH/PAA com luz ultravioleta (UV), após a imersão dos mesmos em soluções salinas de prata e cobre (II). Após a automontagem, os filmes foram caracterizados por meio de diferentes técnicas instrumentais, incluindo a espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), a espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GD-OES), a microscopia de força atômica (AFM), a microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (*MEV-FEG*), a espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS), a espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) e a microscopia eletrônica de transmissão (MET). De maneira geral, os espectros de UV-Vis e GD-OES comprovaram a incorporação/formação de AgNPs e de CuNPs/óxido de cobre (II) nos filmes finos desse trabalho. Os testes realizados com o efluente industrial evidenciaram que todos os filmes desenvolvidos apresentaram atividade bactericida frente a coliformes totais, com variação de 14 a 100% em termos de inibição. Os filmes contendo AgNPs, por sua vez, apresentaram atividade bactericida 5% superior, quando comparados aos filmes contendo CuNPs. Além disso, os filmes preparados a partir da irradiação direta com luz UV apresentaram a maior eficiência inibitória (superior a 90%) e, dessa forma, foram avaliados em função da variação da concentração do sal precursor. De maneira geral, observou-se através da caracterização por *MEV-FEG* e MET que a alteração na concentração do sal promoveu uma variação em termos de tamanho das nanopartículas incorporadas aos filmes (10-250 nm para as AgNPs e 10-170 nm para as CuNPs). O tratamento do efluente industrial para reuso com os filmes obtidos pelo método (ii), por sua vez, reduziu de 91 a 100% a contagem total de coliformes presentes no efluente industrial bruto (sem tratamento), sendo que o filme obtido na concentração 0,1098 mmol/L de  $\text{Ag}^+$  foi o material com maior eficácia. Finalmente, considerando-se a facilidade de aplicação, o baixo impacto ambiental, e a ação inibidora satisfatória, os filmes desenvolvidos neste trabalho apresentam um grande potencial para serem utilizados como auxiliares no tratamento terciário de efluentes industriais.

**Palavras-chave:** nanopartículas de prata (AgNPs), nanopartículas de cobre (CuNPs), filmes finos, atividade bactericida, tratamento terciário, efluentes industriais, reuso.

## ABSTRACT

The supply and access to drinking water is one of the great challenges of this century. In this perspective, the rapid advancement of Nanotechnology has contributed significantly to the development and production of nanomaterials, aiming to improve the performance and efficiency of water decontamination processes. Thus, the main goal of this work was to prepare and characterize self-assembled thin films of poly(allylamine hydrochloride) (PAH) and poly(acrylic acid) (PAA) containing silver nanoparticles (AgNPs) and copper (CuNPs) for their subsequent application in the tertiary treatment of industrial effluents for reuse. The AgNPs and CuNPs were synthesized by (i) reducing silver and copper (II) salts in aqueous medium, with subsequent incorporation in PAH/PAA thin films, and (ii) by direct irradiation of the PAH/PAA thin films with ultraviolet (UV) light after immersion in silver and copper (II) salt solutions. After self-assembling, the thin films were characterized by different instrumental techniques, including ultraviolet and visible (UV-Vis) molecular absorption spectroscopy, glow discharge optical emission spectroscopy (GD-OES), atomic force microscopy (AFM), field emission scanning electron microscopy (FESEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), inductively coupled argon plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) and transmission electron microscopy (TEM). In general, the UV-Vis and GD-OES spectra confirmed the incorporation/formation of AgNPs and CuNPs/copper (II) oxide in the thin films. The tests carried out with the industrial effluent showed that all the films developed presented bactericidal activity against total coliforms, ranging from 14 to 100% in terms of inhibition. The films containing AgNPs, by other hand, presented bactericidal activity 5% higher when compared to the films containing CuNPs. In addition, the films prepared from direct irradiation with UV light showed the highest inhibitory efficiency (greater than 90%) and, therefore, were evaluated as a function of the variation of the precursor salt concentration. In general, it was observed through the characterization by FESEM and TEM that the change in salt concentration promoted a variation in terms of size incorporated into the films (10-250 nm for AgNPs and 10-170 nm for CuNPs). The treatment of the industrial effluent for reuse with the films obtained by method (ii), in turn, reduced the total count of coliforms present in the raw industrial effluent (untreated) from 91 to 100%, being that the film obtained at the concentration 0.1098 mmol/L Ag<sup>+</sup> was the most efficient material. Finally, considering the ease of application, the low environmental impact, and the satisfactory inhibitory action, the films developed in this work present a great potential to be used as auxiliaries in the tertiary treatment of industrial effluents.

**Keywords:** silver nanoparticles (AgNPs), copper nanoparticles (CuNPs), thin films, antibacterial activity, tertiary treatment, industrial effluents, reuse.

## 1. Introdução

Atualmente, cerca de 780 milhões de pessoas no mundo sofrem com a escassez de água. De acordo com os especialistas, em 2025, cerca de 1,8 bilhões de pessoas não terão acesso à água potável. Evidências científicas indicam que a escassez de água ocorrerá globalmente, mesmo em regiões que agora são consideradas ricas em água (Navarro-Ortega et al., 2015). Em todo o mundo, o sistema de abastecimento de água se esforça para acompanhar o rápido crescimento da demanda, o que vem sendo agravado pelo crescimento da população, pelas mudanças climáticas e pela deterioração da qualidade dos corpos hídricos.

Hoje em dia, o ambiente aquático tem sido poluído por várias atividades industriais ou humanas, e a água contaminada com organismos patogênicos é usada por milhões de pessoas (Oprčkalet al., 2017), o que representa uma grande ameaça para a saúde pública, uma vez que essa é uma das principais causas para a transmissão de doenças. Portanto, a necessidade em se desenvolver novos materiais e tecnologias de tratamento de água de baixo custo e que sejam eficientes na remoção desses micro-organismos tem se tornado cada vez mais urgente (Liu et al., 2014). Aproximadamente 12 milhões de pessoas morrem no mundo anualmente, devido a doenças transmitidas pela água (WHO, 2012). Nesse contexto, diferentes técnicas têm sido utilizadas para a desinfecção de águas contaminadas, tais como a cloração (Noutsopoulos et al., 2014), o tratamento por radiação ultravioleta (UV) (Vaferi et al., 2014) e a ozonização (Szymanska et al., 2014). Entretanto, essas técnicas apresentam, dentre outros problemas, limitações na implementação em larga escala (Ahmad et al., 2015).

Em pouco mais de 15 anos, a Nanotecnologia propiciou o desenvolvimento de uma vasta gama de novas tecnologias para aplicações domésticas e industriais, que vão desde a liberação controlada de medicamentos, até novos métodos para o tratamento de águas contaminadas (Crane e Scott, 2012). A aplicação de materiais em escala nanométrica, por exemplo, permitiu melhorar os métodos de tratamento de resíduos, incluindo a redução ou eliminação de contaminantes presentes na água (Oves et al., 2015).

O interesse em nanopartículas metálicas como agentes antimicrobianos vem crescendo nas últimas décadas. O grande número de nanopartículas que podem ser sintetizadas e sua elevada área superficial permitem que esses materiais sejam extremamente eficientes em processos de desinfecção, mesmo em quantidades muito pequenas (Sundaresan et al., 2012). Nanopartículas de prata (AgNPs), por exemplo, têm sido amplamente utilizadas no tratamento de efluentes industriais, uma vez que as mesmas apresentam elevada ação bactericida contra uma ampla faixa de micro-organismos, incluindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas,

fungos e vírus (Marambio-Jones e Hoek, 2010). As nanopartículas de cobre (CuNPs), por outro lado, apresentam baixa toxicidade para mamíferos, mas são tóxicas para diversos micro-organismos, o que implica em novas perspectivas para a desinfecção de águas contaminadas (Zain et al., 2014). Inúmeros estudos têm avaliado o desempenho biocida de materiais contendo AgNPs e CuNPs contra vários tipos de bactérias, tais como *Staphylococcus aureus* (Jokar et al., 2010), *Escherichia coli* (Zapata et al., 2011), *Klebsiella pneumonia* (Vimala et al., 2010), *Pseudomonas aeruginosa* (Perkas et al., 2007), *Enterobacter cloacae* (Kim et al., 2007), *Salmonella typhimurium* (Cárdenas et al., 2009) e *Listeria monocytogenes* (Cioffi et al., 2005). Pesquisadores recomendaram o uso de íons prata e cobre como desinfetantes para águas residuais geradas a partir de hospitais, contendo micro-organismos infecciosos (Lin et al., 1996; Lin et al., 1998; Ruparelia et al., 2008).

As nanopartículas metálicas com atividade bactericida podem ser imobilizadas em superfícies diversas, podendo ser aplicadas em dispositivos médicos, no tratamento de água e no processamento de alimentos. As nanopartículas metálicas podem ainda ser combinadas com polímeros para formar compósitos para uma melhor utilização de sua atividade antimicrobiana (Ruparelia et al., 2008).

Nesse contexto, os filmes automontados com polieletrólitos de cargas opostas ganharam um considerável interesse científico, devido as suas inúmeras aplicações (Ferreira et al., 2004; Cheng et al., 2005; Tang et al., 2015), incluindo o tratamento de efluentes industriais para reuso. Um dos métodos mais utilizados para a fabricação desses materiais baseia-se na automontagem de multicamadas poliméricas diferenciadas por meio da técnica de camada por camada (do inglês “*layer-by-layer*” – LbL) (Trivinho-Strixino et al., 2004).

Esses sistemas automontados são considerados um excelente meio para nanopartículas metálicas, o que possibilita a produção de materiais com características bem específicas. A incorporação dessas nanopartículas pode afetar significativamente as propriedades dos filmes finos produzidos (Dubas et al., 2006; Li et al., 2006). Os filmes obtidos podem apresentar melhorias nas propriedades ópticas, térmicas, mecânicas, elétricas, magnéticas, entre outras (Decher, 1997; Hou et al., 2015). Tais propriedades dependem da maneira como a incorporação das nanopartículas é realizada, do seu tamanho e forma, da concentração e do tipo de interação com a matriz polimérica (Sówka et al., 2006).

Os filmes finos desenvolvidos neste trabalho foram preparados através da técnica LbL, a partir de soluções de polieletrólitos fracos (poli(hidrocloro de alilamina) – PAH e poli(ácido acrílico) – PAA) e AgNPs e CuNPs, utilizando os reticulantes glutaraldeído (GA) e

transglutaminase (TG), visando sua posterior aplicação no tratamento terciário de efluentes industriais para reuso.

## 2. Objetivos

### 2.1. Objetivo Geral

O objetivo principal deste trabalho é comparar a eficiência bactericida de filmes finos de polieletrólitos contendo AgNPs e CuNPs, visando o desenvolvimento de materiais que possam ser utilizados como auxiliares na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso.

### 2.2. Objetivos Específicos

a) Preparar filmes finos, utilizando o poli(hidrocloro de alilamina) (PAH) como policação, e o poli(ácido acrílico) (PAA) como poliânion;

b) Sintetizar AgNPs e CuNPs por meio de dois métodos distintos: *(i)* pela redução de sais de prata e de cobre (II) em meio aquoso, com posterior incorporação das mesmas nos filmes finos de PAH/PAA, e *(ii)* pela irradiação direta dos filmes finos de PAH/PAA com luz ultravioleta, após a imersão dos mesmos em soluções de nitrato de prata e sulfato de cobre (II) pentaidratado;

c) Caracterizar e comparar as propriedades físico-químicas (espessura e rugosidade dos filmes, tamanho e formato das nanopartículas) dos dois tipos de filmes finos de PAH/PAA, através das técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), microscopia de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (*MEV-FEG*), espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GD-OES), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS);

d) Efetuar a desinfecção de uma amostra de efluente proveniente da estação de tratamento de uma empresa de artigos de cutelaria da região com os dois tipos de filmes finos de PAH/PAA;

e) Comparar a eficiência bactericida entre os dois tipos de filmes finos de PAH/PAA.

### 3. Revisão Bibliográfica

#### 3.1. Filmes Finos

A obtenção de materiais na forma de filmes finos corresponde a um desafio científico e tecnologicamente importante, uma vez que esses materiais apresentam uma infinidade de aplicações em diversos dispositivos (Oliveira e Zarbin, 2005). O desenvolvimento de filmes finos está em constante e acentuado aprimoramento, envolvendo profissionais das mais variadas áreas do conhecimento, como físicos, biólogos, químicos e engenheiros, em geral (Streltsov et al., 2015).

Filmes finos são usados em muitos domínios de aplicação, tais como na produção de hidrogênio (Dal'Acqua et al., 2013), no desenvolvimento de materiais bactericidas (Wojcieszak et al., 2016), no tratamento de efluentes industriais (Zarpelon et al., 2016), em aplicações biomédicas (Lopes et al., 2015), na produção de dispositivos fotovoltaicos (Ashraf et al., 2015), entre outras. Esses materiais podem ser depositados através de uma grande variedade de técnicas, sendo muito importantes para o desenvolvimento de produtos aperfeiçoados (Jesus, 2009; Popiolski, 2011).

Os mesmos podem ser classificados de acordo com a fase do meio contendo seu precursor, como sólidos, líquidos ou gasosos (Oliveira e Zarbin, 2005). A preparação de revestimentos é realizada por meio de processos secos, tais como a deposição química em fase vapor (CVD), a deposição atômica por vapor (ALD) (processo que é considerado como uma modificação do processo CVD), a deposição física por vapor (PVD), e a deposição química por vapor reforçada por plasma (PECVD); ou por processos úmidos, incluindo o revestimento por pulverização, rotação, e imersão. Os métodos úmidos são bem adaptados para a preparação de materiais multifásicos, uma vez que qualquer composto não volátil, que é disperso ou dissolvido na solução, será distribuído homoganeamente ou organizado em filmes e com um bom controle da espessura (Grosso, 2011).

As técnicas envolvendo deposição em fase líquida geralmente envolvem a dissolução de um precursor em um solvente adequado, seguida de sua deposição na superfície do substrato e subsequente evaporação controlada do solvente e/ou tratamento térmico. A utilização de precursores envolvendo esse tipo de deposição apresenta uma série de vantagens sobre outras rotas de deposição, como: *(i)* grande variedade de precursores disponíveis, *(ii)* estruturas complexas (ou partículas) podem ser obtidas em solução e depositadas sobre o substrato, e *(iii)* os equipamentos necessários para a deposição são mais simples e baratos que

os análogos para a deposição a partir de precursores gasosos (como em um processo de CVD, por exemplo) (Oliveira e Zarbin, 2005).

### 3.2. Polieletrólitos

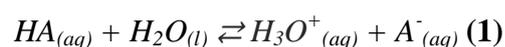
Um polieletrólito é um polímero no qual os monômeros são sais de grupos iônicos e não-metálicos (Popielski, 2011). Possuem uma grande quantidade de monômeros ionizáveis e são, em geral, solúveis em solventes polares (Silva, 2006). Eles apresentam grande utilidade em indústrias químicas e possuem um amplo campo de aplicação, como auxiliares de filtração, estabilizantes de suspensões cerâmicas, auxiliares na clarificação de água nas estações de tratamento, como coagulantes em estações de tratamento de esgoto, na indústria de papel, entre outras (Honse, 2008).

Os polieletrólitos podem ser classificados de acordo com vários critérios. Com base na origem, eles podem ser naturais ou sintéticos. Em relação à composição, eles podem ser homopolímeros (resultante da polimerização de um único monômero) ou copolímeros (resultante da polimerização de dois ou mais monômeros). Baseado na arquitetura molecular são lineares ou ramificados (possuem pequenas cadeias laterais), podendo ou não possuir ligações cruzadas entre as cadeias. Finalmente, quanto à natureza química dos grupos ionizáveis, eles podem ser classificados como poliácidos, polibases e polianfóteros (Lankalapalli e Kolapalli, 2009).

Os poliácidos com grupos funcionais  $-\text{COOH}$  e  $-\text{SO}_3\text{H}$  podem se dissociar em poliânions e prótons. As polibases com grupos  $-\text{NH}_2$ , por outro lado, podem se ligar a um próton, gerando polications. Polieletrólitos que possuem tanto grupos ácidos como básicos são denominados de polianfóteros, sendo carregados positivamente ou negativamente em pH baixo ou alto, respectivamente (Silva, 2006).

Os polieletrólitos podem também ser classificados como fortes ou fracos. O polieletrólito será considerado forte quando seu grau de ionização não depender do pH da solução, ou seja, sua densidade de carga será sempre alta. Por outro lado, nos polieletrólitos fracos, a densidade de carga depende do pH da solução e de outras condições do meio, como força iônica e temperatura (Choi e Rubner, 2005; Hess et al., 2006).

Outra classificação para os polieletrólitos pode ser dada em função do  $pK_a$  do grupo ácido. Para um ácido fraco HA qualquer, sua dissociação em água fica sujeito a um equilíbrio (**Equação 1**):

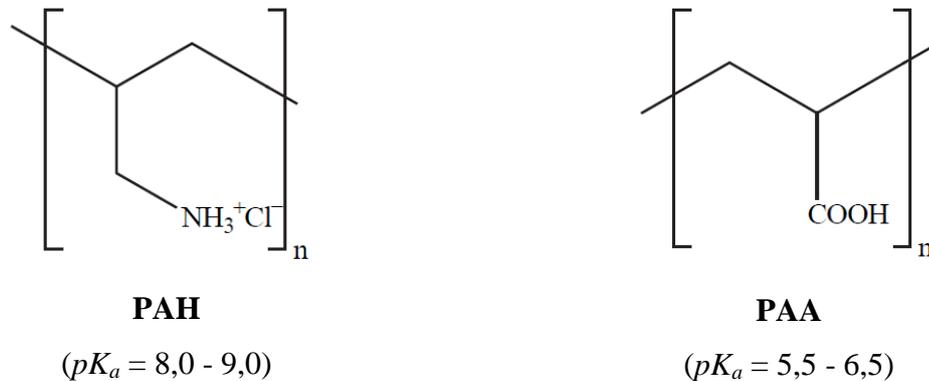


A constante de acidez, ou constante de dissociação ácida  $K_a$  (**Equação 2**), é definida como sendo:

$$K_a = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]} \quad (2)$$

A constante de acidez  $K_a$  é proporcional à concentração dos íons formados. Quanto maior o valor de  $K_a$ , mais ionizado estará o ácido em meio aquoso, e conseqüentemente maior será a concentração hidrogeniônica em solução. Como o  $pK_a$  é o cologaritmo negativo da constante de acidez, um baixo valor de  $pK_a$  indica uma maior tendência à ionização (Silva, 2006). Para soluções aquosas formadas por ácidos fracos, o valor do pH corresponde ao valor do  $pK_a$  desta solução, isto é,  $[HA] = [A^-]$ . Deste modo, a fração das espécies não ionizadas (protonada) é igual à fração das espécies ionizadas (desprotonadas) (Allinger, 1978; Atkins e Jones, 2006).

Na preparação dos filmes finos deste trabalho foram utilizados dois polieletrólitos fracos de cargas opostas, sendo o PAH o policátion, e o PAA o poliânion (**Figura 1**).



**Figura 1.** Fórmulas estruturais dos polieletrólitos PAH e PAA em meio ácido.

A polibase fraca (PAH) tem valor de  $pK_a$  entre 8,0-9,0. Assim, em valores de pH inferiores ao  $pK_a$ , esse polieletrólito está parcialmente protonado, ou seja, carregado na forma  $-NH_3^+$ . As cadeias poliméricas estão mais distendidas, devido à repulsão entre as cargas eletrostáticas, e as camadas geradas nos filmes são mais finas. Por outro lado, quando o pH do meio é superior ao valor de  $pK_a$ , o PAH encontra-se com parte dos seus grupos amino desprotonados na forma  $-NH_2$ . Dessa forma, suas cadeias estão mais enoveladas, devido à diminuição da repulsão entre as cargas eletrostáticas, e as camadas geradas nos filmes são mais espessas (Choi e Rubner, 2005).

O políácido fraco (PAA), por sua vez, tem valor de  $pK_a$  entre 5,5-6,5. Assim, em valores de pH inferiores ao  $pK_a$ , este encontra-se protonado, ou seja, a maioria dos grupos ácidos está na forma não ionizada ( $-\text{COOH}$ ). Nessa condição de pH, as cadeias poliméricas ficam mais enoveladas, gerando camadas mais espessas nos filmes. Por outro lado, quando o pH do meio é superior ao valor de  $pK_a$ , o PAA está desprotonado, com a maioria dos grupos ácidos na forma de carboxilato ( $-\text{COO}^-$ ). Dessa forma, suas cadeias ficam mais distendidas e as camadas geradas nos filmes são mais finas (Choi e Rubner, 2005).

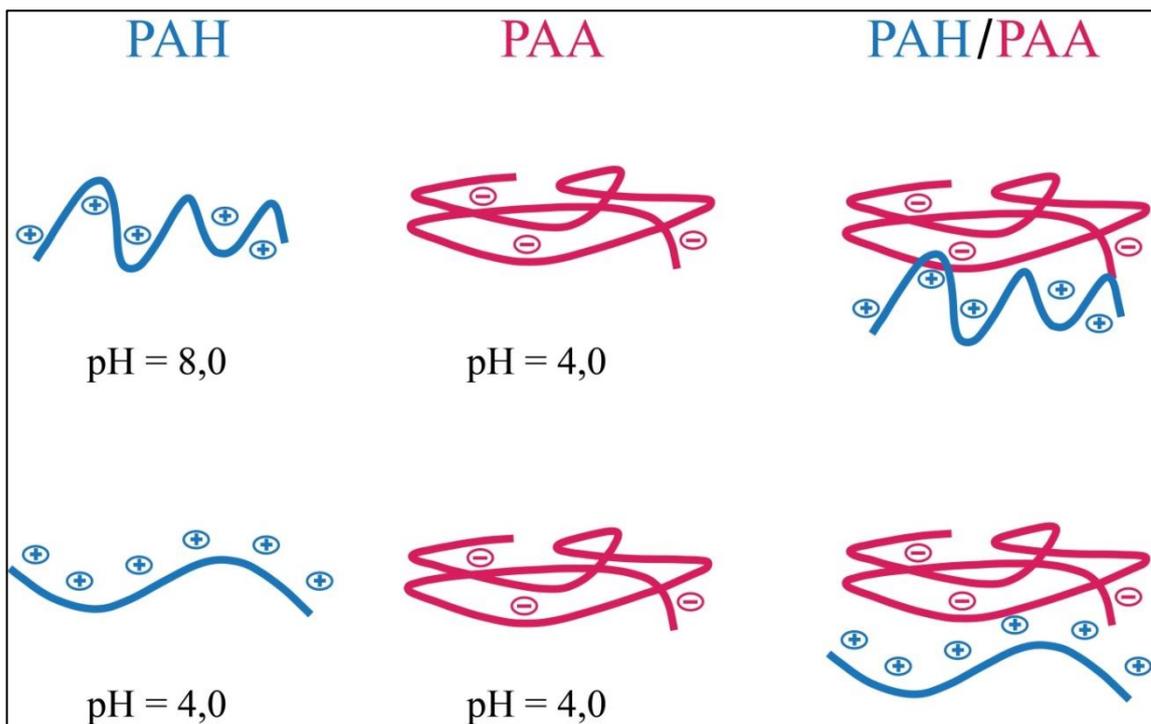
### 3.2.1. Definição do pH dos Polieletrólitos

A utilização de polieletrólitos fracos pode produzir sistemas com propriedades interessantes, pois essas espécies sofrem mudanças no seu grau de ionização quando o pH da solução é alterado. O aumento da força iônica da solução causa um aumento na repulsão entre as cargas eletrostáticas da molécula do polieletrólito, resultando em alterações na espessura e rugosidade do filme automontado (Hussein, 2015). Essas mudanças acabam acontecendo, uma vez que as moléculas tendem a enovelar-se ou estender-se, dependendo da intensidade de repulsão eletrostática entre as cadeias poliméricas (Choi e Rubner, 2005). Dessa forma, é possível preparar filmes, a partir de um mesmo polieletrólito, mas com propriedades físico-químicas completamente diferentes. Isto é, em grande parte, resultado do fato de a densidade de carga das cadeias do polieletrólito em solução influenciar na forma como as camadas são adsorvidas em uma superfície, o que, por sua vez, determina as propriedades totais dos filmes (Yoo et al., 1998).

Utilizando-se da sensibilidade de polieletrólitos fracos em função do pH, Rubner e colaboradores (1998 e 2000) foram capazes de demonstrar que poderiam facilmente manipular a densidade de carga dos filmes formados (Yoo et al., 1998; Shiratori e Rubner, 2000). Os filmes podem ser montados, de tal modo que os mesmos sejam constituídos em maior parte por um ou por outro polieletrólito, simplesmente trabalhando em um valor de pH em que um dos polieletrólitos esteja fracamente carregado, enquanto o outro está fortemente carregado (Burke e Barrett, 2004).

Filmes finos desenvolvidos a partir de polieletrólitos fracos, quando em solução, podem apresentar inchamento. Na maioria dos casos, o inchamento induzido pelo pH dos filmes é reversível; no entanto, a exposição a condições extremas da solução, tais como concentração elevada, pode levar a um inchamento exagerado a ponto de destruir os filmes, devido ao rompimento das interações secundárias que mantêm as camadas unidas entre si (Burke e Barrett, 2004).

A **Figura 2** apresenta a conformação das cadeias poliméricas dos polieletrólitos em função dos valores de pH utilizados para a deposição dos filmes desenvolvidos nesse trabalho. O grau de ionização de um polieletrólito fraco também pode alterar significativamente quando o mesmo é incorporado em um meio de múltiplas camadas (Shiratori e Rubner, 2000; Petrov et al., 2003; Sui e Schlenoff, 2004). Esse efeito é mais pronunciado quando a montagem ocorre entre dois polieletrólitos de cargas opostas, como é o caso do PAA e do PAH (Choi e Rubner, 2005). De fato, as constantes de dissociação aparente de polieletrólitos fracos pode deslocar de 1 a 4 unidades de pH após a incorporação em filmes de camadas múltiplas, se comparada a uma solução diluída (**Tabela 1**) (Burke e Barrett, 2004).



**Figura 2.** Representação das cadeias poliméricas dos polieletrólitos PAH e PAA em diferentes valores de pH e sua conformação nas multicamadas.

**Tabela 1.** Mudança do  $pK_a$  aparente de uma solução diluída para filmes multicamadas (+ ou - indicam aumento ou diminuição no  $pK_a$  aparente quando comparados aos valores da solução diluída). Adaptado de Burke e Barrett (2004).

Combinação multicamadas	Polieletrólito na superfície	Mudança $pK_a$
PAH/PAA	PAH	+ 2
PAH/PAA	PAA	- 4

Os resultados sugerem que a constante de dissociação diminui na adsorção para o PAA, e aumenta no caso do PAH. Esses desvios do comportamento ideal podem ser substanciais, mudando por tanto em até 4 unidades de pH, e os deslocamentos podem tornar-se mais pronunciados à medida que o número de camadas adsorvidas aumenta. Além disso, verificou-se que esses deslocamentos nos valores de  $pK_a$  aparente são influenciados pelo pH da solução utilizada para montar os filmes finos, mas mostram pouca dependência com a concentração utilizada nas soluções de montagem (Burke e Barrett, 2004).

O comportamento de dissociação de um grupo funcional fraco pode ser influenciado pelo seu ambiente local através de uma série de efeitos, incluindo efeitos eletrostáticos, hidrofóbicos e químicos (Yoo et al., 1998).

Nas soluções em que o PAH e o PAA apresentam pH iguais a 8,0 e 4,0, respectivamente, as cadeias do PAA possuem baixo grau de ionização (~7%) em relação às cadeias de PAH (~68%). Nesses valores de pH, durante a formação do filme, o grau de ionização do PAA é aumentado de ~7% para ~63% (Choi e Rubner, 2005). Dessa forma, a maioria dos grupos  $-NH_3^+$  do PAH neutralizam as cargas dos grupos  $-COO^-$ , restando uma pequena fração de grupos  $-NH_3^+$  livres nas multicamadas (Decher e Schlenoff, 2002; Choi e Rubner, 2005). O grau de ionização do PAA aumenta ainda mais quando o filme é colocado em contato com uma solução de pH maior do que 2,5 (Choi e Rubner, 2005), como é o caso nesse trabalho, onde a solução de AgNPs e CuNPs (que serão incorporadas aos filmes finos após a automontagem) apresentam valores de pH iguais a 6,0 e 3,5, respectivamente.

Nas soluções em que o PAH e o PAA apresentam pH iguais a 4,0, por outro lado, as cadeias do PAH possuem elevado grau de ionização (~95%). As cadeias do PAA, por outro lado, estão apenas 7% ionizadas nesse pH. Entretanto, quando o filme está sendo formado, o grau de ionização do PAA aumenta para ~70% (Yoo et al., 1998). Isso resulta em um filme onde os grupos  $-NH_3^+$  e  $-COO^-$  estão totalmente interligados eletrostaticamente não restando grupos  $-NH_3^+$  e  $-COO^-$  livres no PAH e PAA, respectivamente, para promover a interação com espécies de cargas opostas (Decher e Schlenoff, 2002; Choi e Rubner, 2005). Essa condição de pH implicou, por exemplo, em uma menor incorporação de nanopartículas de ouro em trabalhos anteriores, onde foram preparados filmes de PAH/PAA e PAH/PSS em diferentes condições de pH (Chia et al., 2008; Machado et al., 2011).

Nas multicamadas, espera-se que a presença de uma grande quantidade de grupos catiônicos com carga oposta (efeito eletrostático) aumente o grau de ionização de PAA (em relação ao valor da solução), independentemente do tipo de polícatión usado para formar o filme. A magnitude desse efeito, no entanto, parece ser mediada pela natureza hidrofóbica do

polication e possivelmente, em menor grau, por uma reação ácido/base entre o poliácido e a polibase. Dessa forma, os grupos  $\text{-COO}^-$  do PAA podem reagir com os grupos  $\text{-NH}_3^+$  livres do PAH, aumentando o grau de ionização nas multicamadas de PAH/PAA (Yoo et al., 1998).

No caso do PAH, no entanto, a diferença entre o grau de ionização em solução e o grau de ionização no processo de formação do filme é menor do que no caso de PAA (Choi e Rubner, 2005). Em pH igual a 7,8, por exemplo, o grau de ionização do PAH em solução é de ~73%, enquanto no filme é de ~89% (Petrov et al., 2003).

### 3.3. Técnica de LbL

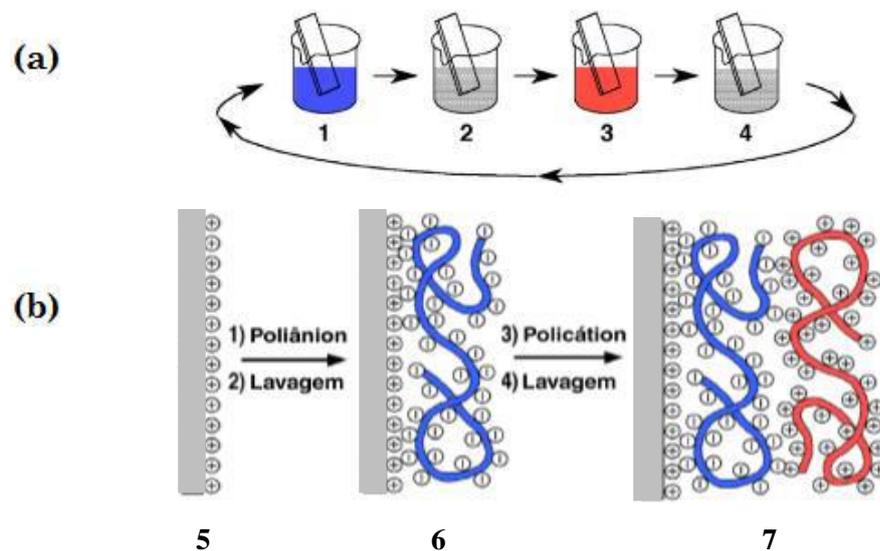
No campo da Ciência dos Materiais existe uma procura contínua por materiais que sejam progressivamente menores, da ordem de microns a nanômetros (Shimomura e Sawadaishi, 2001). Embora essa seja uma tarefa bastante difícil, muito progresso tem sido alcançado recentemente nessa área (Burke e Barrett, 2004).

Entre as múltiplas abordagens, a montagem camada por camada (LbL) representa uma técnica moderna para a modificação da superfície de diferentes tipos de substratos. A LbL foi relatada pela primeira vez por Iler (1966), que desenvolveu, através da interação eletrostática, uma estrutura de multicamadas compostas por cátions e partículas coloidais aniônicas. No entanto, foi redescoberta e otimizada décadas mais tarde quando Decher e Hong (1991) introduziram um método de preparação de materiais à base de polímeros, com as tão desejadas características nanométricas (Decher e Hong, 1991; Decher e Schlenoff, 2002).

A técnica envolve a deposição sequencial de polímeros de cargas opostas sobre um substrato carregado, a partir de soluções aquosas diluídas, o que a torna ambiental e economicamente atraente. As multicamadas de polieletrólitos (PEMs) resultantes são estáveis e uniformes, mas possuem arquiteturas altamente interpenetrantes (Schmitt et al., 1993), podendo ser depositadas em uma variedade de substratos, diferentes em tamanho, composição e geometria (Halasz et al., 2015). Essa técnica oferece ainda a possibilidade de incorporar nanopartículas, enzimas, micelas e dendrímeros (Volodkin et al., 2014) no interior das multicamadas durante a formação do filme, possibilitando várias aplicações (Bhalerao et al., 2015), tais como em eletrocatalise (Zheng et al., 2006), dispositivos eletrocromáticos (Sheng et al., 2011), permeação seletiva (Priolo et al., 2010), células de biocombustível (Sun et al., 2010), microeletrônica (Hiller et al., 2002), nanofluidos (DeRocher et al., 2010), revestimentos virucidas (Wong et al., 2010) e antibacterianos (Li et al., 2006; Dvoracek et al., 2009), e em engenharia de tecidos (Detzel et al., 2011). Nas últimas duas décadas, a LbL tornou-se muito popular no campo da pesquisa biomédica e vários artigos foram publicados a

respeito dos recentes avanços dessa técnica para outras aplicações, como a liberação controlada de fármacos (Ariga et al., 2011; De Koker et al., 2012) e o biossensoriamento (Vaferi et al., 2014; Bhalerao et al., 2015).

A **Figura 3** ilustra, esquematicamente, o mecanismo de preparação de um filme por LbL via interação eletrostática entre um polycátion e um poliânion, e a estrutura idealizada de um filme contendo uma bicamada, respectivamente.



**Figura 3.** (a) Representação esquemática do processo de preparação de um filme pela técnica LbL sobre um substrato sólido. (b) Preparação da estrutura idealizada de um filme contendo as duas primeiras camadas de polieletrólitos. Adaptado de Decher (1997).

Após a adsorção do poliânion (**Figura 3 (a) - Etapa 1**), a rede de cargas da superfície torna-se negativa. Esse substrato é então imerso em uma solução de lavagem para a remoção do material fracamente adsorvido (**Figura 3 (a) - Etapa 2**). Em seguida, imerge-se o substrato em uma solução contendo o polieletrólito carregado positivamente (**Figura 3 (a) - Etapa 3**) que gera uma nova rede de cargas positivas na superfície, seguida novamente da imersão em uma solução de lavagem (**Figura 3 (a) - Etapa 4**). Como resultado final, obtém-se uma bicamada de polieletrólitos sobre o substrato (**Figura 3 (b) - Etapa 7**). Esse processo pode ser repetido várias vezes, possibilitando a montagem de filmes com estruturas e espessuras desejadas.

A versatilidade da técnica está na formação de novas arquiteturas moleculares, baseadas em interações químicas secundárias. As interações eletrostáticas entre os poli-íons em solução e a superfície são fundamentais para a estrutura final do filme. É importante

ressaltar que a estruturação das moléculas também pode ocorrer por outros tipos de interação como quimissorção, ligações de hidrogênio, interações de van der Waals, interações hidrofóbicas, entre outras (Tang et al., 2006).

Outro benefício oferecido por essa técnica reside na capacidade de revestir peças de geometrias complexas mantendo, de maneira simples, a mesma estruturação de filmes depositados sobre superfícies planas. Os filmes obtidos a partir da técnica de LbL podem ser montados sobre superfícies de diferentes tamanhos e formas, incluindo metais, vidro, silício, polímeros com diferentes morfologias, membranas porosas e coloides (Caruso et al., 1998; Dal'Acqua, 2013), utilizando uma variedade de compostos, como polieletrólitos naturais e sintéticos (Crouzier et al., 2010), nanopartículas (Lan et al., 2006), e nanotubos de carbono (Zhang et al., 2010).

A técnica de LbL também permite uma variabilidade da arquitetura dos filmes e de suas propriedades físico-químicas, no que diz respeito à espessura, composição, conformação e molhabilidade, o que é altamente promissor para o desenvolvimento de novos materiais (Lim et al., 2015). O controle dessa arquitetura, e consequentemente das propriedades, é realizado por meio de diversos parâmetros, como a concentração química dos constituintes e suas respectivas massas molares (Sui et al., 2003), o pH da solução (Shiratori e Rubner, 2000; Hiller et al., 2002; Choi e Rubner, 2005), o número de camadas depositadas (Boura et al., 2003), a ordem na qual as camadas são depositadas (Detzel et al., 2011), o tempo de deposição, a força iônica do meio, e a temperatura (Decher, 1997; Shiratori e Rubner, 2000). Além disso, a estrutura das multicamadas também pode ser modificada pós-montagem por exposição do filme a condições diferentes das utilizadas durante a montagem do mesmo (Wong et al., 2010; Detzel et al., 2011).

A possibilidade de controlar as propriedades das camadas dos filmes através da variação da densidade de carga do polímero só foi explorada recentemente (Yoo et al., 1998; Shiratori e Rubner, 2000). Tipicamente, os filmes de camadas múltiplas eram preparados a partir de polieletrólitos fortes que permaneciam totalmente carregados ao longo de toda a faixa de pH, mas filmes multicamadas de polieletrólitos fracos passaram a ser desenvolvidos, devido ao seu comportamento ser sensível ao pH (Yoo et al., 1998; Shiratori e Rubner, 2000). A densidade de carga das cadeias dos polieletrólitos fracos é dependente do pH da solução. Isto afeta o comportamento das correntes de solução que, por sua vez, influencia a sua conformação na adsorção sobre uma superfície (Burke e Barrett, 2004).

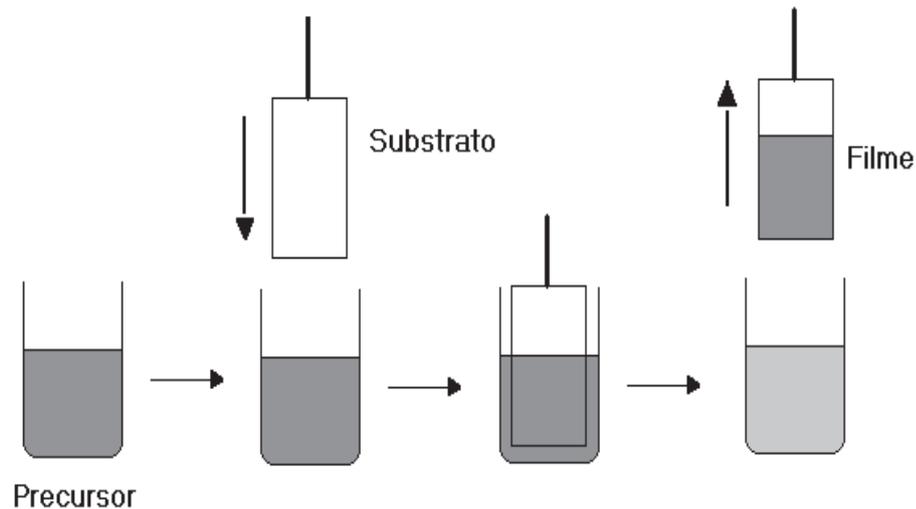
O processo de formação das multicamadas pode ser feito de diversas maneiras, incluindo as técnicas de *spin coating*, *casting* e *dip coating*. Uma breve descrição dessas

técnicas é apresentada em trabalhos anteriores (Jesus, 2009; Popiolski, 2011). Aqui, entretanto, será dada uma ênfase maior à técnica de *dip coating* que foi a técnica utilizada nesse trabalho para a preparação dos filmes finos.

### 3.3.1. LbL por Dip Coating

A técnica de *dip coating* (revestimento por imersão) é ideal para preparar filmes finos a partir de soluções químicas, uma vez que é um processo de baixo custo e que oferece um bom controle da espessura, além de não desperdiçar solução (Grosso, 2011). Por essas razões, essa técnica está se tornando cada vez mais comum, não só em laboratórios de pesquisa e de desenvolvimento, mas também na indústria, como revela o número crescente de publicações anuais (9, 180 e 480 artigos em 1990, 2000 e 2010, respectivamente) (Grosso, 2011).

A **Figura 4** ilustra o processo de obtenção de filmes pela técnica de *dip coating*.



**Figura 4.** Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por *dip coating* (Jesus, 2009).

O princípio dessa técnica consiste em mergulhar perpendicularmente um substrato dentro da solução contendo o precursor, e depois retirá-lo da mesma. Devido à aderência entre as moléculas da solução e da superfície do substrato, uma fina camada será formada. O processo de inserção e retirada do substrato na solução deve ser realizado com velocidade controlada e constante, e sem nenhum tipo de vibração ou interferência externa, de modo a garantir a deposição de um filme homogêneo. A espessura de revestimento geralmente aumenta com uma velocidade de retirada mais rápida, tendo em vista que a espessura é determinada pelo equilíbrio das forças no ponto de estagnação na superfície do líquido. Uma velocidade de retirada mais rápida puxa mais fluido para cima da superfície do substrato,

antes que tenha tempo para fluir de volta para dentro da solução. A espessura das camadas é principalmente afetada pela viscosidade e densidade do fluido, e pela tensão superficial (Shri Prakash et al., 2014).

O tempo de permanência do substrato na solução antes da sua retirada também é um fator de controle importante. Assim, para se obter filmes de qualidade, além das características do substrato e da solução precursora (solvente, concentração, viscosidade, tipo de precursor, dentre outros), é necessária a utilização de um equipamento que promova a imersão e a emersão do substrato com alta estabilidade, com controle fino da velocidade e livre de vibrações (Oliveira e Zarbin, 2005).

### 3.4. Nanopartículas Metálicas

Os recentes avanços em Nanotecnologia fizeram o campo da Nanociência uma das áreas mais pesquisadas nas últimas duas décadas. Em geral, nanopartículas são descritas como partículas com dimensões de diâmetro inferior ou igual 100 nm (Thakkar et al., 2010) e com propriedades específicas que dependem principalmente do seu tamanho (Hanemann e Szabó, 2010).

A Nanotecnologia e a Nanociência tornaram possível a produção de novos materiais em escala nanométrica com propriedades catalíticas (Singh et al., 2008), ópticas (Kelly et al., 2003), químicas, eletrônicas, magnéticas e mecânicas únicas, bastante distintas daquelas do seu estado original (Usman et al., 2012). As propriedades dos materiais nanométricos são dependentes do seu tamanho e forma (Sówka et al., 2006), e têm sido estudadas em vários dispositivos eletrônicos e ópticos.

Materiais compostos por conjuntos multidimensionais de nanopartículas estão se tornando cada vez mais importantes no contexto da Ciência dos Materiais e em áreas das Ciências Analíticas (Sun et al., 2009). Um material tem propriedades físicas constantes, independentemente do seu tamanho, mas em escala nanométrica, este não é frequentemente o caso. Há muitas razões para isso, incluindo o fato de que as nanopartículas possuem uma razão de aspecto muito alta (Thakkar et al., 2010).

As propriedades únicas de materiais em nanoescala têm dado origem a vários estudos direcionados para a fabricação, caracterização e aplicações de nanopartículas. Assim, alguns pesquisadores têm dado uma maior atenção ao desenvolvimento de novos métodos de síntese, a fim de produzir nanopartículas com novas propriedades ou funções melhoradas (Schröfel et al., 2014). Como exemplo de nanomateriais podem ser citados nanotubos, nanofios, nanopartículas de semicondutores, nanopartículas metálicas, dentre outros.

Nanopartículas metálicas têm representado um enorme potencial científico e tecnológico, devido às propriedades químicas e eletrônicas únicas, como alta atividade catalítica e estabilidade química (Besson et al., 2005). As nanopartículas de metais nobres (como ouro, prata e platina), em particular, despertam muito interesse por suas múltiplas propriedades físicas e químicas, sendo estudadas em vários campos, incluindo a Medicina (Pissuwan et al., 2011), a Biologia (Murphy et al., 2008), a Química Analítica (Silva et al., 2011), a Fotocatálise (Wang et al., 2011), a Eletrônica (Daniel e Astruc, 2004), a Tecnologia da Informação (Rosi e Mirkin, 2005), dentre outros (Ayadi e Legrand, 2014).

A configuração das nanopartículas metálicas pode variar em tamanho, forma e estrutura (Wang et al., 2011; Zhang et al., 2012). O estudo da variação da geometria e das propriedades eletrônicas é de grande importância, tanto do ponto de vista acadêmico quanto industrial, e tem atraído a atenção de vários pesquisadores nos últimos anos (Shams-nateri, 2012; Hou et al., 2015).

As nanopartículas metálicas são termodinamicamente instáveis e têm a tendência de se agregar e crescer. Assim, o grande desafio atualmente consiste exatamente em preparar nanomateriais estáveis (ou seja, que permaneçam nessa escala de tamanho sem sofrer decomposição, agregação e crescimento) e monodispersos, tanto em relação ao tamanho quanto à forma de suas partículas, de tal modo que possam ser manipulados, dispersos e depositados sobre substratos, sem perder suas características (Casanova, 2010).

Nas últimas décadas, houve um crescente interesse na utilização de nanopartículas metálicas como agentes antimicrobianos (Dai e Bruening, 2002). O grande número de nanopartículas que podem ser sintetizadas e a elevada área superficial, em relação ao volume, permitem que elas sejam eficientes em concentrações muito baixas (Sundaresan et al., 2012; Zain et al., 2014). O efeito bactericida das nanopartículas metálicas tem sido atribuído ao seu tamanho pequeno e à alta relação superfície/volume, o que lhes permite interagir diretamente com as membranas microbianas, e não simplesmente devido à liberação de íons metálicos em solução (Morones et al., 2005; Ruparelia et al., 2008).

#### *3.4.1. Nanopartículas de Prata*

A prata é conhecida por sua eficácia antimicrobiana desde o início do século XVIII. Tradicionalmente, a prata é utilizada para controlar infecções e prevenir a deterioração dos alimentos (Kuppusamy et al., 2014), porém o efeito antimicrobiano da mesma tem sido utilizado em diferentes campos da Medicina como, por exemplo, na profilaxia da oftalmia neonatal, na cicatrização de feridas, como material de curativos para ossos, em cimento de

dentos, e em biomateriais (Lima, 2011). Sais de prata, principalmente o nitrato de prata, já foram usados para o tratamento de úlceras (Singh et al., 2013). A atividade antimicrobiana da prata foi reconhecida pelo meio acadêmico no século XIX; no entanto, somente na década de 1920, seu uso foi aprovado pela *US Food and Drug Administration* (FDA).

Com o descobrimento dos antibióticos, por volta de 1940, os coloides à base de prata acabaram sendo descartados. Entretanto, as bactérias têm se tornado cada vez mais resistentes aos antibióticos disponíveis atualmente no mercado, alavancando assim a busca constante por novos fármacos, o que na maioria das vezes não acompanha a velocidade de imunogenicidade dos vírus e bactérias (Gibbs, 1999).

Na década de 1960, a prata ganhou popularidade novamente, agora como antisséptico no tratamento de feridas abertas, sob a forma de solução a 0,5% (m/v) em nitrato de prata (Price e Wood, 1966). Em 1968, esse sal de prata foi combinado com o antibiótico sulfonamida para produzir o creme de sulfadiazina de prata (SSD), prescrito até os dias de hoje, principalmente para casos de queimadura (Fox, 1968; George et al., 1997).

Na busca por novos medicamentos antimicrobianos, os coloides à base de prata também voltaram a despertar o interesse da comunidade científica e, nessa linha, inúmeros trabalhos sobre a utilização de nanocompósitos contendo prata no tratamento de doenças provocadas por bactérias, como a *Escherichia coli* e a *Staphylococcus aureus*, foram publicados (Rhim et al., 2006; Sanpui et al., 2008; Sahni et al., 2013).

Mais recentemente, no início do século XX, a prata começou a ser utilizada sob um novo e mais interessante formato: o nanoparticulado. Soluções de prata desenvolvidas sob a luz da Nanotecnologia possuem partículas de tamanho extremamente reduzido, que caracterizam uma maior superfície de contato, ampliando assim a ação antimicrobiana da prata (Carreira, 2009).

Partículas de prata em dimensões maiores (micrométricas) causam a obstrução das membranas celulares, promovendo um envenenamento por prata, conhecido por argiria. Isto não acontece com o uso de partículas de prata em dimensões nanométricas. Essas partículas são tão finamente dispersas e estão em baixa concentração que podem circular pelas membranas celulares, sem ocasionar danos aos organismos superiores, visto que a concentração efetiva para a atuação contra micro-organismos é de 0,1 µg/L e a concentração tóxica para os seres humanos é de 10,0 mg/L (Oliveira, 2006).

O mecanismo de ação utilizado pelas AgNPs para causar o efeito antimicrobiano não está totalmente esclarecido e é um tema ainda em discussão. No entanto, existem várias teorias sobre a atuação das AgNPs na inativação de micróbios (Prabhu e Poulouse, 2012).

Morones et al. (2005) explicou que o efeito bactericida de AgNPs pode ser atribuído tanto à sua interação com a superfície da membrana, quanto à sua penetração dentro da bactéria (El-Sheekh e El-Kassas, 2016). As AgNPs têm a capacidade de ancorar a parede celular bacteriana e posteriormente penetrá-la, causando alterações estruturais na membrana celular (Sondi e Salopek-Sondi, 2004).

A formação de radicais livres pelas AgNPs é considerado como outro possível mecanismo que leva à morte das células, tendo em vista que esses radicais livres têm a capacidade de danificar a membrana celular e torná-la porosa (Danilczuk et al., 2006; Kim et al., 2007).

Também foi proposto que pode haver liberação de íons  $\text{Ag}^+$  pelas nanopartículas (Feng et al., 2000) e estes podem interagir com os grupos tiol de muitas enzimas vitais e inativá-las (Matsumura et al., 2003). As células bacterianas em contato com a prata recebem íons  $\text{Ag}^+$ , que inibem várias funções na célula e as danificam (Sondi e Salopek-Sondi, 2004).

Além disso, Kvitek et al. (2008) relacionou a ação bactericida das AgNPs ao tamanho das mesmas, explicando que AgNPs menores têm grande área de superfície disponível para interação com a superfície celular, resultando em um maior efeito bactericida. Nanopartículas de tamanho menor podem ainda penetrar nas membranas celulares. Dentro de uma bactéria, as nanopartículas podem interagir com o DNA, inibindo sua capacidade de replicar, o que pode levar à morte celular (El-Sheekh e El-Kassas, 2016).

As AgNPs podem ser sintetizadas, a partir da utilização de corrente elétrica ou por redutores químicos. O tipo de síntese não interfere na eficácia antimicrobiana; no entanto, o tamanho das AgNPs e a sua dispersão na solução interferem no seu desempenho. Quanto menor a nanopartícula, maior será sua ação antimicrobiana. A redução do tamanho das AgNPs aumenta a sua estabilidade e biocompatibilidade (Kim et al., 2005, 2011). Estabilizantes são acrescentados no processo de produção para prevenir a agregação das AgNPs (Carreira, 2009).

Em geral, agentes redutores como o citrato de sódio e boroidreto de sódio servem igualmente como estabilizantes dos coloides de prata, reduzindo a tendência de agregação. Os íons citrato possuem uma forte interação com a superfície dos nanocristalitos de prata, fazendo com que o crescimento dos cristais de prata seja mais lento. A redução com citrato de sódio, entretanto, produz nanopartículas com diâmetro maior que as sintetizadas com boroidreto de sódio, alcançando um diâmetro médio de 40-60 nm, com formatos de nanohastes ou esferas (Lin et al., 2010).

Uma investigação recente sobre o efeito antimicrobiano das AgNPs revelou que o mesmo está relacionado a outros fatores, além da dimensão, como forma e área de superfície das nanopartículas, sendo ainda sensível à temperatura (Drelich et al., 2011).

As propriedades antibacterianas dos nanomateriais de prata são bem aceitas e documentadas; no entanto, o debate sobre como a forma das nanos influenciam o desempenho antimicrobiano das mesmas, ainda está em estudo, uma vez que alguns pesquisadores relataram que formas anisotrópicas de partículas de prata, como nanoplacas ou nanoprismas triangulares, desempenharam um papel fundamental para alcançar uma alta atividade biocida. Por exemplo, Pal et al. (2007) mostraram que as AgNPs triangulares apresentam melhor eficiência antibacteriana do que as AgNPs esféricas e em forma de haste. Sadeghi et al. (2012) também descreveram que nanoplacas de prata apresentam maior eficácia antibacteriana em relação a nanoesferas ou nanobastões de prata. Uma das justificativas apresentadas para a alta atividade antibacteriana das AgNPs na forma anisotrópica foi o plano basal com facetas (111) de alta densidade de átomos, que atuam como locais de reatividade máxima (Morones et al., 2005).

Outros estudos também relataram que as geometrias isotrópicas, como as partículas esféricas, apresentam alta eficácia antibacteriana (El-Kheshen e El-Rab, 2012; Acosta-Torres et al., 2012; Agnihotri et al., 2014), devido à grande relação superfície/volume (Raza et al., 2016).

As AgNPs, por possuírem uma razão de aspecto muito alta, interagem facilmente com outras nanopartículas metálicas, aumentando a sua eficácia antibacteriana (Thakkar et al., 2010). Além disso, essas nanopartículas tornaram-se uma das mais estudadas e sintetizadas nesses últimos anos, devido as suas diversas aplicações e custos relativamente baixos de produção, tendo sido utilizadas frequentemente na preparação de materiais antimicrobianos e na síntese de novos medicamentos.

As AgNPs têm sido utilizadas para várias finalidades, especialmente como agentes antimicrobianos, tendo em vista a possibilidade de serem imobilizadas em materiais orgânicos e inorgânicos (Jones et al., 2008; Rivero, 2011), além de serem empregadas em produtos têxteis (Dubas et al., 2006), filmes poliméricos para embalagens de alimentos (Loher et al., 2008), tintas e pigmentos (Kumar et al., 2008), filtros e demais dispositivos para o tratamento de água (Priya et al., 2009; Zhu e Dan, 2010), filtros para tratamento do ar (Yoon et al., 2008), entre outras. Trabalhos mais recentes sugerem ainda a utilização das AgNPs para a desinfecção da água (Liu et al., 2014) e o tratamento de efluentes industriais (Chen et al., 2012; Zarpelon et al., 2016).

### 3.4.2. Nanopartículas de Cobre

O cobre, um dos primeiros metais a ser extraído e utilizado pelo homem, teve uma contribuição vital para sustentar e melhorar a sociedade atual. O potencial antibacteriano do cobre e do latão contra agentes patógenos comuns em água, como *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella* e *Vibrio cholerae*, tem sido bem documentado (Tandon et al., 2005; Sharan et al., 2011). Uma das aplicações mais recentes inclui o uso do cobre em superfícies frequentemente tocadas, como maçanetas e alças de latão, onde suas propriedades antimicrobianas reduzem a transferência de bactérias e doenças (Borkow and Gabbay, 2004; Dugal e Mascarenhas, 2015).

O cobre é um metal que encontra aplicação em catálise (Lakshmi Kantam et al., 2007) para várias transformações químicas (Wang et al., 2010), na impressão de circuitos eletrônicos (Magdassi et al., 2010), como substância antimicrobiana (Dankovich e Smith, 2014), e em muitos outros campos (Niranjan e Chakraborty, 2012).

A síntese de CuNPs tem atraído um maior interesse por parte dos pesquisadores, em relação à síntese de outras nanopartículas, devido as suas propriedades e principalmente ao custo reduzido, se comparado às de prata e de ouro (Han et al., 2006). O cobre, como outros metais nobres, apresenta condutividade térmica e elétrica elevadas, justificando sua aplicação em sistemas eletrônicos (Kim et al., 2009) e tintas condutoras (Lee et al., 2008). De maneira análoga à prata, apresenta propriedades antimicrobianas (Cioffi et al., 2005) e está facilmente disponível. Anteriormente, pesquisadores relataram a propriedade antibacteriana de CuNPs (Theivasanthi e Alagar, 2011; Ramyadevi et al., 2012). Em 2003, Trapalis et al. prepararam um compósito de cobre contendo revestimentos finos de silicato ( $\text{Cu/SiO}_2$ ) em substratos de vidro e examinaram a atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* (Trapalis et al., 2003). Em 2010, Usha et al. incorporaram CuNPs em vários tipos de materiais, como tecidos. Esses tecidos eram estéreis, podendo ser utilizados em hospitais para inibir ou minimizar a infecção por bactérias patogênicas, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Aspergillus* (Usha et al., 2010; Dugal e Mascarenhas, 2015).

Existem diferentes métodos para a síntese de CuNPs, incluindo redução térmica (Dhas et al., 1998), síntese de metal-vapor (Vitulli et al., 2002), redução química (Cheng et al., 2006), deposição de vapor vácuo (Liu e Bando, 2003), métodos de radiação (Joshi et al., 1998), técnicas de microemulsão (Chen e Wu, 2000), processos de poliol (Park et al., 2007), e ablação a laser (Aye et al., 2010). No entanto, a síntese de CuNPs é relativamente difícil em relação à de outras nanopartículas metálicas, devido a sua baixa resistência à oxidação (Magdassi et al., 2010; Niranjan e Chakraborty, 2012).

Em relação à atividade antimicrobiana, o cobre e seus compostos têm demonstrado alta capacidade para eliminar uma grande variedade de micro-organismos, incluindo *Vibrio cholerae*, *Shigella*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, fungos, vírus, dentre outros (Sudha et al., 2012). Superfícies metálicas contendo cobre têm sido utilizadas para prevenir o crescimento bacteriano em hospitais (Sudha et al., 2012). Além disso, CuNPs podem ser incorporadas em materiais fibrosos, onde atuam como um reservatório de longa duração de íons cobre para melhorar a atividade antimicrobiana e catalítica dos mesmos (Bendi e Imae, 2013; Ben-Sasson et al., 2014). Recentemente, demonstrou-se a aplicação das CuNPs para materiais celulósicos (Bendi e Imae, 2013) e como uma alternativa mais acessível, em relação à prata, na purificação da água potável (Sudha et al., 2012; Dankovich e Smith, 2014).

O cobre, em escala nanométrica, também mostrou ser eficaz na inativação de bactérias em efluentes. Essas nanopartículas mostraram uma alta atividade bactericida para *Escherichia coli*, sendo que os níveis de cobre ficaram abaixo do limite recomendado para esse íon em água potável (1,0 mg/L) (Dankovich e Smith, 2014).

### 3.5. Filmes com Nanopartículas Metálicas para a Desinfecção de Efluentes

A água é uma substância essencial para toda a forma de vida na Terra e um recurso precioso para a civilização humana. O acesso seguro à água potável é considerado um dos objetivos humanitários mais básicos, e continua sendo um grande desafio global para o século XXI (Qu et al., 2013).

A contradição entre a escassez e o aumento do consumo de água é um grande problema social e econômico em muitos países (Higgins et al., 2002). Nesse sentido, a implementação de políticas públicas para o tratamento básico de água nas áreas mais afetadas (principalmente nos países subdesenvolvidos), onde a água potável e a infraestrutura para o tratamento dos esgotos é muitas vezes inexistente (Qu et al., 2013), deve ser assunto prioritário.

A demanda cada vez maior por água, nesses últimos anos, está tornando o uso de recursos hídricos não convencionais (como águas pluviais, água salobra, águas residuais e água do mar) uma nova rotina, especialmente em regiões com histórico de escassez. Além disso, as atuais tecnologias de tratamento de água e esgoto e sua infraestrutura estão prestes a atingir o limite para o fornecimento adequado de água com qualidade que possa satisfazer as necessidades humanas e ambientais (Qu et al., 2013).

A atividade industrial é um dos principais responsáveis pela poluição das águas, devido à geração de efluentes com características distintas (Ribeiro et al., 2004). Os poluentes

normalmente encontrados nas águas e que são gerados pelo desenvolvimento industrial incluem pesticidas, compostos orgânicos voláteis, metais, nitratos, e radionuclídeos (Priya et al., 2009). Além disso, a água pode conter muitos micro-organismos causadores de doenças, tais como bactérias, vírus e parasitas, que devem ser removidos ou inativados para a segurança das pessoas que irão, eventualmente, ter contato com essa água durante as operações de reutilização. Tendo em vista o aumento na produção de esgoto, a reutilização de águas residuais está se tornando uma necessidade cada vez mais comum, até mesmo como fonte de água potável (Qu et al., 2012).

Várias técnicas de tratamento são utilizadas para esse fim, tais como os processos de oxidação avançada (Khue et al., 2014), peroxidação assistida por radiação ultravioleta (Vaferi et al., 2014), ozonização (Szymanska et al., 2014), sistemas de biorreator de membrana (Chen et al., 2012), e cloração (Noutsopoulos et al., 2014). Esta última é ainda a técnica mais utilizada para a desinfecção da água, devido ao seu baixo custo, facilidade de utilização e da ampla gama de produtos que estão disponíveis (Ma et al., 2013). No entanto, o uso de cloro pode resultar na formação de subprodutos tóxicos, tais como trihalometanos e ácidos haloacéticos (Liu et al., 2011), que são potencialmente carcinogênicos (Kitajima et al., 2014).

Diante desses fatos, a necessidade de inovação tecnológica para permitir a gestão integrada da água não pode ser subestimada. O desenvolvimento de novos métodos e estratégias para a desinfecção e a reutilização da água residual industrial deve ser capaz de reduzir ou eliminar os produtos químicos utilizados, bem como minimizar o desperdício (Xu et al., 2011).

A aplicação de nanopartículas no tratamento de água é uma área emergente e nanocatalisadores provaram ter um potencial para a remoção de contaminantes orgânicos, desempenhando um papel importante na resolução de diversos problemas ambientais e de poluição graves (Chen e Mao, 2007). Durante as últimas décadas, várias pesquisas envolvendo a utilização de zeólitas sintéticas e naturais, filmes de polímeros e íons metálicos ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ti}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ) como agentes bactericidas para a desinfecção da água têm sido realizadas (McLean et al., 1993; Feng et al., 2000; Shearer et al., 2000; Ülküseven et al., 2002; Chen et al., 2003; Islam et al., 2003; Chohan et al., 2004).

Neste contexto, a Nanotecnologia apresenta um grande potencial para ser utilizada no tratamento da água e de águas residuais, a fim de melhorar a eficiência dos processos de tratamento, assim como para aumentar o abastecimento através da utilização segura de fontes de água não convencionais (Qu et al., 2013). Os processos altamente eficientes, modular e multifuncional ativados por Nanotecnologia, estão previstos para proporcionar alto

desempenho, água a preços mais acessíveis e soluções de tratamento de águas residuais que dependem cada vez menos de grandes infraestruturas (Qu et al., 2013). Além disso, a utilização da Nanotecnologia no tratamento de água e de efluentes promete não só superar os principais desafios enfrentados pelas tecnologias de tratamento existentes, mas também fornecer novas possibilidades de tratamento que poderiam permitir a utilização econômica dos recursos hídricos não convencionais, visando expandir o abastecimento de água (Qu et al., 2013).

O potencial da Nanotecnologia na desinfecção e no controle microbiano é estudado por vários autores e inclui a utilização de nanopartículas diversas, tais como AgNPs, ZnO, MgO, TiO<sub>2</sub>, Ce<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, nanotubos de carbono e fulerenos (Li et al., 2008; Sapkal et al., 2012; Solís-Casados et al., 2013). As AgNPs são os nanomateriais antimicrobianos mais amplamente utilizados, uma vez que exibem atividade bactericida contra uma vasta gama de micro-organismos, tais como bactérias, fungos e vírus (San e Don, 2013). O mecanismo de desinfecção por AgNPs ocorre por meio da liberação de íons prata, que causam danos às proteínas da membrana e a supressão da replicação do DNA (Qu et al., 2013).

Em geral, as expectativas para aumentar a produção de água (potável e industrial) são boas. Nesse contexto, a Nanotecnologia pode permitir melhorias consideráveis em termos de qualidade, quando os processos são usados para reduzir efetivamente os níveis de contaminantes relevantes para a água, mas também abrir uma porta para uma distribuição mais ampla de água de alta qualidade em uma escala global (Amin et al., 2014).

Desde que a qualidade da água se tornou uma parte integrante da gestão ambiental, os processos de tratamento de águas residuais são destinados a alcançar um efluente de qualidade aceitável (Madoni et al., 1996). O principal objetivo do tratamento de águas residuais é remover o maior número de agentes causadores de doenças e poluentes químicos quanto possível, a fim de minimizar os riscos para a saúde pública (Akpor et al., 2008).

O desenvolvimento de filmes finos com nanopartículas ou semicondutores, como uma alternativa ao tratamento de águas residuais, já é uma realidade. Na literatura destacam-se estudos sobre materiais semicondutores fotocatalíticos com polímeros, como o TiO<sub>2</sub> (Priya et al., 2009; Zhu e Dan, 2010; Solís-Casados et al., 2013) e ZnO (Sapkal et al., 2012) que podem ser utilizados para remover diversos tipos de contaminantes orgânicos, que não são adequadamente retirados dos efluentes por tecnologias convencionais de tratamento de água.

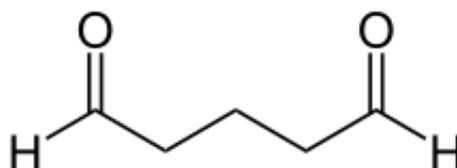
A preparação de filmes poliméricos com AgNPs também vem sendo abordada em estudos relacionados ao desenvolvimento de materiais com atividade antimicrobiana. No entanto, os poucos trabalhos publicados versam basicamente sobre a eficiência bactericida

desses materiais em relação a cepas isoladas de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Dubas et al., 2006; Li et al., 2006). A utilização de filmes com CuNPs para a desinfecção de efluentes industriais, bem como o uso de filmes poliméricos contendo CuNPs como agentes bactericidas, ainda não foi reportada na literatura. A utilização de filmes com AgNPs para a desinfecção de efluentes industriais, por sua vez, somente foi reproduzida em uma publicação própria (Zarpelon et al., 2016). Dessa forma, esse trabalho acaba contribuindo diretamente para o desenvolvimento de novos materiais e o aperfeiçoamento de materiais já produzidos, que poderão ser utilizados para essa finalidade, o que certamente irá contribuir para a gestão sustentável da água e sua reutilização de maneira adequada e segura.

### 3.6. Reticulantes

#### 3.6.1. Glutaraldeído

O glutaraldeído (GA) (**Figura 5**) é um dialdeído saturado que surgiu como uma alternativa em substituição ao formol, principalmente em tratamentos de beleza, por se tratar de um reagente químico menos nocivo (Pepper e Lieberman, 1962).



**Figura 5.** Fórmula estrutural do glutaraldeído.

Desde a sua descoberta, no início da década de 1970, o GA tem sido amplamente utilizado para a desinfecção e esterilização em muitas áreas (Gorman et al., 1980). Soluções esterilizantes de GA são utilizadas em hospitais para desinfetar e limpar equipamentos sensíveis ao calor, como instrumentos de diálise, instrumentos cirúrgicos, frascos de sucção, broncoscópios, endoscópios e instrumentos de orelha, nariz e garganta (HSDB, 1996; NIOSH, 2001). Na pesquisa médica, o GA é utilizado de muitas maneiras diferentes: na construção de válvulas cardíacas bioprotéticas (McDade et al., 2013; Naso et al., 2013), na modificação de materiais e tecidos (Gomes et al., 2013; McDade et al., 2013); no campo dentário, foi utilizado no tratamento de dessensibilização dentária (Larson, 2013) e para aumentar as propriedades mecânicas do colágeno desmineralizado (Scheffel et al., 2014). Esse reagente químico é também utilizado como fixador de tecidos em histologia e como agente de endurecimento no desenvolvimento de raios X (NIOSH, 2001). É um dos principais

componentes de detergentes (Emmanuel et al., 2005), além de ser utilizado no curtimento de couro (Kiernan, 2000).

A atividade esterilizante e desinfetante do GA é influenciada por fatores como pH, temperatura e concentração (Gorman et al., 1980).

O GA foi definido como um agente químico que, quando utilizado adequadamente, poderia destruir todas as formas de vida microbiana, incluindo esporos bacterianos aeróbios e anaeróbios, fungos, leveduras, algas, bacilos da tuberculose e vírus (Borick, 1968; FEI, 2001). Trabalhos anteriores demonstram que o GA é eficaz contra uma ampla gama de vírus (Stonehill et al., 1963; Borick et al., 1964; Snyder e Cheatle, 1965; Blough, 1966; O'Brien et al., 1966; Graham e Jaeger, 1968; Shen et al., 1977), além de possuir potencial atividade antibacteriana (Li et al., 2013) e antifúngica (Stonehill et al., 1963).

O GA é também utilizado como agente de reticulação convencional, normalmente na formação de redes de polipeptídios e proteínas, devido à reatividade dos grupos aldeídicos (carbonilas), que prontamente formam bases de Schiff com os grupos amino das proteínas. É também usado como agente reticulante do poli(álcool vinílico) (Chowdhury et al., 2009) e alguns polissacarídeos, tais como a heparina, o ácido hialurônico e a quitosana (Lin et al., 2006; Rokhade et al., 2007; Webster et al., 2007; Wei et al., 2008). A reticulação da quitosana com GA a torna mais resistente do ponto de vista físico, químico e microbiológico (Beppu et al., 1999).

Devido a essa característica, o GA foi utilizado neste trabalho como uma última camada de “revestimento”, visando reduzir a solubilidade dos polieletrólitos em meio aquoso.

### 3.6.2. *Enzima Transglutaminase*

A enzima transglutaminase (TG) é um agente de polimerização de proteínas que resulta na formação de ligações isopeptídicas entre alimentos, baseados em proteínas que aumentam suas propriedades. Melhora as propriedades dos produtos alimentares, tais como firmeza, viscosidade, elasticidade e capacidade de ligação à água (Kieliszek e Misiewicz, 2014). O exame dos efeitos da enzima TG sobre as propriedades dos filmes (mecânica, permeabilidade ao vapor de água e solubilidade) foram realizados em alguns estudos, como em filmes de gelatina-caseína (Chambi e Grosso, 2006), filmes de gelatina (De Carvalho e Grosso, 2004) e em carne moída para melhorar sua textura (Al-Hassan e Norziah, 2017). A adição de TG às misturas de caseína e proteína resultou na formação de proteínas de reticulação e de polímeros de alta massa molar, gerando géis mais fortes entre 22 e 37 °C (Al-Hassan e Norziah, 2017).

A maioria das enzimas de interesse para modificações de proteínas são enzimas de *crosslinking* covalente e somente a TG está comumente disponível para catalisar a formação de ligações covalentes entre moléculas de proteína em uma escala comercial (Dickinson, 1997). No entanto, seu uso é ainda pouco explorado e não existem na literatura trabalhos que utilizem essa enzima para alterar propriedades de barreira de micropartículas para liberação controlada (Prata, 2006).

## 4. Materiais e Métodos

### 4.1. Materiais

Os reagentes utilizados nesse trabalho foram o PAA (poli(ácido acrílico)) ( $M_w = 345.000$  g/mol, Polysciences), o PAH (poli(hidroclorato de alilamina)) ( $M_w = 15.000$  g/mol, Sigma-Aldrich), o nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ , Merck), o boroidreto de sódio ( $\text{NaBH}_4$ , Merck), o citrato de sódio tribásico dihidratado ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich), o sulfato de hidrazina ( $(\text{NH}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ , Dinâmica), o sulfato de cobre (II) pentaidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , Synth), o hidróxido de sódio (NaOH, Merck), o glutaraldeído (GA, Merck) e a enzima transglutaminase (TG) (Activa YG) fornecida pela Ajinomoto. Além disso, a água utilizada na preparação de todas as soluções foi obtida a partir de um sistema Milli-Q (com resistividade de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ) da Millipore.

### 4.2. Preparação e Caracterização dos Filmes com AgNPs e CuNPs

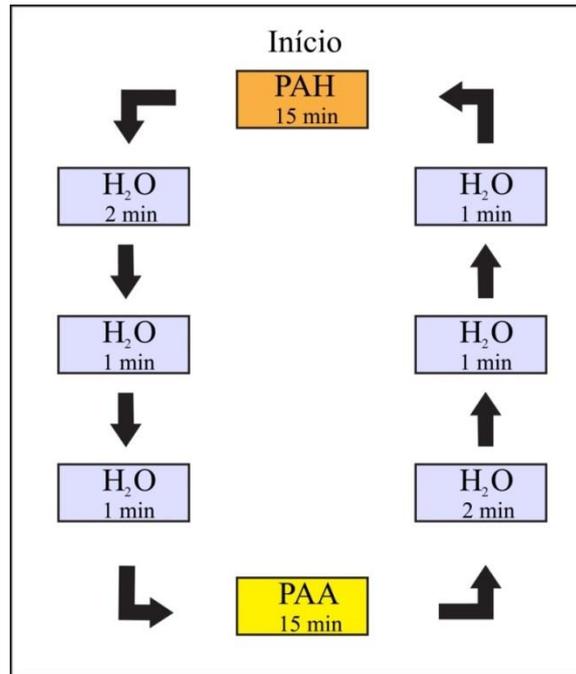
Os filmes foram depositados em lâminas de vidro para a realização da desinfecção do efluente industrial e para a caracterização por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES); em silício para as análises de espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GD-OES), microscopia de força atômica (AFM), microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (*MEV-FEG*) e espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS), e em poliestireno para análise de MET.

#### 4.2.1. Limpeza dos Substratos

Os substratos utilizados como suporte para a deposição dos filmes foram inicialmente esfregados, um a um, com algodão e detergente neutro, sendo posteriormente colocados em um ultrassom (Unique USC 1400) contendo Extran neutro a 10% (v/v) por 10 min. Em seguida, os mesmos foram sonificados por 3 min em uma solução de NaOH 1,0 mol/L, e novamente em acetona por mais 10 min. Ao término de cada etapa, os substratos foram enxaguados abundantemente com água destilada. Para a secagem, os mesmos foram colocados em uma estufa (Nova Ética 420-1D) a  $50^\circ\text{C}$ , por um período de 1 h.

#### 4.2.2. Preparação dos Filmes Finos

A montagem dos filmes finos foi realizada em um equipamento NanoStracto Sequence, de acordo com o fluxograma apresentado na **Figura 6**.



**Figura 6.** Fluxograma esquemático da preparação dos filmes.

Os substratos de vidro foram inicialmente imersos em uma solução aquosa de PAH na concentração de  $1,0 \times 10^{-2}$  mol/L (baseada na massa molar do mero) durante 15 min sendo, em seguida, retirados da solução e lavados por imersão em água deionizada durante 2, 1 e 1 min, consecutivamente. Na sequência, os mesmos foram imersos em outra solução aquosa de PAA de mesma concentração, durante 15 min, sendo lavados em água deionizada de maneira análoga ao que foi descrito anteriormente. Após a deposição do número desejado de camadas, os filmes foram secos à temperatura ambiente.

As multicamadas foram obtidas a partir de soluções aquosas compostas por  $(\text{PAH}_x/\text{PAA}_{4,0})_{21}$ , onde  $x$  e 4,0 são os valores de pH das soluções do policátion e do poliânion durante a montagem dos filmes, respectivamente; e 21 é o número de camadas. Os filmes foram preparados para duas combinações de experimentos:  $(\text{PAH}_{4,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$  e  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$ .

A **Figura 7** mostra a representação esquemática de duas camadas alternadas de PAH e PAA nos filmes desenvolvidos. A primeira e a última camada em cada filme foram de PAH. A escolha do pH das soluções e da quantidade de camadas foi realizada com base em trabalhos anteriores (Machado et al., 2011). Ao término da etapa de preparação, os filmes apresentaram uma área de aproximadamente  $14,3 \text{ cm}^2$ .



#### 4.3.2. Síntese das AgNPs e das CuNPs por Irradiação no Ultravioleta

Os filmes finos (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> foram inicialmente imersos durante 4 h em três soluções compostas, respectivamente, por:

- (i) 50 mL de AgNO<sub>3</sub> 0,2196 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L;
- (ii) 50 mL de CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 37,8 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 47,25 mmol/L;
- (iii) 50 mL de CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,2196 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L.

Em seguida, os mesmos foram removidos e enxaguados por 30 s em água deionizada, sendo finalmente irradiados com o auxílio de uma lâmpada de UV ( $\lambda = 254$  nm) (Ushio Inc., UER20-172 V) durante 24 h, visando à formação das AgNPs e CuNPs.

Os filmes produzidos através da imersão na solução (ii) foram desenvolvidos com o objetivo de comparar seu efeito bactericida com o dos filmes imersos em solução coloidal de cobre, de mesma concentração, uma vez que a solução de CuNPs não manteve sua estabilidade quando a sua concentração era igual à da solução de AgNPs. Além disso, a fim de comparar o efeito bactericida dos filmes contendo AgNPs e CuNPs na mesma concentração, e tendo em vista a possibilidade de alterar a concentração da solução (ii), também foram preparados os filmes imersos na solução (iii).

Após a realização dos testes microbiológicos preliminares com os filmes mencionados acima, foi escolhido (considerando-se os resultados obtidos e a possibilidade de comparação com os filmes desenvolvidos no mestrado) um sistema para variar a concentração dos sais de prata e de cobre na solução utilizada para a imersão dos filmes. Dessa foram, os filmes finos (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> foram imersos durante 4 h nas soluções compostas, respectivamente, por:

- (iv) 50 mL de AgNO<sub>3</sub> 0,1098 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L;
- (v) 50 mL de AgNO<sub>3</sub> 0,4392 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L;
- (vi) 50 mL de CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,1098 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L;
- (vii) 50 mL de CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,4392 mmol/L e 40 mL de Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,2745 mmol/L.

Os filmes finos desenvolvidos foram então codificados, de acordo com as especificações da **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Codificação das amostras para os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub>.

Codificação do filme fino	pH do PAH	Imersão por 4h em solução coloidal	Imersão por 4h na solução do sal/citrato de sódio	Irradiação no ultravioleta*	Concentração do sal (mmol/L)
8/4 - 4 h AgNPs	8,0	AgNPs	-	-	0,2196
4/4 - luz UV Ag_0.2196	4,0	-	AgNO <sub>3</sub>	X	0,2196
8/4 - luz UV Ag_0.2196	8,0	-	AgNO <sub>3</sub>	X	0,2196
8/4 - luz UV Ag_0.1098	8,0	-	AgNO <sub>3</sub>	X	0,1098
8/4 - luz UV Ag_0.4392	8,0	-	AgNO <sub>3</sub>	X	0,4392
8/4 - 4 h CuNPs	8,0	CuNPs	-	-	37,8
4/4 - luz UV Cu_37.8	4,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	37,8
8/4 - luz UV Cu_37.8	8,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	37,8
4/4 - luz UV Cu_0.2196	4,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	0,2196
8/4 - luz UV Cu_0.2196	8,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	0,2196
8/4 - luz UV Cu_0.1098	8,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	0,1098
8/4 - luz UV Cu_0.4392	8,0	-	CuSO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O	X	0,4392

Para todos os filmes PAA com pH = 4,0.

\* Irradiação por 24 h ( $\lambda = 254$  nm).

#### 4.4. Reticulação dos Filmes Finos com Glutaraldeído e Enzima Transglutaminase

Visando minimizar a solubilidade dos filmes finos contendo as AgNPs e as CuNPs, os mesmos foram reticulados com o auxílio de uma solução aquosa de GA 2,5% (v/v) por 30 min, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, sendo em seguida enxaguados em água deionizada durante 30 s e posteriormente secos por 24 h.

A fim de avaliar a eficiência de um agente reticulante enzimático, realizou-se a reticulação do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 com a enzima TG. Para tanto, o filme fino contendo as AgNPs foi imerso em uma solução 2,5% (m/v) de enzima por 30 min, sendo em seguida enxaguado em água deionizada por 30 s e colocado para secar por 24 h ao abrigo da luz.

#### 4.5. Tratamento do Efluente Industrial para Reuso

##### 4.5.1. Desinfecção do Efluente Industrial com os Filmes Finos

A avaliação da eficiência bactericida, frente a um efluente industrial para reuso, foi realizada com os filmes finos (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos em solução de AgNPs e CuNPs por 4 h, e com os filmes (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos durante 4 h em soluções de AgNO<sub>3</sub> e CuSO<sub>4</sub> . 5H<sub>2</sub>O contendo Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> . 2H<sub>2</sub>O e expostos à radiação UV (254 nm) durante 24 h, todos reticulados com GA. A eficiência bactericida dos filmes finos (PAH<sub>4,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imersos em solução de AgNPs e CuNPs por 4 h não foi avaliada, pois em trabalho anterior (Zarpelon, 2013) verificou-se uma menor incorporação de AgNPs, em relação aos filmes finos com pHs de polieletrólitos distintos, e ausência de atividade bactericida. Os filmes finos testados foram codificados de acordo com as especificações da **Tabela 2**.

Realizou-se ainda a avaliação bactericida do filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> imerso durante 4 h em solução de AgNO<sub>3</sub> e CuSO<sub>4</sub> . 5H<sub>2</sub>O (0,2196 mmol/L) contendo Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> . 2H<sub>2</sub>O (0,2745 mmol/L), exposto à radiação UV (254 nm) durante 24 h e reticulado com a enzima TG.

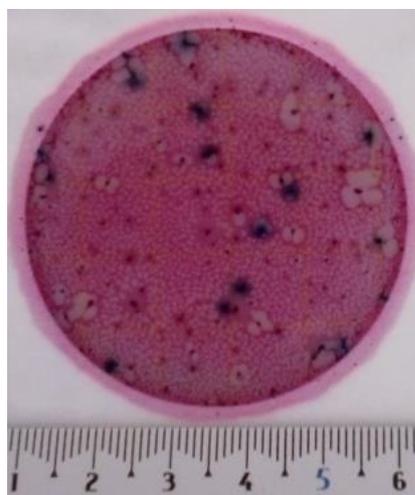
No ensaio, os substratos de vidro contendo esses filmes foram inicialmente colocados em Erlenmeyers de 500 mL (um por frasco). Em seguida, os mesmos foram recobertos com 250 mL de um efluente industrial. Os parâmetros físico-químicos do efluente industrial não foram disponibilizados, tendo em vista que não houve descarte pela empresa nos dias em que foi feita a coleta para a realização dos testes deste trabalho. Na sequência, os Erlenmeyers foram agitados em um shaker refrigerado NT 715, a 180 rpm por intervalos de tempo de 30, 120 e 360 min. Ao término desse procedimento, as amostras de efluente industrial foram

acondicionadas em frascos âmbar, previamente sanitizados e esterilizados, e encaminhados ao Laboratório de Análise e Pesquisa em Alimentos (LAPA) para a contagem de coliformes totais. Para fins de comparação, a contagem de micro-organismos foi igualmente realizada no efluente industrial antes da desinfecção.

#### 4.5.2. Contagem de Coliformes Totais no Efluente Industrial após a Desinfecção

A contagem de coliformes totais foi realizada com base no Método 991.14 da *The Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (2012).

Esse método consiste na inoculação de 1,0 mL do efluente industrial sobre um Petrifilm™ da 3M que posteriormente é incubado em uma estufa para cultura bacteriológica, a 35 °C e por 24 h. O Petrifilm™ contém nutrientes do meio Vermelho Violeta Bile (VRB), um agente geleificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glicuronidásica e um indicador tetrazólico que facilita a enumeração da colônia. A maioria das bactérias *Escherichia coli* (cerca de 97%) possui  $\beta$ -glicuronidase que forma um precipitado azul associado à colônia. O intervalo contável para esses micro-organismos nesse método é de 15 a 150. As placas são hidratadas com a amostra, e agentes de geleificação causam a solidificação do meio. Um gás é formado como resultado da fermentação da lactose por bactérias coliformes (incluindo a *Escherichia coli*). As colônias de coliformes produzem ácido, fazendo com que o indicador de pH torne a cor do gel vermelho mais escuro. O gás retido ao redor das colônias vermelhas indica coliformes confirmados.



**Figura 8.** Imagem do Petrifilm™ utilizado no ensaio de contagem de coliformes totais. Colônias vermelhas: coliformes totais. Colônias azuis: *Escherichia coli*.

Para fins de interpretação, todas as colônias azuis associadas com gás são contadas como *Escherichia coli* e colônias vermelhas com gás são consideradas coliformes totais. A contagem final de coliformes totais é a soma de colônias vermelhas e azuis (com gás).

#### 4.5.3. Quantificação de Prata e Cobre no Efluente Industrial e nos Filmes Finos

A prata e o cobre lixiviados durante o tratamento do efluente industrial por 120 min com os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV\_Cu 0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392 foram quantificados por meio da técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES), utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado ICP-OES ICAP série 7200-duo da THERMO SCIENTIFIC do Laboratório de Análises e Pesquisas Ambientais (LAPAM) da Universidade de Caxias do Sul. O método empregado foi o 3120B, descrito no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (SMEWW) 22ª edição (Standard, 2012). O limite de detecção do equipamento para Ag é de 0,0027 mg/L, enquanto que para o Cu é de 0,0009 mg/L.

A quantificação de prata e cobre presentes nos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, anteriormente ao tratamento do efluente, foi igualmente realizada. Para tanto, efetuou-se a dissolução desses filmes em HNO<sub>3</sub> 65% (v/v) por 3 h.

#### 4.6. Caracterização dos Filmes Finos com AgNPs e CuNPs

Os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, todos reticulados com GA, foram caracterizados por meio das técnicas de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GD-OES), microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Para a caracterização por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (*MEV-FEG*), além dos filmes citados acima, foi analisado também o filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> sem incorporação de nanopartículas e reticulado com GA.

A análise das ligações químicas foi realizada por meio da técnica de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) apenas nos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 e

8/4 - luz UV Cu<sub>0.2196</sub> (ambos reticulados com GA), e nos filmes (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> sem incorporação de nanopartículas e sem reticulação e (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> sem incorporação de nanopartículas e reticulado com GA.

#### 4.6.1. MEV-FEG

A seção transversal dos filmes nanoestruturados foi investigada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo (MEV-FEG) da marca TESCAN modelo MIRA 3, do Laboratório Central de Microscopia Prof. Israel Baumvol da Universidade de Caxias do Sul. Para a obtenção das micrografias das amostras, os ensaios foram realizados com tensão de aceleração de 15 kV, utilizando-se detectores de elétrons secundário e retroespalhados.

#### 4.6.2. MET

Essa técnica foi utilizada para avaliar a distribuição e o tamanho das AgNPs e CuNPs nos filmes automontados de PAH/PAA.

As amostras foram inicialmente embutidas em resina epóxi e curadas em uma estufa a 60 °C, por um período de 24 h. As mesmas foram trimadas com uma faca de vidro e, em seguida, seções transversais ultrafinas foram obtidas usando uma navalha de diamante Diatome com 45°, à temperatura ambiente. As seções ultrafinas de cerca de 80 nm de espessura foram coletadas e imediatamente depositadas sobre *grids* de cobre (200 mesh).

A preparação dos filmes para a análise de MET foi realizada no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE), enquanto que a análise e aquisição das imagens foi realizada em um microscópio eletrônico de transmissão FEI Tecnai Spirit Biotwin G<sup>2</sup> no Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ) no Recife (PE) e em um microscópio eletrônico de transmissão JEM 1200 ExII no Centro de Microscopia de Microanálise (CMM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) em Porto Alegre (RS), ambos com tensão de aceleração de 80 kV.

#### 4.6.3. UV-Vis

Os filmes finos reticulados com GA e contendo as AgNPs e CuNPs foram analisados em um espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60 na faixa de comprimento de onda situada entre 200 e 800 nm. O branco da análise consistiu no registro de um espectro, nas mesmas condições, de um substrato de vidro contendo apenas os filmes finos reticulados com GA.

A caracterização por UV-Vis foi a análise preliminar utilizada para identificar a formação e incorporação das AgNPs e CuNPs nos filmes finos desenvolvidos.

#### 4.6.4. GD-OES

A análise de espectroscopia de emissão óptica por descarga luminescente (GD-OES) foi utilizada para verificar a presença de Ag e Cu nos filmes. A análise permite identificar em profundidade todos os elementos químicos que constituem o material.

As medidas foram realizadas em um equipamento Horiba GD Profiler 2 do Laboratório de Caracterização de Superfícies em Nanoescala (Lacasune) da Universidade de Caxias do Sul. Anteriormente à análise das amostras, o equipamento foi calibrado com alumínio. A cada nova medida foi efetuada a limpeza do anodo do equipamento, e o tempo de ensaio para cada amostra foi de 30 s.

#### 4.6.5. AFM

As análises de microscopia de força atômica (AFM) foram realizadas com o objetivo de investigar a morfologia da superfície e a rugosidade dos filmes finos. As medidas foram realizadas com um microscópio SPM 9700 Shimadzu, no modo “*tapping mode*” (modo não contato) do Laboratório Central de Microscopia Prof. Israel Baumvol da Universidade de Caxias do Sul. Na medida foi utilizada uma ponta de prova de silício recoberta com alumínio com uma frequência de oscilação de 190 kHz. A área de varredura foi de 0-10  $\mu\text{m}^2$  com constante de força de 48 N/m e altura da ponta de 17 $\pm$ 2  $\mu\text{m}$ .

Para cálculo da rugosidade foi utilizado o software Gwyddion, versão 2.48. A rugosidade média (Ra) foi medida em quatro áreas diferentes, com *cut-off* de 0,05. O valor medido foi tomado como a média de um mínimo de quatro medidas e o erro foi tomado como o desvio padrão da média das medidas.

#### 4.6.6. XPS

A composição química da superfície e a energia de ligação das amostras foram analisadas por espectroscopia de elétrons excitados por raios X (XPS). Para tanto, foi utilizado um equipamento da marca VG CLAM4 com analisador hemisférico e fonte de raios X de Mg K $\alpha$  ( $h\nu=1253,6$  eV) da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio). Os espectros foram simulados com o software CasaXPS.

## 5. Resultados e Discussões

### 5.1. Tratamento do Efluente Industrial para Reuso

#### 5.1.1. Desinfecção do Efluente Industrial com os Filmes Finos

O teste inicial de desinfecção do efluente industrial foi realizado utilizando-se os filmes 8/4 - 4 h AgNPs, 8/4 - 4 h CuNPs, 4/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 4/4 - luz UV Cu\_37.8, 8/4 - luz UV Cu\_37.8, 4/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, todos reticulados com GA.

A **Tabela 3** apresenta os percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após o tratamento com cada um dos filmes citados anteriormente. Analisando-se os dados obtidos, verifica-se que cinco dos oito filmes desenvolvidos neste trabalho apresentaram excelentes propriedades bactericidas, com inibição superior a 76%. O filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 inibiu 100% dos coliformes presentes na amostra inicial (efluente sem tratamento), enquanto os filmes 8/4 - 4h AgNPs, 4/4 - luz UV Ag\_0.2196, 4/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 eliminaram 76,9%, 99,2%, 99,1% e 91,2%, respectivamente, dos coliformes totais.

**Tabela 3.** Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após 360 min de tratamento com os filmes finos.

Teste	Redução de coliformes totais em relação ao efluente bruto (%)
8/4 – 4 h AgNPs	76,9
4/4 - luz UV Ag_0.2196	99,2
8/4 - luz UV Ag_0.2196	100
8/4 - 4 h CuNPs	14,3
4/4 - luz UV Cu_37.8	25,4
8/4 - luz UV Cu_37.8	0,0
4/4 - luz UV Cu_0.2196	99,1
8/4 - luz UV Cu_0.2196	91,2

Ainda de acordo com os dados apresentados na **Tabela 3**, é possível observar que para as mesmas condições de preparação, porém com concentrações diferentes de sal, os filmes 4/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 4/4 - luz UV Cu\_37.8 e 8/4 - luz UV Cu\_37.8 apresentaram percentuais de redução de coliformes totais bem distintos.

Para os dois filmes preparados com a solução de nitrato de prata (4/4 - luz UV Ag\_0.2196 e 8/4 - luz UV Ag\_0.2196), obteve-se uma redução quase que completa dos coliformes totais, enquanto que para os dois filmes preparados com sulfato de cobre (II) pentaidratado (4/4 - luz UV Cu\_37.8 e 8/4 - luz UV Cu\_37.8), o primeiro apresentou um percentual de remoção de aproximadamente 25%, enquanto o segundo exibiu apenas um efeito bacteriostático (Tamayo et al., 2014), sem eliminar bactérias, mas impedindo que as mesmas se proliferassem.

Além disso, para as mesmas condições de preparação, inclusive mesma concentração de sal, os filmes 4/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 4/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 apresentaram percentuais de redução de coliformes totais muito semelhantes e satisfatórios. Embora neste estudo tenha-se obtido uma redução superior a 90% de coliformes totais utilizando-se filmes com CuNPs (especificamente no caso dos filmes 4/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196), verificou-se que as AgNPs apresentaram um efeito mais letal, conforme já foi relatado na literatura (Zain et al., 2014).

A comparação entre os percentuais de remoção de coliformes totais utilizando os filmes com CuNPs, e que foram sintetizadas por meio da radiação UV, mostra claramente que houve uma melhora considerável na atividade bactericida daqueles sistemas que foram produzidos com concentrações menores de sulfato de cobre (II) pentaidratado. Esse fato se deve, provavelmente, ao menor tamanho das CuNPs nesses filmes, quando comparado às nanopartículas dos filmes que foram imersos em solução de sulfato de cobre (II) com citrato de sódio (cerca de 170 vezes mais concentrada).

Com base nesses resultados preliminares, observou-se que os filmes preparados por meio da redução na luz UV, tanto de AgNPs quanto CuNPs, foram mais eficientes em termos de inibição quando comparados aos filmes em que as nanopartículas metálicas foram incorporadas por meio da imersão em solução. Além disso, a obtenção de nanopartículas através da irradiação na luz UV revelou-se um método mais fácil e seguro em comparação às obtidas em solução, uma vez que pelo segundo método, além de envolver uma série de reagentes na preparação, é necessário o controle de muitas variáveis (como temperatura ambiente e da solução, concentração, e tempo), dada a facilidade de oxidação das AgNPs e CuNPs em solução.

A continuidade do trabalho se deu com foco na variação da quantidade de prata e de cobre nos filmes, a fim de avaliar a influência da concentração do sal precursor na atividade bactericida dos mesmos. Dessa forma, inicialmente, realizou-se o teste de desinfecção através da imersão dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392,

todos reticulados com GA, por 360 min no efluente industrial. Os resultados obtidos encontram-se na **Tabela 4**.

**Tabela 4.** Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após 360 min de tratamento com os filmes finos.

Teste	Redução de coliformes totais em relação ao efluente bruto (%)
8/4 - luz UV Ag_0.1098	100 ± 1,0
8/4 - luz UV Ag_0.2196	100
8/4 - luz UV Ag_0.4392	100 ± 1,5
8/4 - luz UV Cu_0.1098	99 ± 1,0
8/4 - luz UV Cu_0.2196	91,2
8/4 - luz UV Cu_0.4392	95 ± 2,0

Comparando-se os resultados da **Tabela 4**, observam-se percentuais de inibição muito semelhantes para todos os filmes, tanto para aqueles com diferentes concentrações do mesmo sal, quanto para aqueles com sais diferentes. De modo geral, a inibição foi praticamente total, à exceção do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, não sendo possível chegar a uma conclusão clara quanto à influência da concentração de prata e cobre na inibição dos coliformes totais após 360 min de tratamento. Assim, optou-se por realizar esse teste em tempos menores (30 e 120 min, respectivamente). A escolha desses tempos baseou-se em estudos anteriores (Zarpelon, 2013), onde foram observadas as maiores variações nos percentuais de inibição dos coliformes totais.

Analisando os resultados da **Tabela 5**, verifica-se que para o tratamento do efluente industrial com os filmes de menor concentração, tanto de prata como de cobre, a inibição em termos de coliformes totais aumenta em função do aumento do tempo. De maneira geral, os resultados demonstram que os filmes com AgNPs são mais letais aos coliformes totais do que os filmes com CuNPs, conforme já mencionado anteriormente.

Após 120 min, observa-se que a inibição de coliformes totais diminui com o aumento da concentração de sal, tanto para os filmes com prata, como para aqueles com cobre. Isso se deve ao fato de que o aumento na concentração produz nanopartículas com tamanhos maiores, conforme foi verificado nas análises de *MEV-FEG* e TEM que serão discutidas posteriormente nas seções 5.2.1.e 5.2.2., respectivamente. Ainda, de acordo com a literatura, o efeito bactericida das nanopartículas é dependente de seu tamanho (Ruparelia et al., 2008).

**Tabela 5.** Percentuais de redução dos coliformes totais no efluente industrial após 30 e 120 min de tratamento com os filmes finos.

Teste	Tempo de tratamento (min)	Redução de coliformes totais em relação ao efluente bruto (%)
8/4 - luz UV Ag_0.1098	30	61,4
8/4 - luz UV Ag_0.1098	120	65,1
8/4 - luz UV Ag_0.2196	30	38,6
8/4 - luz UV Ag_0.2196	120	56,6
8/4 - luz UV Ag_0.4392	30	44,6
8/4 - luz UV Ag_0.4392	120	44,6
8/4 - luz UV Cu_0.1098	30	50,6
8/4 - luz UV Cu_0.1098	120	56,6
8/4 - luz UV Cu_0.2196	30	49,4
8/4 - luz UV Cu_0.2196	120	49,4
8/4 - luz UV Cu_0.4392	30	39,8
8/4 - luz UV Cu_0.4392	120	26,5

Comparando-se os percentuais de inibição da **Tabela 5** e os valores de concentração de prata lixiviados para o efluente industrial após 120 min de tratamento (**Tabela 7**), é possível constatar que, apesar do filme que apresenta a maior concentração de prata ter liberado a maior quantidade desse metal para o meio, o mesmo apresentou a menor inibição dentre os filmes de prata testados. Já para os filmes com CuNPs, verifica-se o efeito contrário: o filme com menor concentração de sal, liberou a menor quantidade de cobre; no entanto, apresentou o maior percentual de inibição. Esses resultados são corroborados pela literatura, uma vez que estudos (Morones et al., 2005; Ruparelia et al., 2008) relatam que o tamanho das nanopartículas metálicas acaba por se sobressair em relação à quantidade de íons liberados em solução, quando se trata de sua atividade bactericida. Esse fato se deve ao tamanho reduzido e à alta relação superfície/volume, que permite a interação das nanopartículas de forma mais efetiva com as membranas microbianas, causando a morte dos micro-organismos (Ruparelia et al., 2008).

Os resultados mostram ainda indícios de que o aumento no tempo de tratamento, aumenta o percentual de inibição dos coliformes totais para todos os filmes. Para o filme de

cobre na concentração 0,4392 mmol/L, pode-se afirmar que ocorreu um erro na análise, pois em 360 min a inibição foi de aproximadamente 95%.

O teste com os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, reticulados com a enzima TG e o GA, foi igualmente realizado com um efluente industrial durante os tempos de tratamento de 5, 120 e 360 min. Os percentuais de remoção de *E. coli* em relação ao efluente bruto (não tratado com o filme) encontram-se sumarizados na **Tabela 6**.

**Tabela 6.** Percentuais de redução da *E. coli* no efluente industrial após 5, 120 e 360 min de tratamento com os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 reticulados com a enzima TG e o GA.

Teste	Tempo de tratamento (min)	Redução de <i>E. coli</i> em relação ao efluente bruto (%)	
		enzima TG	GA
8/4 - luz UV Ag_0.2196	5	0,0	22,8
8/4 - luz UV Ag_0.2196	120	31,4	43,3
8/4 - luz UV Ag_0.2196	360	28,6	48,7

Analisando-se os resultados do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 reticulado com a enzima TG, é possível observar que após 5 min de tratamento ocorreu apenas um efeito bacteriostático (Tamayo et al., 2014), ou seja, não houve a redução da bactéria *E. coli*, mas também não aconteceu a proliferação da mesma. Após 120 min, verifica-se uma redução de 31,4% na contagem, enquanto que após 360 min o percentual foi de 28,6%, podendo esta diferença estar relacionada ao erro experimental do teste e/ou à contagem do micro-organismo. Já para o filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 reticulado com o GA, observa-se que o percentual de redução de *E. coli*, aumenta com o aumento do tempo de tratamento, conforme já verificado para o esse mesmo filme, na inibição dos coliformes totais (**Tabela 5**).

Comparando-se os resultados de inibição da *E. coli* para o filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 reticulado com GA e com a enzima TG, observa-se que o filme recoberto com o reticulante sintético apresenta eficiência bactericida superior em relação ao filme reticulado com a enzima, confirmando a já conhecida eficiência bactericida do GA.

### 5.1.2. Quantificação de Prata e Cobre no Efluente Industrial e nos Filmes Finos

A quantificação de prata e cobre no efluente industrial bruto, no efluente industrial após o tratamento por 120 min com os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV

Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, e desses mesmos filmes antes da utilização nesses testes, foi realizada por ICP-OES e os resultados encontram-se na **Tabela 7**.

A quantificação de prata e cobre total presentes nos filmes anteriormente ao tratamento do efluente industrial foi realizada para verificar o percentual de metais lixiviados para o efluente industrial após o tratamento por 120 min, bem como para avaliar a possibilidade de reutilização desses filmes em novos tratamentos de desinfecção.

Analisando-se os resultados da **Tabela 7** e levando-se em consideração os filmes de prata e cobre preparados da menor para a maior concentração de sal, verifica-se que após 120 min de tratamento, apenas 13%, 3% e 18% da prata total e em torno de 18%, 7% e 13% do cobre total presente nos filmes foi liberado para o meio, o que sugere uma possível reutilização desses materiais em novos ciclos de descontaminação. Como pode ser observado, o efluente bruto possui uma concentração de prata inferior ao limite de detecção do método e 0,0128 mg/L de cobre em sua composição.

**Tabela 7.** Concentração de prata e cobre no efluente industrial, após o tratamento por 120 min, e nos filmes não utilizados.

Filme	Quantidade de prata (mg/L)	Quantidade de cobre (mg/L)
Efluente bruto	< L.D.**	0,0128
8/4 - luz UV Ag_0.1098 N.U.*	0,041	-
8/4 - luz UV Ag_0.1098 120min	0,0054	-
8/4 - luz UV Ag_0.2196N.U.*	0,139	-
8/4 - luz UV Ag_0.2196120min	0,0037	-
8/4 - luz UV Ag_0.4392 N.U.*	0,047	-
8/4 - luz UV Ag_0.4392 120min	0,0083	-
8/4 - luz UV Cu_0.1098 N.U.*	-	0,067
8/4 - luz UV Cu_0.1098 120min	-	0,0117
8/4 - luz UV Cu_0.2196 N.U.*	-	0,375
8/4 - luz UV Cu_0.2196 120min	-	0,027
8/4 - luz UV Cu_0.4392 N.U.*	-	0,205
8/4 - luz UV Cu_0.4392 120min	-	0,026

\*N.U.: não utilizado

\*\* L.D.: limite de detecção do método

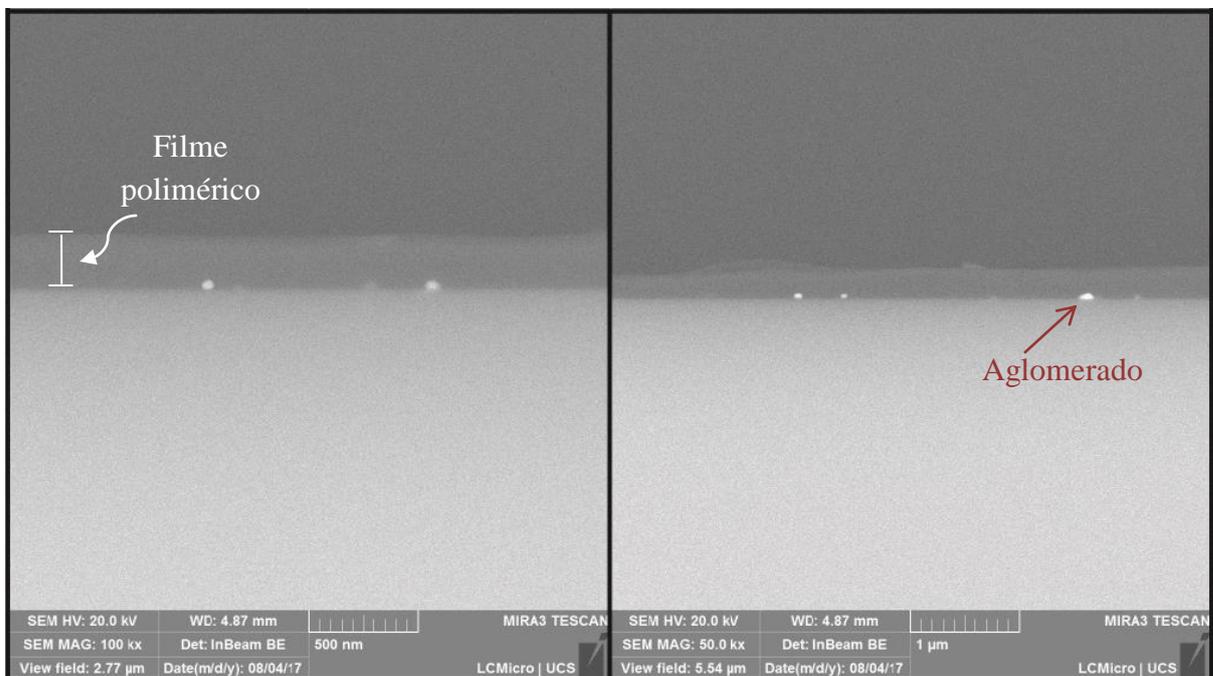
A quantidade máxima de prata e cobre permitida por lei em efluentes para reuso é de 0,1 mg/L e 1,0 mg/L, respectivamente (Brasil, 2011). Dessa forma, a maior quantidade de prata e cobre liberados durante o tratamento do efluente industrial por 120 min foi proveniente dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.4392 (0,0083 mg/L) e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 (0,027 mg/L), o que representa apenas 8,3% e 2,7% da quantidade máxima desses metais permitida pela legislação brasileira, respectivamente.

## 5.2. Caracterização dos Filmes Finos com AgNPs e CuNPs

### 5.2.1. MEV-FEG

A análise morfológica da seção transversal dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, 8/4 - luz UV Cu\_0.4392 e do filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub>, sem incorporação de nanopartículas e reticulado com GA, foi realizada através da técnica de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (*MEV-FEG*).

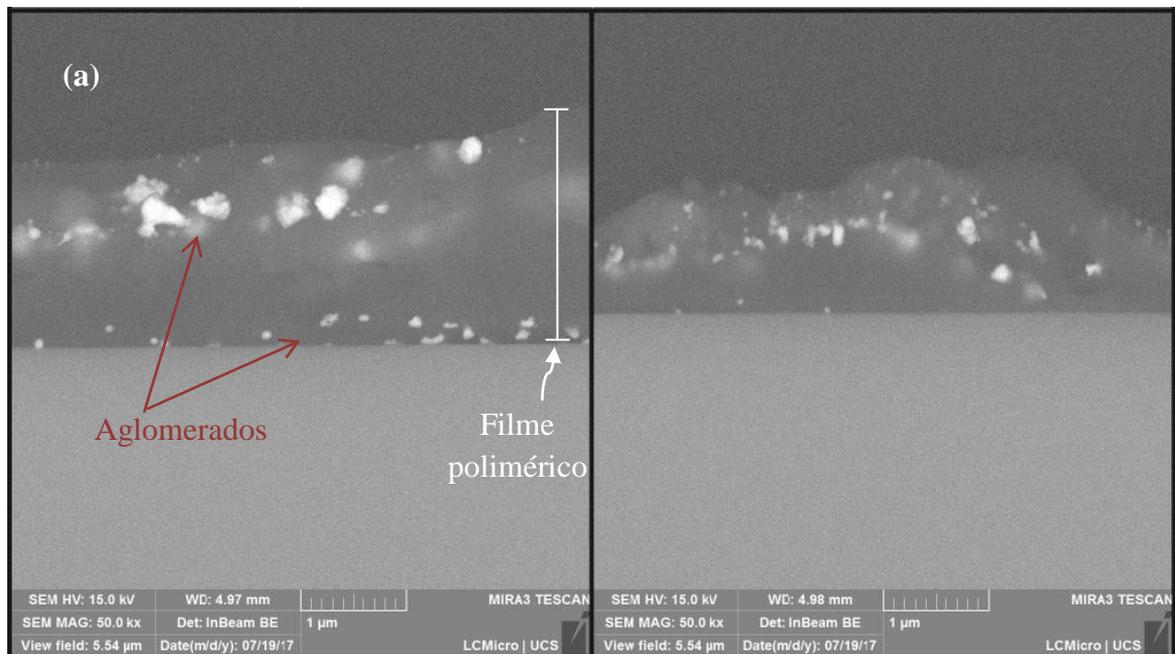
O filme preparado com a menor concentração de sal de prata (0,1098 mmol/L) (**Figura 9**) apresenta a menor quantidade de AgNPs, sendo que as nanopartículas encontram-se alocadas preferencialmente no interior do filme, apresentando formato esférico e tamanho médio de 50 a 100 nm. Além disso, as imagens de *MEV-FEG* revelaram igualmente a presença de alguns aglomerados.



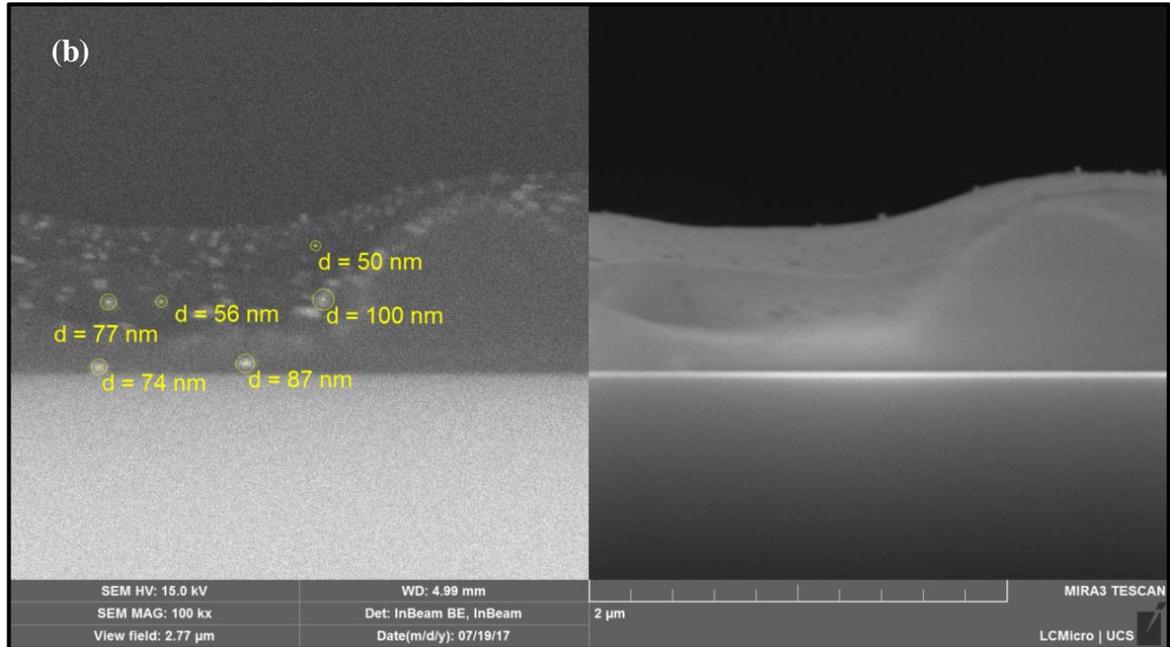
**Figura 9.** Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098.

Possivelmente, nas camadas mais superficiais do filme também estejam alocadas outras nanopartículas, porém com tamanhos bem menores, e que não puderam ser observadas por conta da limitação dessa técnica, o que o contribuiu para a diminuição da rugosidade desse filme, conforme foi constatado na caracterização por AFM que será discutida posteriormente (Seção 5.2.4., **Tabela 9**).

As imagens de *MEV-FEG* do filme preparado com a concentração intermediária de sal de prata (0,2196 mmol/L) (**Figuras 10 (a) e (b)**) mostram que foi nesse sistema que ocorreu a maior formação de AgNPs. O tamanho das nanopartículas também variou de 50 a 100 nm (**Figura 10 (b)**), estando a maioria delas alocada na superfície do filme. Além disso, nota-se a presença de várias nanopartículas no interior do filme, distribuídas de forma aleatória. Por fim, as imagens de *MEV-FEG* revelaram igualmente a presença de um número maior de aglomerados, com diferentes tamanhos e formas irregulares, e que as AgNPs apresentam formato predominante esférico.

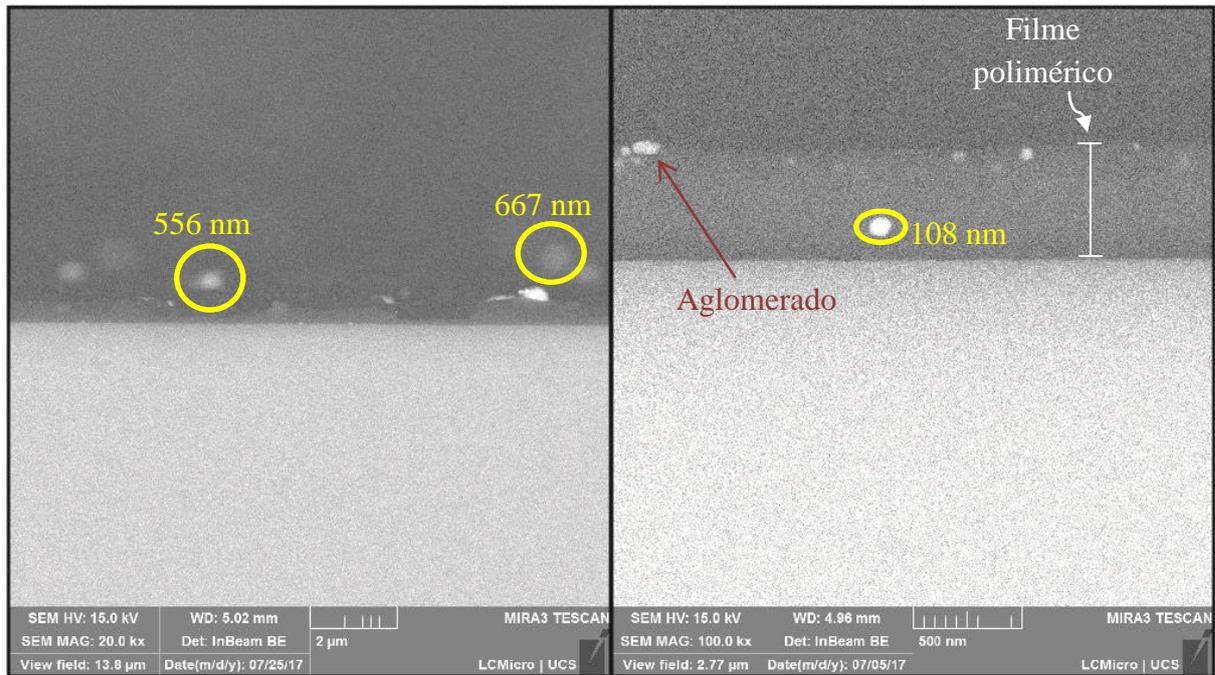


**Figura 10.** (a) Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 (continua na página seguinte).



**Figura 10.** Continuação. **(b)** Detalhe de **(a)** para visualização do tamanho das AgNPs.

Uma variação maior no tamanho das AgNPs é observada nas imagens de *MEV-FEG* dos filmes com maior concentração de sal de prata (0,4392 mmol/L) (**Figura 11**). Em geral, observa-se que quanto mais próximo à superfície do filme encontram-se as nanopartículas, maior é seu diâmetro. As imagens evidenciaram, nesse caso, AgNPs com mais de 600 nm, enquanto que no interior do filme o tamanho médio foi de aproximadamente 100 nm. A quantidade de AgNPs formadas é intermediária à dos demais filmes contendo prata, sendo em sua maioria de formato esférico. Também foi possível visualizar alguns aglomerados, principalmente na superfície do filme.



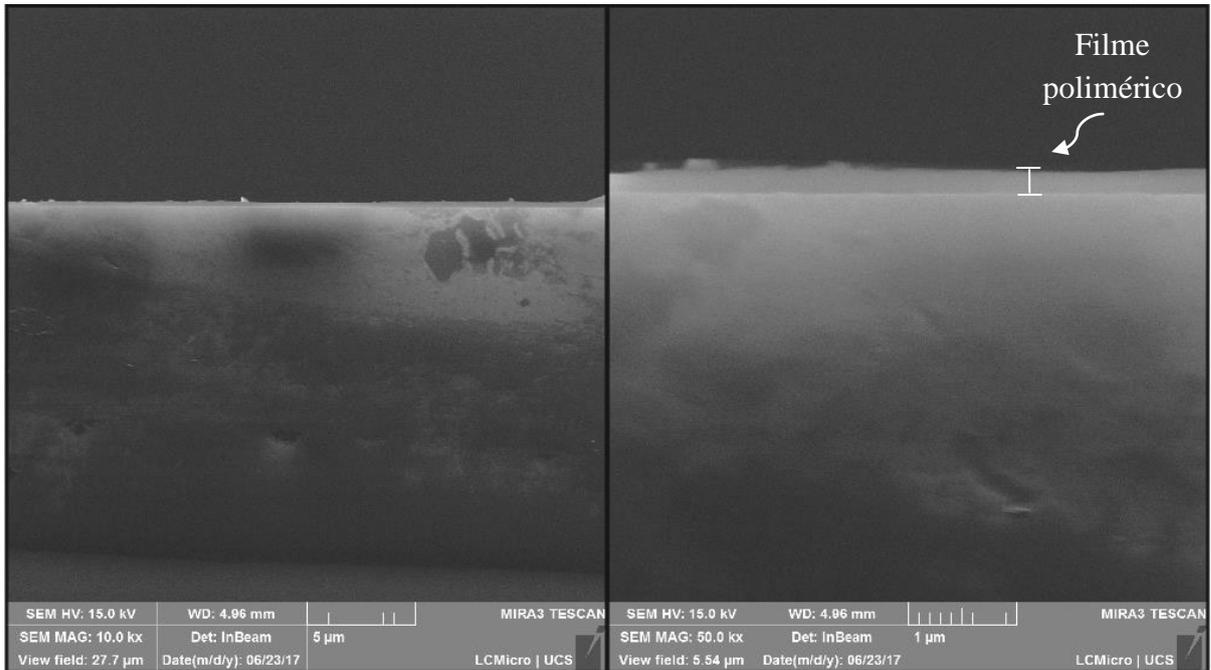
**Figura 11.** Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.4392.

Em geral, os resultados obtidos por *MEV-FEG* para os filmes com AgNPs são corroborados pelas análises de ICP-OES (Seção 5.1.2.), onde se verificou que o filme que foi preparado com uma concentração de sal de 0,2196 mmol/L foi o que apresentou a maior quantidade de prata, seguido pelos filmes preparados nas concentrações de 0,4392 mmol/L e 0,1098 mmol/L, respectivamente. De acordo com esses resultados, foi possível ainda constatar que a concentração de 0,2196 mmol/L é a mais adequada para a formação de AgNPs nos filmes desenvolvidos. Na concentração de 0,1098 mmol/L, a quantidade de íons  $\text{Ag}^+$  é reduzida e poucas interações ocorrem entre esses íons e os grupos ácidos livres das multicamadas. Já na concentração de 0,4392 mmol/L, a quantidade de íons  $\text{Ag}^+$  é relativamente alta, o que implica numa maior repulsão entre os mesmos e as camadas do polímero, e conseqüentemente na redução da quantidade de AgNPs formadas.

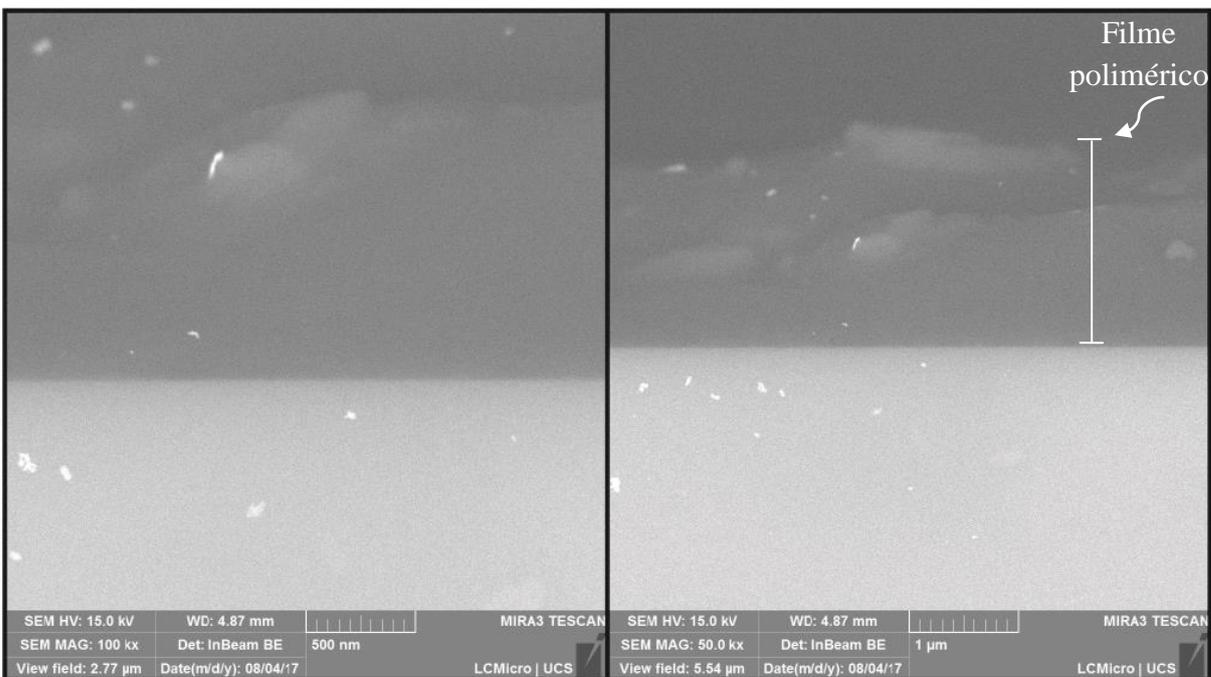
Comportamento semelhante aos filmes contendo prata foi observado para os filmes preparados com as três concentrações de sal de cobre; no entanto, a visualização das CuNPs é praticamente imperceptível, devido possivelmente à oxidação das mesmas, uma vez que óxido de cobre (II) foi observado nas análises de XPS (Seção 5.2.6., **Figura 29**).

O filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 é o que apresenta a maior quantidade de CuNPs e/ou óxido de cobre (II) (**Figura 13**), seguido dos filmes 8/4 - luz UV Cu\_0.4392 (**Figura 14**) e 8/4 - luz UV Cu\_0.1098 (**Figura 12**), respectivamente. De maneira análoga aos filmes contendo prata, as análises de *MEV-FEG* são corroboradas pelas análises de ICP-OES, que

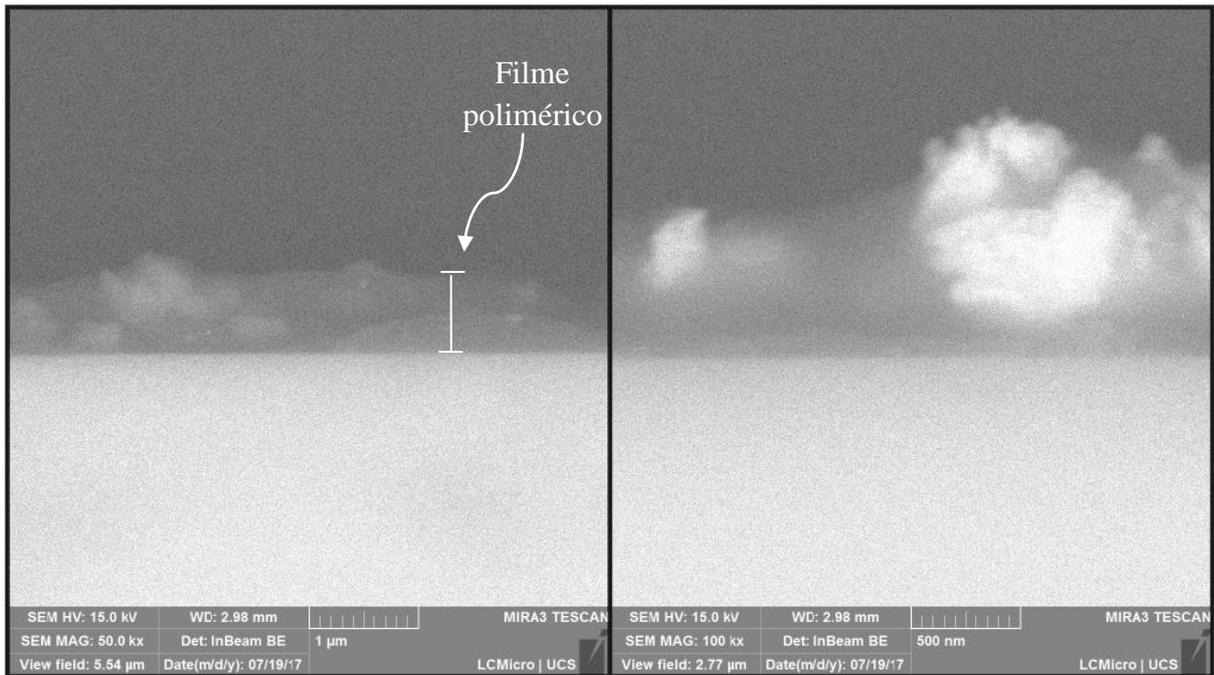
foram utilizadas neste trabalho para quantificar o cobre total presente nos filmes, antes de sua utilização no tratamento do efluente industrial.



**Figura 12.** Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Cu<sub>0.1098</sub>.



**Figura 13.** Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Cu<sub>0.2196</sub>.

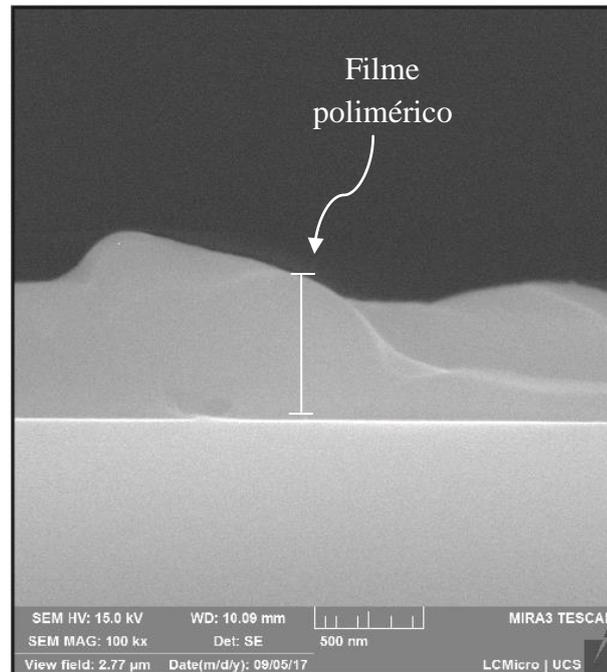


**Figura 14.** Imagens de *MEV-FEG* do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.4392.

A redução da rugosidade do filme após a incorporação do sal de cobre na menor concentração indica que, assim como no filme de prata com menor concentração, as CuNPs e/ou as partículas de óxido de cobre (II) podem ser de tamanhos bem inferiores às que são visualizadas nas imagens de *MEV-FEG*, estando inseridas entre as multicamadas superficiais do filme.

A espessura dos filmes contendo prata e cobre, preparados nas diferentes concentrações de sal, além do filme polimérico sem incorporação de nanopartículas, e todos reticulados com GA, foi igualmente medida através das imagens de *MEV-FEG*.

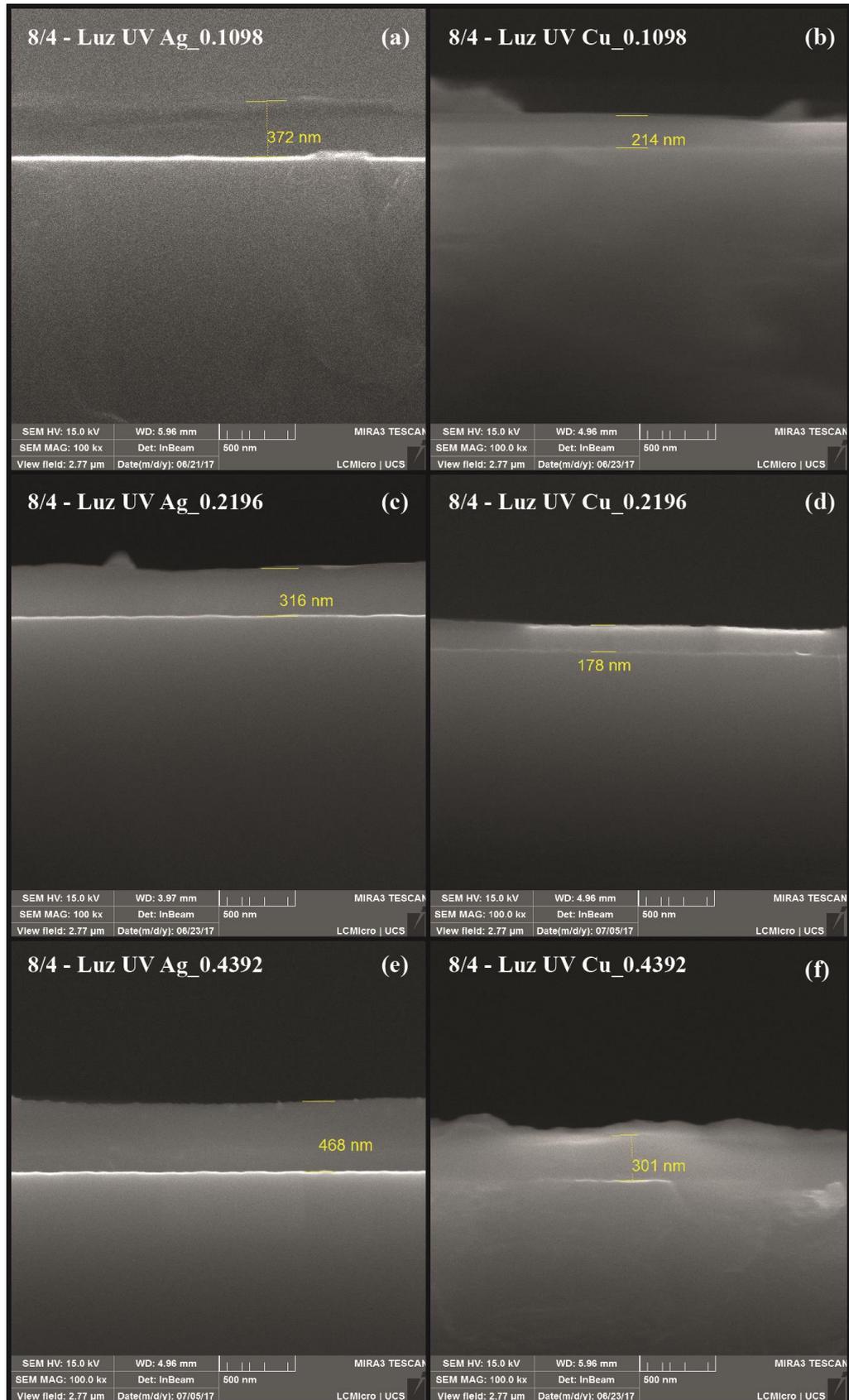
A **Figura 15** mostra a morfologia do filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub>, sem a incorporação de nanopartículas e reticulado com GA. A imagem de *MEV-FEG* revela que o filme não é uniforme, apresentando diferentes espessuras em pontos distintos. No ponto em que o filme está mais alto, o mesmo apresenta uma espessura de aproximadamente 870 nm, enquanto que na região de menor altura a espessura é de pouco mais de 500 nm.



**Figura 15.** Imagem de *MEV-FEG* do filme  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$ , sem incorporação de nanopartículas e reticulado com GA.

Analisando e comparando-se as espessuras dos filmes contendo prata e cobre, observa-se que para as três concentrações de sal, os filmes com prata são mais espessos que os filmes com cobre (**Figura 16**). Isso se deve provavelmente ao fato de que os átomos de cobre ao estabelecerem ligações com átomos de oxigênio do PAA propiciem uma maior migração dos mesmos para o interior do filme, fato que não se observa com a prata, onde ocorrem apenas ligações entre átomos de prata. Dessa forma, as AgNPs se concentram em maior quantidade na superfície dos filmes, enquanto as de cobre migram mais para o interior do filme.

A comparação entre os filmes contendo AgNPs mostra que o sistema preparado com a concentração de 0,2196 mmol/L é o mais fino de todos, apresentando uma espessura de 316 nm, seguido pelos filmes obtidos nas concentrações de 0,1098 mmol/L e 0,4392 mmol/L que apresentam espessuras de 372 nm e 468 nm, respectivamente. Esse resultado se deve ao tamanho das nanopartículas, bem como à localização das mesmas nos filmes. O mesmo comportamento foi observado para os filmes contendo CuNPs, sendo o sistema preparado com a concentração de 0,4392 mmol/L o mais espesso (301 nm), seguido pelos filmes obtidos nas concentrações de 0,1098 mmol/L (214 nm) e 0,2196 mmol/L (178 nm), respectivamente.

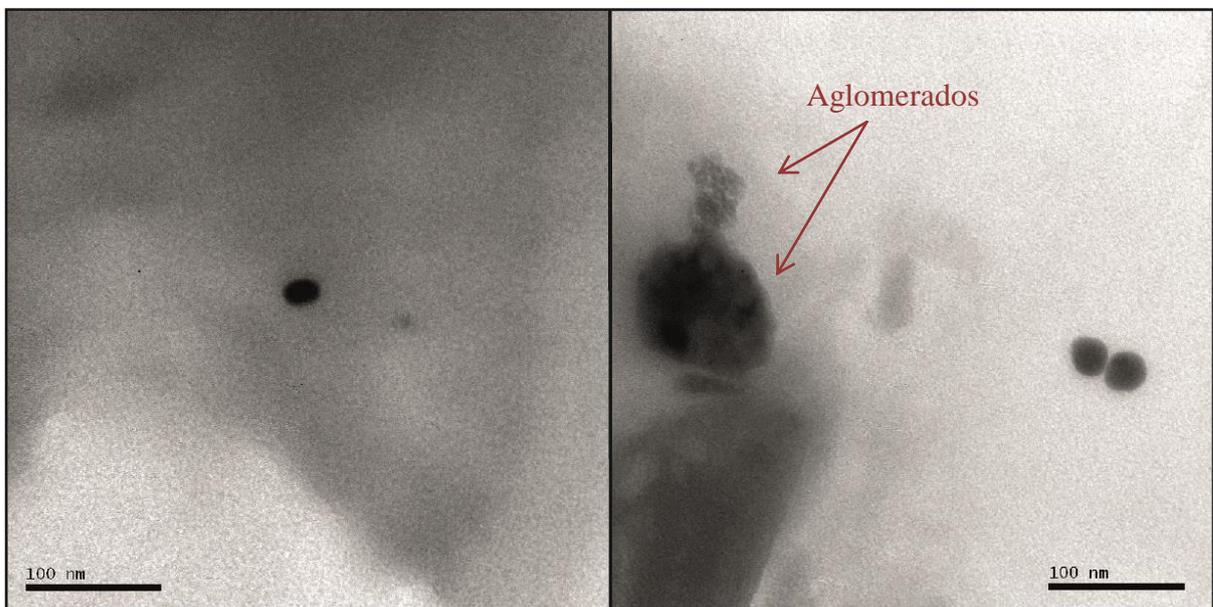


**Figura 16.** Imagens de *MEV-FEG* dos filmes: (a) 8/4 - luz UV Ag<sub>0.1098</sub>, (b) 8/4 - luz UV Cu<sub>0.1098</sub>, (c) 8/4 - luz UV Ag<sub>0.2196</sub>, (d) 8/4 - luz UV Cu<sub>0.2196</sub>, (e) 8/4 - luz UV Ag<sub>0.4392</sub> e (f) 8/4 - luz UV Cu<sub>0.4392</sub>.

A redução na espessura dos filmes, após a incorporação das nanopartículas, tanto de cobre quanto de prata, se deve à solubilidade dos polieletrólitos quando imersos nas soluções dos sais contendo citrato de sódio, formação que enfatiza a importância da reticulação dos mesmos, em função de uma possível reutilização desses materiais em outros ciclos de descontaminação.

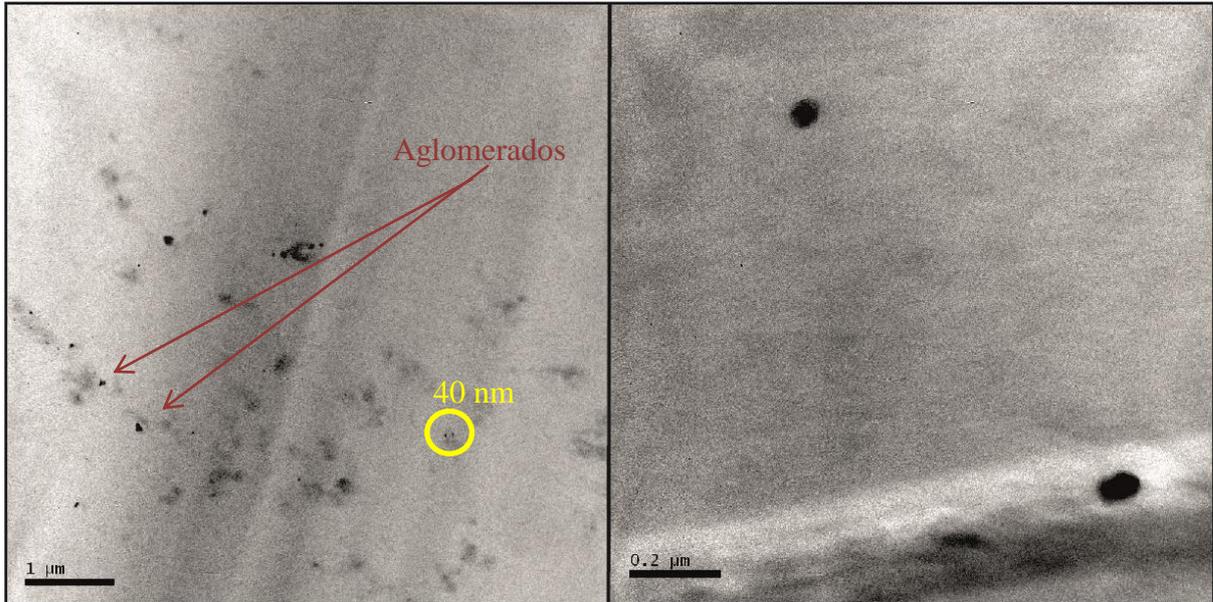
### 5.2.2. MET

A **Figura 17** mostra as imagens das AgNPs do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, reticulado com GA, onde se observam além das nanopartículas de tamanhos entre 50 e 100 nm, visualizadas anteriormente nas imagens de *MEV-FEG* (**Figura 9**), nanopartículas com tamanhos menores (de 10 a 30 nm). As AgNPs apresentam-se tanto dispersas quanto em aglomerados, sendo o formato predominantemente esférico.



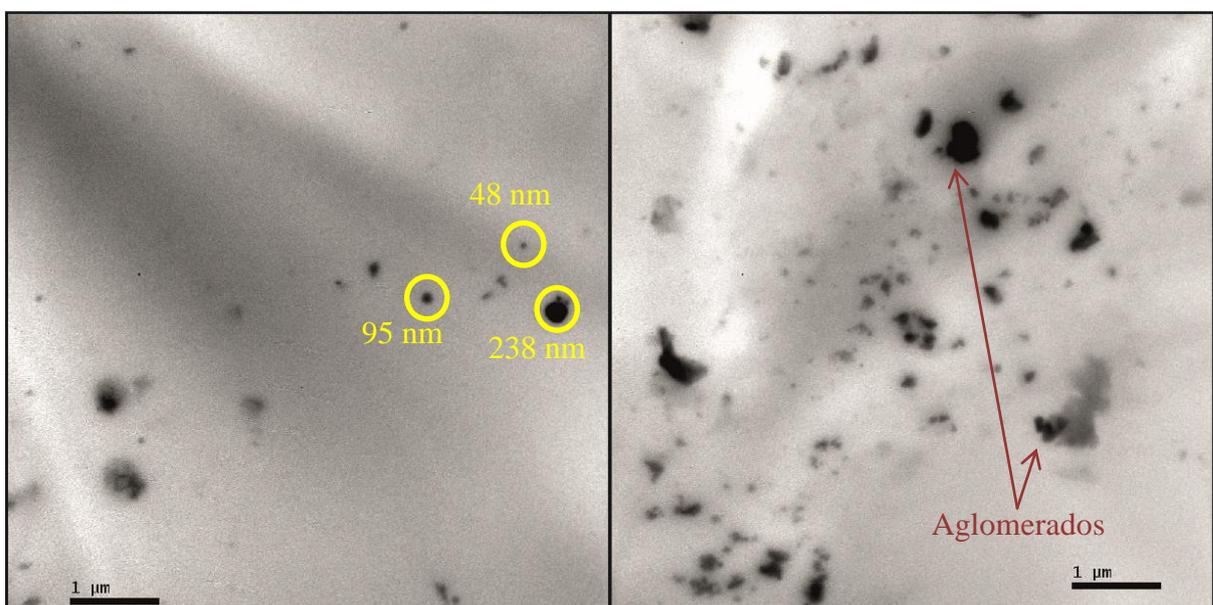
**Figura 17.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098.

O filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, reticulado com GA apresenta igualmente nanopartículas com formato predominantemente esférico, tanto dispersas como aglomeradas (**Figura 18**), com tamanhos variando de 40 a 100 nm.



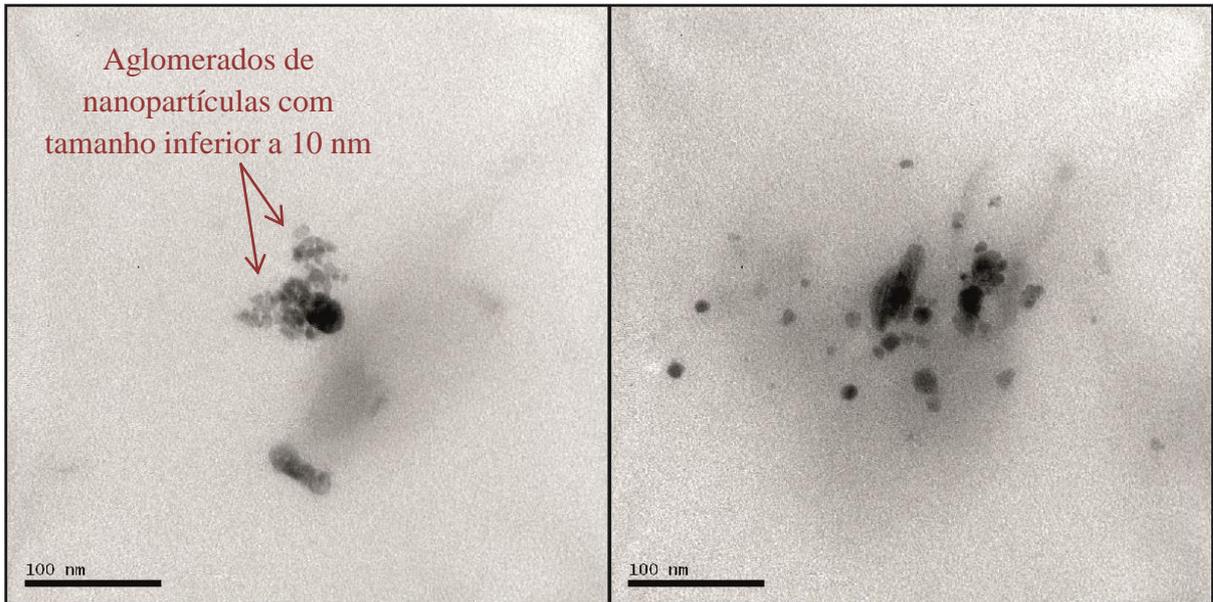
**Figura 18.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196.

As imagens da **Figura 19** apresentam as AgNPs do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, onde é possível observar que as mesmas são predominantemente esféricas, estando distribuídas e/ou aglomeradas no filme e com tamanhos variando entre 50 e 250 nm. Conforme já havia sido observado nas imagens de *MEV-FEG*, esse foi o filme, dentre todos os de prata analisados, em que as nanopartículas apresentaram a maior variação em termos de tamanho, bem como as maiores nanopartículas.



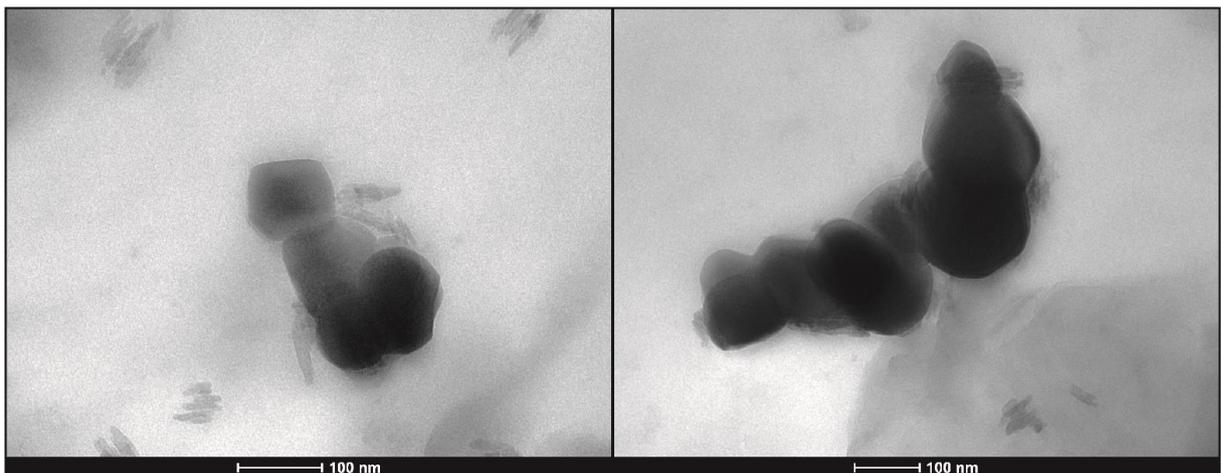
**Figura 19.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.4392.

Na **Figura 20** encontram-se as imagens de TEM para o filme obtido com concentração de sal de cobre de 0,1098 mmol/L, onde são observadas nanopartículas com formato esférico, distribuídas de forma aleatória no filme, estando algumas agrupadas. Nesse filme foi observada a menor variação entre os tamanhos das nanopartículas, sendo que a maioria apresentou um diâmetro entre 10 e 20 nm. Além disso, foi possível também identificar algumas nanopartículas com tamanhos inferiores a 10 nm.



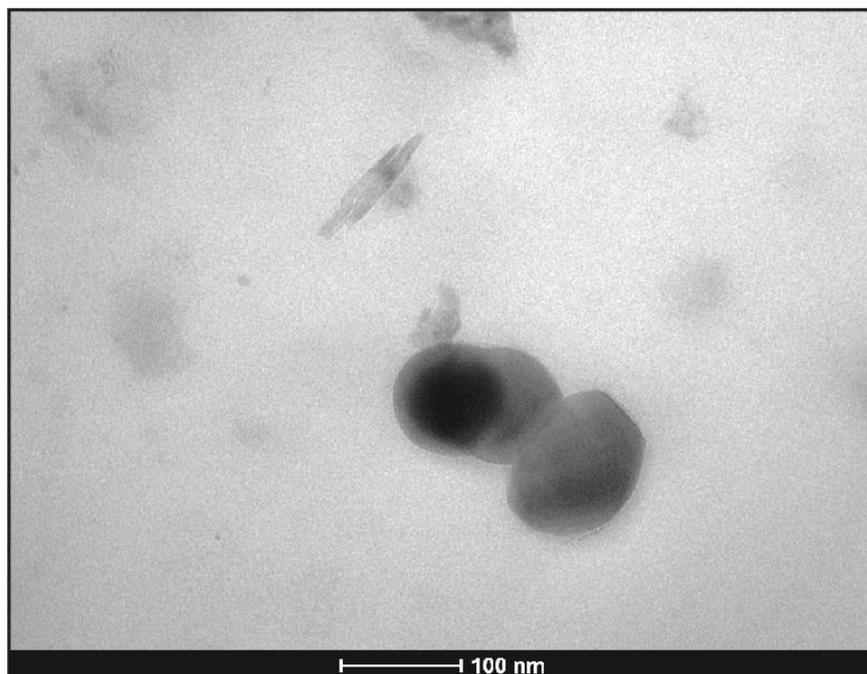
**Figura 20.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.1098.

As imagens de MET para o filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 (**Figura 21**) mostram a presença de CuNPs e/ou óxido de cobre (II) aglomeradas, com tamanho variando entre 80 e 170 nm e formato esférico.



**Figura 21.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196.

A **Figura 22** mostra a imagem de MET do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, onde são observados aglomerados com menos nanopartículas do que os visualizados no filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, porém com nanopartículas mais uniformes e de formato esférico, e com menor variação de tamanho (de 90 a 125 nm).



**Figura 22.** Imagens de MET do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.4392.

A **Tabela 8** sumariza as variações observadas nas imagens de MET para o tamanho médio das AgNPs e CuNPs, evidenciando que o aumento na concentração dos sais aumenta o diâmetro médio das nanopartículas incorporadas aos filmes finos.

**Tabela 8.** Variação do tamanho médio das AgNPs e CuNPs visualizadas nos filmes por MET.

Filme	Tamanho nanopartículas (nm)
8/4 - luz UV Ag_0.1098	10-100
8/4 - luz UV Ag_0.2196	40-100
8/4 - luz UV Ag_0.4392	50-250
8/4 - luz UV Cu_0.1098	10-20
8/4 - luz UV Cu_0.2196	80-170
8/4 - luz UV Cu_0.4392	90-125

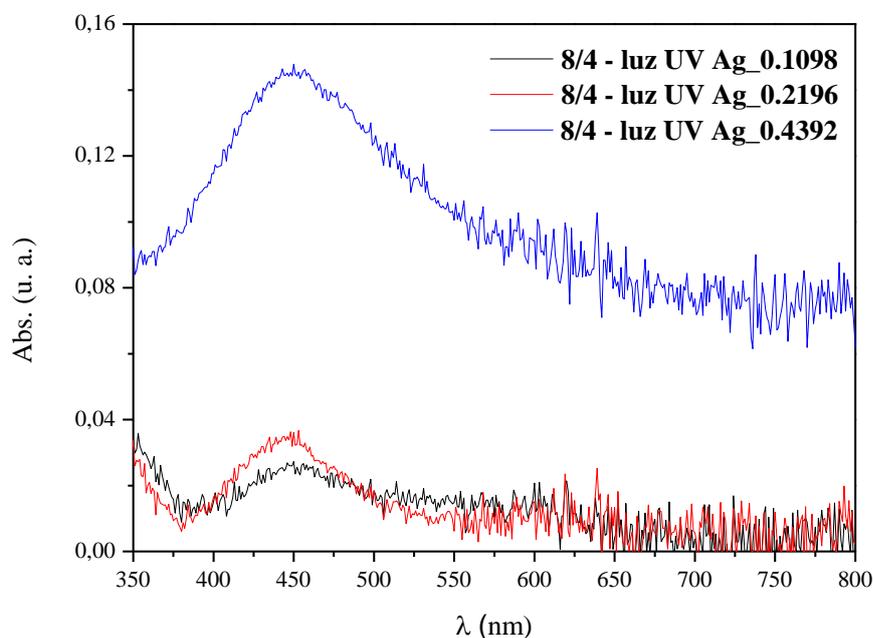
Finalmente, a análise morfológica mostrou que os resultados obtidos por ambas as técnicas microscópicas (*MEV-FEG* e *MET*) se correlacionam muito bem entre si, sendo possível visualizar por *MET* nanopartículas menores, especialmente nos filmes de menor concentração de sal (0,1098 mmol/L), que não foram visualizadas nas imagens de *MEV-FEG*.

### 5.2.3. UV-Vis

As **Figuras 23** e **24** apresentam os espectros UV-Vis dos filmes contendo prata e cobre obtidos nas diferentes concentrações de sais.

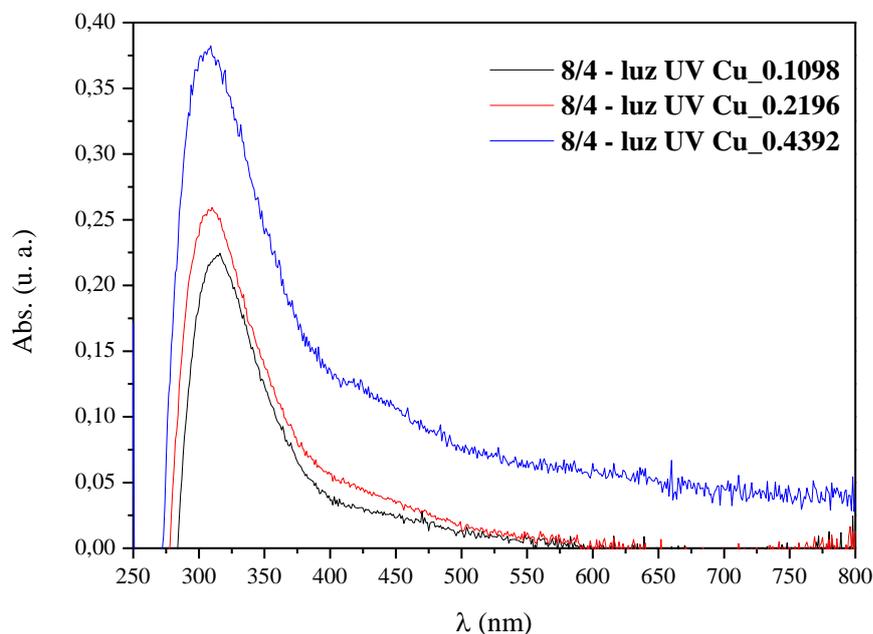
De acordo com a literatura, espectros UV-Vis podem fornecer informações importantes a respeito do tamanho e da geometria das nanopartículas estudadas (Pal et al., 2007). Geralmente, uma banda em torno de 400-450 nm indica a presença de AgNPs de formato esférico (Noguez, 2007). Os espectros UV-Vis das CuNPs, por outro lado, apresentam geralmente uma banda na região compreendida entre 500 e 600 nm (Wang et al., 2010), sendo seu formato, dentre outros fatores, dependente da concentração do agente estabilizante utilizado na síntese (Wang e Asefa, 2010).

Os espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, todos reticulados com GA (**Figura 23**), mostram uma única banda por volta de 450 nm, o que indica a presença de AgNPs com geometria esférica, conforme verificado nas caracterizações por *MEV-FEG* e *MET*, nesses materiais (Revina et al., 2001; Pal et al., 2007).



**Figura 23.** Espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 e 8/4 - luz UV Ag\_0.4392.

Já os espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, todos reticulados com GA (**Figura 24**), mostram uma única banda centrada em aproximadamente 320 nm, o que indica, segundo a literatura (Rahman et al., 2009), a formação de nanopartículas de óxido de cobre (II). Esses espectros não apresentam bandas características de CuNPs, sugerindo que nesses filmes tenha ocorrido majoritariamente a formação de nanopartículas de óxido de cobre (II).



**Figura 24.** Espectros UV-Vis dos filmes 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392.

Comparando os espectros dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392 entre si (**Figura 23**), observa-se que quanto maior a concentração de sal de prata no filme, maior a intensidade da banda plasmônica associadas às AgNPs formadas. Esse fato parece estar relacionado à quantidade de prata incorporada, podendo ainda ter relação com o tamanho, o formato e o estado de aglomeração das AgNPs nos filmes, bem como com a distribuição das mesmas nas diversas camadas do filme, tendo em vista que as propriedades ópticas das nanopartículas são sensíveis a todas essas propriedades (Tomaszewska et al., 2013). O mesmo comportamento é observado para os filmes de cobre (**Figura 24**). Wang e colaboradores (2002) observaram que quanto maior o tamanho das AgNPs, maior é a intensidade da banda plasmônica, o que é corroborado pelos resultados observados na caracterização por *MEV-FEG*.

#### 5.2.4. GD-OES

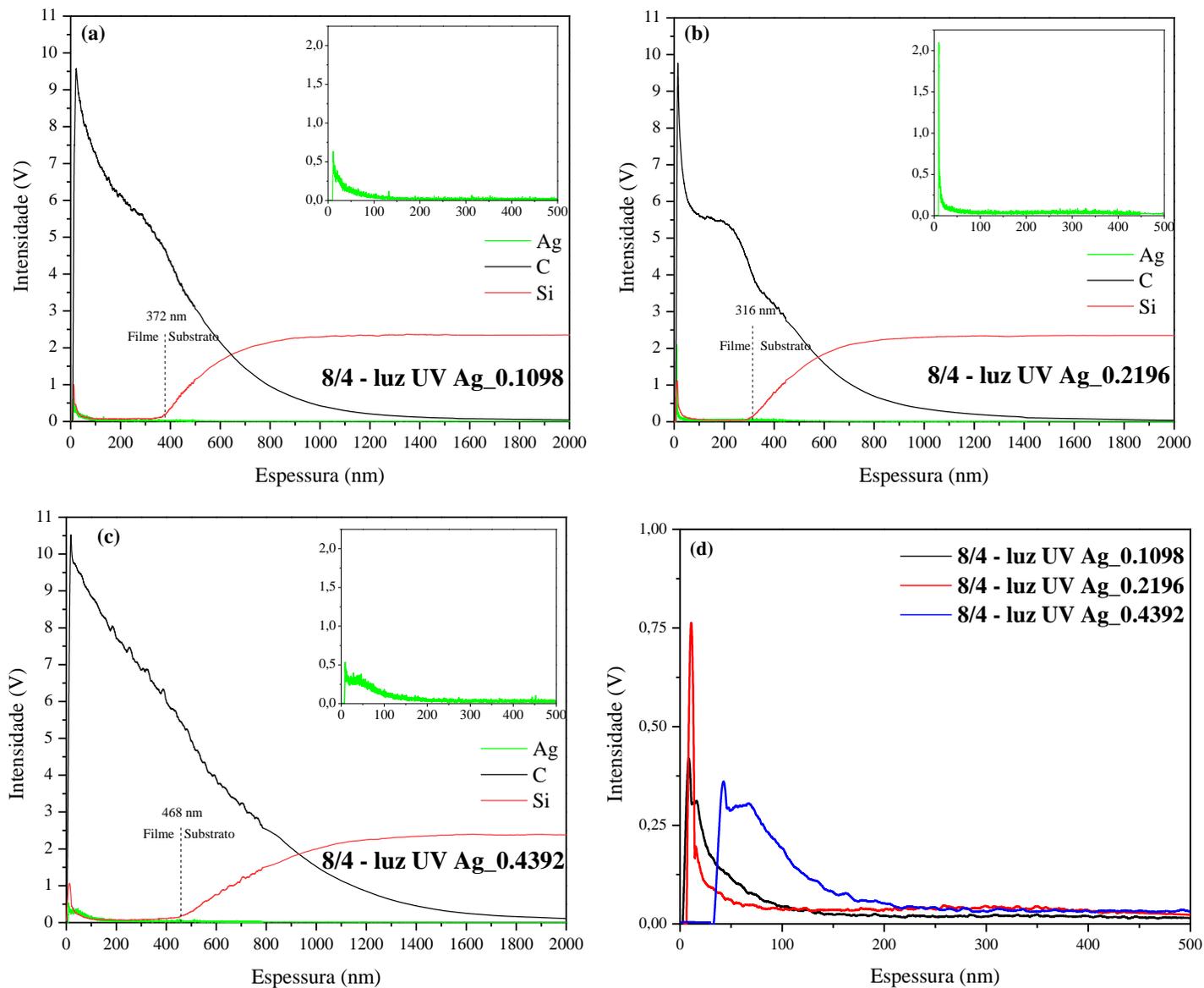
Os resultados das análises de GD-OES dos filmes desenvolvidos nesse trabalho encontram-se nas **Figuras 25 e 26**.

As **Figuras 25 (a), (b) e (c)** evidenciam os perfis de prata e do filme polimérico para os sistemas 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 e 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, atestando que houve a incorporação de AgNPs nesses materiais. De forma análoga, as **Figuras 26 (a), (b) e (c)**, onde são apresentados os perfis de cobre e do filme polimérico para os sistemas 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, comprovam igualmente que ocorreu a incorporação de cobre nos filmes finos analisados.

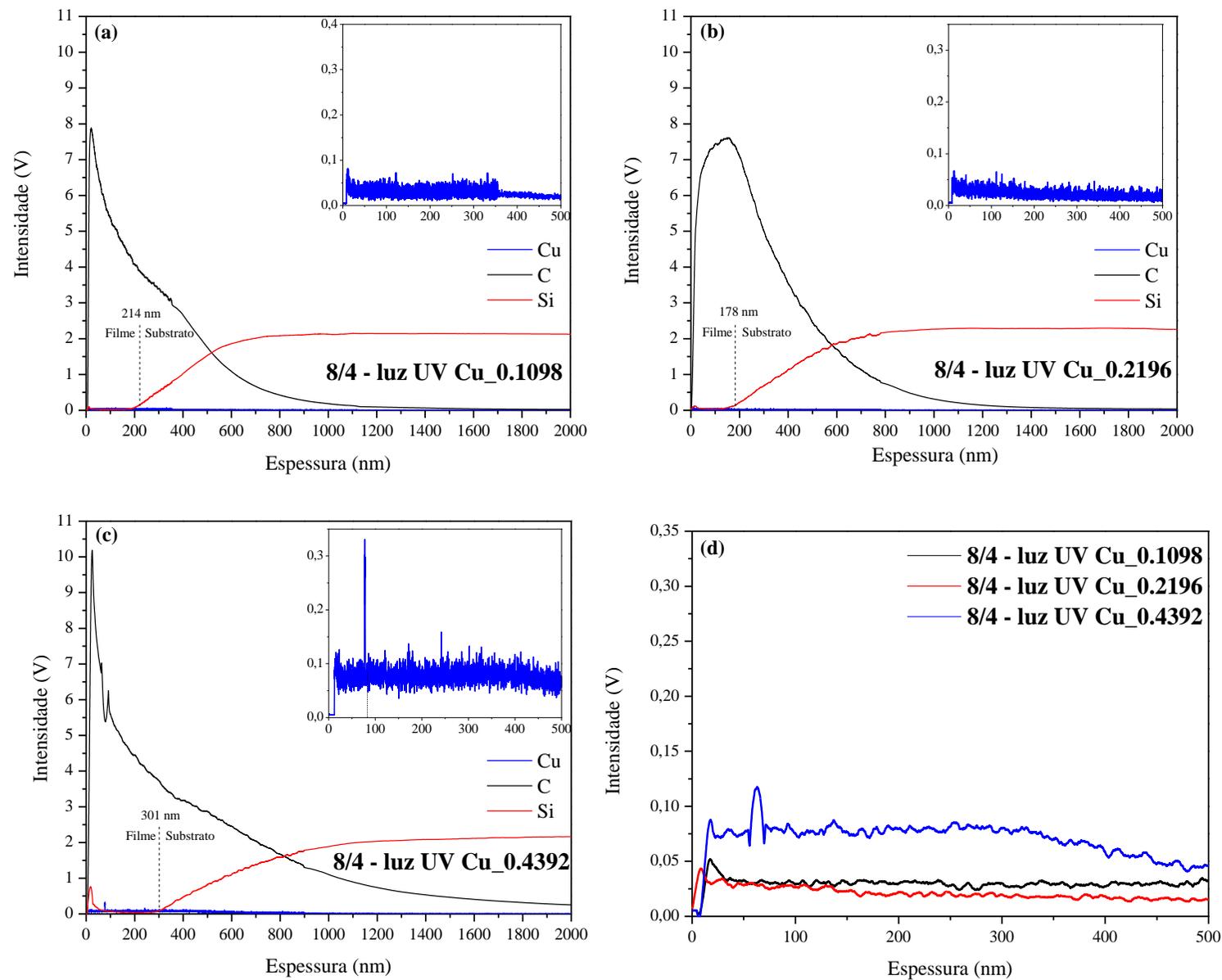
Nas **Figuras 25 (a) e (b)**, o filme polimérico pode ser visualizado entre as espessuras de 50 a 650 nm, sendo que a partir de 372 nm e 316 nm, respectivamente, ocorre a identificação do substrato de silício e a tensão do filme polimérico diminui. Ao analisar a **Figura 25 (c)**, pode-se verificar que o filme polimérico aparece no intervalo de espessuras de 70 a 900 nm, momento em que o silício (substrato utilizado na deposição do filme) surge, evidenciando que a partir desta profundidade não há mais filme polimérico, restando apenas o substrato. A partir de 468 nm, ocorre o reconhecimento do substrato de silício, reduzindo substancialmente a intensidade do filme polimérico.

Nas **Figuras 26 (a), (b) e (c)**, o filme polimérico pode ser visualizado nas espessuras entre 40-550 nm, 65-600 nm e 90-700 nm, respectivamente, sendo que a partir de 214 nm, 178 nm e 301 nm, ocorre a identificação do substrato de silício e a tensão do filme polimérico diminui. Dessa forma, comparando-se as **Figuras 25 (a), (b) e (c)** e **26 (a), (b) e (c)**, pode-se concluir que os filmes contendo prata são mais espessos em relação aos filmes com cobre, o que é corroborado pela análise de *MEV-FEG*.

Com relação à camada de prata presente nos filmes nas diferentes concentrações de sal, a **Figura 25 (d)** mostra que para todos os sistemas a presença de prata é maior na superfície do material e vai diminuindo em concentração, à medida que a profundidade aumenta. Para o filme preparado com a concentração intermediária de sal, verifica-se que a intensidade de tensão da prata apresenta valores superiores às demais concentrações, fornecendo indícios qualitativos de que no filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 há uma maior quantidade de prata em relação aos demais filmes. Para os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098 e 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, por sua vez, verifica-se intensidades semelhantes de tensão. Essas evidências são corroboradas pelas análises de ICP-OES e *MEV-FEG*, discutidas anteriormente.



**Figura 25.** Perfil de concentração de prata: **(a)** filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, **(b)** filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, **(c)** filme 8/4 - luz UV Ag\_0.4392, **(d)** detalhe de **(a, b e c)** para melhor visualização das AgNPs.

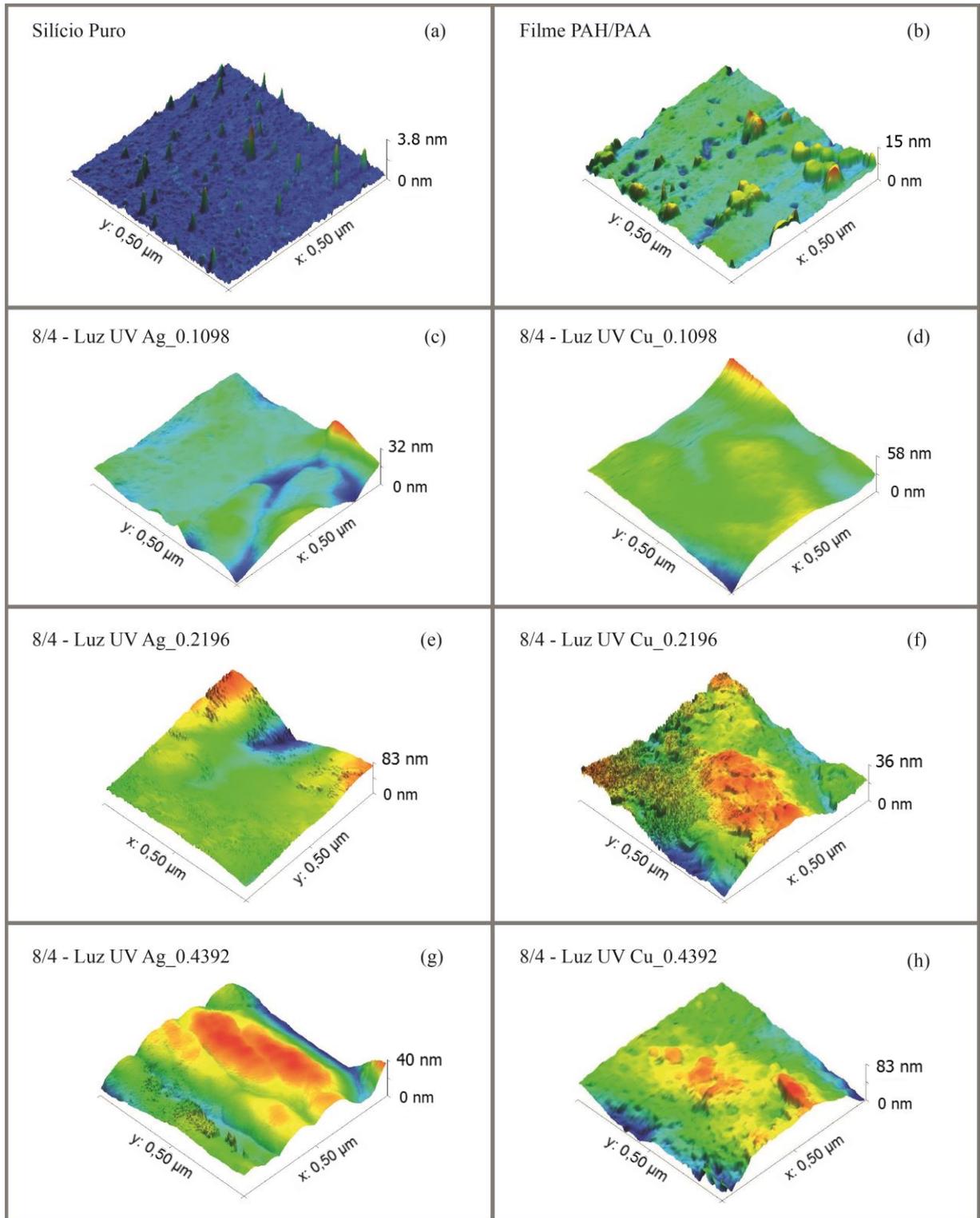


**Figura 26.** Perfil de concentração do cobre: **(a)** filme 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, **(b)** filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, **(c)** filme 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, **(d)** detalhe de **(a, b e c)** para melhor visualização das CuNPs.

A camada de cobre nos filmes pode ser observada na **Figura 26 (d)**, onde foi constatado que há uma maior distribuição das CuNPs dentro do filme polimérico. Quantitativamente, os perfis sugerem que no filme com maior concentração de cobre (8/4 - luz UV Cu\_0.4392) ocorreu uma maior incorporação de nanopartículas. Já para os filmes 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.1098 verifica-se intensidades semelhantes de tensão.

#### 5.2.5. AFM

A **Figura 27** apresenta as imagens de AFM do substrato de silício (sem deposição de filme), do filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> (antes da incorporação das AgNPs e CuNPs, sem reticulação) e dos filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098, 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, 8/4 - luz UV Ag\_0.4392 e 8/4 - luz UV Cu\_0.4392, todos reticulados com GA. Nessas imagens, as regiões com cores frias (azul, ciano e verde) correspondem aos “vales” ou depressões das amostras. Quanto mais quente se torna a cor da região (amarelo, laranja e vermelho), maior é a altura do ponto observado, sendo que o ponto que apresenta a cor quente e mais intensa (vermelho) em cada imagem corresponde ao máximo na escala do eixo z.



**Figura 27.** Imagens de AFM: (a) substrato de silício, (b) filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> sem nanopartículas e reticulação, (c) filme 8/4 - luz UV Ag<sub>0.1098</sub>, (d) filme 8/4 - luz UV Cu<sub>0.1098</sub>, (e) filme 8/4 - luz UV Ag<sub>0.2196</sub>, (f) filme 8/4 - luz UV Cu<sub>0.2196</sub>, (g) filme 8/4 - luz UV Ag<sub>0.4392</sub> e (h) filme 8/4 - luz UV Cu<sub>0.4392</sub>.

Na **Tabela 9** são apresentados os valores de rugosidade, calculados a partir das imagens de AFM. O valor encontrado para a rugosidade do substrato de silício corrobora com o valor apresentado na literatura (IEEE, 1996). No geral, todas as amostras apresentaram baixos valores para esse parâmetro, variando de 0,320 nm para o filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098 até 1,070 nm para o filme 8/4 - luz UV Cu\_0.4392.

**Tabela 9.** Rugosidades calculadas a partir das imagens de AFM.

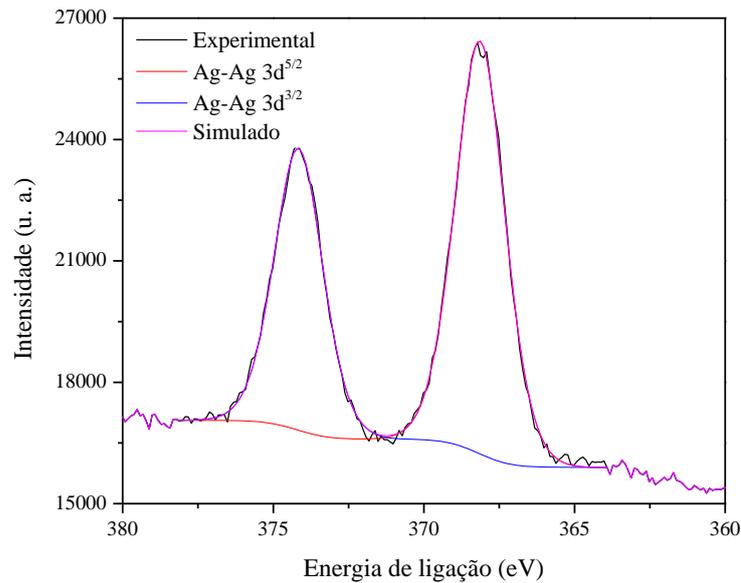
Teste	Rugosidade (nm)
Silício	0,097 ± 0,043
Filme PAH/PAA	0,430 ± 0,085
8/4 - luz UV Ag_0.1098	0,320 ± 0,120
8/4 - luz UV Ag_0.2196	0,720 ± 0,210
8/4 - luz UV Ag_0.4392	0,460 ± 0,225
8/4 - luz UV Cu_0.1098	0,340 ± 0,130
8/4 - luz UV Cu_0.2196	0,690 ± 0,095
8/4 - luz UV Cu_0.4392	1,070 ± 0,160

Além disso, comparando-se o filme (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> com os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.1098 e 8/4 - luz UV Cu\_0.1098, observa-se um maior grau de rugosidade do filme sem a presença de nanopartículas. Esse comportamento se deve à conformação enovelada das cadeias dos polieletrólitos nessa condição de pH, o que permite uma melhor incorporação das AgNPs e CuNPs que, devido ao seu tamanho reduzido, se aloca preferencialmente nas depressões existentes, provocando o decréscimo da rugosidade dos mesmos.

### 5.2.6. XPS

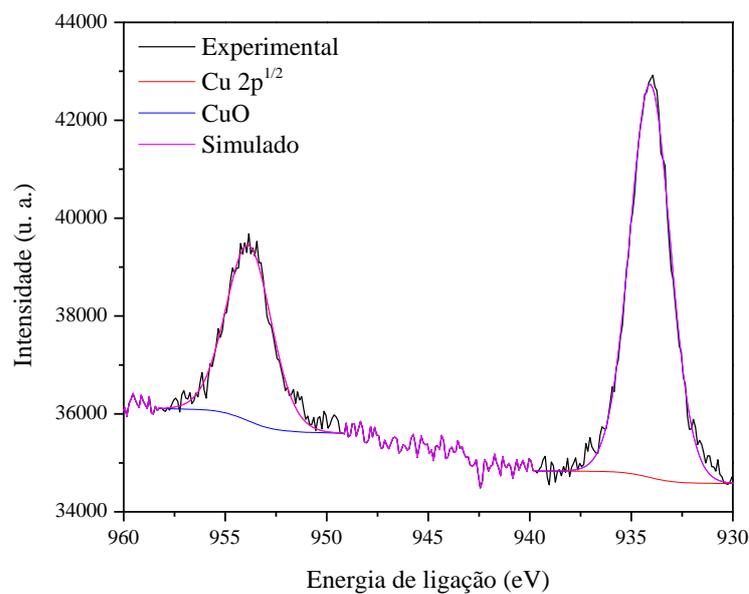
Os espectros de alta resolução foram obtidos na região correspondente à energia de ligação das camadas 3d da prata, 2p do cobre, 1s do carbono, 1s do oxigênio e 1s do nitrogênio.

A **Figura 28** apresenta o espectro de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons da prata para o filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196, onde são identificados dois picos que estão correlacionados às ligações Ag-Ag na linha espectral 3d<sup>5/2</sup> e Ag-Ag na linha espectral 3d<sup>3/2</sup>, respectivamente. Esses resultados revelam que os átomos de prata se ligam apenas entre si, não aparecendo nenhuma ligação com qualquer outro elemento químico, evidenciando dessa forma a formação de prata metálica no filme.



**Figura 28.** Espectro de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons da prata do filme 8/4 - luz UV Ag\_0.2196.

Já no espectro do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 (**Figura 29**) são identificados dois picos que estão correlacionados às ligações CuO e Cu-Cu na linha espectral  $2p^{1/2}$ , respectivamente. Dessa forma, verifica-se que os átomos de cobre, além de se ligarem entre si, também se unem a átomos de oxigênio, formando, além de cobre metálico, nanopartículas de óxido de cobre (II) no filme.

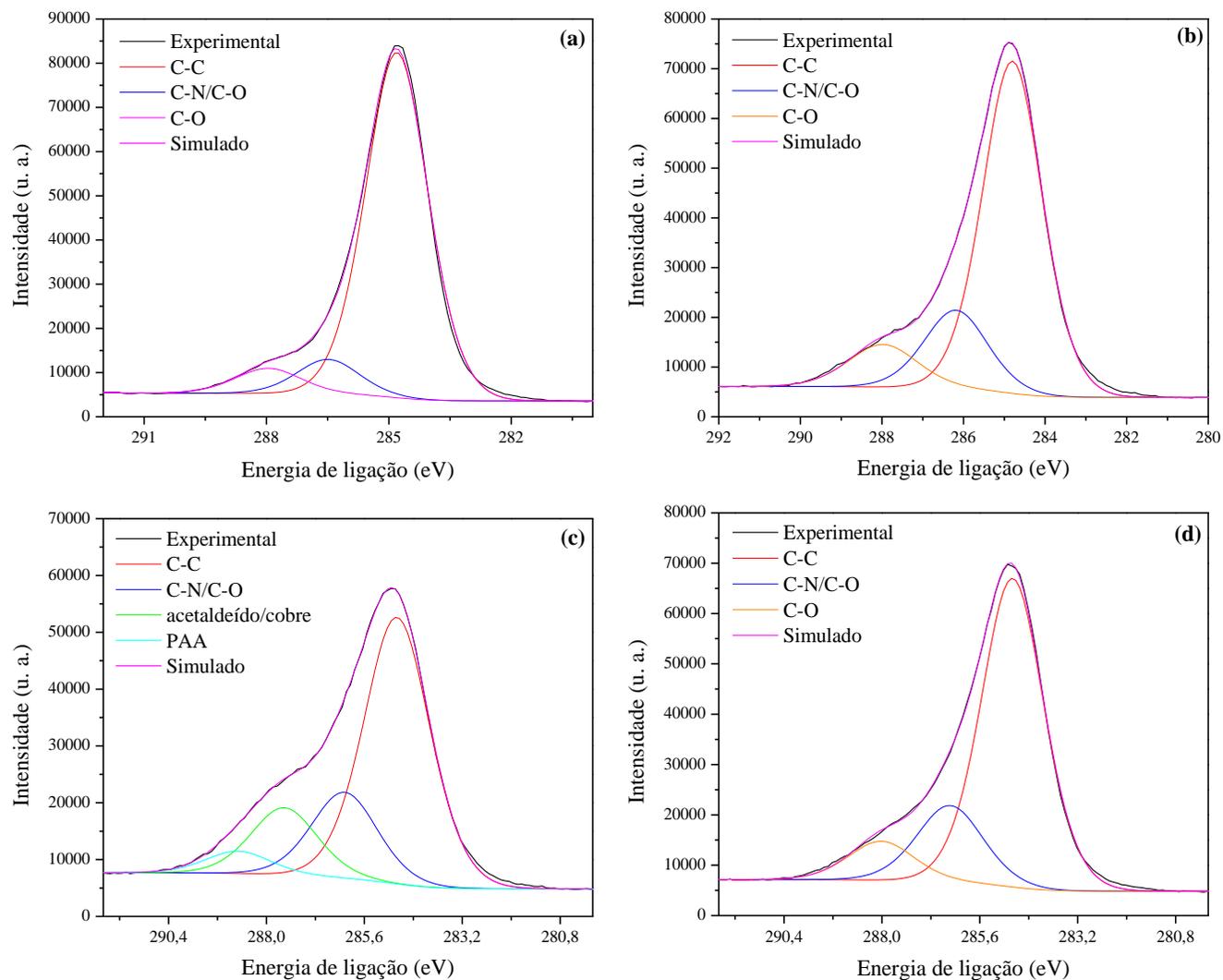


**Figura 29.** Espectros de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons do cobre do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196.

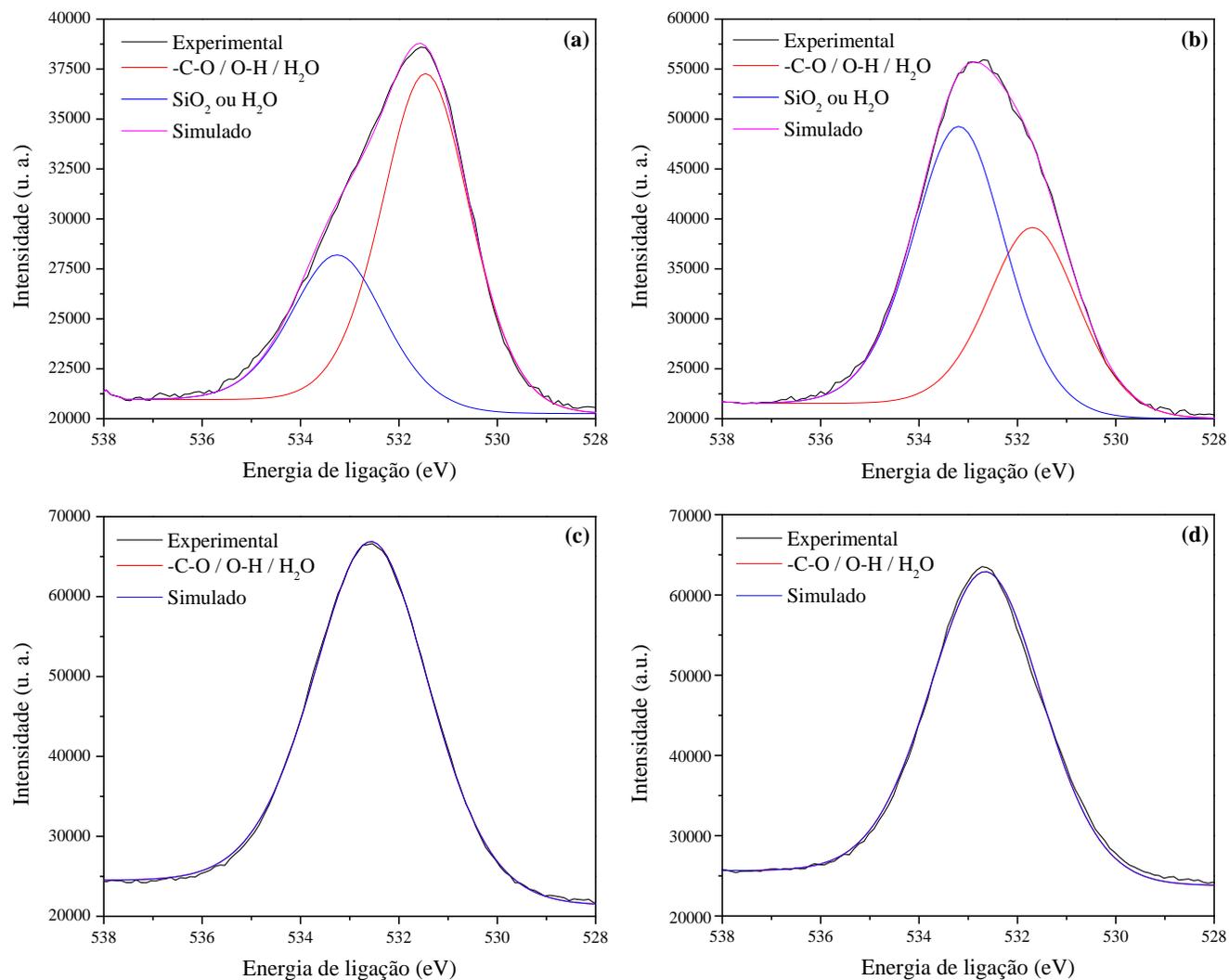
Analisando-se e comparando a curva da ligação C-C, apresentada nos espectros na faixa de energia dos fotoelétrons do carbono (**Figura 30**), de todos os filmes analisados por XPS, é possível observar que os filmes reticulados com GA (**Figuras 30 (b), (c) e (d)**) apresentaram um deslocamento horizontal em relação à curva simulada, fato que não é observado para o filme sem reticulação (**Figura 30 (a)**). Observa-se ainda uma redução da intensidade de tais picos para os filmes reticulados com GA, em relação ao filme sem reticulação. Já comparando os picos C-N/C-O dos filmes reticulados com GA e do filme sem reticulação observa-se uma redução de, aproximadamente, metade da intensidade do referido pico no espectro do filme sem reticulação, em comparação aos demais analisados, todos reticulados com GA.

Avaliando-se os espectros na faixa de energia dos fotoelétrons do oxigênio dos quatro filmes avaliados por XPS, observa-se uma redução da intensidade do pico correspondente à ligação -C-O/O-H/H<sub>2</sub>O e um aumento da intensidade do pico correspondente a SiO<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>O, quando é realizada a reticulação do filme sem nanopartículas (**Figuras 31 (a) e (b)**). Para os filmes 8/4 - luz UV Ag\_0.2196 e 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, visualiza-se a não incidência do pico SiO<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>O, quando da incorporação de AgNPs e CuNPs, respectivamente (**Figuras 31 (c) e (d)**). Observa-se ainda que o pico referente à ligação -C-O/O-H/H<sub>2</sub>O se sobrepõe à curva simulada em ambos os filmes.

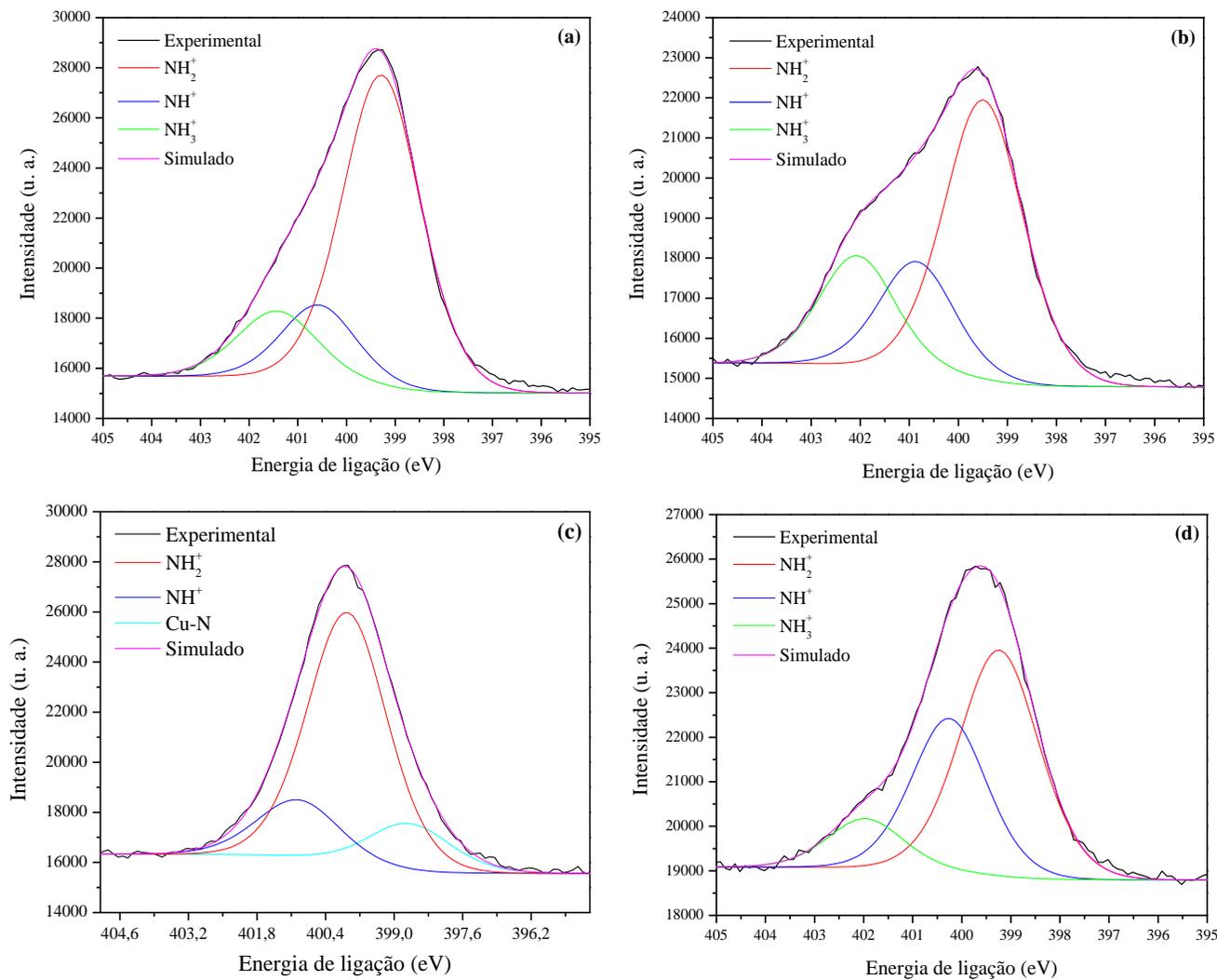
Os espectros na faixa de energia dos fotoelétrons do nitrogênio mostram a redução de intensidade do pico correspondente a NH<sub>2</sub><sup>+</sup> para todos os filmes reticulados com GA (**Figuras 32 (b), (c) e (d)**), em comparação ao filme sem reticulação (**Figura 32 (a)**). O espectro do filme 8/4 - luz UV Cu\_0.2196, diferentemente dos demais filmes analisados, não apresenta o pico NH<sub>3</sub><sup>+</sup> e exibe um pico que corresponde à ligação Cu-N (**Figura 32 (c)**).



**Figura 30.** Espectros de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons do carbono para os filmes: **(a)**  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$  sem reticulação, **(b)**  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$  reticulado com GA, **(c)** 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e **(d)** 8/4 - luz UV Ag\_0.2196.



**Figura 31.** Espectros de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons do oxigênio para os filmes: **(a)** (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> sem reticulação, **(b)** (PAH<sub>8,0</sub>/PAA<sub>4,0</sub>)<sub>21</sub> reticulado com GA, **(c)** 8/4 - luz UV Cu<sub>0.2196</sub> e **(d)** 8/4 - luz UV Ag<sub>0.2196</sub>.



**Figura 32.** Espectros de alta resolução na faixa de energia dos fotoelétrons do nitrogênio para os filmes: **(a)**  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$  sem reticulação, **(b)**  $(\text{PAH}_{8,0}/\text{PAA}_{4,0})_{21}$  reticulado com GA, **(c)** 8/4 - luz UV Cu\_0.2196 e **(d)** 8/4 - luz UV Ag\_0.2196.

A composição química de cada filme analisado por XPS (**Tabela 10**) mostra resultados quantitativos de cada elemento presente na amostra. Observa-se que para o filme de prata a composição de Ag é de 0,9, enquanto que no filme de cobre a composição de Cu é de 0,3. Esses resultados indicam que há uma maior concentração de prata do que de cobre nos filmes desenvolvidos.

**Tabela 10.** Composição dos elementos químicos presentes nos filmes.

Amostra	Composição (% atômico)
Filme sem reticulação	C = 72,6 N = 5,3 O = 22,1
Filme reticulado	C = 69,2 N = 8,8 O = 22,0
8/4 - luz UV Ag_0.2196	C = 73,0 N = 4,3 O = 20,7 Ag = 0,9 Si = 1,1
8/4 - luz UV Cu_0.2196	C = 69,3 N = 7,0 O = 23,2 Cu = 0,3 Si = 0,2

Ponderando as diferenças apresentadas nos espectros na faixa de energia dos fotoelétrons do oxigênio, do nitrogênio e do carbono dos filmes retiformes e do filme sem o reticulante, há indicativos de que ocorreu a reticulação dos filmes com o GA.

## 6. Conclusão

Neste trabalho foram produzidos e caracterizados filmes automontados de poli(hidroclorato de alilamina) (PAH) e poli(ácido acrílico) (PAA) com nanopartículas de prata (AgNPs) e de cobre (CuNPs), visando o desenvolvimento de novos materiais que pudessem ser utilizados como agentes bactericidas no tratamento terciário de efluentes industriais para reuso.

A caracterização dos filmes por ICP-OES, *MEV-FEG*, MET, UV-Vis, GD-OES e XPS comprovaram a incorporação de AgNPs nos filmes de prata e de CuNPs e de nanopartículas de óxido de cobre (II) nos filmes com cobre, com formato predominantemente esférico para ambos os metais. A caracterização realizada também evidencia a relação entre a concentração do sal e a variação no tamanho das nanopartículas. Em geral, quanto menor a concentração dos sais metálicos, menor o tamanho das AgNPs e CuNPs.

A análise por AFM confirmou que todos os filmes desenvolvidos apresentam baixa rugosidade, sendo esta afetada pelo tamanho e localização das nanopartículas obtidas nas diferentes concentrações dos sais metálicos.

Os filmes com incorporação de prata e cobre através do método em que as nanopartículas foram sintetizadas pela irradiação direta dos filmes finos de PAH/PAA com luz ultravioleta, apresentaram maior atividade inibitória, superior a 90%, em comparação aos filmes em que a incorporação das nanopartículas ocorreu pelo método da redução de sais de prata e de cobre (II) em meio aquoso, que inibiu 76,9% dos coliformes totais para o filme com prata e apenas 14,3% para o filme com cobre.

De maneira geral, praticamente todos os filmes desenvolvidos neste trabalho apresentaram atividade bactericida frente aos coliformes totais presentes em um efluente industrial para reuso. No entanto, os filmes com menor concentração do sal de prata e cobre (0,1098 mmol/L) mostraram-se mais eficientes, em termos de inibição, em tempos reduzidos de tratamento do efluente (30 e 120 min). Além disso, os filmes com AgNPs apresentaram maior eficiência, em média 5% mais inibição, após 360 min de tratamento, quando comparados aos filmes contendo CuNPs. Além disso, o filme recoberto com o reticulante sintético (GA) apresentou eficiência bactericida superior em relação ao filme revestido com a enzima TG.

A caracterização por ICP-OES apresentou resultados de lixiviação dos metais que evidenciam a possibilidade de reutilização dos filmes finos de prata e cobre desenvolvidos em novos ciclos de descontaminação.

Por fim, dentre todos os sistemas avaliados, o filme 8/4 - luz UV Ag\_0.1098 foi aquele que apresentou a maior atividade bactericida, nos diferentes tempos do tratamento terciário do efluente industrial para reuso, tendo em vista que na menor concentração de nitrato de prata (0,1098 mmol/L) sintetiza-se as AgNPs de menor diâmetro, ou seja, a relação superfície/volume é maior, permitindo a interação das nanopartículas de forma mais efetiva com as membranas microbianas, causando a morte dos micro-organismos.

## 7. Referências

- Acosta-Torres, L.; Gmez-Quintero Jr, T.; Hernandez-Padron, G.; Barcelo-Santana, F.; De La Fuente Hernandez, J.; Castaño, V. Silver nanoprisms and nanospheres for prosthetic biomaterials. 2013.
- Agnihotri, S.; Mukherji, S.; Mukherji, S. Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy, *RSC Advances*, v. 4, p. 3974-3983, 2014.
- Ahmad, A.; Mohd-Setapar, S. H.; Chuong, C. S.; Khatoon, A.; Wani, W. A.; Kumar, R.; Rafatullah, M. Recent advances in new generation dye removal technologies: novel search for approaches to reprocess wastewater, *RSC Advances*, v. 5, p. 30801-30818, 2015.
- Akpor, O. B.; Momba, M. N. B.; Okonkwo, J. O. The effects of pH and temperature on phosphate and nitrate uptake by wastewater protozoa, *African Journal of Biotechnology*, v. 7, p. 2221-2226, 2008.
- Al-Hassan, A. A.; Norziah, M. H. Effect of transglutaminase induced crosslinking on the properties of starch/gelatin films, *Food Packaging and Shelf Life*, v. 13, p. 15-19, 2017.
- Allinger, N. L. *Química Organica*. Guanabara Dois, 1978.
- Amin, M. T.; Alazba, A. A.; Manzoor, U. A Review of Removal of Pollutants from Water/Wastewater Using Different Types of Nanomaterials, *Advances in Materials Science and Engineering*, v. 2014, p. 1-24, 2014.
- Ariga, K.; Lvov, Y. M.; Kawakami, K.; Ji, Q.; Hill, J. P. Layer-by-layer self-assembled shells for drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 63, p. 762-771, 2011.
- Ashraf, M.; Hussain, S. S.; Riaz, S.; Naseem, S. Preparation and Characterization of ZnCdS and CdTe Thin Films by PVD for Photovoltaic Applications, *Materials Today: Proceedings*, v. 2, p. 5695-5699, 2015.
- Atkins, P.; Jones, L. *Princípios de Química: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente*. Porto Alegre: Bookman, 2006.
- Ayadi, S.; Legrand, L. Synthesis and characterization of noble metal nanoparticles-oxidized carbonate green rust nanohybrids, *Materials Research Bulletin*, v. 60, p. 498-506, 2014.
- Aye, H. L.; Choopun, S.; Chairuangstri, T. Preparation of nanoparticles by laser ablation on copper target in distilled water, *Advanced Materials Research*, v. 93-94, p. 83-86, 2010.
- Ben-Sasson, M.; Zodrow, K. R.; Genggeng, Q.; Kang, Y.; Giannelis, E. P.; Elimelech, M. Surface Functionalization of Thin-Film Composite Membranes with Copper Nanoparticles for Antimicrobial Surface Properties, *Environmental Science & Technology*, v. 48, p. 384-393, 2014.
- Bendi, R.; Imae, T. Renewable catalyst with Cu nanoparticles embedded into cellulose nano-fiber film, *RSC Advances*, v. 3, p. 16279-16282, 2013.
- Besson, C.; Finney, E. E.; Finke, R. G. A Mechanism for Transition-Metal Nanoparticle Self-Assembly, *Journal of the American Chemical Society*, v. 127, p. 8179-8184, 2005.
- Beppu, M. M.; Arruda, E. J.; Santana, C. C. Síntese e caracterização de estruturas densas e porosas de quitosana, *Polímeros*, v. 9, p. 163-169, 1999.
- Bhalerao, U. M.; Valiveti, A. K.; Acharya, J.; Halve, A. K.; Kaushik, M. P. Controlled release studies of antimalarial 1, 3, 5-trisubstituted-2-pyrazolines from biocompatible chitosan-heparin Layer-by-Layer (LbL) self assembled thin films, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 125, p. 151-159, 2015.

- Blough, H. A. Selective inactivation of biological activity of myxoviruses by glutaraldehyde, *Journal of Bacteriology*, v. 92, p. 266-268, 1966.
- Borick, P. M.; Dondershine, F. H.; Chandler, V. L. Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 53, p. 1273-1275, 1964.
- Borick, P. M. Chemical sterilizers (chemosterilizers), *Advances in Applied Microbiology*, v. 10, p. 291-312, 1968.
- Borkow, G.; Gabbay, J. Putting copper into action: copper-impregnated products with potent biocidal activities, *The FASEB Journal*, v. 18, p. 1728-1730, 2004.
- Boura, C.; Menu, P.; Payan, E.; Picart, C.; Voegel, J. C.; Muller, S.; Stoltz, J. F. Endothelial cells grown on thin polyelectrolyte multilayered films: an evaluation of a new versatile surface modification, *Biomaterials*, v. 24, p. 3521-3530, 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.
- Burke, S. E.; Barrett, C. J. Controlling the physicochemical properties of weak polyelectrolyte multilayer films through acid/base equilibria, *Pure Appl. Chem*, v. 76, p. 1387-1398, 2004.
- Cárdenas, G.; Díaz V., J.; Meléndrez, M. F.; Cruzat C., C.; García Cancino, A. Colloidal Cu nanoparticles/chitosan composite film obtained by microwave heating for food package applications, *Polymer Bulletin*, v. 62, p. 511-524, 2009.
- Carreira, C. d. M. Avaliação in vitro do controle microbiano e da neutralização de endotoxinas presentes em canais radiculares por nanopartículas de prata, Universidade de São Paulo, Tese de Doutorado, 2009.
- Caruso, F.; Caruso, R. A.; Möhwald, H. Nanoengineering of Inorganic and Hybrid Hollow Spheres by Colloidal Templating, *Science*, v. 282, p. 1111-1114, 1998.
- Casanova, M.C.R. Síntese, caracterização e estudo da estabilidade de nanopartículas metálicas estabilizadas com polieletrólitos e tióis, Universidade de São Paulo, Dissertação de Mestrado, 2010.
- Chambi, H.; Grosso, C. Edible films produced with gelatin and casein cross-linked with transglutaminase, *Food Research International*, v. 39, p. 458-466, 2006.
- Chen, D.-H.; Wu, S.-H. Synthesis of Nickel Nanoparticles in Water-in-Oil Microemulsions, *Chemistry of Materials*, v. 12, p. 1354-1360, 2000.
- Chen, X.; Mao, S. S. Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications, *Chemical Reviews*, v. 107, p. 2891-2959, 2007.
- Chen, Y.; Wang, L.; Jiang, S.; Yu, H. Study on Novel Antibacterial Polymer Materials (I) Preparation of Zeolite Antibacterial Agents and their antibacterial properties, *Journal of Polymer Materials*, v. 20, p. 279-284, 2003.
- Chen, Z.; Ngo, H. H.; Guo, W. A critical review on sustainability assessment of recycled water schemes, *Science of The Total Environment*, v. 426, p. 13-31, 2012.
- Cheng, X.; Zhang, X.; Yin, H.; Wang, A.; Xu, Y. Modifier effects on chemical reduction synthesis of nanostructured copper, *Applied Surface Science*, v. 253, p. 2727-2732, 2006.
- Cheng, Y.; Wang, X.; Cheng, J.; Sun, L.; Xu, W.; Zhao, B. Structure and phase transition in self-assembled films of an anti-ferroelectric liquid crystal studied by two-dimensional correlation FTIR spectroscopy, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 61, p. 905-911, 2005.

- Chia, K.-K.; Cohen, R. E.; Rubner, M. F. Amine-rich polyelectrolyte multilayer nanoreactors for in situ gold nanoparticle synthesis, *Chemistry of Materials*, v. 20, p. 6756-6763, 2008.
- Chohan, Z. H.; Supuran, C. T.; Scozzafava, A. Metalloantibiotics: Synthesis and Antibacterial Activity of Cobalt(II), Copper(II), Nickel(II) and Zinc(II) Complexes of Kefzol, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, v. 19, p. 79-84, 2004.
- Choi, J.; Rubner, M. F. Influence of the degree of ionization on weak polyelectrolyte multilayer assembly, *Macromolecules*, v. 38, p. 116-124, 2005.
- Chowdhury, P.; Singha, B.; Mukherjee, A.; Pandit, S. K. Synthesis of cross-linked graft copolymer from acrylic acid, poly(vinyl alcohol), and glutaraldehyde for extraction of lead ion from aqueous solution, *Fibers and Polymers*, v. 10, p. 562-567, 2009.
- Cioffi, N.; Torsi, L.; Ditaranto, N.; Tantillo, G.; Ghibelli, L.; Sabbatini, L.; Blevè-Zacheo, T.; D'Alessio, M.; Zambonin, P. G.; Traversa, E. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties, *Chemistry of Materials*, v. 17, p. 5255-5262, 2005.
- Crane, R. A.; Scott, T. B. Nanoscale zero-valent iron: Future prospects for an emerging water treatment technology, *Journal of Hazardous Materials*, v. 211-212, p. 112-125, 2012.
- Crouzier, T.; Boudou, T.; Picart, C. Polysaccharide-based polyelectrolyte multilayers, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 15, p. 417-426, 2010.
- Dai, J.; Bruening, M. L. Catalytic Nanoparticles Formed by Reduction of Metal Ions in Multilayered Polyelectrolyte Films, *Nano Letters*, v. 2, p. 497-501, 2002.
- Dal'Acqua, N. Preparação e Caracterização de Filmes Nanoestruturados Suportados em Membrana de Celulose contendo Nanopartículas de Au e TiO<sub>2</sub> para Produção de H<sub>2</sub>, Universidade de Caxias do Sul, Dissertação de Mestrado, 2013.
- Dal'Acqua, N.; Scheffer, F. R.; Boniatti, R.; da Silva, B. V. M.; de Melo, J. V.; da Silva Crespo, J.; Giovanela, M.; Pereira, M. B.; Weibel, D. E.; Machado, G. Photocatalytic nanostructured self-assembled poly(allylamine hydrochloride)/poly(acrylic acid) polyelectrolyte films containing titanium dioxide-gold nanoparticles for hydrogen generation, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 117, p. 23235-23243, 2013.
- Daniel, M.-C.; Astruc, D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis, and Nanotechnology, *Chemical Reviews*, v. 104, p. 293-346, 2004.
- Danilczuk, M.; Lund, A.; Sadlo, J.; Yamada, H.; Michalik, J. Conduction electron spin resonance of small silver particles, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 63, p. 189-191, 2006.
- Dankovich, T. A.; Smith, J. A. Incorporation of copper nanoparticles into paper for point-of-use water purification, *Water Research*, v. 63, p. 245-251, 2014.
- De Carvalho, R. A.; Grosso, C. R. F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde, *Food Hydrocolloids*, v. 18, p. 717-726, 2004.
- De Koker, S.; Hoogenboom, R.; De Geest, B. G. Polymeric multilayer capsules for drug delivery, *Chemical Society Reviews*, v. 41, p. 2867-2884, 2012.
- Decher, G.; Hong, J. D. Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process: I. Consecutive adsorption of anionic and cationic bipolar amphiphiles on charged surfaces, *Makromolekulare Chemie. Macromolecular Symposia*, v. 46, p. 321-327, 1991.
- Decher, G. Fuzzy Nanoassemblies: Toward Layered Polymeric Multicomposites, *Science*, v. 277, p. 1232-1237, 1997.
- Decher, G.; Schlenoff, J. B. *Multilayer Thin Film: Sequential Assembly of Nanocomposite Materials*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002.

- DeRocher, J. P.; Mao, P.; Han, J.; Rubner, M. F.; Cohen, R. E. Layer-by-Layer Assembly of Polyelectrolytes in Nanofluidic Devices, *Macromolecules*, v. 43, p. 2430-2437, 2010.
- Detzel, C. J.; Larkin, A. L.; Rajagopalan, P. Polyelectrolyte Multilayers in Tissue Engineering, *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, v. 17, p. 101-113, 2011.
- Dhas, N. A.; Raj, C. P.; Gedanken, A. Synthesis, Characterization, and Properties of Metallic Copper Nanoparticles, *Chemistry of Materials*, v. 10, p. 1446-1452, 1998.
- Dickinson, E. Enzymic crosslinking as a tool for food colloid rheology control and interfacial stabilization, *Trends in Food Science & Technology*, v. 8, p. 334-339, 1997.
- Drelich, J.; Li, B.; Bowen, P.; Hwang, J.-Y.; Mills, O.; Hoffman, D. Vermiculite decorated with copper nanoparticles: Novel antibacterial hybrid material, *Applied Surface Science*, v. 257, p. 9435-9443, 2011.
- Dubas, S. T.; Kumlangdudsana, P.; Potiyaraj, P. Layer-by-layer deposition of antimicrobial silver nanoparticles on textile fibers, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 289, p. 105-109, 2006.
- Dugal, S. Mascarenhas, S. Chemical synthesis of copper nanoparticles and its antibacterial effect against gram negative pathogens, *Journal of Advanced Scientific Research*, v. 6, p. 1-4, 2015.
- Dvoracek, C. M.; Sukhonosova, G.; Benedik, M. J.; Grunlan, J. C. Antimicrobial Behavior of Polyelectrolyte-Surfactant Thin Film Assemblies, *Langmuir*, v. 25, p. 10322-10328, 2009.
- El-Kheshen, A. A., El-Rab, S. F. G. Effect of reducing and protecting agents on size of silver nanoparticles and their anti-bacterial activity, *Pharma Chemica*, v. 4, p. 53-65, 2012.
- El-Sheekh, M. M.; El-Kassas, H. Y. Algal production of nano-silver and gold: Their antimicrobial and cytotoxic activities: A review, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, v. 14, p. 299-310, 2016.
- Emmanuel, E.; Hanna, K.; Bazin, C.; Keck, G.; Clément, B.; Perrodin, Y. Fate of glutaraldehyde in hospital wastewater and combined effects of glutaraldehyde and surfactants on aquatic organisms, *Environment International*, v. 31, p. 399-406, 2005.
- FEI (Finnish Environment Institute). Report on glutaraldehyde. Document II—Risk assessment. FEI, Finland; 2001.
- Feng, Q. L.; Wu, J.; Chen, G. Q.; Cui, F. Z.; Kim, T. N.; Kim, J. O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 52, p. 662-668, 2000.
- Ferreira, M.; Fiorito, P. A.; Oliveira Jr, O. N.; Córdoba de Torresi, S. I. Enzyme-mediated amperometric biosensors prepared with the Layer-by-Layer (LbL) adsorption technique, *Biosensors and Bioelectronics*, v. 19, p. 1611-1615, 2004.
- Fox, C. L. J. Silver sulfadiazine—a new topical therapy for pseudomonas in burns: Therapy of pseudomonas infection in burns, *Archives of Surgery*, v. 96, p. 184-188, 1968.
- Graham, J. L.; Jaeger, R. F. Inactivation of yellow fever virus by glutaraldehyde, *Applied microbiology*, v. 16, p. 177, 1968.
- George, N.; Faoagali, J.; Muller, M. Silvazine™ (silver sulfadiazine and chlorhexidine) activity against 200 clinical isolates, *Burns*, v. 23, p. 493-495, 1997.
- Gibbs, R. J. Silver colloids: Do they work. [S.l.]: Edição do Autor, v. p. 1999.
- Gomes, S. R.; Rodrigues, G.; Martins, G. G.; Henriques, C. M. R.; Silva, J. C. In vitro evaluation of crosslinked electrospun fish gelatin scaffolds, *Materials Science and Engineering: C*, v. 33, p. 1219-1227, 2013.
- Gorman, S. P.; Scott, E. M.; Russell, A. D. Antimicrobial activity, uses and mechanism of action of glutaraldehyde, *Journal of Applied Microbiology*, v. 48, p. 161-190, 1980.
- Grosso, D. How to exploit the full potential of the dip-coating process to better control film formation, *Journal of Materials Chemistry*, v. 21, p. 17033-17038, 2011.

- Halasz, K.; Grozdits, G.; Csóka, L. Functional nanostructured coatings via layer-by-layer self-assembly. *Anti-Abrasive Nanocoatings*. M. Aliofkhaezai, Woodhead Publishing: 249-281, 2015.
- Han, W.-K.; Choi, J.-W.; Hwang, G.-H.; Hong, S.-J.; Lee, J.-S.; Kang, S.-G. Fabrication of Cu nano particles by direct electrochemical reduction from CuO nano particles, *Applied Surface Science*, v. 252, p. 2832-2838, 2006.
- Hanemann, T.; Szabó, D. V. *Polymer-Nanoparticle Composites: From Synthesis to Modern Applications*, Materials, v. 3, p. 3468, 2010.
- Hess, M.; Jones, R. G.; Kahovec, J.; Kitayama, T.; Kratochvíl, P.; Kubisa, P.; Mormann, W.; Stepto, R. F. T.; Tabak, D.; Vohlídal, J.; Wilks, E. S. Terminology Of Polymers Containing Ionizable Or Ionic Groups And Of Polymers Containing Ions, *Pure and Applied Chemistry*, v. 78, p. 2067–2074, 2006.
- Higgins, J.; Warnken, J.; Sherman, P. P.; Teasdale, P. R. Survey of users and providers of recycled water: quality concerns and directions for applied research, *Water Research*, v. 36, p. 5045-5056, 2002.
- Hiller, J. A.; Mendelsohn, J. D.; Rubner, M. F. Reversibly erasable nanoporous anti-reflection coatings from polyelectrolyte multilayers, *Nat Mater*, v. 1, p. 59-63, 2002.
- Honse, O. S. *Aplicações de polieletrólitos*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Trabalho de Conclusão de Curso, 2008.
- Hou, M.; Mei, Q.; Han, B. Solvent effects on geometrical structures and electronic properties of metal Au, Ag, and Cu nanoparticles of different sizes, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 449, p. 488-493, 2015.
- HSDB (Hazardous Substances Data Bank), 1996 HSDB (Hazardous Substances Data Bank). National Library of Medicine, National Toxicology Information Program, Bethesda, MD (TOMES CD-ROM Version). Micromedex, Denver, CO Edition expires 7/31/96).
- Hussein, A. K. Applications of nanotechnology in renewable energies—A comprehensive overview and understanding, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 42, p. 460-476, 2015.
- IEEE Micro Electro Mechanical Systems Workshop San Diego, California, p. 97, 1996.
- Iler, R. K. Multilayers of colloidal particles, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 21, p. 569-594, 1966.
- Islam, M. S.; Motahar, H. M.; Banu; Arjuman, L.; Sultana, C.; Quadir, M. A. Antibacterial and antifungal activity of mixed ligand complexes of oxovanadium (IV), titanium (III) and cadmium (II) metal ions. , *Oriental Journal Of Chemistry*, v. 19, p. 547-554, 2003.
- Jana, N. R.; Gearheart, L.; Murphy, C. J. Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio, *Chemical Communications*, p. 617-618, 2001.
- Jesus, G. C. Filmes automontados do cloreto de 3-n-propilpiridínio silsesquioxano e ftalocianina de cobre obtidos pela técnica LbL: preparação, caracterização e aplicações, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Dissertação de Mestrado, 2009.
- Jokar, M.; Abdul Rahman, R.; Ibrahim, N. A.; Abdullah, L. C.; Tan, C. P. Melt Production and Antimicrobial Efficiency of Low-Density Polyethylene (LDPE)-Silver Nanocomposite Film, *Food and Bioprocess Technology*, v. 5, p. 719-728, 2010.
- Jones, N.; Ray, B.; Ranjit, K. T.; Manna, A. C. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms, *FEMS Microbiology Letters*, v. 279, p. 71-76, 2008.
- Joshi, S. S.; Patil, S. F.; Iyer, V.; Mahumuni, S. Radiation induced synthesis and characterization of copper nanoparticles, *Nanostructured Materials*, v. 10, p. 1135-1144, 1998.

- Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment, *The Journal of Physical Chemistry B*, v. 107, p. 668-677, 2003.
- Khue, D. N.; Lam, T. D.; Van Chat, N.; Bach, V. Q.; Minh, D. B.; Loi, V. D.; Van Anh, N. Simultaneous degradation of 2,4,6-trinitrophenyl-N-methylnitramine (Tetryl) and hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5 triazine (RDX) in polluted wastewater using some advanced oxidation processes, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, v. 20, p. 1468-1475, 2014.
- Kieliszek, M.; Misiewicz, A. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review, *Folia Microbiologica*, v. 59, p. 241-250, 2014.
- Kiernan, J. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: what they are and what they do, *Microscopy Today*, v. 00-1, p. 8-12, 2000.
- Kim, J.-Y. K., Sung-Eun; Kim, Jae-Eun; Lee, Jong-Chan; Yoon, Je-Yong;. The Biocidal Activity of Nano-sized Silver Particles Comparing with Silver Ion, *Journal of Korean Society of Environmental Engineers*, v. 27, p. 771-776, 2005.
- Kim, J. S.; Kuk, E.; Yu, K. N.; Kim, J. H.; Park, S. J.; Lee, H. J.; Kim, S. H.; Park, Y. K.; Park, Y. H.; Hwang, C. Y.; Kim, Y. K.; Lee, Y. S.; Jeong, D. H.; Cho, M. H. Antimicrobial effects of silver nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, v. 3, p. 95-101, 2007.
- Kim, H.-S.; Dhage, S. R.; Shim, D.-E.; Hahn, H. T. Intense pulsed light sintering of copper nanoink for printed electronics, *Applied Physics A*, v. 97, p. 791-798, 2009.
- Kim, S.-H., Hyeong-Seon Lee, Deok-Seon Ryu, Soo-Jae Choi, Dong-Seok Lee. Antibacterial Activity of Silver-nanoparticles Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 39, p. 77-85, 2011.
- Kitajima, M.; Haramoto, E.; Iker, B. C.; Gerba, C. P. Occurrence of *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Cyclospora* in influent and effluent water at wastewater treatment plants in Arizona, *Science of The Total Environment*, v. 484, p. 129-136, 2014.
- Kvitek, L.; Pan; aacute; ek, A.; x; Soukupov; aacute, J.; Kol; x, M.; Veče; ov; aacute, R.; Pucek, R.; Holecov; aacute, M.; Zbo; il, R. Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs). 2008.
- Kumar, A.; Vemula, P. K.; Ajayan, P. M.; John, G. Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil, *Nat Mater*, v. 7, p. 236-241, 2008.
- Kuppusamy, P.; Yusoff, M. M.; Maniam, G. P.; Govindan, N. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report, *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2014.
- Lakshmi Kantam, M.; Swarna Jaya, V.; Jaya Lakshmi, M.; Reddy, B. R.; Choudary, B. M.; Bhargava, S. K. Alumina supported copper nanoparticles for aziridination and cyclopropanation reactions, *Catalysis Communications*, v. 8, p. 1963-1968, 2007.
- Lan, Y.; Wang, E.; Song, Y.; Song, Y.; Kang, Z.; Xu, L.; Li, Z. An effective layer-by-layer adsorption and polymerization method to the fabrication of polyoxometalate-polypyrrole nanoparticle ultrathin films, *Polymer*, v. 47, p. 1480-1485, 2006.
- Lankalapalli, S.; Kolapalli, V. R. M. Polyelectrolyte Complexes: A Review of their Applicability in Drug Delivery Technology, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 71, p. 481-487, 2009.
- Larson, T. D. Clinical uses of glutaraldehyde/2-hydroxyethylmethacrylate (GLUMA), *Northwest Dent*, v. 92, p. 27-30, 2013.
- Lee, Y.; Choi, J.-r.; Lee, K. J.; Stott, N., E.; Kim, D. Large-scale synthesis of copper nanoparticles by chemically controlled reduction for applications of inkjet-printed electronics, *Nanotechnology*, v. 19, p. 415604-415611, 2008.

- Li, Z.; Lee, D.; Sheng, X.; Cohen, R. E.; Rubner, M. F. Two-level antibacterial coating with both release-killing and contact-killing capabilities, *Langmuir*, v. 22, p. 9820-9823, 2006.
- Li, Q.; Mahendra, S.; Lyon, D. Y.; Brunet, L.; Liga, M. V.; Li, D.; Alvarez, P. J. J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications, *Water Research*, v. 42, p. 4591-4602, 2008.
- Li, B.; Shan, C.-L.; Zhou, Q.; Fang, Y.; Wang, Y.-L.; Xu, F.; Han, L.-R.; Ibrahim, M.; Guo, L.-B.; Xie, G.-L.; Sun, G.-C. Synthesis, characterization, and antibacterial activity of cross-linked chitosan-glutaraldehyde, *Marine Drugs*, v. 11, p. 1534-1552, 2013.
- Lin, W.-C.; Yu, D.-G.; Yang, M.-. Blood compatibility of novel poly( $\gamma$ -glutamic acid)/polyvinyl alcohol hydrogels, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 47, p. 43-49, 2006.
- Lim, J.; Lee, S.; Suzuki, K.; Kim, K.; Kim, S.; Taminato, S.; Hirayama, M.; Oshima, Y.; Takayanagi, K.; Kanno, R. Synthesis, structure and electrochemical properties of novel Li-Co-Mn-O epitaxial thin-film electrode using layer-by-layer deposition process, *Journal of Power Sources*, v. 279, p. 502-509, 2015.
- Lima, T. H. d. Modificação do cimento ortopédico com nanopartículas de prata, Universidade Federal de Minas Gerais, Dissertação de Mestrado, 2011.
- Lin, Y.-S. E.; Vidic, R. D.; Stout, J. E.; Yu, V. L. Individual and combined effects of copper and silver ions on inactivation of *Legionella pneumophila*, *Water Research*, v. 30, p. 1905-1913, 1996.
- Lin, Y.-s. E.; Vidic, R. D.; Stout, J. E.; McCartney, C. A.; Yu, V. L. Inactivation of *Mycobacterium avium* by copper and silver ions, *Water Research*, v. 32, p. 1997-2000, 1998.
- Lin, J.-J.; Dong, R.-X.; Tsai, W.-C. Silver Nanoparticles: High Surface Clay-Supported Silver Nanohybrids. *Nanoparticles Technology*. D. P. Perez, 2010.
- Liu, Z.; Bando, Y. A Novel Method for Preparing Copper Nanorods and Nanowires, *Advanced Materials*, v. 15, p. 303-305, 2003.
- Liu, S.; Zhu, Z.; Qiu, Y.; Zhao, J. Effect of ferric and bromide ions on the formation and speciation of disinfection byproducts during chlorination, *Journal of Environmental Sciences*, v. 23, p. 765-772, 2011.
- Liu, H.; Tang, X.; Liu, Q. A novel point-of-use water treatment method by antimicrobial nanosilver textile material, *J Water Health*, v. 12, p. 670-677, 2014.
- Loher, S.; Schneider, O. D.; Maienfisch, T.; Bokorny, S.; Stark, W. J. Micro-organism-Triggered Release of Silver Nanoparticles from Biodegradable Oxide Carriers Allows Preparation of Self-Sterilizing Polymer Surfaces, *Small*, v. 4, p. 824-832, 2008.
- Lopes, C.; Gonçalves, C.; Borges, J.; Polcar, T.; Rodrigues, M. S.; Barradas, N. P.; Alves, E.; Le Bourhis, E.; Couto, F. M.; Macedo, F.; Fonseca, C.; Vaz, F. Evolution of the functional properties of titanium-silver thin films for biomedical applications: Influence of in-vacuum annealing, *Surface and Coatings Technology*, v. 261, p. 262-271, 2015.
- Ma, D.; Gao, B.; Sun, S.; Wang, Y.; Yue, Q.; Li, Q. Effects of dissolved organic matter size fractions on trihalomethanes formation in MBR effluents during chlorine disinfection, *Bioresource Technology*, v. 136, p. 535-541, 2013.
- Machado, G.; Beppu, M. M.; Feil, A. F.; Figueroa, C. A.; Correia, R. R. B.; Teixeira, S. R. Silver Nanoparticles Obtained in PAH/PAA-Based Multilayers by Photochemical Reaction, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 113, p. 19005-19010, 2009.
- Machado, G.; Feil, A. F.; Migowski, P.; Rossi, L.; Giovanela, M.; Crespo, J. S.; Miotti, L.; Sortica, M. A.; Grande, P. L.; Pereira, M. B.; Correia, R. R. B. Structural control of

- gold nanoparticles self-assemblies by layer-by-layer process, *Nanoscale*, v. 3, p. 1717-1723, 2011.
- Madoni, P.; Davoli, D.; Gorbi, G.; Vescovi, L. Toxic effect of heavy metals on the activated sludge protozoan community, *Water Research*, v. 30, p. 135-141, 1996.
- Magdassi, S.; Grouchko, M.; Kamyshny, A. Copper Nanoparticles for Printed Electronics: Routes Towards Achieving Oxidation Stability, *Materials*, v. 3, p. 4626-4638, 2010.
- Marambio-Jones, C.; Hoek, E. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment, *Journal of Nanoparticle Research*, v. 12, p. 1531-1551, 2010.
- Matsumura, Y.; Yoshikata, K.; Kunisaki, S.-i.; Tsuchido, T. Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, p. 4278-4281, 2003.
- McDade, J. K.; Brennan-Pierce, E. P.; Ariganello, M. B.; Labow, R. S.; Michael Lee, J. Interactions of U937 macrophage-like cells with decellularized pericardial matrix materials: Influence of crosslinking treatment, *Acta Biomaterialia*, v. 9, p. 7191-7199, 2013.
- McLean, R. J.; Hussain, A. A.; Sayer, M.; Vincent, P. J.; Hughes, D. J.; Smith, T. J. A A Hussain, M Sayer, P J Vincent, D J Hughes, T J Smith, *Canadian Journal of Microbiology*, v. 39, p. 895-899, 1993.
- Morones, J. R.; Elechiguerra, J. L.; Camacho, A.; Holt, K.; Kouri, J. B.; Ramírez, J. T.; Yacaman, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles, *Nanotechnology*, v. 16, p. 2346, 2005.
- Murphy, C. J.; Gole, A. M.; Stone, J. W.; Sisco, P. N.; Alkilany, A. M.; Goldsmith, E. C.; Baxter, S. C. Gold Nanoparticles in Biology: Beyond Toxicity to Cellular Imaging, *Accounts of Chemical Research*, v. 41, p. 1721-1730, 2008.
- Navarro-Ortega, A.; Acuña, V.; Bellin, A.; Burek, P.; Cassiani, G.; Choukr-Allah, R.; Dolédec, S.; Elosegi, A.; Ferrari, F.; Ginebreda, A.; Grathwohl, P.; Jones, C.; Rault, P. K.; Kok, K.; Koundouri, P.; Ludwig, R. P.; Merz, R.; Milacic, R.; Muñoz, I.; Nikulin, G.; Paniconi, C.; Paunović, M.; Petrovic, M.; Sabater, L.; Sabater, S.; Skoulikidis, N. T.; Slob, A.; Teutsch, G.; Voulvoulis, N.; Barceló, D. Managing the effects of multiple stressors on aquatic ecosystems under water scarcity. The GLOBAQUA project, *Science of The Total Environment*, v. 503, p. 3-9, 2015.
- Naso, F.; Gandaglia, A.; Bottio, T.; Tarzia, V.; Nottle, M. B.; d'Apice, A. J.; Cowan, P. J.; Cozzi, E.; Galli, C.; Lagutina, I.; Lazzari, G.; Iop, L.; Spina, M.; Gerosa, G. First quantification of alpha-Gal epitope in current glutaraldehyde-fixed heart valve bioprostheses, *Xenotransplantation*, v. 20, p. 252-261, 2013.
- NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health). Glutaraldehyde - occupational hazards in hospital. NIOSH, Centers for Disease Control and Prevention, Department of Health and Human Services, Cincinnati, OH, 2001.
- Niranjan, M. K.; Chakraborty, J. Synthesis of oxidation resistant copper nanoparticles in aqueous phase and efficient phase transfer of particles using alkanethiol, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 407, p. 58-63, 2012.
- Noguez, C. Surface plasmons on metal nanoparticles: the influence of shape and physical environment, *The Journal of Physical Chemistry C*, v. 111, p. 3806-3819, 2007.
- Noutsopoulos, C.; Koumaki, E.; Mamais, D.; Nika, M.-C.; Bletsou, A. A.; Thomaidis, N. S. Removal of endocrine disruptors and non-steroidal anti-inflammatory drugs through wastewater chlorination: The effect of pH, total suspended solids and humic acids and identification of degradation by-products, *Chemosphere*, v. 119 p. S109-S114, 2014.

- O'Brien, H. A.; Mitchell, J. D.; Haberman, S.; Rowan, D. F.; Winford, T. E.; Pellet, J. The use of activated glutaraldehyde as a cold sterilizing agent for urological instruments, *The Journal of urology*, v. 95, p. 429-435, 1966.
- Oliveira, A. R. M.; Zarbin, A. J. G. Um procedimento simples e barato para a construção de um equipamento "dip-coating" para deposição de filmes em laboratório, *Química Nova*, v. 28, p. 141-144, 2005.
- Oliveira, E. M. N. Universidade Federal de Santa Catarina, Trabalho de conclusão de curso, 2006.
- Oprčkal, P.; Mladenovič, A.; Vidmar, J.; Mauko Pranjic, A.; Milačič, R.; Ščančar, J. Critical evaluation of the use of different nanoscale zero-valent iron particles for the treatment of effluent water from a small biological wastewater treatment plant, *Chemical Engineering Journal*, v. 321, p. 20-30, 2017.
- Oves, M.; Arshad, M.; Khan, M. S.; Ahmed, A. S.; Azam, A.; Ismail, I. M. I. Anti-microbial activity of cobalt doped zinc oxide nanoparticles: Targeting water borne bacteria, *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 19, p. 581-588, 2015.
- Pal, S.; Tak, Y. K.; Song, J. M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-Negative bacterium *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, p. 1712-1720, 2007.
- Park, B. K.; Kim, D.; Jeong, S.; Moon, J.; Kim, J. S. Direct writing of copper conductive patterns by ink-jet printing, *Thin Solid Films*, v. 515, p. 7706-7711, 2007.
- Pepper, R. E.; Lieberman, E. R. (1962). Dialdehyde alcoholic sporicidal compositions. United States Patent No. 3,016,328.
- Perkas, N.; Amirian, G.; Dubinsky, S.; Gazit, S.; Gedanken, A. Ultrasound-assisted coating of nylon 6,6 with silver nanoparticles and its antibacterial activity, *Journal of Applied Polymer Science*, v. 104, p. 1423-1430, 2007.
- Petrov, A. I.; Antipov, A. A.; Sukhorukov, G. B. Base-Acid Equilibria in Polyelectrolyte Systems: From Weak Polyelectrolytes to Interpolyelectrolyte Complexes and Multilayered Polyelectrolyte Shells, *Macromolecules*, v. 36, p. 10079-10086, 2003.
- Pissuwan, D.; Niidome, T.; Cortie, M. B. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems, *Journal of Controlled Release*, v. 149, p. 65-71, 2011.
- Popiolski, T. M. Avaliação da incorporação de nanopartículas de ouro em filmes automontados de polieletrólitos fracos, Universidade de Caxias do Sul, Dissertação de Mestrado, 2011.
- Prabhu, S.; Poulse, E. K. Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects, *International Nano Letters*, v. 2, p. 32, 2012.
- Prata, A. S. Estudo dos parâmetros físico-químicos envolvidos na formação de microcápsulas produzidas por coacervação complexa, Faculdade de Engenharia de Alimentos na Área de Alimentos e Nutrição, Universidade Estadual de Campinas, Tese de Doutorado, Campinas, 2006.
- Price, W. R.; Wood, M. Silver nitrate burn dressing: Treatment of seventy burned persons, *The American Journal of Surgery*, v. 112, p. 674-680, 1966.
- Priolo, M. A.; Gamboa, D.; Grunlan, J. C. Transparent Clay-Polymer Nano Brick Wall Assemblies with Tailorable Oxygen Barrier, *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 2, p. 312-320, 2010.
- Priya, D. N.; Modak, J. M.; Raichur, A. M. LbL fabricated poly(styrene sulfonate)/TiO<sub>2</sub> multilayer thin films for environmental applications, *ACS Applied Materials & Interfaces*, v. 1, p. 2684-2693, 2009.

- Qu, X.; Brame, J.; Li, Q.; Alvarez, P. J. J. Nanotechnology for a safe and sustainable water supply: enabling integrated water treatment and reuse, *Accounts of Chemical Research*, v. 46, p. 834-843, 2012.
- Qu, X.; Alvarez, P. J. J.; Li, Q. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment, *Water Research*, v. 47, p. 3931-3946, 2013.
- Rahman, A.; Ismail, A.; Jumbianti, D.; Magdalena, S.; Sudrajat, H. Synthesis of copper oxide nanoparticles by using *Phormidium cyanobacterium*, *Indonesian Journal of Chemistry*, v. 9, p. 355 - 360, 2009.
- Ramyadevi, J.; Jeyasubramanian, K.; Marikani, A.; Rajakumar, G.; Rahuman, A. A. Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles, *Materials Letters*, v. 71, p. 114-116, 2012.
- Raza, M. A.; Kanwal, Z.; Rauf, A.; Sabri, A. N.; Riaz, S.; Naseem, S. Size- and Shape-Dependent Antibacterial Studies of Silver Nanoparticles Synthesized by Wet Chemical Routes, *Nanomaterials*, v. 6, p. 74, 2016.
- Revina, A. A.; Dokuchaev, A. G.; Khailova, E. B.; Tedoradze, M. G. Optical and Electrical Characteristics of Polymer Films Modified with Nanostructured Silver Aggregates, *High Energy Chemistry*, v. 35, p. 74-78, 2001.
- Rhim, J.-W.; Hong, S.-I.; Park, H.-M.; Ng, P. K. W. Preparation and Characterization of Chitosan-Based Nanocomposite Films with Antimicrobial Activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 54, p. 5814-5822, 2006.
- Ribeiro, M. A.; Sato, I. M.; Duarte, C. L.; Sampa, M. H. O.; Salvador, V. L. R.; Scapin, M. A. Application of the electron-beam treatment for Ca, Si, P, Al, Fe, Cr, Zn, Co, As, Se, Cd and Hg removal in the simulated and actual industrial effluents, *Radiation Physics and Chemistry*, v. 71, p. 425-428, 2004.
- Rivero P J, U. A., Goicoechea J, Zamarreño C R, Arregui F J, Matías I R. An antibacterial coating based on a polymer/sol-gel hybrid matrix loaded with silver nanoparticles, *Nanoscale Research Letters*, v. 6, p. 305-311, 2011.
- Rokhade, A. P.; Patil, S. A.; Aminabhavi, T. M. Synthesis and characterization of semi-interpenetrating polymer network microspheres of acrylamide grafted dextran and chitosan for controlled release of acyclovir, *Carbohydrate Polymers*, v. 67, p. 605-613, 2007.
- Rosi, N. L.; Mirkin, C. A. Nanostructures in Biodiagnostics, *Chemical Reviews*, v. 105, p. 1547-1562, 2005.
- Ruparelia, J. P.; Chatterjee, A. K.; Duttagupta, S. P.; Mukherji, S. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles, *Acta Biomaterialia*, v. 4, p. 707-716, 2008.
- Sadeghi, B.; Garmaroudi, F. S.; Hashemi, M.; Nezhad, H. R.; Nasrollahi, A.; Ardalan, S.; Ardalan, S. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: Nanoparticles, nanorods and nanoplates, *Advanced Powder Technology*, v. 23, p. 22-26, 2012.
- Sahni, G.; Gopinath, P.; Jeevanandam, P. A novel thermal decomposition approach to synthesize hydroxyapatite–silver nanocomposites and their antibacterial action against GFP-expressing antibiotic resistant *E. coli*, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 103, p. 441-447, 2013.
- San, C. Y.; Don, M. M. Biosynthesis of silver nanoparticles from *Schizophyllum Commune* and in-vitro antibacterial and antifungal activity studies, *Journal of Physical Science*, v. 24, p. 83-96, 2013.
- Sanpui, P.; Murugadoss, A.; Prasad, P. V. D.; Ghosh, S. S.; Chattopadhyay, A. The antibacterial properties of a novel chitosan–Ag-nanoparticle composite, *International Journal of Food Microbiology*, v. 124, p. 142-146, 2008.

- Sapkal, R. T.; Shinde, S. S.; Mahadik, M. A.; Mohite, V. S.; Waghmode, T. R.; Govindwar, S. P.; Rajpure, K. Y.; Bhosale, C. H. Photoelectrocatalytic decolorization and degradation of textile effluent using ZnO thin films, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 114, p. 102-107, 2012.
- Scheffel, D. L. S.; Hebling, J.; Scheffel, R. H.; Agee, K. A.; Cadenaro, M.; Turco, G.; Breschi, L.; Mazzoni, A.; de Souza Costa, C. A.; Pashley, D. H. Stabilization of dentin matrix after cross-linking treatments, *in vitro*, *Dental Materials*, v. 30, p. 227-233, 2014.
- Schmitt, J.; Gruenewald, T.; Decher, G.; Pershan, P. S.; Kjaer, K.; Loesche, M. Internal structure of layer-by-layer adsorbed polyelectrolyte films: a neutron and x-ray reflectivity study, *Macromolecules*, v. 26, p. 7058-7063, 1993.
- Schröfel, A.; Kratošová, G.; Šafařík, I.; Šafaříková, M.; Raška, I.; Shor, L. M. Applications of biosynthesized metallic nanoparticles – A review, *Acta Biomaterialia*, v. 10, p. 4023-4042, 2014.
- Shams-nateri, A. Scattering behavior of nonabsorbing metallic nanoparticles, *Optics & Laser Technology*, v. 44, p. 1670-1674, 2012.
- Sharan, R.; Chhibber, S.; Reed, R. H. A Murine Model to Study the Antibacterial Effect of Copper on Infectivity of Salmonella Enterica Serovar Typhimurium, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 8, p. 21, 2011.
- Shearer, A. E. H.; Paik, J. S.; Hoover, D. G.; Haynie, S. L.; Kelley, M. J. Potential of an antibacterial ultraviolet-irradiated nylon film, *Biotechnology and Bioengineering*, v. 67, p. 141-146, 2000.
- Shen, D. T.; Crawford, T. B.; Gorham, J. R.; McGuire, T. C. Inactivation of equine infectious anemia virus by chemical disinfectants, *American Journal of Veterinary Research*, v. 38, p. 1217-1219, 1977.
- Sheng, K.; Bai, H.; Sun, Y.; Li, C.; Shi, G. Layer-by-layer assembly of graphene/polyaniline multilayer films and their application for electrochromic devices, *Polymer*, v. 52, p. 5567-5572, 2011.
- Shimomura, M.; Sawadaishi, T. Bottom-up strategy of materials fabrication: a new trend in nanotechnology of soft materials, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, v. 6, p. 11-16, 2001.
- Shiratori, S. S.; Rubner, M. F. pH-dependent thickness behavior of sequentially adsorbed layers of weak polyelectrolytes, *Macromolecules*, v. 33, p. 4213-4219, 2000.
- Shri Prakash, B.; Senthil Kumar, S.; Aruna, S. T. Properties and development of Ni/YSZ as an anode material in solid oxide fuel cell: A review, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 36, p. 149-179, 2014.
- Silva, B. F. d.; Pérez, S.; Gardinalli, P.; Singhal, R. K.; Mozeto, A. A.; Barceló, D. Analytical chemistry of metallic nanoparticles in natural environments, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 30, p. 528-540, 2011.
- Silva, M. C. d. Propriedades ópticas do poliestireno sulfonado dopado com íons de neodímio, Universidade Federal de Uberlândia, Dissertação de Mestrado, 2006.
- Singh, P.; Katyál, A.; Kalra, R.; Chandra, R. Copper nanoparticles in an ionic liquid: an efficient catalyst for the synthesis of bis-(4-hydroxy-2-oxothiazolyl)methanes, *Tetrahedron Letters*, v. 49, p. 727-730, 2008.
- Singh, S.; Saikia, J. P.; Buragohain, A. K. A novel 'green' synthesis of colloidal silver nanoparticles (SNP) using *Dillenia indica* fruit extract, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 102, p. 83-85, 2013.
- Snyder, R. W.; Cheatle, E. L. Alkaline glutaraldehyde - an effective disinfectant, *American Journal of Hospital Pharmacy*, v. 22, p. 321-327, 1965.

- Solís-Casados, D.; Escobar-Alarcón, L.; Fernández, M.; Valencia, F. Malachite green degradation in simulated wastewater using Nix:TiO<sub>2</sub> thin films, *Fuel*, v. 110, p. 17-22, 2013.
- Sondi, I.; Salopek-Sondi, B. Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 275, p. 177-182, 2004.
- Sówka, E.; Leonowicz, M.; Andrzejewski, B.; Pomogailo, A. D.; Dzhardimalieva, G. I. Processing and properties of composite magnetic powders containing Co nanoparticles in polymeric matrix, *Journal of Alloys and Compounds*, v. 423, p. 123-127, 2006.
- Stonehill, A.; Krop, S.; Borick, M. Buffered glutaraldehyde, a new chemical sterilizing solution, *American Journal of Hospital Pharmacy*, v. 20, p. 458-465, 1963.
- Streltsov, D. R.; Mailyan, K. A.; Gusev, A. V.; Ryzhikov, I. A.; Kiryukhin, Y. I.; Orekhov, A. S.; Vasiliev, A. L.; Erina, N. A.; Pebalk, A. V.; Odarchenko, Y. I.; Chvalun, S. N.; Ivanov, D. A. Structure and optical properties of thin poly(p-xylylene) – Silver nanocomposite films prepared by low-temperature vapor deposition polymerization, *Polymer*, v. 71, p. 60-69, 2015.
- Sudha, V. B. P.; Ganesan, S.; Pazhani, G. P.; Ramamurthy, T.; Nair, G. B.; Venkatasubramanian, P. Storing Drinking-water in Copper pots Kills Contaminating Diarrhoeagenic Bacteria, *Journal of Health, Population, and Nutrition*, v. 30, p. 17-21, 2012.
- Sui, Z.; Salloum, D.; Schlenoff, J. B. Effect of Molecular Weight on the Construction of Polyelectrolyte Multilayers: Stripping versus Sticking, *Langmuir*, v. 19, p. 2491-2495, 2003.
- Sui, Z.; Schlenoff, J. B. Phase Separations in pH-Responsive Polyelectrolyte Multilayers: Charge Extrusion versus Charge Expulsion, *Langmuir*, v. 20, p. 6026-6031, 2004.
- Sun, J.-J.; Zhao, H.-Z.; Yang, Q.-Z.; Song, J.; Xue, A. A novel layer-by-layer self-assembled carbon nanotube-based anode: Preparation, characterization, and application in microbial fuel cell, *Electrochimica Acta*, v. 55, p. 3041-3047, 2010.
- Sun, Y.; Sun, L.; Zhang, B.; Xu, F.; Liu, Z.; Guo, C.; Zhang, Y.; Li, Z. Type I collagen-mediated synthesis of noble metallic nanoparticles networks and the applications in Surface-Enhanced Raman Scattering and electrochemistry, *Talanta*, v. 79, p. 562-569, 2009.
- Sundaresan, K.; Sivakumar, A.; Vigneswaran, C.; Ramachandran, T. Influence of nano titanium dioxide finish, prepared by sol-gel technique, on the ultraviolet protection, antimicrobial, and self-cleaning characteristics of cotton fabrics, *Journal of Industrial Textiles*, v. 41, p. 259-277, 2012.
- Szymanska, K.; Zouboulis, A. I.; Zamboulis, D. Hybrid ozonation–microfiltration system for the treatment of surface water using ceramic membrane, *Journal of Membrane Science*, v. 468, p. 163-171, 2014.
- Tamayo, L. A.; Zapata, P. A.; Vejar, N. D.; Azócar, M. I.; Gulppi, M. A.; Zhou, X.; Thompson, G. E.; Rabagliati, F. M.; Páez, M. A. Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into *Listeria monocytogenes*, *Materials Science and Engineering: C*, v. 40, p. 24-31, 2014.
- Tandon, P.; Chhibber, S.; Reed, H. R. Inactivation of *Escherichia coli* and coliform bacteria in traditional brass and earthenware water storage vessels, *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 88, p. 35-48, 2005.
- Tang, Z.; Wang, Y.; Podsiadlo, P.; Kotov, N. A. Biomedical Applications of Layer-by-Layer Assembly: From Biomimetics to Tissue Engineering, *Advanced Materials*, v. 18, p. 3203-3224, 2006.

- Tang, L.; Huynh, K. A.; Fleming, M. L.; Larronde-Larretche, M.; Chen, K. L. Imparting antimicrobial and anti-adhesive properties to polysulfone membranes through modification with silver nanoparticles and polyelectrolyte multilayers, *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 451, p. 125-133, 2015.
- Thakkar, K. N.; Mhatre, S. S.; Parikh, R. Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 6, p. 257-262, 2010.
- Theivasanthi, T.; Alagar, M. Studies of Copper Nanoparticles Effects on Micro-organisms, *Annals of Biological Research*, v. 2, p. 368-373, 2011.
- Tomaszewska, E.; Soliwoda, K.; Kadziola, K.; Tkacz-Szczesna, B.; Celichowski, G.; Cichomski, M.; Szmaja, W.; Grobelny, J. Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids, *J. Nanomaterials*, v. 2013, p. 60-60, 2013.
- Trapalis, C. C.; Kokkoris, M.; Perdikakis, G.; Kordas, G. Study of Antibacterial Composite Cu/SiO<sub>2</sub> Thin Coatings, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 26, p. 1213-1218, 2003.
- Trivinho-Strixino, F.; Pereira, E. C.; Mello, S. V.; Oliveira. Self-Doping Effect in Poly(o-methoxyaniline)/Poly(3-thiopheneacetic acid) Layer-by-Layer Films, *Langmuir*, v. 20, p. 3740-3745, 2004.
- Twu, Y.-K.; Chen, Y.-W.; Shih, C.-M. Preparation of silver nanoparticles using chitosan suspensions, *Powder Technology*, v. 185, p. 251-257, 2008.
- Ülküseven, B.; Tavman, A.; Ötük, G.; Birteksöz, S. Antimicrobial activity of FeIII, CuII, AgI, ZnII and HgII complexes of 2-(2-hydroxy-5-bromo/nitro-phenyl)-1H- and 2-(2-hydroxyphenyl)-5-methyl/chloro/nitro-1H-benzimidazoles, *Folia Microbiologica*, v. 47, p. 481-487, 2002.
- Usha, R. P., E.; Palaniswamy, M.; Venil, C. K.; Rajendran, R. Synthesis of metal oxide nanoparticles by *Streptomyces* sp. for development of antimicrobial textiles, *Global J. Biotechnol. Biochem*, v. 5, p. 153-160, 2010.
- Usman, M.; Ibrahim, N.; Shameli, K.; Zainuddin, N.; Yunus, W. Copper Nanoparticles Mediated by Chitosan: Synthesis and Characterization via Chemical Methods, *Molecules*, v. 17, p. 14928-14936, 2012.
- Vaferi, B.; Bahmani, M.; Keshavarz, P.; Mowla, D. Experimental and theoretical analysis of the UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> advanced oxidation processes treating aromatic hydrocarbons and MTBE from contaminated synthetic wastewaters, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 2, p. 1252-1260, 2014.
- Vimala, K.; Mohan, Y. M.; Sivudu, K. S.; Varaprasad, K.; Ravindra, S.; Reddy, N. N.; Padma, Y.; Sreedhar, B.; MohanaRaju, K. Fabrication of porous chitosan films impregnated with silver nanoparticles: A facile approach for superior antibacterial application, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 76, p. 248-258, 2010.
- Vitulli, G.; Bernini, M.; Bertozzi, S.; Pitzalis, E.; Salvadori, P.; Coluccia, S.; Martra, G. Nanoscale Copper Particles Derived from Solvated Cu Atoms in the Activation of Molecular Oxygen, *Chemistry of Materials*, v. 14, p. 1183-1186, 2002.
- Volodkin, D.; von Klitzing, R.; Moehwald, H. Polyelectrolyte Multilayers: Towards Single Cell Studies, *Polymers*, v. 6, p. 1502-1527, 2014.
- Wang, T. C.; Rubner, M. F.; Cohen, R. E. Polyelectrolyte Multilayer Nanoreactors for Preparing Silver Nanoparticle Composites: Controlling Metal Concentration and Nanoparticle Size, *Langmuir*, v. 18, p. 3370-3375, 2002.
- Wang, Y.; Asefa, T. Poly(allylamine)-Stabilized Colloidal Copper Nanoparticles: Synthesis, Morphology, and Their Surface-Enhanced Raman Scattering Properties, *Langmuir*, v. 26, p. 7469-7474, 2010.

- Wang, Y.; Biradar, A. V.; Wang, G.; Sharma, K. K.; Duncan, C. T.; Rangan, S.; Asefa, T. Controlled Synthesis of Water-Dispersible Faceted Crystalline Copper Nanoparticles and Their Catalytic Properties, *Chemistry – A European Journal*, v. 16, p. 10735-10743, 2010.
- Wang, X.; Waterhouse, G. I. N.; Mitchell, D. R. G.; Prince, K.; Caruso, R. A. Noble Metal-Modified Porous Titania Networks and their Application as Photocatalysts, *ChemCatChem*, v. 3, p. 1763-1771, 2011.
- Wang, Y.; Yao, J.; Li, H.; Su, D.; Antonietti, M. Highly Selective Hydrogenation of Phenol and Derivatives over a Pd@Carbon Nitride Catalyst in Aqueous Media, *Journal of the American Chemical Society*, v. 133, p. 2362-2365, 2011.
- Webster, A.; Halling, M. D.; Grant, D. M. Metal complexation of chitosan and its glutaraldehyde cross-linked derivative, *Carbohydrate Research*, v. 342, p. 1189-1201, 2007.
- Wei, D.; Qian, W.; Shi, Y.; Ding, S.; Xia, Y. Effects of cooling treatment and glutaraldehyde on the morphology of Au nanostructures synthesized from chitosan, *Carbohydrate Research*, v. 343, p. 512-520, 2008.
- WHO. Progress on Drinking Water and Sanitation, 2012.
- Wojcieszak, D.; Mazur, M.; Kaczmarek, D.; Mazur, P.; Szponar, B.; Domaradzki, J.; Kepinski, L. Influence of the surface properties on bactericidal and fungicidal activity of magnetron sputtered Ti–Ag and Nb–Ag thin films, *Materials Science and Engineering: C*, v. 62, p. 86-95, 2016.
- Wong, S. Y.; Li, Q.; Veselinovic, J.; Kim, B.-S.; Klibanov, A. M.; Hammond, P. T. Bactericidal and virucidal ultrathin films assembled layer by layer from polycationic N-alkylated polyethylenimines and polyanions, *Biomaterials*, v. 31, p. 4079-4087, 2010.
- Xu, X.; Gao, B.; Yue, Q.; Zhong, Q. Sorption of phosphate onto giant reed based adsorbent: FTIR, Raman spectrum analysis and dynamic sorption/desorption properties in filter bed, *Bioresource Technology*, v. 102, p. 5278-5282, 2011.
- Yoo, D.; Shiratori, S. S.; Rubner, M. F. Controlling bilayer composition and surface wettability of sequentially adsorbed multilayers of weak polyelectrolytes, *Macromolecules*, v. 31, p. 4309-4318, 1998.
- Yoon, K. Y.; Byeon, J. H.; Park, C. W.; Hwang, J. Antimicrobial Effect of Silver Particles on Bacterial Contamination of Activated Carbon Fibers, *Environmental Science & Technology*, v. 42, p. 1251-1255, 2008.
- Zain, N. M.; Stapley, A. G. F.; Shama, G. Green synthesis of silver and copper nanoparticles using ascorbic acid and chitosan for antimicrobial applications, *Carbohydrate Polymers*, v. 112, p. 195-202, 2014.
- Zapata, P. A.; Tamayo, L.; Páez, M.; Cerda, E.; Azócar, I.; Rabagliati, F. M. Nanocomposites based on polyethylene and nanosilver particles produced by metallocenic “in situ” polymerization: synthesis, characterization, and antimicrobial behavior, *European Polymer Journal*, v. 47, p. 1541-1549, 2011.
- Zarpelon, F. Preparação, Caracterização e Aplicação de Filmes Finos de PAH/PAA com Nanopartículas de Prata no Tratamento Microbiológico de Efluentes Industriais para Reuso, Universidade de Caxias do Sul, Dissertação de Mestrado, 2013.
- Zarpelon, F.; Galiotto, D.; Aguzzoli, C.; Carli, L. N.; Figueroa, C. A.; Baumvol, I. J. R.; Machado, G.; Crespo, J. d. S.; Giovanela, M. Removal of coliform bacteria from industrial wastewaters using polyelectrolytes/silver nanoparticles self-assembled thin films, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 4, p. 137-146, 2016.

- Zhang, C.; Liu, T.; Lu, X. Facile fabrication of polystyrene/carbon nanotube composite nanospheres with core-shell structure via self-assembly, *Polymer*, v. 51, p. 3715-3721, 2010.
- Zhang, Y.; Cui, X.; Shi, F.; Deng, Y. Nano-Gold Catalysis in Fine Chemical Synthesis, *Chemical Reviews*, v. 112, p. 2467-2505, 2012.
- Zheng, L.; Yao, X.; Li, J. Layer-by-Layer Assembly Films and their Applications in Electroanalytical Chemistry, *Current Analytical Chemistry*, v. 2, p. 279-296, 2006.
- Zhu, Y.; Dan, Y. Photocatalytic activity of poly(3-hexylthiophene)/titanium dioxide composites for degrading methyl orange, *Solar Energy Materials and Solar Cells*, v. 94, p. 1658-1664, 2010.