



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

PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
HÍBRIDOS DE MONTMORILONITA-ALGINATO-
NANOPRATAS NA DESINFECÇÃO DE EFLUENTES
INDUSTRIAIS PARA ÁGUAS DE REUSO

ROSA HELENA LOVATEL

Caxias do Sul

2014

ROSA HELENA LOVATEL

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE
HÍBRIDOS DE MONTMORILONITA-ALGINATO-
NANOPRATAS NA DESINFECÇÃO DE EFLUENTES
INDUSTRIAIS PARA ÁGUAS DE REUSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais da Universidade de Caxias do Sul visando à obtenção do grau de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanela (UCS)

Coorientadora: Profa. Dra. Larissa Nardini Carli (UFSC)

Caxias do Sul

2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

L896p Lovatel, Rosa Helena, 1984-
Preparação, caracterização e aplicação de híbridos de montmorilonita-alginato-nanopratas na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso / Rosa Helena Lovatel. - 2014.
61 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.
Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2014.
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Giovanela ; Coorientadora: Profa. Dra. Larissa Nardini.

1. Materiais híbridos. 2. Águas residuais - Purificação. 3. Resíduos industriais. 4. Radiação ultravioleta. I. Título.

CDU 2.ed.: 612.6.052.27

Índice para o catálogo sistemático:

1. Materiais híbridos	612.6.052.27
2. Águas residuais – Purificação	628.3.034.2
3. Resíduos industriais	628.4.034
4. Radiação ultravioleta	66.085.3

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Nicole Tirello Acquilini – CRB 10/2297

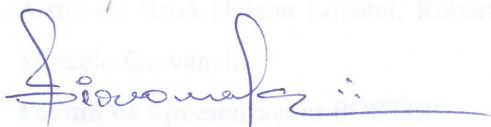
"Preparação, caracterização e aplicação de híbridos de montmorilonita-alginato-nanopratas na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso".

Rosa Helena Lovatel

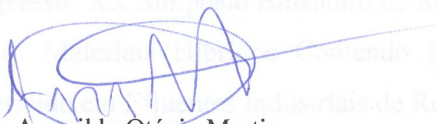
Dissertação de Mestrado submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Materiais da Universidade de Caxias do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Área de Concentração: Processamento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

Caxias do Sul, 24 de setembro de 2014.

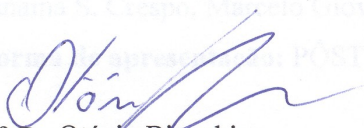
Banca Examinadora:



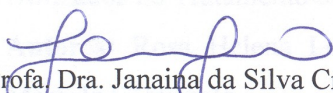
Prof. Dr. Marcelo Giovanela (orientador)
Universidade de Caxias do Sul



Prof. Dr. Amarildo Otávio Martins
Universidade Federal de São Carlos



Prof. Dr. Otávio Bianchi
Universidade de Caxias do Sul



Profa. Dra. Janaina da Silva Crespo
Universidade de Caxias do Sul

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

Congresso: 4º Congresso Internacional de Tecnologias para o Meio Ambiente, 2014, Bento Gonçalves.

Título: Materiais Híbridos Contendo Nanopartículas de Prata Utilizados como Agente Bactericida no Tratamento Microbiológico de Efluentes Industriais para Reuso.

Autores: Rosa Helena Lovatel, Gabriele R. Oliveira, Larissa N. Carli, Janaina S. Crespo, Marcelo Giovanela.

Forma de apresentação: PÔSTER

Congresso: Eurasia Waste Management Symposium, 2014, Turquia.

Título: Synthesis, Characterization and Application of Montmorillonite-Alginate Hybrids with Silver Nanoparticles in the Industrial Wastewater Treatment for Reuse.

Autores: Rosa Helena Lovatel, Roberta Motta Neves, Larissa N. Carli, Janaina S. Crespo, Marcelo Giovanela.

Forma de apresentação: PÔSTER

Congresso: XX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos (SBRH), 2013, Bento Gonçalves.

Título: Materiais Híbridos Contendo Nanopartículas de Prata Utilizados como Agente Bactericida em Efluentes Industriais de Reuso.

Autores: Rosa Helena Lovatel, Gabriele R. Oliveira, Roberta Motta Neves, Larissa N. Carli, Janaina S. Crespo, Marcelo Giovanela.

Forma de apresentação: PÔSTER

Congresso: 12º Congresso Brasileiro de Polímeros (CBPOL), 2013, Florianópolis.

Título: Híbridos de Montmorilonita e Alginato Decorados com Nanopartículas de Prata Utilizados no Tratamento de Efluentes Industriais de Reuso.

Autores: Rosa Helena Lovatel, Gabriele R. Oliveira, Raquel Mauler, Larissa N. Carli, Marcelo Giovanela.

Forma de apresentação: PÔSTER

Congresso: 13th International Conference on Environmental Science and Technology (CEST), 2013, Atenas.

Título: Use of Montmorillonite-Alginate Hybrids Decorated with Silver Nanoparticles in Industrial Wastewater Treatment for Reuse.

Autores: Rosa Helena Lovatel, Roberta Motta Neves, Larissa N. Carli, Janaina S. Crespo, Marcelo Giovanela.

Forma de apresentação: PÔSTER

AGRADECIMENTOS

Às pessoas que fizeram com que o amor mútuo produzisse frutos, meus pais, Ivo Antonio e Maria Delurdes.

Aos irmãos que Deus me deu, e aos que me permitiu escolher e chamar verdadeiramente amigos.

A quem soube dar sentido à minha vida com seu amor, paciência, incentivo e compreensão, não somente na realização deste trabalho, mas por todo tempo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Marcelo Giovanela e à minha coorientadora Prof^a. Dr^a. Larissa Nardini Carli pelos ensinamentos transmitidos, pela dedicação, disponibilidade e amizade.

À Roberta Motta Neves e à Gabriele Rocha Oliveira, bolsistas de iniciação científica do Núcleo de Pesquisas em Geoquímica (NupGeo) da UCS, pela ajuda na preparação dos híbridos.

À Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica por permitir que eu me ausentasse do trabalho para a concretização deste estudo, bem como por contribuir na realização dos ensaios cedendo amostras do efluente.

Aos meus colegas de trabalho pela compreensão e pela ajuda durante minhas ausências.

A todos os demais professores e colegas do PGMAT que, em algum momento, contribuíram para o êxito desta pesquisa.

À Universidade de Caxias do Sul por disponibilizar a estrutura e os recursos indispensáveis para o desenvolvimento deste estudo.

*"Você não pode mudar o vento,
mas pode ajustar as velas do barco
para chegar onde quer."*

Confúcio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo geral.....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Águas de reuso	18
3.1.1 Estação de tratamento de efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica.....	21
3.2 Micro-organismos patogênicos	23
3.2.1 Bactérias	23
3.2.1.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.2.1.2 <i>Escherichia coli</i>	25
3.3 Técnicas de desinfecção de efluentes	26
3.3.1 Cloração.....	27
3.3.2 Ozonização	28
3.3.3 Radiação ultravioleta (UV).....	29
3.3.4 Materiais híbridos	29
3.3.4.1 Alginato (ALG)	30
3.3.4.2 Montmorilonita (MMT)	31
3.3.4.3 Nanopartículas de prata (AgNPs).....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 Materiais	35
4.2 Síntese das AgNPs.....	35
4.3 Caracterização das AgNPs	35
4.4 Preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs.....	36
4.4.1 Caracterização dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs	37
4.5 Ensaio microbiológicos	37
4.5.1 Avaliação da ação bactericida dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs	37
4.5.2 Desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.....	38
4.5.3 Análise de prata total no híbrido de MMT-ALG-AgNPs e na água de reuso tratada	39
4.5.4 Desinfecção da água de reuso com radiação ultravioleta.....	40

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Caracterização das AgNPs	42
5.2 Caracterização dos híbridos deMMT-ALG-AgNPs.....	43
5.3 Ensaio microbiológicos e desinfecção do efluente industrial.....	48
5.3.1 Teste de difusão em ágar	48
5.3.2 Desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.....	49
5.3.3 Quantificação de prata total nos híbridos de MMT-ALG-AgNPs e na água de reuso industrial.....	50
5.3.4 Desinfecção da água de reuso industrial com radiação UV	51
6 CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vista parcial da estação de tratamento de efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica.	21
Figura 2. Fluxograma do sistema de tratamento dos efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica.	22
Figura 3. Estrutura celular de micro-organismos Gram-negativos e Gram-positivos (Tortora, 2012).	24
Figura 4.(a) Alga marrom; (b) Conformação dos ácidos β -D-manurônico e α -L-glucurônico (Moura, 2005).	30
Figura 5. Fórmula estrutural do alginato de sódio, onde M e G são, respectivamente, o ácido β -D-manurônico e o ácido α -L-glucurônico (Cortes, 2010).	31
Figura 6. Estrutura lamelar de uma argila do tipo esmectita (2:1) (adaptado de Pavlidou e Papaspyrides, 2008).	32
Figura 7. Imagens de AgNPs com diferentes tamanhos dispersas em uma matriz de ALG: (a) 20 nm, (b) 50 nm, (c) 100 nm (adaptado de Zhao <i>et al.</i> , 2014).	34
Figura 8. Aspecto morfológico dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs.	36
Figura 9. Mesa orbital utilizada no ensaio com o efluente industrial.	39
Figura 10. Cabine de raios UV utilizada no ensaio com o efluente industrial.	40
Figura 11. Espectro de absorção da solução de AgNPs na região do UV-Vis.	42
Figura 12. Imagem de MET das AgNPs.	43
Figura 13. Histograma da distribuição de tamanhos das AgNPs.	43
Figura 14. Imagem de MET do híbrido de MMT-ALG-AgNPs.	44
Figura 15. Imagem de MEV das superfícies da (a) MMT e do (b) híbrido de MMT-ALG-AgNPs.	45
Figura 16. Difractograma de raios X da MMT e do híbrido de MMT-ALG-AgNPs.	46
Figura 17. Espectros de FT-IR da (a) MMT, do (b) ALG e do (c) híbrido de MMT-ALG-AgNPs.	47
Figura 18. Testes de difusão em ágar nutriente: (a) <i>E.coli</i> ; (b) <i>S. aureus</i> . Os círculos em vermelho correspondem às zonas de inibição (ZOI).	49
Figura 19. Percentual de remoção de coliformes totais em função do tempo de contato após a desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.	50
Figura 20. Percentual de remoção de coliformes totais em função do tempo de contato após a desinfecção da água de reuso com a radiação UV.	52
Figura 21. Comparação entre os métodos utilizados para a remoção de coliformes totais na água de reuso.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Padrões de emissão de efluentes que dependem da vazão de lançamento (Rio Grande do Sul, 2006).	19
Tabela 2. Associação entre os usos da água e os requisitos de qualidade (adaptado de Von Sperling, 1995).	20
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de reuso utilizada na realização do ensaio microbiológico.....	38
Tabela 4. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de reuso utilizada na realização do teste com radiação ultravioleta.	41
Tabela 5. Concentração de prata total na água de reuso após a desinfecção com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNPs	nanopartículas de prata
ALG	alginato de sódio
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CNRH	Conselho Nacional de Recursos Hídricos
CONAMA	Conselho Nacional do Meio Ambiente
CONSEMA	Conselho Estadual de Meio Ambiente
DBO	demanda bioquímica de oxigênio
DQO	demanda química de oxigênio
DRX	difração de raios X
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
ETE	estação de tratamento de efluentes
FT-IR	espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier
ICP-OES	espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado
MET	microscopia eletrônica de transmissão
MEV	microscopia eletrônica de varredura
MMT	montmorilonita
NTK	nitrogênio total Kjeldahl
pH	potencial hidrogeniônico
Q	vazão
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UFC	unidade formadora de colônia
UV	ultravioleta
Vis	visível
ZOI	zonas de inibição

RESUMO

Diferentes técnicas têm sido desenvolvidas para eliminar micro-organismos de efluentes industriais e melhorar a sua qualidade final. Dentre elas, o uso de nanopartículas de prata (AgNPs) ancoradas em montmorilonita (MMT) tem demonstrado bons resultados. Neste contexto, este estudo teve por objetivo preparar híbridos de alginato de sódio (ALG) e MMT, com AgNPs ancoradas, visando sua posterior aplicação na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso. Inicialmente, as AgNPs foram sintetizadas por meio da redução química de íons prata com boroidreto de sódio, na presença de citrato de sódio. Em seguida, uma suspensão contendo AgNPs, MMT e ALG foi preparada. Os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram obtidos a partir do gotejamento da suspensão em uma solução aquosa de cloreto de cálcio (4,0% m/v). As AgNPs, assim como os híbridos, foram caracterizados por meio das técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), microscopia eletrônica de transmissão (MET) e de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e difração de raios X (DRX). O conjunto de resultados confirmou a presença da MMT, com as AgNPs ancoradas em formato esférico, dispersa na matriz de alginato. Posteriormente, foi realizado o ensaio de difusão em ágar com dois tipos de micro-organismos (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) para se verificar o potencial bactericida desses materiais. Os ensaios mostraram que houve a formação de zonas de inibição (ZOI) para ambas as bactérias. Os híbridos foram então utilizados na desinfecção de um efluente industrial e os resultados indicaram uma redução de 98,5% em termos de coliformes totais. Por fim, o efluente industrial foi submetido a outro processo de desinfecção utilizando radiação ultravioleta (UV), que é muito comum no tratamento de águas e efluentes, com a finalidade de comparar os resultados obtidos pelos dois métodos. Verificou-se que o percentual de remoção de coliformes totais, em relação ao tempo de contato, foi aproximadamente 16% maior no tratamento com os híbridos do que com a radiação UV, confirmando o potencial do material para o objetivo proposto.

Palavras-chave: materiais híbridos, nanopartículas de prata, desinfecção de efluentes industriais, radiação ultravioleta, águas de reuso.

ABSTRACT

Different techniques have been developed to eliminate microorganisms from industrial wastewater and improve its final quality for reuse. Among them, the use of silver nanoparticles (AgNPs) anchored on montmorillonite (MMT) has shown good results. In this context, the aim of this study was to prepare hybrid materials from sodium alginate (ALG) and MMT, decorated with AgNPs, for application in the disinfection of industrial wastewater for reuse. Initially, AgNPs were synthesized by chemical reduction of silver ions with sodium borohydride in the presence of sodium citrate. Then, a suspension containing AgNPs, MMT, and ALG was prepared. The hybrid MMT-ALG-AgNPs was obtained from dripping the suspension in an aqueous solution of calcium chloride (4.0% w/V). The AgNPs and the hybrids were characterized by UV-visible absorption spectroscopy (UV-Vis), transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and X-ray diffraction (XRD). The set of results confirmed the presence of MMT decorated with AgNPs of spherical shape dispersed in the ALG matrix. The evaluation of the bactericidal potential of the hybrids was performed by the agar diffusion assay with two types of micro-organisms (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*). The tests evidenced the formation of a prominent zone of inhibition (ZOI) for both bacteria. The hybrids were then used in the disinfection of an industrial wastewater. The results indicated a reduction of up to 98.5% of total coliforms. For comparison bases, the industrial wastewater was subjected to another disinfection process using ultraviolet radiation (UV), which is very common in the treatment of water and wastewater. It was found that the removal of total coliforms with the hybrids was approximately 16% higher than the UV radiation, thus confirming the potential of these materials for the purpose of this work.

Keywords: hybrid materials, silver nanoparticles, industrial wastewater disinfection, ultraviolet radiation, reuse.

1 INTRODUÇÃO

A crescente preocupação pela preservação do meio ambiente e a aprovação de leis cada vez mais rígidas de responsabilidades sobre o descarte de resíduos têm levado muitos pesquisadores a desenvolverem produtos e processos com menor potencial poluidor. No entanto, em alguns processos industriais, tais como a fabricação de artigos de cutelaria na indústria metalúrgica, a geração de poluentes é inevitável. Assim, o desenvolvimento de estudos específicos para minimizar os impactos ambientais que podem ser causados pelos efluentes gerados neste tipo de processo industrial é de primordial importância. O reuso de águas industriais tem sido incentivado no Brasil, uma vez que esta prática traz inúmeros benefícios econômicos e ambientais. No entanto, não existe ainda no país uma legislação que especifique os parâmetros físico-químicos e microbiológicos aceitáveis para esta prática. Desta forma, esses parâmetros dependem da aplicação futura da água a ser reutilizada (Brasil, 2005; Brasil, 2012).

O uso de nanopartículas metálicas ancoradas em substratos sólidos tem um grande campo de aplicação (baterias solares, catalisadores, fotocatalisadores, sensores, entre outros) (Tokarský *et al.*, 2010). Na última década, as nanopartículas de prata (AgNPs) vêm sendo amplamente utilizadas como agentes bactericidas na desinfecção da água e no tratamento microbiológico de efluentes, devido a uma série de vantagens sobre os desinfetantes tradicionais, tais como estabilidade química, segurança para o utilizador e eficiência (Xu *et al.*, 2011).

As argilas possuem uma grande área superficial, o que lhes confere boas propriedades adsorventes. Portanto, a estrutura lamelar dos silicatos representa um excelente substrato para a fixação de nanopartículas metálicas (Tokarský *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012). Isso possibilita que a montmorilonita (MMT), por exemplo, possa ser utilizada como material base para a fixação de AgNPs em sua superfície. Além disso, materiais híbridos à base de MMT e AgNPs podem ser uma alternativa pouco onerosa e muito interessante aos processos convencionais de desinfecção utilizados no tratamento de efluentes para águas de reuso (Praus *et al.*, 2010; Valásková *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2011).

Alguns estudos foram realizados utilizando-se matrizes poliméricas de ácido metacrílico, polivinilpirrolidona, poliamida 6,6 e polimetilmetacrilato como materiais de suporte para as AgNPs (Gangadharan *et al.*, 2010; Dallas, 2011). O alginato (ALG), que é um biopolímero extraído principalmente das algas marrons, é uma matriz polimérica que tem se

destacado nesse cenário e que vem sendo extensivamente testada na remoção de contaminantes presentes em meio aquoso (Liu *et al.*, 2012).

Dentro deste contexto, o presente trabalho teve por objetivo preparar híbridos de MMT-ALG-AgNPs, visando sua posterior aplicação na desinfecção de efluentes industriais para águas de reuso. Os híbridos foram inicialmente caracterizados com relação à sua morfologia e estrutura por meio das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). Em seguida, foi avaliado o potencial bactericida desses híbridos contra dois tipos de micro-organismos (*Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), utilizando-se o ensaio de difusão em ágar. Finalmente, os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram utilizados na desinfecção de um efluente industrial e os resultados obtidos nesta etapa foram comparados àqueles obtidos no tratamento do mesmo efluente com radiação ultravioleta (UV). A quantificação de prata total nos híbridos de MMT-ALG-AgNPs e nos efluentes, antes e após a desinfecção, foi realizada por espectroscopia de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Preparar e caracterizar híbridos de montmorilonita (MMT) e alginato de sódio (ALG), com nanopartículas de prata (AgNPs) ancoradas, visando a posterior aplicação dos mesmos na remoção de micro-organismos presentes em um efluente industrial para águas de reuso.

2.2 Objetivos específicos

- ✚ Sintetizar e caracterizar as AgNPs por meio das técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) para a posterior utilização na preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs;
- ✚ Preparar e caracterizar os híbridos de MMT-ALG-AgNPs por meio das técnicas de MET, microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR);
- ✚ Avaliar o potencial bactericida dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs por meio da técnica de difusão em ágar;
- ✚ Aplicar os híbridos de MMT-ALG-AgNPs no processo de desinfecção de um efluente industrial para águas de reuso;
- ✚ Quantificar a prata total presente nos híbridos de MMT-ALG-AgNPs e no efluente industrial após o processo de desinfecção;
- ✚ Comparar a eficiência de remoção dos coliformes totais pelos híbridos de MMT-ALG-AgNPs em relação ao processo de desinfecção por radiação UV.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Águas de reuso

Diversas regiões metropolitanas e industrializadas do Brasil sofrem com a escassez de água, devido à degradação dos corpos hídricos, bem como com a crescente demanda no abastecimento público, industrial e agrícola. Cerca de 80% da população brasileira vive em áreas urbanas, sendo que a maioria está concentrada em 26 regiões metropolitanas. Neste contexto, políticas públicas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de reduzir os impactos decorrentes da poluição da água, através do incentivo à redução do consumo e da geração de efluentes (Matsumura, 2008).

Levando-se em consideração a crescente preocupação da sociedade com a qualidade das águas em função do aumento da carga poluente lançada nos corpos hídricos, em julho de 2012, o Conselho Nacional de Recursos Hídricos (CNRH) publicou a Moção nº 61. Esta moção recomenda a promoção de ações de ciência e tecnologia para melhoria de técnicas de monitoramento e de tratamento de água de abastecimento e de efluentes, visando à remoção de micropoluentes e eliminação de micro-organismos patogênicos emergentes.

O tratamento dos efluentes gerados na indústria é atualmente uma prática obrigatória, prevista em âmbito federal nas Resoluções 357/2005 e 430/2011 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) (Brasil, 2005; Brasil, 2011) e, no Estado do Rio Grande do Sul, na Resolução do Conselho Estadual de Meio Ambiente (CONSEMA) nº 128/2006 (Rio Grande do Sul, 2006).

As legislações relacionadas ao descarte de efluentes industriais nos Estados Unidos, na Europa e no Brasil possuem algumas semelhanças. Em todas elas verifica-se que os parâmetros para descarte variam de acordo com o potencial poluidor da atividade (Resende, 2012; Ferreira, 2012). Os parâmetros para descarte de efluentes industriais exigidos pela Resolução CONSEMA nº 128/2006 (Rio Grande do Sul, 2006) relacionados a coliformes termotolerantes estão apresentados na **Tabela 1**.

Tabela 1. Padrões de emissão de efluentes que dependem da vazão de lançamento (Rio Grande do Sul, 2006).

Faixa de vazão (m ³ /dia)	Nitrogênio total Kjeldahl			Fósforo		Coliformes termotolerantes	
	Concentração (mg NTK/L)	Eficiência NTK (%)	Nitrogênio amoniacal (mg Nam./L)	Concentração (mg P/L)	Eficiência (%)	Máximo permissível (NMP/100mL)	Eficiência (%)
Q < 100	20	75	20	4	75	10 ³	95
100 ≤ Q < 1000	20	75	20	3	75	10 ⁴	95
1000 ≤ Q < 10000	15	75	20	2	75	10 ⁴	95
10000 ≤ Q	10	75	20	1	75	10 ³	95

Nas estações de tratamento de efluentes industriais no Brasil, usualmente ocorre a mistura dos diferentes tipos de efluentes gerados, incluindo por vezes o efluente sanitário que contém altas concentrações de coliformes totais (Resende, 2012).

Coliformes totais são definidos como micro-organismos que fermentam a lactose com produção de gás carbônico, quando incubados à temperatura de 35-37°C (Silva, 2006). Bactérias dos gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* e *Enterobacter* apresentam esta característica. Porém, somente a *E. coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais de sangue quente e por isso recebe a denominação de coliforme fecal. A *Klebsiella* e a *Enterobacter* podem ser encontradas em outros ambientes, como vegetais e solos, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal (Silva, 2006). Desta forma, a pesquisa de *E. coli* fornece informações mais precisas sobre as condições higiênicas da água e indicam mais precisamente a presença de enteropatógenos (Ray, 1996).

Mesmo que o tratamento utilizado atenda à legislação vigente, estes efluentes ainda podem conter parcelas de substâncias não degradáveis biologicamente, diversos metais, além de poluentes microbiológicos. Na maioria das aplicações, os riscos sanitários e ambientais associados a estes constituintes são considerados praticamente inexistentes (Monte, 2010; Lischewski, 2013). Porém, quando a água é destinada ao reuso, é necessário utilizar algum tipo de tratamento complementar após o tratamento convencional (Resende, 2012), em função dos riscos associados à aplicação, seja no manuseio desta água, seja no produto em que será utilizada.

O reuso das águas do efluente tratado vem sendo gradativamente adotado em diferentes regiões do mundo. Embora no Brasil não existam ainda legislações que obriguem

esta prática, a eminente escassez de água, a adoção de cobrança pelo uso da água (Lei 9433/97 - Política Nacional de Recursos Hídricos (Brasil, 1997)), o alto custo para o tratamento do efluente gerado e a necessidade de preservação dos recursos hídricos, têm estimulado a prática de reciclagem de água para usos não potáveis e em processos industriais (Matsumura, 2008; Curia, 2010; Resende, 2012).

Na ausência de uma legislação específica, a escolha do tratamento complementar adequado deve ser feita de acordo com a qualidade da água necessária ao fim a que se destina. Além disso, deve ser levada em consideração a exposição das pessoas com essa água e com os possíveis micro-organismos patogênicos presentes, uma vez que as patologias podem ser adquiridas por inalação, pelo contato direto ou mesmo por lesões corporais (Monte, 2010; Resende, 2012). Na **Tabela 2** são apresentados alguns requisitos de qualidade da água para uso em abastecimento industrial (Von Sperling, 1995).

Tabela 2. Associação entre os usos da água e os requisitos de qualidade (adaptado de Von Sperling, 1995).

Uso geral	Uso específico	Qualidade requerida
Abastecimento industrial	Água é incorporada ao produto (exemplos: alimentos, bebidas, remédios)	- Isenta de substâncias químicas prejudiciais à saúde - Isenta de organismos prejudiciais à saúde - Esteticamente agradável (baixa turbidez, cor, sabor e odor)
	Água entra em contato com o produto	- Variável com o produto
	Água não entra em contato com o produto (exemplos: refrigeração, caldeiras)	- Baixa dureza - Baixa corrosividade - Baixos teores de sólidos em suspensão e óleos e graxas

O reuso pode ser dividido em dois tipos: em cascata e efluentes tratados. O primeiro abrange o efluente gerado em um determinado processo industrial, que é utilizado diretamente em uma etapa subsequente. Já o segundo consiste em reutilizar a água após o tratamento. As principais aplicações são em torres de resfriamento, irrigação de jardins, descarga de bacias sanitárias, lavagem de pisos, sistemas de combate a incêndio e em caldeiras (Resende, 2012).

A inativação de micro-organismos patogênicos presentes em esgotos sanitários e efluentes tratados é o ponto de partida quando se almeja empregar águas residuárias como

alternativa de reuso em processos industriais. Seja por meios químicos ou físicos, a desinfecção é a única forma de garantir a segurança da água de reuso e das pessoas que dela farão uso (Bisterso, 2013).

3.1.1 Estação de tratamento de efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica

A Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica, fabricante de artigos de cutelaria em aço inoxidável, gera em seu processo produtivo efluentes que possuem elevado pH, metais e materiais insolúveis. Todo o efluente gerado na empresa (industrial e sanitário) é conduzido à estação de tratamento de efluentes (**Figura 1**).



Figura 1. Vista parcial da estação de tratamento de efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica.

A **Figura 2** ilustra o processo de tratamento dos efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica. Primeiramente, o efluente passa por um processo de tratamento físico-químico, visando à remoção de poluentes inorgânicos, materiais insolúveis, metais e sólidos em suspensão. Este processo é constituído por três etapas:

a) coagulação: aglomera as impurezas em partículas maiores para que possam ser removidas por sedimentação. Nesta etapa, geralmente são utilizados produtos químicos, como sais de alumínio, que reagem com o efluente desestabilizando colóides e partículas em suspensão;

b) floculação: os flocos são agregados, por adsorção, às partículas dissolvidas ou em estado coloidal. Eventualmente, são adicionados polímeros aniônicos para homogeneizar a formação dos flocos;

c) sedimentação: nesta etapa os flocos são sedimentados. As partículas são arrastadas até o fundo do sedimentador, formando um lodo químico.

Posteriormente, o efluente tratado no processo físico-químico é conduzido, juntamente com o efluente sanitário, a um tanque de tratamento biológico, onde micro-organismos aeróbios removem a matéria orgânica dissolvida e em suspensão através da transformação desta em sólidos sedimentáveis ou gases. Esses flocos são mais densos que a massa líquida e separam-se com facilidade (Ramalho, 1991; Giordano, 2004).

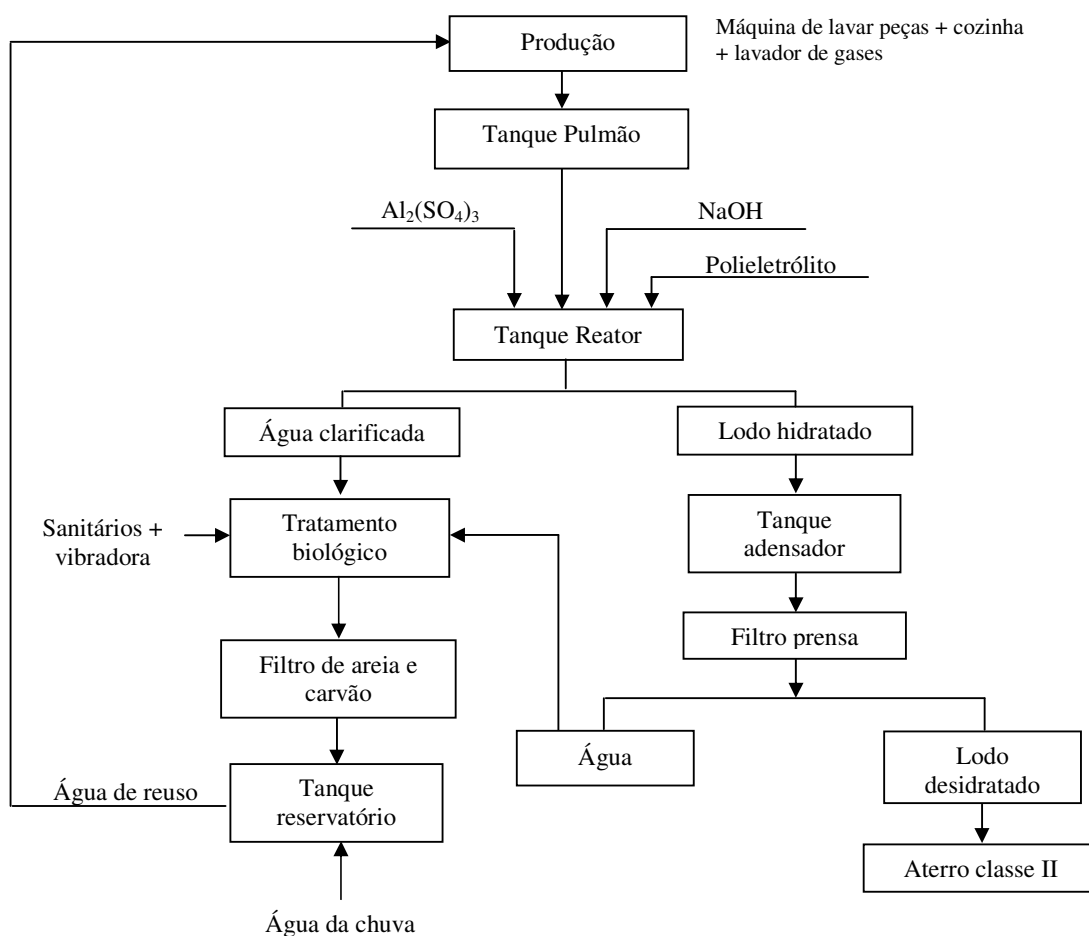


Figura 2. Fluxograma do sistema de tratamento dos efluentes da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica.

A água resultante do tratamento do efluente é conduzida para um reservatório, onde é finalmente misturada com água da chuva, sendo posteriormente reutilizada no processo produtivo, em torres de resfriamento, máquinas de lavar peças, descargas de sanitários e na lavagem de pisos.

Os parâmetros físico-químicos do efluente tratado atendem à legislação com relação ao descarte. Porém, para o reuso, a água necessita ainda de um tratamento terciário, devido à presença de coliformes remanescentes, que atualmente varia de 750 a 4800 unidades formadoras de colônia por 100 mL (UFC/100 mL). Atualmente, com a finalidade de eliminar esses micro-organismos é adicionado cloro à água do reservatório.

A ação bactericida dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs desenvolvidos neste estudo estaria diretamente ligada ao interesse da empresa em melhorar a qualidade da água de reuso, uma vez que esses materiais poderiam substituir a aplicação de cloro. O principal benefício desta substituição seria evitar a formação de trihalometanos e outros subprodutos que são potencialmente cancerígenos. Outro ponto positivo é que os híbridos poderiam ser reaproveitados em mais de um ciclo de descontaminação.

3.2 Micro-organismos patogênicos

Desde 1674, inúmeros pesquisadores desenvolvem estudos relacionados aos micro-organismos, provando que estes são responsáveis por causar diversas doenças em seres humanos, tais como antraz, raiva, cólera e tuberculose. Existem milhares de diferentes tipos de micro-organismos, os quais podem ser divididos em quatro grupos principais: vírus, bactérias, fungos e parasitas (Murray, 2006).

3.2.1 Bactérias

Milhares de espécies bacterianas encontram-se presentes nos organismos dos animais e no meio ambiente. A maioria dessas bactérias não é patogênica, porém algumas são capazes de provocar doenças que colocam em risco a saúde humana (Murray, 2006).

As bactérias são organismos procarióticos, ou seja, organismos unicelulares simples sem membrana nuclear, mitocôndrias, corpúsculos de Golgi ou retículo endoplasmático. A parede da célula bacteriana é complexa, consistindo em duas formas básicas: Gram-positivas e Gram-negativas (**Figura 3**) (Murray, 2006).

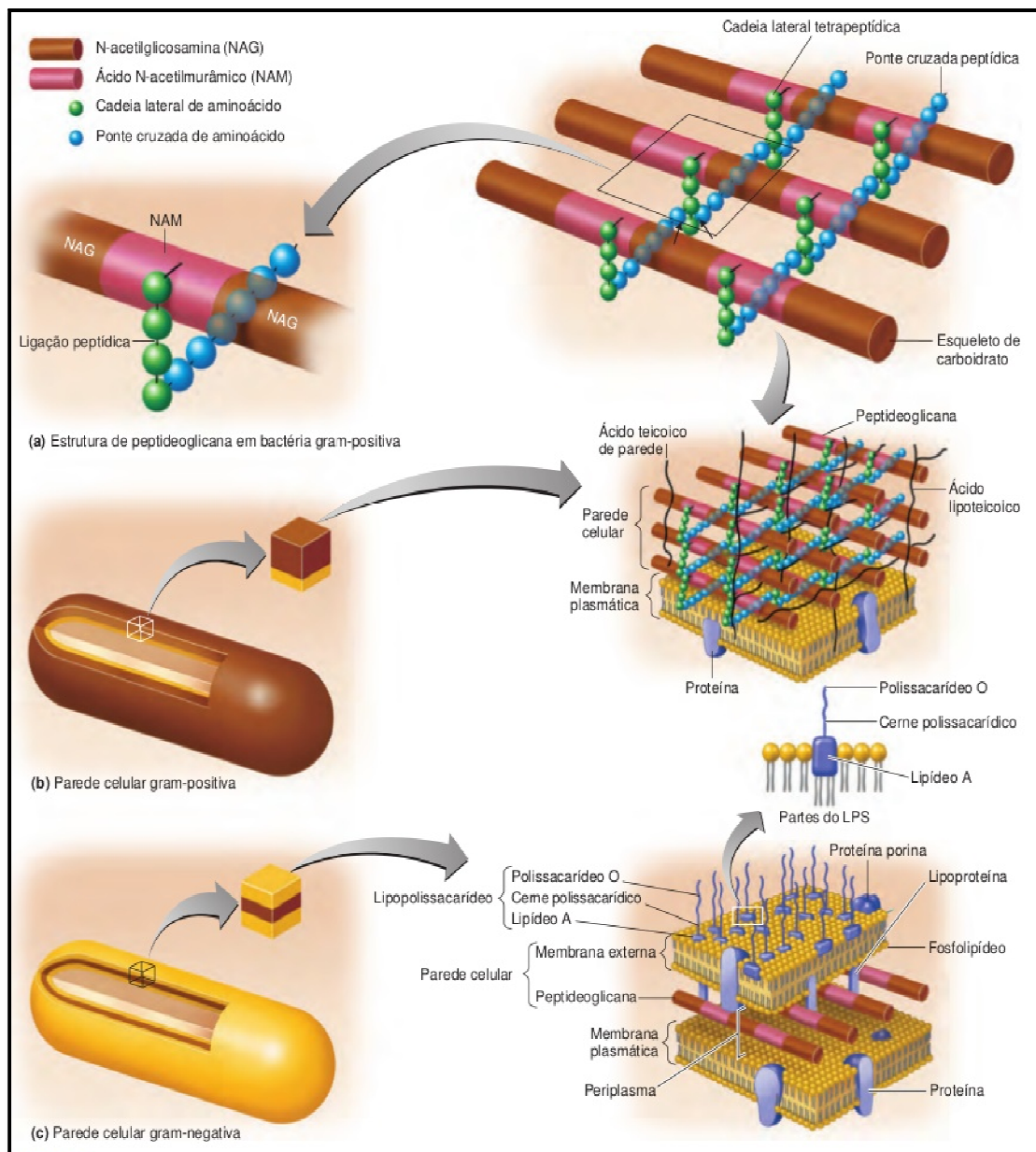


Figura 3. Estrutura celular de micro-organismos Gram-negativos e Gram-positivos (Tortora, 2012).

Uma bactéria Gram-positiva possui uma parede celular espessa (aproximadamente 50 nm) e de múltiplas camadas de peptidoglicanos, que envolvem a membrana citoplasmática. O peptidoglicano é um exoesqueleto em forma de malha suficientemente poroso para permitir a difusão dos metabólitos para a membrana plasmática. A parede das bactérias Gram-positivas pode conter também outros compostos, tais como ácidos teicoico e lipoteicoico e

polissacarídeos complexos (Murray, 2006; Brooks, 2010). As bactérias Gram-positivas podem causar doenças, tais como difteria, tétano, botulismo, listeriose (Murray, 2006).

As paredes celulares de bactérias Gram-negativas são mais complexas estruturalmente e quimicamente do que as paredes celulares das Gram-positivas e menos espessas, variando de 7,5 a 10 nm. As mesmas contêm duas camadas externas à membrana citoplasmática, uma fina camada de peptidoglicanos e uma membrana externa sobreposta composta por lipoproteínas, fosfolipídios, proteínas e lipossacarídeos (Murray, 2006; Brooks *et al.*, 2010; Tortora, 2012). Estas bactérias são causadoras de várias doenças, incluindo desintéria bacilar, leptospirose, febre tifoide, cólera, salmonelose (Murray, 2006).

A estrutura da parede celular pode ser determinada a partir de uma técnica de coloração diferencial desenvolvida por Hans Christian Gram. A coloração de Gram depende da capacidade de certas bactérias de reter o complexo cristal de violeta e iodo, após breve lavagem com álcool ou acetona. As bactérias Gram-negativas não retêm o complexo, tornando-se translúcidas, podendo assim tomar a coloração de fundo de um corante vermelho. Desta forma, as bactérias Gram-positivas aparecem na cor púrpura ao microscópio e as Gram-negativas em vermelho, e isto se deve às diferenças fundamentais em seus envoltórios celulares (Brooks *et al.*, 2010).

3.2.1.1 *Staphylococcus aureus*

A *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma bactéria Gram-positiva anaeróbia facultativa, em forma de cocos, que se organiza em grupos semelhantes a cachos de uva. Esta bactéria costuma colonizar as narinas humanas. O processo de infecção do indivíduo está associado normalmente a algum fator que diminui a sua resposta imunológica, como por exemplo, doenças, tratamentos mais agressivos ou procedimentos médicos invasivos que facilitam o acesso dos micro-organismos (Kuroda *et al.*, 2001; Gordon, 2008; Beiler, 2012).

3.2.1.2 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* (*E. coli*) é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa em forma de bacilo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, caracterizada pela presença das enzimas β -galactosidase e β -glicuronidase. Costuma habitar o lúmen intestinal dos seres humanos e de outros animais. Possui múltiplos flagelos dispostos em volta da célula (Beiler, 2012). Aproximadamente 10% dessas bactérias são patogênicas, causando infecções

intestinais e extra-intestinais. A *E. coli* geralmente permanece inofensivamente confinada ao lúmen intestinal de todos os indivíduos, porém pode provocar infecções em hospedeiros debilitados ou imunossuprimidos (Nataro, 1998).

Geralmente, pode-se identificar três síndromes clínicas de infecção por *E. coli*: meningite/sepse, doença entérica/diarréia e infecção do trato urinário. Estas infecções podem ser adquiridas através da ingestão de água ou alimentos contaminados com *E. coli* ou através do contato com a bactéria em ambientes hospitalares (Nataro, 1998).

3.3 Técnicas de desinfecção de efluentes

A desinfecção da água tem sido praticada por milênios, embora os princípios envolvidos no processo não fossem conhecidos. Existem indícios de que o uso de água fervida já era recomendado em 500 a. C., mas alguns historiadores julgam que esta prática era adotada desde o começo da civilização. Até que a teoria dos micro-organismos fosse estabelecida, havia a crença de que as doenças eram transmitidas através de odores (Meyer, 1994).

Os processos de desinfecção têm por objetivo a destruição ou inativação de organismos patogênicos, capazes de produzir doenças, ou de outros organismos indesejáveis. Esses organismos podem sobreviver na água por várias semanas, em temperaturas próximas a 21°C e, em alguns casos, por vários meses, em baixas temperaturas. A sobrevivência desses organismos na água depende não só da temperatura, mas também de outros fatores ecológicos, fisiológicos e morfológicos, tais como pH, turbidez, oxigênio, nutrientes, competição com outros organismos, e resistência a substâncias tóxicas. A desinfecção não implica, necessariamente, na destruição completa de todas as formas vivas (esterilização), embora muitas vezes o processo de desinfecção seja levado até o ponto de esterilização (Meyer, 1994).

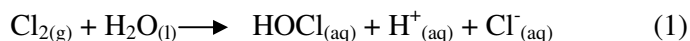
A desinfecção de efluentes pode ser realizada através de diferentes técnicas. As principais utilizam desinfetantes químicos específicos como cloro, hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogênio e ácido peracético. Outras exigem a utilização de equipamentos *in situ*, como a desinfecção promovida por ozônio, dióxido de cloro e radiação ultravioleta (UV) (Bisterso, 2013). Na sequência serão abordadas as principais técnicas de desinfecção aplicadas a efluentes industriais, enfocando os aspectos relacionados à eficiência de desinfecção e à toxicidade dos subprodutos gerados em cada processo, com identificação do grau de risco que estes podem oferecer à saúde humana e aos ecossistemas naturais.

3.3.1 Cloração

O agente químico mais comumente utilizado no processo de desinfecção de águas de abastecimento e residuárias é o cloro (Santos *et al.*, 2013). Seu uso foi iniciado com a aplicação de hipoclorito de sódio, obtido pela decomposição eletrolítica do cloreto de sódio. Posteriormente, passou a ser utilizado também na forma de cloro líquido ou gasoso e hipoclorito de cálcio (Daniel, 2001).

O cloro e seus componentes são fortes agentes oxidantes. Em geral, a reatividade do cloro diminui com o aumento do pH, e sua velocidade de reação aumenta com a elevação da temperatura. As reações do cloro com compostos inorgânicos redutores, como sulfitos, sulfetos, íon ferroso e nitrito, são geralmente muito rápidas. Alguns compostos orgânicos dissolvidos também reagem com o cloro, mas, em geral, são necessárias algumas horas para que a maioria das reações do cloro com compostos orgânicos se complete (Meyer, 1994).

O ácido hipocloroso, formado pela adição de cloro à água (Equação 1), se dissocia rapidamente em íons H^+ e OCl^- (Equação 2). Este último é o responsável pela ação desinfetante e oxidante no meio (Meyer, 1994).



A morte da célula bacteriana é resultado da reação química do ácido hipocloroso com uma enzima, a atriocsefosfatodihidrogenase, essencial na oxidação da glicose e, portanto, no metabolismo celular (funções respiratórias). A superioridade da eficiência de desinfecção do ácido hipocloroso em relação a outras formas de cloro é creditada não somente à sua forte capacidade de oxidação, mas também ao pequeno tamanho de sua molécula e sua neutralidade elétrica, que permite uma rápida penetração nas células, sendo eficaz contra *E. coli* e *S. aureus* (Meyer, 1994).

Porém, o cloro é ineficaz contra cistos dos protozoários *Cryptosporidium spp.* e cistos de *Giardialambliia*, além de não ter qualquer ação efetiva contra hormônios ou anabolizantes (Bisterso, 2013). Além disso, desde a década de 1970, diversos pesquisadores observaram que a matéria orgânica dissolvida na água pode reagir com o cloro, causando a formação de trialometanos, que são comprovadamente cancerígenos (Paschoalato, 2008). Os trialometanos encontrados em concentrações mais significativas na água potável são: triclorometano, bromodiclorometano, dibromoclorometano e tribromometano. Estudos apontam uma

associação positiva entre triclorometano na água tratada e o risco de morte por câncer de cólon e câncer de estômago (Meyer, 1994).

Algumas alternativas têm sido propostas para evitar a formação desses subprodutos, destacando-se o uso de oxidantes e desinfetantes alternativos, tais como ácido peracético, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio, dióxido de cloro, ozônio, monocloramina e radiação ultravioleta (Paschoalato, 2008).

3.3.2 Ozonização

No Brasil, o ozônio não tem sido muito utilizado no tratamento de efluentes, embora seja bastante empregado na Europa e nos Estados Unidos para desinfecção da água. O ozônio é uma forma alotrópica do oxigênio, muito volátil e pouco estável, e um dos oxidantes e desinfetantes mais efetivos, usado no tratamento de água e no tratamento terciário de efluentes em diversas áreas de aplicação (Lischewski, 2013). Age diretamente na parede celular dos micro-organismos, levando à neutralização da célula em poucos milésimos de segundo (Daniel, 2001).

O ozônio necessita de pouco tempo de contato. Sua ação desinfetante se dá por meio do residual de oxigênio molecular remanescente, o qual é instável e raramente encontrado na água depois de alguns minutos do ozônio ter sido aplicado. Decompõe-se espontaneamente na água por meio de mecanismos complexos que envolvem a geração de radicais livres hidroxilas (Paschoalato, 2008).

O ozônio é efetivo na inativação do *Cryptosporidium spp.*, *Giardialambliia* e *E. coli*, bem como na remoção de toxicidades e/ou mutagenicidades de pesticidas, solventes orgânicos, anabolizantes e hormônios (Bistero, 2013).

O fato de o ozônio se decompor em oxigênio ao destruir as células o torna eficaz apenas no momento em que é adicionado ao meio. Posteriormente, quando a água é levada por tubulações até reservatórios, e até mesmo pelo tempo em que permanece nos reservatórios, esta se torna vulnerável a novas contaminações uma vez que todo o ozônio adicionado já fora oxidado, perdendo sua ação bactericida (Araújo *et al.*, 2014).

As desvantagens de se aplicar este método estão no elevado custo de investimento para implantação, na complexidade de operação do sistema e no aumento da demanda química de oxigênio (DBO) solúvel no efluente, o que estimula o recrescimento dos micro-organismos (Monte, 2010).

Do ponto de vista de saúde pública, a toxicidade pelo uso do ozônio está mais diretamente relacionada à aspiração direta, extremamente perigosa, do que pela presença residual no efluente. Uma eventual toxicidade a organismos aquáticos pode ser associada aos subprodutos da desinfecção, como a formação de micronúcleos, que se caracteriza por processos mutagênicos, teratogênicos e carcinogênicos, ocasionados por agentes genotóxicos que danificam o DNA (Salles, 2008).

3.3.3 Radiação ultravioleta (UV)

A radiação UV está situada na faixa de 200 a 400 nm do espectro eletromagnético, e é utilizada desde a década de 1990 para a desinfecção em estações de tratamento de água e efluentes no mundo. A radiação, ao interagir com os ácidos nucleicos dos micro-organismos, promove uma série de reações fotoquímicas que acabam por gerar radicais hidroxila e hidrogênio, inabilitando seu código genético (Daniel, 2001; Morgado, 2012).

A principal vantagem da radiação UV é a eficiência na eliminação de micro-organismos patogênicos, como *E. coli* e *S. aureus*, e o baixo tempo de contato com o efluente. As desvantagens são o alto consumo de energia para manter o sistema funcionando, a necessidade de realização de um programa de manutenção preventiva, e a perda de eficiência devido a uma condição de elevada turbidez do efluente (Daniel, 2001; Monte, 2010; Bistero, 2013). Além disso, a radiação UV causa lesões nos olhos e câncer de pele, por isso qualquer irregularidade no equipamento pode causar graves danos aos operadores do sistema (Daniel, 2001).

Diversas outras técnicas estão sendo desenvolvidas e podem ser utilizadas na desinfecção de efluentes, tais como processos oxidativos avançados e fotocatalise heterogênea (Daniel, 2001).

3.3.4 Materiais híbridos

A utilização de materiais híbridos com propriedades bactericidas tem se mostrado eficiente e atrativa na remoção de micro-organismos de efluentes. Recentemente, híbridos à base de polímeros e AgNPs têm demonstrado bons resultados para esta aplicação (Gangadharan *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2012).

Tecnologias recentes requerem materiais com combinações de propriedades que não são normalmente encontradas em um único constituinte. Deste modo, surgiram os materiais

híbridos, que combinam a estabilidade térmica e química dos materiais inorgânicos, com a processabilidade e a flexibilidade dos compostos orgânicos (José, 2005). Estes híbridos constituem uma alternativa para a produção de novos materiais multifuncionais, com uma larga faixa de aplicação. Estudos têm utilizado materiais híbridos como agentes bactericidas em diversas aplicações, em alguns casos combinando argilas e nanopartículas metálicas, em outros polímeros e argilas (José, 2005; Valásková *et al.*, 2010). Alguns destes materiais serão utilizados neste estudo e estão definidos a seguir.

3.3.4.1 Alginato (ALG)

O alginato é um biopolímero proveniente do ácido algínico, extraído principalmente de algas marrons (**Figura 4(a)**) da classe *Phaeophyceae*. É formado por monômeros de ácido β -D-manurônico(M) e ácido α -L-glucurônico (G) (**Figura 4(b)**), ligados de forma linear por ligações glicosídicas α (1-4), contendo três tipos de estruturas de blocos: blocos de ácido β -D-manurônico (M), blocos de ácido α -L-glucurônico (G), e uma mistura desses blocos (MG).

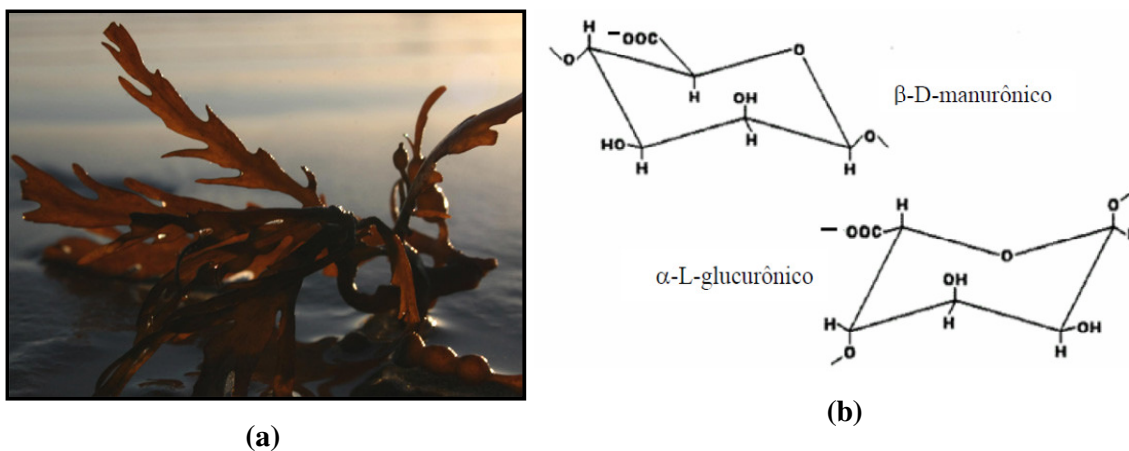


Figura 4.(a) Alga marrom; (b) Conformação dos ácidos β -D-manurônico e α -L-glucurônico (Moura, 2005).

A composição específica do alginato depende da natureza das algas das quais o mesmo é extraído, e também das condições sazonais e de crescimento destas, podendo ocorrer variações nos percentuais de M e G, ou seja, diferentes algas produzem polímeros que diferem na composição e estrutura (Moura, 2005; Cortes, 2010). Algas marrons que crescem

em águas geladas, por exemplo, produzem geralmente ALG de massa molar mais elevada do que as que crescem em águas temperadas (Santos, 2011).

O alginato (**Figura 5**) pode ser produzido quando íons H^+ do ácido algínico são substituídos por cátions monovalentes (como Na^+ , K^+ , NH_4^+), resultando em polímeros solúveis em água, ou por íons polivalentes (como Ca^{2+} , Ba^{2+} , Al^{3+}), para produzir géis insolúveis. O mecanismo de formação do gel de alginato está associado às interações dos segmentos G com íons Na^+ (Moura, 2005; Cortes, 2010).

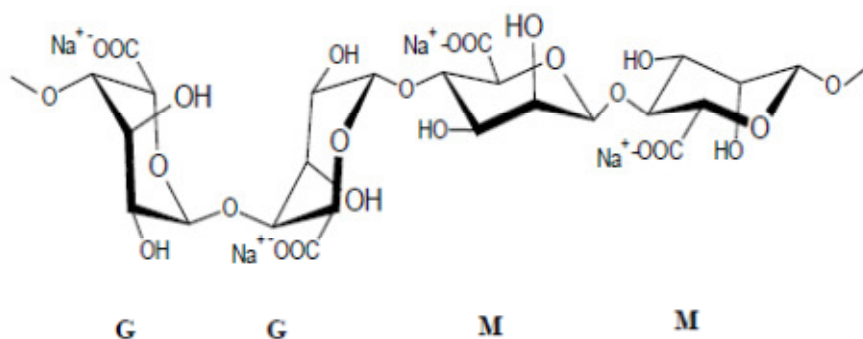


Figura 5. Fórmula estrutural do alginato de sódio, onde M e G são, respectivamente, o ácido β -D-manurônico e o ácido α -L-glucurônico (Cortes, 2010).

Este biopolímero é biodegradável, possui baixo custo, e não apresenta toxicidade, sendo muito utilizado na indústria alimentícia para a fabricação de queijos, sorvetes e gelatinas, e na indústria farmacêutica, em emulsões, loções e cremes (Cortes, 2010). Porém, este material possui baixa rigidez e baixa resistência mecânica, além de a densa camada de gel dificultar a troca de íons entre o material e o meio (Liu *et al.*, 2012).

Uma alternativa para melhorar estas características é a associação do ALG a materiais cerâmicos, como as argilas. Alguns estudos têm demonstrado que estes materiais híbridos possuem melhores propriedades mecânicas e químicas, além de melhor capacidade de adsorção, quando comparado ao ALG em gel (Liu *et al.*, 2012; Ely, 2009).

3.3.4.2 Montmorilonita (MMT)

As argilas são silicatos hidratados de alumínio/magnésio que possuem estrutura lamelar ou fibrosa (Mattos, 2012). A formação da estrutura lamelar das argilas acontece com a sobreposição das folhas tetraédricas de silício e das folhas octaédricas de alumínio

(Valásková *et al.*, 2010). Quando ocorre a sobreposição na razão de 1:1 (uma tetraédrica para uma octaédrica), os materiais são classificados como não expansíveis. Caso a sobreposição ocorra na razão de 2:1 (duas tetraédricas para uma octaédrica), os materiais são classificados como expansíveis (Valásková *et al.*, 2010; Mattos, 2012).

A MMT é uma argila do tipo esmectita 2:1 (**Figura 6**). Essa argila possui três estruturas (primária, secundária e terciária).

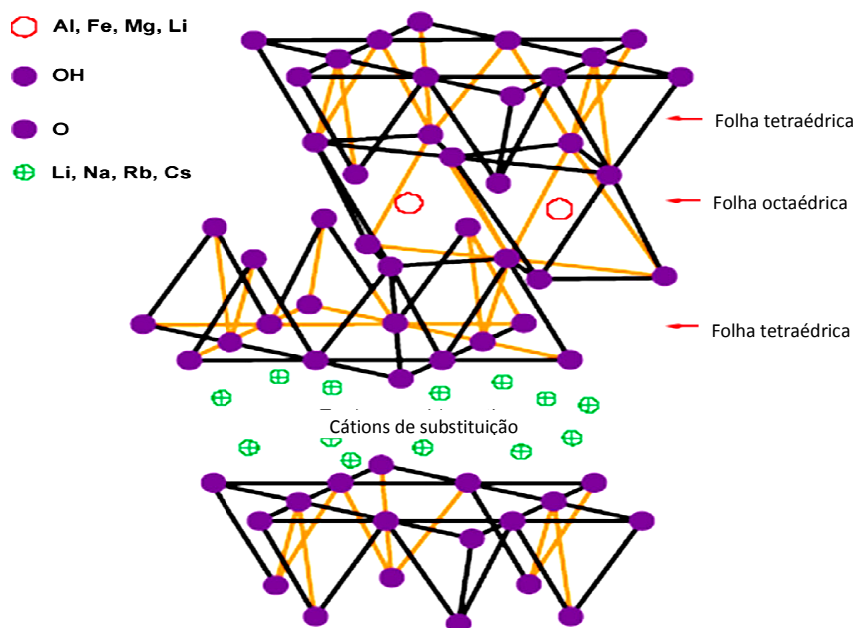


Figura 6. Estrutura lamelar de uma argila do tipo esmectita (2:1) (adaptado de Pavlidou e Papaspyrides, 2008).

A estrutura primária é do tipo lamelar, com duas folhas tetraédricas de sílica intercaladas por uma folha octaédrica de alumina (Reddy, 2005; Segad *et al.*, 2010). A estrutura secundária é a constituição da camada, ou seja, decorre das deficiências de valência. Os átomos de silício das folhas tetraédricas podem sofrer uma substituição isomórfica por átomos de alumínio, e as posições de alumínio das folhas octaédricas podem estar completamente preenchidas, sendo assim chamadas trioctaédricas, ou somente dois terços podem estar preenchidos, e neste caso são chamadas dioctaédricas. Se os dois fatos ocorrem juntos, provocam um excesso de cargas negativas que se encontra espalhado na superfície das folhas octaédricas e tetraédricas (Segad *et al.*, 2010; Reddy, 2005). A estrutura terciária ocorre por causa desse excesso de cargas negativas. Esse excesso é compensado por cátions (Na^+ ,

K^+ , Ca^{2+}), que se encontram entre as camadas, com livre movimento (Segad *et al.*, 2010). Aproximadamente 80% dos cátions trocáveis na MMT estão presentes nas lacunas entre as camadas e os outros 20% encontram-se nas superfícies laterais (Paiva, 2008).

Esses cátions podem ser substituídos por outros de caráter mais ácido ou mais complexos que possuem atividade catalítica. Dependendo do tamanho, esta substituição aumenta a distância interlamelar da argila, possibilitando que moléculas maiores possam difundir entre as lamelas (Reddy, 2005).

A estrutura desses minerais lhes confere acidez devido à interação das águas de hidratação presentes nas lamelas com os cátions de compensação presentes no espaçamento interlamelar. A redução de cátions metálicos quando em substituição aos cátions de compensação inicia o crescimento de nanopartículas na superfície da MMT, uma vez que o espaço interlamelar limita o crescimento de partículas. Este comportamento é observado, por exemplo, quando AgNPs são incorporadas à MMT (Valásková *et al.*, 2010; Mattos, 2012).

3.3.4.3 Nanopartículas de prata (AgNPs)

Desde a Grécia antiga, a prata vem sendo utilizada como agente bactericida em diversos meios. A prata age como catalisador na oxidação dos micro-organismos, provocando o rompimento da transferência de elétrons entre as células, inibindo a transferência de hidrogênio e impedindo a respiração (Rai, 2009; Valásková *et al.*, 2010). As AgNPs inibem bactérias tanto Gram-negativas (como a *E. coli*) como Gram-positivas (como o *S. aureus*), além de vírus e outros micro-organismos eucariontes (Rai, 2009; Gangadharan *et al.*, 2010; Chamakura *et al.*, 2011).

Recentemente, com o avanço da nanotecnologia, além da prata metálica e do íon Ag^+ , as AgNPs também têm demonstrado potencial aplicação como agentes bactericidas. Enquanto partículas micrométricas de prata causam a obstrução das membranas celulares promovendo a argiria (envenenamento por prata), as partículas de tamanho nanométrico (de 1 a 10 nm), por serem finamente dispersas e estarem em baixa concentração, podem circular pelas membranas celulares sem causar danos aos organismos superiores. A concentração para atuação contra micro-organismos é 0,1 $\mu\text{g/L}$. Para ser tóxica aos seres humanos, esta concentração deve ser igual ou superior a 10 mg/L (Oliveira, 2006). A **Figura 7** mostra AgNPs com diferentes tamanhos dispersas em uma matriz de ALG (Zhao *et al.*, 2014).

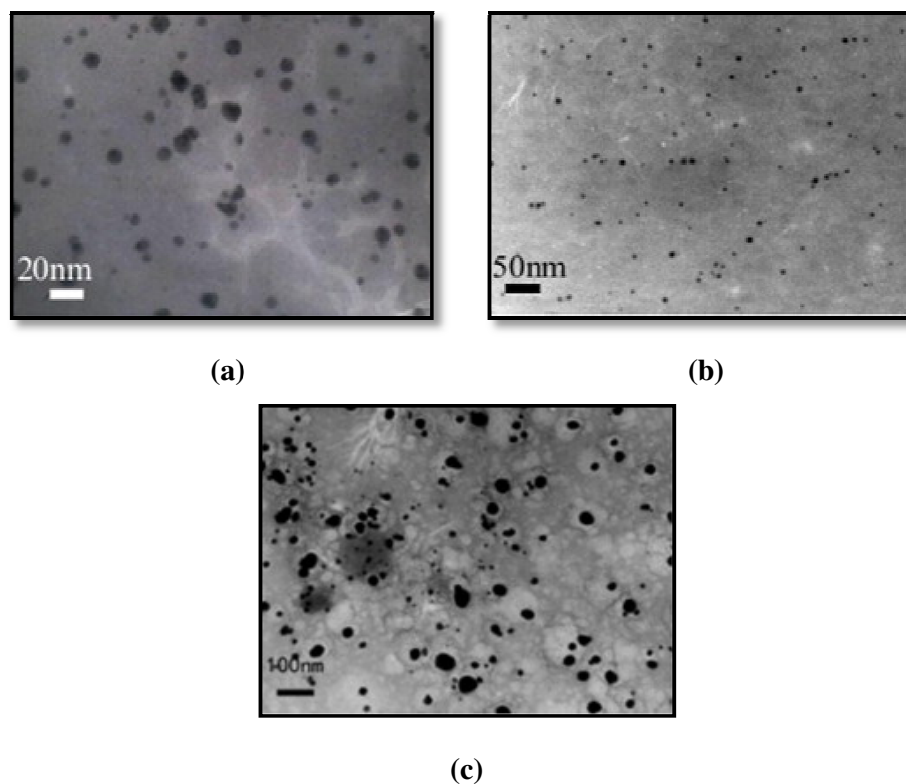


Figura 7. Imagens de AgNPs com diferentes tamanhos dispersas em uma matriz de ALG: (a) 20 nm, (b) 50 nm, (c) 100 nm (adaptado de Zhao *et al.*, 2014).

A síntese das AgNPs ocorre por meio da redução de sais de prata solúveis com agentes de redução, tais como citrato, glicose, etilenoglicol ou boroidreto de sódio. Esta redução pode ser realizada em meio aquoso, bem como em solventes orgânicos (Chernousova, 2013).

Alguns exemplos de aplicação das AgNPs são na biomedicina, em materiais dentários, no revestimento de aço inoxidável, em cremes protetores solares, no tratamento de água e em catálise. As AgNPs também vêm sendo amplamente utilizadas como agentes bactericidas na desinfecção da água e no tratamento microbiológico de efluentes (Xu *et al.*, 2011). Compósitos poliméricos contendo AgNPs, por sua vez, apresentam excelente atividade bactericida, baixa volatilidade e elevada estabilidade em comparação a outros agentes bactericidas convencionais, como hipoclorito, cloro, dióxido de cloro, bromo e iodo (Gangadharan *et al.*, 2010).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Todos os reagentes químicos utilizados neste trabalho possuem grau analítico: nitrato de prata (AgNO_3 , Merck), cloreto de cálcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck), boroidreto de sódio (NaBH_4 , Merck), alginato de sódio de média viscosidade (Vetec) e citrato de sódio tribásicodihidratado ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, Sigma-Aldrich). A MMT na forma sódica foi adquirida diretamente da Argel T. As soluções de AgNO_3 , $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, NaBH_4 e $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foram preparadas com água deionizada (resistividade de $18,2\text{M}\Omega/\text{cm}$), obtida a partir de um sistema Direct-Q 3 UV (Milli-Q Millipore).

4.2 Síntese das AgNPs

As AgNPs foram sintetizadas pela redução química de íons Ag^+ por NaBH_4 na presença de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (estabilizante). O método utilizado baseou-se no procedimento descrito por Jana et al.(2001) e foi realizado da seguinte maneira: 100 mL de uma solução contendo 50mL de AgNO_3 e 50mL de $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$, ambos na concentração de 0,25 mmol/L, foram misturados e mantidos sob agitação durante 30s. Em seguida, uma solução de NaBH_4 1,00 mmol/L (recém-preparada) foi adicionada à mistura. Finalmente, o sistema foi agitado por 60s e posteriormente armazenado em geladeira. A síntese foi realizada em ambiente climatizado ($23,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$) e ao abrigo da luz.

4.3 Caracterização das AgNPs

As AgNPs foram caracterizadas por meio das técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível (UV-Vis) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

A solução de AgNPs foi analisada em um espectrofotômetro Thermo Scientific Evolution 60, na faixa de comprimento de onda situada entre 200 e 800nm, utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

A análise de MET foi realizada no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, utilizando um microscópio Jeol JEM-1200 Ex II, operando em uma voltagem de 80 kV. As AgNPs foram previamente dispersas em água deionizada (1 gota

da solução coloidal de prata em 20 mL desse solvente), utilizando um ultrassom (Unique USC 1400) por 30 min. Em seguida, uma gota dessa nova solução foi depositada sobre um *grid* de cobre com filme de Formvar (300 mesh) e deixada secar por 48 h, sendo finalmente analisada no microscópio.

A distribuição de tamanho das partículas de AgNPs foi determinada com o auxílio do software *Image Tool for Windows*. Para a construção do histograma foram realizadas aproximadamente 200 contagens.

4.4 Preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs

O método utilizado na preparação dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs baseou-se no procedimento descrito por Liu *et al.* (2012). Inicialmente, a MMT (5,0 g) foi misturada a 100 mL de uma solução de AgNPs durante 12 h. Em seguida, adicionou-se à suspensão o ALG (1,0 g), sendo o sistema mantido sob agitação por mais 12 h. Ao término desse procedimento, a mistura foi lentamente gotejada com o auxílio de uma seringa em uma solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4,0% m/v). Os híbridos formados (**Figura 8**) permaneceram nessa solução por mais 48 h, em geladeira e ao abrigo da luz, sendo finalmente lavados diversas vezes com água deionizada para remover o excesso da solução de cloreto de cálcio, sendo novamente armazenados em água deionizada e a 10 °C até o momento dos ensaios microbiológicos.

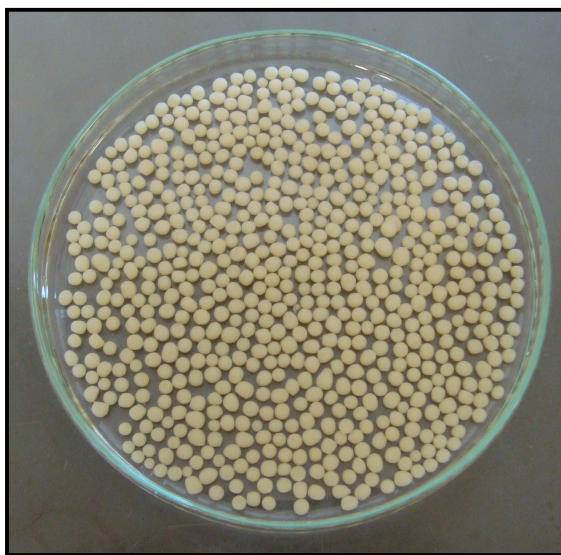


Figura 8. Aspecto morfológico dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs.

4.4.1 Caracterização dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs

Os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram caracterizados por meio das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios X (DRX) e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR).

A análise da morfologia dos híbridos foi realizada através de MET, seguindo o mesmo procedimento descrito no item 4.3. A superfície dos materiais foi analisada através de MEV em um microscópio Shimadzu SSX-550, operando a uma voltagem de 15 kV. Previamente à análise, as amostras foram secas em uma estufa a 50°C e recobertas com uma fina camada de ouro durante 2 min.

A análise de DRX foi realizada em um difratômetro Shimadzu XRD 6000. As amostras foram analisadas à temperatura ambiente, no modo de reflexão ($\text{Cu}_{K\alpha}$, 1,5405 Å), na faixa de 1 a 45°, com passo de 0,05°. A equação de Bragg (3) foi utilizada para calcular o espaçamento basal da argila:

$$n\lambda = 2d\sin\theta \quad (3)$$

onde:

n é a ordem de difração;

λ é o comprimento de onda da radiação incidente (nm);

d é a distância entre planos atômicos (nm);

θ é o ângulo de incidência em relação ao plano considerado (graus).

A caracterização química dos materiais foi realizada através da técnica de FT-IR, no modo transmissão (2 mg do material/100 mg de KBr), em um equipamento Nicolet 1510, com 32 scans e resolução de 4 cm^{-1} na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} .

4.5 Ensaio microbiológicos

4.5.1 Avaliação da ação bactericida dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs

Para avaliar a eficiência bactericida dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram selecionados dois micro-organismos: *E.coli* (ATCC - 25922, Microbiologics) e *S. aureus* (ATCC - 25923, Senai).

As cepas de referência desses dois micro-organismos foram inicialmente resuspensas em uma solução salina peptonada 0,1% (m/v). Em seguida, adicionaram-se alçadas de cada micro-organismo em tubos separados, até se obter uma turvação equivalente a uma solução padrão 0,5 de McFarland (0,5 mL de BaCl₂ 0,048 mol/L + 99,5 mL de H₂SO₄ 0,18 mol/L). As suspensões das duas bactérias foram então espalhadas de forma homogênea sobre o ágar nutriente contido em cada placa de Petri (uma para cada micro-organismo) com o auxílio de uma haste flexível de algodão, onde os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram depositados. Posteriormente, as duas placas de Petri foram incubadas em uma estufa bacteriológica a uma temperatura de 37 °C por 48 h. Ao término desse período, efetuou-se a medida das zonas de inibição (ZOI) com o auxílio de uma régua (Gangadharan *et al.*, 2010; Valásková *et al.*, 2010).

4.5.2 Desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs

Após a realização dos ensaios microbiológicos preliminares em ágar nutriente, os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram utilizados na desinfecção de águas de reuso proveniente da Empresa Tramontina Farroupilha S. A. Indústria Metalúrgica. A amostra do efluente foi coletada na saída da estação de tratamento de efluente, sendo mantida sob refrigeração até o momento da realização dos ensaios. Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da amostra utilizada nesta etapa do trabalho encontram-se na **Tabela 3**.

Tabela 3. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de reuso utilizada na realização do ensaio microbiológico.

Parâmetro	Valor	Unidade
Coliformes totais	1300	UFC/100 mL
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	13	mg DBO ₅ /L
Demanda química de oxigênio (DQO)	48	mg O ₂ /L
Fósforo total	0,08	mg P/L
Nitrogênio amoniacal	0,45	mg NH ₃ -N/L
Nitrogênio total Kjeldahl	1,24	mg N/L
pH	7,2	u.a.*
Sólidos sedimentáveis	< 0,10	mL/L
Sólidos suspensos totais	10,0	mg SST/L

*unidade adimensional

O ensaio consistiu em agitar (~ 150 rpm) cerca de 250 mL da amostra da água com 100 mg de híbrido (**Figura 9**) por períodos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 70, 80 e 90 min, de modo a analisar o percentual de remoção de coliformes totais em função do tempo de contato. Ao término de cada um destes tempos, realizou-se novamente a contagem de coliformes totais em todos os sistemas. A determinação da presença de coliformes seguiu a Instrução Normativa 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003).



Figura 9. Mesa orbital utilizada no ensaio com o efluente industrial.

4.5.3 Análise de prata total no híbrido de MMT-ALG-AgNPs e na água de reuso tratada

Amostras do híbrido, ainda em suspensão, foram coletadas para a determinação de prata total. Previamente à análise, a amostra foi digerida em sistema aberto, utilizando-se 0,5 g da amostra e uma mistura de 3,0 mL de HNO_3 e 9,0 mL de HCl , sob aquecimento (150°C) durante 30 min. Ao término desse procedimento, a amostra foi filtrada e lavada, sendo o volume final completado para 50 mL com água deionizada. Amostras da água de reuso tratada com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs foram igualmente coletadas e analisadas.

Para a quantificação da prata total presente nos híbridos e nas amostras de água tratada foi utilizado o método 3120B do Standard Methods (APHA, 2012). As análises foram realizadas em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-

OES) OPTIMA 2100 DV da Perkin Elmer. A vazão de introdução da amostra foi de 2 mL m^{-1} e o tempo de integração variou de 1 a 2 s. A potência aplicada foi de 1300 W.

4.5.4 Desinfecção da água de reuso com radiação ultravioleta

Para fins comparativos, foi realizado um teste com o efluente industrial utilizando radiação UV, que é uma técnica convencional de desinfecção bastante utilizada no tratamento de águas e efluentes. O ensaio consistiu em colocar amostras de 250 mL de água de reuso em uma cabine (**Figura 10**) sob a incidência de raios UV (254 nm) durante 5, 10, 15, 30, 45, 60, 70, 80 e 90 min. Ao final do procedimento foi realizada a contagem de coliformes totais presentes em todas as amostras tratadas.



Figura 10. Cabine de raios UV utilizada no ensaio com o efluente industrial.

Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de reuso testada encontram-se na **Tabela 4**.

Tabela 4. Parâmetros físico-químicos e microbiológicos da água de reuso utilizada na realização do teste com radiação ultravioleta.

Parâmetro	Valor	Unidade
Coliformes totais	730	UFC/100 mL
Demanda bioquímica de oxigênio (DBO)	16	mg DBO ₅ /L
Demanda química de oxigênio (DQO)	55,4	mg O ₂ /L
Fósforo total	0,09	mg P/L
Nitrogênio amoniacal	0,60	mg NH ₃ -N/L
Nitrogênio total Kjeldahl	1,09	mg N/L
pH	7,1	u.a.*
Sólidos sedimentáveis	< 0,10	mL/L
Sólidos suspensos totais	4,0	mg SST/L

*unidade adimensional

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das AgNPs

A **Figura 11** mostra o espectro de absorção da solução de AgNPs na região do UV-Vis. Como pode ser observado, o espectro apresenta um máximo em 393nm. De acordo com a literatura, esses espectros podem fornecer informações importantes sobre o tamanho e geometria das nanopartículas estudadas (Pal, 2007). Geralmente, uma banda plasmônica bem definida em torno de 400 nm indica a presença de AgNPs com formato esférico (Noguez, 2007; Teodoro *et al.*, 2011).

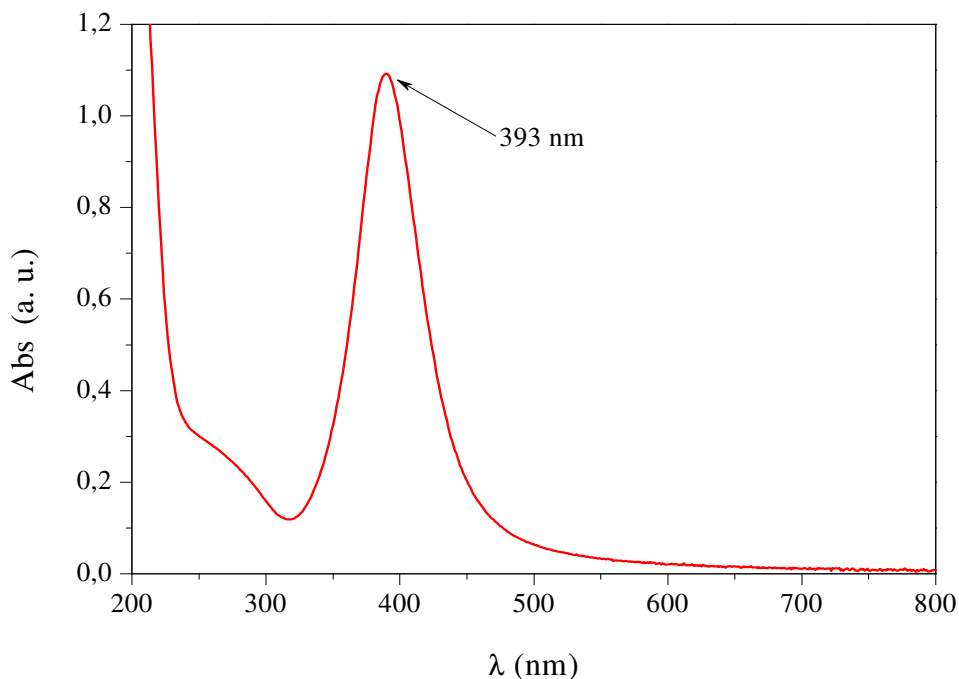


Figura 11. Espectro de absorção da solução de AgNPs na região do UV-Vis.

Esta constatação foi corroborada pela análise de MET (**Figura 11**), onde foi possível observar AgNPs com diâmetro médio de ~28 nm (histograma da **Figura 12**). Este valor é relativamente maior do que aquele relatado por Praus *et al.* (2010) que, utilizando MMT e AgNPs reduzidas com boroidreto de sódio, obtiveram nanopartículas com diâmetro médio de 13 nm. No entanto, a larga distribuição de tamanhos se assemelha às AgNPs sintetizadas pelo mesmo autor.

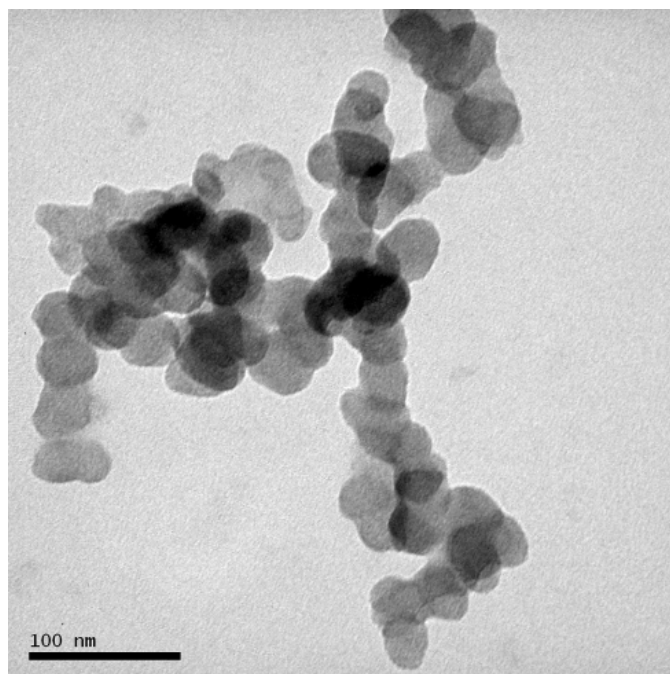


Figura 12. Imagem de MET das AgNPs.

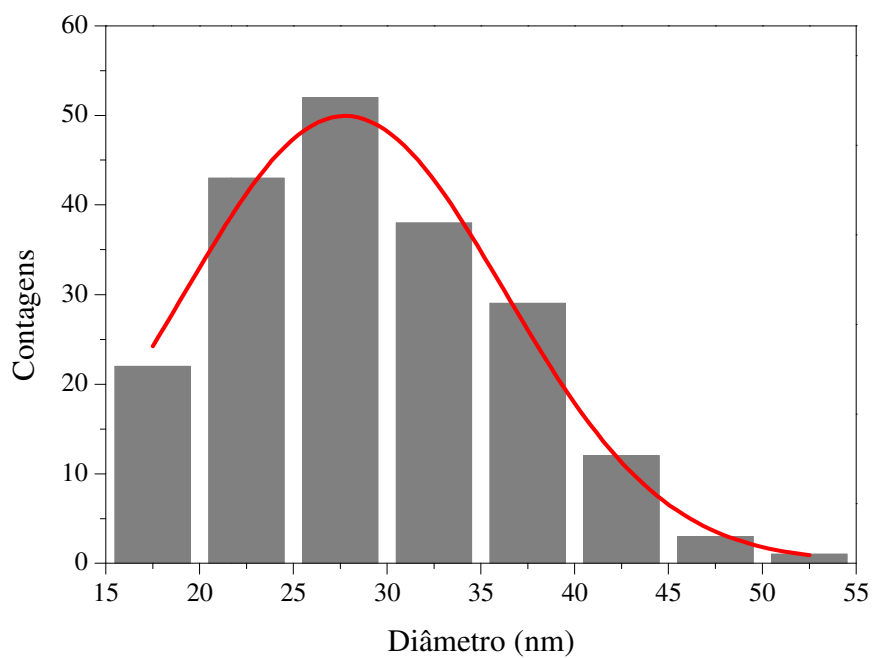


Figura 13. Histograma da distribuição de tamanhos das AgNPs.

5.2 Caracterização dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs

A **Figura 13** apresenta a imagem de MET do híbrido de MMT-ALG-AgNPs. Como pode ser constatado, as lamelas de MMT encontram-se predominantemente na forma de pequenos aglomerados. Além disso, é possível identificar algumas folhas dispersas de maneira individual. As partículas esféricas observadas na imagem correspondem às AgNPs incorporadas ao híbrido. Analisando-se o tamanho destas partículas e comparando-os com aqueles apresentados na **Figura 11**, verifica-se que estas encontram-se individualmente dispersas na matriz de MMT.

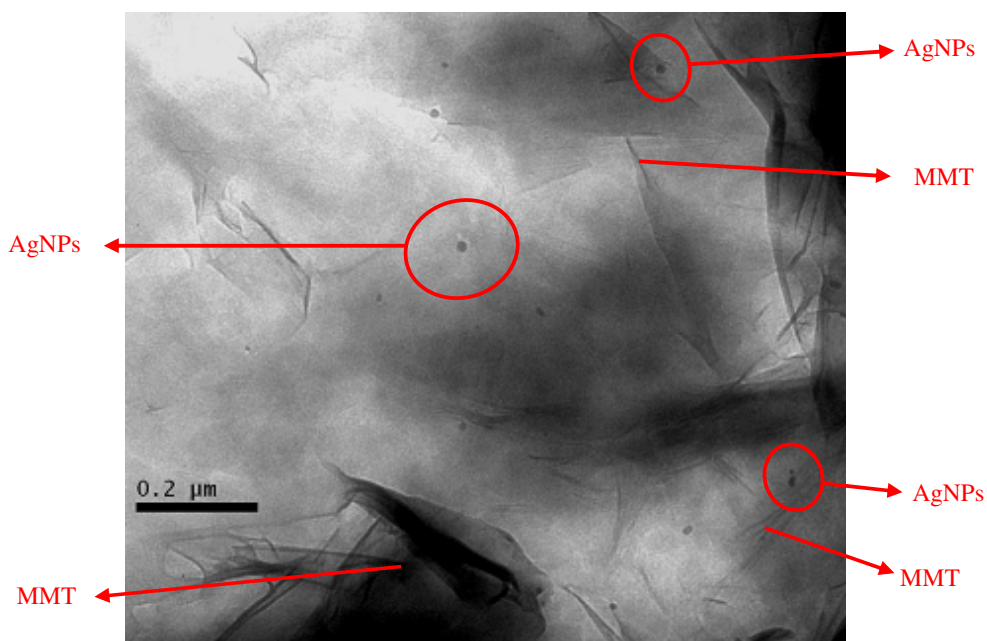


Figura 14. Imagem de MET do híbrido de MMT-ALG-AgNPs.

A **Figura 14** apresenta as imagens de MEV da MMT no estado natural e do híbrido de MMT-ALG-AgNPs. A MMT (**Figura 14a**) apresenta-se na forma de grãos com larga distribuição de tamanho, de ordem micrométrica, e formato irregular. Quando combinada com o ALG, sua aparência física muda consideravelmente (**Figura 14b**). Os aglomerados são rompidos, e os grãos são substituídos por flocos de diversos tamanhos e estes flocos encontram-se homoganeamente dispersos, de forma desordenada. Segundo Sarier *et al.* (2010), que modificou a MMT com sais de ácidos graxos, o desaparecimento dos contornos de grão existentes na argila natural sugere a intercalação da argila pelo polímero. Esse resultado foi corroborado por meio da análise de difração de raios X, que será discutida a seguir.

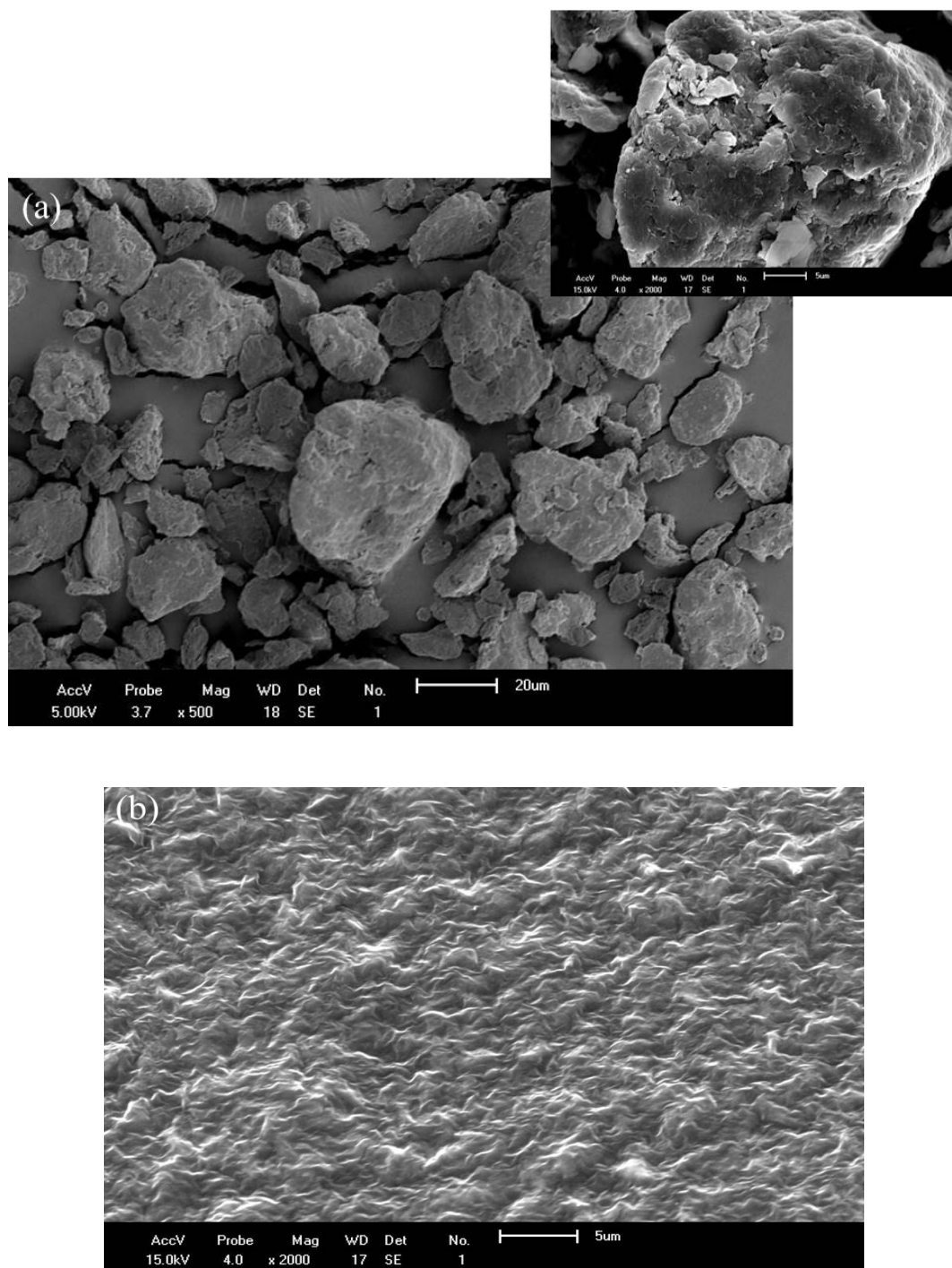


Figura 15. Imagem de MEV das superfícies da (a) MMT e do (b) híbrido de MMT-ALG-AgNPs.

A **Figura 16** mostra os difratogramas de raios X do híbrido de MMT-ALG-AgNPs e da MMT. A região de baixos ângulos ($1-10^\circ$) dá uma indicação do estado de dispersão do polímero na argila. A MMT é caracterizada por um pico de difração em $2\theta = 7,6^\circ$, que

corresponde à reflexão basal (001) e uma distância interlamelar de 1,16 nm. No híbrido, observam-se dois picos de difração nesta faixa, em $2\theta = 7,3^\circ$ e $4,2^\circ$. O surgimento de múltiplos picos indica a existência de populações com diferentes distâncias basais (Paiva, 2008). A posição destes picos em menores ângulos em comparação à MMT pura indica a intercalação de alginato nas lamelas da argila. Isto está relacionado ao aumento no espaçamento interlamelar para 1,20 nm e 2,10 nm, respectivamente.

Os demais picos de difração em valores de 2θ superiores a 10° são devido à estrutura da MMT, e sua posição não é influenciada pela expansão das galerias. No entanto, pode-se notar um alargamento desses picos em virtude da mistura com o polímero, evidenciando uma perda de ordenamento em algumas frações de argila. Resultados semelhantes foram encontrados por Sarier *et al.* (2010), que modificaram a MMT com sais de ácidos graxos, onde ficou evidente a intercalação da argila e a delaminação e perda de ordenamento de algumas frações. Os picos de difração característicos da prata em $2\theta = 38,1^\circ$ (1 1 1), $44,2^\circ$ (2 0 0), $64,3^\circ$ (2 2 0) e $77,4^\circ$ (3 1 1), por outro lado, não foram observados no difratograma de raios X do híbrido, devido provavelmente à baixa concentração de nanopartículas no material, como será discutido posteriormente (Zhao *et al.*, 2014).

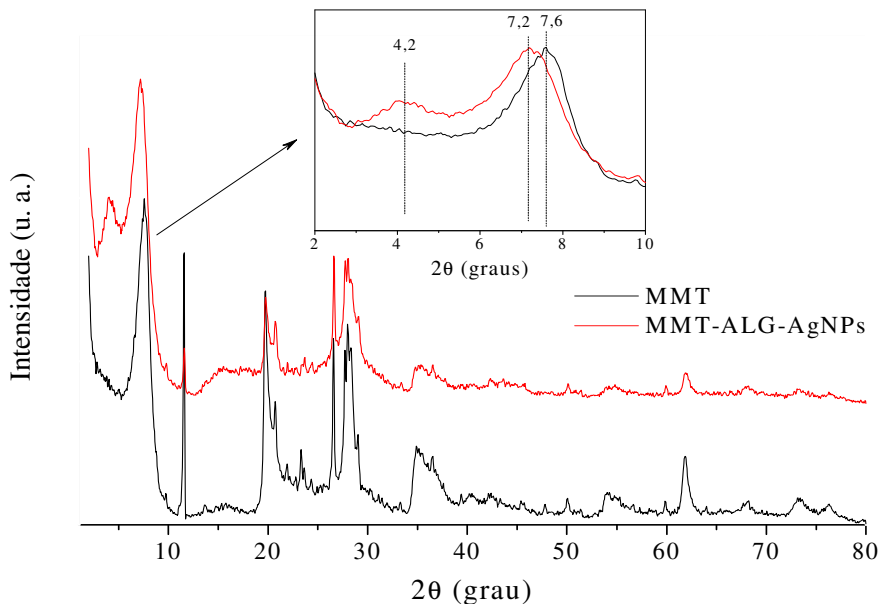


Figura 16. Difratograma de raios X da MMT e do híbrido de MMT-ALG-AgNPs.

A **Figura 17** apresenta os espectros de FT-IR da MMT, do ALG e do híbrido de MMT-ALG-AgNPs.

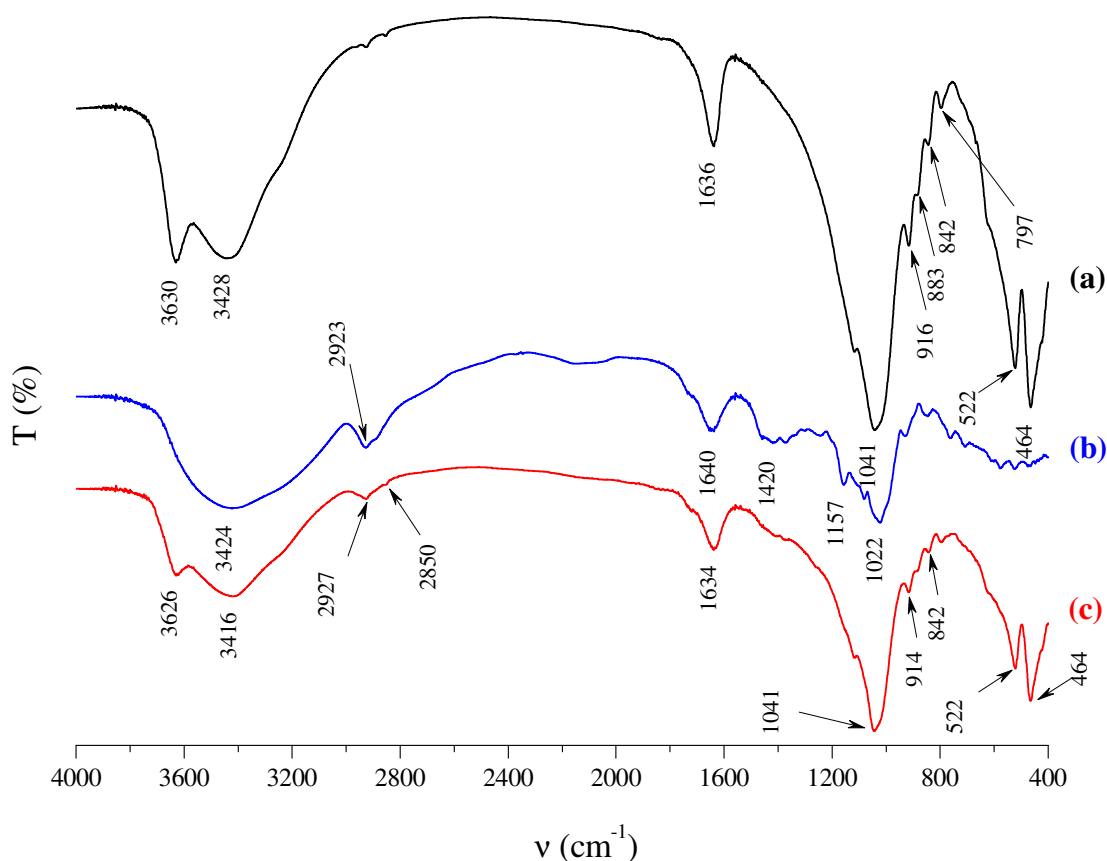


Figura 17. Espectros de FT-IR da (a) MMT, do (b) ALG e do (c) híbrido de MMT-ALG-AgNPs.

Como pode ser observado, o espectro de FT-IR da MMT (**Figura 17a**) apresenta uma banda centrada em 3630 cm^{-1} referente ao estiramento de grupos OH que estão localizados entre as camadas tetraédricas e octaédricas da argila (Valásková *et al.*, 2010) e duas bandas em 3428 cm^{-1} e 1636 cm^{-1} que correspondem, respectivamente, ao estiramento e à deformação da ligação O-H de água (Valásková *et al.*, 2010; Sarier *et al.*, 2010). Essas duas últimas bandas estão geralmente associadas à presença de água adsorvida na estrutura dessa argila, uma vez que a MMT apresenta um caráter hidrofílico bastante acentuado (Cosultchi *et al.*, 2005). É possível ainda observar a presença de uma banda intensa por volta de 1040 cm^{-1} atribuída ao estiramento da ligação Si-O no plano (Valásková *et al.*, 2010; Sarier *et al.*, 2010). Observam-se ainda bandas de menor intensidade em 916 cm^{-1} (deformação AlAlOH), 883 cm^{-1} (deformação AlFeOH) e em 842 cm^{-1} (deformação AgMgOH) (Ely *et al.*, 2009).

Finalmente, as bandas em 522 cm^{-1} e 464 cm^{-1} estão relacionadas às deformações Al-O-Si e Si-O-Si (Valásková *et al.*, 2010).

O espectro de FT-IR do alginato de sódio (ALG) (**Figura 17b**) apresenta igualmente uma banda alargada na região de 3420 cm^{-1} correspondente ao estiramento de grupos OH e uma banda em 2923 cm^{-1} referente ao estiramento assimétrico de grupos metilênicos (Ely *et al.*, 2009). As bandas observadas em 1640 cm^{-1} e 1420 cm^{-1} , por sua vez, estão relacionadas aos estiramentos simétrico e assimétrico de COO^- (ânion carboxilato) (Leal *et al.*, 2008), enquanto as bandas em 1157 cm^{-1} e 1022 cm^{-1} são atribuídas, respectivamente, aos estiramento de grupos C-O-C e C-O (Lawrie *et al.*, 2007).

A semelhança entre os espectros de FT-IR da MMT e do ALG com o do híbrido de MMT-ALG-AgNPs (**Figura 17c**) indica uma boa compatibilidade da argila na matriz de biopolímero durante o processo de preparação do mesmo. Esse resultado foi corroborado pelas análises de MET e MEV, bem como pelos resultados de DRX, que indicaram a intercalação de algumas cadeias de ALG no espaço interlamelar na MMT.

5.3 Ensaios microbiológicos e desinfecção do efluente industrial

5.3.1 Teste de difusão em ágar

As **Figuras 18a** e **18b** apresentam os resultados obtidos nos ensaios microbiológicos para os micro-organismos *E.coli* e *S. aureus*, respectivamente. Como pode ser constatado, os dois sistemas avaliados mostraram a presença de zonas de inibição (ZOI) bastante nítidas ao redor dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs, o que indica que os mesmos apresentam atividade bactericida em relação às duas bactérias testadas. Além disso, o tamanho dessas ZOI foi menor para o *S. aureus* (17-21 mm) do que para o *E. coli* (23-29 mm). A *E. coli*, por ser uma bactéria Gram-negativa, apresenta uma camada de peptidoglicanos (a nível de parede celular) menos espessa do que a *S. aureus* (que é Gram-positiva), o que acaba facilitando a entrada e, conseqüentemente, a difusão das AgNPs na primeira, aumentando a eficiência de inibição (Duran *et al.*, 2010).

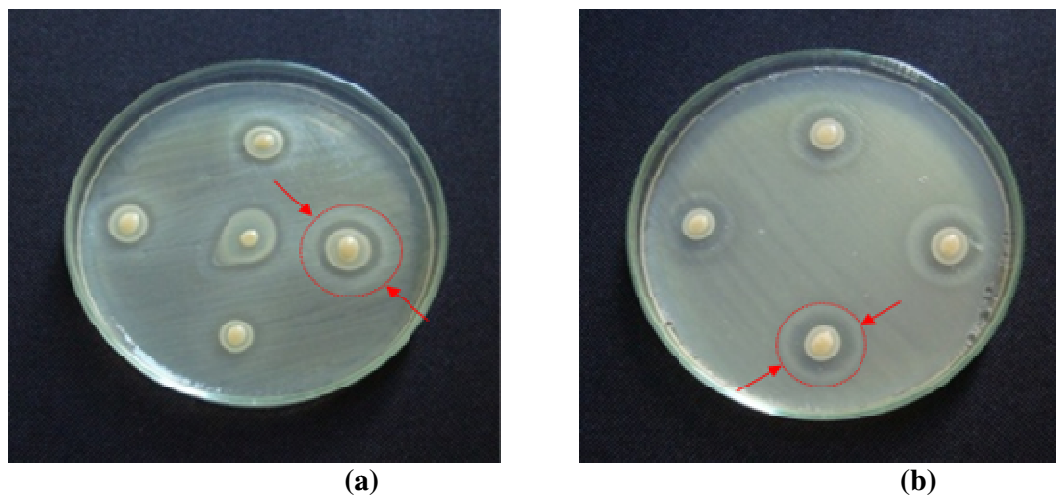


Figura 18. Testes de difusão em ágar nutriente: (a) *E.coli*; (b) *S. aureus*. Os círculos em vermelho correspondem às zonas de inibição (ZOI).

Após a realização dos testes microbiológicos preliminares, os híbridos MMT-ALG-AgNPs foram utilizados na desinfecção de águas de reuso industrial.

5.3.2 Desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs

A **Figura 19** mostra o efeito do tempo de contato dos híbridos de MMT-ALG-AgNPs com as amostras de água de reuso na contagem de coliformes totais. Como pode ser observado, a capacidade de remoção foi bastante efetiva nos primeiros 5 min, sendo o percentual de remoção de coliformes totais igual a 68,5%. Ao término do ensaio (90 min), a contagem de coliformes totais foi diminuída para 11,0 UFC/mL, o que corresponde a uma redução de 98,5% de coliformes totais em relação à contagem inicial (efluente industrial sem tratamento).

Inicialmente, a remoção de coliformes ocorre pelo contato da água de reuso com as AgNPs presentes no híbrido; posteriormente, pode-se considerar que a prata lixiviada para o meio contribui para a remoção dos micro-organismos. A análise quantitativa de prata na amostra de água tratada com o híbrido permitiu identificar a presença de prata na amostra após 70 min de contato do híbrido com a amostra de água de reuso.

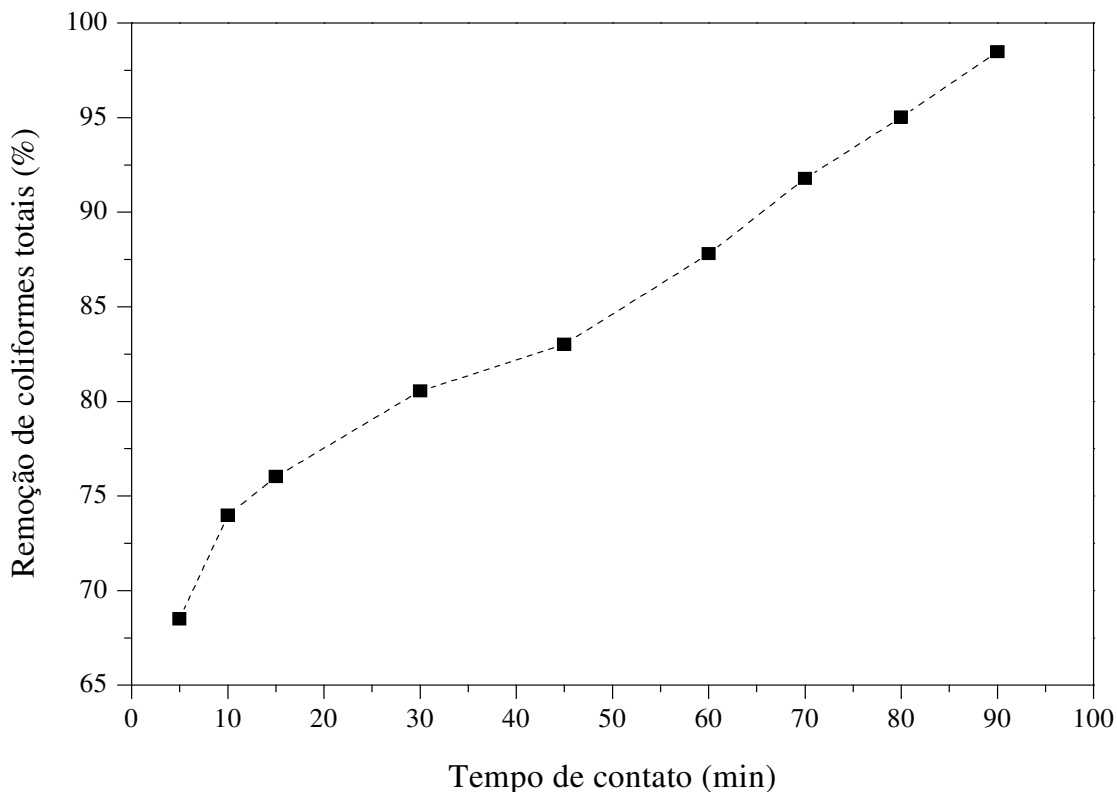


Figura 19. Percentual de remoção de coliformes totais em função do tempo de contato após a desinfecção da água de reuso com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.

5.3.3 Quantificação de prata total nos híbridos de MMT-ALG-AgNPs e na água de reuso industrial

Com o objetivo de quantificar a prata total presente nos híbridos de MMT-ALG-AgNPs e posteriormente comparar o valor encontrado com os teores de prata total lixiviada nos testes com a água de reuso, as amostras foram submetidas a uma análise por ICP-OES. Esses resultados encontram-se sumarizados na **Tabela 5**.

Como pode ser constatado, a água de reuso possui uma quantidade de prata inferior ao limite de detecção (LD) da técnica que é de 0,001 ppm. Além disso, a quantidade de prata lixiviada para a amostra foi muito baixa, sendo igual a 3,0 ppb ao término do ensaio, o que representa apenas 3% da quantidade máxima de prata permitida pela Resolução nº 430 do Conselho Nacional de Meio Ambiente, que dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes (Brasil, 2011). Os híbridos de MMT-ALG-AgNPs, por sua vez,

apresentam um teor de prata total da ordem de $9,76 \pm 0,021$ ppm (desvio-padrão da análise em triplicata).

Tabela 5. Concentração de prata total na água de reuso após a desinfecção com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs.

Tempo (min)	Concentração de prata no efluente (ppb)
0	< LD*
5	< LD
10	< LD
15	< LD
30	< LD
45	< LD
60	< LD
70	1,0
80	2,0
90	3,0

*LD = limite de detecção do método (1 µg/L)

5.3.4 Desinfecção da água de reuso industrial com radiação UV

A **Figura 20** mostra o efeito do tempo de exposição das amostras à radiação UV em relação à contagem de coliformes totais. O percentual de remoção de coliformes foi relativamente baixo nos primeiros minutos de exposição à radiação UV. Além disso, foi necessário um tempo superior a 60 min para que metade da quantidade de coliformes totais presentes na água de reuso testada fosse removida. Por fim, ao término do tempo estabelecido para o tratamento, obteve-se uma redução de 82,3% de coliformes totais em relação à contagem total inicial (água de reuso sem tratamento).

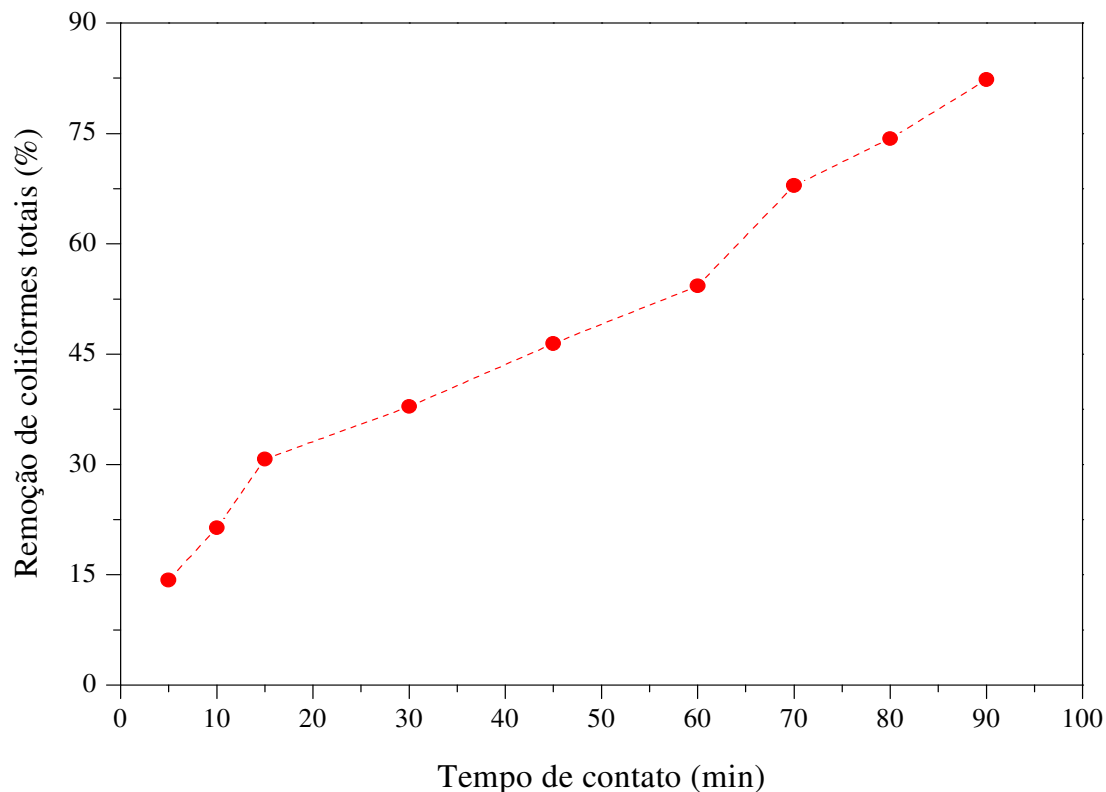


Figura 20. Percentual de remoção de coliformes totais em função do tempo de contato após a desinfecção da água de reuso com a radiação UV.

A comparação entre os resultados obtidos na desinfecção da água de reuso utilizando os híbridos de MMT-ALG-AgNPs e a radiação UV encontra-se na **Figura 21**.

Os resultados indicam que o percentual de remoção de coliformes totais em relação ao tempo de contato foi aproximadamente 16% superior no tratamento com os híbridos de MMT-ALG-AgNPs em comparação à desinfecção com a radiação UV. Isso demonstra que o material proposto neste estudo pode ser aplicado para o fim a que se propõe, tanto em termos de eficiência quanto em relação às questões ambientais, uma vez que não apresenta riscos na aplicação, não gera subprodutos e a quantidade de prata lixiviada para o meio é muito baixa.

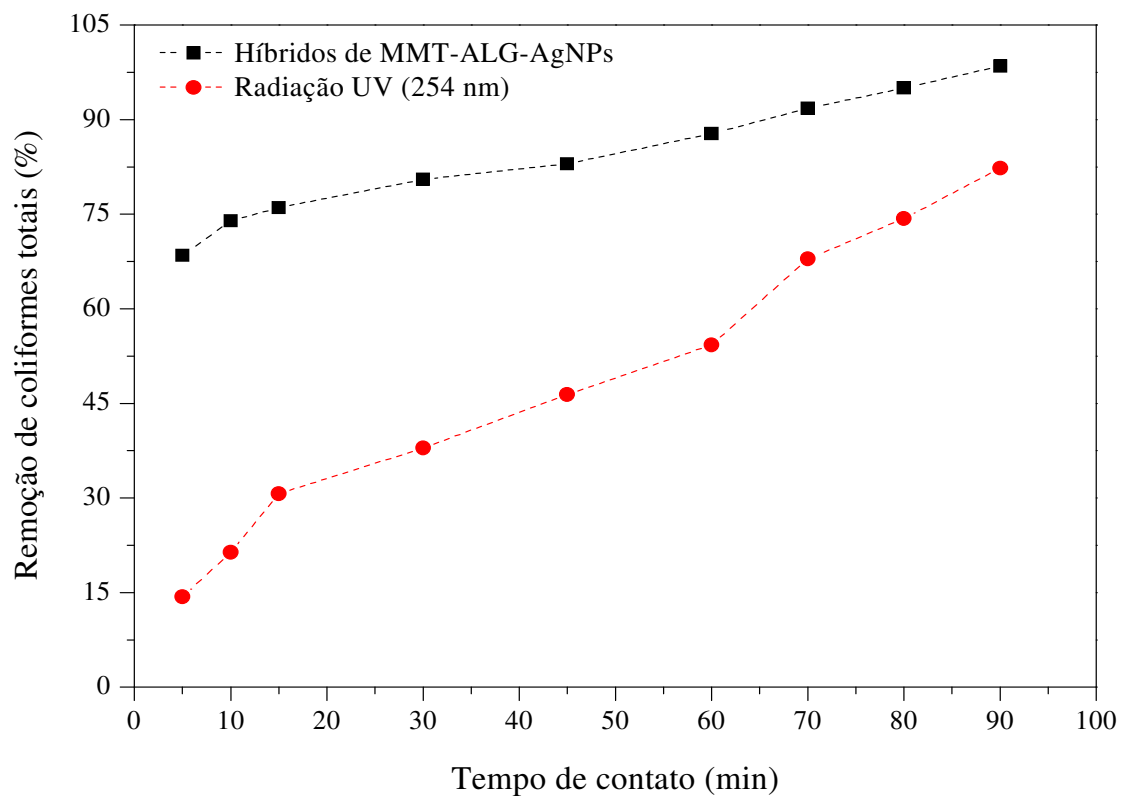


Figura 21. Comparação entre os métodos utilizados para a remoção de coliformes totais na água de reuso.

6 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foram preparados e caracterizados híbridos de MMT-ALG-AgNPs, com o objetivo de desenvolver um novo material bactericida para aplicação na desinfecção de águas de reuso.

As nanopartículas de prata sintetizadas apresentaram formato esférico e tamanho de ~ 28 nm, o que foi comprovado pelas análises de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível e de microscopia eletrônica de transmissão.

O alginato apresentou-se uniformemente disperso na matriz de montmorilonita, com certo grau de intercalação, promovendo assim a formação de um material estável para a aplicação proposta, sendo esses resultados corroborados pela análise de difração de raios X.

No que se refere aos testes preliminares de difusão em ágar nutritivo, os híbridos de MMT-ALG-AgNPs apresentaram atividade bactericida para os dois micro-organismos testados (*E. coli* e *S. aureus*). Os melhores resultados, entretanto, foram observados para a *E. coli* que, por ser uma bactéria Gram-negativa, apresenta uma camada de peptidoglicanos (a nível de parede celular) menos espessa do que a *S. aureus* (que é Gram-positiva), o que acaba facilitando a entrada e, conseqüentemente, a difusão das AgNPs para o interior das células desses micro-organismos.

Os resultados obtidos nos ensaios microbiológicos com a água de reuso testada, por sua vez, indicaram uma redução de até 98,5% de coliformes totais em relação à contagem inicial (água de reuso sem tratamento), apresentando maior eficiência quando comparado ao ensaio onde foi utilizada uma fonte de radiação UV.

Por fim, sob o ponto de vista de aplicabilidade, baixo impacto ambiental e efetiva ação inibitória, esse novo material é promissor como auxiliar na desinfecção de águas de reuso.

REFERÊNCIAS

Araujo A. P.; Hernandes R. C.; Pires P. A.; Miranda G. C. Tratamento de água com ozônio. *Ciência do Ambiente*. UNICAMP. Disponível em: http://www.ib.unicamp.br/dep_biologia_animal/BE310; Acesso em 27/04/2014.

APHA - American Public Health Association. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. Hardcover, 2012.

Beiler R. C. G.. Estudo da cinética de incorporação de zinco em bentonita: desenvolvimento de material antimicrobiano. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

Bisterso R. Desinfecção de efluentes e esgotos sanitários. *Hydro*, v. 85, p. 14-21, 2013.

Brasil. Congresso Nacional, Lei nº 9433, de 8 de janeiro de 1997. Institui a política nacional de recursos hídricos. Cria sistema nacional de gerenciamento de recursos hídricos, regulamenta o inciso XIX do art. 21 da Constituição Federal, e altera o art. 1º da Lei 8001, de 13/03/90, que modificou a Lei 7990 de 28/12/89. *Diário Oficial da União*, 09 jan. 1997.

Brasil. Conselho Nacional de Recursos Hídricos, Resolução CNRH nº54, de 28 de novembro de 2005. Estabelece modalidades, diretrizes e critérios gerais para a prática de reuso direto não potável de água, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, 09 mar. 2006.

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. *Diário Oficial da União*, 27 ago. 2003.

Brasil. 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.

Brasil. Conselho Nacional de Recursos Hídricos, Moção nº 61, de 10 de julho de 2012. Recomenda promoção de ações de ciência e tecnologia para melhoria de técnicas de monitoramento e de tratamento de água de abastecimento e de efluentes, visando a remoção de micropoluentes emergentes e eliminação de micro-organismos patogênicos emergentes. Diário Oficial da União, 14 ago. 2012.

Brooks G. F.; Carroll K. C.; Butel J. S.; Morse S. A.; Mietzner T. A. Microbiologia médica de Jawertz, Melnick e Adelberg. McGrawHill, 25 ed., 2010.

Chamakura K.;Prez-Ballesteros R.; Luo Z.; Bashir S.; Liu J. Comparison of bactericidal activities of silver nanoparticles with common chemical disinfectants. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 84, p. 88-96, 2011.

Chernousova S.; Epple M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticles, and metal. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 52, p. 1636-1653, 2013.

Cortes G. K. R. Síntese e caracterização de híbridos à base de alginato de sódio e escamas de peixe para uso na remoção de espécies poluentes. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Sergipe, São Cristovão, 2010.

Cosultchi A.; Cordova I.;Valenzuela M. A., Acosta D. R.; Bosch P.; Lara V. H. Adsorption of crude oil on Na⁺montmorillonite. *Energy Fuels*, v. 19, p. 1417-1424, 2005.

Curia A. C. Banhados construídos como sistema terciário para reuso da água industrial em uma empresa metal-mecânica. *Tese de Doutorado*. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

Dallas P.; Sharma V. K.; Zboril R. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Advances in Colloid and Interface Science*, v. 166, p. 119-135, 2011.

Daniel L. A. Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável. Rede Cooperativa de Pesquisas. 1ª ed., São Carlos, 2001.

Duràn N.; Marcato P. D.; Conti R. de; Alves O. L.; Costa F. T. M.; Brocchi M. Potential use of silver nanoparticles on pathogenic bacteria, their toxicity and possible mechanisms of action. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 21, p. 949-959, 2010.

Ely A.; Baudu M.; Basly J.P.; Kankou M. O. S. O. Copper and nitrophenol pollutants by Nanomontmorillonite/alginate microcapsules. *Journal of Hazardous Materials*, v. 171, p. 405-409, 2009.

Ferreira E. S.; Tavares J. L. S. Legislação ambiental de efluentes líquidos - uma análise comparativa das metodologias adotadas nos Estados Unidos, Brasil e França. *XXVII Congresso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental*, 2012.

Gangadharan D.; Harshvardan K.; Gnanasekar G.; Dixit D.; Popat K. M.; Anand P. S. Polymeric microspheres containing silver nanoparticles as a bactericidal agent for water disinfection. *Water Research*, v. 44, p. 5481-5487, 2010.

Giordano G. Tratamento e controle de efluentes industriais. Departamento de Engenharia Sanitária e do Meio Ambiente. *Apostila de Curso*, UERJ, Rio de Janeiro, 2004.

Gordon R. J.; Lowy F. D. Pathogenesis of methicillin-resistant *Staphylococcus Aureus* infection. *Clinical Infectious Diseases*, v. 46, p. S350-S359, 2008.

Jana N. R.; Gearheart L.; Murphy C. J. Wet chemical synthesis of silver nanorods and nanowires of controllable aspect ratio. *Chemical Communications*, v. 37, p. 617-618, 2001.

José N. M.; Prado L. A. S. A. Materiais híbridos orgânicos-inorgânicos: preparação e algumas aplicações. *Química Nova*, v. 28, p. 281-288, 2005.

Kuroda M.; Ohta T.; Uchiyama I.; Baba T.; Yuzawa H.; Kobayashi I.; Cui L.; Oguchi A.; Aoki K.-I.; Nagai Y.; Lian J.; Ito T.; Kanamori M.; Matsumaru H.; Maruyama A.; Murakami H.; Hosoyama A.; Mizutani-Ui Y.; Takahashi N. K.; Sawano T.; Inoue R.-I.; Kaito C.; Sekimizu K.; Hirakawa H.; Kuhara S.; Goto S.; Yabuzaki J.; Kanehisa M.; Yamashita A.; Oshima K.; Furuya K.; Yoshino C.; Shiba T.; Hattori M.; Ogasawara N.; Hayashi H.;

Hiramatsu K. Whole genome sequencing of meticillin-resistant *Staphylococcus Aureus*. *The Lancet*, v. 357, p. 1225-1240, 2001.

Lawrie, G.; Keen, I.; Drew, B.; Temple, A. C.; Rintoul, L.; Fredericks, P.; Grondahl, L. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*, v. 8, p. 2533-2541, 2007.

Leal, D.; Matsuhiro, B.; Rossi, M.; Caruso, F. FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. *Carbohydrate Research*, v. 343, p. 308-316, 2008.

Lischewski H. Tratamento de efluentes industriais com ozônio. *Hydro*, v. 86, p. 48-51, 2013.

Liu L.; Wan Y.; Xie Y.; Zhai R.; Zhang B.; Liu J. The removal of dye from aqueous solution using alginate-halloysite nanotube beads. *Chemical Engineering Journal*, v. 187, p. 210-216, 2012.

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

Mattos F. C. G. Desenvolvimento de argilas montmorilonitas modificadas para aplicação em catálise. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

Meyer S. T. O uso do cloro na desinfecção de águas, a formação de trihalometanos e os riscos potenciais à saúde pública. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 10, p. 99-110, 1994.

Monte H. M.; Albuquerque A. Reutilização de águas residuais. Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, 2010.

Morgado M.; Inacio G.; Marino L.. Radiação ultravioleta para desinfecção de água de reuso. *Hydro*, v. 64, p. 26-35, 2012.

Moura M. R. Caracterização de matriz polimérica de hidrogel termosensível sintetizada a partir de alginato- Ca^{2+} e poli(N-isopropilacrilamida), do tipo IPN e semi-IPN. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005.

Murray P. R.; Rosenthal K. S.; Pfaller M. A.. Microbiologia Médica. Elsevier, 5 ed., 2006.

Nataro, J. P.; Kaper, J. B. Diarrheogenic *Escherichia coli*, *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, p. 142-201, 1998.

Noguez C. Surface plasmons on metal nanoparticles: the influence of shape and physical environment. *The Journal of Physical Chemistry*, v. 11, p. 3806-3819, 2007.

Oliveira, E. M. N. Universidade Federal de Santa Catarina, Trabalho de conclusão de curso, 2006.

Paiva L. B.; Morales A. R.; Diaz F. R. V. Argilas organofílicas: características, metodologias de preparação, compostos de intercalação e técnicas de caracterização. *Cerâmica*, v. 54, p. 213-226, 2008.

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*. *American Society for microbiology: Applied and Environmental Microbiology*, v. 73, p. 1712-1720, 2007.

Paschoalato C. F. P. R.; Trimailovas M. R.; Bernardo L. Formação de subprodutos orgânicos halogenados nas operações de pré-oxidação com cloro, ozônio e peroxônio e pós-cloração em água contendo substância húmica. *Engenharia Sanitária Ambiental*, v. 13, p. 313-322, 2008.

Pavlidou S.; Papaspyrides C. D. A review on polymer-layered silicate nanocomposites. *Progress in Polymer Science*, v. 33, p. 1119-1198, 2008.

Praus P.; Turicová M.; Machovic V.; Studentová S.; Klementová M. Characterization of silver nanoparticles deposited on montmorillonite. *Applied Clay Science*, v. 49, p. 341-345, 2010.

Rai M.; Yadav A.; Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, v. 27, p. 76-83, 2009.

Ramalho R.S. Tratamiento de aguas residuales. Reverte, p. 705, 1991.

Ray B. Fundamental food microbiology. Boca Raton: CRC Press, p. 516, 1996.

Reddy C. R.; Nagendrappa G.; Prakash B. S. J. Surface acidity of Mn-montmorillonite clay catalysts by FTIR spectroscopy: correlation with esterification activity. *Catalysis Communications*, v. 8, p. 241-246, 2005.

Resende L. P. Reuso na indústria têxtil e lavanderias. *Hydro*, v. 66, p. 14-19, 2012.

Rio Grande do Sul. Conselho Estadual do Meio Ambiente, Resolução nº 128, de 24 de novembro de 2006. Dispõe sobre a fixação de padrões de emissão de efluentes líquidos para fontes de emissão que lançam seus efluentes em águas superficiais no estado do Rio Grande do Sul. *Diário Oficial do Rio Grande do Sul*, 7 dez. 2006.

Salles C. A. Desinfecção eletrolítica de efluente sanitário em fluxo contínuo. *Dissertação de Mestrado*. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.

Santos R. S. B. Estudo dos fatores que influenciam os atributos de esferas de alginato. *Dissertação de Mestrado*. Universidade de Aveiro, 2011.

Santos T. R. T.; Valverde K. C.; Nishi L.; Bergamasco R.; Vieira M. F. Estudo da formação de trihalometanos no processo de coagulação/floculação/adsorção em carvão ativado vegetal com o coagulante natural *Moringa oleífera* Lam para o tratamento de água de abastecimento. *Revista de Engenharia e Tecnologia*, v. 5, p. 64-72, 2013.

Sarier N.; Onder E.; Ersoy S. The modification of Na-montmorillonite by salts of fatty acids: an easy intercalation process. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 371, p. 40-49, 2010.

Segad M.; Jönsson B; Akesson T.; Cabane B. Ca/Na montmorillonite: structure, forces and swelling properties. *Langmuir*, v. 26, p. 5782, 2010.

Silva M. P.; Cavalli D. R.; Oliveira T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e petrifilm ec na detecção de

coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v. 26, p. 352-359, 2006.

Teodoro J. S.; Simões A. M.; Duarte F. V.; Rolo A. P.; Murdoch R. C.; Hussain S. M.; Palmeira C. M. Assessment of the toxicity of silver nanoparticles *in vitro*: amitocondrial perspective. *Toxicology in Vitro*, v. 25, p. 664-670, 2011.

Tokarský J.; Capková P.; Klemm V.; Rafaja D.; Kukutschová J. Adhesion of silver nanoparticles on the montmorillonite surface. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, v. 71, p. 634-637, 2010.

Tortora G. J.; Funke B. R.; Case C. L. *Microbiologia*. Artmed, 10 ed., 2012.

Valásková M.; Hundáková M.; Kutláková K. M.; Seidlerová J.; Capcová P.; Pazdziora E.; Matejová K.; Hermánek M.; Klemm V.; Rafaja D. Preparation and characterization of antibacterial silver/vermiculites and silver/montmorillonites. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, v. 74, p. 6287-6300, 2010.

Von Sperling, M. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental, UFMG, vol. 1, 1995.

Xu G.; Qiao X.; Qiu X.; Chen J. Preparation and characterization of nano-silver loaded montmorillonite with strong antibacterial activity and slow release property. *Journal of Materials Science & Technology*, v. 27, p. 685-690, 2011.

Zhao X.; Xia Y.; Li Q.; Quan F.; Geng C.; Han Z. Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using sodium alginate and their antibacterial activity. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v. 444, p. 180-188, 2014.