

I-238 – DESENVOLVIMENTO DE FILTRO A BASE DE CELULOSE MICROCRISTALINA FUNCIONALIZADA COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA DESINFECÇÃO DA ÁGUA

Ana Cristina Exterkoetter⁽¹⁾

Engenheira Química pela Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE). Pós-Graduada em Engenharia de Segurança do Trabalho pela SOCIESC. Mestranda em Engenharia de Processos pela UNIVILLE.

Karyn Lanna Heinz⁽²⁾

Engenheira Química pela Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE).

Lana Taíse Peschel⁽³⁾

Graduada em Engenharia Química pela Universidade da Região de Joinville (UNIVILLE). Bolsista de Iniciação Científica.

Luciano André Deitos Koslowski⁽⁴⁾

Engenheiro Químico pela Universidade Regional de Blumenau- FURB, Mestre em Química pela Universidade Regional de Blumenau-FURB. Doutor em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Docente do Centro de Educação do Alto Vale do Itajaí-CEAVI, Universidade do Estado de Santa Catarina-UDESC.

André Lourenço Nogueira⁽⁵⁾

Engenheiro Químico pela Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. Doutorado em Engenharia Química pela Universidade Federal de Santa Catarina-UFSC. Pós-Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química-UFSC. Docente Pesquisador do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos da Universidade da Região de Joinville-Univille.

Endereço⁽¹⁾: Rua Francisco Gomes, 105 - Saguauçu- Joinville - SC - CEP: 89221-595 - Brasil - Tel: (47) 99915-1186 - e-mail: engenheira.ace@gmail.com

RESUMO

Vários métodos têm sido estudados como alternativas para desinfecção da água, dentre eles a utilização de metais como a prata, principalmente na sua forma nanoestruturada. A incorporação dessas nanopartículas em algum substrato é indispensável para que sua aplicação como meio filtrante para que a desinfecção da água seja eficiente. Este trabalho teve como objetivo sintetizar nanopartículas de prata usando o AES (aminoetilaminopropiltrimetoxisilano) como estabilizante e agente de acoplamento para incorporar estas nanoestruturas em partículas de celulose microcristalina objetivando o uso destas como recheio de filtro visando a desinfecção da água. Entre as diferentes quantidades de AES avaliadas, a de 10,8 mmol.L⁻¹ foi a que resultou em maior concentração de nanopartículas de prata com menor dispersão de tamanhos, e melhor estabilidade coloidal ao longo do tempo. As imagens de microscopia eletrônica de transmissão (MET) revelaram que as nanopartículas sintetizadas com esta concentração de AES apresentaram geometria tendendo à esférica, e tamanho médio próximo a 5,0 nm. A funcionalização da celulose com as nanopartículas de prata foi comprovada por análises de microscopia eletrônica de varredura com efeito de campo (MEV-FEG), espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), e espectroscopia de massa com plasma induzido acoplado (ICP-MS). Ensaios de microbiológicos mostraram que o produto desenvolvido possui excelente atividade antibacteriana.

PALAVRAS-CHAVE: Desinfecção de água, Nanopartículas de Prata, Celulose Microcristalina.

INTRODUÇÃO

A preocupação com a qualidade da água potável vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, fator este vinculado ao aumento significativo da poluição mundial.

Estudos vêm sendo realizados para viabilizar a utilização de tecnologias alternativas no tratamento da água para consumo. Neste contexto, deve-se destacar o emprego de agentes oxidantes em diversos processos químicos, tais como: ozônio, cloroaminas, dióxido de cloro, iodo, bromo e peróxido de hidrogênio. A capacidade de desinfecção das cloroaminas, do dióxido de cloro e do peróxido de hidrogênio é relativamente baixa, sendo necessária a utilização de outro agente químico ou físico para uma boa desinfecção da água.

O ozônio, por sua vez, apresenta pouca estabilidade e não permanece na água tempo suficiente para produzir efeito contra contaminações residuais. Com relação aos processos que empregam agentes físicos, pode-se citar o uso de irradiação UV, lâmpadas germicidas, agentes antimicrobianos ligados a polímeros e a utilização de íons de prata (SOUZA, 2007; WU *et al.*, 2010; MTHOMBENI *et al.*, 2012; CABALA *et al.*, 2015).

A ação biocida das nanopartículas de prata, assim como, a de outros óxidos metálicos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, deve-se principalmente à sua alta reatividade (SOUZA, 2007). Estudos realizados por Melaiye *et al.* (2004) mostraram que o mecanismo de ação dos íons Ag^+ contra a bactéria Gram-negativa *E.coli* inibe a cadeia respiratória, interferindo diretamente na replicação do DNA da bactéria e inativando as proteínas celulares.

Para que as nanopartículas de prata possam ser utilizadas na desinfecção da água, é necessária sua incorporação em algum substrato. A celulose, em especial, é um composto natural, biodegradável, renovável, atóxico e ecologicamente correto, o que a torna atrativa para uso no desenvolvimento de recheios filtros com propriedades antibacterianas e apelo de sustentabilidade.

O presente trabalho apresenta uma proposta para o desenvolvimento de um recheio de filtro, funcionalizado com nanopartículas de prata para uso na desinfecção de água para o consumo. Para isso, nanopartículas de prata foram sintetizadas empregando um aminosilano (AES) como agente estabilizante e, desta forma, estas nanoestruturas foram quimicamente adsorvidas na superfície de micropartículas de celulose.

MATERIAIS E MÉTODOS

SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

As nanopartículas de prata foram preparadas utilizando-se nitrato de prata (AgNO_3 , Cennabras, pureza > 99 %) como sal precursor, aminoetil-aminopropil-trimetoxissilano (AES, Xiameter OFS-6020, Dow Corning, 70-90 % m) como agente estabilizante, e o borohidreto de sódio (NaBH_4 , Cinética, P.A.) como agente redutor dos íons metálicos (Ag^+). Na Figura 1 é apresentada a estrutura química da molécula de AES. Todos os reagentes foram utilizados conforme recebido, sem purificação prévia.

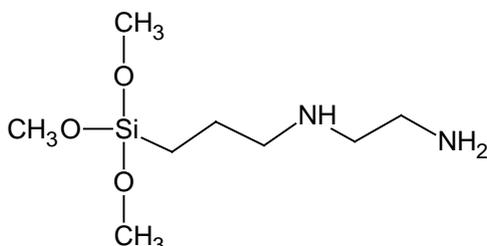


Figura 1 – Estrutura química do AES (3-(2-aminoetilaminopropil)timetoxissilano).

Inicialmente, o AgNO_3 (0,0157g) e o agente estabilizante (AES) foram adicionados em água deionizada (90 mL), e mantidos sob agitação durante 48 horas (600 rpm, 20 °C). Diferentes concentrações do AES (2,7; 5,4; 10,8 e 21,6 mmol.L^{-1}) foram utilizadas para avaliar a sua influência sobre a estabilidade coloidal e propriedades morfológicas das nanoestruturas. As sínteses foram conduzidas sob agitação constante (600 rpm) e temperatura de 20 °C em um reator de 100 mL de vidro boro-silicato, conectado a um banho termocriostático para controlar a temperatura do meio reacional.

A solução de NaBH_4 (10 mL com concentração de 0,46 mmol.L^{-1}), preparada no momento da síntese e mantida em banho de gelo, foi adicionada à solução de nitrato de prata e estabilizante (AES) a uma vazão de aproximadamente 1,0 mL.min^{-1} por meio de uma bureta graduada de vidro. Após o término da dosagem da solução do agente redutor, o sistema foi mantido sob agitação por mais 30 minutos para garantir o término da reação.

Ao término da síntese, cerca de 10 mL da dispersão coloidal produzida foi armazenada em frascos de cor âmbar para ser posteriormente caracterizada. O restante foi destinado à funcionalização da celulose microcristalina. Todas as reações foram feitas em triplicata a fim de comprovar sua reprodutibilidade.

CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA

As nanopartículas de prata foram caracterizadas por espectrofotometria de UV-Vis (Shimadzu UV – 1601PC) para avaliar as propriedades ópticas de absorvância da luz. Estas análises foram conduzidas ao longo do tempo para avaliação da estabilidade da dispersão coloidal ao longo do tempo. Para isso, as amostras foram diluídas em água deionizada na razão de 1:7 (v/v) e, em seguida, submetidas a leituras de absorção em uma cubeta de vidro com caminho óptico de 10 mm.

Com o propósito de avaliar a geometria e estimar o tamanho médio e a dispersão de tamanhos das nanopartículas, análises de microscopia eletrônica de transmissão (MET) foram conduzidas em um microscópio JEOL JEM-2100 operando com tensão de 200 kV. Para esta análise, 10 gotas da dispersão coloidal concentrada foram transferidas em *grids* de cobre de 300 *mesh* recobertos com filme de carbono.

FUNCIONALIZAÇÃO DA CELULOSE MICROCRISTALINA

Após a síntese, 1,0 g de partículas de celulose microcristalina foi adicionada em 10, 20 e 100 mL de dispersão coloidal sob agitação de 700 rpm por 1 hora e mantida em repouso até a decantação das partículas de celulose, tornando o sobrenadante transparente. A celulose funcionalizada foi seca em estufa (50 °C por 24 horas) e curada a 120°C.

CARACTERIZAÇÃO DA CELULOSE

A celulose microcristalina foi caracterizada por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) para visualização da dispersão das nanoestruturas de prata na superfície das micropartículas de celulose. Para estas análises, variou-se a razão entre o volume da dispersão de prata coloidal e a massa de celulose microcristalina (10, 20 e 100 mL.g⁻¹), mantendo fixa a concentração de AES utilizada na síntese (10,8 mmol.L⁻¹). Desta forma, foi possível obter partículas de celulose contendo três concentrações distintas de nanopartículas de prata.

Análises de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas para identificação dos grupos funcionais presentes na celulose funcionalizada que comprovassem a ocorrência das ligações químicas entre as nanopartículas de prata e o substrato celulósico. As análises de FTIR foram conduzidas antes e depois da cura para se avaliar a influência desta etapa na adsorção química das nanopartículas de prata na superfície das micropartículas de celulose. Estas análises foram realizadas em um equipamento da PerkinElmer, utilizando o método de Reflexão Total Atenuada (ATR), de 4000 a 600 cm⁻¹, com 32 varreduras.

Análises de espectrometria de massa com fonte de plasma induzido acoplado (ICP-MS) foram realizadas no equipamento Optima 8300 da marca PerkinElmer, para quantificação da prata incorporada na superfície da celulose microcristalina. Para avaliar a influência da quantidade de nanopartículas de prata na estabilidade térmica do recheio de filtro produzido Análises Termogravimétricas (TGA) da celulose funcionalizada foram conduzidas.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Os testes de avaliação da atividade antibacteriana das nanopartículas de prata foram realizados com base na norma ASTM E2149 – “Determinação da Atividade Antimicrobiana de Agentes Antimicrobianos sob Condições de Contatos Dinâmicos”. A bactéria Gram negativa *Escherichia coli* (CCT-8739) foi selecionada para os ensaios pelo fato desta bactéria estar diretamente relacionada aos problemas de saúde gerados pelo consumo de água contaminada.

O teste antibacteriano foi realizado por meio de diluição do inóculo a uma leitura de absorvância de $0,28 \pm 0,01$ em 475 nm. A amostra foi submetida a diluição seriada até se alcançar uma diluição de $1,5 - 3,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹.

Para se avaliar a eficiência antibacteriana das nanopartículas de prata produzidas, outras três amostras foram preparadas em Erlenmeyers diferentes, cada um contendo 50 mL do inóculo e celulose funcionalizada com nanopartículas de prata nas concentrações de 0,039 ; 0,024 e 0,0078 g. As amostras foram agitadas em *shaker* no tempo de 0 a 20 minutos de contato com temperatura controlada em 37 °C.

Após, as amostras foram submetidas a técnica de diluição seriada, para que se pudesse ter uma quantidade de colônias na placa de Petri factível de ser contada. Em tréplicas, alíquotas de 0,1 mL foram espalhadas sobre a superfície do ágar nas placas de Petri, com auxílio de uma alça triangular de vidro Drigalski, até a completa absorção

RESULTADOS E ANÁLISE DOS RESULTADOS

As imagens de MET foram processadas no software aberto *ImageJ* para eviabilizar a caracterização do tamanho (diâmetro médio e distribuição de tamanho das partículas – DTP) das nanopartículas de prata. As nanopartículas obtidas a partir das sínteses conduzidas com diferentes concentrações de AES apresentaram uma geometria tendendo à esférica, e tamanhos médios menores que 9 nm.

Na Tabela 1 são apresentados os diâmetros médios e seus respectivos desvios padrão das nanopartículas produzidas com distintas concentrações de AES. Estes resultados corroboram com aqueles reportados por Zhang *et al.* (2013) e Nogueira *et al.* (2014), nos quais os autores observaram que quanto maior a concentração do estabilizante empregado na síntese, menores tendem a ser os tamanhos das nanopartículas formadas.

Tabela 1 – Diâmetro médio e desvio padrão das nanopartículas de prata sintetizadas com diferentes concentrações de AES.

[AES] (mmol.L ⁻¹)	Diâmetro Médio (nm)	Desvio Padrão (nm)
2,7	8,1	± 5,3
5,4	5,8	± 2,6
10,8	5,4	± 2,5
21,6	5,3	± 1,9

Na Figura 1a são apresentados os espectros de absorbância obtidos logo após a realização das sínteses conduzidas com as quatro concentrações do estabilizante AES avaliadas (2,7, 5,4, 10,8 e 21,6 mmol.L⁻¹). Na Figura 1b são apresentados os resultados das absorbâncias máximas medidas ao longo do tempo, com seus respectivos desvios padrão obtidos a partir das triplicatas dos experimentos.

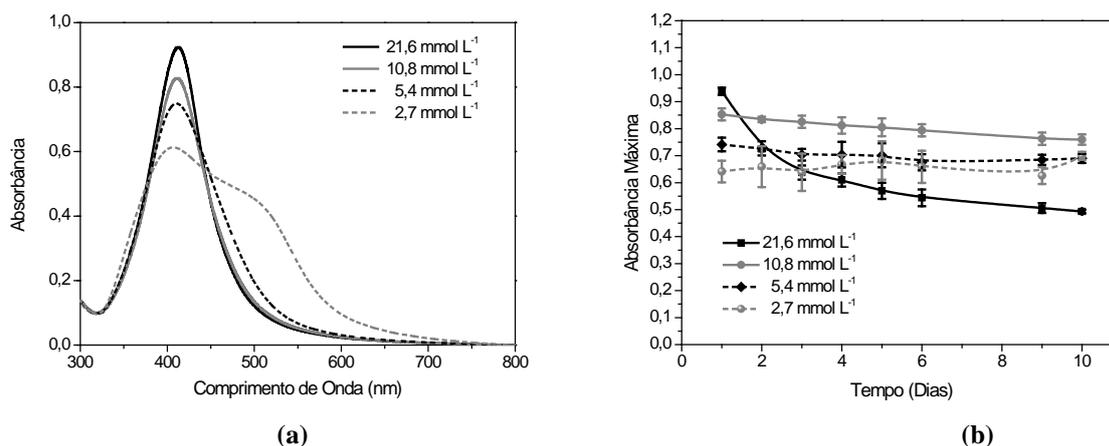


Figura 1 – Resultados de espectrofotometria de UV-Vis das nanopartículas de prata produzidas com diferentes concentrações de AES: a) espectros de absorbância obtidos logo após a realização das sínteses (primeiro dia); b) absorbância máxima ao longo de 10 dias.

Conforme os resultados apresentados na Figura 1a (primeiro dia, espectros medidos logo após as sínteses), percebe-se que o aumento da concentração de AES levou à obtenção de espectros com maiores picos de absorbância de luz. Os resultados mostrados na Figura 1b permitem avaliar, através da absorbância máxima, a estabilidade da dispersão de prata coloidal ao longo do tempo quando produzidas com as diferentes concentrações de AES. A amostra com concentração de 21,6 mmol.L⁻¹ apresentou baixa estabilidade.

Verificou-se que a concentração de AES de $10,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ foi a que resultou na melhor estabilidade coloidal ao longo do tempo e na maior concentração de nanopartículas ao longo de praticamente todo o período de acompanhamento da estabilidade dos colóides sintetizados. Por esta razão, as nanopartículas de prata sintetizadas com $10,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ de AES foram selecionadas para serem incorporadas nas micropartículas de celulose.

Análises de microscopia eletrônica de varredura com efeito de campo (MEV-FEG) foram realizadas para os produtos mostrados na Figura 2, visando identificar a presença e a dispersão das nanopartículas de prata na superfície da celulose. Na figura 2 é apresentada as imagens obtidas através das análises de MET em 2b, 2c e 2d, verifica-se a presença de pontos mais claros que sugerem a presença das nanopartículas de prata, uma vez que materiais metálicos tendem a apresentar fluorescência quando submetidos ao feixe de elétrons durante análise de MEV-FEG (DEDAVID, 2007).

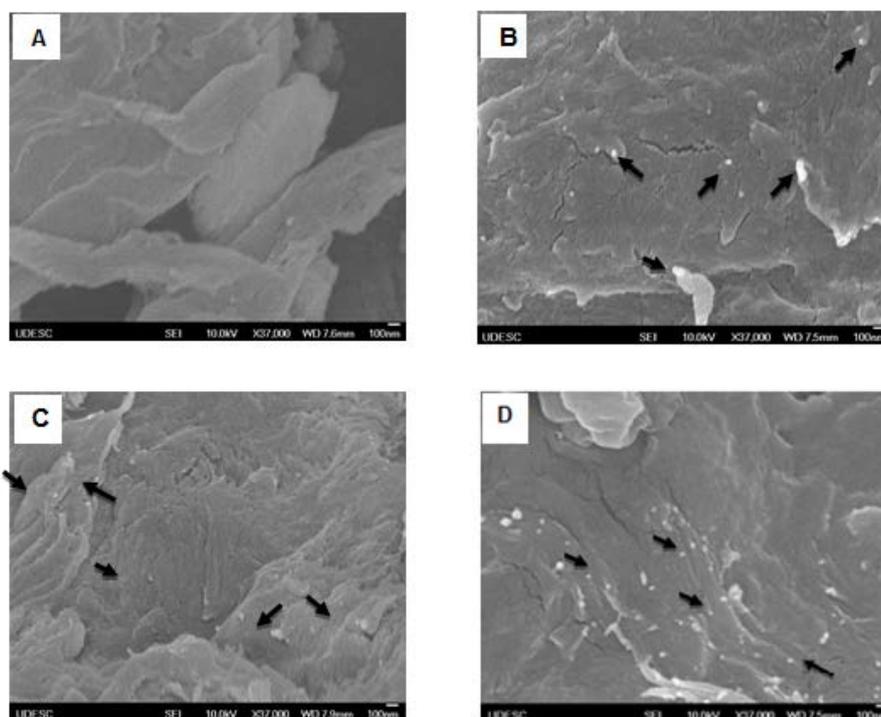


Figura 2 – Análises de microscopia eletrônica de varredura com efeito de campo (MEV-FEG) variando as proporções entre o volume da dispersão de prata coloidal e a massa de celulose microcristalina: a) celulose pura - P0:1 (0 mL.g^{-1}); b) P10:1 (10 mL.g^{-1}); c) P20:1 (20 mL.g^{-1}); d) P100:1 (100 mL.g^{-1}).

O processo de mistura dos reagentes por 48 horas antes da síntese (AgNO_3 , AES e água deionizada) é de extrema importância, pois o contato entre o aminosilano e a água, permite que ocorra a reação de hidrólise dos grupos metoxissilano (Si-O-CH_3) contidos no AES para formar os grupos reativos silanol (Si-OH) (Grasset *et al.*, 2003, Matinlinna *et al.*, 2006).

Na presença de superfícies ricas em hidroxilas (OH), como é o caso da celulose, os grupos silanol sofrem uma reação de condensação, o que resulta na ligação entre a molécula do aminosilano com a superfície da celulose (Si-O-C).

Como as nanopartículas de prata encontram-se ligadas aos átomos de nitrogênio dos grupos funcionais amina do AES por ligações de coordenação (Fantini *et al.*, 2005) as mesmas acabam sendo quimicamente incorporadas na superfície da celulose, o que faz com que o AES atue como um agente de acoplamento entre a nanopartícula e a celulose.

As análises de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram conduzidas com o propósito de identificar as ligações químicas entre o substrato (celulose) e as nanopartículas formadas, tendo o aminosilano AES como molécula ligante. É possível perceber bandas que representam picos

característicos da celulose e 3338 (O–H), 2892 (C–H), 1388 (CH₂) e 1030 (C–O–C) cm⁻¹. A existência de picos em aproximadamente 1246 e 1257 cm⁻¹ podem significar a ligação Si–O–C (Huang *et al.*, 2014).

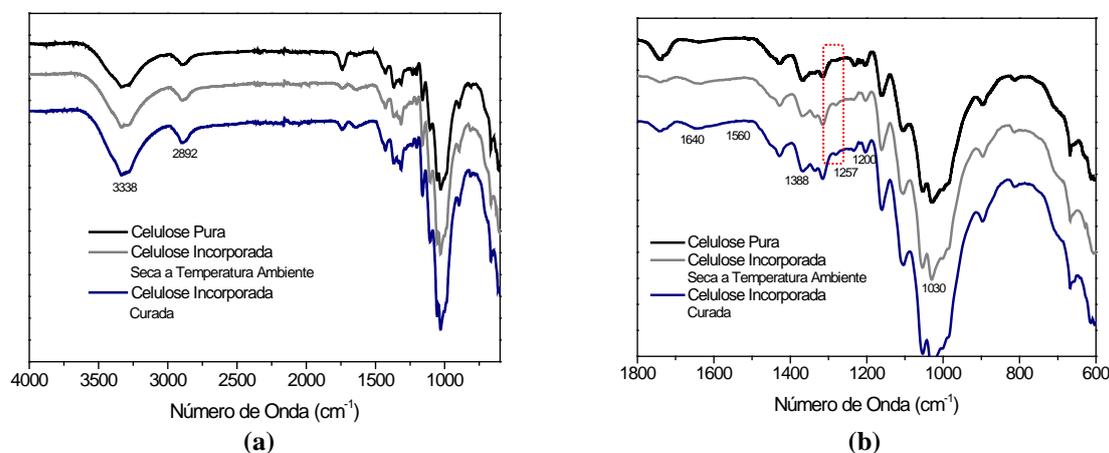


Figura 3 – Espectros de FTIR das amostras de celulose pura e funcionalizadas, secas a temperatura ambiente e curada em estufa: a) espectros completos, b) ampliação para visualização das bandas de ligação na região entre 600 e 1800 cm⁻¹.

Análises de ICP-MS foram conduzidas com o objetivo de identificar a quantidade de nanopartículas de prata presente em cada amostra. As amostras de celulose funcionalizada selecionadas para esta análise foram aquelas preparadas com distintas proporções entre o volume da dispersão de prata coloidal e a massa de celulose (10:1, 20:1 e 100:1 mL.g⁻¹), contendo nanopartículas de prata sintetizadas com diferentes concentrações do AES (5,4, 10,8 e 21,6 mmol.L⁻¹). Os resultados da quantidade de nanopartículas incorporadas nas amostras de celulose preparadas, medidas por ICP-MS, podem ser verificados na Tabela 2.

Tabela 2 – Quantidade de prata incorporada nas amostras de celulose funcionalizada.

Amostra	Quantidade de prata na celulose (mg.g ⁻¹)
P100:1 – 5,4	5,35 ± 0,6
P100:1 – 10,8	6,44 ± 0,8
P100:1 – 21,6	1,79 ± 0,4
P20:1 – 5,4	1,69 ± 0,5
P20:1 – 10,8	1,87 ± 0,1
P20:1 – 21,6	1,65 ± 0,1
P10:1 – 5,4	0,68 ± 0,2
P10:1 – 10,8	1,10 ± 0,2
P10:1 – 21,6	0,80 ± 0,0

Por outro lado, quando avaliado o efeito da concentração do agente estabilizante (AES) utilizado na síntese das nanopartículas de prata, percebe-se que a quantidade de nanopartículas incorporadas por massa de celulose não segue uma tendência conforme se aumenta a concentração de AES na síntese.

De acordo com os resultados, o uso da concentração de AES de $10,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ resultou nos maiores valores de nanop prata incorporada por massa de celulose. Já o uso da maior concentração de AES ($21,6 \text{ mmol.L}^{-1}$) foi o que resultou na menor quantidade de nanop prata incorporada por massa de celulose. Este resultado é mais evidente para as amostras de celulose funcionalizadas produzidas na proporção de 100:1 entre o volume de prata coloidal e a massa de celulose.

Observa-se que aumentando a proporção entre o volume da dispersão de prata coloidal e a massa de celulose pode-se identificar um aumento da quantidade de nanopartículas de prata incorporada por grama de substrato. Percebe-se ainda que este comportamento é independente da quantidade de AES utilizada na síntese das nanopartículas de prata.

As análises de atividade antibacteriana foram realizadas para a amostra com maior proporção entre o volume de dispersão de prata coloidal e a massa de celulose ($100:1 \text{ mL.g}^{-1}$), e a melhor concentração de AES constatada pelas análises mostradas nesse trabalho ($10,8 \text{ mmol.L}^{-1}$). As concentrações de prata selecionadas para se proceder com a avaliação de atividade antibacteriana foi de 5 ppm, 3 ppm e 1 ppm.

De acordo com os resultados obtidos, o uso de 0,039 g da celulose funcionalizada (equivalente a uma concentração de 5 ppm), foi a que apresentou uma redução da quantidade de bactérias variando entre 90 a 100 % no período entre 0 e 20 min. de contato. As análises antibacterianas foram conduzidas em triplicata.

CONCLUSÕES

Nanopartículas de prata foram sintetizadas com sucesso utilizando o aminoetil-aminopropil-trimetoxissilano (AES) como agente estabilizante. Entre as concentrações de AES testadas, a de $10,8 \text{ mmol.L}^{-1}$ foi a que apresentou maior concentração de nanopartículas de prata e maior estabilidade coloidal.

O uso do AES como agente estabilizante resultou na produção de nanopartículas de prata com forma geométrica tendendo à esférica, e tamanhos médios menores que 9 nm.

A funcionalização das partículas de celulose microcristalina com as nanopartículas de prata foi comprovada inicialmente por observação visual (aquisição de coloração amarronzada pelas partículas de celulose), e depois por análise de MEV-FEG, FTIR.

Os espectros de FTIR demonstram indícios da formação da ligação covalente Si-O-C, evidenciando a incorporação química das nanopartículas de prata por meio de moléculas doaminossilano aminoetil(aminopropil) trimetoxissilano (AES).

Os ensaios microbiológicos comprovaram a ação antibacteriana do recheio de filtro desenvolvido, porém mais estudos necessitam ser realizados para se determinar uma quantidade ótima de recheio em relação ao volume de água contaminada de forma a permitir que o tempo de residência seja adequado para a completa letalidade das bactérias presentes no meio.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. Microscopia Eletrônica de Varredura: Materiais poliméricos, metálicos e semicondutores. Edipucrs – Porto Alegre. p. 13, 2007.
2. FRATTINI A.; PELLEGRINI N.; NICASTRO D.; SANCTIS O. Effect of amine groups in the synthesis of Ag nanoparticles using aminosilanes. Mater. Chem. Phys. v. 94, p. 148, 2005.
3. GRASSET, F.; SAITO N.; LI, D.; PARK, D.; SAKAGUCHI, I.; OHASHI, N.; HANEDA, H.; ROISINEL, T.; MORNET, S.; DUGNET, E. J. Alloys Compd. p. 360, 2003.
4. HUANG, J.; LI, C.; GRAY, D. Functionalization of cellulose nanocrystal films via “thiol-ene” click reaction. Royal Soci. of Chem. v. 4, p. 65-69, 2014.
5. MELAIYE, A. et al. Formation of water-soluble pincer (I) – carbene complexes: A novel antimicrobial agent. J. Medicine Chem. v. 47(4), p. 973-977, 2004.
6. NOGUEIRA, A. L.; MACHADO, R. A. F.; SOUZA, A. Z.; MARINELLO, F.; FRANCO, C. V.; DUTRA, G. B. Synthesis and characterization of silver nanoparticles produced of a bifunctional stabilizing agente. Ind. & Eng. Chem. Res. v. 53, p. 3426-3434, 2014.

7. SOUZA, J. D. C. Materiais compósitos biocidas baseados em resinas reticuladas contendo nanopartículas de prata. Universidade Estadual do Rio de Janeiro - UERJ. p. 16-29, 2007.
8. WHO, WORLD HEALTH ORGANIZATION, Guidelines for Drinking-Water Quality. WHO Library Cataloguing in Publication Data, 2nd ed, Geneva, 1996.
9. ZHANG, H.; OYANEDEL-CRAVER, V. Comparison of the bacterial removal performance of silver nanoparticles and a polymer based quarternary amine functionalized silses quioxane coated point-of-use ceramic water filters. J. Hazard. Mat. v. 260, p. 272-277, 2013