



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS



UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *Pseudomonas aeruginosa* EM CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA**

Lorena Ferreira de Souza Oliveira\*

Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos

\*Bolsista CAPES

ANÁPOLIS-GO

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS



UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

Lorena Ferreira de Souza Oliveira\*

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *Pseudomonas aeruginosa* EM CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás como requisito para obtenção do título de Mestra em Ciências Moleculares.

Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos

Co-orientador: Prof. Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves

\*Bolsista CAPES

ANÁPOLIS-GO

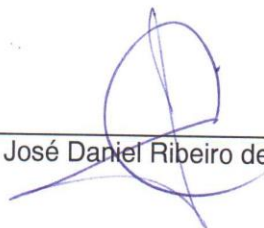
2014

ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *Pseudomonas aeruginosa* EM CARVÃO  
ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA

**LORENA FERREIRA DE SOUZA OLIVEIRA**

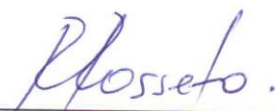
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares da Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, da Universidade Estadual de Goiás, apresentada como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestra em Ciências Moleculares.

Aprovada por:



---

Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos (UEG)



---

Prof. Dr. Renato Rosseto (UEG)



---

Profa. Dra. Lucimar Pinheiro Rosseto (UniEVANGÉLICA)

ANÁPOLIS – GO  
JUNHO 2014

Oliveira, Lorena Ferreira de Souza.

ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *Pseudomonas aeruginosa* EM CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA.  
– 2014.

66 folhas. il figuras.

Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, 2014.

1. Biofilmes. 2. Carvão ativado. 3. Prata. I. Título

# CURRICULUM VITAE

## FORMAÇÃO ACADÊMICA

- **2008-2011:** Bacharelado em Química Industrial – Universidade Estadual de Goiás (UNUCET - Unidade universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas).
- **2012-2014:** Mestrado em Ciências Moleculares – UEG – Universidade Estadual de Goiás (em andamento).

## ATUAÇÃO EM PESQUISA

- **2010-2011: Iniciação Científica-** Bolsista CNPq.  
Título: Adsorção de cobre em quitosana.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Signini.
- **2012-2014:** Mestrado em Ciências Moleculares – Bolsista CAPES.  
Título: Estudo da formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* em carvão ativado impregnado com prata.  
Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos.

## TRABALHOS CIENTÍFICOS

- **2011:** TCC – Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Estadual de Goiás (UNUCET - Unidade universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas).  
Título: Avaliação da adsorção de cobre em quitosana.  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roberta Signini.

## PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

- **2013:** VIII Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação.
- **2013:** XI Seminário de Iniciação Científica.
- **2012:** VII Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação.
- **2012:** X Seminário de Iniciação Científica.
- **2010:** Workshop de Tecnologia de Processos Químicos.
- **2010:** Workshop de Química Industrial Comemorativo aos 10 anos do curso.
- **2010:** XVI Semana da Química UFG e VI Semana da Química UEG.
- **2009:** V Semana da Química UEG: Energias Renováveis e Meio Ambiente.

## ATUAÇÃO PROFISSIONAL

- **2012-2014:** Instrutora de Educação Profissional – Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange, Anápolis – GO.

Aos meus pais Wagner Bueno de Souza e Maria Helena Ferreira de Souza e minha irmã Larissa Ferreira de Souza pelo apoio e força para a concretização desse curso; E especialmente ao meu marido Samuel Vítor dos Reis Oliveira.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que me abriu as portas para o mestrado, que me sustentou e por todas as pessoas que colocou ao meu redor.

Aos meus pais Wagner Bueno de Souza e Maria Helena Ferreira de Souza, minha irmã Larissa Ferreira de Souza e ao meu marido Samuel Vítor dos Reis Oliveira pelo apoio e amor concedidos.

Ao Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos pela orientação, dedicação, paciência e confiança depositada.

Ao Prof. Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves pela Co-orientação.

À CAPES pela bolsa concedida.

Ao LabMic/UFG pelas medidas de MEV/EDS.

Aos técnicos do laboratório de química e microbiologia da UEG pelo apoio com que me ajudaram especialmente ao técnico Osvaldo Gomes Pinto e a minha colega de pesquisa Letícia Klein Sebastiany.

A meus amigos e companheiros de mestrado Danilo Martins dos Santos e Andréa de Lacerda Bukzem.

Aos professores por aceitarem participar da banca examinadora.

Muito Obrigada!

*“Sabemos que todas as coisas cooperam para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito”. (Romanos 8.28).*



## RESUMO

Esse trabalho teve por objetivo desenvolver filtros com carvão ativado impregnado com prata e estudar a formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* nos mesmos, verificando a possível atividade bactericida da prata. A *Pseudomonas aeruginosa* é um micro-organismo presente em efluentes de origem hospitalar. É um patógeno nosocomial, causador de infecções de difícil tratamento, já que o mesmo é capaz de desenvolver resistência a muitos antibióticos. A prata foi escolhida por possuir propriedades antimicrobianas, sendo usada no tratamento de várias doenças infecciosas, e também vem sendo empregada na purificação do ar e água em filtros. Foram preparadas amostras de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com prata (0,0295%, 0,0660%, 0,0845%, 0,1907% e 0,2214% m/m) que juntamente com o carvão ativado sem o metal foram caracterizados quanto ao número de iodo e morfologia pelo método de microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplado ao espectrômetro de energia dispersiva (EDS). Filtros foram desenvolvidos com carvão sem prata e com prata nas concentrações preparadas onde foi filtrada solução contendo o micro-organismo de interesse na concentração de  $2,0 \times 10^8$  UFC/mL e após o período de incubação as colônias foram contadas e determinadas por UFC/mL. O carvão impregnado com a maior concentração de prata impregnada (0,2214% m/m) mostrou a melhor inibição no crescimento da bactéria apresentando contagem de  $1,9 \times 10^5$  UFC/mL, sendo verificado que a prata apresentou atividade bacteriostática e confirmando que a mesma tem papel fundamental em filtros domésticos.

**Palavras-chave:** Biofilmes, carvão ativado, prata.

## ABSTRACT

This work aimed to develop filters with activated carbon impregnated with silver and study the formation of biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* in them, checking the possible bactericidal activity of silver. *Pseudomonas aeruginosa* is a microorganism present in wastewater of hospital origin. It is a nosocomial pathogen, causing infections difficult to treat, since it is able to develop resistance to many antibiotics. Silver was chosen because it has antimicrobial properties and is used in the treatment of various infectious diseases and has also been used in purification of air and water filters. Samples of activated carbon from coconut shell oil palm (*Elaeis guineensis*) impregnated with silver (0.0295%, 0.0660%, 0.0845%, 0.1907% and 0.2214% w/w) were prepared which together with the activated carbon without the metal were analyzed for iodine number and morphology by the method of scanning electron microscopy (SEM) coupled with energy dispersive spectrometer (EDS). Filters were developed with coal without silver and silver concentrations prepared which was filtered solution containing the microorganism of interest at a concentration of  $2,0 \times 10^8$  CFU / mL and after incubation the colonies were counted and determined by CFU / ml. The impregnated with the highest concentration of impregnated silver (0.2214% w / w) coal has better inhibiting the growth of bacteria presenting  $1,9 \times 10^5$  count CFU / ml, and found that the silver had bacteriostatic activity and confirming that it plays a key role in household filters.

**Keywords:** *Biofilms, activated charcoal, silver.*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiv</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>xvi</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xvii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>18</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>20</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>3 REFERÊNCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>21</b>
3.1 ÁGUA.....	21
3.2 FILTROS DOMÉSTICOS DE CARVÃO ATIVADO.....	23
3.2.1 CARVÃO ATIVADO.....	24
3.3 BIOFILMES MICROBIANOS.....	26
3.3.1 MICRO-ORGANISMOS ENVOLVIDOS EM PROCESSOS DE ADESÃO.....	29
3.3.1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	29
3.4 PRATA.....	30
3.4.1 MECANISMO DE AÇÃO ENTRE ANTIMICROBIANA DA PRATA.....	32
3.4.2 CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA.....	33
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO.....</b>	<b>39</b>
4.1.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS.....	39
4.1.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORETO.....	39
4.1.3 DETERMINAÇÃO DE SOLÚVEIS.....	39
4.1.4 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE IODO.....	39
4.1.4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	40

<b>4.2 IMPREGNAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO COM PRATA.....</b>	<b>40</b>
4.2.1 <i>PREPARAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA (0,025%, 0,04%, 0,08%, 0,10%, 0,20% e 0,25 %)</i> .....	40
4.2.2 <i>QUANTIFICAÇÃO DE METAIS IMPREGNADOS DO CARVÃO ATIVADO</i> .....	40
4.2.3 <i>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)</i> .....	40
<b>4.3 ENSAIOS DE CRESCIMENTO DO BIOFILME.....</b>	<b>41</b>
4.3.1 <i>PREPARO DO INÓCULO DA CEPA DE Pseudomonas aeruginosa</i> .....	41
4.3.2 <i>PREPARO DA ÁGUA DE PROVA</i> .....	41
4.3.3 <i>DESENVOLVIMENTO DO FILTRO</i> .....	41
4.3.2.1 <i>EFEITO DE ANTIOXIDANTES SOBRE A ATIVIDADE INIBITÓRIA DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA</i> .....	42
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>43</b>
<b>5.1 CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO.....</b>	<b>43</b>
5.1.1 <i>DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS</i> .....	43
5.1.2 <i>DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORETO</i> .....	43
5.1.3 <i>DETERMINAÇÃO DE SOLÚVEIS</i> .....	44
5.1.4 <i>DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE IODO</i> .....	44
5.1.4.1 <i>ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS</i> .....	45
<b>5.2 CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA.....</b>	<b>46</b>
5.2.1 <i>QUANTIFICAÇÃO DE METAIS IMPREGNADOS DO CARVÃO ATIVADO</i> .....	46
5.2.2 <i>MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)</i> .....	48
5.2.2.1 <i>ANÁLISE DO CARVÃO SEM PRATA</i> .....	48
<b>5.3 ENSAIOS DE CRESCIMENTO DO BIOFILME.....</b>	<b>53</b>
5.3.1 <i>DESENVOLVIMENTO DO FILTRO</i> .....	53

5.3.1.1 <i>EFEITO DE ANTIOXIDANTES SOBRE A ATIVIDADE INIBITÓRIA DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA</i> .....	57
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>58</b>
<b>7 PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	<b>59</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>60</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ACF</b>	Fibras de carvão ativado
<b>ASTM</b>	<i>American Society for Testing and Materials</i>
<b>CA</b>	Carvão ativado
<b>CAG</b>	Carvão ativado granular
<b>E</b>	Número de iodo (mg. g <sup>-1</sup> )
<b>EDS</b>	Espectrômetro de Energia Dispersiva
<b>MEV</b>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<b>NAC</b>	<i>N</i> - acetilcisteína
<b>PCA</b>	<i>Plate Count Ágar</i>
<b>ROS</b>	Espécies reativas de oxigênio
<b>UFC</b>	Unidade Formadora de Colônia
<b>ATCC</b>	<i>American Type Culture Collection</i>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Processos envolvendo a formação de biofilmes bacterianos.....	28
<b>Figura 2:</b> Apresentação esquemática da escala piloto do filtro de carvão ativado granular (GAC). A água ozonizada do lago (Lago de Zurique-Suíça) foi usada como água afluyente. Amostras de água (WS 0 a WS 5) e amostras do GAC (GAC 1 a CAG 4) foram amostrados a partir de diferentes profundidades do filtro.....	37
<b>Figura 3:</b> Curva de Calibração da concentração de prata impregnada no carvão ativado.....	47
<b>Figura 4:</b> Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).....	48
<b>Figura 5:</b> Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ).....	49
<b>Figura 6:</b> Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,025% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).....	50
<b>Figura 7:</b> Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,025% de prata.....	50
<b>Figura 8:</b> Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,1% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).....	51
<b>Figura 9:</b> Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,1% de prata.....	51
<b>Figura 10:</b> Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,25% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).....	52

<b>Figura 11:</b> Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê ( <i>Elaeis guineensis</i> ) impregnado com 0,25% de prata.....	52
<b>Figura 12:</b> Sistema de filtração (a) e filtro após completa passagem da água de prova (b).....	53



## LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1:** Resultados da análise de número de iodo das amostras do carvão ativado sem e com prata impregnada.....46
- Gráfico 2:** Resultados da contagem das UFC/mL da água de prova e dos filtros com carvões ativados sem e com prata impregn.....54
- Gráfico 3:** Resultados da contagem das UFC/mL dos filtros com carvão ativado impregnado com prata nas diferentes concentrações.....55

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Porcentagem de prata impregnada teórica e experimental.....	47
<b>Tabela 2:</b> Resultados das UFC/mL dos filtros com carvões ativados impregnados com prata.....	54

# 1 INTRODUÇÃO

A água é o recurso natural mais importante para todas as formas de vida na Terra, devido a sua abrangência na utilização seja no consumo humano, na agricultura, indústria, agropecuária e outros. Porém, a água de fontes acessíveis, para consumo direto é limitada, pois a maior parte está na forma de geleiras, vapor atmosférico e no subterrâneo. Por isso tem sido tão importante a preservação dos recursos hídricos e também a realização de tratamentos adequados dos efluentes. Contudo, a água atua como um veículo de transmissão de diversas doenças, devido à presença de inúmeros contaminantes, como: vírus, bactérias, parasitas, toxinas, produtos químicos e metais tóxicos que provêm de lixos domésticos, hospitalares e industriais, devido também a um mau tratamento ou à falta dele (PEREIRA e FREIRE, 2005).

Para melhorar ainda mais a qualidade da água a ser consumida, faz-se o uso de filtros domésticos. No entanto, é comum a formação de colônias de micro-organismos, sua proliferação e a formação de biofilmes nesses filtros, o que na maioria das vezes, interfere no seu funcionamento e pode levar à diminuição da vida útil dos equipamentos. O crescimento de micro-organismos em alimentos, embalagens e outros produtos levam pesquisadores a estudar e desenvolver produtos inovadores com propriedades antimicrobianas, dentro dessa gama de produtos está envolvido o carvão ativado impregnado com prata (VELTEN et al, 2011; ISLAM et al, 2011).

A prata possui propriedades antimicrobianas, uma ação bactericida que atua fortemente na destruição de bactérias, fungos e vírus e por isso é empregada no tratamento de várias doenças infecciosas. Muitos filtros domésticos utilizam carvão ativado devido a sua função de adsorver a matéria orgânica, eliminar detergentes, toxinas e compostos organoclorados da água. Alguns filtros domésticos usam carvão ativado impregnado com prata, para que o metal presente no carvão iniba a proliferação de micro-organismos em sua superfície (JONES e HOEK, 2010).

Os objetivos deste trabalho foram impregnar e caracterizar amostras de carvão ativado impregnados com diferentes concentrações de prata, desenvolver meios filtrantes com os carvões impregnados com o metal e avaliar as propriedades antimicrobianas desse material através de ensaios para verificar a atividade inibitória

na formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa*, um patógeno oportunista que pode levar ao desenvolvimento de diversos quadros de infecções.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a eficácia do carvão ativado com prata na inibição da formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* em meio filtrante.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Caracterizar o carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) obtido industrialmente.
- Impregnar e caracterizar as amostras de carvão ativado impregnadas com diferentes concentrações de prata.
- Desenvolver um meio filtrante feito de carvão ativado impregnado com prata para avaliação da formação de biofilme de *P. aeruginosa* ATCC 9027.
- Desenvolver um ensaio para a avaliação da atividade inibitória da formação do biofilme de *P. aeruginosa* do carvão ativado impregnado com prata.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 ÁGUA**

A água é usada pelo ser humano para consumo doméstico, agrícola, industrial e recreativo. Infelizmente parte da água também serve como depósito de uma série de resíduos patogênicos e tóxicos derivados de lixos domésticos, hospitalares e industriais. A água funciona então muitas vezes como um veículo de agentes patogênico-parasitário e também infeccioso e por isso a maior parte das doenças que ocorrem nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos são devido à contaminação da água (GUERRA et al., 2006).

A ocorrência de duas epidemias de cólera em Londres, no período de 1849 a 1854 foram estudadas e analisadas quanto ao tempo e espaço, desde seu início até o desaparecimento da doença. O pesquisador Snow (1999) fez o estudo dos lugares onde ocorreram as mortes e levantou a hipótese de que uma bomba de água de abastecimento público em Broad Street era responsável pela contaminação. Foi confirmada a morte de pessoas que moravam perto da bomba e de outras que mesmo morando longe consumiram a mesma água. Confirmando que a água era um vetor, transmissor da doença (LEMOS e LIMA, 2002).

Na natureza pode-se encontrar diversos tipos de águas, como águas superficiais e subterrâneas que apresentam características diferentes quanto a sua turvação, pH, presença de partículas em suspensão, substâncias químicas e micro-organismos. Geralmente esses contaminantes chegam às águas devido a descartes de resíduos industriais, falta de tratamento adequado dos efluentes, carreamento de substâncias químicas como fertilizantes pela lixiviação do solo, chorume que atinge os lençóis freáticos e outros (PEDRO et al., 1997).

Por isso, são de extrema importância o tratamento e transformação de água bruta em água potável, sendo que os limites máximos de impurezas que podem estar presentes dependem de como ela será usada. As exigências para uma água destinada ao consumo humano ou para uma fábrica de refrigerantes, por exemplo, são diferentes das relativas às águas a serem usadas em irrigação, recreação, ou indústrias de cerâmica na qual não se exige um nível de qualidade tão alto. Esses limites, quando estabelecidos por organismos oficiais, são chamados de padrões de qualidade (PEREIRA e FREIRE, 2005).

Os padrões de potabilidade da água seguem a Portaria MS Nº 2914 de 14/12/2011. Quanto ao padrão microbiológico, é estabelecido o padrão para turbidez de água filtrada para comprovação da remoção de micro-organismos e controle da desinfecção. A portaria estabelece ainda análises para cianotoxinas, coliformes totais e *Escherichia coli* como coliforme principal (BRASIL, 2011).

O tratamento de água convencional é geralmente dividido em pré-tratamento, tratamento primário, tratamento secundário e tratamento biológico de lodos ativados, e em certos casos tratamento terciário. Os processos físico-químicos mais utilizados no tratamento de água são: coagulação, floculação, decantação, flotação, separação por membranas, adsorção e a oxidação química através de processos oxidativos avançados que envolvem (PEREIRA e FREIRE, 2005):

- Remoções de substâncias grosseiras em flutuação ou em suspensão podendo ser através da adição de substâncias aglutinantes como sulfato de alumínio, decantação ou ainda com a utilização de grades, crivos e telas.
- Remoção de substâncias finas em suspensão ou em solução através de aeração, decantação, decantação seguida de coagulação e filtração.
- Remoção parcial ou total de bactérias e outros micro-organismos feitas através da desinfecção, esterilização, radiações e ainda com uso de filtros de micro-organismos.
- Correção do odor e sabor, por meio de tratamentos químicos, leitos de contato de coque e carvão ativado.
- Remoção de elétrons de uma substância ou elemento, aumentando o seu estado de oxidação pela oxidação química. Os agentes de oxidação mais comumente utilizados em tratamento de águas residuais são: o gás cloro, hipoclorito, dióxido de cloro, ozônio, permanganato, peróxido de hidrogênio e ferro. Uma das vantagens desse processo é que os produtos finais da oxidação de matéria orgânica, por exemplo, são dióxido de carbono e água.

O tratamento de água tem por objetivo melhorar a qualidade da água sob os aspectos higiênicos, estéticos e econômicos. O processo auxilia na remoção de contaminantes, entretanto caso o tratamento não seja efetuado de forma correta podem surgir problemas que afetarão a saúde dos consumidores. Um exemplo disso

é o processo de desinfecção com cloro, embora existam outros processos de desinfecção como o uso de luz ultravioleta e ozônio, esse processo ainda é o mais comum, a presença de cloro residual pode reagir com a matéria orgânica e formar compostos tóxicos como trihalometanos que quando absorvidos pela pele podem ocasionar o surgimento de cânceres (SOARES, BERNARDES e CORDEIRO NETTO, 2002).

Para melhorar ainda mais a qualidade da água a ser consumida pode-se fazer a utilização de filtros domésticos. Há vários no mercado, os quais geralmente são constituídos de cartuchos de porcelana porosa ou materiais semelhantes, com ou sem carvão ativado, sendo que alguns ainda possuem prata aderida. A porcelana porosa dos cartuchos é responsável pela retenção de partículas em suspensão, as maiores causadoras da turbidez das águas e o carvão ativado tem o objetivo de corrigir o odor e sabor, remover cloro residual e compostos orgânicos (PEDRO et al., 1997).

### **3.2 FILTROS DOMÉSTICOS DE CARVÃO ATIVADO**

A atenção com a qualidade da água está em crescimento e com isso o mercado de produtos para tratamento de águas de uso doméstico também. Os filtros domésticos geralmente incorporados com carvão ativado granular são colocados em pontos de uso como torneiras únicas ou com um ponto de entrada. Esses equipamentos ajudam na remoção de compostos orgânicos, entretanto o carvão ativado sozinho não possui eficiência na remoção de contaminantes de origem microbiológica (WALLIS, STAGG e MELNICK, 1974 apud SNYDER et al., 1995).

A norma da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 16098:2012 dispõe sobre aparelho para melhoria da qualidade da água para consumo humano — Requisitos e métodos de ensaio. Com base nessa norma deve ser comprovada a ausência de crescimento de micro-organismos no interior do aparelho, principalmente em repouso, substâncias provenientes dos materiais constitutivos do aparelho, as quais tenham sido incorporadas à água quando em contato com o produto e este devem estar de acordo com padrões permitidos pela legislação. A retenção de partículas em micrômetros deve ser segundo os níveis: (P-I  $\geq 0,5$  a  $< 1$ ); P-II ( $\geq 1$  a  $< 5$ ); P-III ( $\geq 5$  a  $< 15$ ); P-IV ( $\geq 15$  a  $< 30$ ); P-V ( $\geq 30$  a  $< 50$ ); e P-VI ( $\geq 50$  a  $< 80$ )], a redução de cloro livre deve ser até  $> 75\%$ , e se o aparelho possuir capacidade de reter, reduzir ou eliminar o teor de contaminação por micro-



organismos deve ser informado. Esta norma também especifica os requisitos mínimos e os métodos de ensaios para os aparelhos por pressão utilizados para melhoria da qualidade da água, de uso doméstico, potável ou bruta (não residuária) (ABNT NBR 16098:2012).

O filtro doméstico pode ser usado para a remoção de cloro residual e matéria orgânica. Nesse processo a matéria orgânica fica aderida ao filtro. Há alguns filtros que possuem sistema de retrolavagem para limpeza interna do mesmo, injetando água no sentido oposto ao de saída com uma determinada pressão, contudo esse processo não assegura a pureza da água filtrada por esses equipamentos, podendo a matéria orgânica retida no filtro servir de substrato para os micro-organismos se desenvolverem formando o biofilme (GUERRA et al., 2006; CAVASSIN et al., 2000).

### 3.2.1 CARVÃO ATIVADO

O carvão ativado é um produto obtido pela queima de materiais carbonáceos como madeira, lignina, casca de coco, ossos de animais, turfa, bambu, caroços de azeitona, damasco, amêndoas, entre outras matérias primas. Geralmente o tratamento térmico desses materiais ocorre a altas temperaturas e a baixas concentrações de gás oxigênio para que não haja a combustão completa. Esse processo é conhecido como pirólise e ocorre em temperaturas em torno de 500 °C, nesse processo são removidos compostos voláteis resultando numa massa de carbono onde geralmente estão presentes alguns minerais. Em seguida é feita a ativação do material por meio de reações secundárias para aumento da área superficial podendo a ativação ser física ou química. A ativação física consiste no tratamento do material carbonáceo com gases oxidantes a altas temperaturas (700-1000 °C), os gases oxidantes podem ser o O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e vapor de água. Na ativação química, o oxigênio e o hidrogênio são removidos por agentes desidratantes como o ácido fosfórico, cloreto de zinco e sulfeto de potássio devendo ser carbonizado posteriormente a temperaturas em torno de 400 °C (FRANSCISCO, 2008; CLAUDINO, 2003).

A turfa é considerada a primeira etapa da formação do carvão mineral, ocorre pela decomposição de árvores e plantas em lugares úmidos na qual são oxidadas por micro-organismos. A composição da turfa depende do tipo de vegetação, clima da região e acidez da água. Geralmente apresentam alto grau de

decomposição e baixas quantidades de cinzas e por isso são consideradas ideais para a produção de carvão ativado, são consideradas como fonte energética (usadas para produção de energia) e também podem ser usadas como material redutor (metalurgia) e fonte de matéria orgânica (CLAUDINO, 2003).

A casca do coco de dendê (*Elaeis guineensis*) também pode ser usada como matéria prima na produção de carvão ativado. No Pará destaca-se o cultivo de coco de dendê que ocupa cerca de 80 mil hectares de área, o que o torna o maior produtor do País. Depois que é extraído o óleo de dendê que é usado na alimentação e na produção de biodiesel sobra uma massa seca chamada de torta de dendê, que contém proteína, fibra e nutrientes que podem ser usados como subprodutos na alimentação animal, como fabricação de rações ou ser usada como fertilizante. Deste processo é gerado ainda outro resíduo, a casca do coco, que se for utilizada como matéria prima na produção de carvão ativado, acaba contribuindo para o reaproveitamento de resíduos (OLIVEIRA, 2011).

O carvão ativado possui a característica de adsorver substâncias em sua superfície, a adsorção ocorre quando partículas se ligam a uma superfície. A substância adsorvida recebe o nome de adsorvato e a que adsorve recebe o nome de adsorvente ou substrato. A adsorção pode ser de dois tipos: física ou química, dependendo da maneira como os átomos e moléculas se ligam à superfície. Na adsorção física (ou fisissorção) ocorre interação de Van der Waals entre o adsorvato e o adsorvente. As interações são fracas e uma molécula que se desloque sobre a superfície perde energia e acaba sendo adsorvida. Na adsorção química (ou quimissorção) ocorrem rompimento e formação de ligações químicas, geralmente ligações covalentes, entre as moléculas e a superfície do adsorvente, essas moléculas se acomodam em sítios favorecendo o número de coordenação máximo (ATKINS e DE PAULA, 2008).

O carvão ativado é um material poroso e apresenta uma forma microcristalina. Os poros do carvão podem ser classificados em macroporos (> 50 nm), mesoporos (2-50 nm) e microporos (< 2 nm). O tamanho dos poros também influencia no desempenho do carvão ativado no processo de adsorção. O carvão ativado não retira sais dissolvidos na água e pode ser usado em pó ou granulado, dependendo do uso. Entre as aplicações do carvão ativado estão a purificação de águas residuais em estações de tratamento de água para remoção de odor, sabor,

cor, cloro, algas, gás sulfídrico, matéria orgânica, resíduos industriais e pesticidas, é também usado em aquários, filtros de refrigeradores, bebedouros, purificadores, e filtros domésticos (CLAUDINO, 2003; FRANCISCO, 2008).

O carvão ativado apresenta uma grande área superficial interna, o que o permite adsorver substâncias na fase líquida ou gasosa. As características do carvão ativado em adsorver dependem da área superficial, da distribuição e do volume dos poros, sendo os microporos e mesoporos os mais importantes nestes processos, já que os macroporos acabam por orientar o caminho para que as moléculas se liguem aos outros poros (MORENO, ALBUQUERQUE JÚNIOR e FRANCO, 2005).

### **3.3 BIOFILMES BACTERIANOS**

Em superfícies que estão em contato com água onde estão presentes micro-organismos pode ocorrer a formação dos biofilmes. Os biofilmes são comunidades de micro-organismos que se desenvolvem em uma matriz polimérica extracelular, semelhantes a um gel. As células microbianas aderem-se a uma superfície sólida e multiplicam-se secretando uma estrutura polimérica (CHAVES, 2004).

Para o crescimento desses micro-organismos é necessária a presença de alguns nutrientes como nitrogênio, enxofre e carbono. Os biofilmes podem apresentar-se em espessuras variáveis, que vão de micrômetros até centímetros. Sua composição também pode ser variável, mas a água representa a maior porcentagem, há ainda a presença de micro-organismos, polissacarídeos, matéria orgânica e outras substâncias dissolvidas e adsorvidas (XAVIER et al., 2003; CHAVES, 2004).

Há biofilmes que são considerados benéficos tais como os que se desenvolvem no fundo de lagos, rios e ambientes marinhos, para fornecimento de nutrientes a raízes de plantas e aqueles que auxiliam no tratamento de efluentes através da biodegradação. Entretanto os biofilmes na maioria das vezes não apresentam vantagens já que podem causar a degradação de superfícies (desgaste material) e principalmente estar associado ao grande número de problemas de saúde (CHAVES, 2004).

Há várias teorias sobre a formação do biofilme, sendo a primeira teoria descrita por Marshall, Stout e Mitchell (1971 apud MACEDO, 2000), onde o primeiro

processo que consiste na adesão do biofilme ocorreria em duas etapas. A primeira seria reversível devido à interação eletrostática e forças de Van der Waals entre a superfície e o micro-organismo e na segunda ocorreria a interação física entre a superfície e a célula do micro-organismo através do material extracelular (polissacarídeo ou proteína), o que possibilita o suporte do biofilme. Mais tarde surgiu outra teoria que propunha que a formação do biofilme ocorreria em cinco etapas, sendo elas: a) condicionamento da superfície pela adsorção de material orgânico; b) transporte de células e nutrientes para o local de adesão; c) início do processo de adesão bacteriana por interação eletrostática (reversível); d) crescimento celular, colonização e adesão (irreversível) e, e) o biofilme apresenta alta atividade metabólica e libera células fracamente aderidas.

Já Notermans, Dormans e Mead (1991 apud MACEDO, 2000), propuseram que a formação do biofilme ocorreria em três etapas: a) fixação da bactéria; b) estabilização da bactéria na superfície e, c) colonização e crescimento da bactéria.

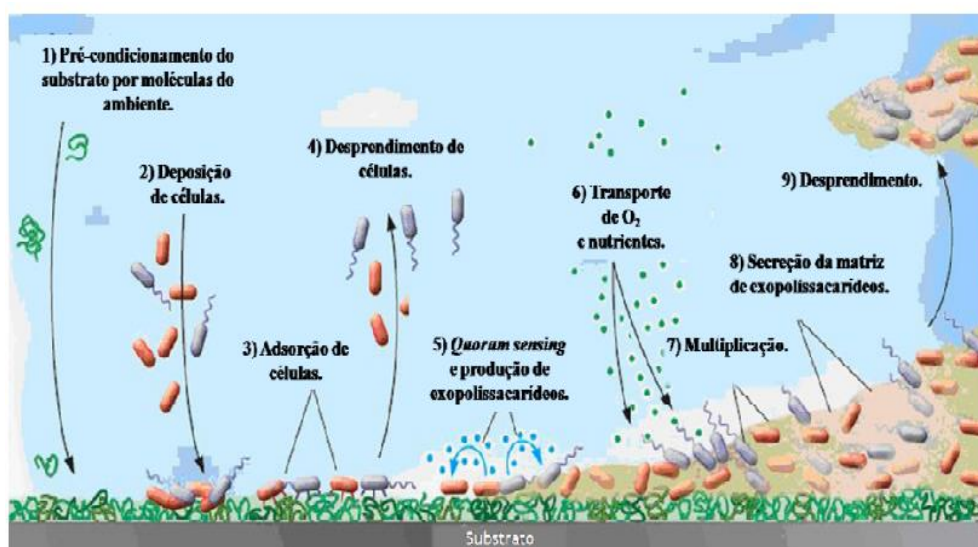
Há ainda outro modelo mais específico de desenvolvimento de biofilme bacteriano, que propõe que algumas bactérias se movimentam utilizando flagelos e quando encontram uma superfície adaptável adere-se a ela, se multiplicam e formam colônias mais protegidas e densas na qual ocorre transferência de massa e solutos (RECOUVREUX, 2004; XAVIER et al., 2003).

A Teoria proposta por Derjaguin, Landau, Verwey e Overbeek, denominada DLVO é usada para descrever a interação entre macromoléculas, devido às forças eletromagnéticas, eletrostáticas e interações de Van der Waals. No caso de micro-organismos, a atração entre suas células e a superfície a sofrer adesão ocorreriam por forças de Van der Waals e forças de repulsão ocorreriam devido às cargas elétricas iguais das células e substrato. Embora essa teoria descreva vários componentes do processo de fixação ela não descreve todos os comportamentos e interações moleculares existentes. E apesar da existência de teorias que proponham modelos para o desenvolvimento dos biofilmes essas interações e regulações ainda não são compreendidas em detalhes. Contudo sabe-se que a adesão dos micro-organismos é responsável pela manifestação de diversas infecções, o que têm dificultado também a utilização de cateteres, válvulas cardíacas e próteses articulares já que a adesão é um processo complicado que depende de fatores tais como fluxo de operação, presença de proteínas, propriedades bacterianas, presença

de antimicrobianos e características da superfície dos materiais (KATSIKOIANNI e MISSIRLIS, 2004).

Segundo Simões, Simões e Vieira (2010, apud DE OLIVEIRA, 2011) o processo de formação dos biofilmes bacterianos segundo um modelo mais específico propõe que as bactérias que se movimentam utilizando flagelos quando encontram uma superfície adaptável aderem-se a ela, desprendem células ligadas fracamente, fixam-se na superfície produzindo EPS (Extracellular Polymeric Substance) se multiplicam e formam colônias mais protegidas e densas na qual ocorrem transferência de massa e solutos como podem ser vistos na Figura 1.

**Figura 1:** Processos envolvendo a formação de biofilmes bacterianos. Fonte: BREYERS e RATNER (2004) e SIMÕES, SIMÕES e VIEIRA (2010, apud DE OLIVEIRA, 2011).



Há ainda a formação de biofilmes em associação envolvendo outras espécies de micro-organismos como fungos e leveduras, que são as formas de maior predominância na natureza. Rickard et al (2003, apud DE OLIVEIRA 2011) descreve a formação desses biofilmes em quatro etapas, sendo a primeira a ligação de moléculas de natureza orgânica na superfície que irá formar o filme ao qual as células dos micro-organismos irão aderir, seguida do crescimento e desenvolvimento das células com produção de material polissacarídeo, co-adesão de células únicas, em grupo ou agregadas e amadurecimento do filme aglomerado.

### 3.3.1 MICRO-ORGANISMOS ENVOLVIDOS EM PROCESSOS DE ADESÃO

A formação do biofilme é uma questão importante quando se trata de doenças bacterianas principalmente as doenças que envolvem infecções graves o que tem levado pesquisadores a investigarem o mecanismo de formação e regulação desses biofilmes com o propósito de localizar uma ação específica dos agentes microbiocidas. Algumas das importâncias da formação do biofilme são a redução de resíduos patogênicos e a destruição da matéria orgânica. Em contraste estão as desvantagens de sua formação como, o desgaste de equipamentos pela corrosão, incrustação, maior gasto energético quando o biofilme gera uma resistência a transferência de calor e contaminação microbiana o que é comum ocorrer em trocadores de calor, caldeiras e torres de resfriamento. Alguns biofilmes são resistentes à ação de desinfetantes e agentes microbiocidas, em alguns casos se for aumentado a quantidade de desinfetante é possível a destruição do biofilme, porém a preocupação fica em torno da poluição ambiental gerada (JEFFERSON, 2004; XAVIER et al., 2003).

Dentre os micro-organismos envolvidos em processos de adesão, destacam-se a *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas fluorescens*, *Micrococcus sp*, *Enterococcus faecium*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolítica*, *Salmonella thyphimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (MACEDO, 2000).

#### 3.3.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo, Gram-negativo, aeróbio pertencente à família *Pseudomonadaceae*. É um micro-organismo móvel, pois possui um ou mais flagelos que são usados para sua locomoção. São organismos mesófilos possuindo temperatura ótima de crescimento em torno de 37 °C a 42°C sendo também capazes de produzir pigmentos que sofrem difusão nos meios de cultura como a piocianina que dá a coloração verde-azulado característica desta bactéria (MURRAY et al., 2007 apud FERREIRA, 2009).

A *P. aeruginosa* é o micro-organismo de maior relevância dentro do grupo das *Pseudomonas*, sendo um dos principais micro-organismos presentes nos efluentes de origem hospitalar. É um patógeno nosocomial, causador de infecções em diversos sítios do corpo humano, como pneumonias, infecções urinárias,

infecção de feridas cirúrgicas e na corrente sanguínea. Pode ser encontrada em diversos ambientes, como no solo, água, superfície de plantas e até animais, pois faz parte da flora intestinal em seres humanos, entretanto são capazes de desenvolver resistência a antibióticos. Sua presença nos recursos hídricos pode ser resultado de despejos de resíduos hospitalares nos cursos dos rios e a falta de tratamento adequados dos efluentes (PAVIANI, STADINIK e HEINEK, 2004; POLLACK, 2000 apud FERREIRA, 2009; FUENTEFRIA et al., 2008).

Esta bactéria raramente causa doenças em organismos saudáveis, entretanto em organismos imunodeficientes podem gerar um quadro de infecção grave, levando o paciente a um quadro de difícil tratamento já que esse micro-organismo tem baixa sensibilidade a agentes antimicrobianos como cloranfenicol, tetraciclina, quinolonas,  $\beta$ -lactâmicos, cefalosporinas e carbapenêmicos. As cepas de isolados hospitalares possuem maiores fatores de virulência do que as cepas provindas do meio ambiente, devido à pressão seletiva artificial que as conferem maior resistência e também ao fato de que qualquer instrumento e material pode servir de abrigo para a *P. aeruginosa* (FUENTEFRIA et al., 2008; PAVIANI, STADINIK e HEINEK, 2004).

### **3.4 PRATA**

A prata, metal nobre assim como o ouro e a platina é empregada no tratamento de algumas doenças infecciosas por possuir propriedades antimicrobianas. Também tem sido usada em áreas biomédicas, na purificação do ar e água, produção de alimentos, cosméticos, vestuário e produtos domésticos. O desenvolvimento de produtos antimicrobianos está em constante crescimento. Além da prata outros metais possuem atividade antibacteriana bem conhecida como o cobre, zinco, níquel e o ouro. Essa atividade depende da superfície de contato, sendo que uma superfície de contato maior permite uma ampla interação com as substâncias orgânicas e inorgânicas (FRANSCISCO, 2008; JONES e HOEK, 2010; CLEMO, 2005 e CASAGRANDE, 2010).

O uso da nanotecnologia tem permitido o desenvolvimento de nanomateriais com propriedades antimicrobianas, essas propriedades permitiram que as aplicações fossem estendidas mais longe. Nanopartículas de prata tem sido usadas em muitos produtos de consumo como: filtros domésticos, anticoncepcionais,

detergentes, sapatos e outros (CLEMO, 2005; CASAGRANDE, 2010). As nanopartículas de prata são agentes antimicrobianos de amplo espectro, ou seja, eficaz contra muitos micro-organismos sejam bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, fungos, leveduras e até vírus (NETO et al., 2008 apud ARAUJO, 2010).

Peças de vestuário como roupas íntimas e meias têm sido tratadas com agentes antimicrobianos. Há pesquisas direcionadas também para o tratamento com roupas esportivas feitas de fibras sintéticas, devido à quantidade grande de transpiração dos esportistas. O interesse de se tratar um tecido com um agente antimicrobiano vem de que esses agentes permitem um maior controle de odores, descoloração, manchas e degradação causados pela ação de micro-organismos, além de evitar que as bactérias transferidas pela pele ou pelo ambiente não se reproduzam no tecido (CLEMO, 2005).

Antimicrobianos à base de prata geralmente são caros, sendo mais empregados em produtos de alto valor. Esses antimicrobianos podem funcionar de três maneiras nas células das bactérias: reagem com grupos proteicos e enzimas, interferem na funcionalidade do DNA e RNA e modificam a membrana plasmática da célula, dessa forma fica difícil para as células das bactérias desenvolverem resistência a esses antimicrobianos (CLEMO, 2005).

Araújo (2010) avaliou o efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata sobre as espécies *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua*, *Salmonella Choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus*. Foi determinado o seu efeito antimicrobiano pelo teste do halo de inibição, usando nanopartículas de Dotab - Brometo de dodeciltrimetilamônio (surfactante) e sulfadiazina de prata realizada por método de difusão em placa e imersão de superfícies de aço inoxidável aderidas com bactérias em dispersões contendo nanopartículas de prata. Placas de ágar Muller-Hinton foram inoculadas com os micro-organismos e foram adicionados 30 µL de cada antimicrobiano em poços perfurados de 6 mm de diâmetro na superfície das placas. As placas foram incubadas na temperatura ótima de cada cepa por 16-18 h. Após esse período os halos de inibição foram medidos. Hastes de aço inoxidável foram imersas em caldo BHI (*Brain Heart infusion Broth*), onde foi inoculada a *P. aeruginosa*, e incubada a 32°C por 16-18 h. As hastes foram colocadas em solução de Dotab e em soluções de nanopartículas de prata preparadas por três métodos distintos, por tempos de



contato de 30 e 60 min, um controle foi preparado imergindo uma haste em água. Em seguida, as mesmas foram transferidas para solução tampão de fosfato de sódio para remoção das células aderidas por meio de um vórtex. Diluições foram preparadas e utilizou-se o método de contagem de placas. Os resultados mostraram que as nanopartículas preparadas apresentaram maior atividade antimicrobiana em relação ao Dotab e a sulfadiazina de prata. Essa atividade foi relacionada ao tamanho das partículas, pois quanto maior a superfície de contato, maior a interação e, conseqüentemente, maior a atividade antimicrobiana. As nanopartículas de prata se mostraram eficientes para as bactérias *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. Choleraesuis*.

Kora e Arunachalam (2011) avaliaram a atividade antibacteriana de nanopartículas de prata. Para esse estudo foi usado como teste a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*. Um inóculo bacteriano foi preparado e ajustado a sua turbidez para 0,5 McFarland. Placas com ágar Mueller-Hinton foram inoculadas com esta suspensão bacteriana e diversos volumes de nanopartículas de prata que variaram de 1-5µg foram adicionados a um poço no centro de cada placa com 8 mm de diâmetro. Placas de controle, contendo solução salina estéril nos poços centrais foram preparadas e ambas foram incubadas a 37 °C por 24h, sendo medidas posteriormente as zonas de inibição. Após o período de incubação observou-se que as placas controle não apresentaram qualquer zona de inibição. Em todas as placas contendo nanopartículas de prata foi observado zona de inibição que aumentou conforme a concentração de prata aumentava, sendo que a placa contendo 4µg mostrou zona de inibição de 5 mm, comprovando a potencial atividade antibacteriana de nanopartículas de prata.

#### 3.4.1 MECANISMO DE AÇÃO ANTIMICROBIANA DA PRATA

Os mecanismos da ação antimicrobiana da prata sobre os micro-organismos ainda não são totalmente compreendidos e definidos. Entretanto alguns mecanismos propõem algumas atividades para íons prata, como ligação extracelular e precipitação da prata na membrana celular. A parede celular dos micro-organismos é composta de peptideoglicano, sua carga negativa interage com a carga positiva dos íons prata, a partir daí a prata pode então interagir com grupos proteicos e enzimas levando à inativação das mesmas (BELLANTONE et al., 2002 apud

ARAUJO, 2010). Outra proposta sugere a interação do metal com o ácido desoxirribonucleico (DNA) do micro-organismo por meio de ligações de hidrogênio impedindo sua replicação ou ainda a sua interação com grupos doadores de elétrons como hidroxilas, aminas e fosfato (FENG et al., 2000; RODRIGUEZ et al., 2007 apud ARAUJO, 2010) .

Kora e Arunachalam (2011) estudando sobre a atividade antibacteriana de nanopartículas de prata procuraram compreender ainda seu mecanismo de ação frente aos micro-organismos. O teste foi feito usando a bactéria *P. aeruginosa*. Para descobrir o possível envolvimento de radicais livres na atividade antibacteriana, foram adicionadas nanopartículas de prata com concentração de 4 µg/mL, e ainda soluções de *N*-acetilcisteína (NAC) e ácido ascórbico (AA) na concentração de 10 mM em placas com Ágar Mueller-Hinton, as placas foram inoculadas com 230 UFC de *P. aeruginosa* e foram incubadas a 37°C por 18h, após esse período as bactérias sobreviventes foram contadas. Placas controle com e sem antioxidantes foram preparadas. Os antioxidantes foram usados com o objetivo de eliminar as espécies reativas de oxigênio produzidas pelas nanopartículas de prata. Na placa controle sem nanopartículas e sem antioxidantes as colônias bacterianas foram claramente observadas, a placa controle contendo o NAC não apresentou inibição do crescimento, contudo a placa contendo o AA mostrou uma pequena redução no número de colônias.

A placa com nanopartículas de prata (4 µg/mL) sem antioxidantes mostrou que a inibição das colônias foi completa, nas placas com nanopartículas de prata (4 µg/mL) contendo o antioxidante NAC as colônias de bactérias estavam presentes ainda que em menor número e as placas com AA e nanopartículas 4 µg/mL mostrou que o antioxidante foi capaz de proteger todas as células bacterianas (100% de sobrevivência) da atividade da prata. Esses resultados propõem que provavelmente essas espécies reativas de oxigênio (ROS) estejam envolvidas na atividade bactericida de nanopartículas de prata e que o AA impediu essa atividade por isso todas as células sobreviveram (KORA e ARUNACHALAM, 2011).

#### 3.4.2 CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA

Tobin, Smith e Lindsay (1981), estudaram os efeitos do carvão ativado e de filtros bacteriostáticos sobre a qualidade microbiológica da água potável e através do

acompanhamento de quatro filtros de carvão ativado, foi possível fazer observações. Um filtro era composto de carvão ativado em pó, o segundo de carvão granulado e o terceiro e quarto eram de mesmo modelo, entretanto mais compacto que os outros, sendo que um destes liberava íons prata. Foram escolhidas vazões para cada filtro, através dos quais foram filtradas águas contaminadas com esgoto e o acompanhamento dos filtros levou cerca de oito semanas. Os resultados mostraram uma remoção de cloro pelos filtros de até 70%, compostos orgânicos foram de 33% sendo que o filtro contendo carvão granulado apresentou melhor eficiência e através do método de contagem de placa foi observado um crescimento bacteriano nas três semanas iniciais e posteriormente o crescimento se mostrou estável. O desenvolvimento microbiano nos filtros apresentou diferenças que podem ser resultantes, do tipo de matéria orgânica presente, quantidade de cloro livre e fluxo de operação. Os íons prata presente exerceram efeito bacteriostático seletivo sobre as bactérias coliformes, entretanto apresentou pouco efeito sobre a população bacteriana total.

Geldreich et al (1985) fizeram análises de amostras contaminadas com cepas de patógenos oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa* e *Serratia marcescens*, coliformes fecais e/ou totais e *Salmonella typhimurium* após a passagem por filtro. Os resultados mostraram contagem de 200 a 300 UFC/ml. Sendo que *Pseudomonas* foram encontradas até 4 meses após a filtração e em contagens de no máximo 850 UFC/ml, mostrando terem colonizado o filtro, *Serratia* e os coliformes totais estavam presentes até mais de 5 meses, enquanto que *Salmonella typhimurium* e *E. coli* não foram mais constatadas.

Le Pape et al (2004) investigaram possíveis implicações envolvendo espécies de bactericidas como a prata. Fibras de carvão ativado impregnado com prata (ACF (Ag)) foram testados quanto à sua capacidade inibitória de *Escherichia coli*. Pape et al (2002) já haviam avaliado as propriedades antimicrobianas de fibras de carvão ativado impregnado com prata, onde as ACF(Ag) exibiram atividade antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Sacharomyces cerevisiae* e *Pichia pastoris*. A mortalidade celular foi observada após um tempo de contato muito curto entre os micro-organismos e as fibras de carvão ativado impregnado com prata (LE PAPE et al., 2004; LE PAPE et al., 2002).

Foram usadas duas cepas diferentes de *E. coli*, uma amostra que foi isolada de água em ambiente e a segunda era *E. coli* K12 CIP 54.117. As cepas foram cultivadas a 37°C, em 150 mL de caldo nutriente sob agitação a 200 rpm de 8-12h. Antes da utilização a concentração da solução foi ajustada para aproximadamente  $10^5$ - $10^6$  UFC/mL em água destilada estéril. As fibras de carvão ativadas (ACF) usadas foram fabricadas pela Techsilab (Limoges, França) e foram chamadas de ACF06. As ACF06 foram impregnadas a vácuo com solução de nitrato de prata e posteriormente foi adicionada solução de  $2 \cdot 10^7$  UFC/mL. Os resultados mostraram uma ação bactericida forte. A atividade diminuiu ao longo do tempo, sugerindo que as espécies bactericidas tinham vida útil curta. A atividade microbocida das fibras do carvão ativado (ACF) impregnado com prata, ou impregnado com outros metais, já tem sido relatada para várias cepas bacterianas e de uma forma dinâmica. O mecanismo antimicrobiano das ACF impregnado com metal não é ainda bem compreendido. Dados mostraram que os efeitos microbocidas não resultaram exclusivamente da presença da prata. O oxigênio dissolvido na suspensão das células foi considerado como um fator essencial para a atividade bactericida porque a atividade foi observada apenas em condições aeróbias (LE PAPE et al., 2004).

Yang et al (2009) avaliaram a capacidade antibacteriana de carvão de bambu com prata contra bactérias Gram-negativas da espécie *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*, e gram-positiva da espécie *Staphylococcus aureus*. A eficácia do carvão de bambu impregnado com prata contra os micro-organismos foram testados com base na zona de inibição e método de contagem de placa. O composto com prata mostrou zonas de inibição de 10,6 a 14,6mm, enquanto que o carvão ativado sozinho não apresentou zona de inibição. O material impregnado com prata exibiu eficácia significativa contra a *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus*, sendo verificado que o aumento da eficácia foi resultante do aumento da concentração de prata.

Su et al (2009) realizaram análises microbiológicas de um filtro purificador de água potável. O filtro oferecido pela companhia P&G (Procter & Gamble) foi montado em uma torneira na Universidade de Tsinghua em Beijing na China. Para simular o uso doméstico o filtro foi usado todos os dias, filtrando 10L de água proveniente de um poço subterrâneo tratado com cloro até completar a vida útil do filtro. O carvão ativado foi retirado do filtro e as bactérias aderidas na superfície foram contadas. O

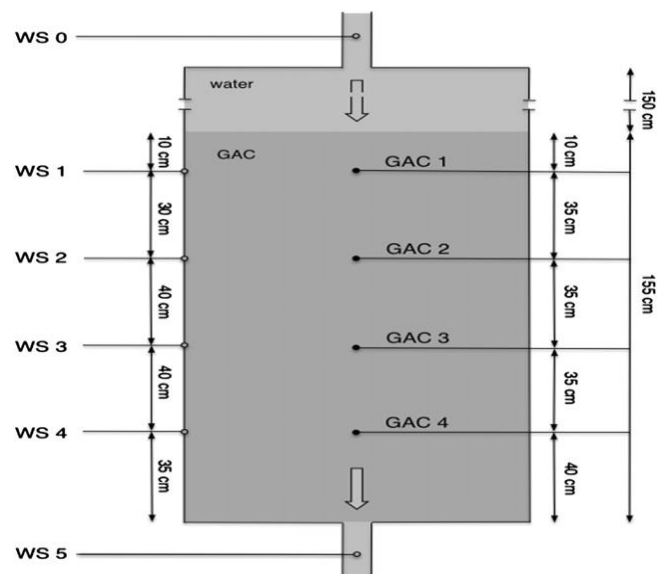
número de bactérias da água da torneira original permaneceu menos do que 15 UFC/mL durante a toda a operação do filtro. Enquanto que quando o filtro operou com taxas de 0,92 , 1,15 e 1,39 L/min foram de 68 , 61 e 45 UFC/ml, respectivamente, mostrando que uma diminuição da taxa leva a um aumento das bactérias.

Cavassin et al (2000) realizaram análises microbiológicas de água filtrada em filtros domésticos do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná para verificar o papel de filtros domésticos como foco de contaminação da água em ambiente hospitalar. O hospital possuía sessenta filtros domésticos compostos por dolomita, quartzo, carvão ativado e prata coloidal. Foram selecionados 26 filtros para análises, que foram escolhidos segundo os critérios de frequência de uso, próximos a torneira de água comum, tipo de pessoas que usavam (de preferência pacientes, funcionários) e os com maior tempo de uso. Foram coletadas três amostras de cada filtro, uma antes da retrolavagem do filtro, uma depois e uma da rede de água comum (não filtrada). Os resultados não mostraram contaminação de coliformes e micro-organismos mesófilos nas amostras não filtradas. Já nas amostras antes e após a retrolavagem foram constatadas presença de micro-organismos mesófilos que variaram de 30 a 100 UFC/mL. Como as amostras sem filtração não apresentam presença de micro-organismos, mas após a filtração e retrolavagem sim, os resultados mostram que os filtros quando impregnados com biofilmes podem levar à contaminação da água.

Velten et al (2011) acompanharam a formação inicial das colônias e o desenvolvimento do biofilme no carvão ativado granular (CAG) de um filtro de água potável. Os experimentos foram realizados numa planta piloto, que consistiu em uma combinação de várias operações como: pré-filtração, ozonização, filtração e ultrafiltração com o CAG. O projeto do filtro de CAG possibilitou a amostragem tanto da água como do CAG. As amostras da água (WS0 a WS5) de 250 mL do afluente e efluente, e do CAG (GAC1 a GAC4) foram feitos em quatro pontos distribuídos no filtro, conforme mostra a Figura 2. Foram retirados 20 g de partículas de CAG a partir de cada ponto de amostragem. Durante os 70 primeiros dias, as amostras foram retiradas duas vezes por semana, durante o desenvolvimento do biofilme e depois foram diminuindo gradualmente até uma vez a cada duas semanas, devido à taxa de crescimento do biofilme ir diminuindo, completando 6 meses. Durante a fase inicial

de desenvolvimento houve diferentes concentrações de biomassa e as taxas de crescimento foram claramente observadas nos diferentes níveis do filtro. A biomassa do biofilme se acumulou rapidamente sobre as partículas de CAG durante os três primeiros meses, o acúmulo de biomassa cessou após cerca de 90 dias de operação em todos os pontos de amostragem, indicando o estabelecimento de um estado estacionário e uma taxa de desenvolvimento igual a zero. O CAG geralmente é usado nesse tipo de filtro para que pelo processo de adsorção remova a matéria orgânica, compostos organoclorados, sabor e odor. Quando esses filtros não são substituídos regularmente ou regenerados se tornam biofiltros levando a formação de colônias de micro-organismos passando a remover a maior parte da matéria orgânica por um processo de biodegradação e não por adsorção (VELTEN et al., 2011).

**Figura 2:** Apresentação esquemática da escala piloto do filtro de carvão ativado granular (GAC). Fonte: VELTEN et al, 2011.



A maioria dos materiais têxteis atualmente utilizados em hospitais podem propiciar a contaminação cruzada ou a transmissão de doenças provocadas por micro-organismos devido a isso Yang *et al* (2012) também avaliaram a capacidade antibacteriana do carvão de bambu impregnado com prata e dióxido de titânio com prata com foco na verificação da aplicação prática em fibras e tecidos com propriedades antimicrobianas. As propriedades antibacterianas foram testadas contra as bactérias Gram-positivas *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* e

gram-negativas *P. aeruginosa*, *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*. Tecidos revestidos e não revestidos com os materiais foram colocados em placas de ágar umedecidas com 0,1 mL de água pura estéril onde foram espalhadas  $10^6$ - $10^7$  UFC de cada espécie de micro-organismos. As placas foram incubadas a 37°C por 72h. O efeito antibacteriano do tecido foi investigado com base na zona de inibição (zona clara do tecido) e método de contagem de placa. Os resultados mostraram que o tecido coberto com o carvão de bambu/prata e dióxido de titânio/prata apresentou comportamento antibacteriano contra todos os micro-organismos estudados e com eficácia especialmente para as espécies *S. aureus* e *C. albicans*. Portanto esses materiais possuem elevado potencial na aplicação de tecidos com propriedades antibacterianas.

Zhao *et al* (2013) estudaram a ação antibacteriana de carvão ativado dopado com prata preparado por impregnação a vácuo. Foram preparadas 4 amostras de CA/Ag (CA/Ag<sub>1</sub>, CA/Ag<sub>2</sub>, CA/Ag<sub>3</sub> e CA/Ag<sub>4</sub>) com concentração do metal aumentando gradativamente. A ação antibacteriana foi testada usando o método de contagem de placa, onde uma massa de 2,0 g de CA/Ag foram adicionados a 100 mL de água destilada contendo  $10^7$  UFC/mL de *E.coli*, a solução foi incubada a 37°C por 24 h sob agitação. Em intervalos pré-determinados amostras de 1 mL foram retirados da solução, diluídos e colocados sobre placas para contagem. A amostra de CA/Ag<sub>1</sub> contendo um teor de 0,09% (m/m) de prata não apresentou nenhuma atividade contra *E. coli* e após o tempo de contato de 24 h a população microbiana duplicou, o CA/Ag<sub>2</sub> com teor de 0,37% m/m) apresentou inibição contra *E. coli* já que não houve mudança aparente na população microbiana, o CA/Ag<sub>3</sub> com 0,97% (m/m) de prata resultou na morte de todos os micro-organismos em um tempo de 120 minutos e o CA/Ag<sub>4</sub> resultou na morte de todas as bactérias em um tempo de 45 min alcançando assim o melhor resultado. Foi observado portanto que a atividade antibacteriana foi aumentada conforme a concentração de prata na amostra aumentava por isso a eficácia do CA/Ag<sub>4</sub> foi mais elevada.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO

#### 4.1.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS

A determinação do teor de cinzas do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) foi realizada pesando-se uma amostra do carvão em um cadinho e levando-o à mufla a 550°C por 24h conforme o método ASTM D2866-94. O cálculo do teor de cinzas foi feito com base na Equação 1:

$$\text{Cinzas totais (\%)}: \frac{[(D - B) / (C - B)] * 100}{\text{(Equação 1)}}$$

B = Peso do cadinho vazio (g)

C = Peso da amostra original + cadinho (g)

D = Peso da amostra incinerada + cadinho (g)

#### 4.1.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORETO

Uma massa de aproximadamente 3g de carvão ativado foi lavada com 300mL de água deionizada. A solução foi filtrada e o filtrado constituiu-se a água de amostra. Pipetou-se 50mL da água de amostra que foi reduzida à aproximadamente 20mL. A determinação do teor de cloreto do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) foi realizada por meio da titulação desta solução com solução de nitrato de prata, AgNO<sub>3</sub>, 0,0282M na presença do indicador cromato de potássio até o aparecimento de uma coloração vermelho tijolo conforme o método ASTM D0512-04.

#### 4.1.3 DETERMINAÇÃO DE SOLÚVEIS

A determinação de solúveis do carvão ativado foi feita colocando-se uma 10g de carvão em água deionizada sob refluxo. Foi retirada uma alíquota do balão e pelo resíduo de evaporação seguiu-se a determinação conforme o método ASTM D5029-98.

#### 4.1.4 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE IODO

Amostras de carvão ativado sem prata e com diferentes concentrações de prata foram pulverizados, acrescidos de solução de ácido clorídrico 5% e solução de



iodo 0,100N e pelo método ASTM D4607-94 determinou-se o número de iodo das amostras. O procedimento foi realizado em triplicata para cada amostra com massas diferentes em torno de 0,5 g.

#### **4.1.4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS**

Todos os experimentos foram conduzidos em um delineamento inteiramente casualizado, com três repetições independentes. Os dados das análises do número de iodo foram analisados estatisticamente aplicando ANOVA a 95% de limite de confiança ( $p < 0,05$ ). A estatística e os gráficos foram obtidos por meio do programa *Statistica for Windows* versão 10.0 da *StatSoft*.

## **4.2 IMPREGNAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO COM PRATA**

### **4.2.1 PREPARAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA (0,025%, 0,08%, 0,10%, 0,20% e 0,25 % m/m).**

As amostras foram preparadas adicionando às massas de carvão ativado solução preparada com nitrato de prata da Vetec (pureza 99,8%) nas concentrações de 0,025, 0,08, 0,10, 0,20 e 0,25 % m/m) em relação à massa de 20g de carvão. A impregnação de prata na estrutura do carvão ativado foi obtida por meio de agitação até a evaporação do líquido conforme o método de Mitsumori, Takeda e Miyasaco (1977). As amostras foram submetidas a tratamento térmico em mufla à temperatura de 550°C por 2h. As concentrações das amostras foram escolhidas com base na concentração de prata usada nos filtros comerciais que é de 0,08%, foram preparadas amostras com concentrações menores e maiores em torno deste valor.

### **4.2.2 QUANTIFICAÇÃO DE METAIS IMPREGNADOS DO CARVÃO ATIVADO**

Massas de 0,1g de cada amostra de carvão ativado impregnado com prata (0,025%, 0,08%, 0,1%, 0,2% e 0,25% m/m) foram levadas à fervura com 10mL de ácido nítrico P.A. (Para Análise), conforme o método descrito por Zhao et al (2013). A mistura foi fervida durante 10 minutos e a suspensão foi filtrada. A suspensão filtrada foi lavada com água deionizada e o filtrado foi recolhido e diluído para 100mL. As soluções obtidas foram analisadas no espectrofotômetro de absorção atômica *AAnalyst 400* da Perkin Elmer na Universidade Estadual de Goiás.

### **4.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)**

Para caracterização morfológica e identificação dos elementos químicos nas amostras de carvão 0%, 0,025%, 0,1% e 0,25% m/m de prata em relação à massa de carvão ativado foram utilizadas as técnicas de microscopia eletrônica de varredura, com microanálises de raios-X. A prata é bom condutor de eletricidade, entretanto devido ao carvão ativado não ser condutor as amostras foram recobertas com filme de carbono condutor (grafite), colocadas em suporte de alumínio e analisadas no MEV Jeol JSM-6610, equipado com EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging. A análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução na Universidade Federal de Goiás.

## **4.3 ENSAIOS DE CRESCIMENTO DO BIOFILME**

### **4.3.1 PREPARO DA ÁGUA DE PROVA**

Uma cepa de *P. aeruginosa* ATCC (*American Type Culture Collection*) 9027 do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual de Goiás foi inoculada em meio sólido (Ágar cetrimida) e incubada a 37°C por 24h. Colônias de *P. aeruginosa* foram transferidas para 10mL de água peptonada e ajustou-se a turvação de 0.5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL). Foi utilizado o método de diluição seriada até a  $10^5$  diluição. A solução foi incubada a 37°C por 16-18h em estufa de cultura modelo 002 CB da FANEM.

### **4.3.2 DESENVOLVIMENTO DO FILTRO**

Em câmara de fluxo laminar foi montado um sistema de filtro de carvão ativado segundo a ABNT NBR 15176/04 com modificações. Em uma seringa de 60 mL foram colocados 5 g de carvão ativado previamente autoclavados a 120°C por 20min. Foram filtrados 50mL da água de prova. O filtrado foi recolhido e descartado, e o filtro levado à estufa a 37°C por 5 dias. Após o período de incubação a massa do carvão ativado foi retirada e transferida para um erlenmeyer contendo 100mL de solução fisiológica. A solução foi colocada em ultrassom de 25 Hz da MaxiClean 1450 por 5min. Realizaram-se diluições seriadas e efetuou-se o método de contagem de placa em UFC/mL.

#### *4.3.2.1 EFEITO DE ANTIOXIDANTES SOBRE A ATIVIDADE INIBITÓRIA DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA*

Para estudo do estado iônico ou metálico da prata e possível mecanismo de ação do metal sobre os micro-organismos, uma amostra de carvão ativado impregnado com prata (0,22% m/m) foi tratada com solução de ácido ascórbico 10 mM conforme método proposto por Kora e Arunachalam (2010). Foi preparado um filtro com o carvão tratado e um filtro controle (sem antioxidante) foram filtradas águas de prova conforme método descrito anteriormente e o número de bactérias sobreviventes nas placas de Ágar cetrimida foram contadas após incubação a 37°C por 24h.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO CARVÃO ATIVADO

#### 5.1.1 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CINZAS

As cinzas são os resíduos minerais, provenientes da queima do carvão a alta temperatura. Os constituintes minerais são necessários para o crescimento das plantas. Esses constituintes que são encontrados na madeira são geralmente extraídos do solo. As cinzas que são constituídas de compostos inorgânicos que ficam nos interstícios (poros) do carvão ativado são geralmente óxidos de cálcio, magnésio, potássio, manganês e sódio, podendo ainda conter ânions como carbonatos, sulfatos, fosfatos e silicatos. Um alto teor de cinzas não é desejável, já que em soluções podem contaminá-las com sais. O teor pode variar de muito baixo (0,5-1%) a muito alto (acima de 20% no caso do carvão fóssil) dependendo do tipo de matéria prima e do processo de ativação (GUIMARÃES, 2006).

Loureiro (2012) analisando quatro amostras de carvões ativado da casca de coco de diferentes fabricantes encontrou teores de cinzas entre 5,71 e 14,31%, sendo que carvões ativados podem possuir teor de cinzas de até 15%. O carvão ativado da casca de dendê (*Elaeis guineensis*) mostrou um alto teor de cinzas (11%), já que um bom carvão não deve exceder a 3-4% de cinzas (JUNIOR, 2010), mostrando uma grande proporção de minerais, o que pode ser devido à grande quantidade principalmente de silicatos que interfere de forma negativa na capacidade de adsorção do carvão ativado (BRITO, FILHO e SALGADO, 1987; RAMOS *et al*, 2009).

#### 5.1.2 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORETO

Parte das cinzas do carvão ativado pode conter em sua composição cloretos que são solúveis em água e ácidos diluídos (GUIMARÃES, 2006). A determinação de cloreto é importante para a caracterização do carvão ativado, pois o cloreto em solução aquosa de  $\text{AgNO}_3$  durante o processo de impregnação do metal no carvão pode levar à formação de cloreto de prata, havendo perda do metal que seria impregnado na forma de um precipitado conforme mostra a Equação 1.



O teor de cloreto na amostra do carvão ativado foi de aproximadamente 0,002%, o que é baixo considerando o alto teor de cinzas.

### 5.1.3 DETERMINAÇÃO DE SOLÚVEIS

O carvão ativado apresentou um teor de solúveis baixo (0,19%) comparado ao alto teor de cinzas (11%), mostrando que apesar de haver possíveis carbonatos, cloretos, fosfatos, poucos são solúveis. Os materiais solúveis em água são aqueles presentes nos poros do carvão ativado, sendo geralmente sais, açúcares simples, polissacarídeos e compostos fenólicos. Alguns desses compostos solúveis em água são mais ou menos solúveis em muitos solventes orgânicos e ácidos diluídos. O teor de solúveis está muito relacionado com o teor de cinzas, já que os mesmos óxidos metálicos, carbonatos, sulfatos e cloretos podem formar sais solúveis em água (GUIMARÃES, 2006).

### 5.1.4 DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE IODO

O carvão ativado da casca de dendê (*Elaeis guineensis*) mostrou uma grande área superficial, com número de iodo de  $1456 \text{ mg.g}^{-1}$ , sendo que Sebastiany (2013) encontrou valores próximos para o mesmo tipo de carvão ativado com número de iodo igual a  $1420 \text{ mg.g}^{-1}$ . Loureiro (2012) também determinou o número de iodo de quatro amostras de carvão ativado de casca de coco, o número de iodo das amostras variaram entre 654,51 a  $465,53 \text{ mg.g}^{-1}$ , sendo que o limite mínimo de uso para aplicações em filtros é de  $600 \text{ mg.g}^{-1}$  segundo a ABNT NBR 12073:1991.

O número de iodo é um indicador de porosidade relativa do carvão ativado, e não necessariamente mostra a capacidade do carvão ativado em adsorver outras espécies. O número de iodo pode ser usado como uma aproximação da área de superfície para alguns tipos de carvões, entretanto qualquer relação entre a área de superfície e o número de iodo não pode ser generalizada, pois ela varia conforme as alterações do material, matéria-prima, condições de processamento e distribuição dos poros. Sendo que a presença de compostos voláteis como enxofre na forma de sulfeto e água, pode afetar o número de iodo medido no carvão ativado. O carvão ativado foi moído em almofariz e pistilo e usaram-se três massas diferentes de carvão ativado para a determinação do número de iodo de cada amostra (carvão

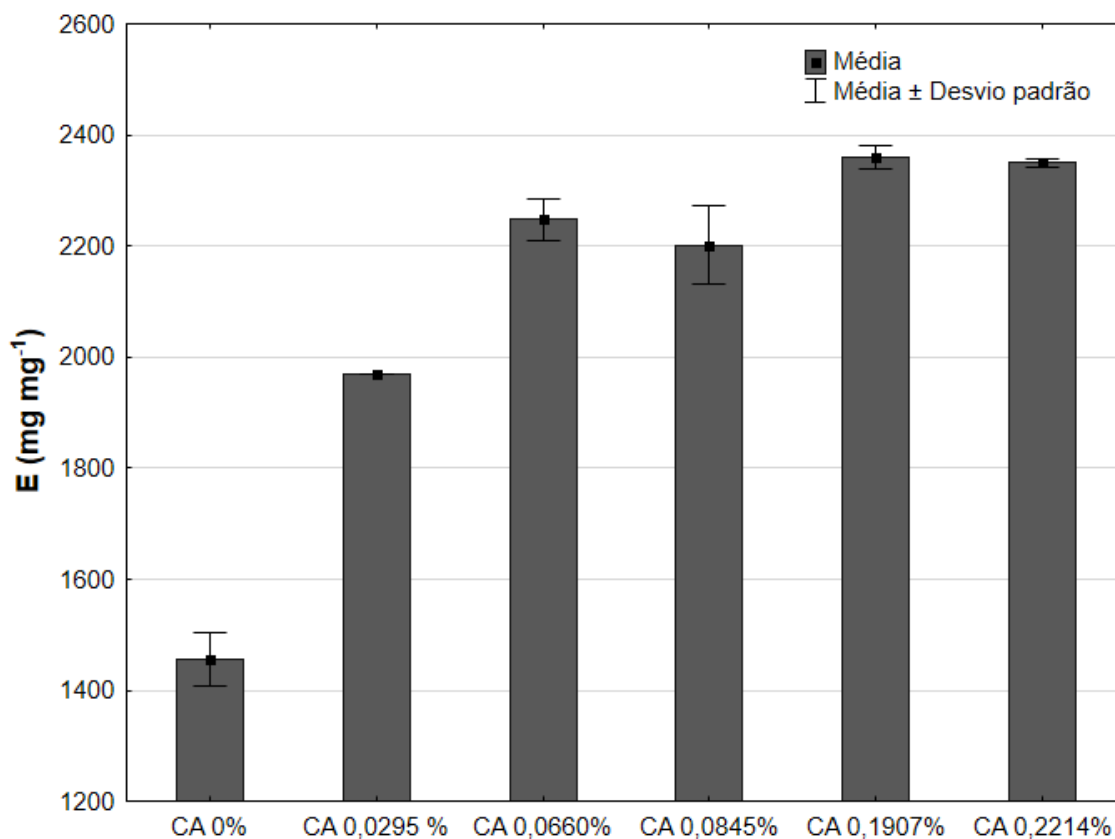
ativado sem prata, carvão ativado com prata 0,025%, 0,08%, 0,1%, 0,2% e 0,25% m/m). O procedimento foi realizado segundo o método ASTM D4607-94.

#### 5.1.4.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

O número de iodo das amostras de carvão ativado com prata foi analisado estatisticamente por meio do programa *Statistica for Windows* versão 10.0 da *StatSoft*. e os resultados encontram-se no Quadro I, onde E é o Número de iodo em mg de iodo/ g de carvão ativado. Com base nos resultados construiu o Gráfico 1.

**Quadro I:** Resultados da análise de número de iodo das amostras

<b>Amostra</b>	<b>E<sub>1</sub> (mg.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>E<sub>2</sub> (mg.g<sup>-1</sup>)</b>	<b>E<sub>3</sub> (mg.g<sup>-1</sup>)</b>
<b>CA sem prata</b>	1450	1412	1507
<b>CA 0,0295%</b>	1969	1969	1969
<b>CA 0,0660%</b>	2237	2218	2290
<b>CA 0,0845%</b>	2234	2120	2250
<b>CA 0,1907%</b>	2371	2335	2372
<b>CA 0,2214%</b>	2351	2343	2357



**Gráfico 1:** Resultados da análise de número de iodo das amostras do carvão ativado sem e com prata impregnada.

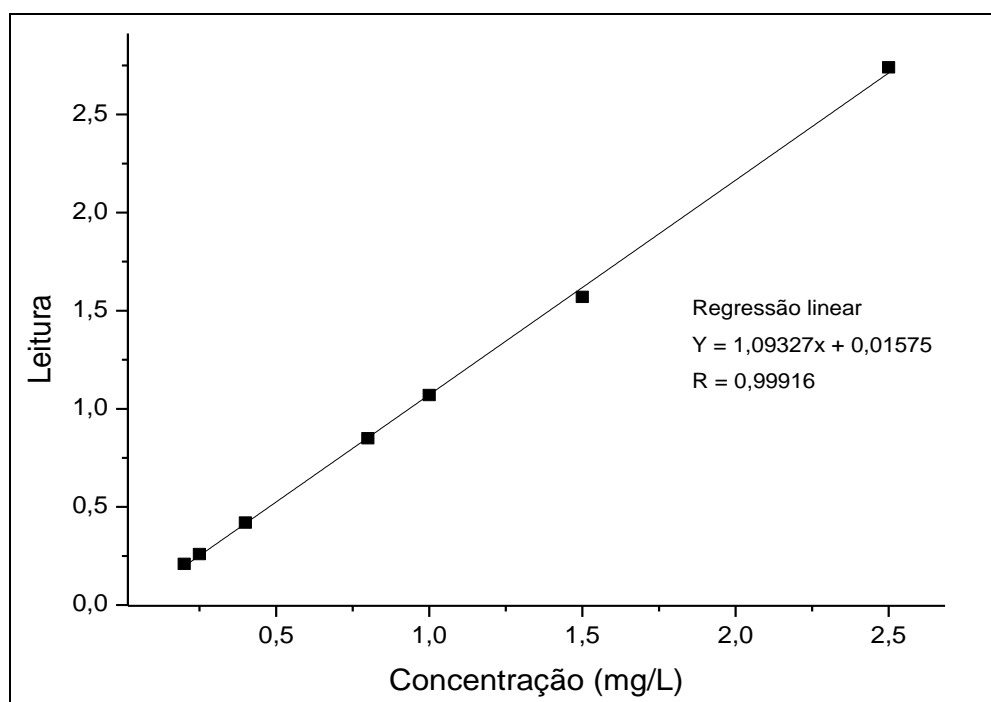
Esperava-se que à medida que a concentração do metal no carvão ativado fosse aumentando, gradativamente a adsorção do iodo adsorvido pelo carvão fosse diminuindo (ARAKAWA *et al*, 2013). O aumento da área superficial com o aumento na quantidade de prata pode ser devido ao tratamento térmico na impregnação, pois com a alta temperatura alguns materiais porosos podem ter sua estrutura porosa alterada e não constante (COLLE *et al*, 2008).

## **5.2 CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA**

### **5.2.1 QUANTIFICAÇÃO DE METAIS IMPREGNADOS DO CARVÃO ATIVADO**

Foram preparados padrões e construiu-se uma curva de calibração (Figura 3). Os resultados das porcentagens de prata nominal e experimental estão na Tabela 1.

**Figura 3:** Curva de Calibração da concentração de prata impregnada no carvão ativado.



A faixa para a curva foi escolhida com base na janela de concentração das amostras que variaram de 0,025% a 0,25%, o que equivale a uma variação de 25 a 250mg/L a partir das diluições utilizadas a curva de calibração construída apresentou coeficiente de correlação de 0,99916.

**Tabela 1:** Porcentagem de prata impregnada nominal e experimental.

Porcentagem de prata nominal(%)	Porcentagem de prata experimental(%)	Desvio padrão
0,025	0,0295	0,0010
0,080	0,0660	0,0003
0,100	0,0845	0,0014
0,200	0,1907	0,0006
0,250	0,2214	0,0014

Os resultados mostraram que as porcentagens de prata impregnadas nas amostras apresentaram poucas variações em relação às concentrações teóricas,



com coeficiente de correlação próximo de 1. O valor mais distante da concentração teórica é da amostra de 0,0295% que pode ser devido à análise de uma amostra com impregnação de prata não homogênea na superfície do carvão ativado. Entretanto os resultados foram satisfatórios, mostrando concentrações reais de prata nas amostras.

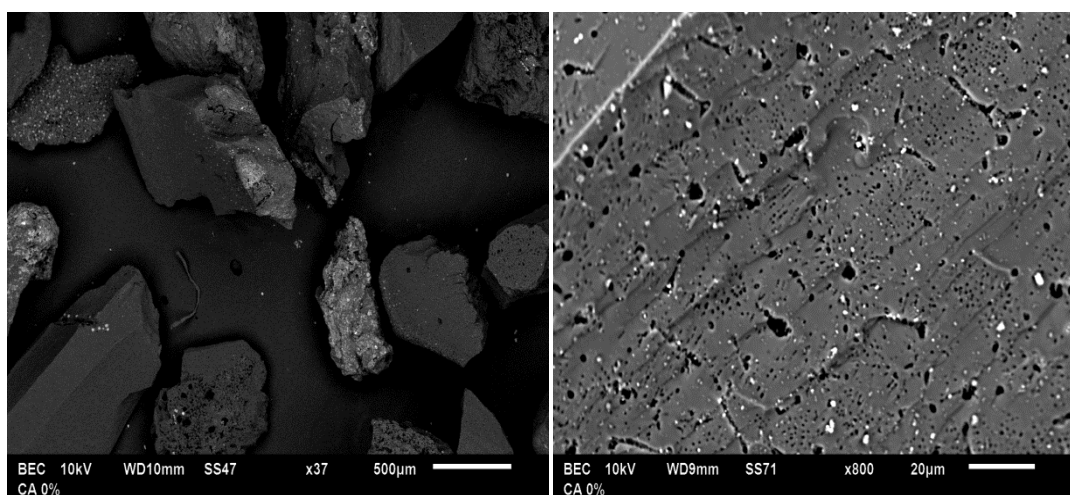
## 5.2.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) ACOPLADA AO ESPECTRÔMETRO DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

A fim de se obter informações sobre a morfologia e identificação de elementos químicos presentes nas amostras de carvão 0%, 0,025%, 0,1% e 0,25% de prata, suas características microestruturais foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada ao espectrômetro de energia dispersiva (EDS). Os resultados fornecem informações sobre a distribuição da prata na superfície do carvão ativado e ainda uma composição química elementar aproximada.

### 5.2.2.1 ANÁLISE DO CARVÃO SEM PRATA

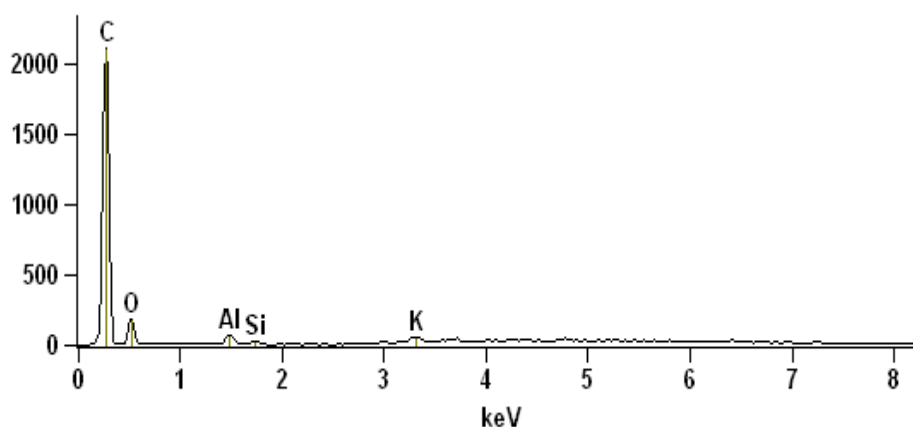
A Figura 4 representa as imagens obtidas através da microscopia eletrônica de varredura do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*), com imagens retroespalhadas que permitem analisar a composição.

**Figura 4:** Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) pelo MEV em um aumento de x37 e x800.



De acordo com a Figura 4, sugere-se que a estrutura carbonácea apresenta poros na superfície deste material. Ainda para esta imagem fez-se também a análise por EDS, Figura 5, onde se pode verificar uma quantificação elementar pontual média que relata a existência de alguns elementos presentes na amostra analisada. Não foi calculada a proporção de cada elemento devido à fração em massa não apresentar resultados confiáveis já que o material precisou ser recoberto com carbono condutor, parte do pico do carbono pode ser tanto da amostra quanto do recobrimento e também devido às proporções serem calculadas em relação ao elemento de maior porcentagem. As variações de tons demonstram composição diferente de elementos químicos, a diferença de composição é devido à diferença de número atômico (Z). Os pontos mais claros indicam elementos com Z maiores.

**Figura 5:** Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*).

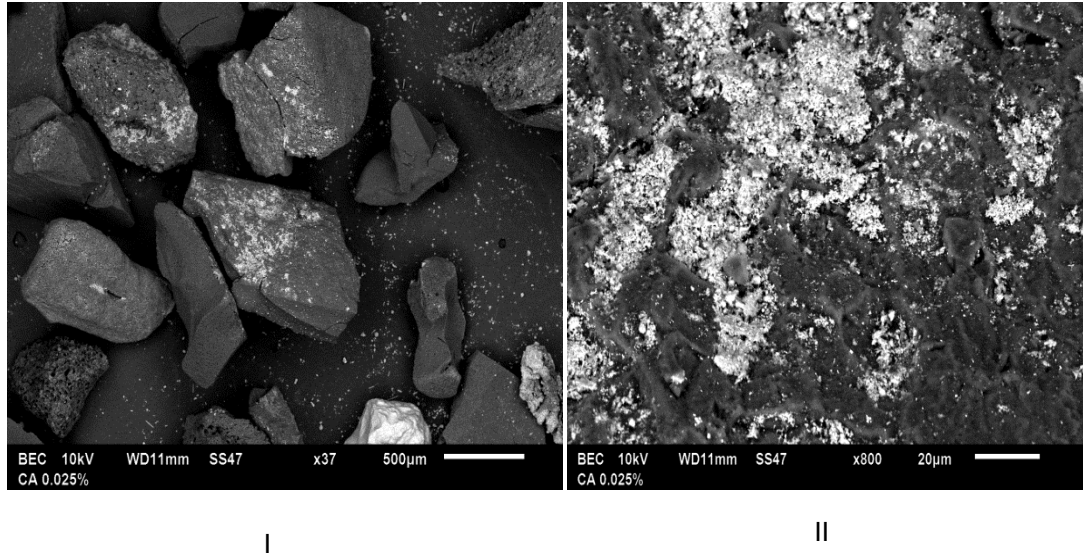


Pode-se observar que o carvão ativado é constituído basicamente por carbono, oxigênio, silício e potássio. O elemento alumínio do espectro pode ter sido identificado quando parte do feixe de luz atingiu o suporte onde estava o material.

#### 5.2.2.2 ANÁLISE DO CARVÃO COM 0,025%, 0,1% E 0,25% DE PRATA IMPREGNADA (Teórica).

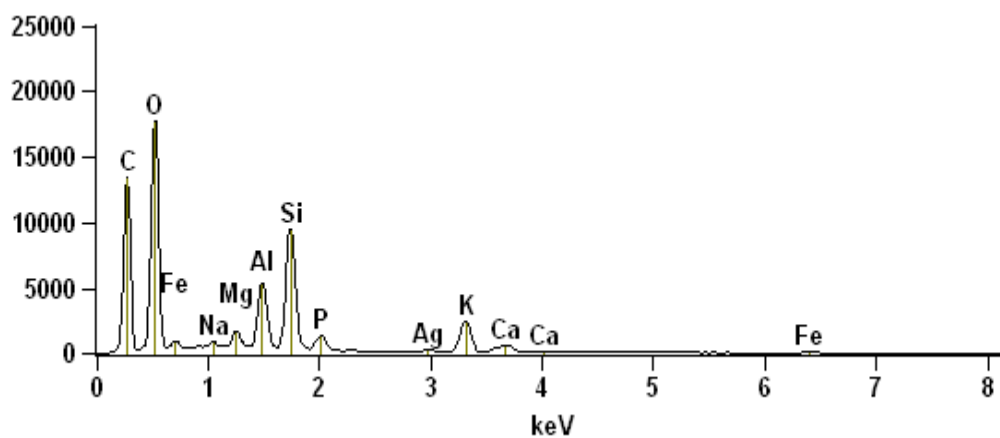
As Figuras 6, 8 e 10 representam a estrutura dos carvões ativados impregnados com prata.

**Figura 6:** Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,025% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).



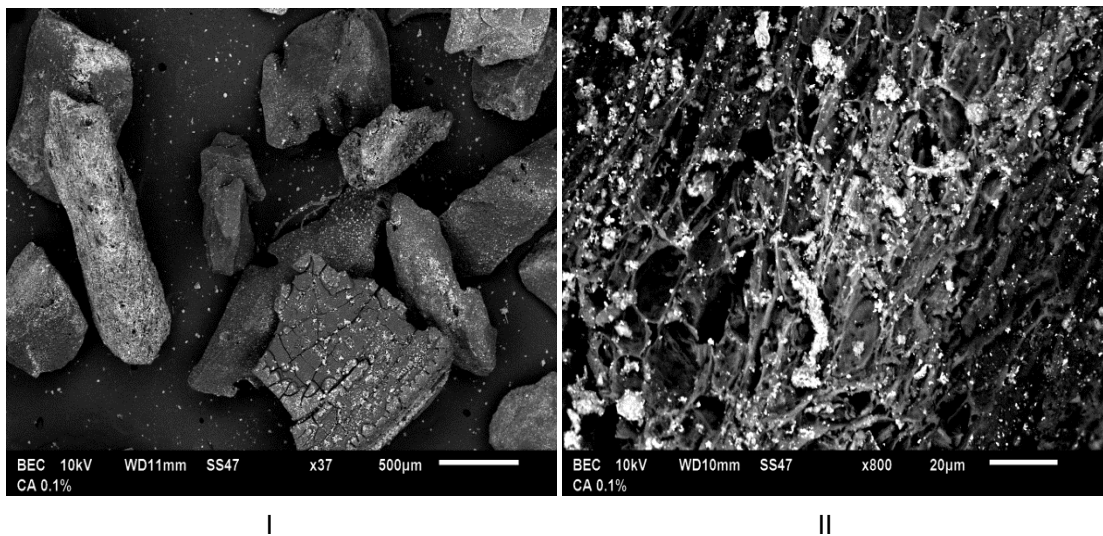
A análise foi realizada em sítios de grãos do carvão ativado. A Figura 6 indica a detecção de prata na superfície da amostra (pontos mais claros) e percebe-se uma aglomeração das partículas do metal em alguns pontos. Para esta imagem fez-se também a análise por EDS, Figura 7.

**Figura 7:** Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,025% de prata.



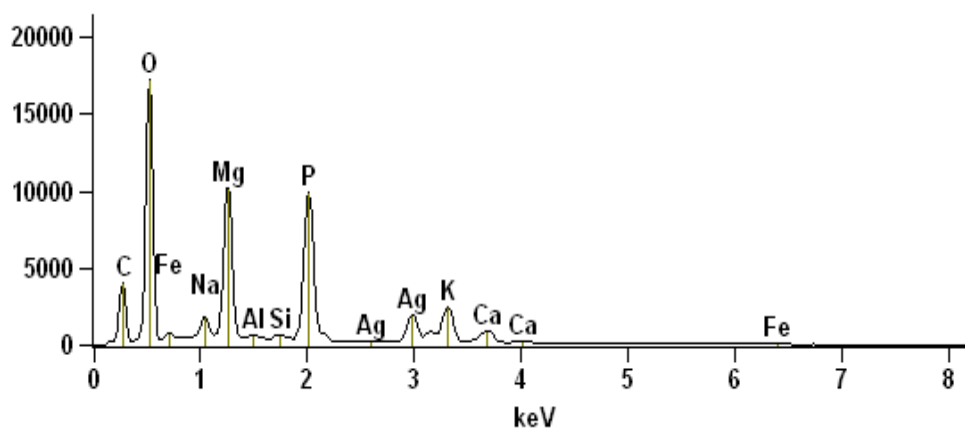
Com base na Figura 7 pode-se afirmar que a amostra de carvão ativado é constituída basicamente por carbono, oxigênio, silício e potássio. O espectro identificou ainda a presença de prata mesmo com intensidade baixa.

**Figura 8:** Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,1% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).



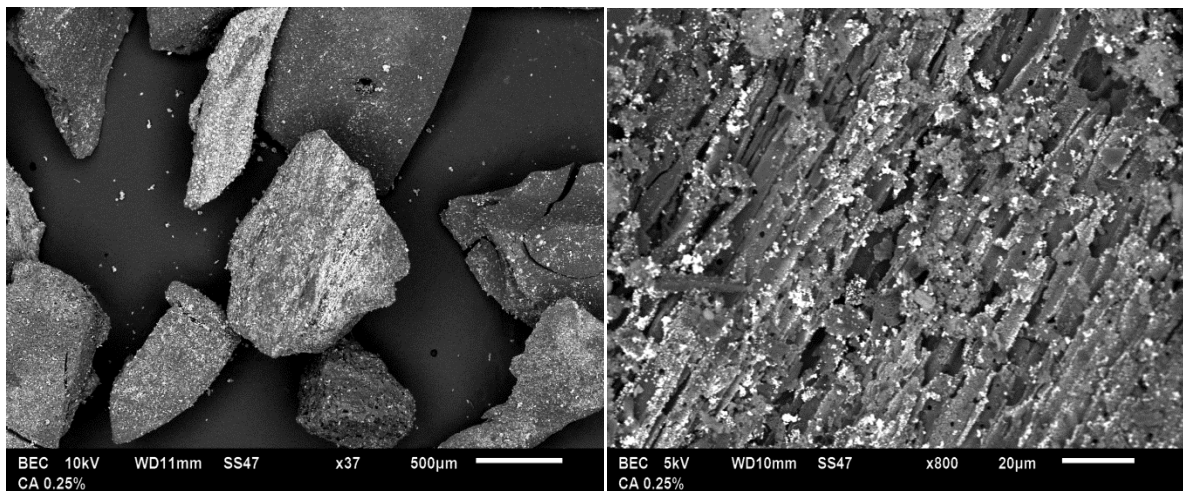
A Figura 8 mostra a imagem do material onde é possível a observação de presença de prata ao longo da superfície da amostra, com números de pontos mais claros que a amostra de carvão 0,025%, ou seja, com maior quantidade de prata distribuída. Fez-se também análise por EDS (Figura 9).

**Figura 9:** Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,1% de prata.



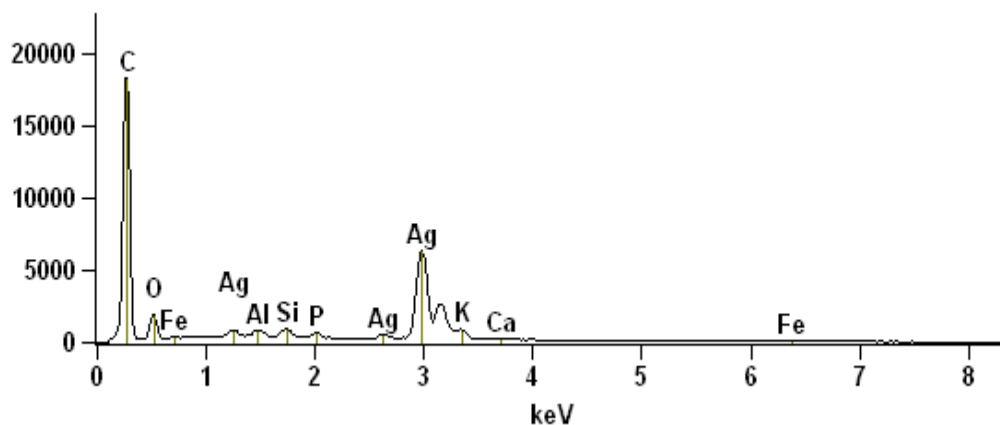
O espectro da análise da energia dispersiva da amostra de CA 0,1% de Ag mostrou sua composição elementar. Observa-se presença dos elementos, carbono, oxigênio, sódio, magnésio, fósforo, cálcio e prata com um pico de maior intensidade que o CA 0,025% de Ag.

**Figura 10:** Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,25% de prata pelo MEV em um aumento de x37 e x800 (I e II).



A avaliação do CA 0,25% de Ag, quanto a sua estrutura morfológica (Figura 10) e também quanto a sua composição elementar média gerada pela análise pelo EDS apresentada na Figura 11. Como já se esperava o CA 0,25% apresentou área extensa impregnada com prata.

**Figura 11:** Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,25% de prata.



A composição elementar média do CA 0,25% de Ag confirmou presença de carbono, oxigênio, ferro, sílica, fósforo, potássio, cálcio e prata com o maior pico de intensidade das amostras analisadas. Vale ressaltar que quanto à quantificação dos elementos pelo método EDS quando empregado como agente de metalização-Grafite (carbono condutor) deve-se considerar a não exatidão das concentrações, pois este elemento altera as concentrações de carbono existentes e até mascara a determinação dos outros em menor composição, por isso esse ensaio apresenta apenas caráter de verificação.

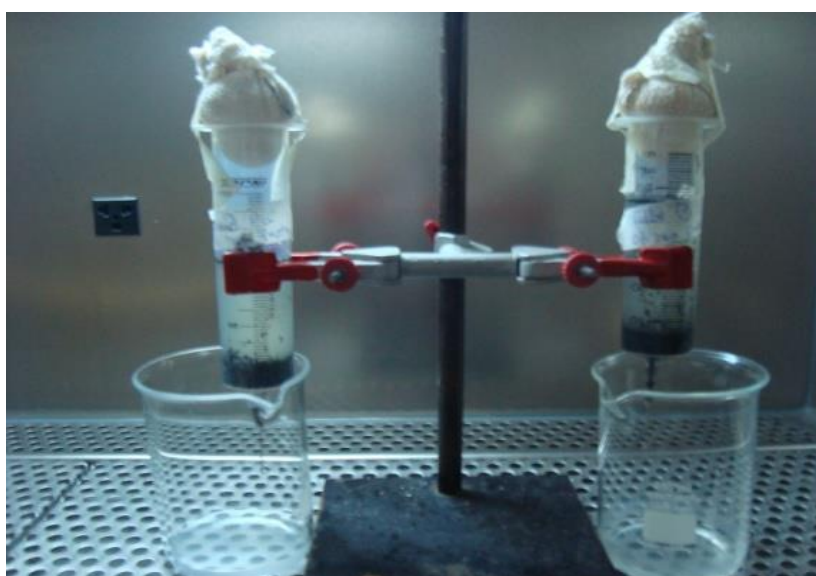
As análises por MEV e EDS das diferentes amostras foram efetuadas com o intuito de comprovar a possível presença de prata na superfície das amostras em questão.

### **5.3 ENSAIOS DE CRESCIMENTO DO BIOFILME**

#### **5.3.1 DESENVOLVIMENTO DO FILTRO**

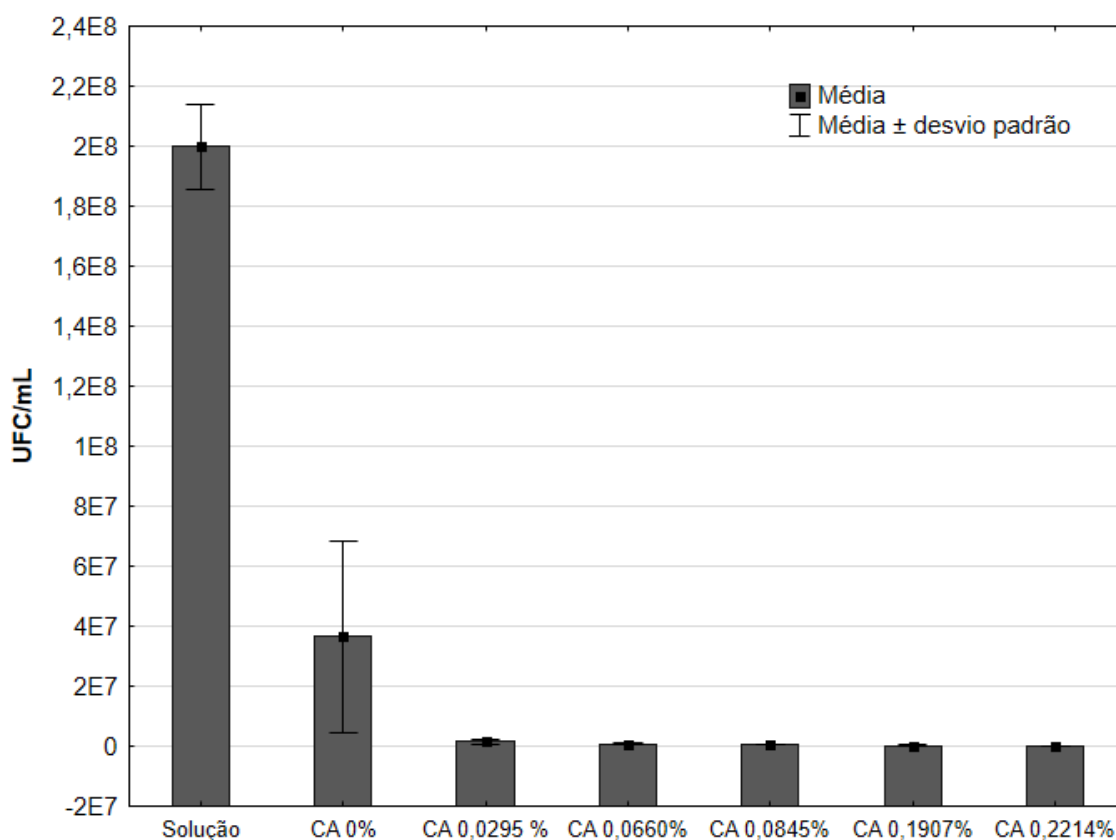
Foram construídos dois filtros para cada amostra de carvão ativado conforme mostra a Figura 12, a água de prova foi filtrada, sendo que as durações das filtrações variaram de 2 a 4h até que praticamente todo o filtrado fosse recolhido. Para melhor análise dos resultados da contagem das UFC da *P. aeruginosa* nas amostras (Tabela 2) foram construídos dois gráficos, devido à grande diferença dos resultados, que se encontram nos Gráficos 2 e 3.

**Figura 12:** Sistema piloto de filtração.

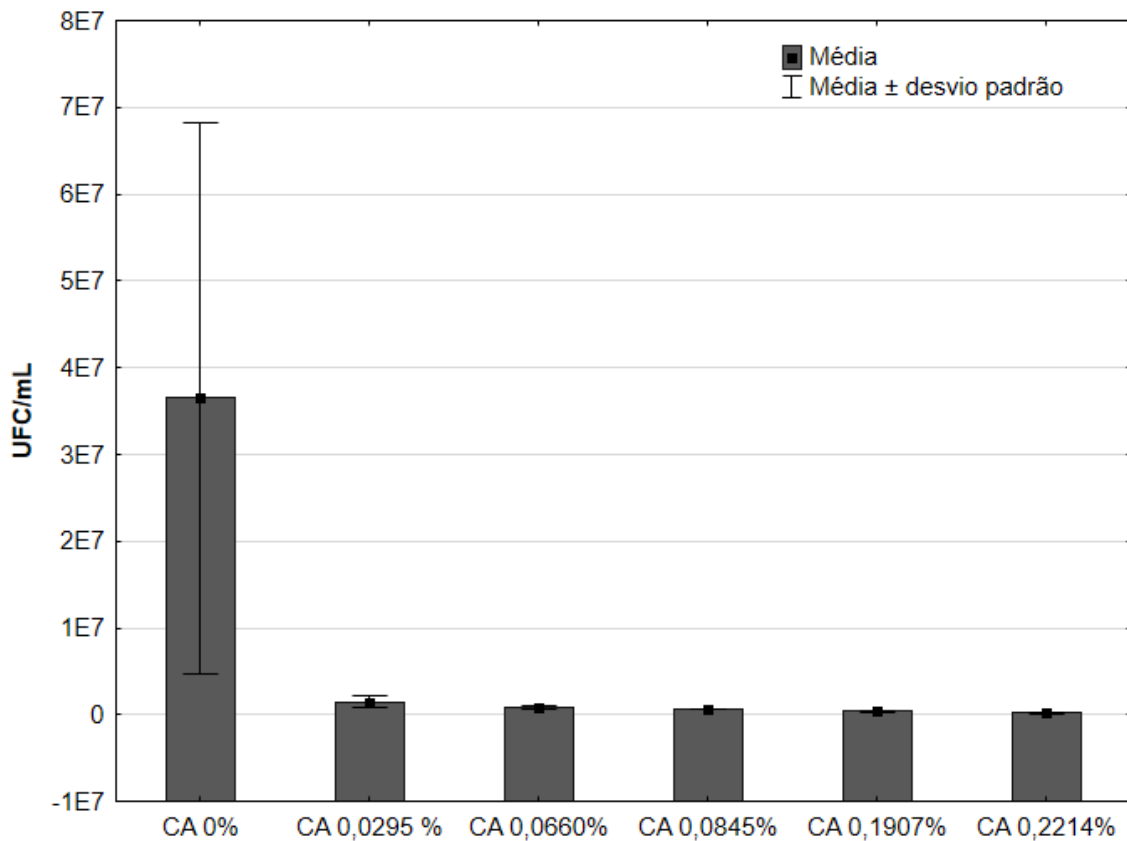


**Tabela 2:** Resultados das UFC/mL dos filtros com carvões ativados sem prata (CA 0% m/m) e impregnados com prata (% m/m).

Amostra	UFC/mL
CA 0%	$> 3,0 \times 10^7$
CA 0,0295%	$> 1,5 \times 10^6$
CA 0,0660%	$7,6 \times 10^5$
CA 0,0845%	$6,8 \times 10^5$
CA 0,1907%	$3,7 \times 10^5$
CA 0,2214%	$1,9 \times 10^5$



**Gráfico 2:** Resultados da contagem das UFC/mL da água de prova e dos filtros com carvões ativados sem e com prata impregnada.



**Gráfico 3:** Resultados da contagem das UFC/mL dos filtros com carvão ativado impregnado com prata nas diferentes concentrações.

Analisando os valores dos desvios padrões no Gráfico 2 observa-se que os valores não se distanciaram muito da média, sendo que os maiores desvios ocorreram na determinação de colônias na água de prova e no filtro com carvão ativado sem prata, o que pode ser explicado devido à grande quantidade de colônias ( $> 3,0 \times 10^7$ ). Entretanto, os resultados foram bastante regulares e mostraram boa reprodutibilidade.

A solução da água de prova usada na filtração apresentou contagem de  $2,0 \times 10^8$  UFC/mL, quando comparada a contagem de  $3,0 \times 10^7$  no filtro com carvão ativado sem prata já mostra uma diminuição de 1 Log. Ao se analisar os resultados das amostras de carvão quando se compara os valores dos carvões sem prata e com prata, há uma diferença de 1 log para o carvão 0,0295% e de 2 log para as demais amostras. É possível considerar ainda que à medida que a concentração do metal aumentava o número de colônias da bactéria diminuía. No entanto, a prata impregnada mostrou potencial atividade bacteriostática e não bactericida devido ao



resultado linear nas amostras com diferentes concentrações, conservando o mesmo log.

Sebastiany (2013) avaliou o efeito antimicrobiano do carvão ativado da casca de coco de dendê impregnado com prata nas concentrações de 0,0280% e 0,0662% (m/m), frente à *Pseudomonas aeruginosa*, e verificou contagem de  $1,6 \times 10^4$  UFC/mL para a menor concentração e  $2,8 \times 10^5$  UFC/mL para a maior, sugerindo que o tempo de filtração teve implicação fundamental na contagem das colônias, já que no filtro contendo a maior concentração do metal, apresentou maior tempo de filtração e conseqüentemente quantidade de colônias superior. Entretanto aludi-se que os resultados não apresentaram diferenças significativas e uma concentração de prata ótima para trabalho.

Santos (2010) sintetizou biocidas inorgânicos em forma de pós a base de dióxido de titânio com prata ( $\text{Ag/TiO}_2$ ) e dióxido de titânio com dióxido de silício impregnado com prata ( $\text{Ag/TiO}_2\text{-SiO}_2$ ) e verificaram suas aplicações na sanitização de águas contaminadas com micro-organismos das cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Os testes foram feitos adicionando 1mL da solução contendo as bactérias na concentração de  $2,0 \times 10^4$  UFC/mL em placas contendo 0,1 mg dos biocidas inorgânicos e cobertos com ágar padrão (*Plate Count Agar* - PCA). A atividade microbiocida observada nos sistemas foi atribuída em maior parte à presença de prata que ao suporte de  $\text{TiO}_2$ , que contribuiu na inativação somente na presença de luz.

No Gráfico 3, observa-se a relação entre a concentração de prata e o número de unidades formadoras de colônias. Verifica-se que as colônias da bactéria *P. aeruginosa* diminuíram com o aumento da concentração de prata. Esta observação está em acordo com o estudo de Kora e Arunachalam (2010) com nanopartículas de prata, onde é evidenciado que a atividade bactericida das nanopartículas do metal dependem tanto da sua concentração quanto do número de bactérias iniciais. A prata portanto apresentou atividade bacteriostática inibindo o desenvolvimento da *P. aeruginosa* reforçando que o uso da prata tem um papel fundamental em filtros domésticos.

### 5.3.1.1 EFEITO DE ANTIOXIDANTES SOBRE A ATIVIDADE INIBITÓRIA DO CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA

Para estudar a possível forma em que a prata se encontrava ligada ao carvão ativado (prata metálica ou iônica) foi utilizado o antioxidante ácido ascórbico (AA). Foram montados um filtro controle e um filtro com o antioxidante (AA). Após o período de incubação as colônias viáveis foram contadas. Na contagem das colônias do filtro controle foi possível verificar a presença das colônias que cresceram. Entretanto, no filtro onde foi adicionado o ácido ascórbico a redução das colônias foi 100%, não foi observada a presença de nenhuma colônia.

Kora e Arunachalam (2011) verificaram que o uso do antioxidante em amostras de nanopartículas de prata resultou na sobrevivência de 100% das colônias, ou seja, o ácido eliminou as espécies reativas de oxigênio produzidas pela prata, isso pode ser devido ao ácido *L*-ascórbico ter um grande potencial de redução e por isso ser capaz de gerar reações de complexação e óxido-redução com alguns íons metálicos de transição, tais como o ferro, cobre, cobalto e prata. A prata iônica livre é capturada pelo ácido ascórbico e forma um complexo  $[AgAA]^-$  (FORNARO e COICHEV, 1998).

No ensaio do carvão ativado impregnado com prata na presença de ácido ascórbico, observou-se redução total de colônias de *P. aeruginosa*. Este resultado sugere que a prata presente no carvão ativado está na forma iônica, visto que, caso tivesse na forma metálica, não seria observado qualquer inibição, conforme mostrado por Kora e Arunachalam (2011). Portanto, sugere-se que a prata impregnada pode se complexar com o ácido ascórbico formando o complexo  $[AgAA]^-$ , o qual possui atividade bactericida contra *P. aeruginosa* superior aos íons prata livres.

## 6 CONCLUSÃO

- O carvão ativado da casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) apresentou uma porosidade relativamente alta, mostrando grande área superficial, número de iodo e presença de minerais solúveis.
- As concentrações experimentais de prata impregnada nas amostras de carvão ativado se aproximaram das concentrações nominais, mostrando uma impregnação eficiente.
- Sugere-se que a prata impregnada no carvão ativado se encontra na forma iônica.
- A prata mostrou atividade bacteriostática, diminuindo o número de colônias de  $>3,0 \times 10^7$  para  $1,9 \times 10^5$  UFC/mL da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, detendo seu crescimento e dificultando a sua proliferação.
- Os resultados mostraram que a atividade antimicrobiana da prata é dependente da concentração do metal, pois o número de colônias decrescia com o aumento da concentração do metal, entretanto o melhor resultado foi obtido com o carvão ativado impregnado com a menor concentração de prata utilizada (0,0295%).

## **7 PERSPECTIVAS FUTURAS**

Visando melhorar e entender o mecanismo de ação antimicrobiano dos metais, sugere-se:

- a) Determinação da menor concentração de prata a ser utilizada necessária para exercer o efeito bacteriostático esperado;
- b) Avaliação da distribuição da prata impregnada sobre a superfície do carvão ativado através de uma análise detalhada utilizando Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS);
- c) Aplicação de outros metais como zinco e cobre em substituição a prata para estudo do efeito antimicrobiano.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTONELLI, E. J. **Padrão de produção de óxido nítrico e citocinas pró e antiinflamatórias em pacientes com úlcera de pressão suplementados com ácido ascórbico.** Tese (Mestrado), Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba-MG, 2007.

ARAKAWA, F.S.; SHIMABUKU, Q.L.; COLDEBELLA, P.F.; CAMACHO, F.P.; SILVA, F.A.; WURZLER, G.T. MARTINS, T.B.; BAZANA, S.L.; SANTOS, O.A.A.; BERGAMASCO, R. Carvão ativado granular impregnado com zinco para remoção de bactérias da água para consumo humano. **Exacta**, Belo Horizonte, vol. 6, n. 2, p. 1-11, 2013.

ARAUJO, E. A. **Caracterização físico-química e ação antimicrobiana de nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese.** Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2010.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Carvão ativado pulverizado - Determinação do número de iodo - Método de ensaio.** NBR 12073: Rio de Janeiro, 1991.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Aparelho para melhoria da qualidade de água de uso doméstico – Aparelho por gravidade.** NBR 15176: Rio de Janeiro, 2004.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Aparelho para melhoria da qualidade da água para consumo humano — Requisitos e métodos de ensaio.** NBR 16098: Rio de Janeiro, 2012.

ASTM D 0512-04: ***Test Methods for Chloride Ion In Water.***

ASTM D 2866 – 94: ***Standard Test Method for Total Ash Content of Activated Carbon;*** (Reapproved 1999).

ASTM D 4607 – 94; **Standard Test Method for Determination of Iodine Number of Activated Carbon**; (Reapproved 1999).

ASTM D 5029 – 98; **Standard Test Method for Water Solubles in Activated Carbon**.

ATKINS P.; DE PAULA J. **Físico-química**. Rio de Janeiro-RJ. Editora LTC, 8.ed. vol. 2, p. 322-330, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 2914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**. Publicado no D.O.U em 14/12/2011.

BRITO, J. O.; FILHO, M. T.; SALGADO, A. L. B. **Produção e caracterização do carvão vegetal de espécies e variedades de bambu**. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, IPEF, nº 36, p.13-17, agosto, 1987.

CASAGRANDE, J. J. C. **EFEITO ANTIMICROBIANO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA, COBRE, OURO E NÍQUEL CONTRA STREPTOCOCCUS MUTANS**. Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia da Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, com Linha de Pesquisa em Saúde, Criciúma-SC, 2010.

CAVASSIN, E. D.; BELEI, R. A.; PACHENSKI, L. R.; OLIVEIRA, C. H.; CARRILHO, C. M. D.; PERUGINI, M. R. E. Análise microbiológica de água filtrada por filtros domésticos em ambiente hospitalar. **Semina: Cio Biol. Saúde**, Londrina, vol. 20/21, n. 2, p. 49-56, jun. 1999/2000.

CHAVES, L. C. D. **Estudo da Cinética de Formação de Biofilmes em Superfícies em Contacto com Água Potável**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia do Ambiente), Departamento de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, 2004.

CLAUDINO, A. **PREPARAÇÃO DE CARVÃO ATIVADO A PARTIR DE TURFA E SUA UTILIZAÇÃO NA REMOÇÃO DE POLUENTES**. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2003.

CLEMO, B. Ultra-Fresh Silpure A nova geração antimicrobiana baseada na nanotecnologia da prata. **Química Têxtil**, n.80, p. 14-18, setembro, 2005.

COLLE, R. D.; HANEDA, R. N.; LONGO, E.; GODINHO, M. J.; FONTES, S. R. Método de impregnação química aplicado em tubos microporosos e membranas tubulares para microfiltração de emulsões e suspensões de bactérias. **Química Nova**. Cerâmica vol. 54 nº. 329, São Paulo, Janeiro/Março, 2008.

DE OLIVEIRA, M. M. M. **Óleos essenciais no controle de biofilmes bacterianos: *Listeria monocytogenes* E *Escherichia coli* ENTEROPATOGÊNICA**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Lavras, p. 18-20, 2011.

FERREIRA, J. A. B. **Diversidade genética, perfil de resistência aos antimicrobianos e produção de biofilmes de amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas da água utilizada em unidades de terapia renal substitutiva**. Dissertação de mestrado, Rio de Janeiro, 2009.

FORNARO, A.; COICHEV, N. Ácido L-ascórbico: reações de complexação e de óxido-redução com alguns íons metálicos de transição. **Química Nova**, vol. 21, nº.5, São Paulo, Setembro/Outubro, 1998.

FRANSCISCO, B. D. L. R. **Avaliação de filtro domiciliar de carvão ativado impregnado com prata na remoção de clorofórmio presente na água tratada**. Dissertação de Mestrado em Tecnologia ambiental, Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas, Universidade de Ribeirão Preto, 2008.

FUENTEFRIA, D. B.; FERREIRA, A. E.; GRAF, T.; CORÇÃO, G. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Setembro/Outubro, 2008.

GELDREICH, E. E.; TAYLOR, R. H.; BLANNON, J. C.; REASONER, D. J. Bacterial colonization of point-of-use water treatment devices. **J Am Water Works**, vol.77, p.72-80. 1985.

GUERRA, N. M. M., OTENIO, M. H.; SILVA, M. E. Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C. V.;UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B.P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal**. Maringá, vol. 28, n. 1, p. 13-18, Janeiro/Março, 2006.

GUIMARÃES, I. S. **Oxidações de carvão ativado de endocarpo de coco da baía com soluções de HNO<sub>3</sub> e uma investigação sobre o método de Boehm**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa-PB, 2006.

ISLAM, M. M.; MASUM, S. M.; MAHBUB, K. R.; HAQUE, M. Z. Antibacterial Activity of Crab-Chitosan against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Journal of Advanced Scientific Research**. p. 63-66, 2011.

JEFFERSON, K. K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS Microbiology Letters**, vol. 236, P. 163–173, 2004.

JONES, C. M.; HOEK, E. M. V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. **J Nanopart Res**, p.1531–1551, 2010.

JUNIOR, O. F. C. **Produção de carvão ativado a partir de produtos residuais de espécies nativas da região amazônica**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica), Manaus-AM, 2010.

KATSIKOIANNI, M.; MISSIRLIS, Y.F. Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. **European Cells and materials**, vol. 08, p. 37-57, 2004.

KORA, A. J.; ARUNACHALAM, J. Assessment of antibacterial activity of silver nanoparticles on *Pseudomonas aeruginosa* and its mechanism of action. **World J Microbiol Biotechnol** 27, p.1209–1216, 2011.



LEMOS, J. C.; LIMA, S. C. A geografia médica e as doenças infecto-parasitárias. **Caminhos de geografia**, p.75-78, junho, 2002.

LE PAPE, H., SERENA-SOLANO S.; CONTINI, P.; DEVILLERS, C.; MAFTAH, A.; LEPRATA, P. Evaluation of the anti-microbial properties of an activated carbon fibre supporting silver using a dynamic method. **Carbon**, n<sup>o</sup>. 40, p.2947–2954, 2002.

LE PAPE, H., SERENA-SOLANO S.; CONTINI, P.; DEVILLERS, C.; MAFTAH, A.; LEPRATA, P. Involvement of reactive oxygen species in the bactericidal activity of activated carbon fibre supporting silver Bactericidal activity of ACF(Ag) mediated by ROS. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n<sup>o</sup>. 98, p.1054–1060, 2004.

LOUREIRO, L. F. **Avaliação de adsorção do herbicida 2,4-D em carvão ativado em pó e granular por meio de análises de isotermas de adsorção utilizando diferentes qualidades de água.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória-ES, 2012.

MACEDO, J. A. B. Biofilmes Bacterianos, uma Preocupação da Indústria de Farmacêutica. **Revista Fármacos & Medicamentos**, vol. 2, n<sup>o</sup>. 7, p. 19-24, Novembro/Dezembro, 2000.

MITSUMORI, N.; TAKEDA, C.; MIYASACO, H. Nippon Shinyaku Company, Limited (Kyoto, JAPAN). Method of treating silver impregnated activated carbon. **United States Patent** US 4045553. 1977 Agosto 30.

MORENO, R. M.; ALBUQUERQUE JUNIOR, E. C.; FRANCO, T. T. Predição da porosidade e capacidade de adsorção em carvões ativados utilizando iodo e azul de metileno. **Artigo VI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**, UNICAMP, 2005.

OLIVEIRA, K. C. C. **Subprodutos da Agroindústria na Suplementação de Búfalos para Produção de Carne em Sistemas Silvopastoris em BELÉM-PA.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, p.17-18, 2011.

PAVIANI, E. R.; STADINIK, C. B.; HEINEK, I. Estudo da Epidemiologia e Perfil de Sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. **Infarma**, vol. 15, 11-12, Novembro/Dezembro, 2003 - Janeiro/2004.

PEDRO, N. A. R.; BRIGIDO, B. M.; BADOLATO, M. I. C.; ANTUNES, J. L. F.; OLIVEIRA, E. Avaliação de Filtros Domésticos Comerciais para purificação de Águas e Retenção de Contaminantes Inorgânicos. **Química Nova**, vol. 20, nº2, p.208-212, Março/Abril, 1997.

PEREIRA, W. S., FREIRE R. S. Ferro zero: uma nova abordagem para o tratamento de águas contaminadas com compostos orgânicos poluentes. **Química Nova**, vol. 28, 2005.

RECOUVREUX, D. O. S. **Produção de Celulose Bacteriana: Identificação do Operon *bcs* e Produção de Biofilme Celulósico por *Chromobacterium violaceum***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Centro Tecnológico, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2004.

SANTOS, J. M. **Desenvolvimento de biocidas inorgânicos a base de óxidos de titânio e silício com prata para desinfecção de águas contaminadas com microrganismo**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 2010.

SEBASTIANY, L. K. **Atividade antimicrobiana de carvão ativado impregnado com prata**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual de Goiás, 2013.

SOARES, S. R. A.; BERNARDES, R. S.; CORDEIRO NETTO, O. M.; Relações entre saneamento, saúde pública e meio ambiente: elementos para formulação de um modelo de planejamento em saneamento. **SciELO**, Cadernos de saúde pública, vol.18, nº 6, Rio de Janeiro Novembro/Dezembro, 2002.

SNYDER JR, J.W.; MAINS, C.N.; ANDERSON, R.E.; BISSONNETTE, G.K. Effect of Point-of-Use, Activated Carbon Filters on the Bacteriological Quality of Rural Groundwater Supplies. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 61, nº. 12, p. 4291–4295, Dezembro, 1995.

SU F.; LUO M.; ZHANG F.; LI P.; LOU K.; XING X. Performance of microbiological control by a point-of-use filter system for drinking water purification. **Journal of Environmental Sciences** 21, p.1237–1246, 2009.

TOBIN, R. S.; SMITH, D. K.; LINDSAY, J. A. Effects of Activated Carbon and Bacteriostatic Filters on Microbiological Quality of Drinking Water. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 41, nº. 3, p. 646–651, Março, 1981.

VELTEN, S.; BOLLER, M.; KÖSTER, O.; HELBING, J.; WEILENMANN, H-U.; HAMMES, F. Development of biomass in a drinking water granular active carbon (GAC) filter. **Water research**, vol 45, p. 6347-6354, 2011.

XAVIER, J. B; PICIOREANU, C.; ALMEIDA, J. S.; VAN LOOSDRECHT, M. C. M. Monitorização e modelação da estrutura de biofilmes. **Biomatemática - Modelação da estrutura de Biofilmes** (Boletim de Biotecnologia), nº. 76, p.2-13, 2003.

YANG, F. C.; WU, K. H.; LIU, M. J.; LIN, W. P.; HU, M. K. Evaluation of the antibacterial efficacy of bamboo charcoal/silver biological protective material. **Elsevier, Materials Chemistry and Physics** 113, p. 474–479, 2009.

YANG, F.C.; WU, K.H.; HUANG, J.W.; HORNG D.N.; LIANG, C.F.; HU, M.K. Preparation and characterization of functional fabrics from bamboo charcoal/silver and titanium dioxide/silver composite powders and evaluation of their antibacterial efficacy. **Elsevier, Materials Science and Engineering C**, p. 1062–1067, 2012.

ZHAO, Y.; WANG, Z.; ZHAO, X.; LI W.; LIU, S. Antibacterial action of silver-doped activated carbon prepared by vacuum Impregnation. **Applied Surface Science** 266, p. 67– 72, 2013.