



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS



CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – HENRIQUE SANTILLO

PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

EDUARDO ANDRADE DE OLIVEIRA

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

ANÁPOLIS-GO

2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS



CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – HENRIQUE SANTILLO

PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIAS MOLECULARES

Eduardo Andrade de Oliveira*

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

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Moleculares.

Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos

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

*Bolsista CAPES

ANÁPOLIS-GO

2015

Oliveira, Eduardo Andrade.

ESTUDO DA FORMAÇÃO DE BIOFILMES DE *Pseudomonas aeruginosa* EM CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM COBRE – 2015.

66 folhas. il figuras.

Orientador: Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Goiás, 2015.

1. Carvão Ativado 2. *Pseudomonas aeruginosa* 3. Cobre. I. Título

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

EDUARDO ANDRADE DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao corpo docente do 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 Mestre em Ciências Moleculares.

Aprovada por:



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



Prof. Dr. Renato Rosseto (UEG)



Prof. Dr. Sérgio Botelho de Oliveira (IFG)

**ANÁPOLIS, GO - BRASIL
JULHO, 2015**

*A minha mãe Neusa Maria
de Andrade por me apoiar
e me incentivar sempre a
ser um bom homem.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me dar essa oportunidade.

À minha mãe Neusa Maria de Andrade pelo carinho e apoio concedido. À Rayssa Correa da Silva que esteve ao meu lado incondicionalmente, dando-me força, carinho e todo o incentivo para a concretização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. José Daniel Ribeiro de Campos, por ter me ensinado tudo que eu sei sobre carvão ativado, por sua orientação, 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.

Ao médico Dr. Maxwell Sampaio Gonçalves e sua equipe, grandes profissionais que não medem esforços para salvar vidas. Aos técnicos de laboratório de química e microbiologia da UEG, pelo apoio, por toda ajuda e paciência durante as atividades práticas. Especialmente a minha amiga Letícia Klein Sebastiany e ao técnico Osvaldo Gomes Pinto.

Aos meus amigos que tiveram compreensão quanto a minha ausência nesses últimos meses de mestrado. Em especial, Albine Lucciane, Paula Tomazini, Rafael Camilo, Thiago Skuertou, Carlos Pulicarpo e Cindy Ribeiro, estes que sempre estiveram à disposição de ajudar.

Aos professores por aceitarem participar da banca examinadora.

Muito Obrigado!

RESUMO

Esse trabalho teve por objetivo desenvolver filtros de gravidade com carvão ativado impregnado (CAi) com cobre e verificar sua ação antimicrobiana na formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* observando a possível atividade bactericida do cobre. *Pseudomonas aeruginosa* são micro-organismos capazes de causar infecções de difícil tratamento, com grande resistência a múltiplos antibióticos. Trata-se de um patógeno nosocomial presente em efluentes de origem hospitalar. O cobre foi escolhido por possuir propriedades antimicrobianas e ser objeto de estudos que relacionam a presença de cobre e a ausência de diversos micro-organismos em um mesmo sistema. Foram preparadas 8 amostras de carvões ativados de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) com cobre metálico nas concentrações: 0,031, 0,096, 0,156, 0,165, 0,176, 0,287, 0,436 e 0,915% (m/m) que juntamente com o carvão ativado sem cobre (CA) foram caracterizados quanto ao número de iodo e morfologia pelo método de microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplado ao espectrômetro de energia dispersiva (EDS). As amostras foram testadas na filtração de água contendo *Pseudomonas aeruginosa* na ordem de 10^6 Unidades Formadoras de Colônias por mililitro (UFC/mL). Após o ensaio de filtração, o carvão foi incubado em câmara úmida, à temperatura ambiente por 24h, seguindo a contagem das colônias em UFC/mL. Os resultados obtidos para as amostras de carvões ativados impregnados com cobre indicaram atividade bactericida, pois as amostras conseguiram reduzir de 1 log na contagem de células viáveis, até a eliminação total dos micro-organismos para o carvão ativado com 0,915% (m/m) de cobre. As amostras de CAi não tiveram sua área superficial comprometida pela presença do cobre, pois todas as amostras apresentaram valores próximos quanto ao número de iodo. As impregnações de cobre nos carvões ativados foram eficientes, uma vez que os testes de lixiviação indicaram a redução de 1% de cobre nos respectivos carvões ativados impregnados.

Palavras-chave: Carvão Ativado, *Pseudomonas aeruginosa*, Cobre.

ABSTRACT

This work aimed to develop gravity filters with impregnated activated carbon (iAC) with copper and check its antimicrobial action in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation noting the possible bactericidal activity of copper. *Pseudomonas aeruginosa* are micro-organism that can cause infections difficult to treat, because they are resistant to multiple antibiotics. It is a nosocomial pathogen present in hospital source effluents. Copper was chosen to possess antimicrobial properties and to be the subject of studies that relate the presence of copper and the absence of several micro-organisms in one system. 8 samples were prepared activated coal of dendê's coconut shell (*Elaeis guineensis*) with copper at concentrations of: 0.031, 0.096, 0.156, 0.165, 0.176, 0.287, 0.436 and 0.915% (m/m) which together with activated carbon without copper (AC) were characterized as the number of iodine and morphology by scanning electron microscopy method (SEM) coupled with energy dispersive spectrometer (EDS). The samples were tested in the filtration of water containing *Pseudomonas aeruginosa* in the order of 10^6 colony forming units per milliliter (CFU/mL). After filtration testing, the coal was incubated in a humidified chamber at room temperature for 24 hours, following the counting of the colonies in CFU/mL. The results obtained for activated carbon samples impregnated with copper showed bactericidal activity because the samples were able to reduce 1 log in viable cell count, until the total elimination of microorganisms to the activated carbon with 0.915% copper. The samples of (iAC) didn't have a surface area affected by the presence of copper, because all samples showed regularly as the iodine number. The copper impregnations on activated carbon were effective, since leaching tests indicated a reduction of 1% copper of respective activated carbon.

Keywords: Activated Carbon, *Pseudomonas aeruginosa*, Copper.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1 A ÁGUA – VETOR DE CONTAMINANTES.....	16
3.2 FILTROS DOMÉSTICOS COM CARVÃO ATIVADO.....	18
3.3 BIOFILMES MICROBIANOS EM CARVÃO ATIVADO.....	19
3.3.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22
3.4 COBRE COMO AGENTE ANTIBACTERIANO.....	22
3.4.1 Mecanismo Antimicrobiano do Cobre.....	24
3.4.2 Carvão Ativado Impregnado com Cobre (CAi).....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO (CA).....	27
4.1.1 Determinação do Teor de Cinzas.....	27
4.1.2 Determinação de Solúveis.....	27
4.1.3 Determinação do Número de Iodo.....	27
4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS).....	28
4.2 IMPREGNAÇÃO DE COBRE NA SUPERFÍCIE DO CARVÃO ATIVADO.....	28
4.2.1 Preparação do Carvão Ativado Impregnado (CAi) com Cobre nas concentrações: 0,018%, 0,06%, 0,10%, 0,12%, 0,15%, 0,24%, 0,48% e 1,00% m/m.....	28
4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE NAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO.....	28
4.4 CARACTERIZAÇÕES DAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM COBRE (CAi).....	29
4.4.1 Determinação do Número de Iodo.....	29
4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS).....	29
4.5 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	29
4.5.1 Manutenção e Reativação de Cepas Estudadas.....	29
4.5.2 Preparação das Suspensões (Água Desafio) de <i>P. aeruginosa</i>	30
4.5.3 Preparação dos Filtros e Ensaios.....	

4.6 DETERMINAÇÕES DE COBRE LIXIVIADO APÓS AS FILTRAÇÕES	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO (CA).....	33
5.1.1 Determinação do Teor de Cinzas	33
5.1.2 Determinação de Solúveis	34
5.1.3 Determinação do Número de Iodo.....	34
5.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)	35
5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE (CAi).....	37
5.3 CARACTERIZAÇÕES DAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM COBRE (CAi).....	38
5.3.1 Determinação do Número de Iodo.....	38
5.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)	40
5.4 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS.....	46
5.4.1 Preparação dos Filtros e Ensaios	46
5.5 DETERMINAÇÕES DE METAIS LIXIVIADOS APÓS AS FILTRAÇÕES.....	50
6 CONCLUSÃO	54
7 ETAPAS FUTURAS.....	55
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
ANEXOS	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	<i>American Society for Testing Materials</i>
CA	Carvão ativado (não impregnado)
CAi	Carvão ativado impregnado
EDS	Espectrômetro de energia dispersiva
ETA	Estação de tratamento de água
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
UFC	Unidade Formadora de Colônia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (a e b) Distintas fases na formação de biofilmes microbianos.	21
Figura 2: Micrografia de biofilme formado em partículas de carvão ativado. ..	21
Figura 3 (a e b): Teste antibacteriano por zona de inibição. Em (a) o controle, carvão ativado sem cobre. Em (b) carvão ativado com cobre.....	26
Figura 4: Preparação dos filtros com a utilização de seringas de 60 mL. Início de uma filtração com 60 mL de água desáfio em duplicata para uma amostra de CAi.	31
Figura 5 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) por MEV com aumento de x160 e x1000.	36
Figura 6: Micrografia para a amostra de carvão ativado ausente de cobre.....	36
Figura 7: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>).	37
Figura 8 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,031% cobre pelo MEV com aumento de x140 e x1000.....	40
Figura 9: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,031%.	41
Figura 10: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,031% de cobre.	41
Figura 11 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,176% cobre pelo MEV com aumento de x220 e x1000.....	42

Figura 12: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,176%	43
Figura 13: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,176% de cobre.	43
Figura 14: Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,915% cobre pelo MEV com aumento de x110 e x1000.....	44
Figura 15: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,915%.	44
Figura 16: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,915% de cobre.	45
Figura 17: Esquema demonstrando a deposição do cobre no CA e em silicatos.....	46
Figura 18: Esquema representando uma filtração por gravidade em leito fixo de carvão ativado.	47
Figura 19: Gráfico referente aos resultados da contagem das UFC/ml dos filtros com carvões ativados sem e com cobre.....	48
Figura 20: Esquema demonstrando a lixiviação de cobre e formação de biofilme.....	51
Figura 21: Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (<i>Elaeis guineensis</i>) impregnado com 0,031% cobre pelo MEV com aumento de x1000.	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Porcentagem de cobre experimental.	38
Tabela 2: Número de iodo para a amostra de CA e para as amostras de CAi.	39
Tabela 3: Resultados das UFC/mL dos filtros com carvões ativados sem cobre (CA) e com cobre (CAi) após as 24 horas de incubação em câmara úmida a temperatura ambiente.	47
Tabela 4: Lixiviação de cobre das amostras após a filtração.....	50

1 INTRODUÇÃO

Em Estações de Tratamento de Água (ETA) realizam-se de processos físicos e químicos para tornar a água própria para o consumo humano, ou seja, deixá-la dentro dos padrões de potabilidade vigentes no país (SILVA et al., 2006; UDDIN et al., 2014). Atualmente, a Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde dispõe os padrões de potabilidade, para obtenção de uma água com características para o consumo humano (BRASIL, 2011).

Embora a água saia da ETA própria para o consumo humano, ela pode se contaminar no percurso até as residências ou quando armazenada em caixas d'água. Filtros domésticos são utilizados na remoção de partículas em suspensão, compostos orgânicos que causam odor ou sabor à água e do cloro residual adicionado na ETA (LUOTO et al., 2011).

Carvão ativado é um meio filtrante comumente utilizado em filtros domésticos. Com o uso desses filtros, micro-organismos e matéria orgânica retidas na estrutura porosa do carvão ativado formam biofilmes microbianos, obstruindo os poros do carvão ativado e reduzindo a vida útil do meio filtrante (VELTEN et al., 2011; GILBERT et al., 2013). Com o passar do tempo, o biofilme formado pode se desprender do carvão ativado e ser liberado na água filtrada, contaminando-a (PUTZ et al., 2005; EMELKO et al., 2006; FOLADORI, 2015).

Metais com atividade antimicrobiana como: cobre, zinco e prata, são objeto de estudo na eliminação de micro-organismos. Carvões ativados com metais impregnados em sua superfície são utilizados para retardar ou impedir o desenvolvimento de biofilmes microbianos (BYEON et al., 2007; JONES e HOEK, 2010; VELTEN et al., 2011; PRADO et al., 2013; BLEICHERT et al., 2014; ANJUM et al., 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Avaliar a formação de biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* na superfície de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com cobre como meio filtrante em um filtro de leito fixo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Impregnar a superfície de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) com distintas concentrações de cobre.
- ✓ Caracterizar as amostras de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com cobre pela determinação do teor de cinzas, teor de solúveis, determinação do número de iodo e microscopia eletrônica de varredura acoplado a espectrometria de energia dispersiva.
- ✓ Desenvolver um meio filtrante de leito fixo para avaliação da formação de biofilme de *P. aeruginosa* ATCC 9027 na superfície do carvão ativado.
- ✓ Verificar o impacto de diferentes concentrações de cobre na formação de biofilmes de *Pseudomonas aeruginosa* na superfície do carvão ativado.
- ✓ Determinar a quantidade de cobre lixiviado do carvão ativado impregnado com cobre após a filtração.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A ÁGUA – VETOR DE CONTAMINANTES

A água possui diversas aplicações, o que lhe confere grande versatilidade quanto ao consumo do indivíduo, em especial, no uso doméstico, recreativo, industrial e agrícola; é uma substância química indispensável para o organismo humano, uma vez que, todas as reações bioquímicas ocorrem em meio aquoso (BRASIL, 2011; UDDIN et al., 2014).

A aplicação desse recurso hídrico para um determinado fim requer que algumas características estejam dentro dos padrões de uso, como por exemplo, os padrões de potabilidade da água voltada para o consumo humano em conformidade com a Portaria 2914 do Ministério da Saúde de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011). Por outro lado, ao se tratar da água destinada a análises laboratoriais, requer um grau mais acentuado de pureza, uma vez que, é denominada para fins farmacêuticos como ‘água reagente’, e deve seguir os padrões de especificações de algumas agências reguladoras como a *National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS*, atual *Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI*, a *American Society for Testing Materials - ASTM*, e o *College of American Pathologists - CAP* (SILVA et al., 2006).

A ausência ou ineficiência de um serviço de saneamento básico podem fazer com que a água seja depósito de contaminantes físicos, químicos e biológicos, resíduos patogênicos e tóxicos provenientes de despejos industriais *in natura*, lixo doméstico e resíduos hospitalares. Assim, compreende-se que a água funciona como um veículo desses possíveis contaminantes, entre eles, agentes patogênicos responsáveis por uma grande gama de doenças infecciosas (GUERRA et al., 2006; HEWITT et al., 2013; NABEELA et al., 2014). Nesse sentido, diversos estudos apontam a água como transporte de agentes infecciosos ou parasitários como bactérias, vírus e protozoários (LEMOS e LIMA, 2002; JOHNNING, 2013). Entre eles, o pesquisador Snow (1999) investigou através de registros, duas epidemias de cólera entre os anos de 1849 e 1854 em Londres. Por meio da avaliação de tempo e espaço, evidencia a sua pesquisa

as contaminações de pessoas que moravam próximo à bomba de abastecimento público de *Broad Street* com contaminações de outras pessoas que moravam longe, mas que consumiam a mesma água (LEMOS e LIMA, 2002).

Ressalta-se que esses contaminantes podem chegar à água por diversas vias, dentre as quais, a mais comum é o despejo de resíduos industriais em mananciais, águas superficiais, rios e córregos, sem o tratamento prévio adequado por uma estação de tratamento de efluente – ETE (HEWITT et al., 2013). Outra forma comum de contaminação se dá através do carreamento de substâncias químicas como insumos agrícolas e agropecuários: fertilizantes, adubos, corretores de pH e agrotóxicos que podem ser lixiviados através do solo até atingir o lençol freático (PEDRO et al., 1997; PEREIRA e FREIRE, 2005).

Para cada tipo de aplicação, necessita-se de diferentes técnicas de tratamento remoção de contaminantes da água para adequá-la a usos específicos, quer em uma indústria farmacêutica na produção de água para medicamentos injetáveis ou soluções orais, quer em uma indústria de materiais cerâmicos, aplicação em irrigações de solo. Inclui-se nesse rol atividades humanas como recreação e o consumo doméstico propriamente dito. Isso exemplifica que a aplicação da água está diretamente relacionada às suas características que podem ou não exigir altos níveis de qualidade (PEREIRA e FREIRE, 2005; SILVA et al., 2006; I. S. TKACHENKO, S. N. TKACHENKO, e LUNIN, 2015).

Captada de rios, a água bruta é enviada para uma estação de tratamento de água - ETA, e passa por um conjunto de processos físico-químicos que consiste em remover os principais contaminantes. Em uma das etapas de tratamento dessa água, realiza-se a desinfecção, procedimento que objetiva a eliminação de contaminantes de origem microbiológica (PEREIRA e FREIRE, 2005; MATILAINEN, 2006; VORTMANN et al., 2015).

Destaca-se um papel fundamental a etapa de eliminação de contaminantes microbiológicos, e esse processo pode ser realizado através de mecanismos físicos como o uso de luz ultravioleta (UV) ou por mecanismos químicos, como a adição de agentes desinfetantes como: ozônio, hipoclorito de cálcio, hipoclorito de sódio, dióxido de cloro e o gás cloro (NAIDOO e OLANIRAN, 2014).

Apesar do uso de cloro como agente desinfetante ser eficiente na remoção de micro-organismos, essa técnica apresenta algumas desvantagens, de modo que, na presença de matéria orgânica pode ocorrer a formação de organoclorados como trihalometanos, substâncias tóxicas, que uma vez consumidas podem estimular o desenvolvimento de cânceres (GLOVER e ORTIZ, 2013; KRISTIANA et al., 2015).

Intenta-se, dessa maneira, como garantia de uma boa qualidade da água para o consumo direto como bebida, a utilização de filtros domésticos constituídos de cartucho de porcelana porosa com ou sem carvão ativado com a finalidade de remover: partículas em suspensão, materiais orgânicos responsáveis por sabor, odor e cor, além de remover o cloro residual (LUOTO et al., 2011).

3.2 FILTROS DOMÉSTICOS COM CARVÃO ATIVADO

Entende-se que o uso de filtros residenciais com carvão ativado é uma boa alternativa para garantir uma melhoria quanto à qualidade da água. Esses equipamentos auxiliam na remoção de contaminantes como substâncias orgânicas que dão cor, sabor, cheiro e o cloro residual; todavia não são eficientes na remoção de contaminantes de origem microbiológica, como, por exemplo, as bactérias (WALLIS, STAGG e MELNICK, 1974 apud SNYDER et al., 1995; SILVA et al., 2006; FOLADORI, 2015).

A comercialização desses equipamentos, filtros domésticos, é possível mediante a aprovação dos parâmetros de utilização conforme enuncia a norma ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) NBR 16098:2012 que dispõe sobre o aparelho para a melhoria da qualidade da água para o consumo humano – Requisitos e Métodos de Ensaio. A norma em questão estabelece os níveis de retenção de partículas em suspensão, a redução mínima de 75 % de cloro livre além de comprovar a ausência de crescimento de micro-organismos no interior do aparelho, principalmente em repouso (ABNT NBR 16098:2012).

O papel fundamental de um filtro doméstico é a remoção de materiais orgânicos e o cloro livre. Durante o processo de filtração, a matéria orgânica se

deposita sobre a superfície do carvão ativado que pode servir como nutriente de possíveis micro-organismos, que se aderem na superfície do carvão ativado (GILBERT et al., 2013).

Dentro desse processo, observa-se que os micro-organismos metabolizam essa matéria orgânica e desenvolvem-se, formando o biofilme e conseqüentemente ampliando a carga microbiana da água a ser tratada. (CAVASSIN et al., 2000; GUERRA et al., 2006). O maior conteúdo microbiano encontrado em filtros de carvão ativado é aquele detectado pela parte da manhã, devido ao período noturno ter baixa frequência de uso (SILVA et al., 2006).

3.3 BIOFILMES MICROBIANOS EM CARVÃO ATIVADO

As águas a serem tratadas com carvão ativado (CA) podem possuir carga microbiana significativa que ao entrar em contato com a superfície interna do CA, fixam-se e utilizam sua superfície como substrato (VELTEN et al., 2011; GILBERT et al., 2013). Em decorrência da presença de matéria orgânica adsorvida na superfície do CA, os micro-organismos degradam a matéria orgânica como fonte de alimento e desenvolvem-se (GILBERT et al., 2013). A consequência disso é a proliferação do micro-organismo, como a formação de biofilmes microbianos e a conseqüente diminuição da capacidade adsortiva do carvão ativado, promovendo sua saturação precoce. Desta forma, ocorre uma diminuição significativa na vida útil do carvão ativado e, logo necessita de regeneração mais frequente ou mesmo sua substituição imediata (SILVA et al., 2006; GILBERT et al., 2013).

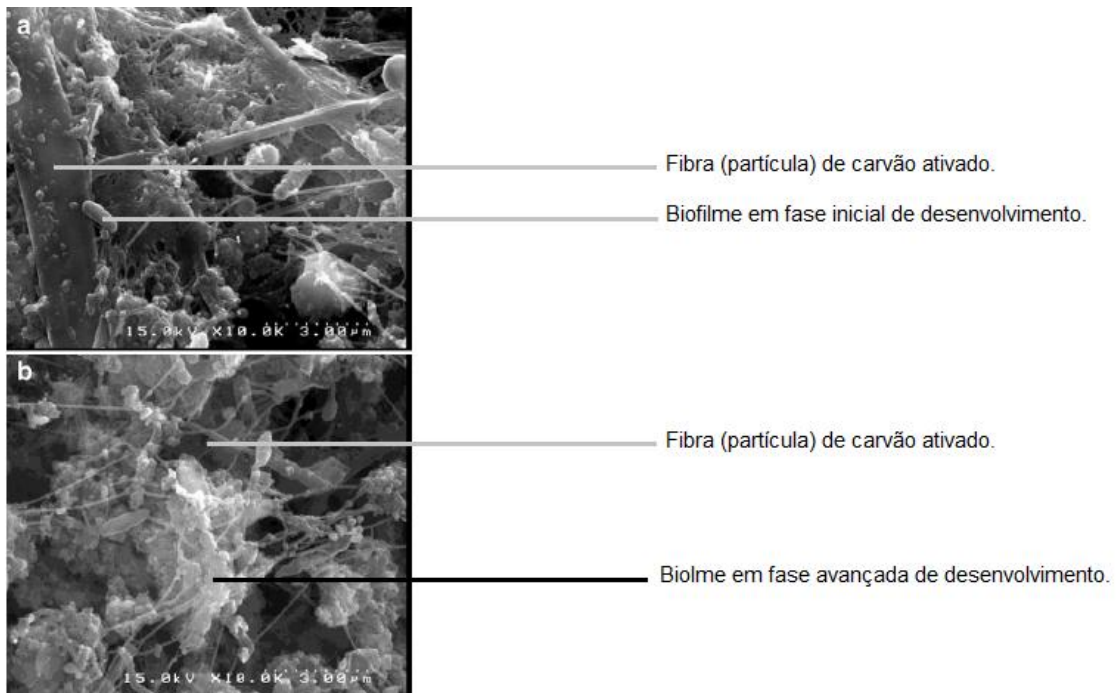
É importante ressaltar que os micro-organismos não se encontram de forma isolada em uma cultura pura de células individuais. Pelo contrário, esses se agregam, acumulam nas interfaces e formam um polímero microbiano, denominado biofilme. Por conseguinte, a produção desse biofilme se dá através do desenvolvimento dos micro-organismos que geram o que pode ser chamado de matriz (aproximadamente 90 % da massa do biofilme). Essa matriz, produzida pela atividade dos micro-organismos está incorporada ao biofilme e são materiais extracelulares que aumentam a interação célula-célula e se torna

responsável pela adesão ao substrato, em caso particular, o carvão ativado (FLEMMING, 2010).

Além da inconveniência gerada pela obstrução dos poros do carvão ativado devido à formação de biofilme em sua superfície, estudos demonstram que o processo de tratamento da água com a filtração por meio de carvão ativado com seu interior parcialmente preenchido por cadeias poliméricas (biofilme), contribuíram significativamente para um aumento da carga microbiana na água a ser tratada (DASCHNER et al., 1996; LAURENT et al., 2003; PUTZ et al., 2005; EMELKO et al., 2006; FOLADORI, 2015).

Em alguns casos, esse método de filtração apresentou até 10.000 vezes aumento de sua carga microbiana em UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônia por mililitro) (DASCHNER et al., 1996). As Figuras 1a e 1b indicam a formação de biofilmes microbianos em superfície de carvões ativados, de acordo com estudos realizados por GILBERT et al., (2013).

Figura 1: (a e b) Distintas fases na formação de biofilmes microbianos.



Fonte: Adaptada pelo autor. GILBERT *et al*, 2013.

A Figura 2 demonstra através de uma micrografia, a formação de biofilme microbiano em partículas de carvão ativado provenientes de filtros domésticos. (SILVA *et al.*, 2006).

Figura 2: Micrografia de biofilme formado em partículas de carvão ativado.



Fonte: adaptada pelo autor. SILVA *et al*, 2006.

O biofilme dá aos micro-organismos aumento de sua resistência a antimicrobianos o que confere maiores dificuldades em sua eliminação, assim a matriz criada protege o polímero microbiano contra dissecação, biocidas, oxidação, antibióticos, cátions metálicos e radiação ultravioleta (BRIDIER, 2015). Há casos, por exemplo, onde a formação de biofilmes promove um impacto

negativo na medicina, como a formação de biofilmes em cateteres, lentes de contato e outros materiais cirúrgicos (MAH, 2001; JEFFERSON, 2004; FLEMMING, 2010).

Uma bactéria em particular, a *Pseudomonas aeruginosa*, possui grande habilidade natural na formação de biofilmes, e isso só é possível devido a sua ampla versatilidade nutricional conferindo-a grande disseminação de ocorrência na natureza, esse fato leva essa espécie a ser bastante utilizada como produto de estudos no sentido de entender e verificar como o biofilme é criado e a forma mais viável de sua eliminação (KORA, 2011).

3.3.1 *Pseudomonas aeruginosa*

Para as bactérias que pertencem à família das *Pseudomonadaceae*, as *P. aeruginosa* são aquelas de maior relevância. Trata-se de um bacilo, Gram-negativo, aeróbio que possui um ou mais flagelos permitindo a locomoção, o que faz desses micro-organismos seres móveis. Em meios de cultura específicos são capazes de sintetizar pigmentos no tom verde-azulado como a piocianina (MURRAY et al., 2007 apud FERREIRA, 2009).

Salienta-se informar que esses micro-organismos são causadores de distintos tipos de infecções, como infecções urinárias, pneumonias e infecções de origem hospitalar. São encontrados no meio ambiente, como nas superfícies de plantas e animais, no solo, na água e em seres humanos, uma vez que fazem parte da microbiota (SLEKOVECI et al., 2012). Efluentes de origem hospitalar, geralmente estão contaminados com *P. aeruginosa*, e sua presença nos recursos hídricos está associada ao despejo destes efluentes em cursos de rios ou córregos sem o devido tratamento (FUENTEFRÍA et al., 2008; SLEKOVECI et al., 2012; SPINDLER et al., 2012).

3.4 COBRE COMO AGENTE ANTIBACTERIANO

A necessidade de produtos com ação antimicrobiana faz com que o desenvolvimento de novos materiais esteja em constante crescimento, a exemplo disso, alguns metais como a prata, o ouro e platina são aplicados em

tratamentos de algumas doenças infecciosas, pois estes metais nobres possuem propriedades antimicrobianas (JONES e HOEK, 2010; VELTEN et al., 2011). Além desses metais, outros metais como o cobre, o zinco e níquel também possuem atividade antibacteriana relevante, atividade que depende da superfície de contato, possibilitando a interação entre o metal e o micro-organismo (JONES e HOEK, 2010).

Prado et al., (2013) verificaram a adesão e sobrevivência de bactérias associadas com infecções nosocomiais em superfície de cobre e aço inox. Os resultados destes testes *in vitro* indicaram que a superfície metálica de aço inox apresentou facilidade quanto à adesão dos micro-organismos com possibilidade de multiplicações em ambientes com o mínimo de nutrientes. Já os resultados para a superfície de cobre foram interessantes, uma vez que esta superfície apresentou grande resistência a maior parte a adesão de agentes patogênicos nosocomiais.

Zhao et al., (2014) investigaram o efeito da exposição de comunidades bacterianas em presença de cobre em um corpo semi-fechado de água no sul da península de Shandong, China, denominado de Jiao Zhou. Os estudos realizados associam o grande desenvolvimento de indústrias com o consequente descarte de resíduos em efluentes que são descarregados para o sistema aquático dessa região. Esse efluente possui uma carga considerável de cobre, e o objetivo deste trabalho foi verificar o impacto do despejo de cobre sobre as comunidades bacterianas. Foi observada uma diminuição aguda na capacidade das bactérias em utilizar o carbono, com redução de até 90% de bactérias heterotróficas cultiváveis. A conclusão deste trabalho apresentou que a entrada elevada de cobre nesse corpo de água impactou seriamente a função dessas comunidades bacterianas.

Outras pesquisas se fizeram importantes no estudo do cobre como agente antibacteriano. Besaury, Chiglione e Quillet (2014) estudaram a diversidade e abundância de comunidades bacterianas e *Archaea* bactérias em sistemas com elevadas contaminações de cobre em uma mina de extração de cobre em torno da cidade de Chanaral ao norte do Chile. Os resultados desses estudos

indicaram dois pontos interessantes quanto à quantificação da abundância dos micro-organismos e a suas atividades. Dos dois tipos de sedimentos analisados, aquele com o maior teor de cobre representou impacto significativo quanto à abundância da comunidade bacteriana, que foi bem menor, já a comunidade *Archaea* era comparável em ambos os sedimentos.

3.4.1 Mecanismo Antimicrobiano do Cobre

Diversos estudos indicam que a superfície de cobre e suas ligas metálicas possuem atividade antimicrobiana a uma ampla variedade de micro-organismos. Contudo, o mecanismo de ação, interação entre o metal cobre e a célula, resultando na morte do micro-organismo por contato a superfície metálica não é bem conhecido (QUARANTA et al., 2011; GRASS, RENSING e SOLIOZ, 2011; BLEICHERT et al., 2014; PALZA, 2015; ANJUM et al., 2015).

Quando em concentrações baixas de metais, essa atividade antimicrobiana é referida como ação oligodinâmica. Quando íons do metal são produzidos e se combinam com grupos sulfidríla presentes nas proteínas celulares desnaturando-as e, como dano secundário, fragmentam o DNA matando a célula, uma vez que o DNA é um dos principais alvos de toxicidade de íons cobre (GRASS, RENSING e SOLIOZ, 2011; SANTO, QUARANTA e GRASS, 2012).

O potencial de redução do metal determina a tendência em adquirir elétrons, agindo como co-fator catalítico em uma ampla gama de enzimas celulares ou geradores de espécies reativas de oxigênio. Essas espécies podem induzir um estresse oxidativo danificando as proteínas celulares, lipídios e DNA (PALZA, 2015).

3.4.2 Carvão Ativado Impregnado com Cobre (CAi)

Tecnologias utilizam carvão ativado impregnado com cobre no sentido de ampliar o número de compostos a serem removidos por adsorção em meios filtrantes. Esse material CAi, possui grande aplicabilidade no setor industrial na remoção de enxofre em combustíveis, como o diesel, na remoção de amônia

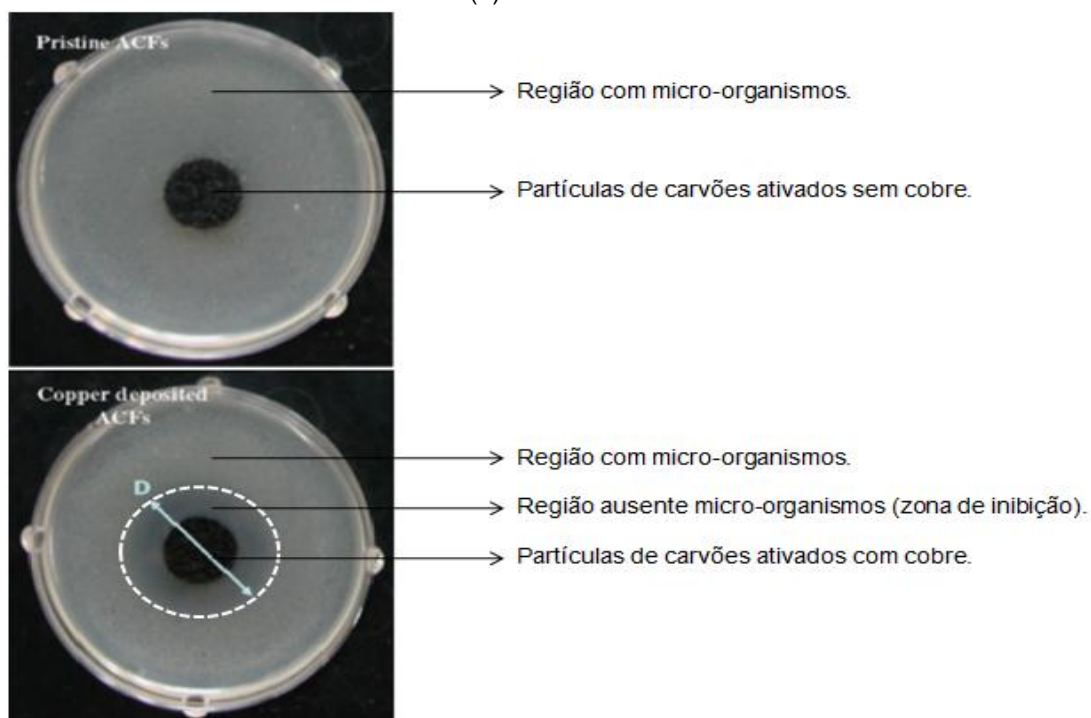
(NH₃), monóxido de carbono (CO), gás sulfídrico (H₂S), compostos de enxofre e diversos compostos orgânicos (XIAO et al., 2008; MA et al., 2010; CHUANG, 2011).

Pesquisas realizadas por Tamon, Kimatura e Okazaki (1996) apresentavam a preparação de dois tipos de carvões ativados impregnados com metais, um deles impregnado com cobre e o outro impregnado com paládio. Foi utilizado soluções de cloreto de cobre I (CuCl) e cloreto de paládio (PdCl₂) nas impregnações. O objetivo destes estudos foi a verificação da capacidade adsortiva de CO pelos carvões ativados impregnados com metais. Esses estudos revelaram que o CAi removeu 12 vezes mais CO do que o carvão ativado sem cobre.

Kim e Yie (2005) verificaram as características de carvões ativados com cobre na adsorção de compostos de enxofre, como metilmercaptanas. Eles compararam a adsorção de metilmercaptanas em carvões ativados sem o cobre e impregnado com cobre pelo método de adsorção em leito fixo. Os resultados dos experimentos indicaram que a impregnação de cobre na superfície do carvão ativado reduziram os microporos do carvão, porém este apresentou um aumento significativo na remoção da metilmercaptana comparado ao carvão ativado sem cobre.

Não obstante, Byeon et al., (2007) testaram a capacidade antibacteriana de carvões ativados impregnados com cobre. Eles prepararam 3 amostras de carvões ativados com cobre nas seguintes concentrações: 8,9, 18,3 e 25,4% (m/m) de cobre em relação ao CA. Testes por zona de inibição foram realizados para as quatro amostras de carvões conforme a Figura 3.

Figura 3 (a e b): Teste antibacteriano por zona de inibição. Em (a) o controle, carvão ativado sem cobre. Em (b) carvão ativado com cobre.



Fonte: Adaptado pelo autor. BYEON *et al*, 2007.

Esse estudo envolveu 4 tipos de micro-organismos: *B. subtilis* e *M. luteus*, Bactérias Gram- positivas e como bactérias Gram- negativa, *E. coli* e *P. fluorescens*. Os resultados experimentais indicaram que quanto maior o teor de cobre no carvão ativado maior o efeito antibacteriano, uma vez que, zona de inibição verificadas nos experimentos foram maiores para a amostra com 25,4% de cobre.

Quando se compara o efeito do cobre na superfície do carvão ativado para uma mesma concentração, as bactérias Gram-negativas apresentaram uma zona de inibição menor que as bactérias Gram-positivas. A amostra com 25,4% de cobre apresentou os respectivos diâmetros para a zona de inibição: *B. subtilis* com 30,0 mm, *M. luteus* com 32,5 mm, *E. coli* com 15,0 mm e *P. fluorescens* com 16,0 mm (BYEON *et al.*, 2007).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO (CA)

Neste trabalho foi utilizado carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) granulado comercial fornecido pela empresa Bahia carbon Bioindustrial Ltda localizada em Valença-BA. A granulometria do carvão utilizado foi 20x40 mesh.

4.1.1 Determinação do Teor de Cinzas

Foi realizada a determinação do teor de cinzas conforme o método ASTM D2866-94. Uma amostra de $10,000\text{g} \pm 0,001\text{g}$ de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) foi colocada em mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24h. O experimento foi realizado em triplicata.

4.1.2 Determinação de Solúveis

Foi realizada a determinação de solúveis conforme o método ASTM D5029-98. O método consiste em colocar a amostra de CA, aproximadamente $10,000\text{g} \pm 0,001\text{g}$, em água deionizada em um sistema de refluxo. Com auxílio de uma pipeta volumétrica retirou-se três alíquotas do balão e submetidas à evaporação para obtenção dos resíduos e assim realizada a determinação dos solúveis conforme o método citado acima. O experimento foi realizado em triplicata.

4.1.3 Determinação do Número de Iodo

Foi realizada a determinação do número de iodo para a amostra de CA através do método ASTM D4607-94. Os testes foram realizados em triplicata para cada amostra. As amostras foram pulverizadas e utilizou-se

aproximadamente $1,0000\text{g} \pm 0,0001\text{g}$ de massa para realização do procedimento, conforme método citado acima.

4.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)

As amostras de CA foram colocadas em suporte de Alumínio e analisadas no *MEV Jeol JSM-6610*, equipado com *EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging*. As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução da Universidade Federal de Goiás.

4.2 IMPREGNAÇÃO DE COBRE NA SUPERFÍCIE DO CARVÃO ATIVADO

4.2.1 Preparação do Carvão Ativado Impregnado (CAi) com Cobre nas concentrações: 0,018%, 0,06%, 0,10%, 0,12%, 0,15%, 0,24%, 0,48% e 1,00% m/m

As amostras foram preparadas sob a adição de $20,000\text{g} \pm 0,001\text{g}$ de massas de carvão ativado em 100 mL de soluções de nitrato de cobre II nas concentrações de 0,018, 0,06, 0,10, 0,12, 0,15, 0,24, 0,48, e 1,00% em massa em relação a massa de carvão. Em seguida, os sistemas foram submetidos à agitação e evaporação completa do solvente (água) a 80°C. Procedimento semelhante ao método Mitsumori, Takeda e Miyasaco proposto em 1977 que consiste a impregnação de prata em carvões ativados.

Posteriormente, após a evaporação total do solvente, as amostras foram submetidas à calcinação, tratamento térmico em mufla durante 2 horas à temperatura de 550°C. Após o tratamento térmico, as amostras foram identificadas e armazenadas.

4.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE NAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO

O método para quantificação dos metais no carvão ativado foi realizado conforme o procedimento semelhante descrito por Zhao et al., (2013). Amostras

de 0,1000g \pm 0,0001g dos carvões ativados foram adicionadas em 10 mL de ácido nítrico P.A., submetido ao aquecimento, fervura, durante 10 minutos. Em seguida, as suspensões foram filtradas e lavadas com água deionizada, o filtrado teve seu volume diluído para 100 mL e encaminhado para análise em espectrofotometria de absorção atômica *AAnalyst 400* da Perkin Elmer, no laboratório de análise instrumental da Universidade Estadual de Goiás.

4.4 CARACTERIZAÇÕES DAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM COBRE (CAi)

4.4.1 Determinação do Número de Iodo

A determinação do número de iodo para as amostras de carvões ativados impregnados com cobre foram executadas através do método ASTM D4607-94. Procedimento citado no item 4.1.3. Os experimentos foram realizados em triplicata para o carvão ativado sem cobre e para as amostra de carvões ativados com cobre nas concentrações 0,018%, 0,060%, 0,100%, 0,120%, 0,150%, 0,240%, 0,480% e 1,000%.

4.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)

Os testes para verificação de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com Espectrometria de Energia Dispersiva foi realizado conforme o método citado no item 4.1.4. A caracterização morfológica e verificação dos elementos presentes foram realizadas no carvão ativado impregnado com cobre nas amostras de 0,018%, 0,150% e 1,000% (m/m).

4.5 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

4.5.1 Manutenção e Reativação de Cepas Estudadas

A manutenção das cepas foi realizada conforme descrito por Silva, Costa e Reche (2008) com modificações. Primeiramente, foram realizados repique das cepas a fim de se obterem colônias isoladas. As cepas foram repicadas em meio sólido ágar Mueller Hinton, pela técnica de esgotamento por estrias e as placas

foram incubadas a 35,5°C por 24 horas. Em sequência, foram transferidas de 3 a 5 colônias isoladas e típicas para um tubo com 15 mL de BHI (*Brain Heart Infusion*) e 20% de glicerol, seguidas de homogeneização em agitador de tubos de ensaio (*Vórtex*) por 15 segundos. Depois desse procedimento, os tubos foram incubados por 12 horas a 35,5°C. Em seguida, foram transferidas alíquotas de 1mL para microtubos do tipo Eppendorf, previamente esterilizados e devidamente rotulados. Posteriormente as alíquotas foram armazenadas a 8°C por sete dias e congeladas em freezer a -20°C.

As cepas foram reativadas em ágar Cetrimida, pela técnica de esgotamento. As placas foram semeadas com auxílio de alças de platina e em seguida foram incubadas a 35,5°C por 24 horas em estufa de cultura, modelo 002 CB da FANEM.

4.5.2 Preparação das Suspensões (Água Desafio) de *P. aeruginosa*.

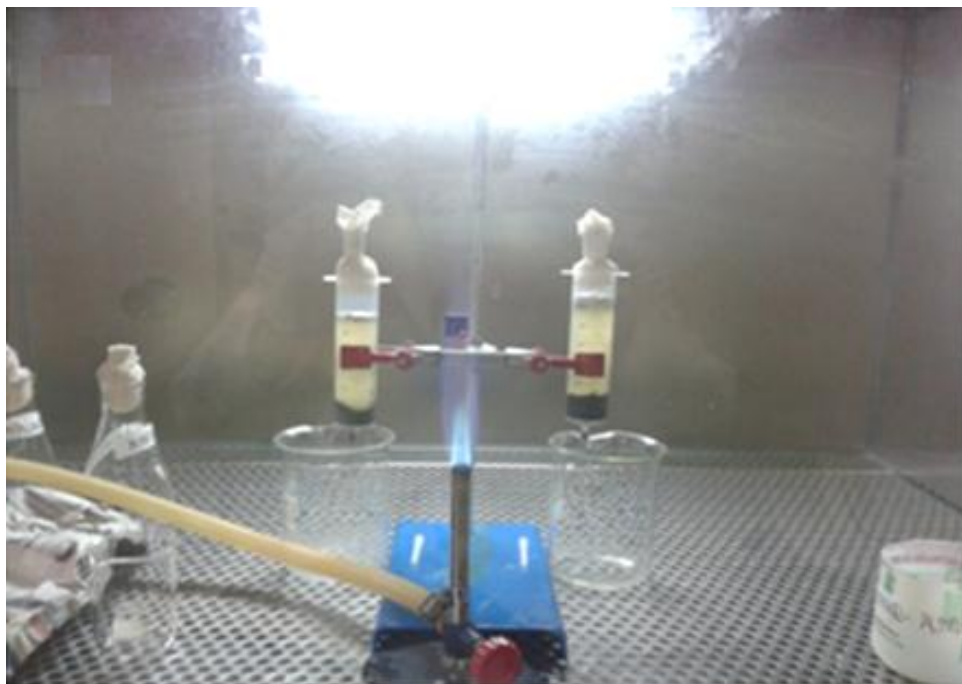
Após a incubação, colônias típicas crescidas em ágar Cetrimida foram transferidas para tubo de ensaio que continha 10 mL de água peptonada, até que o ajuste fosse realizado de acordo com o padrão de turvação Mc Farland, escala nefelométrica de Mc Farland, padrão de turvação mais comum na determinação da intensidade de multiplicação em meios de cultivo. 0,5 Mc equivalem a aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (LENNETTE et al., 1985). Com ajuste de turvação realizado, 600 microlitros dessa suspensão foram transferidos para um Erlenmeyer contendo 59,4 mL de água deionizada.

4.5.3 Preparação dos Filtros e Ensaio

Conforme a norma técnica ABNT NBR 16098/12 que especifica os requisitos mínimos e os métodos de ensaios para os aparelhos por gravidade utilizados para melhoria da qualidade da água. Os filtros foram montados com algumas alterações em uma câmara de fluxo laminar. Para tal procedimento, foram preparados dois filtros com $5,000g \pm 0,001g$ de carvão ativado para cada amostra de CAi e CA conforme apresentado na Figura 4. A água desafio foi

filtrada no intervalo de 50 minutos até que todo filtrado fosse recolhido e armazenado para uma posterior verificação da presença de cobre por lixiviação durante o processo de filtração.

Figura 4: Preparação dos filtros com a utilização de seringas de 60 mL. Início de uma filtração com 60 mL de água desáfio em duplicata para uma amostra de CAi.



As suspensões (água desafio) de *Pseudomonas aeruginosa* contidas nos Erlenmeyers foram filtradas. Foi filtrada em paralelo a água desafio em dois filtros para cada amostra de carvão ativado impregnado com cobre mais o controle, carvão ativado sem cobre.

Após a filtração das suspensões que durou cerca de 50 minutos para cada sistema de filtro, o filtrado, foi coletado e enviado para determinação de metais lixiviados por espectrofotometria de absorção atômica. As seringas foram enviadas para incubação em câmara úmida a 24°C por 24h em ambiente ausente de luz.

Após as 24h de incubação dos filtros em câmara úmida à temperatura ambiente, foi feito o desprendimento dos micro-organismos aderidos a superfície do carvão ativado com auxílio de um ultrassom de 25 Hz da Maxi Clean 1450 durante 5 minutos de exposição ao ultrassom.

Em seguida, foram realizadas diluições seriadas, inoculações em placas com ágar Cetrimida e incubação por 24h, para posterior contagem das colônias na placa em UFC/mL.

4.6 DETERMINAÇÕES DE COBRE LIXIVIADO APÓS AS FILTRAÇÕES

Após a filtração, o filtrado de cada CAi foi devidamente identificado e armazenado, em seguida selecionou-se 4 destas amostras, as mais concentradas (0,150%, 0,240%, 0,480% e 1,000%). Essas amostras foram submetidas à digestão ácida, o material foi aquecido até a completa evaporação do solvente e em seguida foi adicionado ácido nítrico PA e as amostras foram diluídas em água deionizadas para 50 mL. A quantificação do cobre foi feita por espectrofotometria de absorção atômica em um aparelho *AAnalyst 400* da Perkin Elmer, no laboratório de análise instrumental da Universidade Estadual de Goiás.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÕES DO CARVÃO ATIVADO (CA)

5.1.1 Determinação do Teor de Cinzas

O carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) apresentou teor médio de cinzas igual a 4,41%. Carvões ativados comerciais utilizados em meios filtrantes para líquidos geralmente não excedem 4% (m/m) de cinzas (JUNIOR, 2010; LOUREIRO, 2012). Esse resultado indica que o carvão ativado no presente estudo possui valores próximos ao de um carvão ativado classificado como bom quanto ao teor de cinzas, um fabricante de CA no Brasil para filtros, a Pelegrini Carbon, possui como especificação quanto ao teor de cinzas, valores que não excedem 5%.

A proporção de minerais de maior concentração que participam da constituição do carvão ativado pode ser devido à presença de silicatos. Foi verificada a morfologia e composição elementar do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) por microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplado ao espectrômetro de energia dispersiva (EDS) com o intuito de verificar os principais constituintes do CA, os resultados indicaram grande presença de silício, e esses dados serão discutidos no item 5.1.4.

Os resíduos minerais, tais como encontrados nos carvões ativados também chamados de cinzas são provenientes da queima do carvão a altas temperaturas. Esses materiais são encontrados nos interstícios (poros) do carvão ativado. Os constituintes minerais são de extrema importância, pois participam do ciclo bioquímico das plantas, e geralmente são absorvidos pelas raízes das plantas pela retirada de água do solo (RUIZ et al., 2015).

As cinzas obtidas, em grande parte estão na forma de óxidos de metais, entre eles, o cálcio, manganês, potássio, sódio, fósforo e sílica, podendo ainda estar presente na forma de ânions como silicatos, fosfatos, carbonatos e sulfatos. A verificação do teor de cinzas é importante, pois para um material que possua alto teor de cinzas, este material pode contaminar as soluções com sais

provenientes desses resíduos. A quantidade de cinzas encontradas em um carvão ativado depende praticamente de dois fatores, a natureza da matéria-prima utilizada na fabricação do CA e o método (processo) utilizado para a fabricação do CA. O teor de cinzas pode variar de muito baixo a muito alto, valores entre 0,5 e 1% a valores superiores a 20% (GOPAKUMAR et al., 2015).

5.1.2 Determinação de Solúveis

A presença de cinzas no carvão ativado tem relação direta com os possíveis materiais solúveis em água. A presença dos ânions carbonato, sulfato, fosfato e silicatos podem formar sais solúveis e insolúveis em água. Outros materiais solúveis encontrados nos poros dos carvões podem ser de origem orgânica como os açúcares simples, polissacarídeos e compostos fenólicos. Além da solubilidade em água por grande parte desses materiais, eles também podem ser solúveis em solventes de outra natureza como solventes orgânicos e em ácidos diluídos (PAN et al., 2011; GOPAKUMAR et al., 2015). O CA de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) apresentou um teor médio de solúveis igual a 0,093% (m/m) um baixo valor quando comparado ao teor de cinzas igual 4,41%, isso indica que apesar da presença de íons, o CA demonstrou baixo valor para os materiais solúveis.

Essa grande diferença entre o teor de cinzas e o teor de solúveis nas amostras de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) está relacionada à presença de materiais insolúveis em água na sua maior proporção, mais de 4% (m/m) em relação ao teor de cinzas que pode ser devido principalmente à presença de silicatos.

5.1.3 Determinação do Número de Iodo

A verificação da porosidade relativa de um carvão ativado pode ser obtida através da determinação do número de iodo. Esse procedimento auxilia na determinação aproximada da área superficial do carvão ativado e necessariamente não indica a capacidade adsortiva do CA em outras espécies químicas. A determinação do número de iodo para verificação aproximada da

área superficial não pode ser utilizada de forma generalizada uma vez que, a natureza do material carbonáceo, as condições de processamento na produção do CA e a distribuição dos poros podem influenciar nos resultados.

O carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) sem cobre apresentou área superficial média com número de iodo igual a 1072,432 mg I₂.g⁻¹ com desvio padrão de 29,619 mg I₂.g⁻¹.

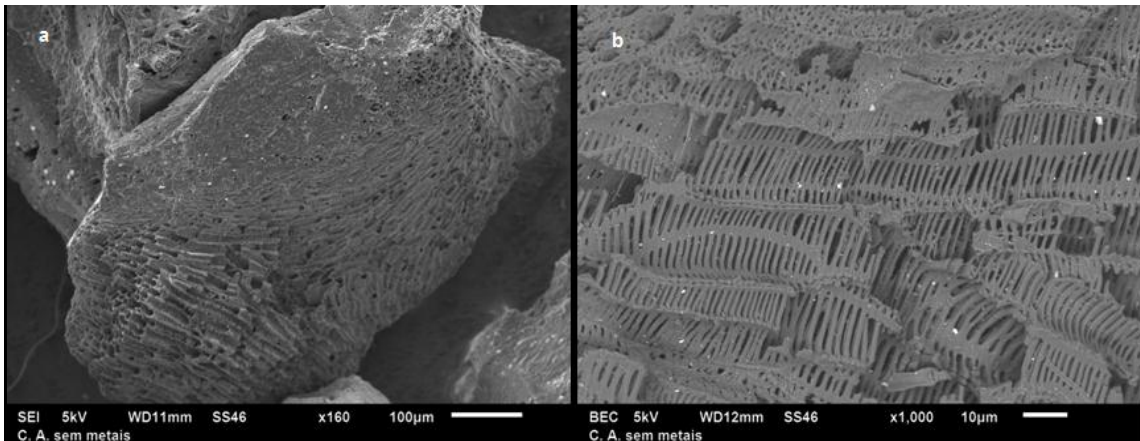
5.1.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica que auxilia a determinação de características microestruturais de corpos sólidos. Com o propósito de obter informações sobre a morfologia e identificação dos elementos químicos presentes no objeto estudado.

A caracterização morfológica e verificação dos elementos presentes foram realizadas no carvão ativado sem cobre. O processo de obtenção de imagem consiste através da interação do feixe de energia com a amostra, que produz elétrons e fótons que são coletados por um equipamento e convertidos em um sinal de vídeo, reproduzindo imagens tridimensionais.

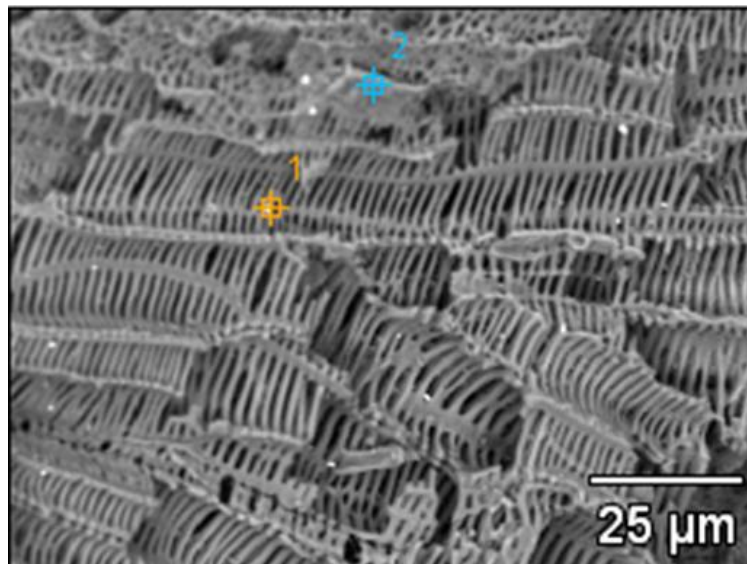
As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das amostras de CA sem cobre permitiram analisar as características morfológicas. A Figura 5 representa imagens do carvão ativado de casca do coco de dendê (*Elaeis guineensis*).

Figura 5 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) por MEV com aumento de x160 e x1000.



De acordo com a Figura 5a foi possível comprovar a presença de poros na superfície do carvão ativado. Na micrografia mostrada na Figura 5b pode-se observar uniformidade de poros na estrutura do CA. Para a amostra indicada na imagem fez-se as análises de EDS com o objetivo de caracterizar a composição elementar. Para uma melhor avaliação foi realizado um aumento de área indicada pela Figura 6.

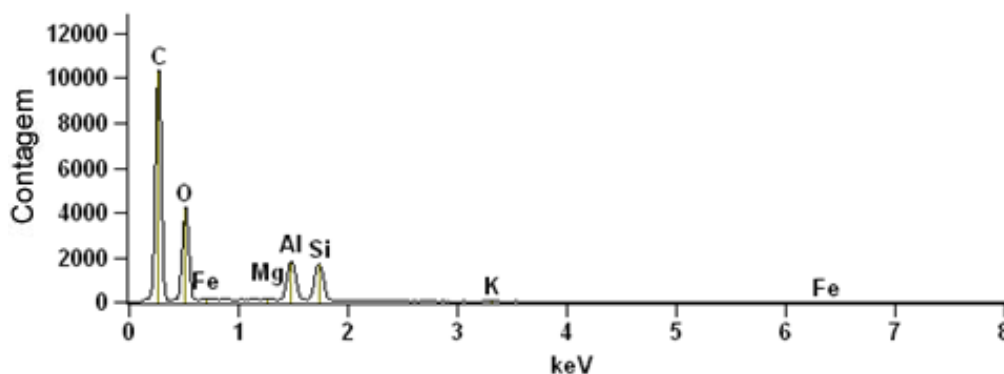
Figura 6: Micrografia para a amostra de carvão ativado ausente de cobre



O ponto 1 destacado em amarelo na micrografia do carvão ativado sem cobre impregnado (Figura 6) reproduz os resultados quanto ao teor de elementos indicados na Figura 7. Como o cobre é um bom condutor de eletricidade e o carvão ativado um mau condutor, foi necessário cobrir a amostra com filme de carbono condutor (grafite). Isso é necessário para a realização da análise, porém

não foi realizado o cálculo da proporção de cada elemento devido à fração em massa não apresentar resultados confiáveis uma vez que o material foi recoberto com carbono condutor.

Figura 7: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*).



O pico mais intenso observado na Figura 7 refere-se ao teor de carbono, tanto da amostra de CA como do carbono condutor.

A análise elementar indica que o carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) é composto basicamente por carbono, oxigênio, silício, potássio, magnésio e ferro, o pico indicando a presença de alumínio pode ser explicado devido à parte do feixe de luz ter atingido o suporte de alumínio onde foi colocado o material.

5.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE (CAi)

Utilizou-se uma curva de calibração com 5 concentrações entre 0,1 e 10 mg/L para cada uma das amostras com coeficiente de correlação linear: 0,9948. A Tabela 1 apresenta os teores médios de cobre determinados experimentalmente.

Tabela 1: Porcentagem de cobre experimental.

AMOSTRAS (%Cu)	DESVIO PADRÃO
CAi 0,031	0,0014
CAi 0,096	0,0028
CAi 0,156	0,0057
CAi 0,165	0,0099
CAi 0,176	0,0028
CAi 0,287	0,0028
CAi 0,436	0,0042
CAi 0,915	0,0014

CAi: Carvão ativado impregnado

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostraram que as porcentagens de cobre nas amostras de CAi apresentaram um baixo valor para o desvio padrão indicando que o procedimento realizado para impregnar cobre na superfície do CA possui boa reprodutibilidade.

5.3 CARACTERIZAÇÕES DAS AMOSTRAS DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM COBRE (CAi)

5.3.1 Determinação do Número de Iodo

Os valores para o número de iodo (miligrama de I₂ por grama de CA) para as amostras de CAi estão representados na Tabela 2. Para efeito de comparação, foi adicionado à tabela o valor de número iodo para o carvão ativado sem cobre representado pela amostra CA.

Tabela 2: Número de iodo para a amostra de CA e para as amostras de CAi.

AMOSTRAS (%Cu)	NÚMERO DE IODO (mg I₂.g⁻¹)	DESVIO PADRÃO
CA	1072,432	29,619
CAi 0,031	1052,884	25,669
CAi 0,096	1050,092	13,822
CAi 0,156	1041,715	29,619
CAi 0,165	1029,148	15,797
CAi 0,176	1022,167	13,822
CAi 0,287	1058,469	21,720
CAi 0,436	1062,658	19,746
CAi 0,915	1068,243	23,695

CAi: Carvão ativado impregnado; CA: Carvão ativado não impregnado

Os resultados para número de iodo das amostras de carvão ativado impregnado com cobre apresentaram regularidade quanto aos valores de número de iodo com pouca variação entre as amostras. Esses resultados indicam que apesar da variação na concentração de cobre na superfície do carvão ativado, a área superficial não foi comprometida. Ao compararmos a área superficial, dada em número de iodo do carvão ativado sem cobre (CA) com o carvão ativado impregnado com cobre de maior concentração (CAi 0,915%) verificamos proximidades entre os resultados.

Uma preocupação em relação à impregnação de cobre na superfície do carvão ativado era que a sua área superficial fosse comprometida, ou seja, à medida que a concentração de cobre fosse impregnada no CA, sua área superficial diminuiria. Os testes por adsorção de iodo indicaram valores regulares de área superficial com baixo desvio padrão.

As amostras de carvões ativados impregnados com cobre apresentaram 1050,868 mg I₂.g⁻¹ como valor médio de número de iodo.

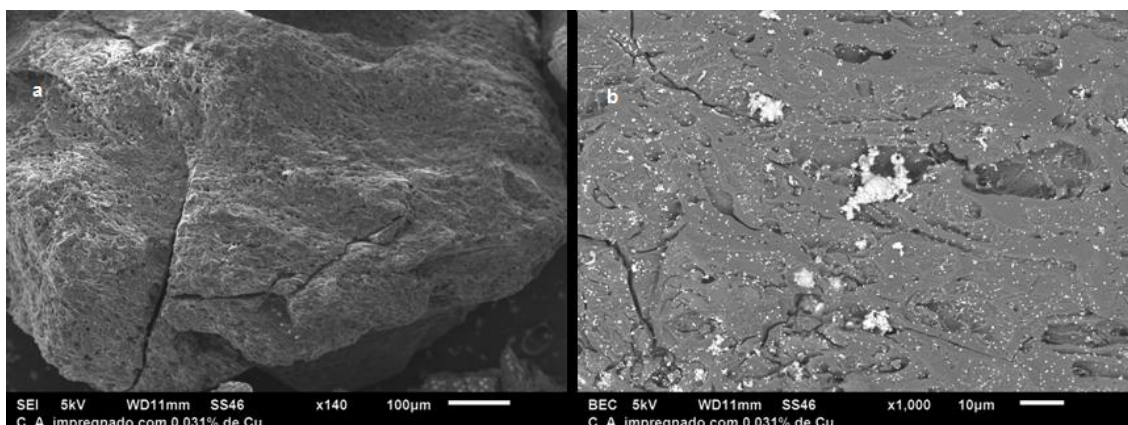
Francisco (2008), verificou o efeito na remoção de clorofórmio em diversos filtros comerciais com carvões ativados impregnados com prata em sua superfície, ele avaliou filtros de marcas distintas e determinou o valor médio para o número de iodo para essas marcas. O valor encontrado foi de 832 mg I₂.g⁻¹. Um dos principais fabricantes de carvão ativado de casca de dendê no Brasil, a PELEGRINI CARBON, tem como especificação técnica para o número de iodo

valores entre 800 e 1000 mg I₂.g⁻¹. Além da Pelegrini Carbon, outros fabricantes de carvão ativado para a mesma finalidade, uso em filtros e purificadores de água, a CALGON CARBON CORPORATION, GLOBAL TREATMENT SOLUTIONS e a JONELL CARBON possuem como especificação técnica para o número de iodo valores mínimos iguais a 900 mg I₂.g⁻¹ para CALGON CARBON CORPORATION, 1150 mg I₂.g⁻¹ para GLOBAL TREATMENT SOLUTIONS e 1000 mg I₂.g⁻¹ para JONELL CARBON.

5.3.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) Acoplada ao Espectrômetro de Energia Dispersiva (EDS)

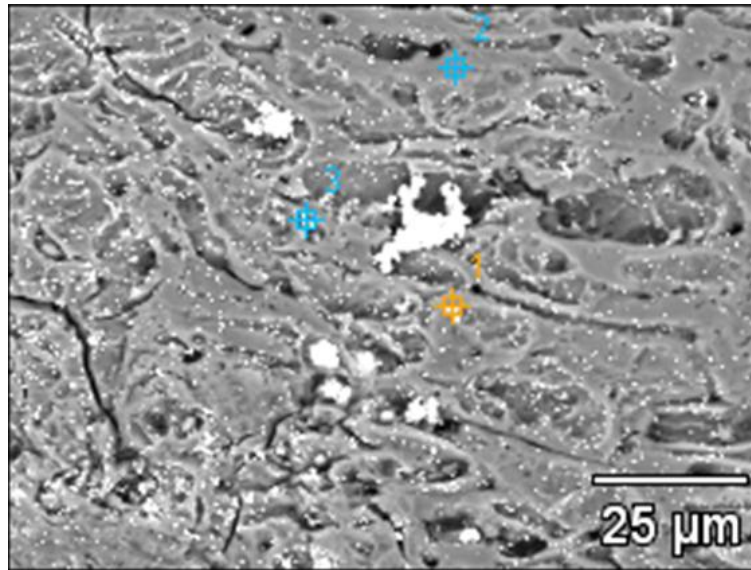
As Figuras 8, 11 e 14 representam imagens de MEV para os carvões ativados impregnados com cobre na superfície do CA nas seguintes concentrações: 0,031%, 0,176% e 0,915%.

Figura 8 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,031% cobre pelo MEV com aumento de x140 e x1000.



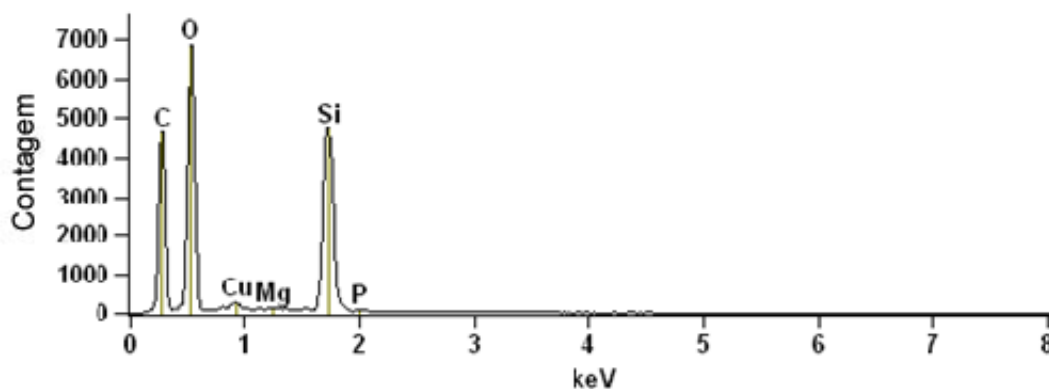
A análise foi realizada em sítios de grãos de CA. Para essa amostra foi obtida a micrografia conforme a Figura 9 e os resultados obtidos estão indicados na Figura 10.

Figura 9: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,031%.



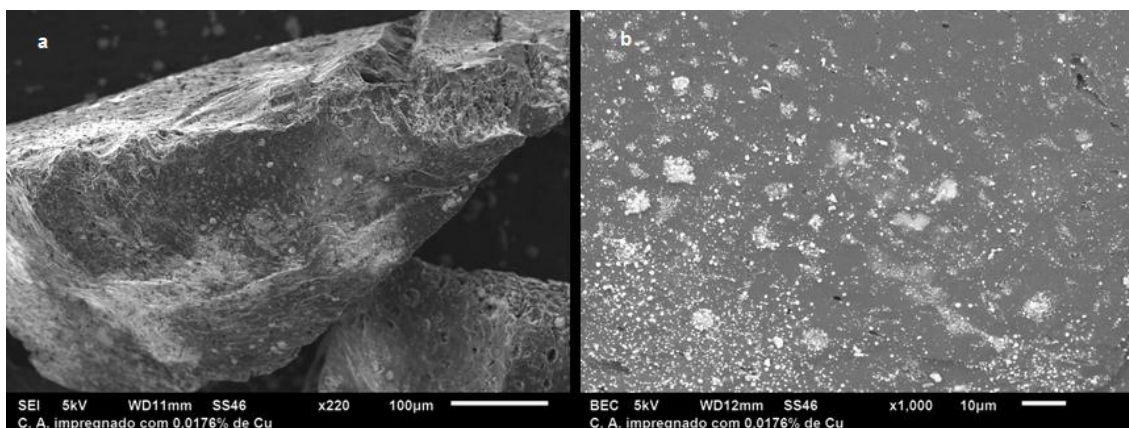
A Figura 10 é proveniente da micrografia realizada no CAi 0,031% referente ao ponto 3, destacado em azul na Figura 9. Os resultados obtidos indicam a presença de elementos distintos de carbono, entre eles, o cobre e silicatos que foram identificados via análise de EDS. A análise dessas imagens, mais os resultados obtidos por EDS (Figura 10) sugere que a presença de silício é alta e esse elemento está intimamente aderido à superfície do CA. Apesar da baixa concentração de cobre na superfície do CAi, foi comprovada sua presença. Essa amostra revelou que o carvão ativado é basicamente constituído por carbono, oxigênio, silício, cobre, magnésio e fósforo. A presença intensa de silício sugere que parte do cobre impregnado na superfície do carvão ativado poder estar impregnado na superfície dos materiais provenientes de silicatos.

Figura 10: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,031% de cobre.



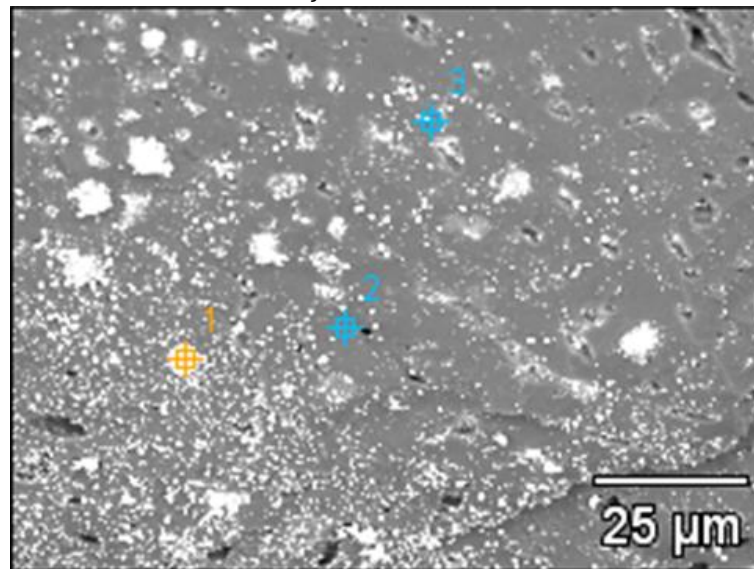
O EDS obtido para a amostra CAi 0,031% indicado na Figura 10 sugere que o cobre detectado na amostra está impregnado tanto sobre a superfície de carbono no próprio carvão ativado como em materiais provenientes de silicatos, uma vez que a concentração de silício e oxigênio no ponto indicado pela micrografia é alta. É importante ressaltar que não se sabe o quão fortemente os materiais de silícios estão aderidos a superfície do carvão ativado, caso essa adesão seja fraca, o cobre depositado nos silicatos durante a impregnação pode ser lixiviado juntamente com os silicatos durante o uso do CAi em filtros de leito fixo, ocasionando perda de cobre e, conseqüentemente, comprometendo ação antimicrobiana do material.

Figura 11 (a e b): Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,176% cobre pelo MEV com aumento de x220 e x1000.



A Figura 11 reproduz a imagem do material para a amostra de CAi com a concentração de 0,176%. Essa amostra CAi 0,176% quando comparada a amostra CAi 0,031%, verifica-se um aumento superior a 5 vezes quanto a quantidade de cobre na superfície do CA. A micrografia realizada conforme a Figura 12 possibilitou a determinação da composição elementar da amostra de CAi e os resultados obtidos estão representados na Figura 13.

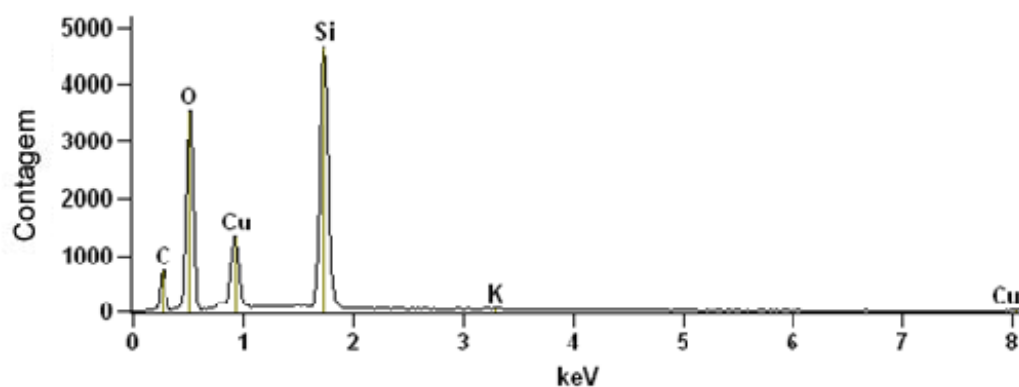
Figura 12: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,176%



A composição elementar das amostras para a concentração de 0,176% de cobre na superfície do CA foi obtida por EDS, sendo o ponto 1 da micrografia destacado em amarelo e os resultados estão indicados na Figura 13.

Na Figura 13 é possível verificar a presença de um pico mais intenso de cobre para esta amostra quando comparado ao pico discreto de cobre para a análise do CAi 0,031% conforme a Figura 10.

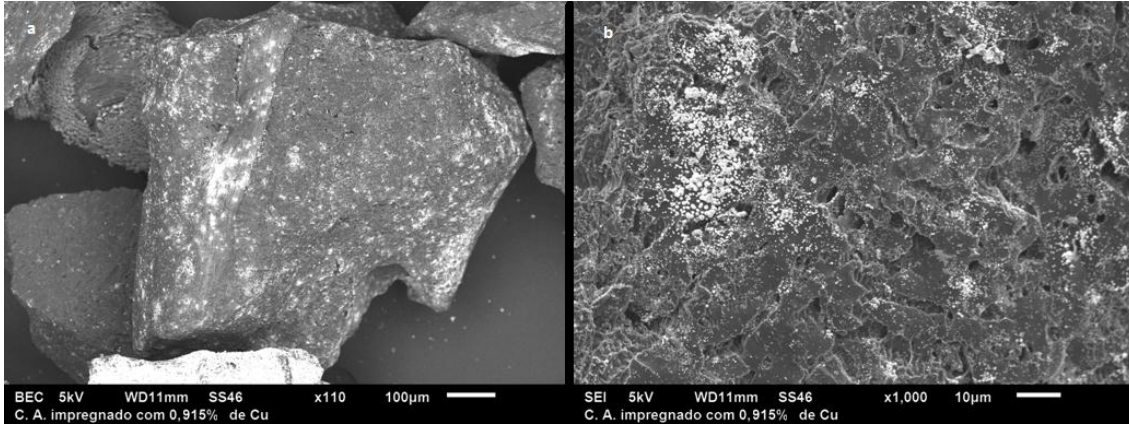
Figura 13: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,176% de cobre.



O espectro da análise de EDS para essa amostra apresentou um pico bem intenso para a presença de silício e oxigênio, como um dos principais constituintes nessa região, indicando que grande parte do cobre impregnado

nessa amostra está depositado sobre a superfície de matérias provenientes de silicatos.

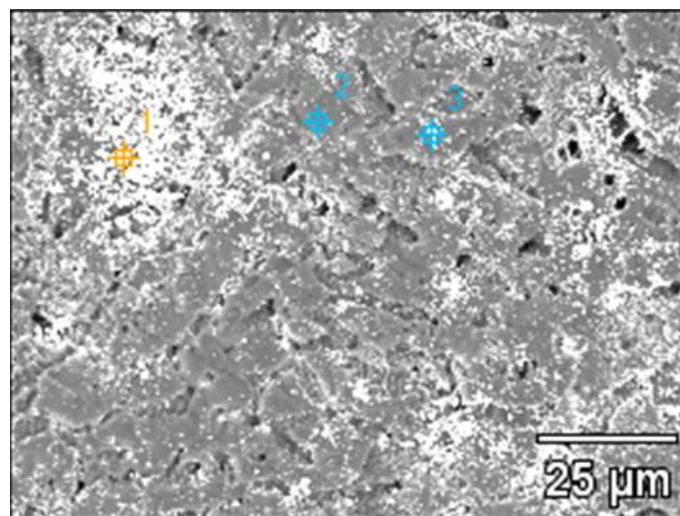
Figura 14: Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,915% cobre pelo MEV com aumento de x110 e x1000.



A Figura 14 representa a avaliação da amostra de CAi com concentração de 0,915% quanto a sua característica morfológica. Já era de se esperar que a amostra de CAi 0,915% apresentaria uma região (área) extensa com cobre impregnada na superfície do CA.

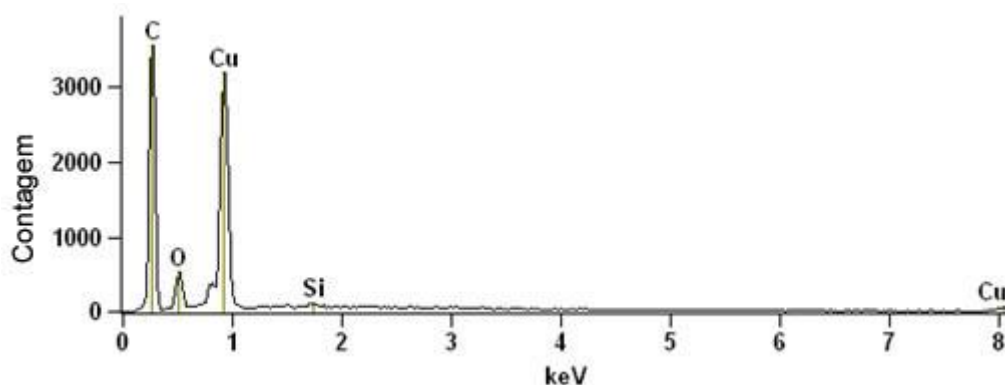
A obtenção dos resultados quanto a composição elementar foi realizada para a amostra de CAi 0,915% conforme a Figura 15 para o ponto 3 destacado em azul.

Figura 15: Micrografia para a amostra de carvão ativado impregnado com cobre com concentração de 0,915%.



A composição elementar verificada por EDS confirma a presença de cobre na amostra de CA, isso pode ser visualizado na Figura 16 que traz um pico bem intenso para a presença de cobre.

Figura 16: Espectro da análise da energia dispersiva (EDS) da amostra de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,915% de cobre.

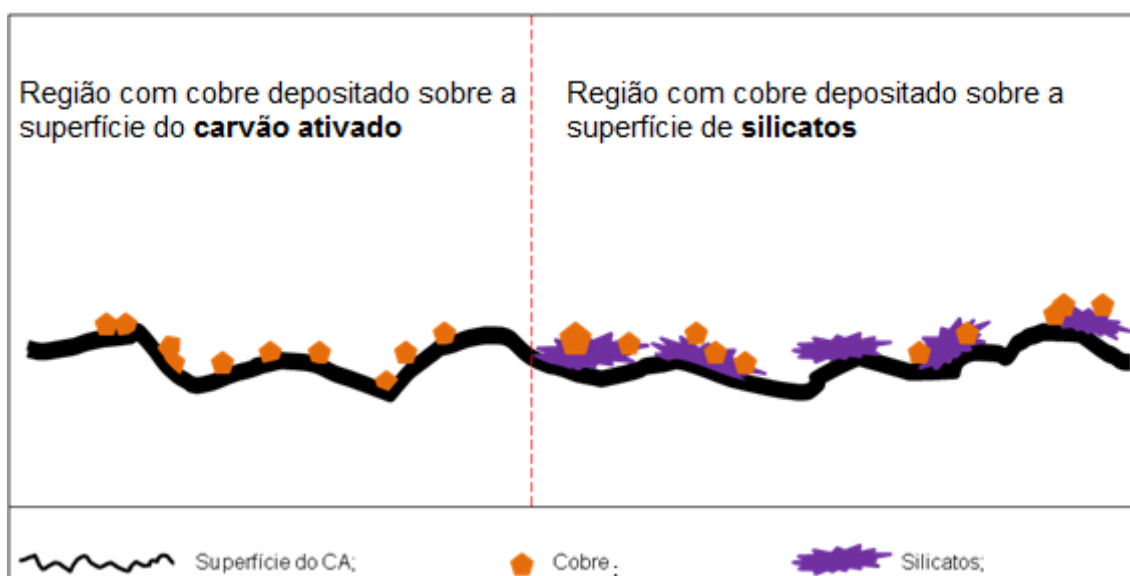


O EDS obtido para a amostra CAi 0,915% indicado na Figura 16 sugere que o cobre detectado na amostra está praticamente impregnado apenas sobre a superfície de carbono no próprio carvão ativado. Isso é verificável uma vez que o teor detectado de cobre e de carbono são intensos quando comparados aos teores de oxigênio e silício, apresentando baixa concentração para silicatos neste ponto da amostra.

As análises realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectrometria de energia dispersiva (EDS) tiveram como objetivo auxiliar na verificação e comprovação da possível presença de cobre nas superfícies de CA. Do ponto de vista geral, foi verificado a presença do cobre nas amostras de CA impregnadas com cobre e os resultados indicaram que a deposição do cobre na superfície do carvão ativado ocorre tanto no próprio carbono da amostra como em superfície de silicatos já depositados as superfície do CA.

O esquema apresentado na Figura 17 como suposição, exemplifica as observações quanto a deposição de cobre na superfície do CA como na superfície de silicatos já existentes ao CA.

Figura 17: Esquema demonstrando a deposição do cobre no CA e em silicatos.

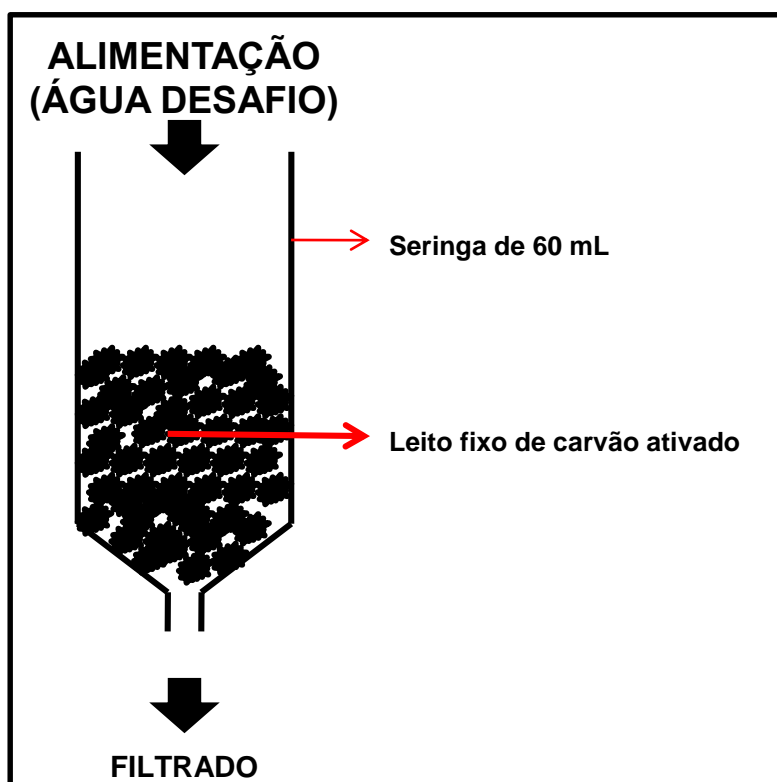


5.4 ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

5.4.1 Preparação dos Filtros e Ensaio

As seringas de 60 mL utilizadas como filtro para leito fixo de carvão ativado no presente estudo apresentaram facilidades na sua montagem com pequenas variações de tempo para cada unidade de filtro montado. O tempo médio de filtração de cada amostra foi por volta de 50 minutos, apresentando variações de mais ou menos 5 minutos. Essa observação é interessante, pois demonstra reprodutibilidade para as filtrações nas condições citadas. A Figura 18 representa um esquema indicando a filtração.

Figura 18: Esquema representando uma filtração por gravidade em leito fixo de carvão ativado.



Os resultados obtidos após as 24 horas de incubação de cada filtro após as filtrações para contagem das células viáveis em UFC/mL estão representados na Tabela 3.

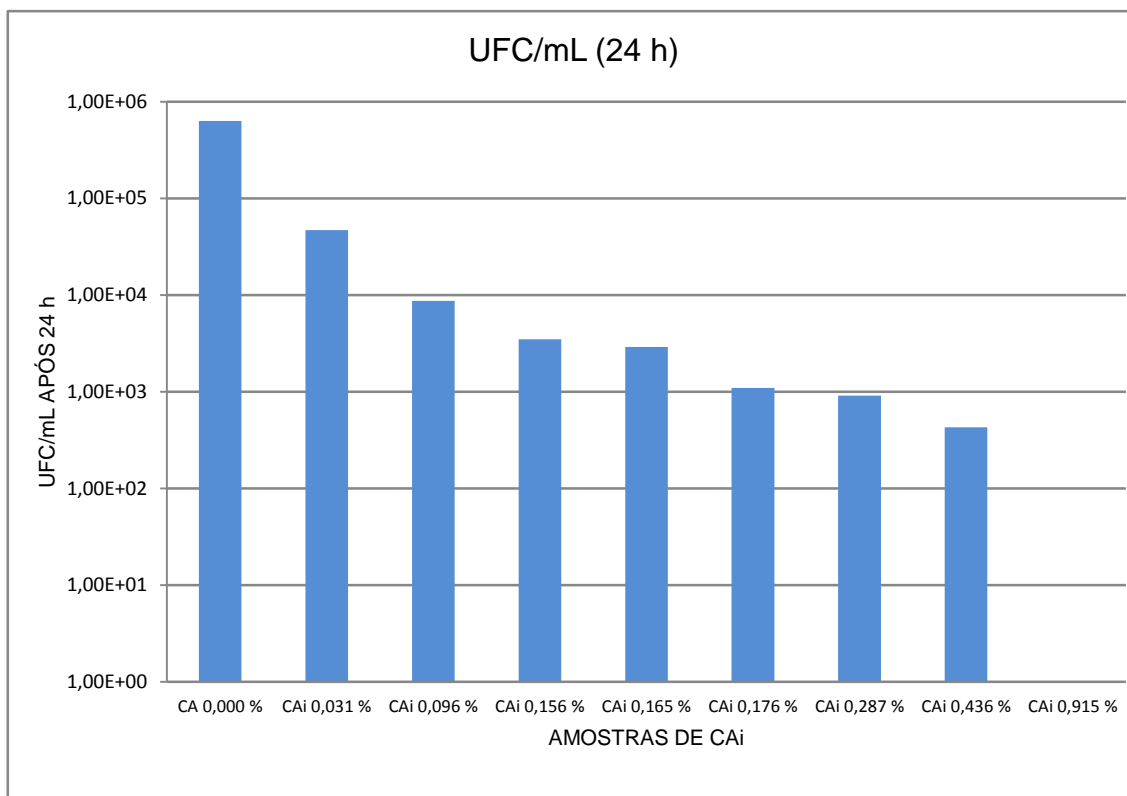
Tabela 3: Resultados das UFC/mL dos filtros com carvões ativados sem cobre (CA) e com cobre (CAi) após as 24 horas de incubação em câmara úmida a temperatura ambiente.

AMOSTRAS	UFC/mL (24 h)	DESVIO PADRÃO
CA	6,30E+05	4,00E+04
CAi 0,031 % Cu	4,70E+04	2,50E+03
CAi 0,096 % Cu	8,70E+03	3,00E+02
CAi 0,156 % Cu	3,50E+03	2,00E+02
CAi 0,165 % Cu	2,90E+03	1,95E+02
CAi 0,176 % Cu	1,10E+03	2,75E+02
CAi 0,287 % Cu	9,10E+02	2,00E+01
CAi 0,436 % Cu	4,30E+02	4,50E+01
CAi 0,915 % Cu	0,00E+00	0,00E+00

CAi: Carvão ativado impregnado; CA: Carvão ativado não impregnado

Para uma melhor avaliação dos resultados da contagem das UFC da *P. aeruginosa*, foi confeccionado um gráfico para as amostras de carvão ativado impregnado com cobre e o carvão ativado sem o cobre (Figura 19).

Figura 19: Gráfico referente aos resultados da contagem das UFC/ml dos filtros com carvões ativados sem e com cobre.



A solução de água desafio usada na filtração apresentou contagem média de $1,6 \cdot 10^6$ UFC/mL e desvio padrão igual a $3,2 \cdot 10^5$. A contagem de células viáveis após 24 horas de incubação do carvão ativado sem cobre (CA 0,000%) apresentou $6,3 \cdot 10^5$ UFC/mL.

O resultado encontrado para a amostra CA demonstra a redução de 1 Log quando se compara a contagem em UFC/ml da água de entrada com a contagem em UFC/mL após 24 horas. As amostras de carvão ativado com cobre apresentaram atividade antimicrobiana, uma vez que em todas as amostras ocorreram reduções de pelo menos 1 Log quando comparadas a contagem nas amostras de carvão ativado sem cobre. Foi observado que à medida que a concentração de cobre aumenta nas amostras, o efeito antimicrobiano é mais intenso sobre as cepas de *P. aeruginosas*.

Para a redução de 2 log das amostras com concentração de 0,096%, 0,156%, 0,165% e 0,176% verifica-se o efeito denominado dose-dependente, pois apesar do aumento da concentração de cobre na superfície do CA, a redução de micro-organismos não apresentou valores significativos, ela se manteve constante, uma vez que esses valores são bastantes próximos. Isso é interessante do ponto de vista econômico e ambiental, uma vez que para um mesmo efeito no controle desses micro-organismos, concentrações próximas a 0,096% de cobre na superfície do CAi conseguem apresentar atividade bactericida eficiente.

Foi observado efeito bactericida, quando as concentrações de cobre foram superiores a 0,287%. Concentrações acima de 0,287% de cobre na superfície do CA conseguiram reduzir até 3 log quando comparadas ao carvão ativado sem cobre.

O efeito bactericida pode ser verificado com mais ênfase para a amostra de maior concentração de cobre (0,915 %), para essa amostra verificou-se redução total das colônias de *P. aeruginosa*.

Dankovich e Smith (2014) preparam filtros de papéis com nano partículas de cobre e investigaram o uso desse material como meio filtrante na purificação de água do ponto de vista microbiológico. Foram sintetizados papeis de filtros com concentrações de cobre que variaram de 1,0 % a 6,5 % de cobre em relação a massa do papel (m/m). A atividade antibacteriana desse material foi testada em filtrações de soluções com *E. coli*. O material testado conseguiu reduzir até 5 Log na contagem de células viáveis, e observou-se que o aumento na concentração de cobre nos papéis de filtro tiveram uma relação direta com a redução de micro-organismos. A atividade microbocida observada foi atribuída a presença de cobre no meio filtrante.

Após verificar uma relação direta entre a concentração de cobre e o crescimento do biofilme nas partículas de carvão ativado, os resultados reproduzem a mesma observação feita por Byeon et al., (2007), de modo que, à medida em que as concentrações de cobre aumentavam, os teste de zona por inibição indicaram uma menor quantidade de micro-organismos. De certa forma,

quantidades elevadas de cobre tornam o ambiente hostil, ou pelo menos pouco propício para o desenvolvimento de micro-organismos, conforme Prado et al., (2013) e Zhao et al., (2014) também observaram.

Observa-se no gráfico representado pela Figura 19 a relação entre o número de unidades formadoras de colônias de *P. aeruginosa* após 24 horas de incubação dos filtros após as filtrações e a concentração de cobre nas amostras de CA. Nesse gráfico ficou evidente que o aumento na concentração de cobre na superfície do carvão ativado teve um efeito significativo na redução das colônias de *P. aeruginosa*. Essa observação está em consonância com os resultados obtidos a partir dos estudos de Li, Deletic e McCarthy (2014) em que verificaram o efeito antimicrobiano de fibras de carvões ativados impregnados com cobre em *E. coli*. Ficou evidenciado que a atividade bactericida ou mesmo bacteriostática dependem tanto da concentração do cobre e do número de bactérias iniciais.

5.5 DETERMINAÇÕES DE METAIS LIXIVIADOS APÓS AS FILTRAÇÕES

Foram analisados os filtrados das respectivas amostras (0,176%, 0,287%, 0,436% e 0,915%) de carvões ativados com cobre para metais lixiviados e os valores se encontram na Tabela 4.

Tabela 4: Lixiviação de cobre das amostras após a filtração.

AMOSTRAS (CAi)	REDUÇÃO NO TEOR DE COBRE NAS AMOSTRAS (%)
CAi 0,176 %	1,01
CAi 0,287 %	0,92
CAi 0,436 %	0,96
CAi 0,915 %	0,85

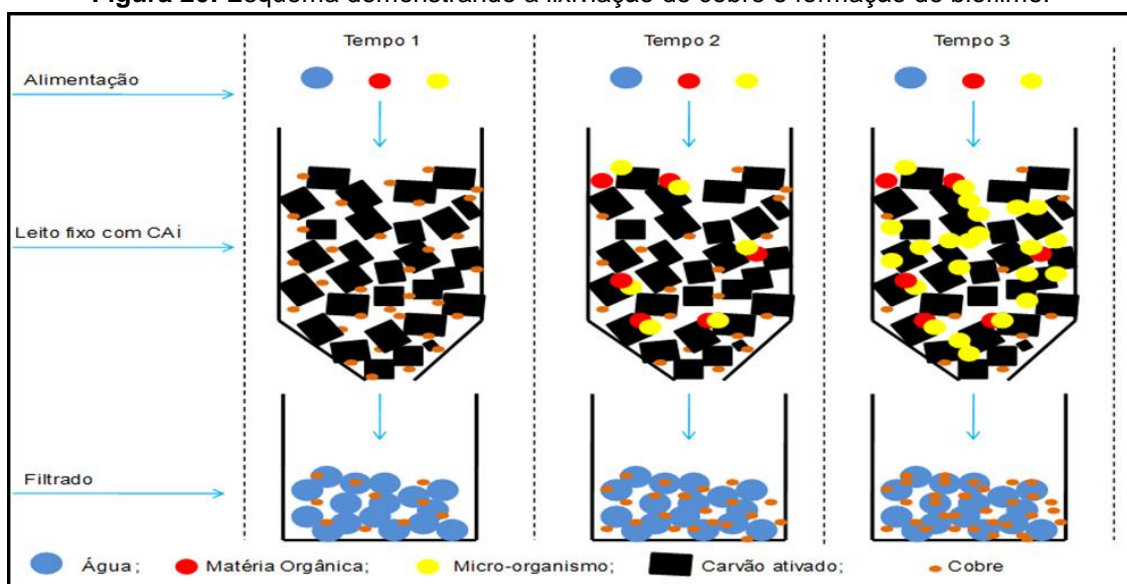
CAi: Carvão ativado impregnado

Após selecionar as amostras com as maiores concentrações de cobre para a determinação dos metais lixiviados após as filtrações, conforme os dados

da Tabela 4, observa-se que uma fração de cobre em cada amostra analisada se desprende do CAi, sendo liberado junto com o filtrado. As amostras analisadas tiveram redução de cerca de 1% da massa total de cobre impregnada nos carvões ativados.

Uma preocupação eminente na elaboração desse meio filtrante, carvão ativado com cobre, é o quão fortemente o cobre está aderido à superfície do carvão ativado. Caso a adesão seja fraca, durante o uso do filtro, o cobre será lixiviado, diminuindo a atividade antimicrobiana do meio filtrante, ou seja, a superfície do CA poderá ficar propícia para a adesão e proliferação de micro-organismos. A Figura 20 apresenta um esquema como o cobre pode ser lixiviado com o filtrado com a consequente formação de biofilme nas partículas de carvões ativados com o passar do tempo.

Figura 20: Esquema demonstrando a lixiviação de cobre e formação de biofilme.



Além da redução de eficiência antimicrobiana do carvão ativado devido a perda de cobre, o filtrado, a água a ser tratada, apresentará cobre em sua composição comprometendo a sua potabilidade.

Conforme a portaria nº 2914/2011 que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, a quantidade máxima de cobre é de 2 mg.L^{-1} , isso implica que apenas as amostras de carvões ativados com a concentração de

0,176% e 0,287% estão dentro dos parâmetros permitidos, uma vez que as outras amostras apresentaram valores superiores para os metais lixiviados. Com variações bem próximas a de 1% na redução de cobre por lixiviação, as amostras (0,031, 0,096, 0,156 e 0,165%) não analisadas, devem apresentar valores inferiores para metais lixiviados comparado ao da legislação vigente.

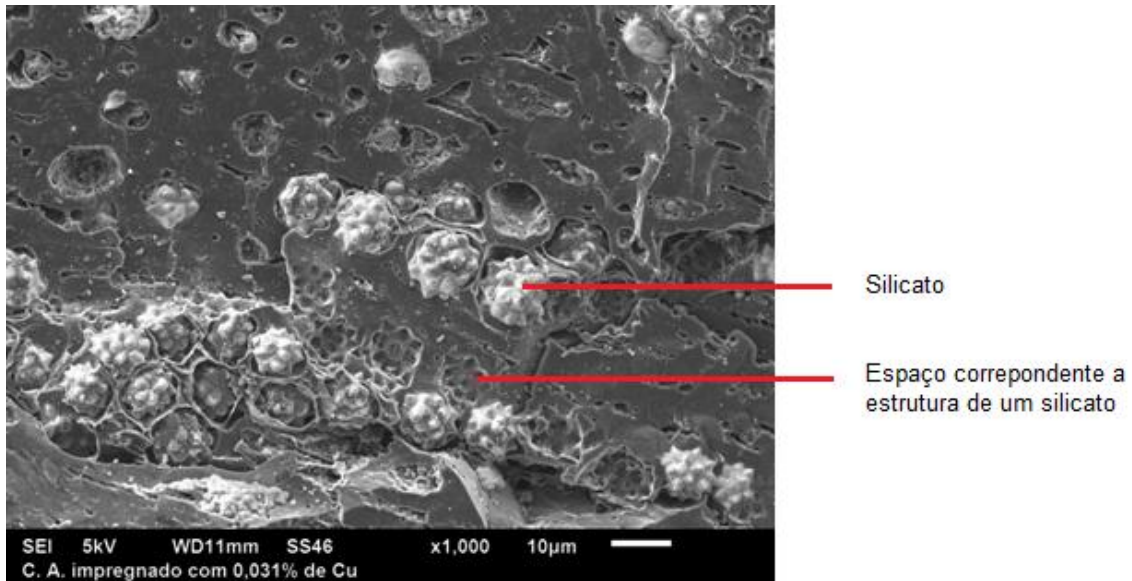
É importante ressaltar que os filtros domésticos disponibilizados para a melhoria da água, ao serem instalados devem ser utilizados com o descarte dos primeiros litros de água, processo no qual consiste em eliminar partículas de carvão ativado na primeira filtração. Isso é necessário porque durante a blindagem do filtro, ocorre uma compressão nos componentes do filtro que geram pequenas partículas de CA. Segundo a norma ABNT NBR 16098:2012, que dispõe sobre o aparelho para a melhoria da qualidade da água para o consumo humano – Requisitos e Métodos de Ensaio. O ensaio de nível microbiológico deve ser feito com o descarte dos primeiros litros de água que passam pelo filtro. Este volume é determinado pelo fabricante e é importante para remover principalmente pequenas partículas de carvão ativado.

Os valores obtidos experimentalmente para o cobre lixiviado são próximos a 1% do lixiviado, um valor baixo, sugerindo que o cobre está bem impregnado à superfície do carvão ativado, não comprometendo a potabilidade da água a ser tratada e garantindo ação antimicrobiana contínua do sistema de filtros.

Foi verificado que o cobre presente nas amostras de CAi pode estar impregnado tanto na superfície do CA, como na superfície de silicatos aderidos à superfície do CA conforme comentado no item 5.3.2 referente à caracterização das amostras de CAi por MEV acoplado ao EDS para as amostras CA 0,031% e CA 0,176%.

O teste de lixiviação revelou que uma parte do cobre, cerca de 1%, presente nas amostras, se desprende durante a filtração, sendo que uma parte do cobre lixiviado pode ser tanto aquela depositada à superfície do CA, quanto à superfície de silicatos depositados no CA. A Figura 21 refere-se ao MEV da amostra de CAi com 0,031% de cobre com um aumento de 1000x.

Figura 21: Imagem obtida do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com 0,031% cobre pelo MEV com aumento de x1000.



Nessa imagem é possível verificar a presença de silicatos depositados sobre a superfície do CA, da mesma forma que é possível perceber espaços vazios que correspondem aos silicatos presentes na amostra. Essa amostra revela que é possível que os silicatos se desprendam da superfície do CA, uma vez que em algum momento esses espaços vazios estavam ocupados por silicatos.

Dessa forma é possível sugerir que os silicatos que são lixiviados durante um processo de filtragem para as amostras de CA, carregam em sua estrutura o cobre impregnado. Isso implica que grande parte do cobre, o detectado nos testes de lixiviação estava depositado sobre a superfície dos silicatos.

6 CONCLUSÃO

- ✓ Análises de microscopia eletrônica de varredura acoplada a espectrometria de energia dispersiva mostraram que o cobre está depositado na superfície do carvão ativado tanto sobre a parte carbonácea, quanto sobre silicatos presos na superfície do carvão.
- ✓ O número de iodo para as amostras de carvão ativado foi em média 1050,868 mg I₂.g⁻¹ e o teor de cinza 4,41%. Tais valores são semelhantes aos de carvões ativados comercializados para uso como meio filtrante de filtros domésticos.
- ✓ Nos ensaios de filtração, o tempo de filtração foi similar, 50 ± 5min. Ou seja, os tempos de contato dos micro-organismos e meio filtrante foram semelhantes.
- ✓ Os ensaios microbiológicos foram realizados em duplicata com desvio padrão médio de 2,0x10², mostrando que foram reprodutíveis.
- ✓ Nos ensaios de filtração, as amostras apresentaram lixiviação de cobre em média de 0,94% em massa de cobre que estava impregnado na superfície do carvão ativado.
- ✓ O cobre impregnado na superfície do carvão ativado apresentou atividade bactericida em todas as concentrações estudadas neste trabalho, indicando que a atividade antimicrobiana do cobre é dependente da sua concentração. O melhor resultado obtido foi com 0,915% em que houve diminuição de 5 Logs na contagem de células viáveis de *P. aeruginosa*, mostrando-se como uma boa alternativa para uso como meio filtrante de filtros domésticos.

7 ETAPAS FUTURAS

- ✓ Caracterização das espécies de cobre (metálico ou óxido) na superfície do carvão ativado utilizando XPS;
- ✓ Relacionar espécie de cobre com efeito antimicrobiano.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJUM, N. A.; ADAM, V.; KIZEK, R.; DUARTE, A. C.; PEREIRA, E.; IQBAL, M.; LUKATKIN, A. S.; AHMAD, I. Nanoscale copper in the soil–plant system – toxicity and underlying potential mechanisms. **Environmental Research**, Vol. 138, p. 306 – 325, 2015.

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

BESAURY, L.; GHIGLIONE, J.; QUILLET L. abundance, activity, and diversity of archaeal and bacterial communities in both uncontaminated and highly Copper-Contaminated Marine Sediments. **Mar Biotechnol**, Vol. 16, p. 230-242, 2014.

BLEICHERT, P.; SANTO, C. E.; HANCZARUK, M.; MEYER, H.; GRASS, G. Inactivation of bacterial and viral biothreat agents on metallic copper surfaces. **Biometals**, Vol. 27, p. 1179 – 1189, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da água para o consumo humano e seu padrão de potabilidade**, Publicado no diário oficial da união em 14/12/2011.

BRIDIER, A.; SANCHEZ-VIZUETE P.; GUILBAUD, M.; PIARD, J. C.; NAÏTALI, M.; BRIANDET, R. Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. **Food Microbiology**, Vol. 45, p. 167 – 178, 2015.

BYEON, J. H.; YOON, K. Y.; PARK, J. H.; HWANG, J. Characteristics of electroless copper-deposited activated carbon fibers for antibacterial action and adsorption–desorption of volatile organic compounds. **Carbon**, Vol. 45, p. 2307-2320, 2007.

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, nº 2, p. 49-56, junho, 1999/2000.

CHUANG, K. H. ; LU, C. Y. ; WEY, M. Y.;HUANG, Y. N. NO removal by activated carbon-supported copper catalysts prepared by impregnation, polyol, and microwave heated polyol processes. **Applied Catalysis A-general**, Vol. 397, p. 234-240, 2011.

DANKOVICH, T. A.; SMITH, J. A. Incorporation of copper nano particles into paper for point-of-use water purification. **Water Research**, Vol. 63, p. 245 – 251, 2014.

DASCHNER, F. D.; RUDEN, H.; SIMON, R.; CLOTTEN, J.; Microbiological Contamination of Drinking Water in a Commercial Household Water Filter

System. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Vol. 15, nº 3, p. 233-237, 1996.

EMELKO, M.B., HUCK, P.M., COFFEY, B.M., SMITH, E.F. Effects of media, backwash, and temperature on full-scale biological filtration. **Journal Am. Water Works Association**, Vol. 98, p. 61 - 73, 2006.

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 Janeiro, 2009.

FLEMMING, H. C. The biofilm matrix. **Nature Reviews**, Vol. 8, p. 623-633, Setembro, 2010.

FRANSICO, B. D. L. R. **Avaliação de filtro domiciliar de carvão ativado com prata na remoção de clorofórmio presente na água tratada**, Dissertação de mestrado. Universidade de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008.

FOLADORI, P.; BRUNI, L.; TAMBURINI, S.; MENAPACE, V.; ZIGLIO G. Surrogate parameters for the rapid microbial monitoring in a civil protection module used for drinking water production. **Chemical Engineering Journal**, Vol. 265, p. 67 – 74, 2015.

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.

GILBERT, O.; LEFEVRE, B.; FERNÁNDEZ, M.; BERNAT, X.; PARAIRA, M.; CALDERER, M.; MARTÍNEZ-LLADO, X.; Characterising biofilm development on granular activated carbon used for drinking water production. **Water Research**, Vol. 47, p. 1101 – 1110, 2013.

GRASS, G.; RENSING, C.; SOLIOZ, M.; metallic copper as an antimicrobial surface. **Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 77, Nº 5, p. 1541 – 1547, 2011.

GLOVER, C.M.; ORTIZ, F. L. R. impact of halides on the photoproduction of reactive intermediates from organic matter. **Environmental Science & Technology**, p. 1 – 8, 2013.

GOPAKUMAR, S.T.; NADHERI, W. M. A. A.; JEGARAJAN, D.; SAHU, J. N.; MUBARAK, N. M.; NIZAMUDDIN, S. Utilization of palm oil sludge through pyrolysis for bio-oil and bio-char production. **Bioresource Technology**, Vol. 178, p 65 – 69, 2015.

GUERRA, N. M. M.; OTENIO, M. H.; SILVA, M. E. Z.; GUILHERMETTI, M.; NAKAMURA, C. V.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, N.P. Ocorrência de *Pseudomonas aeruginosa* em água potável. **Rede de Revistas científicas da**

América Latina, El Caribe, España y Portugal, Maringá, Vol. 28, nº1, p. 13-18, 2006.

HEWITT, J.; GREENING, G. E.; LEONARD, M.; LEWIS, G. D. Evaluation of human adenovirus and human polyomavirus as indicators of human sewage contamination in the aquatic environment. **Water Research**, Vol. 47, p. 6750 – 6761, 2013.

JEFFERSON, K.K. What drives bacteria to produce a biofilm? **FEMS Microbiology Letters**, Vol. 236, p. 163-173, 2004.

JOHNNING, A.; MOORE, E. R. B.; SVENSSON-STADLER, L.; SHOUCHE, Y. S.; LARSSON, D. G.; KRISTIANSSON, E. acquired genetic mechanisms of a multiresistant bacterium isolated from a treatment plant receiving wastewater from antibiotic production. **Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 79, p. 7256 – 7263, 2013.

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. **Journal Nanopart Research**, p.1531-1551, 2010.

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

KIM, D. J.; YIE, E. J. Role of copper chloride on the surface of activated carbon in adsorption of methyl mercaptan. **Journal of Colloid and Interface Science**, Vol. 283, p. 311-315, 2005.

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

KRISTIANA, I.; MCDONALD, S.; TAN, J.; JOLL, C.; HEITZ, A. Analysis of halogen-specific TOX revisited: Method improvement and application. **Talanta**, Vol. 139, p. 104 – 110, 2015.

LAURENT, P., KIHN, A., ANDERSSON, A., SERVAIS, P. Impact of backwashing on nitrification in the biological activated carbon filters used in drinking water treatment. **Environment Technology**, Vol. 24, p. 277 - 287, 2003.

LEMOS, J.C.; LIMA, S.C. A Geografia Médica e as Doenças Infecto-parasitárias. **Caminhos de geografia**, revista on-line, p.75-78, 2002.

LENNETTE, E.H.; BALOWS, A.; HAUSLER, W.J.; SHADOMY, H.J.; Manual of clinical microbiology. **American Society for Microbiology**, Washington, DC, 1985.

LI, Y. L.; DELETIC, A.; MCCARTHY, D. T. Removal of *E. coli* from urban stormwater using antimicrobial-modified filter media. **Journal of Hazardous Materials**, Vol. 271, p. 73 – 81, 2014.

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 de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2012.

LUOTO, J.; NAJNIN, N.; MAHMUD, M.; ALBERT, J.; ISLAM, M. S.; LUBY, S.; UNICOMB, L.; LEVINE, D. I. What Point-of-Use Water Treatment Products Do Consumers Use? Evidence from a Randomized Controlled Trial among the Urban Poor in Bangladesh. **Plosone**, Vol. 6, p. 1 – 8, 2011.

MA, J.; LI, L.; REN, J.; LI, R. CO adsorption on activated carbon-supported Cu based adsorbent prepared by a facile route. **Separation and Purification Technology**, Vol.76, p. 89-93, 2010.

MAH, T. C.; O'TOOLE, G. A.; Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. **TRENDS in Microbiology**, Vol. 9 nº 1, p. 34-39, Janeiro, 2001.

MATILAINEN A.; VIENO, N.; TUHKANEN, T. Efficiency of the activated carbon filtration in the natural organic matter removal. **Environment International**, Vol 32, p. 324-331, 2006.

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**, 30, Agosto.

NABEELA, F.; AZIZULLAH, A.; BIBI, R.; UZMA, S.; MURAD, W.; SHAKIR, S. K.; ULLAH, W.; QASIM, M.; HÄDER, D. P. Microbial contamination of drinking water in Pakistan—a review. **Environment Science Pollut Research**, Vol. 21, p. 13929 – 13942, 2014.

NAIDOO, S.; OLANIRAN, A. O. treated wastewater effluent as a source of microbial pollution of surface water resources. **International Journal Environment Research Public Health**, Vol. 11, p. 249 – 270, 2014.

PALZA, H. Antimicrobial Polymers with Metal Nanoparticles. **International journal of Molecular Sciences**, Vol. 16, p. 2099 – 2116, 2015.

PAN, Z. H.; TIAN, J. Y.; XU, G. R.; LI, J. J.; LI, G. B. Characteristics of adsorbents made from biological, chemical and hybrid sludges and their effect on organics removal in wastewater treatment. **Water Research**, Vol. 45, p. 819 – 827, 2011.

PEDRO, N.A.R.; BRIGIDO, B.M.; BADOLATO, M.I.C.; ANTUNES, J. L. F.; OLIVEIRA, E. avaliação de filtros de domésticos comerciais para purificação de águas e retenção de contaminantes inorgânicos. **Química Nova**, Vol.20, nº2, p. 208-212, 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.

PRADO J. V.; ESPARZA, M. M.; VIDAL, A. R.; DURÁN, T. C. Actividad bactericida de superficies de cobre frente abacterias asociadas a infecciones nosocomiales, em un modelo *in vitro* de adherencia y sobrevivência. **Revista Médica do Chile**, Vol. 141, p. 291-297, 2013.

PUTZ, A.R.H., LOSH, D.E., SPEITEL, G.E. Removal of nonbiodegradable chemicals from mixtures during granular activated carbon bioregeneration. **Journal Environment Engineer**, Vol. 131, p. 196 e 205, 2005.

QUARANTA, D.; KRANS, T.; SANTO, C. E.; ELOWSKY, C. G.; DOMAILLE, D. W.; CHANG, D. J.; GRASS G. mechanisms of contact-mediated killing of yeast cells on dry metallic copper surfaces. **Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 77, Nº 2, p. 416 – 426, 2011.

RUIZ, B.; RUISÁNCHEZ, E.; GIL, R.R.; LORENZO, N.F.; LOZANO, M.S.; FUENTE, E. Sustainable porous carbons from lignocellulosic wastes obtained from the extraction of tannins. **Microporous and Mesoporous Materials**, Vol. 209, p. 23 – 29, 2015.

SANTO, C. E.; QUARANTA, D.; GRASS, G. Antimicrobial metallic copper surfaces kill *Staphylococcus haemolyticus* via membrane damage. **Microbiology open**, Vol 1, Nº 2 p. 46 – 52, 2012.

SILVA, J. O.; COSTA, P. P.; RECHE, S. H. C. Manutenção de leveduras por congelamento a – 20°C. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Vol. 40, p. 73 – 74, 2008.

SILVA, C. H. P. M.; LINS, A. P.; CRUZ, C. S. O.; GREENBERG, W. STEWART, T.; Caracterização dos biofilmes formados em filtros de carvão ativado de sistemas de purificação de água em laboratórios clínicos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Vol. 38, nº 4, p. 243-253, 2006.

SLEKOVEC, C.; PLANTIN, J.; CHOLLEY, P.; THOUVEREZ, M.; TALON, D.; BERTRAND, X.; HOCQUET, D. Tracking down antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a wastewater network. **One Plus**, Vol. 7, p. 1 – 7, 2012.

SNYDER JR, J.W.; MAINS, C.N.; ANDERSON, R.E.; BISSONNETTE, G.K. Effect of point-of-use, activated carbons filters on the bacteriological quality of rural groundwater supplies. **Applied and Environmental Microbiology**, vol. 61, nº 12, p. 4291-4295, Dezembro, 1995.

SPINDLER, A.; OTTON, L. M.; FUENTEFRIA, D. B.; CORÇÃO, G. Beta-lactams resistance and presence of class 1 integron in *Pseudomonas spp.* isolated from untreated hospital effluents in Brazil. **Antonie van Leeuwenhoek**, Vol. 102, p. 73 – 81, 2012.

TAMON, H.; KIMATURA, K.; OKAZAKI, M. Adsorption of carbon monoxide on activated carbon impregnated with metal halide. **Alche Journal**, Vol. 42, p. 422-430, 1996.

TKACHENKO, I. S.; TKACHENKO, S. N.; LUNIN, V.V. The principles of 'green chemistry' using the example of design and operation of an underground water treatment station at a Moscow food processing enterprise for purification out of compounds of iron and the utilization of byproducts. **Water Practice & Technology**, Vol. 10 N^o 1, p. 36 – 42, 2015.

UDDIN, S, M, N; LI, Z.; GAILLARD, J. C.; TEDOFF P. F.; MANG, H. P.; LAPEGUE, J.; HUBA, E. M.; KUMMEL, O.; RHEINSTEIN, E. Exposure to WASH-borne hazards: A scoping study on peri-urban Ger areas in Ulaanbaatar, Mongolia. **Habitat International**, vol. 44, p. 403 – 411, 2014.

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

VORTMANN, M.; BALSARI, S.; HOLMAN, S. R; GREENOUGH, P. G. Water, Sanitation, and Hygiene at the World's Largest Mass Gathering. **Curr Infect Dis Rep**, Vol. 5 p. 1 – 7, 2015.

XIAO, J.; LI, Z.; LIU, B.; XIA, Q.; YU, M. Adsorption of benzothiophene and dibenzothiophene on ion-impregnated activated carbons and ion-exchanged y z zeolites. **Energy & Fuels**, Vol. 22, p. 3858-3863, 2008.

ZHAO, Y.; FENG, G.; BAI, J.; CHEN, M.; MAQBOOL, F. Effect of copper exposure on bacterial community structure and function in the sediments of Jiaozhou Bay, China. **World Journal Microbiol Biotechnol**, Vol. 30, p. 2033-2043, 2014.

ANEXOS

ANEXO A – ESPECIFICAÇÃO CARVÃO ATIVADO: PELGRINI CARBON

ESPECIFICAÇÕES:

CARACTERÍSTICAS	VALORES ENCONTRADOS
AZUL DE METILENO	MÍNIMO 80%
CINÉTICA DE ADSORÇÃO	MAIOR QUE 80 %
CINZAS	MÁXIMO 5%
DENSIDADE APARENTE	0,45 A 0,55 g.cm ⁻³
DUREZA	MAIOR QUE 98 %
GRANULOMETRIA	20 X 50 MESH
FERRO	MÁXIMO 1,0 ppm
Ph	7,0 a 10,0
NÚMERO DE IODO	800 á 1000 mg.g ⁻¹
UMIDADE	MENOR QUE 5%

ANEXO B – ESPECIFICAÇÃO CARVÃO ATIVADO: CALGON CARBON CORPORATION

GRANULAR ACTIVATED CARBONS FOR POTABLE WATER PRODUCT BULLETIN

FILTRASORB® 300 & 400

CALGON

CALGON CARBON CORPORATION

LC-249/209-08/98

CALGON CARBON CORPORATION • P.O. BOX 717 • PITTSBURGH, PA 15230-717 •

PHONE 1-800-4CARBON

Copyright © Calgon Carbon Corporation 1998

SPECIFICATIONS

F300 F400

Iodine Number, mg/g (Min.) 900 ; 1000

Moisture, weight % (Max. %) 2 ; 2

Abrasion Number (Min.) 78 ; 75

Effective Size, mm 0.8 - 1.0 ; 0.55 - 0.75

Uniformity Coefficient (Max.) 2.1 ; 1.9

Sieve Size, U.S. Sieve Series, weight %

Larger than No. 8 (Max.) 15

Smaller than No. 30 (Max.) 4

Larger than No. 12 (Max.) 5

Smaller than No. 40 (Max.) 4

Ash, weight % (Max.) 8 ; 9

Apparent Density, g/cc (Min.) 0.48 ; 0.44

DESCRIPTION

Filtrisorb 300 and Filtrisorb 400 are two high activity granular activated carbons developed by Calgon Carbon Corporation for the removal of taste and odor compounds and dissolved organic compounds from water treatment. These activated carbons are manufactured from select grades of bituminous coal to produce a high activity, durable granular product capable of withstanding the abrasion associated with repeated backwashing, air scouring, and hydraulic transport. Activation is carefully controlled to produce exceptionally high internal surface area with optimum pore size for effective adsorption of a broad range of high and low molecular weight organic contaminants. The product is also formulated to comply with all the applicable provisions of the AWWA Standard for Granular Activated Carbon edition B604-96, the stringent extractable metals requirements of ANSI/NSF Standard 61 and Food Chemicals Codex.

APPLICATIONS

Filtrisorb 300 and 400 activated carbons can be used to treat surface and ground water sources for the production of drinking water. These products can be used as a complete replacement for sand or anthracite media. Filtrisorb 300 and 400 activated carbons function as dual purpose media, providing both filtration and adsorption.

DESIGN CONSIDERATIONS

As a replacement for existing filter media, conversion to Filtrisorb 300 and 400 activated carbons impose no major changes to a plant's normal filtration operations. Calgon Carbon Corporation can also provide complete modular adsorption systems as an add-on treatment stage if required.

ANEXO C – ESPECIFICAÇÃO CARVÃO ATIVADO: GLOBAL TREATMENT SOLUTIONS

DUCT BULLETIN - COC-A 60 **Vapor Phase, Coconut Shell Carbon**

COC-A 60 is a highly active Granular Activated Carbon (GAC) manufactured via high temperature steam activation from selected grades of coconut shell and designed for use in a wide variety of air purification and vapor phase applications. Available in industry standard 4x6, 4x8 and 4x10 mesh sizes, these high quality carbons provide extraordinary surface area, fine pore structure, high density and superior hardness.

TYPICAL PHYSICAL PROPERTIES **/SPECIFICATIONS**

IODINE NUMBER, MG/GM.	1150 - 1250
CCL4 ACTIVITY, MIN. (ASTM D-3467)	60
APPARENT DENSITY (ASTM D-2854), GM/CC LB/FT3	0.45 - 0.48 28 - 30
HARDNESS, MIN. (ASTM D-3802)	98
U.S. STANDARD SIEVE SIZE LARGER THAN NO. 4, MAX.	4 X 6, 4 X 8, 4 X 10 5%
SMALLER THAN NO. 6, 8, OR 10, MAX	5%
TOTAL SURFACE AREA (BET), M2/GM	1150 - 1250
ASH, MAX (ASTM D-2866)	3%
MOISTURE, MAX. (ASTM D-2867)	2%

ANEXO D – ESPECIFICAÇÃO CARVÃO ATIVADO: JONELL CARBON

PARAMETER	JONELL	COMPETITOR
-----------	--------	------------

Greater than 8 mesh, %	5 max.	5 max.
Less than 30 mesh, %	5 max.	5 max.
Apparent Density, g/cc	0.35-0.37 typ.	0.38 typ.
Apparent Density, lb/ft ³	21-23 typ.	24 typ.
Backwashed and Drained Density, lb/ft ³	20 typ.	21.5 typ.
Hardness Number	90 typ.	60 typ.
pH Water Extract	8-8.5 typ.	4.5 typ.
Moisture as Packed, %	5 max.	12 max.
Iodine Number, mg/g	1000 min.	500 min.
Molasses Number	400 typ.	400 typ.
Total Ash Content, %	12	20

HARDNESS

The hardness number is a standard test recognized by ASTM to determine the hardness of a given carbon. The leading lignite based carbon manufacturer does not use a specification per the ASTM standard test method and instead use a non-standard abrasion resistance test. Should an ASTM hardness number be tested on the leading lignite based activated carbon, a value of 60 should be expected. Therefore, the JONELL activated carbon hardness number of 90 is significantly harder translating to less particle attrition and carbon fine generation during transportation, replacement, and use. Always remember to use an accepted rinsing procedure reducing procedure for the best service possible from your JONELL activated carbon product. In the right quantity, coal fines can contribute to foaming issues. Don't forget air can also be a potent contributor!

PORE STRUCTURE

While most carbon is used in water treatment, the primary function of JONELL carbon in oil and gas applications is to remove long chain hydrocarbons.

The molasses number is a good indicator for predicting how well an activated carbon will adsorb higher molecular weight organics. The leading lignite based carbon manufacturer uses a nonstandard molasses test used by no other company, while the Jonell molasses number is based on a more standard test. A molasses decoloring efficiency (DE) of 85 converts to a molasses number of approximately 400. As both the Jonell and leading lignite carbon anufacturer have a molasses number of approximately 400, one would expect similar performance in adsorbing higher molecular weight organics. The iodine number is an excellent parameter to determine the overall surface area of activated carbons, but it also is a great indicator of how well a carbon will adsorb organics. JONELL activated carbon has a minimum iodine number of 1000, while the

leading lignite based 8X30 mesh carbon is approximately 500. Our activated carbon has an iodine number double to that of the leading lignite based 8X30 allowing for superior adsorption capability.