

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS**

**OBTENÇÃO DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO
COM PRATA PARA FINS BACTERICIDAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gabrielly Vieira Ribeiro

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

OBTENÇÃO DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA PARA FINS BACTERICIDAS

Gabrielly Vieira Ribeiro

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Processos, Área de Concentração em Desenvolvimento de Processos Agroindustriais e Ambientais, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Engenharia de Processos**.

Orientador: Prof. Dr. Edson Luiz Foletto

**Santa Maria, RS, Brasil
2014**

©2014

Todos os direitos autorais reservados à Gabrielly Vieira Ribeiro. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

Endereço: Rua Tuiuti nº 2367, casa 01. Santa Maria, RS. CEP: 970150-421.

Fone: (055)55 96028856; E-mail: gabyvieiraribeiro@hotmail.com

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos**

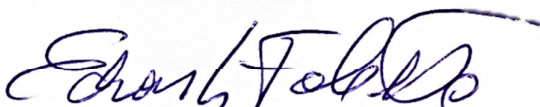
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**OBTENÇÃO DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA
PARA FINS BACTERICIDAS**

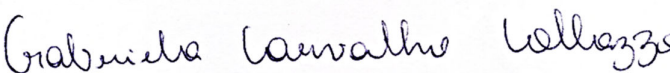
elaborada por
Gabrielly Vieira Ribeiro

como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Engenharia de Processos

COMISSÃO EXAMINADORA:


Prof. Edson Luiz Foletto, Dr. (UFSM)
(Presidente)


Prof.^a Raquel Cristine Kuhn, Dr.^a (UFSM)


Prof.^a Gabriela Carvalho Collazzo, Dr.^a (Faculdade de Tecnologia, FTEC/RS)

Santa Maria, 09 de outubro de 2014.

DEDICATÓRIA

*À minha mãe.
Ao meu pai.
À minha avó (in memoriam),
eterna luz em meu caminho.*

AGRADECIMENTOS

À UFSM e ao PPGEPro, pelo papel fundamental em minha formação.

À Fapergs, pelo incentivo financeiro.

Ao grupo docente, pelas lições, em especial ao professor Edson Luiz Foletto, pela orientação e paciência durante este mestrado.

Ao grupo do LABAC, e essencialmente à Med.^a Vet.^a Leticia T. Gressler, pela atenção e pelo auxílio no desenvolvimento dessa pesquisa.

À Quím.^a Mariana M. Bassaco, pela ajuda com os testes de caracterização.

Aos bons colegas de estudo e de trabalho e aos breves alunos, pelo tempo compartilhado.

Aos queridos amigos, que quer estejam longe, ou perto, se fazem sempre presentes.

À minha família, à minha avó Etelevina e, principalmente, aos meus pais, Geane e Wilder, pois são a base de tudo e o impulso de toda manhã.

Aos anjos (in memoriam), vó Diamantina, tia Celi e Zairinha, cuja ausência nesse último ano só é suportável ao lembrar que foram elas a acreditar, antes mesmo de eu supor ser capaz.

E a toda gente do bem, que de alguma maneira, e durante tantos percalços, fez parte dessa caminhada.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos
Universidade Federal de Santa Maria

OBTENÇÃO DE CARVÃO ATIVADO IMPREGNADO COM PRATA PARA FINS BACTERICIDAS

AUTORA: GABRIELLY VIEIRA RIBEIRO

ORIENTADOR: EDSON LUIZ FOLETTTO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 09 de outubro de 2014.

O desenvolvimento de produtos com ação antimicrobiana, inibitória ou mesmo letal, tem atraído considerável atenção nos mais distintos campos de pesquisa e aplicações. O objetivo deste estudo foi obter um material antimicrobiano a partir de carvão ativado submetido à adsorção em um meio com íons de prata. O trabalho está dividido em cinco capítulos, tratando respectivamente de: introdução (delimitação do tema; objetivos da pesquisa; estrutura do estudo); fundamentação teórica (materiais antimicrobianos; íons metálicos; carvão ativado impregnado com prata (CAIP); detalhes de obtenção e aplicações do CAIP); materiais e métodos (tipo de pesquisa; experimentos; testes de caracterização); resultados e discussões e considerações finais da autora. Para a caracterização do material obtido, além de análise de área superficial, avaliaram-se os efeitos inibitório e bactericida das amostras através de testes microbiológicos com diferentes bactérias. Quanto à metodologia experimental aplicada, foram testados os efeitos da presença de íons de prata no carvão em culturas de bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* de diferentes cepas. Tais efeitos foram avaliados através de testes de concentração mínima inibitória e concentração mínima bactericida. Os resultados referentes ao material obtido confirmaram a ação da prata como um importante agente antibacteriano.

Palavras-chave: carvão ativado, prata, material antibacteriano.

ABSTRACT

Master's Dissertation

Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos

Universidade Federal de Santa Maria

OBTAINING ACTIVATED CARBON IMPREGNATED WITH SILVER FOR BACTERICIDAL PURPOSES

AUTHOR: Gabrielly Vieira Ribeiro

SUPERVISOR: Edson Luiz Foletto

Date and Location: Santa Maria, October 9th, 2014.

The development of products with antimicrobial, inhibitory or even lethal action has attracted considerable attention in widely different research and applications fields. The present work studies the obtaining of an antimicrobial material derived from activated carbon submitted to adsorption in a medium with silver ions. It's divided into five chapters, dealing respectively of: introduction (subject's delimitation; research objectives; study's structure); literature review (antimicrobial materials, metal ions, activated carbon impregnated with silver (ACIS); ACIS's details of obtaining and applications); materials and methods (type of research, experiments, characterization tests); results and discussions and conclusions. To characterize the material obtained, in addition to the surface area analysis, inhibitory and bactericidal effects of the samples were evaluated by microbiological testing with different bacteria. About the experimental methodology, it was tested the effects of the silver ions impregnated on coal in cultures of bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from different strains. These effects were evaluated by minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration tests. The results for the material obtained confirmed the action of silver as an important antibacterial agent.

Keywords: activated carbon, silver, antibacterial material.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura celular de uma bactéria.....	19
Figura 2- Esquema da parede celular de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa.....	20
Figura 3-Bandagem impregnada com CAIP.....	27
Figura 4-Deposição do CAIP em pó no ágar.....	33
Figura 5-Suspensão de CAIP para impregnar papel filtro simulando discos de ATB.....	34
Figura 6- Distribuição das amostras na placa de CMI.....	35
Figura 7-Metodologia de obtenção de goma com CAIP.....	36
Figura 8- (a) Isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição do tamanho de poros das amostras de carvão <i>in natura</i> e impregnada com 2% de prata.....	38
Figura 9- Disco-difusão em ágar.....	39
Figura 10-Disco-difusão em ágar (sem efeito).....	40
Figura 11- Resultados CMI e CMB para o diluente DMSO.....	41
Figura 12-Resultados CMI e CMB para o diluente água.....	42
Figura 13- Goma impregnada com CAIP.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Massa de AgNO ₃ em cada solução.....	30
Tabela 2- Resultados CMI e CMB.....	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-Relação das bactérias citadas nas pesquisas correlatas.....	22
Quadro 2- Metodologias de impregnação de prata em carvão ativado.....	26
Quadro 3- Metodologia experimental.....	32

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Contexto	12
1.2 Formulação do problema.....	13
1.3 Justificativa.....	13
1.4 Objetivos	14
1.4.1 Objetivo Geral	14
1.4.2 Objetivos Específicos.....	14
1.5 Delimitação do trabalho	14
1.6 Estrutura da dissertação.....	15
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	16
2.1 Tipo de pesquisa	16
2.2 Materiais Antimicrobianos	16
2.2.1 Íons metálicos pra uso antibacteriano e seus mecanismos de atuação.....	18
2.3 Carvão ativado impregnado com íons metálicos	22
2.3.1 Carvão ativado	23
2.3.2 Íons metálicos - Prata	23
2.4 Carvão ativado impregnado com prata (CAIP)	25
2.5 Aplicações do carvão ativado impregnado com prata (CAIP)	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 Tipo de pesquisa	29
3.2 Metodologia experimental.....	29
3.2.1 Experimento I	30
3.2.2 Experimento II	31
3.2.3 Experimento III.....	31

3.2.4	Caracterização por BET	33
3.2.5	Testes Microbiológicos	33
3.2.6	Experimento IV.....	35
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
4.1	Caracterização das amostras de carvão	37
4.2	Experimento I	39
4.3	Experimento II	41
4.4	Experimento III.....	43
4.5	Experimento IV.....	43
4.5.1	Manipulação do CAIP	43
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contexto

O desenvolvimento de produtos com ação antimicrobiana, inibitória ou mesmo letal, tem atraído considerável atenção nos mais distintos campos de pesquisa e aplicações. Quer sejam empregados em ambientes industriais, hospitalares, sanitários ou mesmo domiciliares, esses materiais atuam de forma eficaz na prevenção, no controle e no combate aos agentes microbiológicos nocivos e às patologias por eles desencadeadas.

Segundo Morones *et al.* (2005), surtos de doenças infecciosas causados por diferentes bactérias patogênicas e o desenvolvimento de resistência aos antibióticos são alguns dos fatores que desencadeiam a procura por novos agentes antibacterianos. Ainda que alguns materiais conhecidos naturalmente ofereçam esse efeito antimicrobiano, cabe ao segmento de pesquisa e desenvolvimento de materiais, encontrar através de novas fontes e adequação de tecnologias, produtos que atendam às demandas específicas que surgem constantemente, intensificando propriedades inerentes ao material originário sem alterar demais características desejáveis.

Vários compostos apresentam um já conhecido efeito microbicida, especialmente os de natureza orgânica. Contudo, o uso deste tipo de composto apresenta diversas desvantagens, como baixos pontos de fusão e de ebulição, tendência de se volatilizar ou se decompor, além de serem muitas vezes tóxicos. (LI *et al.*, 2002, p. 61).

Nessa linha de pesquisa, a preparação de sólidos com propriedades inibitórias ou biocidas, através da metodologia de impregnação de íons metálicos, é fonte de diversos estudos. Hu (2000, *apud* Li *et al.*, 2002) comenta que os materiais inorgânicos dotados dessas propriedades normalmente ocorrem sob a forma de compósitos onde a incorporação de íons metálicos ou compostos orgânicos dentro ou fora de suas estruturas os faz atuar como um carregador ou um suporte que libera estas substâncias de forma controlada e apropriada. Entre os carregadores citados com maior frequência na literatura, incluem-se: zeólitas, argilas, vidro e carvão ativado. Quanto aos íons metálicos comumente empregados, a prata é um dos destaques.

A prata tem um longo histórico de usos na medicina como agente antimicrobiano. Os íons de prata têm efeito antibacteriano sobre alguns micro-organismos. Muitos estudos demonstraram que íons de prata são seletivamente tóxicos para micro-organismos procarióticos, com pequeno efeito sobre células eucarióticas. (Park & Jang, 2003, p. 238)

Li *et al.* (2014) aponta que óxidos, zeólitas e materiais de carvão têm sido muito empregados como suportes para partículas de prata. Sobre todos, os oriundos de carvão têm sido considerados promissores candidatos devido à sua estabilidade química. O mesmo autor também elucida que a preparação, a caracterização e a atividade antibacteriana das estruturas de carvão associadas à prata têm sido reportadas em inúmeros estudos. Fibras de carvão, carvão ativado, nanotubos de carvão e óxidos de carbono têm sido extensivamente estudados para esse suporte.

1.2 Formulação do problema

O problema que se aborda é de como obter, a partir de carvão ativado, um material capaz de inibir ou eliminar a presença de bactérias indesejadas em diferentes meios, como o hospitalar e os sanitários.

1.3 Justificativa

Fundamenta-se a relevância deste trabalho a partir da necessidade, em diferentes setores, de minimizarem-se os riscos tanto à saúde humana quanto a animal, iminentes à presença de bactérias patogênicas.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo Geral

Desenvolver um material antibacteriano a partir de carvão ativado submetido à adsorção em um meio com nitrato de prata.

1.4.2 Objetivos Específicos

Visando o objetivo principal, a pesquisa demanda alguns objetivos específicos:

- Realizar um levantamento bibliográfico de estudos envolvendo o carvão ativado impregnado com prata;
- Impregnar o carvão ativado com prata;
- Caracterizar o carvão ativado impregnado com prata;
- Avaliar os efeitos inibitório e letal das amostras de carvão tratado com prata, através de testes microbiológicos com diferentes bactérias (*E. coli* e *S. aureus*).

1.5 Delimitação do trabalho

Este estudo pretende obter e caracterizar um material antimicrobiano propondo uma metodologia de pesquisa experimental aliada à pesquisa bibliográfica e documental. Nesta dissertação, os dados referenciais são coletados mediante diferentes fontes, nas quais se destacam publicações periódicas, dissertações, teses e patentes, enquanto que os dados experimentais são obtidos em ambiente laboratorial.

1.6 Estrutura da dissertação

A presente dissertação é formada por cinco capítulos. O primeiro traz uma breve introdução onde se apresentam a relevância do tema, os objetivos da pesquisa e a estrutura do estudo.

No segundo capítulo realiza-se a fundamentação teórica sobre aspectos gerais dos materiais antimicrobianos. Destaca-se o carvão ativado impregnado com prata através das características do suporte, do íon metálico e dos detalhes de obtenção e aplicações do produto.

O terceiro capítulo apresenta a metodologia experimental empregada no desenvolvimento da pesquisa, descrevendo para tal, a forma de impregnação aplicada e os respectivos testes de caracterização envolvidos no estudo, assim como a metodologia para avaliação do efeito bactericida.

O quarto capítulo compila a apresentação dos resultados e suas respectivas discussões. Por fim, o quinto capítulo aborda as considerações finais da dissertação.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Para uma melhor interpretação do contexto abordado nesta dissertação, apresentam-se fundamentos teóricos básicos sobre o tipo de pesquisa desenvolvido e os aspectos gerais dos materiais antimicrobianos, destacando-se o carvão ativado impregnado com prata através das características do suporte, do íon metálico e dos detalhes de obtenção e aplicações do produto.

2.1 Tipo de pesquisa

Seguindo a classificação metodológica prevista por Gil (2002), este estudo foi conduzido como uma pesquisa experimental aliada à pesquisa bibliográfica e documental. De acordo com as definições do autor, este estudo pôde caracterizar-se como pesquisa experimental uma vez que se determinou um objeto de estudo (o carvão ativado impregnado com prata), selecionaram-se variáveis capazes de influenciá-lo e definiram-se formas de controle e de observação dos efeitos que as variáveis produziram no objeto (procedimentos experimentais adotados).

Ainda através da mesma referência, a consulta a livros e artigos científicos configurou a categorização como pesquisa bibliográfica, enquanto que, pelo estudo de dissertações, de teses e de patentes, coube a designação de pesquisa documental.

2.2 Materiais Antimicrobianos

Compostos cuja presença é capaz de inibir ou mesmo de matar certos micro-organismos são genericamente denominados materiais antimicrobianos. Estes possuem propriedade de ação aplicável aos mais distintos campos, principalmente em ambientes cuja isenção ou minimização de agentes microbiológicos está atrelada ao desencadeamento de patogenias. De forma ampla, Rosário (2010) apontou aplicações desses materiais nas áreas da indústria alimentícia, nos ambientes hospitalares e laboratoriais, nos meios farmacêuticos e

veterinários, além de citar a questão da saúde pública. Esta, por exemplo, pode ser associada diretamente à qualidade das águas de abastecimento para consumo.

De acordo com o micro-organismo sensibilizado, os materiais antimicrobianos recebem denominações mais específicas, como antifúngicos, antivirais, antiprotozoários e antibacterianos. Nas aplicações que se destinam diretamente às bactérias, distinguem-se as capacidades de inibição e de letalidade dos materiais antibacterianos através dos termos bacteriostático (ou bacteriostase) e bactericida. Este designa os materiais capazes de causar danos celulares irrecuperáveis, enquanto aquele se refere aos materiais capazes de evitar a proliferação do micro-organismo, inibindo o crescimento e a reprodução.

Finberg *et al.* (2004) apresentou como cenário científico um considerável número de pesquisas que são realizadas no campo de agentes antimicrobianos bactericidas *versus* agentes antimicrobianos bacteriostáticos para o tratamento de diferentes doenças infecciosas, sem, contudo, que se tenha ainda estabelecido uma prática padrão em termos de superioridade de tratamentos. A questão, segundo Finberg, é que substâncias bacteriostáticas para um organismo podem ser bactericidas para outro ou para outra estirpe do mesmo organismo, podendo apresentar ainda os efeitos bacteriostáticos e bactericidas combinados.

Para se avaliarem os agentes antibacterianos com esses efeitos, dois ensaios microbiológicos *in vitro* são comumente empregados, o da Concentração Mínima Inibitória (CMI) ou *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) e o da Concentração Mínima Bactericida (CMB) ou *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). A CMI aponta a concentração mínima de agente capaz de inibir o crescimento das bactérias, não significando necessariamente que estas estejam mortas, já que é possível voltarem a se reproduzir quando alocadas em um novo meio sem o agente bacteriostático. Em contraste, a CMB é uma medida da concentração de agente para a qual há a morte de todas as bactérias presentes no meio em análise. Ainda dentre os ensaios microbiológicos mais recorrentes há o método de disco-difusão em ágar, que, como apontado por Tortora *et al.* (2012), é empregado principalmente em laboratórios de ensino para avaliar a eficácia de um agente químico.

Um disco de papel filtro é embebido em um produto químico e colocado em uma placa de ágar que foi previamente inoculada e incubada com o organismo-teste. Após incubação, se o produto químico é eficaz, uma zona clara representando a inibição do crescimento pode ser visualizada em torno do disco. (Tortora *et al.*, 2012, p.195)

Embora apresentem similaridades em termos de materiais empregados, os testes citados diferem quanto à natureza de seus resultados, diferenciando-os entre qualitativos (disco-difusão em ágar) e quantitativos (CMI e CMB). Por tal motivo, ambas as técnicas, considerando-se a funcionalidade de suas respostas, foram empregadas durante a presente pesquisa.

2.2.1 Íons metálicos pra uso antibacteriano e seus mecanismos de atuação

Inúmeros metais atuam como biocidas ou antissépticos, incluindo a prata, o cobre e o zinco. Como já mencionado anteriormente, a preparação de sólidos com propriedades inibitórias ou biocidas, através da metodologia de impregnação de íons metálicos em materiais inorgânicos (normalmente compósitos), permite infundirem-se novas propriedades desejáveis a esses carregadores, como a ação antimicrobiana.

Diversos íons metálicos possuem essa propriedade, entre eles a prata, o titânio, o mercúrio, o cobre, o cádmio, o cromo, o níquel, o estanho, o chumbo, o cobalto, o zinco, o ferro, o manganês, o arsênio, o antimônio, o bismuto, o cério e o bário. Angioletto (2003, p.2)

Essa capacidade de exercer atividade antimicrobiana é conhecida como efeito oligodinâmico, onde a própria etimologia da palavra, *oligos + dinamikós* (pequeno + poder), permite pressupor o referido por Angioletto (2003), quando mencionou que as concentrações empregadas desses íons metálicos são baixas, na ordem de partes por milhão e ainda assim capazes de causar letalidade. Tortora *et al.*(2012) aludiu que esse efeito produzido pela ação de pequenas quantidades de íons metálicos ocorre quando estes se combinam com grupos sulfidríla nas proteínas das células, resultando na desnaturação.

Existem muitos tipos diferentes de enzimas em uma célula. A inativação de uma enzima pode ocorrer por diversos motivos, entre esses, pela combinação de um de seus componentes, o grupo sulfidríla – SH, com íons metálicos como, por exemplo, a prata, o cobre e o mercúrio. Angioletto (2003, p.16)

Os exatos mecanismos de destruição celular por metais ainda não foram totalmente elucidados, uma vez que são variáveis por diversos fatores, como tamanho da população de micro-organismos, a concentração do agente antimicrobiano, o tempo de exposição a tal

agente, a temperatura durante a exposição, a natureza do material que contém os micro-organismos e características específicas de cada micro-organismo, entre outros citados por Tortora *et al.* (2012). Contudo, genericamente, os mecanismos de destruição bacteriana estão associados aos aspectos estruturais básicos das células. A conhecida estrutura celular das bactérias, apresentada na Figura 1, permite que se visualizem as regiões mais pertinentes ao ataque realizado por esses agentes.

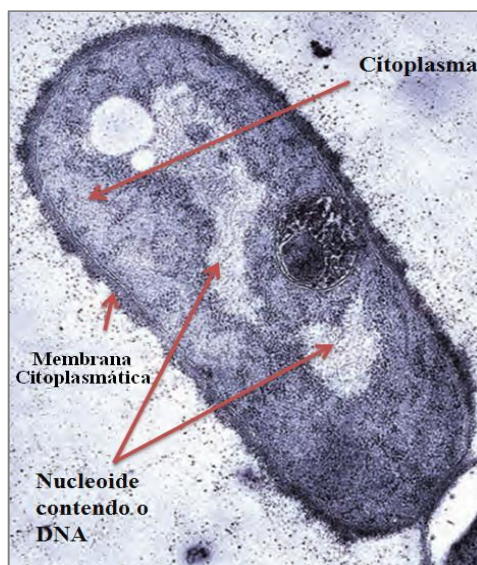


Figura 1- Estrutura celular de uma bactéria.

Fonte: adaptado de Tortora *et al.*, 2012.

A membrana citoplasmática, cuja permeabilidade seletiva é fundamental para manter a integridade celular, é o principal foco dos agentes de controle bacteriano. Quando se analisa a ação dos íons metálicos empregados com essa intenção, o que se encontra é o acúmulo destes junto à parede celular, resultando no desequilíbrio de sua permeabilidade.

Em termos gerais, os micro-organismos em contato com os metais têm o seu crescimento controlado e acontece uma seleção, em que alguns micro-organismos são resistentes. Os mecanismos que as células empregam no intuito de neutralizar o efeito tóxico dos metais são diversos e podem ser citados os seguintes: precipitação extra-celular, complexação e cristalização, transformações que incluem oxidação, redução, metilação e dealquilação, bio-sorção nas paredes das células, impermeabilidade, decréscimo no transporte e fluxo e compartimentação celular. (Lorenzi, 2004, p.49)

Embora as bactérias possuam mecanismos naturais de defesa, como os apresentados por Lorenzi (2004), por ser o regulador da passagem nutricional e da eliminação de resíduos, qualquer alteração ou lesão no envoltório já é comprometedora para a célula, sendo que em casos radicais, o rompimento da membrana, consequente abertura do invólucro protetor do citoplasma, resulta na morte da bactéria.

Angioletto (2003) salientou que o envoltório celular (membrana citoplasmática + parede celular) é distinto entre os dois principais grupos de bactérias (Gram-positiva e Gram-negativa) e que as diferenças na composição e espessura desse envoltório influenciam na maior ou menor facilidade da ação dos íons metálicos. A Figura 2 representa os envoltórios desses dois grupos.

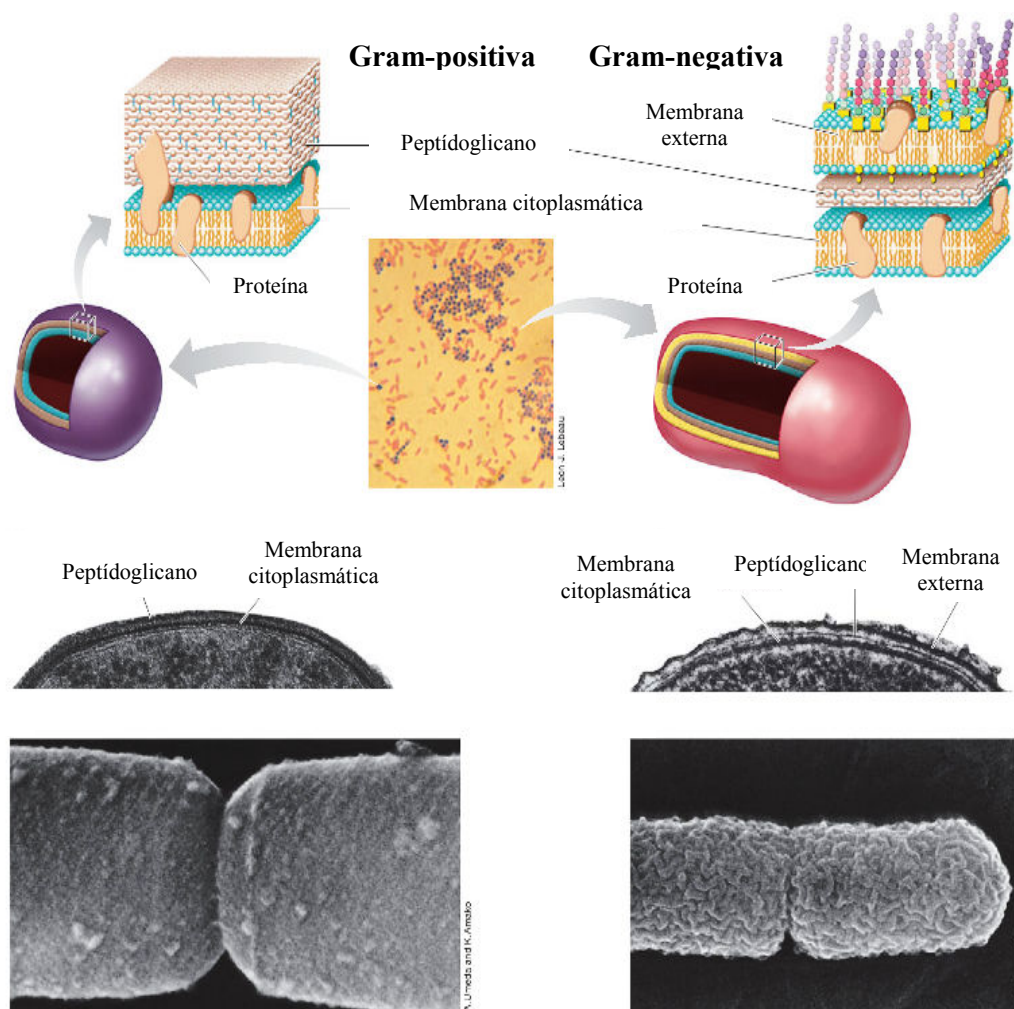


Figura 2- Esquema da parede celular de bactérias Gram-positiva e Gram-negativa.

Fonte: adaptado de Madigan *et al.*, 2010.

As bactérias Gram-positivas possuem apenas uma espessa camada (rígida) de peptidoglicano que circunda a membrana citoplasmática. Esta estrutura é mais simples, quando comparada à das Gram-negativas, pois apesar de espessa, apresenta predominantemente apenas um tipo de macromolécula, o que a torna mais suscetível à ação dos antimicrobianos. Enquanto isso, as bactérias Gram-negativas têm sua camada externa constituída por lipossacarídeos, lipoproteínas e fosfolípídeos, resultando em uma estrutura muito mais complexa, onde há a produção de enzimas capazes de proporcionar maior resistência à bactéria.

Consideradas essas características e os tipos de bactérias citadas nas publicações consultadas, a *Escherichia coli* e a *Staphylococcus aureus* configuraram as opções escolhidas para este estudo. O Quadro 1 traz a relação de referências consultadas antes de se optar por tais bactérias, sendo estas oportunamente propostas como representantes dos tipos Gram-negativo e Gram-positivo, respectivamente. A *E.coli* e a *S.aureus* figuram como as mais citadas, tanto por representarem os grupos Gram-negativo e Gram-positivo quanto por serem estirpes de bactérias patogênicas comuns.

Ano	Autor	Título	Bactérias
1992	Oya <i>et al.</i>	<i>Antibacterial activated carbon fiber derived from phenolic resin containing silver nitrate.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
1993	Oya <i>et al.</i>	<i>Antibacterial activated carbon fiber derived from methyl methacrylate-grafted phenolic resin fiber.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
1993	Oya <i>et al.</i>	<i>Preparation of pitch-based antibacterial activated carbon fiber.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
1998	Li <i>et al.</i>	<i>Antibacterial pitch-based activated carbon fiber supporting silver.</i>	<i>E. coli</i>
1999	Filho <i>et al.</i>	Filtração em carvão ativado granular impregnado com prata para a melhoria da qualidade da água de consumo humano.	Coliformes totais
2001	Yamamoto <i>et al.</i>	<i>Adsorption and growth inhibition of bacteria on carbon materials containing zinc oxide.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2002	Miyanaga <i>et al.</i>	<i>Preparation and high bacteriostatic action of the activated carbons possessing ultrafine silver particles.</i>	<i>E.coli</i> , <i>p. aeruginosa</i> , <i>S.aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> e <i>Candida albicans</i>
2002	Li <i>et al.</i>	<i>Antibacterial Vermiculite Nano - Material</i>	<i>E.coli</i>
2003	Park <i>et al.</i>	<i>Preparation and characterization of activated 2I arbono fibers supported with silver metal for antibacterial behavior.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2003	Angioletto	Desenvolvimento de processo de fabricação de cerâmicas com propriedades antimicrobianas	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>

2004	Lorenzi	Vidros bactericidas no tratamento microbiológico de água	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2005	Morones <i>et al.</i>	<i>The bactericidal effect of silver nanoparticles.</i>	<i>E. coli</i> , <i>V. cholera</i> , <i>P. aeruginosa</i> e <i>S. typhus</i>
2007	Tang <i>et al.</i>	<i>A study on antibacterial properties of Ag⁺-implanted pyrolytic carbono.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2007	Ortiz-ibarra <i>et al.</i>	<i>Surface characterization of electrodeposited silver on activated carbon for bactericidal purposes.</i>	<i>E.coli</i>
2010	Xavier <i>et al.</i>	Avaliação da eficiência de um reator de carvão ativado impregnado com prata no tratamento de águas residuárias geradas em laboratórios de análises clínicas.	Coliformes totais, Coliformes termotolerantes, <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas</i> e <i>Enterobactérias</i> .
2010	Rosário	Obtenção de material antimicrobiano a partir de bentonita nacional tratada com prata	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2011	Adewuyi <i>et al.</i>	<i>Chitosan-cobalt (II) and nickel (II) chelates as antibacterial agents.</i>	<i>E.coli</i> , <i>S. faecalis</i> e <i>S.aureus</i>
2013	Singh <i>et al.</i>	<i>Preparation of surfactant-mediated silver and copper nanoparticles dispersed in hierarchical carbon micro-nanofibers for antibacterial applications.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>
2014	Li <i>et al.</i>	<i>Preparation and antibacterial property of silver decorated carbon microspheres.</i>	<i>E.coli</i> e <i>S.aureus</i>

Quadro 1-Relação das bactérias citadas nas pesquisas correlatas.

2.3 Carvão ativado impregnado com íons metálicos

Como mencionado anteriormente, na obtenção de materiais antimicrobianos através da impregnação com metais, os meios suporte oriundos de carvão têm sido considerados promissores candidatos devido à sua estabilidade química. Yamamoto *et al.*(2001 *apud* Kojima *et al.*, 1999) reportou que os materiais oriundos do carvão têm excelente afinidade com micro-organismos, sendo que uma grande quantidade de bactérias fica adsorvida na superfície desses materiais. Essa propriedade pode ser uma importante aliada em sistemas de filtração ou mesmo em bandagens hospitalares que por possuírem carvão impregnado com íons metálicos, seriam capazes de capturar esses organismos (adsorção no carvão) e inibi-los ou mesmo matá-los (efeito oligodinâmico do metal presente).

2.3.1 Carvão ativado

Francisco (2008) descreveu que o carvão ativado adsorve a maior parte das substâncias orgânicas que causam sabor, odor, mutagenicidade e toxicidade de uma infinidade de produtos, recuperando solventes, além de ser utilizado em outras aplicações onde ocorrem reações químicas. É comercializado em forma de partículas ou grânulos, podendo ser de origem mineral, vegetal ou mesmo animal e tem como principal característica física sua ampla área superficial, sendo esta resultante dos processos de ativação.

Comercialmente, o tamanho dos grânulos do carvão classifica-o em duas categorias mais comuns, o carvão ativado pulverizado (CAP) e o carvão ativado granular (CAG). As publicações científicas consultadas apresentam o carvão como principal suporte para produção de material antimicrobiano, apresentando-o em diferentes formas além das convencionais, como nanotubos, fibras, óxidos, esferas e mesmo blocos filtrantes.

2.3.2 Íons metálicos - Prata

Figueiredo (2007 *apud* Francisco, 2008) relatou que nenhum organismo causador de doenças, é capaz de viver mais que alguns minutos em presença da prata, mesmo que de traços de prata metálica. Um antibiótico elimina um pouco mais do que meia dúzia de organismos patogênicos, enquanto a prata é capaz de matar 650 organismos, apresentando a vantagem de não desenvolver linhagens resistentes.

Lalley *et al.*(2014) mencionou que a prata tem sido empregada como um desinfetante de água desde os tempos dos gregos antigos, que como citado também por Tortora *et al.* (2012) e Angioletto (2003), empregavam jarros de prata em vez dos tradicionais feitos em cerâmica. O autor também comentou que o mecanismo de desinfecção através da prata não é conhecido com exatidão, mas se acredita, como mencionado anteriormente, que a prata liga-se aos grupos -SH nas enzimas e conseqüentemente causa a desativação destas. Há outras teorias que dizem que os íons de prata entrariam na célula e intercalar-se-iam entre os pares de purinas e pirimidinas, causando a desnaturação do DNA.

Feng *et al.*(1999) também comenta que o mecanismo do efeito antimicrobiano da prata ainda não foi completamente compreendido, por se tratar de uma questão complicada, embora

a observação direta das mudanças morfológicas e estruturais das células em contato com esse metal possa fornecer informações úteis para o entendimento desse processo de inibição. Seguindo essa lógica de observação, seu estudo com *E. coli* e *S. aureus* sendo tratadas com AgNO_3 demonstrou que como uma reação contrária aos efeitos de desnaturação causados pelos íons de prata, as moléculas de DNA se tornam condensadas e perdem sua capacidade de replicação e os íons de prata interagem com os grupos tióis das proteínas induzindo a inativação proteica dessas bactérias.

Lalley (2014) citou ainda que quando comparada aos demais metais capazes de inativar bactérias, a prata se mostrou o mais eficiente, além de ser a nanopartícula metálica mais comumente investigada. Seu efeito oligodinâmico é forte para uma gama de bactérias, mas se mantém relativamente não tóxico para as células dos mamíferos. O advento da nanotecnologia também fez com que a prata se tornasse um metal com diversos usos potenciais. Tanto no Brasil como em outros países, a capacidade antimicrobiana da prata é aplicável em diversos segmentos, como em soluções para tratar infecções, implantes de cirurgias ósseas, tratamento de queimaduras, filtros de água, substituição do cloro em piscinas e filtros de ar que removem principalmente cianetos e óxidos nítricos.

Tang *et al* (2007) também citou que é fato conhecido que a prata possui propriedades antibacterianas sem efeitos tóxicos em comparação com íons de outros metais pesados. Nas pesquisas sobre antibacterianos, é o primeiro metal apontado como melhor candidato, inclusive em estudos que citam a redução de infecções bacterianas em zonas próximas a superfícies de biomateriais que possuem prata em sua composição.

Em termos de produção científica, durante a pesquisa bibliográfica e documental, inúmeros materiais antimicrobianos foram reportados nas fontes consultadas. No âmbito nacional, Filho (1999) propôs a filtração em carvão ativado granular impregnado com prata para a melhoria da qualidade da água de consumo humano, Angioletto (2003) desenvolveu cerâmicas com propriedades antimicrobianas, Lorenzi (2004) produziu vidros bactericidas no tratamento microbiológico de água, Xavier (2010) expôs o uso de um filtro de carvão impregnado com prata na construção de um reator para tratamento de águas residuárias de laboratórios de análises clínicas e Rosário (2010) obteve material antimicrobiano a partir de bentonita nacional tratada com prata.

O entusiasmo para a incorporação de prata em todos os tipos de produtos de consumo está aumentando. [...] Entre os recentes produtos a venda estão as embalagens plásticas de alimentos inoculadas com nanopartículas de prata, que pretendem manter o alimento fresco, além de camisas e blusas de atletas impregnadas de prata, que prometem minimizar odores.

A fórmula mais comum é uma combinação de prata com a droga sulfadiazina, a sulfadiazina de prata. Ela está disponível como creme tópico para ser usado em queimaduras. A prata também pode ser incorporada a cateteres, que são uma fonte comum de infecções hospitalares, e em bandagens para curativos. Tortora *et al.* (2012, p.198)

2.4 Carvão ativado impregnado com prata (CAIP)

Embora figurem no cenário científico nacional principalmente as cerâmicas, os vítreos e as argilas impregnados com metais, internacionalmente o carvão ativado é destaque nas pesquisas sobre materiais antimicrobianos. Uma vez que as vantagens de se utilizar tanto o carvão quanto a prata para a produção de materiais antibacterianos já foram abordadas, passam a ser de interesse as metodologias possíveis para a obtenção desse CAIP. Frente a essa realidade, Tang *et al.* (2007) mencionou que há diferentes maneiras de se introduzir a prata em materiais, tais como troca iônica por via química, impregnação, revestimento de superfície e implantação iônica como vias físicas.

Os estudos envolvendo a obtenção de carvão antimicrobiano a partir da impregnação com íons metálicos oligodinâmicos, principalmente a prata, citam diferentes técnicas. O Quadro 2 apresenta as metodologias citadas nas publicações consultadas durante o levantamento bibliográfico e documental.

Ano	Autor	Suporte	Impregnação
1993	Oya <i>et al.</i>	Fibra de carvão ativado (derivada de Methyl Methacrylate-Grafted Phenolic Resin Fiber)	Adsorção de solução aquosa de AgNO ₃ , seguida de aquecimento a 900°C, atm. N ₂ .
1997	Li <i>et al.</i>	Fibra de carvão ativado	Adsorção de solução aquosa de AgNO ₃ , seguida de aquecimento a 420°C, atm. N ₂ .
2002	Adhoum <i>et al.</i>	Carvão particulado	Adsorção de solução contendo prata, secagem a 300°C, atm. N ₂ .
2004	Pape <i>et al.</i>	Fibras de carvão ativado	Impregnação a vácuo, com solução de AgNO ₃ .

2007	Ortiz-Ibarra <i>et al.</i>	Carvão ativado granular	Eletrodeposição, leito fixo e leito móvel de carvão, solução de AgNO ₃ .
2010	Xavier <i>et al.</i>	Coluna oca de carvão (CarbonBlock®)	Tratamento térmico com AgNO ₃ a 690°C, atm. N ₂ .
2010	Kempf <i>et al.</i>	Carvão particulado	Adsorção de solução aquosa de AgNO ₃ , tratamento térmico a 800°C-900°C, atm. N ₂ .
2010	Ko	Fibras de carvão ativado	Impregnação a vácuo, com solução de AgC ₂ H ₃ O ₂ secagem a 120°C-450°C.
2011	Bashkova <i>et al.</i>	Carvão particulado	Adsorção, partindo de AgNO ₃ , obtendo Ag ₂ O e posteriormente [Ag(NH ₃) ₂] ⁺ e então iniciando a adsorção. Secagem a 120°C.
2013	Singh <i>et al.</i>	Nanofibras de carvão	Adsorção de solução aquosa de AgNO ₃ , secagem a 120°C.

Quadro 2- Metodologias de impregnação de prata em carvão ativado.

Em geral, os sais como os acetatos e os nitratos são empregados como “fontes” dos íons metálicos de interesse. Nos casos apresentados no Quadro 2, o nitrato de prata (AgNO₃) obteve destaque, sendo mais empregado em solução aquosa, mas como mencionado por Kempf *et al.* (2010), o tipo de líquido no qual as partículas de carvão ficam em suspensão não é particularmente restrito, desde que não reaja com as partículas de carvão e demais componentes que possam estar presentes na solução (quando não o for de interesse). A técnica de destaque para a impregnação foi a de adsorção seguida de secagem/tratamento térmico. De acordo com as referências, quando submetidas a elevadas temperaturas, as amostras permaneceram em atmosfera inerte de nitrogênio durante todo o tratamento, o que favoreceria a fixação da prata no carvão sem maiores danos de oxidação. Contudo, embora esses autores não o tenham referido, essas temperaturas empregadas podem resultar em efeitos contraditórios ao esperado.

2.5 Aplicações do carvão ativado impregnado com prata (CAIP)

Como já mencionado, o carvão ativado impregnado com prata apresenta diversas aplicações, dentre as quais se enfatizam a filtração de águas de consumo, ou de águas residuárias biologicamente contaminadas e as bandagens de carvão com prata para tratamentos de lesões cutâneas.

Os filtros domésticos de água de consumo, assim como os de estações de tratamento de maior porte, empregam carvão impregnado com prata como etapa de adsorção do cloro e

redução de substâncias orgânicas e químicas, proporcionando remoção de odores e sabores desagradáveis. Modelos comerciais de filtro de carvão impregnado com prata apresentam a sobreposição de camadas do material em diferentes granulometrias possibilitando maior eficácia de remoção de contaminantes.

Como exemplo da utilização da combinação de carvão ativado e da prata para obtenção de água com alto grau de potabilidade, ou seja, baixa densidade microbiana, indústrias de bebidas e fabricantes de filtros residenciais vêm utilizando o carvão ativado impregnado com íons de prata, resultando na adsorção do material orgânico pelo carvão ativado e na ação bactericida através dos íons de prata. (Xavier 2010, p.30).

Tortora *et al.* (2012) comentou que tem havido um interesse renovado na prata como agente antimicrobiano, citando, por exemplo, as bandagens impregnadas que liberam lentamente os íons prata e que demonstram ser especialmente úteis contra bactérias resistentes aos antibióticos. No Brasil, estes tipos de bandagens (Figura 3) são comercializados apenas por duas empresas, o que pôde ser confirmado através de um semilevante com profissionais que atuam no mercado.



Figura 3-Bandagem impregnada com CAIP.

Fonte: adaptado de *homepage* Curatec©.

Os efeitos associados a essas bandagens estão diretamente ligados ao CAIP. Para tratamentos de lesões cutâneas, o carvão é fundamental na inibição de odores e na adsorção de secreções e a prata atua como um eficiente mecanismo para evitar contaminações por bactérias. Embora tenham efeito comprovado, essas bandagens não têm seu uso tão

disseminado em ambientes hospitalares e ambulatoriais pelo seu relativo alto custo quando comparadas às bandagens comuns.

Se apenas o carvão ativado já desempenha significativo papel na área da saúde, o carvão ativado impregnado com prata tem um potencial ainda maior a ser explorado, basta que para isso novas tecnologias sejam capazes de obter esse produto a custos reduzidos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Tipo de pesquisa

Os dados bibliográficos e documentais foram coletados mediante diferentes fontes, essencialmente em plataformas de base de dados *online*, como Scopus, ScienceDirect, Periódicos Capes, Domínio Público, Google Patent Search e portais de bibliotecas universitárias. Portanto, como fontes da fundamentação teórica, destacaram-se publicações periódicas, livros, dissertações, teses e patentes.

Paralelamente, os dados experimentais foram obtidos em ambiente laboratorial. Citam-se os laboratórios do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos – PPGEPro e o Laboratório de Bacteriologia- LABAC, ambos pertencentes à Universidade Federal de Santa Maria e institucionalmente vinculados aos departamentos de Engenharia Química e de Medicina Veterinária, respectivamente.

3.2 Metodologia experimental

A metodologia de obtenção das amostras de carvão ativado impregnado com íons prata foi dividida em três etapas, aqui descritas como experimento I, experimento II e experimento III. O experimento I consistiu na obtenção de quatro amostras com diferentes concentrações de prata que foram submetidas apenas a teste microbiológico de disco-difusão em ágar. Com base nos resultados obtidos nessa primeira etapa, o experimento II foi conduzido com novos limites de trabalho, produzindo-se apenas uma amostra cuja concentração de prata impregnada foi a indicada pelos resultados do teste de disco-difusão.

Um terceiro experimento, citado como experimento III, foi realizado empregando-se a mesma metodologia do experimento II, além de um tratamento térmico adicional executado a fim de se verificar o efeito térmico sobre as propriedades bactericidas. Realizou-se ainda um quarto experimento, experimento IV, de caráter limitadamente empírico, apenas para propor uma alternativa que facilitasse o manuseio do CAIP.

3.2.1 Experimento I

Os experimentos realizados foram conduzidos fazendo-se uso de carvão ativado pulverizado, produzido pela AlphaCarbo Industrial LTDA e cedido pela Companhia Rio Grandense de Saneamento (CORSAN) de Santa Maria e de reagente nitrato de prata P. A. , da Belga Import. e Export. de Produtos Químicos LTDA.

Nesta etapa foram preparadas quatro amostras iniciais de carvão impregnado com prata. As concentrações de prata desejadas eram de 0,5%, 1,0%, 2,0% e 5,0 % (onde o percentual refere-se à proporção em peso de $g_{prata}/g_{carvãoimpregnado}$).

Para a preparação da suspensão base, 100 mL de água deionizada foram vertidos sobre 5,0 gramas de carvão ativado pulverizado, previamente seco em estufa à temperatura aproximada de 100°C. Preparam-se quatro suspensões que foram mantidas, em *erlenmeyers* de vidro de 250 mL, sob agitação de 110 rpm, em incubadora *shaker*.

As quatro soluções de $AgNO_3$ necessárias foram preparadas de acordo com a Tabela 1, com água deionizada, em balões volumétricos de 50 mL. Uma vez preparadas as soluções de nitrato de prata, com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 50 mL, cada uma foi gotejada lentamente sob a sua respectiva suspensão em agitação. A adsorção foi então conduzida, ainda sob agitação de 110 rpm e temperatura de 30°C, durante duas horas.

Tabela 1- Massa de $AgNO_3$ em cada solução.

Solução	Fração de prata (%)	Massa de carvão impregnado (g)	Massa de Ag (g)	Massa de $AgNO_3$ (g)
S ₁	0,5	5,025	0,0251	0,039
S ₂	1	5,05	0,051	0,080
S ₃	2	5,10	0,102	0,161
S ₄	5	5,26	0,263	0,414

Para se evitarem maiores perdas de massa através da filtração, optou-se por secar, em estufa, à temperatura de 100°C, durante 90 horas, toda a suspensão após a adsorção. Para facilitar a remoção posterior do sólido, os volumes foram transferidos para béqueres de vidro de 500 mL, onde se adicionaram mais 100 mL de água deionizada, empregada na remoção do

carvão aderido nas paredes dos *erlenmeyers*. Ao término do procedimento, possuíam-se quatro amostras de carvão impregnado com prata em diferentes concentrações de 0,5%, 1,0%, 2,0% e 5,0 %. Essas amostras foram então submetidas a teste de disco-difusão em ágar e caracterizaram o primeiro teste microbiológico.

3.2.2 Experimento II

Em função dos resultados obtidos no primeiro teste microbiológico, preparou-se nova amostra com a concentração desejada de 2,0%, onde o percentual refere-se à proporção em peso de $\frac{g_{prata}}{g_{carvão\ impregnado}}$. A metodologia de preparo dessa amostra foi similar à descrita no item 3.2.1 (Experimento I). Contudo, partiu-se agora de 9,8 gramas de carvão ativado pulverizado, previamente seco em estufa à temperatura aproximada de 100°C. Em termos de novo volume, foram empregados 150 mL de água deionizada na suspensão, 50 mL de solução de $AgNO_3$ (0,321 g de $AgNO_3$) e 50 mL de água deionizada para auxílio na transferência de frascos. Por se tratar de uma massa maior de sólido, a adsorção foi conduzida a 170 rpm. As demais condições se mantiveram constantes.

3.2.3 Experimento III

O terceiro experimento foi realizado seguindo-se a mesma metodologia aplicada no experimento II, com as seguintes condições:

- Suspensão: (200 mL de água deionizada e 9,8 gramas de carvão ativado pulverizado previamente seco em estufa à temperatura aproximada de 100°C);
- Solução aquosa: $AgNO_3$ e água deionizada, 6,42 g/L;
- Adsorção- (suspensão mais 50 mL de solução gotejada) - adsorção conduzida, sob agitação de 110 rpm e temperatura de 30°C, durante 2 horas.
- Secagem- toda a suspensão + 20 mL de água deionizada (transferência do sólido), secagem em estufa, à temperatura de 100°C, durante 90 horas.

Através do Quadro 3 é possível visualizar comparativamente a metodologia empregada em cada experimento, cujas diferenças resumem-se à concentração de nitrato de prata nas soluções, à quantidade de amostra produzida e ao tratamento térmico adicional.

Experimento I	Experimento II	Experimento III
<i>4 amostras</i>	<i>1 amostra</i>	<i>1 amostra</i>
100 mL de água deionizada; 5,0 gramas de carvão ativado pulverizado; Agitação de 110 rpm; 50 mL de solução de AgNO ₃ (S _{1,I} : 0,78 g/L ; S _{2,I} : 1,6 g/L; S _{3,I} : 3,22 g/L; S _{4,I} : 8,28 g/L) 100 mL de água deionizada-transferência; Secagem 100°C, 90 horas.	150 mL de água deionizada; 9,8 gramas de carvão ativado pulverizado; Agitação de 170 rpm; 50 mL de solução de AgNO ₃ (S _{1,II} : 6,42 g/L); 50 mL de água deionizada-transferência. Secagem 100°C, 90 horas.	200 mL de água deionizada; 9,8 gramas de carvão ativado pulverizado; Agitação de 170 rpm; 50 mL de solução de AgNO ₃ (S _{1,III} : 6,42 g/L); 20 mL de água deionizada-transferência. Secagem 100°C, 90 horas. Aquecimento a 400 °C, durante 2 horas, em atmosfera de N ₂ a uma taxa de aquecimento de 10°C/min

Quadro 3- Metodologia experimental.

Uma vez que a atividade de prata já é conhecida na literatura científica, optou-se pela realização de um tratamento térmico adicional, como apontado nos trabalhos de Oya *et al.* (1993), Oya e Kimura (1994), Li *et al* (1998), Adhoum & Monser (2002), Xavier *et al.* (2010) e Ko (2010). Segundo tais autores, o tratamento térmico realizado confere a melhor fixação da prata no suporte de carvão. São citadas diferentes faixas de temperatura, chegando a máximos de 900°C, assim, considerando-se a amplitude das faixas, optou-se pela faixa intermediária de 400°C. Após a secagem, a amostra foi submetida a aquecimento a 400 °C, durante 2 horas, em atmosfera de N₂ a uma taxa de aquecimento de 10°C/min. Posteriormente, a amostra foi lavada com 100 mL de água em filtro de membrana e seca em estufa a 100°C durante 48 horas.

3.2.4 Caracterização do carvão ativado impregnado com prata (área superficial)

Para a caracterização do carvão, através do método BET, foram construídas as isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio em amostras de carvão ativado *in natura* (sem prata) e impregnado com 2% de íons prata. As amostras foram submetidas a testes de adsorção-dessorção com nitrogênio a 77 K, usando um equipamento ASAP 2020. As amostras foram previamente secas a 200°C (até peso constante) e submetidas à vácuo a fim de eliminar toda a umidade.

3.2.5 Testes Microbiológicos

No Experimento I, foram realizados apenas os testes da amostra de carvão ativado impregnado com prata a 2,0 % em meio com as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC e *Escherichia coli* ATCC. Empregou-se a técnica utilizada por Rosário (2010), adaptando-a as amostras de carvão. Uma suspensão bacteriana contendo 10^8 UFC/mL foi semeada na superfície do ágar de Müeller-Hinton com auxílio de *swab* estéril. Foram depositados 2 mg de carvão ativado impregnado com prata em orifícios de 7mm de diâmetro no ágar (Figura 4) e também papel filtro impregnado com suspensão de 2 mg de carvão e 10 μ L de água destilada estéril, similar aos discos de testes de antibiograma (discos ATB) (Figura 5). O período de incubação foi de 24 horas, a 36°C, em condições aeróbicas.

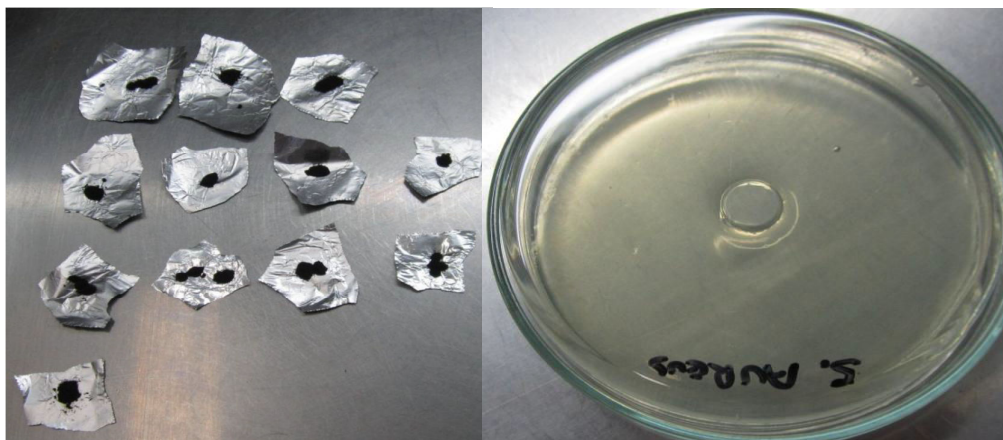


Figura 4-Deposição do CAIP em pó no ágar.



Figura 5-Suspensão de CAIP para impregnar papel filtro simulando discos de ATB.

Uma vez obtidas as amostras com a concentração indicada pelo teste de disco-difusão em ágar, realizaram-se análises quantitativas de Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Concentração Mínima Bactericida (CMB), com metodologia também citadas por Rosário (2010).

Para estas análises, empregaram-se seis diferentes cepas de bactérias, ATCC *E.coli*, SB 440/00 *E.coli*, SB457/00 *E.coli*, ATCC *S. aureus*, SB255/98 *S.aureus* e SB390/98 *S.aureus*, sendo todas provenientes do Laboratório de Bacteriologia (LABAC) da Universidade Federal de Santa Maria. Foram realizadas análises distintas, empregando-se água ou Dimetilsulfóxido (DMSO) como diluentes. O meio de cultivo das cepas foi o Ágar Mueller-Hinton, em solução salina 0,85% de NaCl P.A. em água Milli-Q. A densidade ótica de 10^8 foi verificada em equipamento Ultrospec 10 Cell Density Meter Amersham, indicando absorvância de 0,1. Para o preenchimento dos tubos de ensaio foram utilizados 9 mL de Ágar Mueller-Hinton e 1mL de bactérias em solução salina. Todas as amostras foram testadas em triplicata para cada cepa.

As amostras de carvão depositadas nas placas de CMI foram preparadas partindo-se de 0,2 g de CAIP em 1 mL de diluente (Figura 6). Como diluentes, foram testados Água Milli-Q e DMSO. A fim de auxiliar na revelação da CMI, empregaram-se 20 μ L de solução a 1% de corante cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (VETEC[®]), em cada poço da microplaca.

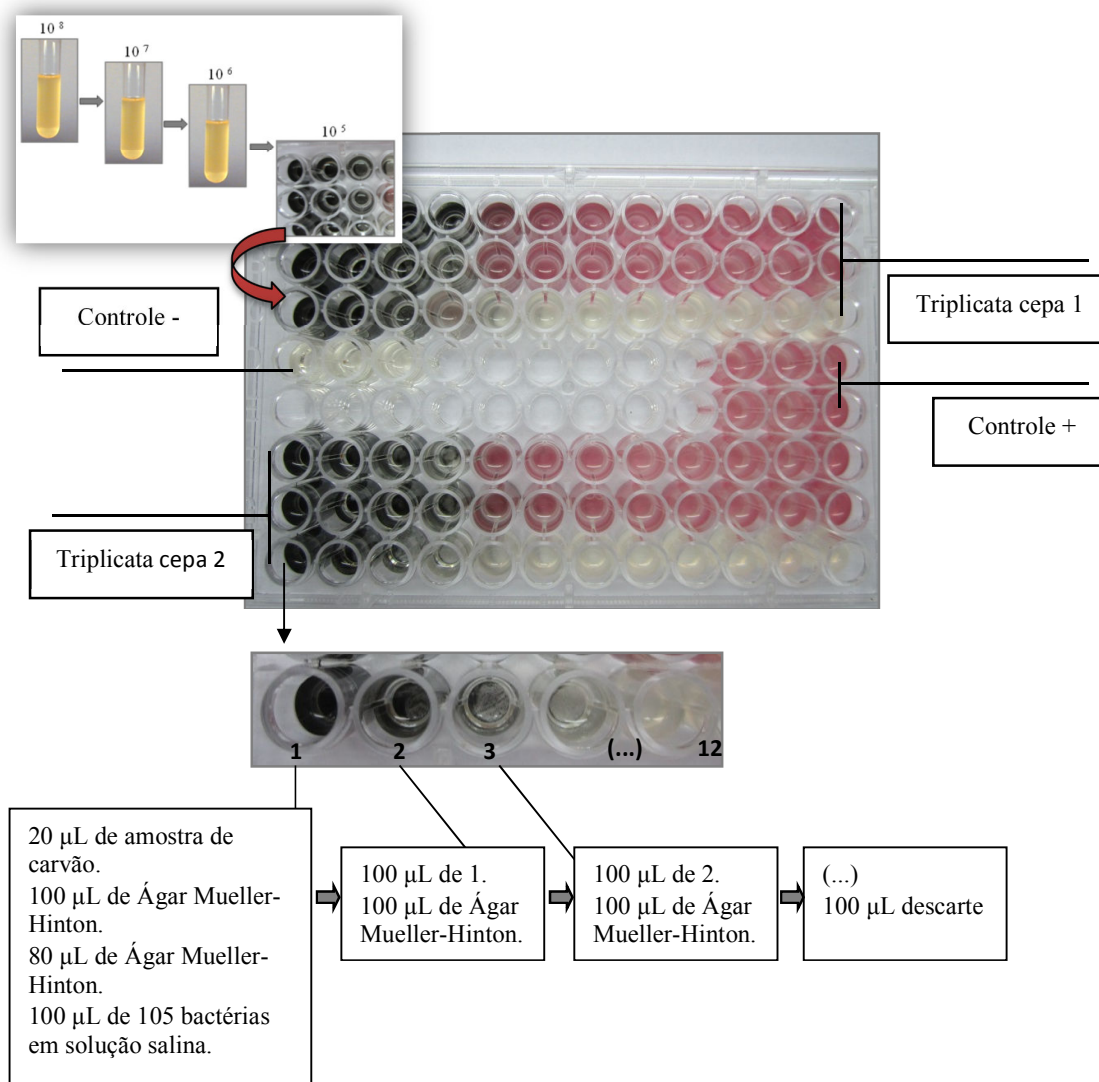


Figura 6- Distribuição das amostras na placa de CMI.

3.2.6 Experimento IV

Como se empregou carvão ativado pulverizado para a obtenção do CAIP, durante a realização dos experimentos, percebeu-se a dificuldade de manipulação do produto devido a sua ínfima granulometria. O carvão, além de facilmente dispersivo no ar, resulta em significativas perdas de massa quando transferido entre recipientes. Considerando-se também a existência de produtos como as bandagens de tratamento que possuem esse material em sua composição, mas que ainda não são tão comercializadas por seu elevado custo, realizou-se a

tentativa de obtenção de um material com forma mais facilmente manipulável e que talvez pudesse ser aplicável como uma bandagem mais econômica.

Para a realização desse experimento paralelo, empregou-se, além do CAIP, gelatina incolor e glucose de milho para a produção de uma goma impregnada de carvão. Consideraram-se esses dois materiais em função de suas características específicas, além da capacidade de formar liga, há o teor de colágeno e a ação cicatrizante que seriam desejáveis em bandagens de uso medicinal. A Figura 7 apresenta a metodologia de obtenção desse material. Para tal, a solução aquosa foi obtida através da dissolução de 1,5 gramas de gelatina incolor e 1,5 gramas de glucose de milho em 60 mL de água a 35°C. Obtida a solução, 2,0 gramas de CAIP 2,0% foram acrescentados a esta e então o volume foi distribuído em duas placas de Petri. Após secagem à temperatura ambiente, durante 18 horas, o material foi removido da placa com auxílio de uma espátula. Uma vez obtida a goma impregnada com CAIP, amostras desta foram deixadas em contato com água e com etanol 98,0% durante 24 horas para se avaliar a estabilidade do material nessas condições.

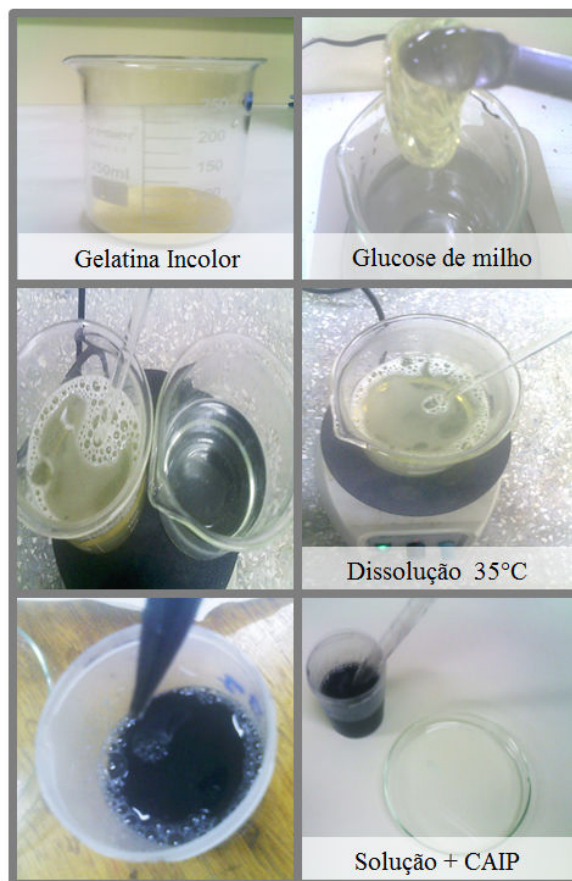


Figura 7-Metodologia de obtenção de goma com CAIP.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização das amostras de carvão

Na Figura 8, são apresentadas as isotermas de adsorção-dessorção de nitrogênio bem como a distribuição de tamanho de poros das amostras de carvão ativado *in natura* (sem prata) e impregnado com 2% de íons prata. As isotermas (fig. 8a) para ambas as amostras são similares e podem ser classificadas como do tipo I, citadas por Gregg *et al.* (1982), caracterizando um material com predominância de microporosidade. A distribuição do tamanho de poros (fig. 8b) mostrou-se similar para ambas as amostras com um pico centrado ao redor de 20 Å, indicando um material predominantemente microporoso (diâmetro de poro < 20 Å).

O volume total de poros, diâmetro médio de poros e a área superficial (BET) foram de 0,366 cm³/g (amostra *in natura*) e 0,364 cm³/g (amostra com prata), 21,15 Å (amostra *in natura*) e 22,29 Å (amostra com prata); e 660 m²/g (amostra *in natura*) e 654 m²/g (com prata), respectivamente. Já o volume de microporos para o carvão *in natura* foi de 0,226 cm³/g, enquanto que para o carvão impregnado com prata, o volume foi de 0,223 cm³/g. De posse desses resultados, é possível verificar que o processo de ativação com uma quantidade de 2% de prata praticamente não altera as propriedades físicas das partículas de carvão. Apenas, uma ligeira redução no valor da área superficial foi observada, uma vez que os íons de prata passam a ocupar certos espaços na estrutura dos carvões.

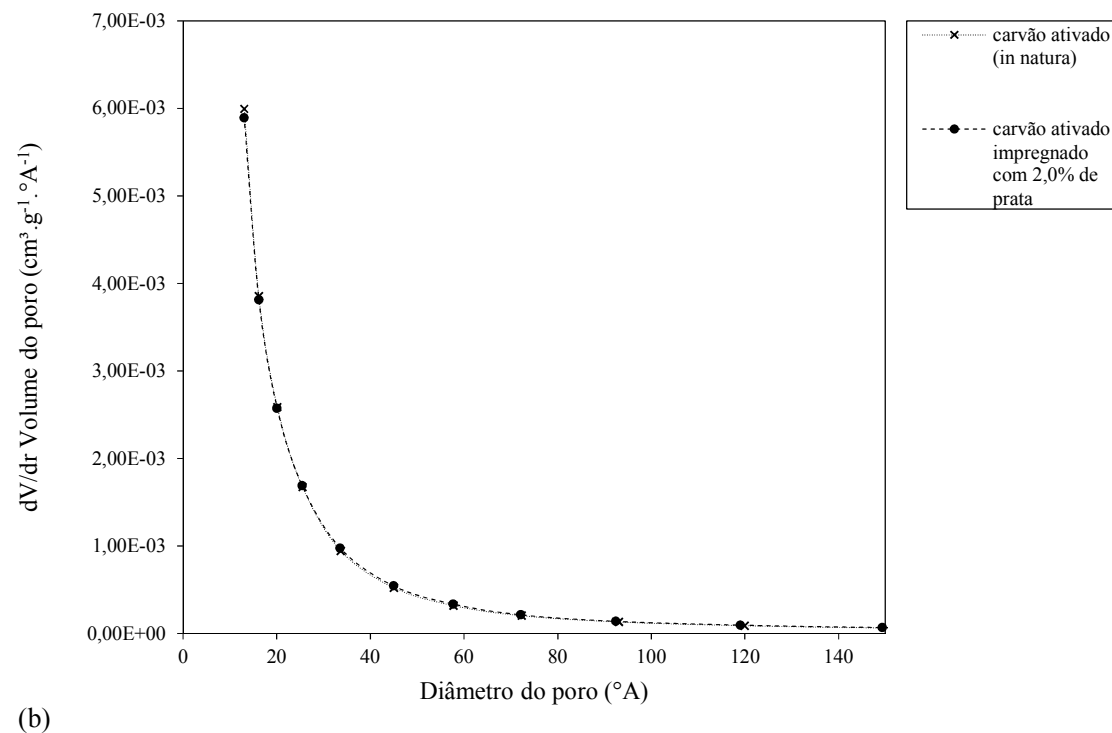
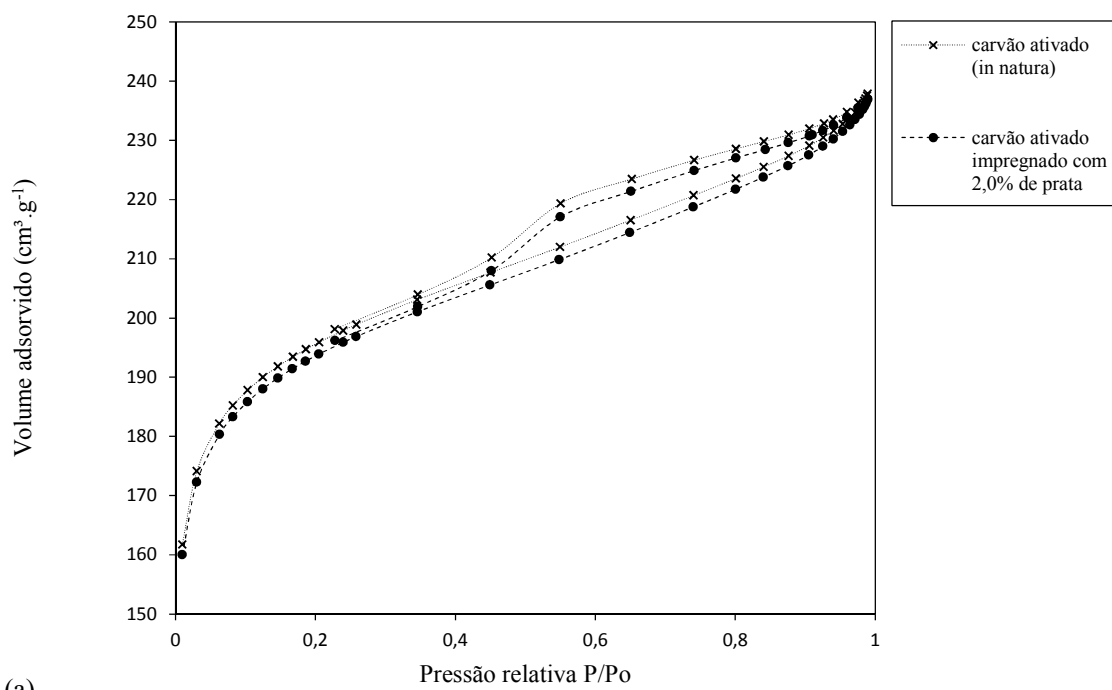


Figura 8- (a) Isothermas de adsorção-dessorção de nitrogênio e (b) distribuição do tamanho de poros das amostras de carvão *in natura* e impregnada com 2% de prata.

4.2 Experimento I

Através do experimento I, pode-se visualizar que a concentração ideal de prata na amostra de carvão foi de aproximadamente 2,0%, já que o diâmetro do halo inibitório tanto para esta quanto para a de concentração 5,0% não variou muito, como pode ser observado na Figura 9.

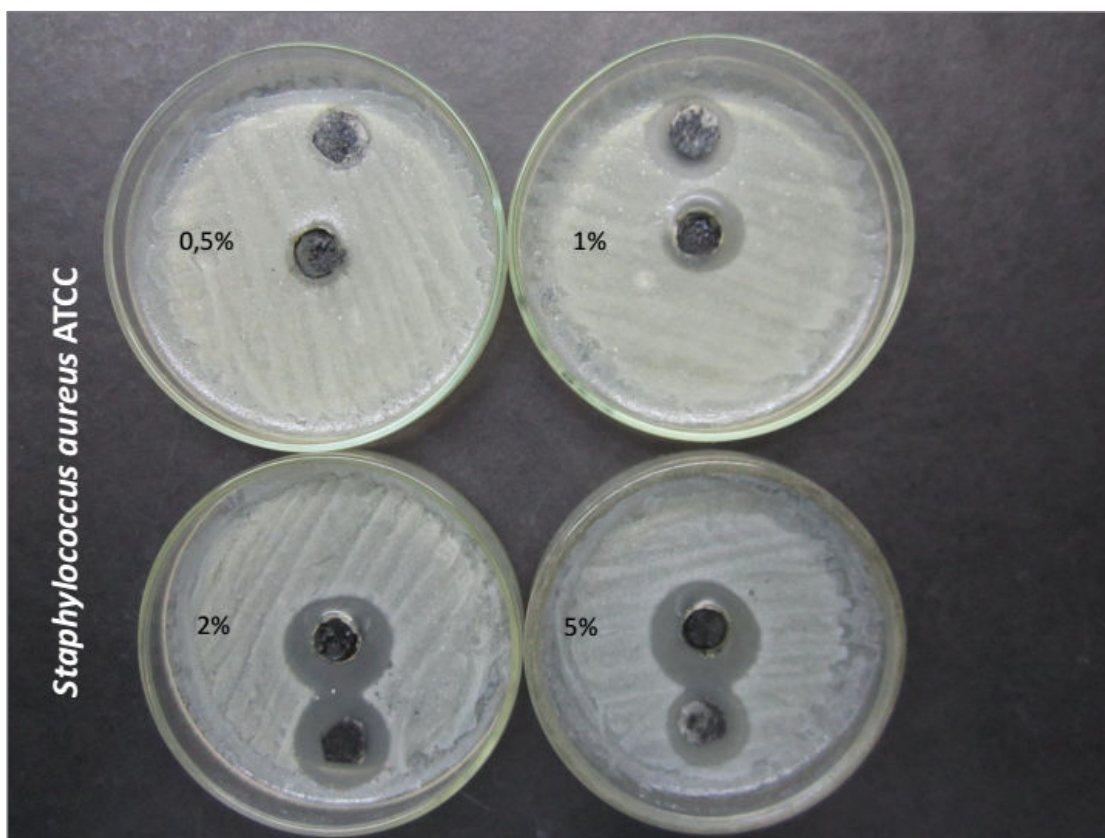


Figura 9- Disco-difusão em ágar.

Contudo, por se tratar de uma técnica qualitativa, os resultados da disco-difusão são muito influenciados pela espessura do ágar e pela profundidade do poço de inserção da amostra, assim, realizaram-se também técnicas quantitativas de concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB). A Figura 10 apresenta uma das tentativas que demonstram essa realidade, onde, para as mesmas condições, e trabalhando

com as mesmas amostras de carvão, nenhuma das concentrações produziu efeito antibacteriano.

Quando comparada às técnicas de CMB e CMI, a disco-difusão apresenta maior resistência do meio à ação do CAIP, já que toda amostra desse carvão concentra-se em um orifício e o plaqueamento das bactérias é realizado em toda extensão do ágar, a difusão da prata para o meio torna-se mais lenta e dificultosa, enquanto que nas outras duas técnicas há a dispersão do carvão em todo meio de cultivo, facilitando o contato dos íons de prata com as bactérias. Durante o preparo das placas com ágar, notou-se que quanto maior a espessura do meio, melhor o efeito antibacteriano observado. Para uma mesma profundidade do poço de inserção da amostra, quanto mais próximo do vidro o carvão ficava depositado, menores eram os resultados observados.

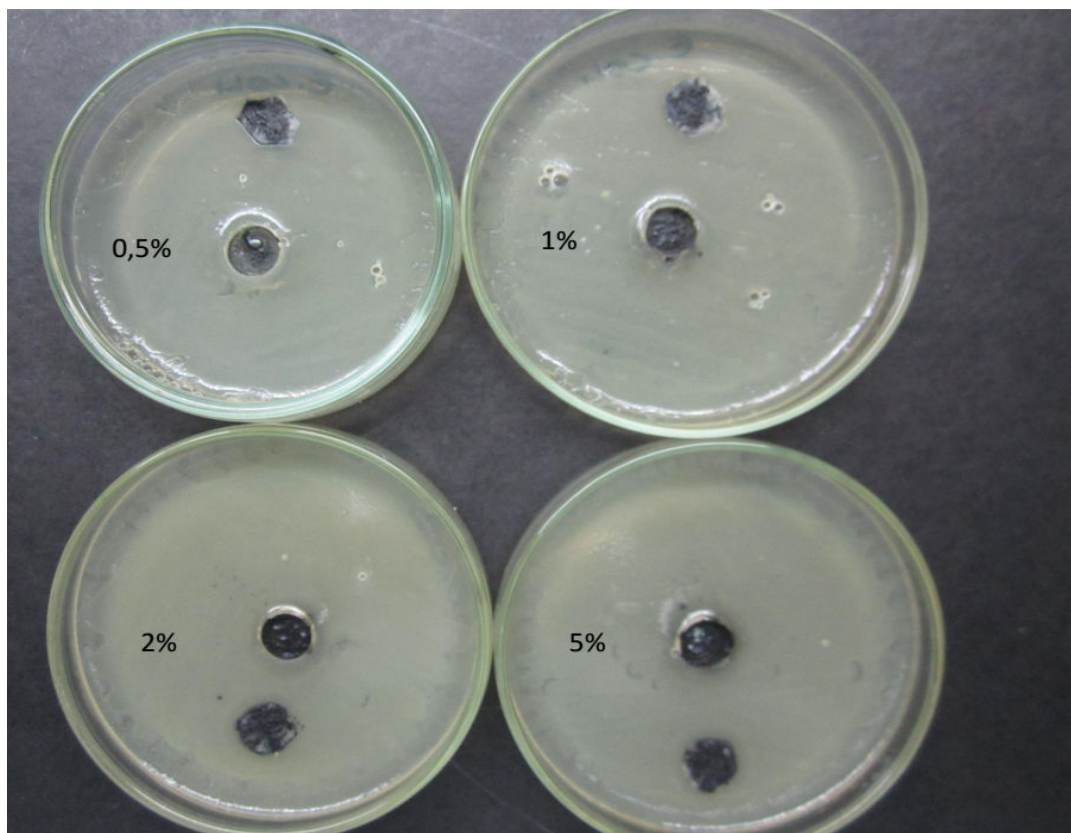


Figura 10-Disco-difusão em ágar (sem efeito).

4.3 Experimento II

Em função da realidade qualitativa do teste de disco-difusão, optou-se pela realização de testes de concentração mínima inibitória e de concentração mínima bactericida. As figuras 11 e 12 apresentam os resultados obtidos em ambas às análises, empregando tanto DMSO como água como diluentes. Após o plaqueamento das amostras, para a obtenção visível dos resultados, utilizou-se o corante cloreto de 2, 3, 5-trifenil tetrazólio, que proporciona a diferenciação entre tecidos vivos e mortos, pela coloração avermelhada. Na Figura 11 e na Figura 12, os poços das placas de CMI com ausência de coloração apontam os locais em que o carvão ativado impregnado com prata foi capaz de inibir as bactérias testadas.

Amostras dessas mesmas placas foram transferidas para placas de Petri para que se observasse o crescimento, ou não, dessas bactérias, possibilitando a determinação da concentração mínima de CAIP que atua, de fato, como bactericida.

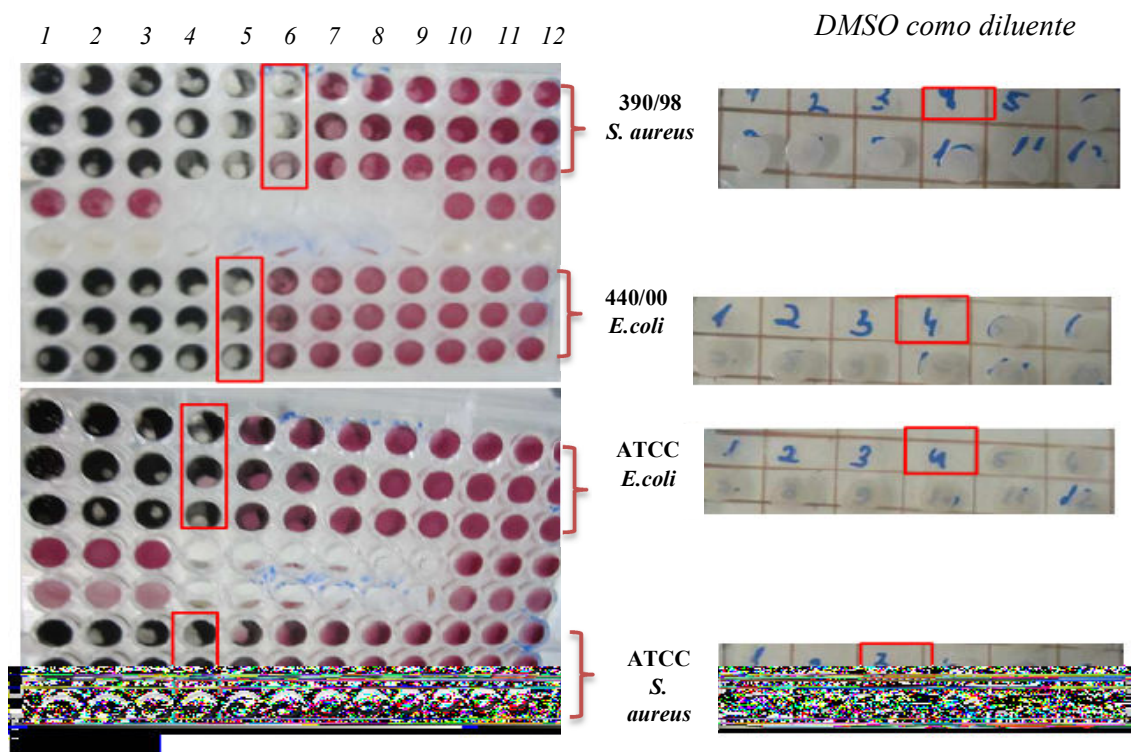


Figura 11- Resultados CMI e CMB para o diluente DMSO.

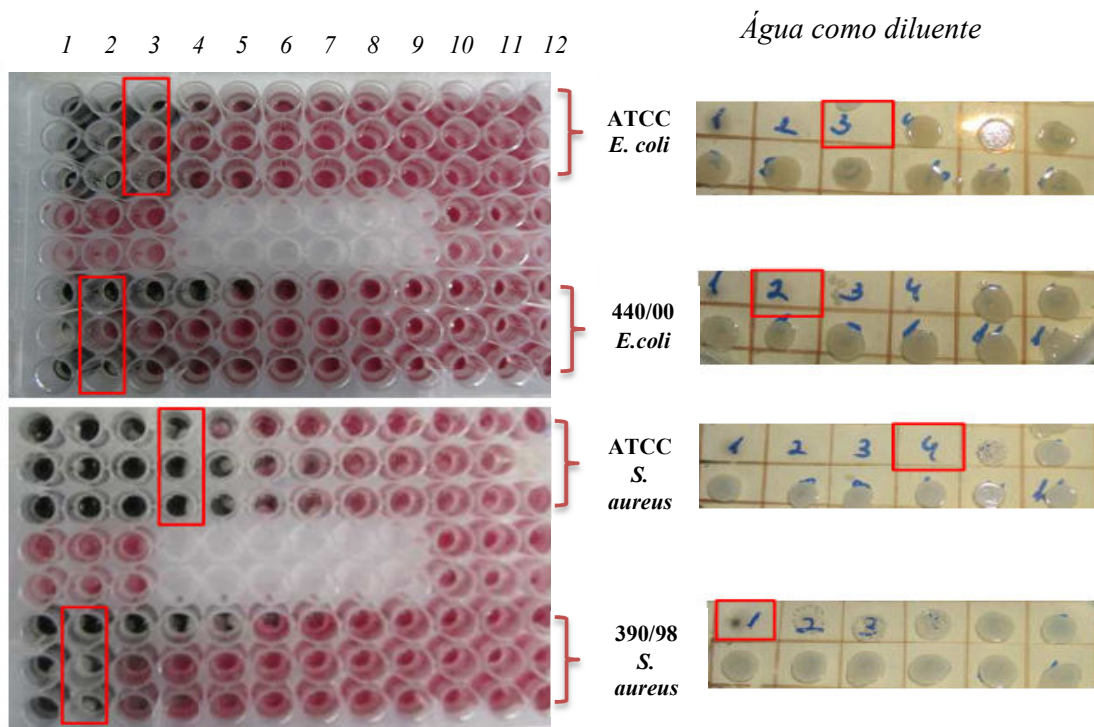


Figura 12-Resultados CMI e CMB para o diluente água.

A Tabela 2 traz a síntese dos resultados obtidos para a amostra de carvão impregnado com prata.

Tabela 2- Resultados CMI e CMB.

Amostras Prata em $\mu\text{g/mL}$	Diluyente: água		Diluyente: DMSO	
	CIM	CBM	CIM	CBM
ATCC <i>E. coli</i>	100 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$
ATCC <i>S. aureus</i>	50 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$
SB440/00 <i>E. coli</i>	200 $\mu\text{g/mL}$	200 $\mu\text{g/mL}$	25 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$
SB390/98 <i>S. aureus</i>	200 $\mu\text{g/mL}$	400 $\mu\text{g/mL}$	12,5 $\mu\text{g/mL}$	50 $\mu\text{g/mL}$

Percebe-se que o DMSO funciona como um melhor diluente na técnica, possibilitando que concentrações menores de prata se dispersem e sejam suficientes para atuar como agente inibitório e bactericida.

Como já citado, as bactérias Gram-negativas, em função do seu envoltório celular estruturalmente mais complexo, apresentam maior resistência à ação de agentes antibacterianos. Observou-se que os resultados obtidos confirmaram essa afirmação, apresentando em sua maioria, menores concentrações de prata para inibir o crescimento ou mesmo matar as bactérias Gram-positivas *S. aureus*. Como exceções, verificam-se as concentrações mínimas bactericidas para a SB440/00 *E. coli* e a SB390/98 *S.aureus* tendo água como diluente e para a ATCC *E. coli* e a ATCC *S. aureus* tendo DMSO como diluente.

4.4 Experimento III

Através do experimento III, foi produzida uma nova amostra de carvão impregnado com íons prata. Por ser metal de conhecido efeito antimicrobiano, optou-se por avaliar a sua ação quando submetido a tratamento térmico adicional, já que esta prática é citada inúmeras vezes nas publicações do gênero como uma forma de melhor fixar a prata no carvão. Contudo, os resultados obtidos demonstraram que mesmo conduzido em atmosfera inerte, o tratamento térmico reduziu ou até mesmo anulou a capacidade inibitória e a bactericida dessa amostra. A prata não teve ação para ATCC de *E.coli*, nem para a cepa 440/00, embora tenha apresentado CMI e CMB de 1000 µg/mL para a ATCC de *S. aureus* e CMI de 1000 µg/mL para a cepa 390/98.

4.5 Experimento IV

4.5.1 Manipulação do CAIP

Na tentativa de facilitar a manipulação do carvão ativado e ainda obter um novo material que pudesse ser empregado como bandagem, produziu-se uma goma com carvão ativado impregnado com prata. Após a secagem, o material apresentou características de fácil

manipulação, sendo maleável e não apresentando aderência significativa em contato com a pele (Figura 13).



Figura 13- Goma impregnada com CAIP.

Obtido o material, este foi deixado em contato com água e com etanol, durante 24 horas. A amostra em presença de água não apresentou alterações perceptíveis quanto à maleabilidade, enquanto que a imersa em etanol, durante o mesmo período, apresentou alguma rigidez. Em ambos os casos não houve dispersão do carvão.

Após uma semana, as amostras conservadas em exposição às condições ambientes apresentaram desestabilização. Aquelas que foram simplesmente secas ou que estiveram em contato com a água perderam a maleabilidade, tornando-se quebradiças, enquanto que as que estiveram em contato com o etanol tornaram-se rígidas, configurando uma espécie de filme sólido e estável.

Para aplicação como bandagens, o material obtido não apresentou propriedades viáveis após uma semana de armazenamento. Contudo, não foram testadas condições de armazenagem em ambiente refrigerado e com vedação, o que talvez pudesse prolongar o tempo de vida útil da goma maleável impregnada com CAIP. Já o sólido obtido após tratamento com etanol possibilita que outras aplicações sejam estudadas, como a produção

de revestimento em embalagens e filtros semelhantes aos de papel e “placas” de conservação, considerando a realização de testes de caracterização e de resistência do material.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta fundamental deste trabalho foi a obtenção de um material antimicrobiano a partir de carvão ativado. Por se tratar de um meio suporte já consagrado no meio científico, a metodologia e os materiais empregados foram direcionados de acordo com a literatura existente sobre o assunto, considerando-se a maior frequência de citações e a maior simplicidade da técnica, uma vez que custos reduzidos em processos de desenvolvimento de materiais são fundamentais. Os resultados referentes ao produto obtido confirmaram a ação da prata como um importante agente antibacteriano, mas apontaram o efeito minimizador dessa ação quando o metal é submetido a altas temperaturas, prática citada em inúmeras referências.

Em termos de ineditismo, pode-se citar apenas a tentativa de se obter um material de mais fácil manuseio e que resultasse em menores perdas, tendo sido obtido um sólido ainda inadequado para bandagens, mas com potenciais aplicações em revestimento de embalagens e filtros, por exemplo. Entretanto, para um aproveitamento efetivo, ainda são necessários testes de caracterização, de resistência e demais estudos capazes de assegurar a aplicabilidade de tal material.

REFERÊNCIAS

- ADEWUYI, S.; KAREEM, K.T.; ATAYESE, A.O.; AMOLEGBE, S.A.; AKINREMI, C.A. Chitosan-cobalt(II) and nickel (II) chelates as antibacterial agentes, Chitosan-cobalt(II) and nickel (II) chelates as antibacterial agents. **International journal of biological macromolecules**, v.48, p. 301-303,2011.
- ADHOUM, N.; MONSER, L. Removal of cyanide from aqueous solution using impregnated activated carbon. **Chemical Engineering and Processing**, v.41,p.17-21.2002
- ANGIOLETTO, E. **Desenvolvimento de processo de fabricação de cerâmicas com propriedades antimicrobianas. 2003.p.107.** Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.
- BASHKOVA, S.; DEOKI, D. ; BANDOSZ, T.J.. Effect of silver nanoparticles deposited on micro/mesoporous activated carbons on retention of NO(x) at room temperature.**Journal of Colloid and Interface Science**, v. 354, p. 331-340,2011.
- FENG, Q. L.; WU, J.; CHEN, G.Q.; CUI, F.Z.; KIM, T.N.; KIM, J.O. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **John Wiley & Sons, Inc. Journal of Biomedical Materials Research**, v. 52, p. 662–668, 2000.
- FILHO, R.P.; DI BERNARDO, L. Filtração em carvão ativado granular impregnado com prata para a melhoria da qualidade da água de consumo humano. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental. **ABES – Trabalhos Técnicos**, Anais,2000.
- FINBERG, R.W.; MOELLERING, R.C.; TALLY, F.P.; CRAIG, W.A.; PANKEY, G.A.; DELLINGER, E.P.; WEST,M.A.; JOSHI, M.; LINDEN, P.K. ; ROLSTON, K.V.; ROTSCHAFER, J.C. ; RYBAK, M.J. The Importance of Bactericidal Drugs: Future Directions in Infectious Disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39,p. 1314-1320,2004.
- FRANCISCO, B.L.R. **Avaliação de filtro domiciliar de carvão ativado impregnado com prata na remoção de clorofórmio presente na água tratada.** 2008. p. 93. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) Universidade de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2008.
- GIL, A. C. **Como elaborar projetos de pesquisa.** São Paulo: Atlas, 2002.p.41-49.
- GREGG, S. J.; SING, K. S. W.; **Adsorption, Surface Area and Porosity**; Academic Press; London, 1982.
- LALLEY, J.; DIONYSIOU, D.D.; VARMA, R.S.; SHANKARA, S.; YANG, D.; NADAGOUDA, M.N. Silver-based antibacterial surfaces for drinking water disinfection-an overview. **Current Opinion in Chemical Engineering**, v.3, p.25-29,2014.
- LI, B.; YU, S.; HWANG,J.Y.; SHI, S. Antibacterial vermiculite nano-material. **Journal of Minerals and Materials Characaterization and Enginneering**, v.1, n.1, p. 61-68, 2002.

LI, CH.Y.; WAN, Y.Z.; WANG,J.;WANG,Y.L.;JIANG,X.Q.;HAN, L. M.; Antibacterial pitch-based activated carbon fiber supporting silver. **Carbono**, v. 36, p. 61-65, 1998.

LI,S; YAN,X.; YANG, Z.; YANG, Y.; LIU, X.; ZOU, J. Preparation and antibacterial property of silver decorated carbon microspheres. **Applied Surface Science**, v. 292,p. 480-487,2014.

LORENZI, E.S.**Vidros bactericidas no tratamento microbiológico de água**. 2004. p. 111. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2004.

MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, P. **Microbiologia de Brock** . Porto Alegre: Artmed, 2010.

MIYANAGA, S.; HIWARA, A.; YASUDA, H.; Preparation and high bacteriostatic action of the activated carbons possessing ultrafine silver particles. **Science and Technology of Advanced Materials**,v.3, n. 2, p. 103-109,2002.

MORONES, J.R.; ELECHIGUERRA, J. L.; CAMACHO, A.; HOLT, K.; KOURI, J. B.; RAMÍREZ, J.T.; YACAMAN, M. J. The bactericidal effect of silver nanoparticles. **Nanotechnology**, v. 16, p. 2346–2353, 2005.

ORTIZ-IBARRA, H.; CASILLAS, N. ; SOTO, V. ; BARCENA-SOTO, M.; TORRES-VITELA, R.; DE LA CRUZ, W.; GÓMEZ-SALAZAR, S. Surface characterization of electrodeposited silver on activated carbon for bactericidal purposes. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 314, p.562-571,2007.

OYA , A.; KIMURA, M.; SUGO, T.;KATAKAI, A.; ABE,Y.;IIZUKA,T.;MAKIYAMA,N.;LINARES-SOLANO,A.; SALINAS-MARTINEZ DE LECEA, L.; Antibacterial activated carbon fiber derived from methyl methacrylate-grafted phenolic resin fiber. **Carbono**, v. 32, p. 107-110, 1993.

OYA, A.; YOSHIDA S.; ABE, Y.; IIZUKA, T.; MAKIYAMA, N. Antibacterial activated carbon fiber derived from phenolic resin containing silver nitrate. **Carbono**, v. 31, p. 71-73, 1992.

OYA, A.; YOSHIDA S.; Wakahara, T.; Preparation of pitch-based antibacterial activated carbon fiber. . **Carbono**, v. 31, p. 1243-1247, 1993

PAPE, H. L.; SOLANO-SERENA, F.; CONTINI, P.; DEVILLERS, C.; MAFTAH, A.; LEPRAT, P. Involvement of reactive oxygen species in the bactericidal activity of activated carbono fibre supporting silver Bactericidal activity of ACF (ag) mediated by ROS. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.98, p. 1054-1060, 2004.

PARK, S.; JANG, Y. Preparation and characterization of activated carbon fibers supported with silver metal for antibacterial behavior. **Journal of Colloid Interface Science**, v. 261, p. 238-243, 2003.

ROSÁRIO, J. A. **Obtenção de material antimicrobiano a partir de bentonita nacional tratada com prata**. 2010. p. 117. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2010.

SINGH, S.; ASHFAQ, M. ; SINGH, R.K. ; JOSHI, H.C. ; SRIVASTAVA, A. ; SHARMA, A.; N, VERMA. Preparation of surfactant-mediated silver and copper nanoparticles dispersed in hierarchical carbon micro-nanofibers for antibacterial applications. *New Biotechnology*, v.30,p. 656-665, 2013.

TANG, H.Q.; FENG, H.J.; ZHENG, J.H. e ZHAO, J. A study on antibacterial properties of Ag⁺ -implanted pyrolytic carbono. **Surface & Coatings Technology**, v. 201, p. 5633-5636,2007.

TORTORA, G.J.; FUNKE, R.B.; CASE, C. L. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2012.

UNITED STATES PATENT, Kempf, B.; Wolmer, R.; Boehme, C.; Roth, W.; Koffler, A silver/carbon-based material and method for producing the same for contact material. Patent N°.: US 7,754,280 B2. Jul, 13,2010.

UNITED STATES PATENT, Tse-Hao Ko, Method of fabricating product of activvated carbono supporting silver. Patent N°.:7,687,433 B2. Mar.30,2010.

XAVIER, R.N.; TRAGHETTA, D.G.; OLIVEIRA, C.M.R. Avaliação da eficiência de um reator de carvão ativado impregnado com prata no tratamento de águas residuárias geradas em laboratórios de análises clínicas. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, nº 15, 2010.

YAMAMOTO, O.; NAKAKOSHI, K.; SASAMOTO, T.; NAKAGAWA,H.; MIURA, K. Adsorption and growth inhibition of bacteria on carbono materials containing zinc oxide. **Carbon**, v.39, p. 1643-1651,2001.