

## INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICROBIANO EM AMOSTRA DE CARVÃO ATIVADO COMERCIAL IMPREGNADO COM PRATA

Sinara Pereira Brasil<sup>1</sup> (PG)\*, Jéssica Pires Valle<sup>1</sup> (PG), José Daniel Ribeiro de Campos<sup>1</sup> (PQ), Plínio Lázaro Faleiro Naves<sup>1</sup> (PQ).

\*e-mail: [sinarapb@hotmail.com](mailto:sinarapb@hotmail.com)

<sup>1</sup>Câmpus de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, BR 153, Km 98, caixa postal 459, 75001-970, Anápolis-GO.

Resumo: O carvão ativado é utilizado como filtro de água doméstico. Sua alta capacidade adsorptiva e estrutura porosa o fazem remover sabor, cor e odor da água, eliminar contaminantes orgânicos, entre outros. No entanto, é comum a formação de colônias de micro-organismos nesses filtros, interferindo seu funcionamento e diminuindo sua vida útil. A prata possui propriedades antimicrobianas, que atua fortemente na destruição de bactérias, fungos e vírus. Comercialmente fabricam-se filtros domésticos de carvão ativado impregnado com prata, para inibição da proliferação de micro-organismos em sua superfície. O objetivo do trabalho é analisar a cinética de inibição do crescimento microbiano por *Escherichia coli* em filtros domésticos de carvão ativado através da atividade antimicrobiana da prata. A amostra comercial de carvão ativado impregnado com prata foi submetida à análise de quantificação do metal pelo espectrofotômetro de absorção atômica e foi realizado teste microbiológico para avaliação cinética de inibição. A amostra comercial apresentou 0,03% de prata. A contagem de células viáveis das amostras após 1, 8 e 24h foi diminuindo até a total inibição. O resultado evidencia a prata como agente antimicrobiano, detendo o crescimento de *E. coli* após 24h. A amostra comercial de prata em carvão ativado apresentou satisfatória cinética de inibição microbiana.

### Introdução

O carvão ativado tem sido largamente utilizado no tratamento de água, para controle de cor e odor, bem como para a remoção de compostos orgânicos, metais tóxicos e cloro devido à sua alta eficiência de adsorção (HAMDAOUI e NAFFRECHOW, 2007). Apesar de sua área superficial elevada, o carvão ativado tem baixa eficiência na remoção de microrganismos. A incorporação de metais na sua superfície tem sido empregada por diversos autores (ZHAO et al., 2012) para aumentar a eficiência bacteriológica na produção de filtros domésticos que garantam a qualidade da água potável para o consumidor final.

A prata tem sido utilizada como um agente antimicrobiano desde 1800 (FONG & WOOD, 2006), relatado também por Tortora et al. (2012) e Angioletto (2003), onde jarros de prata eram usados em vez dos tradicionais feitos em cerâmica. 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 com propriedades antimicrobianas (TANG et al., 2007).

A impregnação de prata na superfície do carvão ativado é uma alternativa de preparar filtros de água com ação bactericida e/ ou bacteriostática (FONG & WOOD, 2006). Sugere-se que ela iniba a formação de biofilmes na superfície do carvão, evitando a contaminação da água com micro-organismos provenientes destes biofilmes, pois gera um ambiente hostil ao crescimento microbiano (CASAGRANDE, 2010).

Vários estudos já demonstraram que íons de prata são seletivamente tóxicos para micro-organismos procarióticos, com pequeno efeito sobre células eucarióticas (PARK & JANG, 2003). 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.

Tang et al. (2007) citam 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 da redução de infecções bacterianas em zonas próximas a superfícies de biomateriais que possuem prata em sua composição.

A combinação de carvão ativado e da prata é de grande benefício para obtenção de água com alto grau de potabilidade, ou seja, baixa densidade microbiana. Indústrias de bebidas e fabricantes de filtros residenciais fazem uso do carvão ativado impregnado com prata, como também em áreas biomédicas, produção de alimentos, cosméticos, vestuário e produtos domésticos, resultando na adsorção do material orgânico pelo carvão ativado e na ação bactericida através da prata (XAVIER et al., 2010).

Sendo assim, sugere-se que caso a concentração de prata seja aumentada, haja também um aumento na ação antimicrobiana. Porém, conforme se aumenta a concentração de prata sobre a superfície do carvão ativado, diminui-se a área superficial do adsorvente, resultando na diminuição de sua capacidade adsorviva. A prata é recurso dispendioso e, se utilizado em excesso torna o carvão ativado impregnado economicamente inacessível (FONG & WOOD, 2006).

O desenvolvimento de produtos antimicrobianos está em constante crescimento. Essa atividade depende da superfície de contato, sendo que uma superfície de contato maior permite uma ampla interação com as substâncias orgânicas e inorgânicas (FRANSCISCO, 2008; JONES & HOEK, 2010 e CLEMO, 2005).

## Material e Métodos

### Quantificação de metal impregnado no carvão ativado

Pesou-se 0,1g da amostra comercial de carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) impregnado com prata e adicionou-se 10mL de ácido nítrico, aquecendo até a fervura. Em seguida filtrada e lavada com água destilada. O filtrado recolhido foi diluído para 100mL de água destilada em balão volumétrico.

Para a quantificação de metal presente no filtrado foram preparadas curvas de calibração com a solução padrão de prata (1000 ppm). O equipamento utilizado para a determinação de prata na amostra foi o espectrofotômetro de absorção atômica AAnalyst 400 da Perkin Elmer na Universidade Estadual de Goiás.

### Preparo da água desafio com *Escherichia coli* ATCC 8739

Inicialmente, as cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 foram crescidas em ágar EMB a 35°C por 24 horas em estufa. Posteriormente, cinco colônias foram transferidas para um tubo contendo 10mL de água peptonada e fez-se o ajuste da turvação escala 0.5 McFarland. Retirou-se 1mL do tubo e fez-se uma diluição em série ( $10^{-5}$ ) em cinco tubos contendo 9mL de solução fisiológica. Após a diluição da água desafio, as suspensões foram semeadas em ágar EMB por 24h em estufa com temperatura de 35°C e posteriormente realizou-se a contagem de colônias de *E. coli*.

## Preparo da análise de cinética de inibição do crescimento microbiano por *E. coli*

Em três tubos contendo 1g de amostra comercial de carvão ativado impregnado com prata se adicionou 1,5mL do ajuste em cada. Os tubos foram levados à estufa com temperatura de 35°C. Após 1 hora foi retirado o primeiro tubo da estufa e 1mL da suspensão foi coletado para a diluição em série ( $10^{-5}$ ). O mesmo foi realizado no segundo tubo após 8h e no terceiro tubo após 24h. As suspensões foram semeadas em ágar EMB por 24h em estufa com temperatura de 35°C e posteriormente realizou-se a contagem de colônias de *E. coli*.

### Resultados e Discussão

Para a quantificação do metal impregnado, verificamos uma porcentagem de 0,03% em massa de prata presente na amostra comercial de carvão ativado.

Verificam-se na Tabela 1 os valores das contagens de *Escherichia coli* ATCC 8739 presentes nas suspensões bacterianas da água desafio.

Tabela 1 - Valores da contagem de *E. coli* presentes no inóculo ajustado da água desafio.

| Amostras      | <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739<br>Log <sub>10</sub> (ufc.mL <sup>-1</sup> ) |
|---------------|--|
| 1             | 5,763  |
| 2             | 5,806  |
| 3             | 5,838  |
| <b>MED±DP</b> | <b>5,802±0,037</b>   |

Legenda: MED - média; DP – desvio padrão;

Para testes de eficiência bacteriológica e ensaios de controle microbiológico faz necessário o controle da concentração inicial do contaminante analisado. Para ensaios utilizando o micro-organismo *Escherichia coli*, a portaria INMETRO 394/2014 determina concentração de um mínimo de  $1 \times 10^5$  (5 Logs) e máximo,  $9 \times 10^6$  (6 Logs). Os ensaios apresentaram valores de contagem de *E. coli*, presentes na água desafio, dentro dos valores estabelecidos.

A contagem de células viáveis de *Escherichia coli* ATCC 8739 após certo tempo de contato com amostras de carvão ativado comercial impregnado com prata estão apresentadas na Tabela 2.

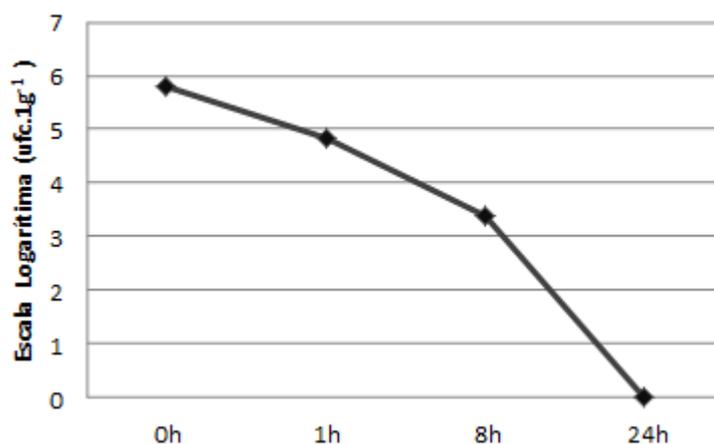
Tabela 2 – Contagem do crescimento de *Escherichia coli* em contato com amostra comercial de carvão ativado com prata em intervalos de tempo.

| <b>Log 10 ufc/1g <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739</b> |               |
|--|---------------|
| <b>Tempo de contato</b>                                | <b>MED±DP</b> |
| 1h   | 4,831±0,0414  |
| 8h   | 3,393±0,642   |
| 24h  | 0,000±0,000   |

Legenda: MED - média; DP – desvio padrão;

Sabendo que a quantidade de *E. coli* inicial foi em média de 5,802 log, observou-se que após uma hora de contato com a amostra de carvão comercial impregnado com prata, o crescimento de *E. coli* ainda aconteceu mas com uma diferença de aproximadamente 1 log. Após o contato de 8 horas o crescimento obteve um queda, sendo aproximadamente de 2 log. Vinte quatro horas passadas o crescimento não foi verificado. No gráfico 1 observamos a cinética de inibição do crescimento microbiano após o contato por 24 horas.

Gráfico 1 – Cinética de inibição microbiana por *Escherichia coli* ATCC 8739 em intervalos de tempo.



Alguns mecanismos propõem atividades para íons prata de ligação extracelular e precipitação da prata na membrana celular. A parede celular dos micro-organismos é composta de peptidoglicano, sua carga negativa interage com a carga positiva dos íons prata, a partir daí a prata pode então interagir com grupos proteicos e enzimas levando à inativação das mesmas (ARAUJO, 2010). Neste experimento sugere-se que a prata presente na amostra comercial de carvão ativado tenha apresentado um elevado sinergismo na cinética de inibição total do crescimento bacteriano em apenas 24 horas.

Portanto, a prata impregnada ao carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) apresenta um grande efeito sinérgico na inibição de crescimento microbiano por *Escherichia coli* ATCC 8739 após 24 horas. O metal potencializa o efeito oligodinâmico, que é caracterizado pelos efeitos letais que íons metálicos exercem sobre micro-organismos, mesmo em pequenas quantidades.

## Considerações Finais

Sendo o carvão ativado um meio propício ao crescimento microbiano quando utilizado em filtros de água doméstico, a impregnação de metal como a prata favorece uma inibição favorável ao crescimento. A impregnação da prata na superfície do carvão ativado de casca de coco de dendê (*Elaeis guineensis*) potencializou o efeito oligodinâmico no crescimento de *Escherichia coli* ATCC 8739. Os resultados mostram que a prata possui uma elevada atividade antimicrobiana e sua concentração de 0,03% na amostra comercial de carvão ativado apresenta uma cinética de inibição total de apenas 24 horas.

## Agradecimentos

A Universidade Estadual de Goiás pelo Programa de Bolsa de Incentivo à Pesquisa e Produção Científica (PROBIP-UEG), a CAPES pela concessão de bolsas Mestrado.

## Referências

ANGIOLETTO, E. **Desenvolvimento de processo de fabricação de cerâmicas com propriedades antimicrobianas.** Tese (Doutorado) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

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

BRASIL. Portaria n.º 394, de 25 de agosto de 2014. **Estabelece os requisitos que devem ser atendidos pelos Equipamentos para Consumo de Água.** INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, 2014.

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

FONG, J.; WOOD, F.; Nanocrystalline silver dressings in wound management: a review. **International Journal of Nanomedicine**, 1(4), 441–449, 2006.

FRANCISCO, B.L.R. **Avaliação de filtro domiciliar de carvão ativado impregnado com prata na remoção de clorofórmio presente na água tratada.** Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) Universidade de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 2008.

HAMDAOUI, O.; NAFFRECHOW, E. Modeling of adsorption isotherms of phenol and chlorofenols onto granular activated carbon. Part II. Models with more than two parameters. **Journal Hazardous Materials**, p. 147-401, 2007.

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 of Nanoparticle Research**, p. 1531 – 1551, 2010.

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.

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.

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

TORTORA, G. J.; FUNKE, R. B.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8<sup>a</sup> ed. São Paulo: ARTMED, 2012.

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**, n<sup>o</sup> 15, 2010.

ZHAO, Y.; WANG, Z. Q.; ZHAO, X.; LI, W.; LIU, S. X. Antibacterial action of silver-doped activated carbon prepared by vacuum impregnation. **Applied Surface Science**, 2012.