

ZEÓLITAS MODIFICADAS APLICADAS EM EFLUENTE CONTAMINADO POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Ana Flávia Spolti Ferreira (PIC/UEM), Alessandra Marjorie de Oliveira (Co-orientador), Benício Alves de Abreu Filho (Co-autor), Rosângela Bergamasco (Orientadora), e-mail: ra107743@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia / Maringá, PR.

Engenharia sanitária: Tratamento de águas de abastecimento e residuárias

Palavras-chave: Gestão de resíduos sólidos e líquidos, contaminação microbiológica, zeólitas naturais.

Resumo:

As zeólitas são minerais porosos que atuam como peneiras moleculares, com capacidade de troca iônica, sendo atualmente aplicados em tratamentos de águas residuais. Com o intuito de potencializar a aplicação desse material em tratamentos de efluentes, foi avaliado nesse estudo a atividade antibacteriana das zeólitas impregnadas com cobre, zinco e magnésio em efluente lácteo simulado contaminado pela bactéria *Staphylococcus aureus*. Foi realizado ensaios de Concentração Inibitória e Bactericida Mínima para determinar a atividade antibacteriana das zeólitas impregnadas com os metais. Em seguida, foi conduzido teste de adsorção de 4 horas, em simulado de efluente lácteo, no qual foi possível quantificar a capacidade de eliminação da *S. aureus* em presença das zeólitas avaliadas. Por fim foi realizada a caracterização dos materiais em microscópio eletrônico de varredura e em potencial zeta. Dentre os materiais, as zeólitas impregnadas com cobre e zinco se mostraram promissoras no controle da *S. aureus* em meio aquoso, sobretudo a zeólita com cobre, na proporção 0,02 g/mL, eliminando 51,9% das bactérias no ensaio de absorção em 4 horas.

Introdução

A *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) é uma bactéria gram-positiva muito difundida no meio ambiente, principalmente na pele e membrana mucosas de humanos e animais. As infecções por *S. aureus* podem variar de infecções cutâneas leves (causando abscessos) até bacteremia, endocardite, pneumonia e osteomielite (DOS SANTOS, 2018). Assim, é de suma importância que ocorra o controle dessa bactéria nas estações de tratamento de água residuais provenientes do processamento de alimentos.

As zeólitas, minerais aluminossilicatos hidratados, possuem uma importante estrutura interna com capacidade para filtrar e realizar troca iônica com o meio. Por si só, as zeólitas possuem pouca atividade antibacteriana, mas estudos recentes têm

funcionalizado esse material com metais antibacterianos obtendo resultados promissores (ZAVAREH, FARROKHZAD, DARVISHI et al., 2018). Portanto, o presente trabalho impregnou zeólitas naturais com cobre (Cu), magnésio (Mg) e zinco (Zn) e avaliou a atividade antibacteriana desse material contra *S. aureus* contaminando efluente lácteo simulado.

Materiais e Métodos

As zeólitas naturais foram peneiradas em peneira Tyler de granulometria 28 Mesh (0,589 mm) para obter grãos uniformes. Foram obtidas as soluções aquosas de cobre à 1%, de zinco à 10% e de magnésio à 10%. Em seguida, houve a impregnação dos grãos da zeólita às respectivas soluções metálicas na proporção 1:10, por meio da agitação constante sob aquecimento (75-80°C) por 2 h. Posteriormente, as zeólitas impregnadas foram lavadas em água destilada e enviadas a mufla à 300°C por 5 horas. Ao final desse processo, obteve-se três amostras de zeólitas modificadas por impregnação metálica: ZNg-Cu1%, ZNg-Mg10% e ZNg-Zn10%.

Para determinar a atividade antibacteriana das amostras obtidas, foi realizado o ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) utilizando a cepa *S. aureus* ATCC 25922 sob concentração de 10^4 UFC/mL. O ensaio foi realizado em placa de 24 poços estéril, onde cada poço recebeu 900 µL de meio de cultura TSB, 100 µL de *S. aureus* e a massa de zeólita foi distribuída de forma decrescente nos poços nas quantidades de 100 mg à 1,56 mg. A placa foi incubada por 37°C/24h. Em sequência, foi realizado o ensaio de Concentração Bactericida Mínima (CBM) inoculando 20 µL do conteúdo dos poços em placa contendo ágar TSA, a qual foi incubada por mais 37°C/24h.

Para realizar o ensaio de adsorção, foi necessário elaborar o efluente lácteo simulado homogeneizando água deionizada estéril com leite UHT obtido comercialmente na proporção 1:100, obtendo assim uma solução com características de cor e turbidez próxima a de um efluente lácteo real, conforme OLIVEIRA et al. (2021). Em seguida, foi retirada uma alíquota de 0,75 mL dessa solução para adicionar o mesmo volume de *S. aureus* à 10^4 UFC/mL, totalizando um volume de 10 mL, o qual foi transferido para garrafa estéril. Por fim, cada garrafa recebeu a 0,2 g da respectiva zeólita impregnada: ZNg-Cu1%, ZNg-Zn10%, ZNg-Mg10%. Todas as garrafas foram colocadas em incubadora com rotação orbital à 120 rpm, sob temperatura ambiente, em pH natural, por 4 horas. Vale ressaltar que por se tratar de um estudo de caráter inicial, que buscou compreender a existência de atividade antibacteriana/adsorção das zeólitas modificadas, os parâmetros do ensaio de adsorção não variaram nesse momento. Foi retirado 100 µL de todas as garrafas após a 1ª, 2ª, 3ª e 4ª hora de ensaio de adsorção, a qual foi diluída serialmente (1:10) e amostradas em placas de Petri contendo ágar TSA. As placas foram incubadas à 35°C/ 24 h. Após a incubação, foi realizada a contagem das colônias visíveis na placa, as quais foram calculadas para se obter a concentração de Unidades Formadoras de Colônias em 1 mL (UFC/mL) e o percentual (%) de redução da carga bacteriana após o tratamento.

Os materiais que apresentaram redução porcentual da carga bacteriana nos ensaios anteriores foram caracterizados em microscopia eletrônica de varredura (MEV) e em potencial zeta.

Resultados e Discussão

Os resultados do CIM e CBM para as zeólitas impregnadas com solução metálica foram detalhadas na Tabela 1. Analisando os resultados, a ZNg-Cu1% foi o material que apresentou a melhor atividade bactericida dentro os materiais testados nesse estudo. Ainda assim, a ZNg-Zn10% também apresentou atividade inibitória para a *S. aureus*. Por outro lado, a ZNg-Mg10% não apresentou nenhuma atividade, o que pode indicar que esse material não teve uma boa impregnação do metal, ou que a combinação de magnésio com a zeólita não foi favorável para a atividade antibacteriana. Os resultados CIM estão de acordo com o autor HRENOVIC et al. (2012), no qual observaram que a zeólita impregnada com zinco possui uma menor atividade antibacteriana em comparação com a zeólita impregnada com cobre.

Tabela 1– MIC e MBC para a ZNg-Cu1%, ZNg-Mg10%, ZN-Zn10%.

Amostra	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
ZNg-Cu1%	25	100
ZNg-Mg10%	-	-
ZNg-Zn10%	50	-

A seguir, os resultados obtidos no ensaio de adsorção em 4 horas foram compilados na Figura 1. ZNg-Cu1% obteve, comparativamente, o melhor resultado no teste de adsorção, pois ao final da 4ª hora houve uma redução de 51,9% das *S. aureus*, ou uma redução de 1,83 log UFC/mL. ZNg-Zn10% apresentou uma leve redução porcentual bacteriana na 3ª (7,6 %) e 4ª hora (5,4%) de tratamento. Por outro lado, os resultados da ZNg-Mg10% foram insatisfatórios, pois não houve redução bacteriana durante toda a avaliação.

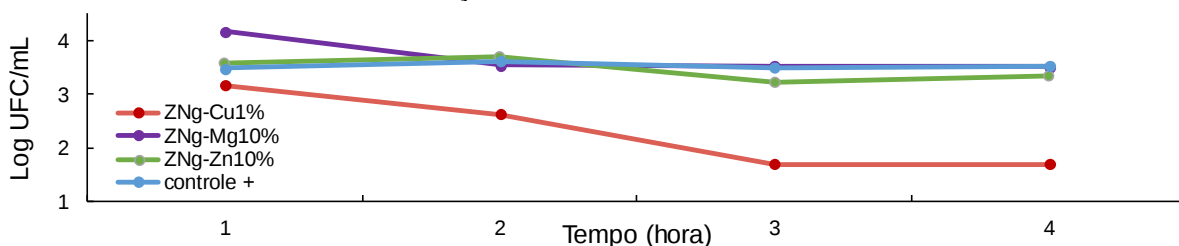


Figura 1 – Gráfico do logaritmo da contagem bacteriana (Log UFC/mL) em relação ao tempo no teste de adsorção de 4 horas.

A seguir, foi realizado a leitura do potencial zeta da ZNg-Cu1% e ZNg-Zn10% na faixa do seu pH natural, sendo possível determinar que ambas apresentam potencial zeta negativo: -31,280 mV e -12,230 mV, respectivamente. Esse resultado permite indicar que a carga superficial negativa das amostras conferiu estabilidade ao material em meio aquoso, sobretudo para a ZNg-Cu1%. Em relação ao MEV, observa-se na Figura 2 (b) e (c) a presença de material particulado sobre a

superfície da ZNg-Cu1% e ZNg-Zn10%, respectivamente, provavelmente advinda da impregnação com a solução metálica, conferindo rugosidade e irregularidade frequente na superfície do material, sobretudo para ZNg-Cu1%, seguida por ZNg-Zn10%, quando comparada a superfície da zeólita natural (Figura 2a).

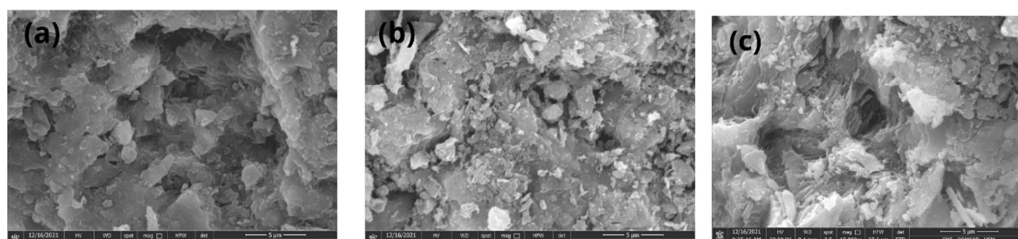


Figura 2 - Imagens MEV (15.000x) da (a) Zeólita Natural, (b) ZNg-Cu1% e (c) ZNg-Zn10%.

Conclusões

Conclui-se no presente trabalho que entre os materiais avaliados, a ZNg-Cu1% é o material que melhor desempenhou ação contra *S. aureus* nos ensaios de atividade antibacteriana e adsorção em 4 horas, obtendo eliminação de 51,9% das bactérias. Além disso, apresentou carga superficial notadamente negativa e aspectos morfológicos de interesse que podem ter influenciado positivamente na sua atividade antibacteriana.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade de desenvolver o projeto, bem como ao Laboratório de Microbiologia da Água, Ambiente e Alimentos (UEM); ao Laboratório de Gestão, Conservação e Gestão Ambiental (LGCPA-UEM) e ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP-UEM).

Referências

- DOS SANTOS, GAC. **Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em amostras de água de bebedouros e de aspersores em parques públicos da cidade de São Paulo**, Brasil. 2018. Dissertação – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.
- HRENOVIC, J. et al. 2012. **Antibacterial Activity of Heavy Metal-loaded Natural Zeolite**. J. Hazardous Mat. 201, 260-64.
- ZAVAREH, S., FARROKHZAD, Z., DARVISHI, F., 2018. **Modification of zeolite 4A for use as an adsorbent for glyphosate and as an antibacterial agent for water**. Ecotoxicol. Environ. Saf. 155, 1–8.
- OLIVEIRA, A. M. et al. **Functionalized magnetite nanoparticles with *Moringa oleifera* with potent antibacterial action in wastewater**. Environmental Technology, v. 42, n. 27, p. 4296-4305, 2021.