

Trabalho de Formatura

Curso de Graduação em Engenharia Ambiental

**ESTUDO DA CAPACIDADE CATALÍTICA DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA,
ESTABILIZADAS POR RAMNOLIPÍDEOS, NA REDUÇÃO DO CORANTE AZUL DE
METILENO**

Giulia de Paula Silveira

**Orientador: Prof. Dr. Jonas Contiero
Co-orientadora: Ana Maria Salazar Bryam**

Rio Claro (SP)

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
Instituto de Geociências e Ciências Exatas
Campus de Rio Claro

GIULIA DE PAULA SILVEIRA

ESTUDO DA CAPACIDADE CATALÍTICA DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA, ESTABILIZADAS POR
RAMNOLIPÍDEOS, NA REDUÇÃO DO CORANTE AZUL DE
METILENO

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Campus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Rio Claro - SP
2019

GIULIA DE PAULA SILVEIRA

ESTUDO DA CAPACIDADE CATALÍTICA DE
NANOPARTÍCULAS DE PRATA, ESTABILIZADAS POR
RAMNOLIPÍDEOS, NA REDUÇÃO DO CORANTE AZUL DE
METILENO

Trabalho de Formatura apresentado ao Instituto de Geociências e Ciências Exatas - Câmpus de Rio Claro, da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, para obtenção do grau de Engenheiro Ambiental.

Comissão Examinadora

_____ (orientador)

Rio Claro, _____ de _____ de _____.

Assinatura da aluna

Assinatura do orientador

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Glaucia e Alexandre, irmãos, Lucas e Alessandra, e avós, Marlene e Nair, por sempre me incentivarem, apoiarem as minhas decisões e, por muitas vezes, acreditarem mais do que eu. Sem vocês, não sou.

Ao restante da minha família por toda a ajuda nestes cinco anos de graduação.

As minhas amigas engenheiras por dividirem as alegrias e tristezas de ser unespiana. Em especial a Bia, Sá e Lost, minhas parceiras de vida, laboratório e TCC, respectivamente. Vocês são mulheres brilhantes.

As minhas amigas de infância, Victória, Mariana e Gabriela por serem exemplos de pessoas e profissionais. Tenho muito orgulho do que nos tornamos e de caminhar lado a lado com vocês.

A Ana Maria (co-orientadora) pela paciência, apoio e comprometimento. Fui muito feliz em ter uma grande mulher e cientista me ajudando na realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Jonas Contiero, pelos conhecimentos transmitidos e pela disponibilidade.

Ao Zito, do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP, pelo auxílio nos testes de toxicidade.

Aos meus colegas de trabalho por não me permitirem enlouquecer e alimentarem na reta final deste trabalho.

A mim por ter seguido o meu coração. Ainda bem.

RESUMO

Corantes são substâncias amplamente utilizadas na indústria têxtil para fornecer cor a um substrato. Os efluentes gerados nesta indústria apresentam-se com colorações fortes e baixa biodegradabilidade gerando dificuldade de tratamento por métodos convencionais e implicando em impactos negativos a corpos d'água, como: diminuição da passagem de luz solar. O presente projeto de pesquisa teve como objetivo geral o estudo da capacidade catalítica das nanopartículas de prata na redução do corante têxtil azul de metileno em água, utilizando borohidreto de sódio como agente redutor. Foi adotado um delineamento experimental do tipo Composto Central, para realização dos testes de redução do corante, no qual se utilizou como variáveis o pH da síntese das nanopartículas, volume de solução de nanopartículas de prata e concentração do agente redutor. Para realizar os testes foram produzidos ramnolipídeos que estabilizaram as nanopartículas de prata durante a síntese destas. O produto final obtido continha baixa concentração do corante e foi possível demonstrar que as melhores condições para uma eficiência máxima de redução são de síntese de nanopartículas em pH 8, 0,4 mL de nanopartículas de prata em 10 mL de solução e 0,45 M de borohidreto de sódio. As nanopartículas de prata mostraram-se eficientes catalisadores na redução do corante azul de metileno. Foram realizados testes de toxicidade com *Daphnia similis* que demonstraram como tóxicas as concentrações de azul de metileno, nanopartículas de prata e ramnolipídeos utilizadas no estudo.

Palavras-chave: Nanotecnologia. AgNP. Planejamento Composto Central. Biossurfactante.

ABSTRACT

Dyes are substances widely used in the textile industry to provide color to a substrate. The wastewater generated in this industry is strong in color and poorly biodegradable causing difficulty in treatment with conventional methods and implying damage to water bodies, such as decrease in sunlight passage. The present research Project had as general objective the study of catalytic capacity of silver nanoparticles in the reduction of the textile dye, methylene blue, in water, using sodium borohydride as reducing agent. An experimental design of Central Compound type was adopted to perform dye reduction and removal tests, the variables used were the pH of the silver nanoparticles synthesis, silver nanoparticles solution volume and reducing agent concentration. To perform the tests were used rhamnolipids that stabilized silver nanoparticles during they synthesis. The final product presented low dye concentration and made it possible demonstrated the best conditions for maximum reduction of the dye: pH 8 to synthesis the silver nanoparticles, 0,4 mL of silver solution nanoparticles in 10 mL of solution and 0,45M sodium borohydride. Silver nanoparticles have been demonstrated as an efficient catalysts in reducing methylene blue dye. Toxicity tests with *Daphnia similis* were performed that evidenced as toxic the methylene blue, silver nanoparticles and rhamnolipids concentrations used in this study.

Keywords: Nanotechnology. AgNP. Central Composite Design. Biosurfactant.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Métodos de síntese de nanoestruturas | 22 |
| Figura 2. Estrutura geral dos ramnolipídeos | 25 |
| Figura 3. Prata coloidal em diferentes estágios de agregação. (A) pH 10,35, (B) pH 9,00, (C) pH 8,00, (D) pH 7,00, (E) pH 5,00, (F) pH 3,65 e (G) água destilada | 35 |
| Figura 4. Diagrama de Pareto | 38 |
| Figura 5. Distribuição dos resíduos: valores esperados versus valores observados nos experimentos..... | 40 |
| Figura 6. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do volume de nanopartículas para o pH no ponto central | 41 |
| Figura 7. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do volume de nanopartículas para o pH no ponto central | 41 |
| Figura 8. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do pH de síntese das AgNPs para o volume de nanopartículas no ponto central..... | 41 |
| Figura 9. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do pH de síntese das AgNPs para o volume de nanopartículas no ponto central..... | 41 |
| Figura 10. Redução do corante em função do volume de AgNPs e pH de síntese destas para a concentração de borohidreto de sódio no ponto central | 42 |
| Figura 11. Redução do corante em função do volume de AgNPs e pH de síntese destas para a concentração de borohidreto de sódio no ponto central | 42 |
| Figura 12. Absorbância versus comprimento de onda no estudo da redução do corante em condições ótimas | 43 |
| Figura 13. Porcentagem de redução do corante observada em função das diferentes concentrações de borohidreto de sódio..... | 43 |
| Figura 14. Gráfico de absorbância versus comprimento de onda para a solução composta por corante em solução aquosa e ramnolipídeos | 45 |
| Figura 15. Diferentes soluções utilizadas no processo de remoção e redução do corante azul de metileno. (A) Água destilada, (B) água destilada com corante azul de metileno (1mM) e (C) solução após redução do corante e remoção das AgNPs | 48 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Classificação de corantes segundo a aplicação sobre o substrato..... | 12 |
| Tabela 2. Níveis das variáveis independentes | 29 |
| Tabela 3. Planejamento experimental dos cinco níveis investigados | 30 |
| Tabela 4. Relação entre o pH de síntese das AgNPs, o λ máx (nm) na análise por espectroscopia e diâmetro médio das partículas..... | 33 |
| Tabela 5. Porcentagem de remoção do corante azul de metileno observado e esperado em cada uma das corridas planejadas..... | 36 |
| Tabela 6. Efeitos estimados do planejamento composto central para erro puro | 37 |
| Tabela 7. Resultados da análise de variância do modelo..... | 40 |
| Tabela 8. Comparação do valor esperado e observado experimentalmente nas condições ótimas de redução do corante | 42 |
| Tabela 9. Resultados de toxicidade das diferentes soluções estudadas | 46 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 2. | OBJETIVOS..... | 10 |
| 2.1. | OBJETIVO GERAL..... | 10 |
| 2.2. | OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 10 |
| 3. | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 11 |
| 3.1. | CORANTES..... | 11 |
| 3.1.1. | CORANTES NA INDÚSTRIA TÊXTIL..... | 12 |
| 3.1.2. | LEGISLAÇÃO MUNDIAL..... | 13 |
| 3.1.3. | LEGISLAÇÃO BRASILEIRA..... | 14 |
| 3.2. | TRATAMENTO DE EFLUENTES NA INDÚSTRIA TÊXTIL..... | 14 |
| 3.2.1. | TRATAMENTO FÍSICO..... | 15 |
| 3.2.2. | TRATAMENTO QUÍMICO..... | 15 |
| 3.2.3. | TRATAMENTO BIOLÓGICO..... | 16 |
| 3.2.4. | NOVAS TECNOLOGIAS..... | 16 |
| 3.3. | NANOTECNOLOGIA..... | 18 |
| 3.3.1. | NANOPARTÍCULAS METÁLICAS..... | 18 |
| 3.3.2. | NANOPARTÍCULAS DE PRATA..... | 19 |
| 3.3.3. | APLICAÇÕES DE AgNPs..... | 20 |
| 3.3.4. | SÍNTESE DAS AgNPs..... | 21 |
| 3.3.5. | QUÍMICA VERDE NA SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DA NANOPARTÍCULA DE PRATA..... | 23 |
| 3.4. | BIOSURFACTANTES..... | 23 |
| 3.4.1. | RAMNOLIPÍDEOS..... | 24 |
| 3.4.2. | APLICAÇÕES DE RAMNOLIPÍDEOS..... | 25 |
| 3.4.3. | RAMNOLIPÍDEOS E QUÍMICA VERDE..... | 26 |
| 4. | MATERIAIS E MÉTODOS..... | 27 |
| 4.1. | PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE RAMNOLIPÍDEOS..... | 27 |
| 4.1.1. | FONTE MICROBIOLÓGICA..... | 27 |
| 4.1.2. | MEIOS DE CULTIVO..... | 27 |

| | |
|---|----|
| 4.1.2.1.CALDO NUTRIENTE (CN) e LURIA BERTANI (LB)..... | 27 |
| 4.1.2.2.MEIO MINERAL LIVRE DE CÁLCIO COM TAMPÃO FOSFATO (MLCTF) | 27 |
| 4.1.2.3.MEIO MINERAL LIVRE DE CÁLCIO (MMLC)..... | 27 |
| 4.1.3. CONDIÇÕES DE CULTIVO | 28 |
| 4.2. SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS..... | 28 |
| 4.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL..... | 29 |
| 4.4. TESTES DE REDUÇÃO DO CORANTE..... | 31 |
| 4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA E VALIDAÇÃO EXPERIMENTAL..... | 31 |
| 4.6. TESTES DE TOXICIDADE | 32 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 33 |
| 5.1. SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS | 33 |
| 5.2. TESTES DE REDUÇÃO DO CORANTE..... | 36 |
| 5.3. TESTES DE TOXICIDADE | 45 |
| 6. CONCLUSÕES | 48 |
| REFERÊNCIAS | 50 |

1. INTRODUÇÃO

Os corantes são substâncias que quando aplicadas a um substrato fornecem cor, pelo menos temporariamente. Estas substâncias são altamente utilizadas pela indústria têxtil, alimentícia, farmacêutica, cosmética, plástica e fotográfica (CHEQUER et al., 2013). Estima-se que existam mais de 10.000 diferentes tipos de corantes e pigmentos usados na indústria mundial, que mais de 7×10^5 toneladas de corantes artificiais são produzidas por ano e que, no Brasil, cerca de 20 toneladas de corante são consumidas por ano apenas pela indústria têxtil (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005; CHEQUER et al., 2013).

Considera-se que 15 a 20% da produção mundial de corantes é perdida para o meio ambiente durante a produção, processamento ou aplicação destes. Esta perda representa um lançamento de mais de 1,2 toneladas de corantes por efluentes, que podem chegar a corpos d'água, em apenas um dia (GUARATINI; ZANONI, 2000).

A presença de corantes em corpos d'água, mesmo em pequenas concentrações, pode ocasionar a mudança da coloração das águas e da solubilidade dos gases afetando os processos biológicos e restringindo a passagem de luz solar, diminuindo a fotossíntese (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005). Além disso, alguns corantes são altamente tóxicos e mutagênicos (CHEQUER et al., 2013).

A elevada estabilidade biológica dos corantes gera dificuldade de degradação destes em tratamentos de efluentes convencionais (DALLAGO; SMANIOTTO; OLIVEIRA, 2005). A aplicação da nanotecnologia em sistemas de tratamento tem recebido atenção nos últimos anos, devido às características estruturais dos materiais utilizados, a eficiência e a flexibilidade na aplicação (GHODKE et al., 2018).

As nanopartículas metálicas possuem diversos potenciais de aplicação devido ao seu tamanho e efeitos de superfície que resultam em novas propriedades químicas, físicas, magnéticas e estruturais que moléculas maiores ou individuais não apresentam (REDDY et al., 2009). Alguns estudos demonstraram a eficiência de nanopartículas metálicas na remoção de corantes, devido à ação catalisadora na degradação redutora destes compostos (BONNIA et al., 2016; JYOTI; SINGH, 2016; SAHA et al., 2017).

A estabilização das nanopartículas metálicas geralmente é realizada por processos físicos e químicos complexos que implicam, em muitos casos, condições extremas de temperatura e

pressão (PLAZA; CHOJNIAK; BANAT, 2014). As preocupações com o impacto ambiental, as regulamentações ambientais em vários países e demanda pelo desenvolvimento de abordagens limpas, não tóxicas e ecológicas tem direcionado à utilização de bio-materiais na nanotecnologia para a estabilização de partículas metálicas (KUMAR, 2010).

Os biossurfactantes são surfactantes produzidos por bactérias, leveduras ou fungos. O uso destes surfactantes é vantajoso porque, além de serem eficazes na solubilização de compostos de baixa solubilidade, eles são biodegradáveis, biocompatíveis, possuem baixa toxicidade (MULLIGAN, 2005) e características físico-químicas que promovem a estabilidade das nanopartículas metálicas.

Dentre os biossurfactantes mais estudados estão os ramnolipídeos que vêm sendo empregados na estabilização de nanopartículas de níquel, zircônia e prata (MULLIGAN, 2009; KUMAR, 2010; XIE; YE; LIU, 2006). Na estabilização de nanopartículas de prata, os ramnolipídeos são capazes de mantê-las estáveis por pelo dois meses formando um obstáculo esférico ao redor das partículas que as impedem de se agregar por interações eletrostáticas (XIE; YE; LIU, 2006).

O presente trabalho utilizou nanopartículas de prata, estabilizadas com ramnolipídeos, para catalisar a redução do corante têxtil azul de metileno em água.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Estudar a capacidade catalítica das nanopartículas de prata na redução do corante têxtil azul de metileno em soluções aquosas.

2.2. ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas de prata, utilizando ramnolipídeos como estabilizadores, em diferentes pHs.
- Realizar um planejamento experimental para avaliar diferentes fatores e condições a fim de otimizar a redução de corantes catalisada por nanopartículas de prata.

- Avaliar o processo de redução quanto à toxicidade a *Daphnia simillis*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. CORANTES

Corantes são substâncias que quando aplicadas a um material conferem coloração e seu uso pelo homem data de milhares de anos. Há registros encontrados em múmias egípcias de 2.500 a.C. do uso de corantes naturais como o índigo, a alizarian e a henna para o tingimento de tecidos. A origem do uso dos corantes é incerta, mas sabe-se que até o século XIX, todos os corantes utilizados eram de origem natural (DE ALMEIDA; DILLARI; CORSO, 2014).

Em 1856, foi descoberto o primeiro corante sintético, malva, por William H. Perkin, fundador da primeira fábrica para produção de corantes sintéticos do mundo. A partir desse momento surgiram cerca de 10.000 compostos químicos coloridos que estão hoje disponíveis no mercado (DOGAN; TURKDEMIR, 2005). Estes corantes são consumidos, em sua grande maioria, cerca de 2/3 do mercado total de corantes mundiais, pela indústria têxtil (DE ALMEIDA; DILLARI; CORSO, 2014) além de serem altamente utilizados pela indústria alimentícia, farmacêutica, cosmética, plástica e fotográfica (CHEQUER et al., 2013).

Esta grande variedade de corantes podem ser classificados segundo sua estrutura química ou de acordo com o método pelo qual ele é fixado à fibra têxtil (SANTOS, 2011). Os principais grupos de corantes e suas classificações segundo as aplicações sobre o substrato são apresentados na tabela a seguir.

Tabela 1. Classificação de corantes segundo a aplicação sobre o substrato.

| <i>Corantes</i> | <i>Substratos</i> |
|--------------------------|---|
| <i>À cuba sulfurados</i> | Fibras naturais e fibras artificiais |
| <i>À tina</i> | Fibras naturais |
| <i>Ácidos</i> | Couro, fibras naturais, fibras sintéticas, lã e papel |
| <i>Ao enxofre</i> | Fibras naturais |
| <i>Azóicos</i> | Fibras naturais e fibras sintéticas |
| <i>Básicos</i> | Couro, fibras sintéticas, lã, madeira e papel |
| <i>Diretos</i> | Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel |
| <i>Dispersos</i> | Fibras artificiais e fibras sintéticas |
| <i>Mordentes</i> | Alumínio anodizado, lã, fibras naturais e fibras sintéticas |
| <i>Reativos</i> | Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel |
| <i>Solventes</i> | Ceras, cosméticos, gasolina, madeira, plásticos, solventes orgânicos, tintas de escrever e vernizes |

Fonte: ABIQUIM (c2018)

Os principais grupos de corantes classificados pelo modo de fixação são os corantes reativos, diretos, azoicos e ácidos. Os corantes reativos, diretos e ácidos são, em geral, solúveis em água enquanto os corantes azoicos são insolúveis em água e realmente sintetizados sobre a fibra durante o processo de tingimento (FLECK, 2011).

De todos os tipos de corantes utilizados no mundo, os reativos são os mais utilizados na indústria têxtil. Este tipo de corante contém um grupo eletrofílico (reativo) capaz de formar ligações covalentes com o grupo hidroxila das fibras celulósicas, com grupos amina, com hidroxila e tióis das fibras proteicas e com grupos amina das poliamidas. Ligações covalentes entre o corante e a fibra conferem maior estabilidade na cor do tecido tingido quando comparado a outros tipos de corante (ROYER, 2007).

3.1.1. CORANTES NA INDÚSTRIA TÊXTIL

O azul de metileno é um corante amplamente utilizado na indústria têxtil que é classificado como um corante reativo do tipo básico e que possui estrutura molecular aromática heterocíclica (JORGE; TAVARES; SANTOS, 2015). Seu uso no setor têxtil envolve o tingimento de seda, lã e algodão e aplicações em materiais como poliésteres e nylons (FABRÍCIO et al., 2010).

Corantes para tecidos são projetados para serem resistentes e apresentam-se como moléculas recalcitrantes, resistentes à degradação biológica e estáveis a agentes oxidantes

constituindo um grupo dificultoso de compostos químicos quando se trata de processos de descontaminação (CHEQUER et al., 2013).

Atualmente, cerca de 280.000 toneladas de corantes têxteis são descartados anualmente em efluentes devido às baixas taxas de fixação ao longo do processamento (PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013). Grandes volumes de águas residuais são gerados no processamento desta indústria que envolve dimensionamento, limpeza, branqueamento, tingimento, impressão e acabamento (BRILLAS; MARTÍNEZ-HUITLE, 2015).

Os corantes causam a diminuição da penetração de luz solar e da atividade fotossintética nos corpos d'água, conseqüentemente prejudicando a oxigenação do meio e gerando alteração dos processos metabólicos biológicos de espécies aquáticas (CHEQUER et al., 2013).

Apesar dos sérios problemas ambientais gerados pelos corantes e da necessidade de remoção destes dos efluentes antes do descarte em corpos d'água, a maioria dos métodos convencionais de tratamento de efluentes são ineficientes, tecnicamente complicados e/ou possuem alto custo (DOTTO, 2012).

3.1.2. LEGISLAÇÃO MUNDIAL

Todos os países europeus possuem legislações que regulam o descarte de efluente que possui corantes reativos, que não são eliminados por tratamentos convencionais de efluente, enquanto países como Marrocos ou Índia não possuem legislações específicas (HESSEL et al., 2007).

Países como a França, Áustria e Itália possuem valores limites para a coloração dos efluentes que serão descartados em corpos d'água. Na França, a amostra do efluente é diluída 30 vezes e se após esta diluição não houver coloração visível, então, o efluente está cumprindo a norma (HESSEL et al., 2007).

Países como Estados Unidos, Canadá e Austrália também possuem leis nacionais de meio ambiente que estabelecem valores limites a serem cumpridos (HESSEL et al., 2007). Nos Estados Unidos, a Lei Federal da Água Limpa criada em 1966 regula o descarte de efluentes da indústria têxtil nas águas, neste caso, estados e municípios podem ter regulações que impõem requisitos adicionais (CHRISTIE, 2007).

3.1.3. LEGISLAÇÃO BRASILEIRA

No Brasil, as resoluções CONAMA 357/2005 e 430/2011 definem as condições para lançamento de efluentes em corpos d'água:

- Águas doces, salinas ou salobras de classe especial não podem receber qualquer tipo de lançamento de efluentes ou disposição de resíduos de quaisquer fontes poluentes, mesmo que tratados.
- Águas doces de classe 1 e águas salinas de classe 1,2 e 3 não podem receber lançamentos que contenham corantes de fontes antrópicas.
- Águas doces classe 2 e 3 não podem receber lançamentos que contenham corantes provenientes de fontes antrópicas que não sejam removíveis por processo de coagulação, sedimentação e filtração convencionais. Em caso de presença de corantes removíveis por tratamentos convencionais, a cor verdadeira dos efluentes a serem descartados deve ser de até 75 mg Pt/L.
- Águas doces de classe 4 e águas salobras de classe 1,2 e 3 podem receber lançamento de efluentes sem preocupação em relação aos corantes.

Os efluentes descartados não podem causar ou possuir potencial para causar efeitos tóxicos aos organismos aquáticos no corpo receptor, de acordo com os critérios de ecotoxicidade estabelecidos pelo órgão ambiental competente.

As resoluções também definem que o Poder Público, órgãos ambientais estaduais e municipais, em suas competências, podem, a qualquer momento, determinar uma carga poluidora máxima mais restritiva do que a estabelecida por esta para o lançamento de substâncias através de normas específicas ou no licenciamento de um empreendimento a fim de que a qualidade das águas das respectivas classes não seja prejudicada.

3.2 TRATAMENTO DE EFLUENTES NA INDÚSTRIA TÊXTIL

O efluente da indústria têxtil é classificado como um dos mais poluentes entre os setores industriais em termos de volume e composição (LÓPEZ et al., 2006) pois é uma mistura complexa e apresenta elevados valores de carga orgânica e demanda bioquímica de oxigênio,

baixas concentrações de oxigênio, colorações fortes e baixa biodegradabilidade (KHAN; MALIK, 2016).

Os efluentes têxteis são comumente tratados por processos físico-químicos e biológicos convencionais como coagulação, filtração e lodo ativado. Estes processos são geralmente ineficazes, de difícil operação, geram grandes quantidades de lodo e requerem grandes áreas para implantação do tratamento (DOTTO, 2011).

Os lodos produzidos nos tratamentos de efluentes têxteis não podem ser reaproveitados, uma vez que o teor de corantes adsorvido é elevado, portanto o estudo de novas alternativas para o tratamento adequado destes efluentes deve ser considerado prioridade para profissionais que atuam nesta área. É necessária uma visão moderna com relação a efluentes industriais que não se baseie somente no tratamento mas também na busca constante pela diminuição dos resíduos gerados (KUNZ et al., 2002).

3.2.1. TRATAMENTO FÍSICO

Diferentes operações unitárias físicas têm sido utilizadas para o tratamento de efluentes têxteis que contém corantes. Os principais seriam os processos de separação com membranas, como osmose reversa e nanofiltração, e adsorção que pode utilizar carvão ativado, sílica gel, bauxita ou resinas de troca iônica ou alternativas mais sustentáveis como bambu, casca de eucalipto ou serragem (DOTTO, 2012; DEMIRBAS, 2009; GUPTA; SUHAS, 2009; MEZOHEGYI et al., 2012; ALMEIDA, 2010).

A adsorção utilizando carvão ativado é a técnica mais comum para remoção de corantes porque possui alta eficiência, apesar do custo elevado. A adsorção com alternativas mais sustentáveis gera uma boa remoção de uma vasta gama de corantes, principalmente os corantes ácidos, apesar de necessitar de um tempo de retenção elevado (ALMEIDA, 2010).

3.2.2. TRATAMENTO QUÍMICO

O tratamento químico mais adotado nas indústrias têxteis é a coagulação com conseguinte filtração. Este tipo de tratamento possui uma alta eficiência que está ligada à utilização de um excesso de coagulantes levando a formação um grande volume de lodo. O resultado final vai

dependem do tipo de corante a ser removido, composição, concentração e fluxo do rejeito (ALMEIDA, 2010).

As operações químicas de coagulação e filtração podem ser combinadas com a filtração e flotação, floculação-precipitação, eletroflotação, coagulação eletrocinética, oxidação, ozonização, irradiação e processos eletroquímicos (DOTTO, 2012; KANAMADI; AHALYA; RAMACHANDRA, 2006; VERMA; DASH; BHUNIA, 2012).

A degradação química com ozônio se mostra como uma opção de tratamento muito atrativa porque o ozônio é um poderoso agente oxidante e pode reagir com diferentes classes de corantes direta ou indiretamente (PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013). As desvantagens deste tipo de tratamento estão relacionadas ao alto custo e possível geração de intermediários tóxicos (ALMEIDA, 2010).

3.2.3. TRATAMENTO BIOLÓGICO

Os tratamentos biológicos para remoção de corantes em efluentes têxteis podem ser aeróbios, anaeróbios ou uma combinação de ambos (PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013). Esta remoção dos corantes pelos microrganismos pode ocorrer por três principais mecanismos: biossorção no qual ocorre uma ligação do soluto à biomassa através de um processo que não envolve transporte de energia metabólica, bioacumulação na qual os poluentes são acumulados por ativação de células em crescimento por seu metabolismo, e biodegradação que envolve a quebra do corante por ação de várias enzimas (AKSU; DÖNMEZ, 2005; KAUSHIK; A MALIK, 2009; PEIXOTO; MARINHO; RODRIGUES, 2013).

O tratamento biológico mais utilizado é o sistema de lodo ativado que consiste na agitação do efluente na presença de microrganismos e oxigênio durante o tempo necessário para metabolização e floculação de uma grande parte da matéria orgânica (KUNZ et al., 2002).

As vantagens das operações biológicas são o baixo custo, alta eficiência e não geração de resíduos secundários tóxicos. Apesar disto, diversas moléculas de corantes são recalcitrantes e tóxicas gerando inatividade dos microrganismos e impedindo o uso deste tipo de tratamento (DOTTO, 2012; KANAMADI; AHALYA; RAMACHANDRA, 2006; GUPTA; SUHAS, 2009).

3.2.4. NOVAS TECNOLOGIAS

Em função das desvantagens apresentadas pelos sistemas de tratamento convencionais, novas alternativas de tratamento vem sendo propostas, como: associação de diferentes processos biológicos, processos de oxidação avançada, eletrofloculação e nanotecnologias (MANENTI, 2011).

Os processos de oxidação avançada são tratamentos destrutivos que transformam a grande maioria dos poluentes em água, dióxido de carbono e ânions inorgânicos (MANENTI, 2011). As reações químicas de degradação que ocorrem em série envolvem poderosos agentes oxidantes, principalmente, radicais hidroxila que atacam a maioria das moléculas orgânicas, por apresentarem baixa seletividade (NAGEL-HASSEMER et al., 2012).

A eletrofloculação é um processo físico-químico que baseia-se nos princípios dos processos eletroquímicos sendo os fenômenos da eletrólise a base do processo. Apresenta um nível de resposta muito rápido com tempo de início de reações químicas entre 5 e 30 minutos. Este processo, em condições operacionais pré-determinadas, possui uma eficiência aproximada de 95% na remoção de cor (FLECK, 2011).

A nanotecnologia tem sido citada como um dos processos mais avançados para o tratamento de águas residuais. Os nanomateriais que vem sendo desenvolvidos compreendem nanofios, nanotubos, nanofilmes, colóides e nanopartículas. Estes nanomateriais desenvolvidos para o tratamento de águas residuais são classificados segundo a sua natureza em três grupos principais: nano-adsorventes, nano-membranas e nano-catalisadores (QU, ALVAREZ, LI, 2013).

Os nano-adsorventes participam do processo de captura dos corantes, podem ser nanopartículas metálicas, nanopartículas metálicas magnéticas, nanotubos de carbono e nanopartículas de carbono, que são quimicamente ativos e pelo tamanho apresentam melhor desempenho quando comparados com outros materiais adsorventes (QU, ALVAREZ, LI, 2013).

As nano-membranas são utilizadas em processos físicos de nanofiltração e são feitas de nanopartículas metálicas, não metálicas ou nanotubos de carbono. As membranas de nanofibras podem remover partículas micrométricas, apresentam alta permeabilidade e resistência e geralmente estão acopladas a sistemas de adsorção para remoção de corantes (QU, ALVAREZ, LI, 2013).

Por ultimo, estão os nano-catalisadores, que são utilizados em vários tipos de tratamentos como fotocalisadores, electrocatalisadores e catalisadores tipo Fenton (DIVYAPRIYA; NAMBI;

SENTHILNATHAN, 2016). No grupo dos nanocatalisadores encontram-se nanopartículas metálicas, óxidos de metais e matérias semicondutores.

Nanotecnologias também podem ser usadas para desinfecção e controle microbiano de efluentes. Nanomateriais de prata, óxido de zinco, dióxido de titânio e cério, nanotubos de carbono e fulerenos apresentam propriedades antimicrobianas sem forte oxidação e consequentemente menores tendências à formação de subprodutos tóxicos da desinfecção (QU, ALVAREZ, LI, 2013).

3.3. NANOTECNOLOGIA

Nano é um prefixo no sistema internacional de unidades que designa uma parte em um milhão. Um nanômetro corresponde a um bilionésimo de metro (MELO; PIMENTA, 2004).

As nanotecnologias se referem às aplicações tecnológicas de objetos e dispositivos que tenham suas dimensões físicas menores ou da ordem de algumas dezenas de nanômetros (MELO; PIMENTA, 2004). Estas tecnologias criam novas oportunidades para a ciência ao permitir a criação de materiais inéditos e inviáveis de serem produzidos em tamanhos maiores. Em escala atômica, as leis que regem a natureza são diferentes das que regem os objetos maiores, por exemplo: um material metálico, naturalmente condutor de eletricidade, pode se tornar isolante quando em dimensões nanométricas (ALENCAR et al., 2017; MELO; PIMENTA, 2004).

Há cerca de 4000 anos a.C. os alquimistas já utilizavam nanotecnologia com partículas de ouro, com tamanho da ordem de 1-100 nm, para estimular a mente e restaurar a juventude conhecida como o “elixir da longa vida”. Na era medieval, os vitrais das igrejas europeias foram resultado da formulação do vidro com nanopartículas de ouro produzindo efeitos coloridos. Na China, há mais de 2 mil anos, a nanotecnologia vem sendo empregada para produção da tinta nanquim a partir de nanopartículas de carvão em solução aquosa (FERREIRA; RANGEL, 2009).

Atualmente, já utilizamos em nosso cotidiano centenas de produtos com componentes nanométricos como chips, processadores, sensores, fibras de tecido, cosméticos e medicamentos (ALENCAR et al., 2017).

3.3.1. NANOPARTÍCULAS METÁLICAS

Nanopartículas metálicas são definidas como um metal que tem estrutura de tamanho nanométrico, usualmente variando entre 1 e 100 nm (HEBEISH et al., 2013). Estas nanopartículas possuem uma estrutura cristalina, no qual os átomos estão dispostos de forma ordenada (CORRÊA, 2015).

Uma característica importante das nanopartículas metálicas é que podem ser classificadas como sistemas de duas fases: fase dispersa, constituída pelas partículas, e fase do meio de dispersão que consiste no meio onde as partículas estão distribuídas. Estas nanopartículas são termodinamicamente instáveis, com alta energia livre de superfície, e constituem sistemas irreversíveis porque não podem ser reconstituídos facilmente após a separação das fases (SIGNORI, 2010).

Atualmente, as nanopartículas metálicas possuem inúmeras aplicações, como: construção de sensores, microeletrônica, catálise, ação bactericida, descontaminação de efluentes e células fotovoltaicas. Suas aplicações só são possíveis por conta do seu tamanho quântico e efeitos de superfície que resultam em novas propriedades físicas, químicas, magnéticas e estruturais dos metais (REDDY et al., 2009).

3.3.2. NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Nanopartículas de prata (AgNPs) são estruturas de prata com tamanho nanométrico. Estas estruturas, usualmente, compartilham de determinadas propriedades, como: capacidade antimicrobiana, catalítica e óptica, boa condutividade e estabilidade química (HEBEISH et al., 2013).

As propriedades físico-químicas das AgNPs dependem fortemente de sua forma e tamanho, das interações entre si, do agente estabilizador e da maneira que foram preparadas (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009). Estas propriedades vão influenciar seu comportamento, biodistribuição, segurança e eficácia, sendo assim necessária caracterização. A caracterização das estruturas irá avaliar seus aspectos funcionais e podem ser realizadas por diversas técnicas, como: microscopia eletrônica de varredura e transmissão, espalhamento dinâmico de luz (DLS) ou espectroscopia UV-visível (ZHANG et al., 2016).

Os usos de nanopartículas de prata são múltiplos mas devem levar em consideração a avaliação dos riscos ambientais associados a estas estruturas. Para a saúde humana, as

nanopartículas podem ter efeitos benéficos ou adversos, tanto por terem tamanho pequeno o suficiente para acessar à pele, pulmões e cérebro, quanto por sua capacidade antimicrobiana e anti-inflamatória. Para o meio ambiente, o uso destas estruturas implica em liberação delas, por efluentes, em ambientes aquáticos. Os riscos gerados dependerão do entendimento e análise da toxicidade destas nanopartículas (SHARMA; YNGARD; LIN, 2009).

A toxicidade da nanopartícula de prata é distinta dependendo da sua rota de preparação, tamanho, estabilidade em meio biológico, natureza química do revestimento, carga superficial, morfologia e efeito da dose (DURÁN et al., 2018). Estudos realizados por Asharani et al. (2008) e Xin et al. (2015), utilizando embriões do peixe *Danio rerio* (zebrafish), demonstraram concentração do agente tóxico que causa mortalidade de 50% dos organismos expostos entre 25 e 50 mg/L para NPs de 5 a 20 nm, e entre 4,120 e 5,909 mg/L para NPs de 3 a 6 nm. Foi possível concluir que quanto menor o tamanho da nanopartícula, maior é seu efeito tóxico.

3.3.3. APLICAÇÕES DAS AgNPs

Em 2011, foi estimado que cerca de 280 toneladas de AgNPs foram produzidas para utilização em produtos comerciais ou industriais. No mesmo ano, o número de produtos de consumo que as continham passava de 300 em todo o mundo (MATHIAS; ROMANO; ROMANO, 2013).

O potencial antimicrobiano e o custo relativamente baixo de fabricação tornou as AgNPs extremamente populares, principalmente em materiais de consumo, cosméticos e de higiene (MATHIAS; ROMANO; ROMANO, 2013). Salienta-se que no Brasil ainda não há produção de AgNPs em larga escala, gerando o acréscimo dos custos de importação nos produtos finais que as contém e tornado-os caros (AZEVEDO et al., 2015).

No campo da medicina, além da capacidade antimicrobiana, é explorada a capacidade anti-inflamatória das AgNPs que vêm sendo utilizadas para prevenção de infecção hospitalar, inibições de cáries dentárias, curativos para proporcionar cicatrização, agentes anticancerígenos e outros (MATHIAS; ROMANO; ROMANO, 2013; SOUZA et al., 2013).

Em tratamento de efluentes, o potencial das AgNPs vem sendo utilizado na produção de membranas, com a criação de sinergismo ou adição das nanopartículas em membranas

poliméricas ou inorgânicas. A capacidade antimicrobiana destas nanopartículas pode reduzir incrustações biológicas e formação de biofilmes nas membranas (QU; ALVAREZ; LI, 2013).

As AgNPs também vêm sendo aplicadas em tratamento de efluentes para desinfecção e controle microbiano. Estas já foram incorporadas em microfiltros de cerâmica como uma barreira para patógenos que podem ser transmitidos pela água (QU; ALVAREZ; LI, 2013; PETER-VARBANETS et al., 2009).

Diversos estudos demonstraram o potencial de aplicação das AgNPs no tratamento de efluentes industriais que possuem corantes orgânicos em sua composição, como: azul de metileno, laranja de metila, vermelho de metila, safranina, eosina Y e amarelo 12. As AgNPs apresentam propriedades catalíticas na reação de redução de corantes que podem resultar em uma redução máxima da cor do efluente. (VIDHU; PHILIP, 2014; BONNIA et al., 2016; JYOTI; SINGH, 2016; EDISON; LEE; SETHURAMAN, 2016).

Para o corante azul de metileno, os resultados demonstraram significativa redução do tempo de reação para uma remoção máxima do corante. Um estudo analisou que na solução apenas com agente redutor, ausência de AgNPs, em 80 minutos não foi possível verificar a olho nu qualquer redução de cor enquanto na solução com agente redutor na presença das AgNPs foi possível verificar uma redução máxima do corante em até 20 minutos (BONNIA et al., 2016). Outro estudo analisou que na ausência das AgNPs a redução do corante azul de metileno, em 60 minutos, acontecia em um ritmo lento enquanto que na presença das AgNPs ocorre a completa redução do corante em menos de 20 minutos (VIDHU; PHILIP, 2014;).

3.3.4. SÍNTESE DE AgNPs

Existem dois procedimentos gerais para síntese de AgNPs que são chamados de Top-Down e Bottom-Up conforme Figura 1.

Figura 1: Métodos de síntese de nanoestruturas.



Fonte: Nchemi (2019).

A síntese de nanopartículas pela abordagem Top-Down é realizada com um material de partida adequado que é reduzido em tamanho por métodos físicos ou químicos. A maior desvantagem deste método é a geração de superfícies estruturais imperfeitas que podem ter impacto significativo nas propriedades físicas e superfície química da nanopartícula (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010).

A abordagem Bottom-up para síntese de nanopartículas consiste na construção da estrutura unindo átomo por átomo, molécula por molécula ou partículas menores. Esta síntese depende, principalmente, de métodos de produção químicos e biológicos (THAKKAR; MHATRE; PARIKH, 2010).

A síntese de AgNPs mais comum é a redução química, abordagem Bottom-up, que envolve a redução de um sal iônico fazendo uso de agentes redutores (GUZMÁN; DILLE; GODET, 2009). Os métodos de redução podem variar dependendo do tipo do agente redutor, quantidade e concentração destes, da temperatura de reação, velocidade de agitação e duração do processo de redução. Essas condições irão influenciar os diâmetros das partículas de prata resultantes da síntese (GARCIA, 2011).

O Borohidreto de sódio é o agente redutor mais comumente utilizado na síntese das AgNPs. Este agente é fortemente redutor e induz a formação de centros de nucleação que crescem formando aglomerados, fazendo-se necessário o uso de um agente estabilizador (GARCIA, 2011).

3.3.5. QUÍMICA VERDE NA SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DA NANOPARTÍCULA DE PRATA

A química verde é definida como um design de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e geração de substâncias perigosas. Este campo da química demonstra como produtos e processos podem ser produzidos sendo bons para a saúde humana e para o meio ambiente, além de economicamente lucrativos (ANASTAS; EGHBALI, 2010).

No campo da química verde, o uso de químicos não tóxicos, de materiais renováveis e solventes ambientalmente benignos são a chave para processos de síntese e estabilização sustentáveis de nanopartículas metálicas (RAVEENDRAN; FU; WALLEN, 2003).

Na síntese de AgNPs, comumente são aplicados métodos químicos e físicos considerados caros e que fazem uso de diversos químicos tóxicos como hidrazina e dimetilformamida (RAVEENDRAN; FU; WALLEN, 2003). Apesar disto, sínteses biológicas, a partir de fontes vegetais e microbianas, vêm sendo exploradas em diversos trabalhos publicados por suas vantagens: fácil disponibilidade e não tóxicas (SRIKAR et al., 2016).

Embora a síntese biológica de AgNPs seja ambientalmente vantajosa, esta produz nanopartículas a uma velocidade muito mais lenta do que processos com agentes redutores. Assim, como uma alternativa mais ecológica na síntese com agentes redutores, técnicas demonstraram que os biossurfactantes são candidatos promissores na estabilização “verde” de nanopartículas (KIRAN et al., 2011).

São exemplos o uso dos biossurfactantes surfactina e ramnolipídeo para estabilização de AgNPs (REDDY et al., 2009; XIE; YE; LIU, 2006; KUMAR, 2010). A estabilização da nanopartícula consiste na escolha de um material de cobertura que irá proteger a superfície da nanopartícula e mantê-la estável (RAVEENDRAN; FU; WALLEN, 2003).

3.4. BIOSSURFACTANTES

Surfactantes são compostos formados por moléculas que possuem uma parte hidrofóbica e uma hidrofílica sendo capazes de diminuir a energia livre do sistema e a tensão superficial. Estes compostos são usados como detergente e se tornaram indispensáveis à vida dos seres humanos apesar de gerarem contaminação e eutrofização de corpos d'água (REBELLO et al., 2014).

Atualmente, os surfactantes mais utilizados possuem origem petroquímica contribuindo para a emissão atmosférica de gases de efeito estufa e agravando problemas como mudanças climáticas globais (REBELLO et al., 2014).

Os biossurfactantes são surfactantes produzidos por bactérias, leveduras ou fungos; estes são vantajosos porque, além de serem eficazes na solubilização de compostos de baixa solubilidade, são biodegradáveis, biocompatíveis e possuem baixa toxicidade (MULLIGAN, 2005).

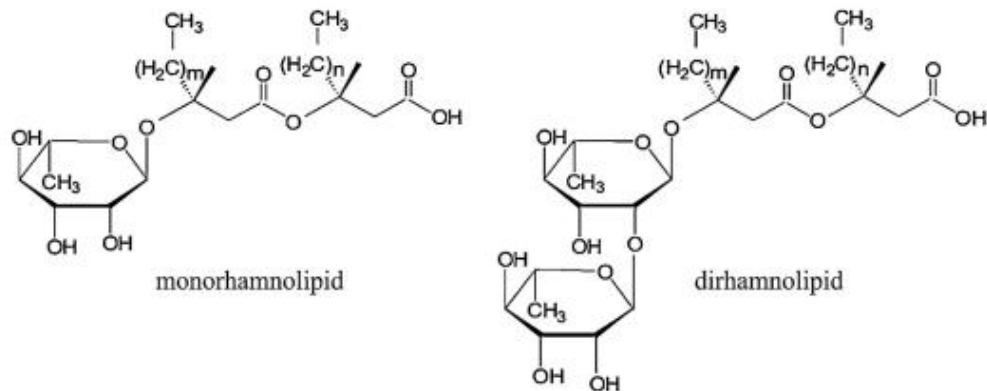
Os biossurfactantes podem ser sintetizados a partir de substratos renováveis como açúcares e óleos vegetais, não são compostos derivados do petróleo e possuem grande diversidade química (COSTA; NITSCHKE; CONTIERO, 2008).

Os biossurfactantes podem ser classificados, com base na sua natureza bioquímica, em quatro classes principais: glicolípídeos, fosfolípídeos, lipopeptídeos ou lipoproteínas. Dentre estes, os mais conhecidos são os glicolípídeos que são formados por carboidratos e ácidos graxos alifáticos de cadeia longa (PIRÔLLO, 2006).

3.4.1. RAMNOLIPÍDEOS

Os ramnolípídeos são glicolípídios extensamente estudados que se apresentam como uma mistura de homólogos e diferenciam entre si pelo número de moléculas de ramnose, referente a sua porção hidrofílica, e pelo tamanho das cadeias de ácidos graxos da porção hidrofóbica (LANG; WULLBRANDT, 1999).

Os homólogos de maior predominância nas misturas são os mono formados por apenas uma ramnose ligada a duas moléculas de ácido β -hidroxidecanóico, e os di-ramnolípídios formados por duas ramoses ligadas a duas moléculas de ácido β -hidroxidecanóico (NITSCHKE; COSTA; CONTIERO, 2011).

Figura 2: Estrutura geral dos ramnolipídeos.

Fonte: Modificado de Abdel-Mawgoud; Lépine; Déziel (2010).

As propriedades físicas deste biossurfactante dependem da composição da mistura de homólogos e distribuição de cada homólogo produzido, isto irá determinar a presença de duplas insaturações, o comprimento da cadeia alquílica e o tamanho da cadeia hidrofílica (MONTEIRO, 2007).

Os ramnolipídeos são produzidos, principalmente, por processos fermentativos de bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e apresentam baixa toxicidade e alta biodegradabilidade (ARAÚJO, 2018).

Em relação a redução da tensão superficial da água, são capazes de reduzir de 72 mN/m para 25 a 30 mN/m e a tensão interfacial óleo/água de 43 mN/m para valores menores que 1 mN/m (MONTEIRO, 2007).

Os valores de Concentração Micelar Crítica (CMC), que está relacionada à capacidade de formação de micelas pelo biossurfactante, podem variar segundo a composição de homólogos da mistura. Já foram relatados valores entre 5 e 200 mg/L (NITSCHKE; COSTA; CONTIERO, 2011).

Este biossurfactante pode ser considerado não volátil, estável a temperatura ambiente e a 121 graus Celsius por pelo menos uma hora (KRONEMBERGER, 2007).

3.4.2. APLICAÇÕES DE RAMNOLIPÍDEOS

Os ramnolipídeos podem atuar como antibactericida e antifúngico gerando interesse das indústrias farmacêuticas e terapêuticas (MULLER et.al., 2012). Há exemplos de aplicação na produção de cosméticos e produtos para cuidados com a saúde por conta da sua biocompatibilidade, alguns deles são: repelentes, antiácidos, desodorantes, cremes dentais, produtos anticaspas, antirrugas e antienvhecimento (LOURITH; KANLAYAVATTANAKUL, 2009; KOSARIC, 1993).

Estudos publicados demonstram seu uso em biodegradação de petróleo, metais pesados, óleos, hidrocarbonetos clorados e outros por conta de suas excelentes propriedades de emulsificação (MULLIGAN, 2005).

Na agricultura, os ramnolipídeos vêm sendo aplicados como defensores agrícolas por demonstrarem atividade contra diversos patógenos agrícolas e possuírem baixa toxicidade (YOCHIKAWA, 2016). Também vêm sendo usados para ajudar na absorção de fertilizantes e nutrientes (RANDHAWA; RAHMAN, 2014).

3.3.1. RAMNOLIPÍDEOS E QUÍMICA VERDE

Os ramnolipídeos, após purificação, também vem sendo empregados na substituição de químicos tóxicos, que geram poluição ambiental, porque possuem excelente biocompatibilidade, biodegradabilidade, baixa toxicidade e excelente atividade antiviral (XIE; YE; LIU, 2006).

Estudo realizado com a utilização do biossurfactante ramnolipídico para estabilização de AgNPs concluiu que estas podem se manter estáveis por pelo menos dois meses sem a realização de passivação (XIE; YE; LIU, 2006). As AgNPs produzidas neste método apresentam boa atividade antibiótica contra patógenos gram-positivos, gram-negativos e *Candida albicans* sugerindo atividade antimicrobiana diversa (KUMAR, 2010).

Mulligan (2009) apresenta a capacidade do ramnolipídeo de funcionar como um agente quelante de metais como o cádmio, chumbo, cobre, níquel e zinco. Neste caso, o biossurfactante possui eficiência de até 92% de remoção.

O ramnolipídeo também é capaz de dispersar partículas de zircônia em pH 7, evidenciando a possibilidade de uso deste como um produto ecológico flocculante ou dispersor de um conteúdo sólido de micropartículas (MULLIGAN, 2009).

Ramnolipídeos também foram utilizados na síntese de microemulsões para produção de nanotubos de óxido de níquel. Apresenta-se uma técnica alternativa e ecológica à técnica de

microemulsão convencional baseada em surfactantes petroquímicos (PALANISAMY; RAICHUR, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. PRODUÇÃO E EXTRAÇÃO DE RAMNOLIPÍDEOS

4.1.1. FONTE MICROBIOLÓGICA

Pseudomonas aeruginosa LBI 2A1 foi o micro-organismo utilizado na produção de ramnolipídeos. Este é proveniente do Laboratório de Microbiologia Industrial (LMI) da Universidade Estadual Paulista (UNESP) - Campus Rio Claro. Foi acondicionado em tubos criogênicos contendo glicerol 20% e armazenado ultra-freezer à -80°C.

4.1.2. MEIOS DE CULTIVO

4.1.2.1. CALDO NUTRIENTE (CN) e LURIA BERTANI (LB)

A composição dos meios utilizados para o pré-inóculo dos micro-organismos em (g/L) foram: peptona - 5,0; extrato de carne - 3,0 (CN) e triptona - 10; extrato de levedura - 5,0 e NaCl - 10 (LB).

4.1.2.2. MEIO MINERAL LIVRE DE CÁLCIO COM TAMPÃO FOSFATO (MLCTF)

O meio MLCTF, utilizado para o preparo do inóculo das fermentações, foi composto por (g/L): MgSO₄ 7H₂O - 0,05; KCl - 0,1; NaNO₃ - 1,5; Glicerol - 25; tampão fosfato 0,1 M, pH 6,5 e 1 ml/L da solução de elementos traços. Esta solução é composta por (g/L): citrato de sódio dihidratado - 2,0; ZnSO₄ 7H₂O - 0,87; CaCl₂ 6H₂O - 1,2; CuSO₄ 5H₂O - 1,2; MnSO₄ H₂O - 0,8; FeCl₃ 6H₂O - 0,28.

4.1.2.3. MEIO MINERAL LIVRE DE CÁLCIO (MMLC)

Para a produção de ramnolipídeos em frascos foi utilizado o seguinte meio (g/L): K_2HPO_4 – 0,3; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5; KCl – 1,0; $NaNO_3$ – 15; Glicerol –50 e 1 ml/L da solução de elementos traços (item 4.1.3)

4.1.3. CONDIÇÕES DE CULTIVO

O microrganismo foi pré-cultivado em frascos Erlenmeyer de 125 ml contendo 10% de volume de meio LB/CN e 100 μ L da cultura estoque da linhagem. A incubação foi realizada em mesa agitadora, durante 24 horas à 37°C e 200 rpm. Em seguida foram transferidos 5 ml do pré-inóculo para frascos de 500 mL com 100 mL de volume de meio MLCTF e incubado por 48 horas à 37°C e 200 rpm. Esta cultura foi utilizada para inoculação do meio de fermentação, MMLC utilizado para produzir os ramnolipídeos utilizados neste trabalho.

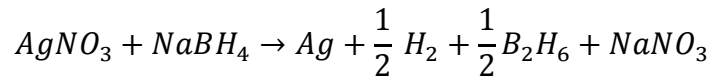
Após a fermentação, o volume total dos frascos foi centrifugado. O caldo livre de células foi acidificado com H_3PO_4 85% 1:100 (v/v), levando a precipitação dos ramnolipídeos presentes. Para a extração do ramnolipídeo foi utilizado acetato de etila 1:1 25 (v/v); a mistura foi agitada vigorosamente por 10 min e logo em seguida foi retirada a fase superior para evaporação do solvente em rotavapor (40°C) e obtenção do biossurfactante (Mariano, 2012).

4.2. SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS

Por uma metodologia modificada de Kumar (2010), foi preparada solução contendo 4mL de nitrato de prata (0,1M), 15mL de ramnolipídeo (10g/L) em pH 7, 16mL de água pura e 5mL de borohidreto de sódio (3M) em Béquer de 40 mL. Nesta síntese, o nitrato de prata foi a substância percussora que, quando reduzida pelo borohidreto de sódio e estabilizada pelo ramnolipídeo, gerou as nanopartículas de prata. O pH das soluções foi ajustado utilizando NaOH (1M) e HCl (1M) antes da adição do borohidreto de sódio na síntese.

Preparou-se também uma solução contendo 4mL de nitrato de prata (0,1M), 16mL de água pura e 5mL de borohidreto de sódio (3M) em Béquer de 40 mL a fim de verificar a capacidade estabilizadora do ramnolipídeo.

A reação que governa a redução dos íons de prata metálica pelo borohidreto de sódio é descrita pela seguinte equação:



Todas as soluções de síntese foram agitadas magneticamente durante 1h a temperatura ambiente.

As características de coloração e tamanho das partículas nas diferentes soluções de AgNPs foram analisadas no espectrofotômetro Shimadzu UV-1601 PC na faixa entre 300-500nm após diluição em proporção 1/25 (v/v).

4.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Foi adotado um delineamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional com auxílio do programa computacional Statistica 10 (StatSoft, Tulsa, EUA) porque este delineamento é capaz de prover precisão igual de estimação em todas as direções e é indicado no caso de duas ou três variáveis independentes (CHAVES, 2008).

As três variáveis independentes avaliadas foram pH da síntese de nanopartículas, concentração do agente redutor (NaBH₄) e volume da solução de nanopartículas de prata (AgNPs) conforme Tabela 2. Os níveis de cada variável foram escolhidos após a realização de testes prévios e revisão bibliográfica.

Tabela 2. Níveis das variáveis independentes.

| <i>Fator</i> | <i>Mínimo</i> (-1,67) | <i>Menor</i> <i>Valor</i> (-1) | <i>Ponto</i> <i>Central</i> (0) | <i>Maior</i> <i>Valor</i> (1) | <i>Máximo</i> (1,67) |
|---|--------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|
| <i>Concentração de NaBH₄ (M)</i> | 0,10 | 0,30 | 0,60 | 0,90 | 1,10 |
| <i>Volume de AgNPs (mL)</i> | 0,05 | 0,15 | 0,30 | 0,45 | 0,55 |
| <i>pH de síntese das AgNPs</i> | 3,65 | 5,00 | 7,00 | 9,00 | 10,35 |

Fonte: Autora (2019).

O delineamento consistiu em um planejamento fatorial 2^3 com oito ensaios ($2 \times 2 \times 2$), mais seis pontos axiais e três pontos centrais totalizando 17 corridas divididas em três blocos. As corridas foram realizadas em duplicata, nas quais cada variável foi investigada em 5 níveis conforme a Tabela 3.

Tabela 3. Planejamento experimental dos cinco níveis investigados.

| <i>Teste</i> | <i>Bloco</i> | <i>NaBH₄</i> | <i>AgNPs</i> | <i>pH</i> |
|--------------|--------------|-------------------------|--------------|-----------|
| 1 | 1 | -1,00 | -1,00 | -1,00 |
| 2 | 1 | -1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 3 | 1 | 1,00 | -1,00 | 1,00 |
| 4 | 1 | 1,00 | 1,00 | -1,00 |
| 5 | 1 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 6 | 2 | -1,00 | -1,00 | 1,00 |
| 7 | 2 | -1,00 | 1,00 | -1,00 |
| 8 | 2 | 1,00 | -1,00 | -1,00 |
| 9 | 2 | 1,00 | 1,00 | 1,00 |
| 10 | 2 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| 11 | 3 | -1,67 | 0,00 | 0,00 |
| 12 | 3 | 1,67 | 0,00 | 0,00 |
| 13 | 3 | 0,00 | -1,67 | 0,00 |
| 14 | 3 | 0,00 | 1,67 | 0,00 |
| 15 | 3 | 0,00 | 0,00 | -1,67 |
| 16 | 3 | 0,00 | 0,00 | 1,67 |
| 17 | 3 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |

Fonte: Modificado de Statistica (2019).

4.4. TESTES DE REDUÇÃO DO CORANTE

As soluções foram avaliadas contra o corante azul de metileno (1mM) em 10 mL de solução aquosa por metodologia modificada de Saha et al. (2017). Estas foram preparadas em tubos de ensaio com concentrações de borohidreto de sódio, volume de AgNPs e pH das nanopartículas conforme planejamento experimental (Tabela 3).

Também foram realizados testes de redução do corante na concentração 1mM apenas com borohidreto de sódio, em diferentes concentrações, e com ramnolipídeos a fim de possibilitar comparações de resultados. Como controle negativo, foi utilizada água destilada no lugar do borohidreto de sódio e da solução de AgNPs.

Nas avaliações da redução do corante foi utilizado espectrofotômetro UV-visível na faixa entre 400-800 nm. Foi analisada a absorbância máxima no comprimento de onda $\lambda=665\text{nm}$ no intervalo de 60 minutos.

A redução da concentração do corante foi mensurada utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Porcentagem de Redução} = (A_0 - A_f) \div A_0 \times 100$$

Sendo, A_0 = absorbância medida no comprimento de onda $\lambda=665\text{ nm}$ no tempo inicial e A_f = absorbância medida no comprimento de onda $\lambda=665\text{ nm}$ no tempo final, após 60 minutos de reação.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA E VALIDAÇÃO EXPERIMENTAL

Os experimentos de redução do corante foram realizados em duplicata, exceto o ponto central, e os dados foram expressos como os valores médios. Com os resultados obtidos, foi realizada análise de variância (ANOVA), e os valores p (p -value) inferiores a 5% foram considerados estatisticamente significativos.

O programa Statistica, versão 10.0 (EUA), foi empregado para delineamento experimental, ANOVA e validação experimental. Os resultados foram avaliados pela metodologia de superfície de resposta que é uma combinação de métodos estatísticos e matemáticos úteis para otimização de processos, selecionando as melhores condições

experimentais com o menor número de experimentos possível para obter resultados apropriados (SARRAI et al., 2016).

4.6. TESTES DE TOXICIDADE

Os testes de toxicidade utilizaram crustáceos de água doce do gênero *Daphnia*, cedidos pelo Laboratório de Ensino e Pesquisa de Toxicidade de Águas do Departamento de Bioquímica e Microbiologia da UNESP- Rio Claro, conforme ABNT NBR 12713. Estes crustáceos são amplamente utilizados em testes de toxicidade porque possuem ampla presença em corpos d'água doce, são fonte de alimento para peixes e importantes em diversas cadeias alimentares, possuem um ciclo de vida curto e são sensíveis a diversos contaminantes do ambiente aquático (COSTA et al., 2008).

Os testes foram realizados em soluções de 10 mL em pH 7,5 conforme características a seguir:

- Soluções com 150 a 15 µL de ramnolipídeos (10 g/L) em água destilada;
- Água destilada e 400 µL de AgNPs sintetizadas em pH 8;
- Azul de metileno (1mM) em água destilada;
- Solução final em condições ótimas segundo Planejamento Experimental, após procedimentos para remoção do corante e das AgNPs;
- Solução final em condições ótimas segundo Planejamento Experimental, após metodologias para remoção do corante, das AgNPs e dos ramnolipídeos.

Para possibilitar a realização destes testes foi utilizado carvão ativado para remoção das AgNPs. A metodologia modificada de Gicheva e Yordanov (2013) consistiu na adição de NaCl a fim de se obter uma solução na concentração 10mM, e conseguinte adição de 0,25mg/mL de carvão ativado. A solução foi mantida em mesa agitadora por 12h à 20°C, e depois filtrada a vácuo com papel filtro de 4,45µm.

A remoção das AgNPs foi analisada utilizando espectroscopia UV-Visível no comprimento de onda $\lambda = 430\text{nm}$. As absorbâncias medidas antes e após o processo de remoção foram inseridas na fórmula a seguir.

$$\text{Porcentagem de Remoção} = (A_0 - A_f) \div A_0 \times 100$$

Para extração do ramnolípídeo, foi utilizada a metodologia com a acidificação do meio e acetato de etila que foi apresentada na produção e extração dos ramnolípídeos (Mariano, 2012). A solução foi centrifugada e mantida em estufa quente por 48h, para remoção do solvente, antes ser utilizada para realização do teste de toxicidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. SÍNTESE E ESTABILIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS

As AgNPs obtidas por redução por borohidreto de sódio foram caracterizadas por espectroscopia UV-Visível e os picos de comprimentos de ondas observados são relacionados na Tabela 4, conforme pH de síntese.

Tabela 4. Relação entre o pH de síntese das AgNPs, o λ máx (nm) na análise por espectroscopia e diâmetro médio das partículas

| <i>λ máx (nm)</i> | <i>pH de síntese</i> | <i>Diâmetro médio(nm)</i> |
|--------------------------------------|----------------------|---------------------------|
| - | 3,65 | - |
| 398 | 5,00 | 10-14 |
| 405,4 | 7,00 | 10-14 |
| 399,8 – 407,4 | 8,00 | 10-35 |
| 398,2 – 408,6 | 9,00 | 10-35 |
| 402 – 414,2 | 10,35 | 10-35 |

Fonte: Modificado de Mulfinger et al. (2007).

Através da Tabela 4, observou-se que apenas em pH 3,65 não houve um pico nos comprimentos de onda estudados. Garcia (2011) demonstrou que a espectroscopia UV-Visível pode ser utilizada para caracterização de nanopartículas. Nesta análise, comprimentos de onda com picos entre 380-450 nm demonstram a presença das AgNPs.

Fez-se uso destes dados para avaliar que as nanopartículas produzidas neste estudo tem tamanho aproximado de 10-35 nm. Mulfinger et al. (2007) demonstrou a relação entre o diâmetro médio das nanopartículas de prata e o comprimento de onda observado no pico. Partículas de tamanho entre 10 e 14 nm são demonstradas em λ máx (nm) de 395-405, as de tamanho de 35 a

50 nm são demonstradas em λ máx (nm) de 420 e as maiores que 60 nm são demonstradas em λ máx (nm) = 438 nm.

Não foram encontrados outros estudos que realizaram a síntese das AgNPs em diferentes pH pela mesma metodologia utilizada neste trabalho. Traiwatcharanon, Timsorn e Wongchoosuk (2015) realizou síntese de AgNPs a partir de extrato aquoso de *Pistia stratiotes* em diferentes pH. Este estudo também não verificou pico em comprimentos de onda próximos a 400 nm em sínteses de AgNPs em condições ácidas (4-6). Em pH básico (9-10) foram verificados picos em $\lambda = 414$ nm e a intensidade dos picos tendeu a aumentar conforme aumentava o pH.

Apesar de Traiwatcharanon, Timsorn e Wongchoosuk (2015) não terem observado picos próximos a 400 nm em pH abaixo de 7, o trabalho verificou presença de AgNPs em todos os pH (4-10) fazendo uso de microscopia eletrônica de transmissão. Os diâmetros médios das nanopartículas foram de 14,79 nm em pH 4, 17,3 nm em pH 7 e de 20,97 nm em pH 10. As diferenças de tamanho das partículas foram explicadas com base nos efeitos do pH na dissociação e aglomeração das partículas.

Um estudo realizado por Elzey e Grassian (2009) também demonstrou dissociação de AgNPs e presença de partículas isoladas em meios ácidos, relacionando estes ao tamanho das nanopartículas. Meios ácidos possuem uma força motriz mais alta para a dissolução das AgNPs resultando em tamanhos menores das partículas (TRAIWATCHARANON; TIMSORN; WONGCHOOSUK, 2015).

Em meios básicos ocorre a dissociação do hidróxido de sódio em água para produzir íons hidróxido carregado negativamente que aumentarão a redução completa da prata em nanopartículas. Com uma densidade iônica mais elevada, os átomos de prata tendem a formar ligações com os átomos mais próximos devido à alta energia superficial e a instabilidade termodinâmica das superfícies, causando o aumento do tamanho das nanopartículas (TRAIWATCHARANON; TIMSORN; WONGCHOOSUK, 2015).

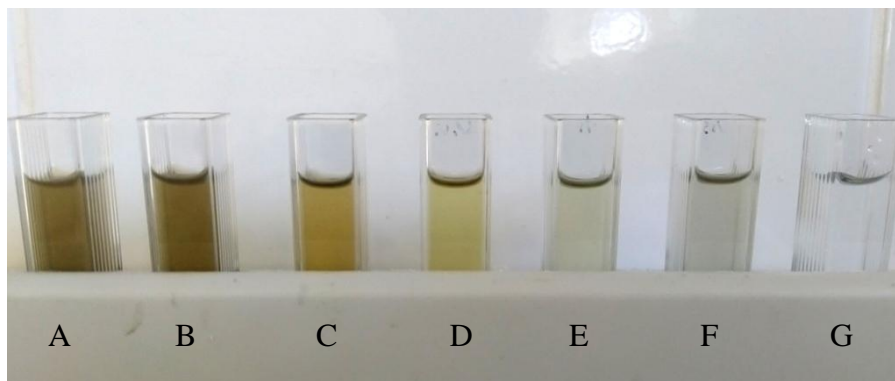
Alterações do pH também afetam a formação de diferentes estruturas e agregação no ramnolípido utilizado como estabilizador das nanopartículas. As estruturas são formadas de forma espontânea e causadas pela presença do ácido carboxílico na estrutura do biossurfactante. Em meio ácido, na faixa de pH entre 4,3-5,8, há a formação de estruturas vesiculares, estruturas lamelares são formadas em pH 6-6,5, lipídicas na faixa de pH 6,2-6,6 e micelas em pH acima de 6,8 (KITAMOTO et al., 2009). Os ramnolípidos tendem a se agregar na faixa de pH que há

formação de estruturas vesiculares, entre 4,3 e 5,8, porque seu pKa é de 5,6, resultando na ausência de repulsão eletrostática entre as moléculas nesta faixa (ISHIGAMI et al., 1993).

Segundo Farias et al., (2014) os biossurfactantes reduzem a formação de agregados das AgNPs devido às forças de atração eletrostáticas. Pela metodologia utilizada neste estudo, a síntese das AgNPs sem a presença do ramnolípídeo não ocorreu, apresentando-se apenas grandes agregados de nitrato de prata na solução.

A análise visual da coloração dos coloides de prata demonstrou diferentes estágios de agregação das partículas, como pode ser observado na Figura 3. Em pH 3,65 não foi observada coloração amarela característica da formação de prata metálica sob a forma de nanopartículas (GARCIA, 2011). A partir do pH 5,00, a coloração amarelada demonstrou pequenos agregados enquanto uma posterior agregação gerou mudanças na coloração variando até maiores estágios de agregação com coloração marrom, em pH acima de 9,00 (GARCIA, 2011; ELZEY; GRASSIAN, 2009)

Figura 3. Prata coloidal em diferentes estágios de agregação. (A) pH 10,35, (B) pH 9,00, (C) pH 8,00, (D) pH 7,00, (E) pH 5,00, (F) pH 3,65 e (G) água destilada.



Fonte: Autora (2019).

Segundo Garcia (2011), reduções de prata por borohidreto de sódio costuma produzir coloides descritos como de coloração amarelado-esverdeado e amarronzada com partículas de cerca de 10nm, condizendo com os resultados obtidos.

Trabalho realizado por Salazar-Bryam (2016) utilizou a mesma metodologia para síntese das AgNPs, sem a alteração do pH, e as analisou por micrografia. Os resultados encontrados

demonstraram que a metodologia produz nanopartículas esféricas recobertas pelo ramnolípídeo. Neste estudo o tamanho das nanopartículas oscilou entre 70-80 nm.

5.2. TESTES DE REDUÇÃO DO CORANTE

Os resultados obtidos nas 17 corridas do Planejamento Experimental são demonstrados na Tabela 5. Estes valores foram inseridos no Software Statistica para geração dos resultados estatísticos.

Tabela 5. Porcentagem de remoção do corante azul de metileno observado e esperado em cada uma das corridas planejadas.

| <i>Remoção do corante (%)</i> | | |
|-------------------------------|-----------|----------|
| <i>Corrida</i> | Observado | Esperado |
| 1 | 28,69 | 32,51 |
| 2 | 84,68 | 97,47 |
| 3 | 13,81 | 6,18 |
| 4 | 89,19 | 88,07 |
| 5 | 91,87 | 91,46 |
| 6 | 89,16 | 88,29 |
| 7 | 32,92 | 38,57 |
| 8 | 35,66 | 20,89 |
| 9 | 82,30 | 76,49 |
| 10 | 91,51 | 91,46 |
| 11 | 91,95 | 78,21 |
| 12 | 34,36 | 50,93 |
| 13 | 7,92 | 18,59 |
| 14 | 90,32 | 82,48 |
| 15 | 38,78 | 41,66 |
| 16 | 78,69 | 78,64 |
| 17 | 91,55 | 91,46 |

Fonte: Autora (2019).

A partir da Tabela 5, verifica-se que as corridas 2, 8, 11, 12 e 13 apresentaram as maiores diferenças entre o valor observado e o esperado pelo modelo. Destaca-se que as corridas 11 e 12 foram realizadas com a concentração do agente redutor em seu valor axial mínimo e máximo, respectivamente, e que as duas resultaram em valores observados abaixo do esperado pelo

modelo. Estas diferenças demonstram a incerteza gerada no modelo por conta da concentração do borohidreto de sódio.

A Tabela 6 apresenta os efeitos principais, interação das variáveis independentes e erro padrão para um modelo quadrático. Os dados foram obtidos considerando os erros puros.

Tabela 6. Efeitos estimados do planejamento composto central para erro puro.

| | <i>Efeito</i> | <i>Erro padrão</i> | <i>T (2)</i> | <i>P</i> | <i>-95% Limite de Confiança</i> | <i>+95% Limite de Confiança</i> | |
|---------------------------------|---------------|--------------------|--------------|----------|---------------------------------|---------------------------------|---------------|
| <i>Média/Interação</i> | 91,46 | 0,11 | 811,80 | <0,001 | 90,97 | 91,94 | - |
| <i>NaBH₄ (L)</i> | -16,30 | 0,11 | -153,63 | <0,001 | -16,76 | -15,84 | Significativo |
| <i>NaBH₄ (Q)</i> | -19,20 | 0,12 | -163,72 | <0,001 | -19,71 | -18,70 | Significativo |
| <i>AgNPs (L)</i> | 38,18 | 0,11 | 359,87 | <0,001 | 37,73 | 38,64 | Significativo |
| <i>AgNPs (Q)</i> | -29,23 | 0,12 | -249,17 | <0,001 | -29,73 | -28,72 | Significativo |
| <i>pH (L)</i> | 22,10 | 0,11 | 208,26 | <0,001 | 21,64 | 22,56 | Significativo |
| <i>pH (Q)</i> | -22,36 | 0,12 | -190,63 | <0,001 | -22,87 | -21,86 | Significativo |
| <i>NaBH₄ e AgNPs</i> | 30,56 | 0,14 | 220,91 | <0,001 | 29,97 | 31,16 | Significativo |
| <i>NaBH₄ e pH</i> | -35,24 | 0,14 | -254,75 | <0,001 | -35,84 | -34,65 | Significativo |
| <i>AgNPs e pH</i> | 1,56 | 0,14 | 11,31 | 0,008 | 0,97 | 2,16 | Significativo |

R² = 0,93

Ajuste = 0,83

MS Residual = 167,01

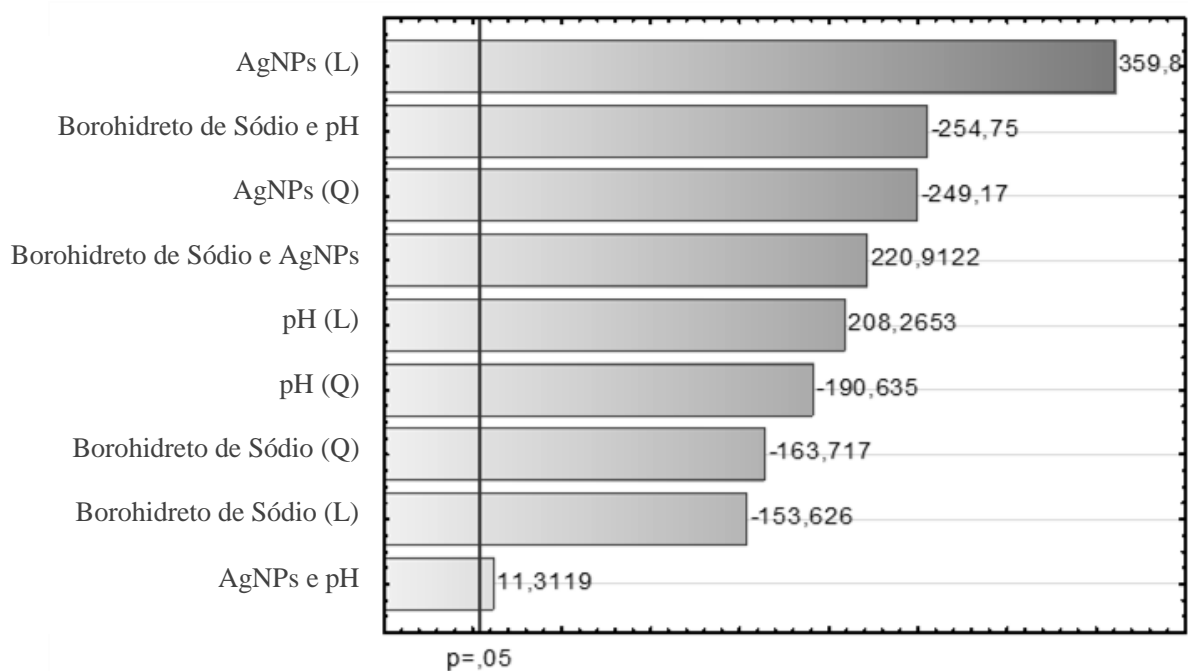
p < 0,05 = significativo (nível de confiança de 95%)

(L) = efeito linear

(Q) = efeito quadrático

Fonte: Autora (2019).

O Diagrama de Pareto apresentado na Figura 4 permite uma avaliação visual dos efeitos dos fatores estudados para obtenção das respostas. As colunas representam a magnitude dos efeitos e a linha transversal representa a magnitude dos efeitos com significado estatístico para p=0,05.

Figura 4. Diagrama de Pareto.

Fonte: Statistica 10 (2019).

Os efeitos demonstrados na Tabela 6 e na Figura 4 são a mudança ocorrida na resposta quando os valores se movem do valor mais baixo (-) para o mais alto (+). Verificou-se que todos os fatores e interações entre estes foram estatisticamente significativos demonstrando que todos têm efeitos relevantes na resposta obtida.

Observa-se que o fator AgNPs, correspondente ao volume de nanopartículas, foi o que influenciou de forma mais significativa o modelo. O efeito positivo da variável indica que o aumento do volume de nanopartículas de um valor mínimo para um valor máximo, gera um incremento da resposta na redução do corante, o que pode ser explicado pela capacidade catalítica destas nanopartículas (MACIEL et al., 2012).

Apesar de o fator AgNPs ter se demonstrado o de maior influência no modelo, quando há a interação entre as AgNPs e o pH sua influência se torna pouco significativa para o resultado final. O aumento do volume de nanopartículas e do pH de síntese destas, de um valor mínimo para um valor máximo, não gera um incremento muito significativo na redução do corante.

Efeitos negativos indicam que a variável em questão, ao passar de um valor mínimo para um valor máximo, gera diminuição da resposta final, como é o caso da concentração do

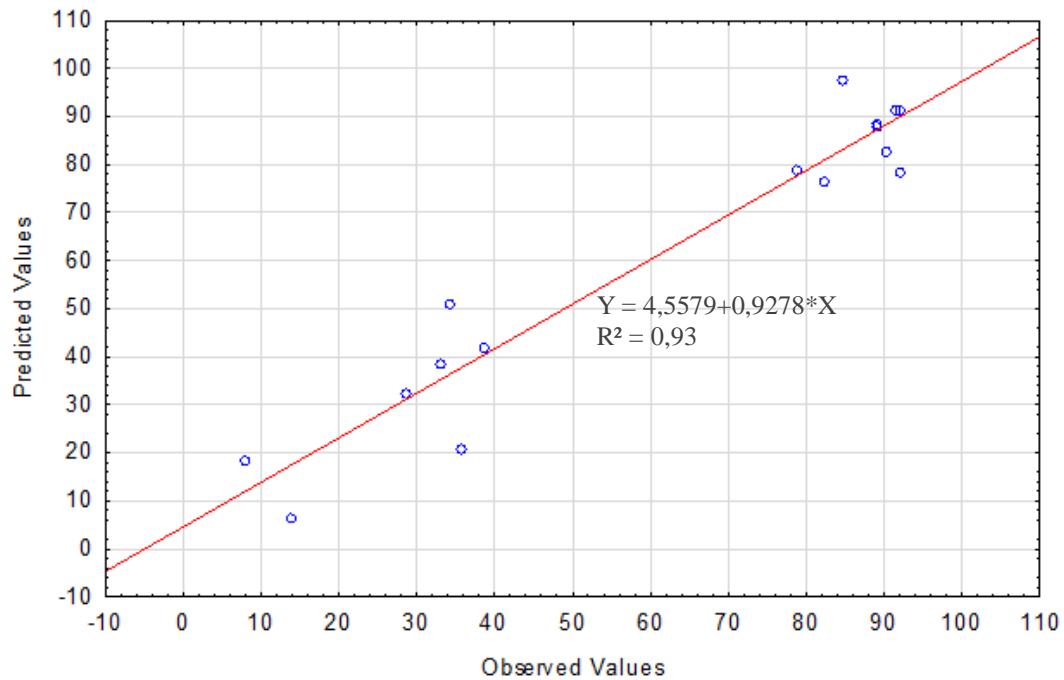
borohidreto de sódio (MACIEL et al., 2012). Valores máximos de borohidreto não são capazes de melhorar a remoção do corante de forma significativa em 60 minutos.

As relações entre o borohidreto de sódio e demais variáveis também foram muito significativas estatisticamente para o modelo. A relação entre o borohidreto e as AgNPs demonstram um aumento da resposta final quando a concentração e volume destes passam juntos de um valor mínimo para um valor máximo. Enquanto que a relação entre o borohidreto e o pH demonstram resultado inverso, o aumento da concentração do borohidreto e do valor de pH para um nível máximo, diminui a resposta final.

Para avaliar se o modelo utilizado para geração dos dados é adequado e ajustado foram avaliados os resíduos e a análise de variância (ANOVA). A análise dos resíduos é fundamental para verificação da qualidade da adequação do modelo porque modelos que deixam resíduos consideráveis não são adequados para tirar conclusões precisas sobre o comportamento dos dados no campo experimental (NOVAES, 2017). A ANOVA é capaz de demonstrar se o modelo apresenta um grau de ajuste apropriado aos resultados encontrados experimentalmente (MACIEL et al., 2012).

O valor do coeficiente de determinação R^2 , demonstrado pelos efeitos estimados, foi de 93%, indicando que o modelo está adequado às respostas observadas (NOVAES et al., 2017). A análise visual do gráfico de resíduos, demonstrado na Figura 5, sugere uma distribuição normal dos dados, ou seja, desvios positivos e negativos estão na mesma proporção e os valores observados estão próximos da reta vermelha.

Figura 5. Distribuição dos resíduos: valores esperados versus valores observados nos experimentos.



Fonte: Statistica 10 (2019).

Tabela 7. Resultados da análise de variância do modelo.

| | Soma quadrática | Graus de liberdade | Média quadrática | F | p |
|-----------------|-----------------|--------------------|------------------|--------|---------|
| Falta de ajuste | 1168,99 | 5 | 233,80 | 6107,3 | < 0,001 |
| Erro puro | 0,08 | 2 | 0,04 | - | - |
| Total | 16194,59 | 16 | - | - | - |

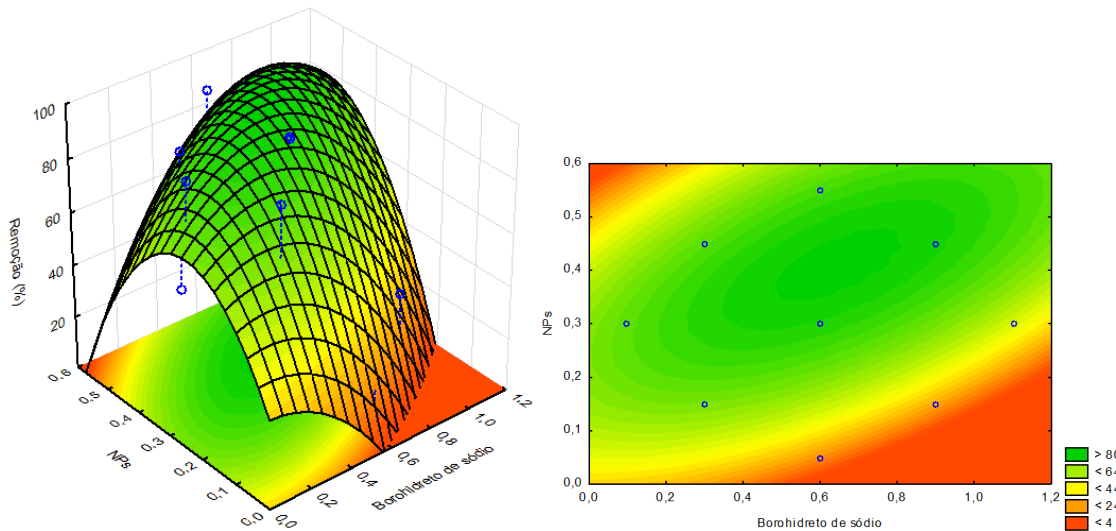
Fonte: Autora (2019).

Com a ANOVA (Tabela 7) foi possível observar que o valor de p na falta de ajuste foi menor que 0,05 demonstrando que a falta de ajuste é significativa no modelo. Também foi observado que a maior parte da variação relacionada aos resíduos é atribuída à falta de ajuste e não ao erro puro demonstrando que o modelo apresenta falta de ajuste.

Os gráficos de superfície resposta, assim como o R^2 , demonstram indícios de que o modelo parece representar bem a relação entre a resposta e os fatores estudados. Estes gráficos são apresentados nas Figuras 6-11 e foram utilizados para determinar as melhores condições para uma máxima redução do corante que é demonstrada pela coloração verde. Para certificar que o

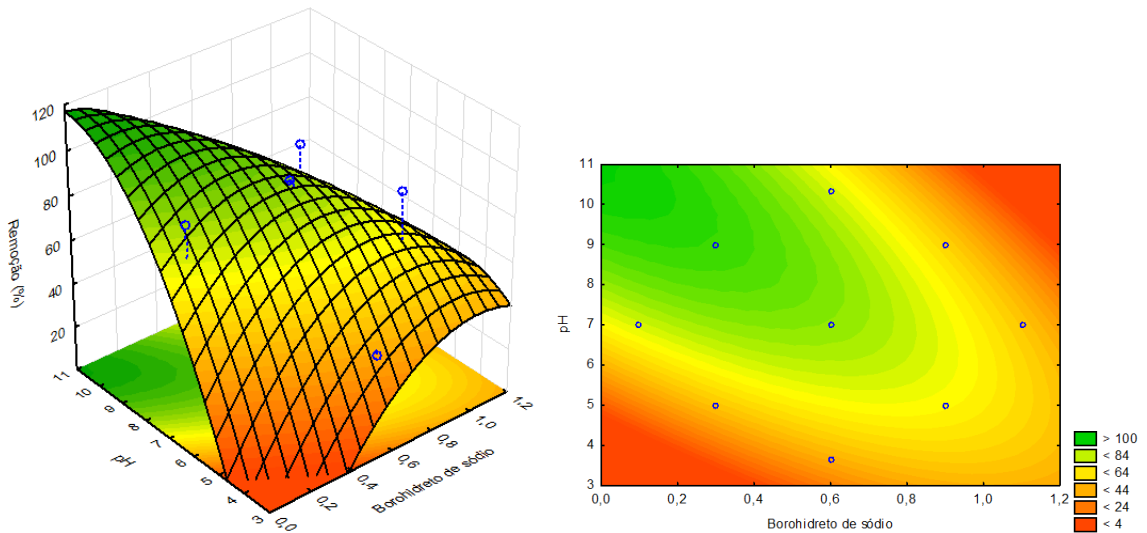
modelo era preditivo, foi realizado um novo experimento usando estas condições ótimas, conforme Tabela 8.

Figuras 6 e 7. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do volume de nanopartículas para o pH no ponto central.



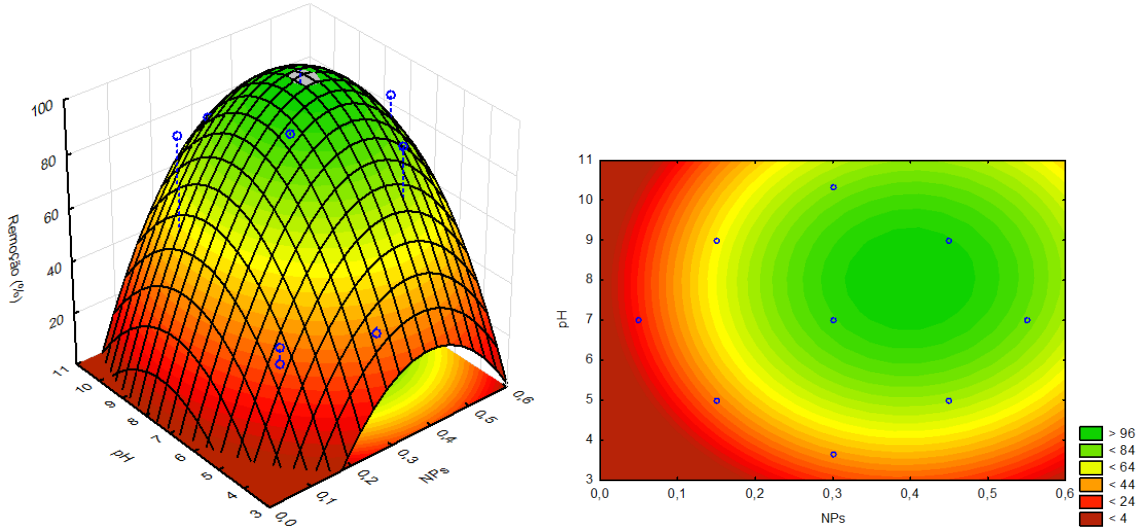
Fonte: Autora (2019).

Figuras 8 e 9. Redução do corante em função da concentração do borohidreto de sódio e do pH de síntese das AgNPs para o volume de nanopartículas no ponto central.



Fonte: Autora (2019).

Figuras 10 e 11. Redução do corante em função do volume de AgNPs e pH de síntese destas para a concentração de borohidreto de sódio no ponto central.



Fonte: Autora (2019).

Tabela 8. Comparação do valor esperado e observado experimentalmente nas condições ótimas de redução do corante.

| Fator | Valor |
|-----------------------------------|----------|
| pH de síntese das AgNPs | 8 |
| Concentração de NaBH ₄ | 0,47 M |
| Volume de AgNPs | 0,397 mL |

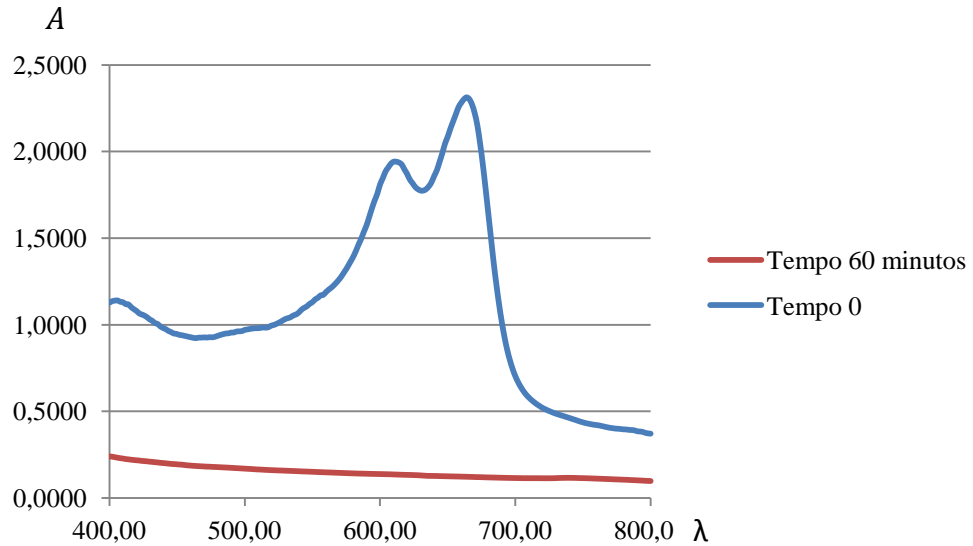
| Remoção do Corante (%) | |
|------------------------|-----------|
| Esperado | Observado |
| 100 | 94,7 |

Fonte: Autora (2019).

O resultado obtido demonstra uma concordância entre o modelo e os resultados esperados visto que esta corrida obteve uma máxima remoção do corante quando comparada as demais realizadas neste estudo. O modelo foi avaliado como preditivo já que o valor esperado se aproxima do valor observado.

A Figura 12 permite a avaliação visual das diferenças de absorbâncias em $\lambda = 665\text{nm}$, nos tempos 0 e 60 minutos, no experimento utilizando as condições ótimas.

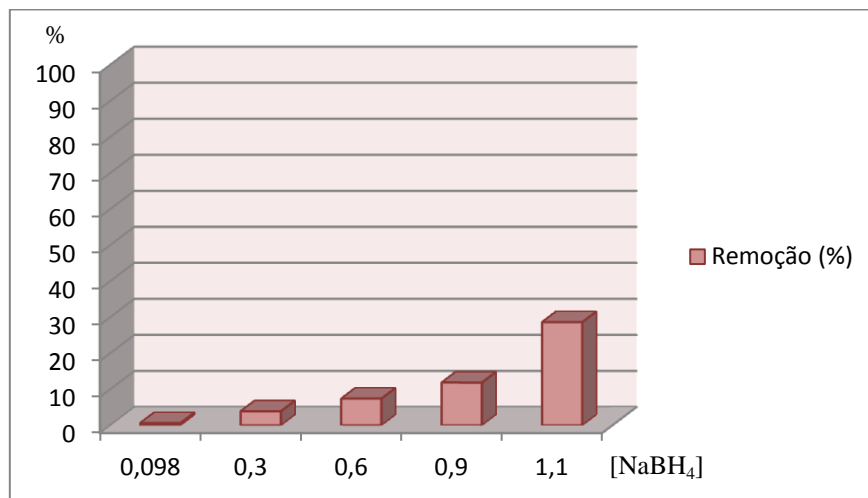
Figura 12. Absorbância versus comprimento de onda no estudo da redução do corante em condições ótimas.



Fonte: Autora (2019).

Para confirmar a capacidade catalítica das AgNPs estabilizadas com ramnolípídeos, foram realizadas corridas sem a presença das AgNPs. A Figura 13 apresenta o gráfico de remoção das nanopartículas em diferentes concentrações de borohidreto de sódio.

Figura 13. Porcentagem de redução do corante observada em função das diferentes concentrações de borohidreto de sódio.



Fonte: Autora (2019).

Foi observado que mesmo em altas concentrações do agente redutor, a redução máxima não passou de 30% em 60 minutos. Demonstra-se que a redução na presença das AgNPs é muito mais eficiente porque estas foram excelentes catalisadoras da reação. Vidhu e Philip (2014) e Bonnia et al. (2016) também observaram um ótimo desempenho das AgNPs como catalisadoras da redução do corante azul de metileno.

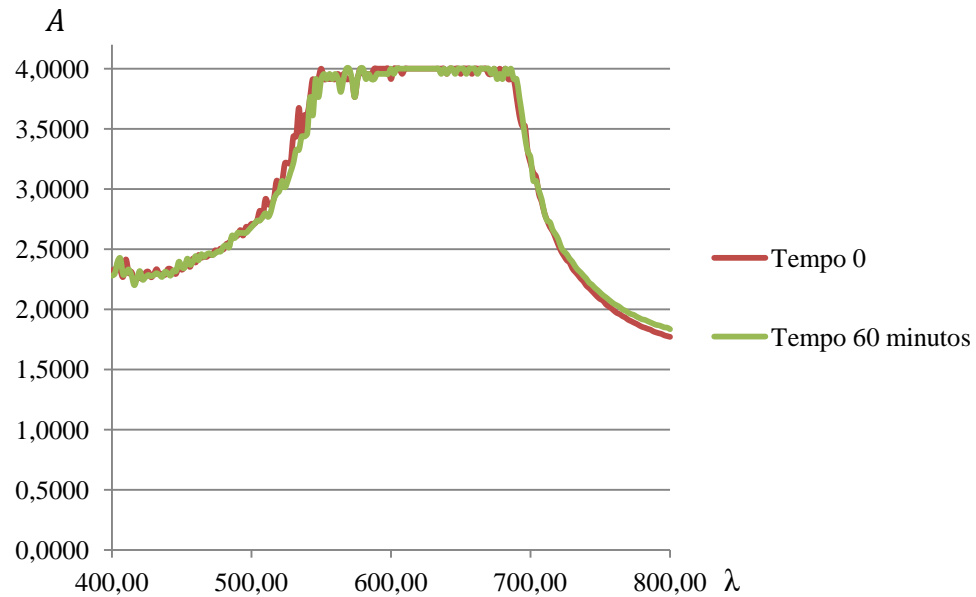
A capacidade catalítica das AgNPs está relacionada ao fato destas ajudarem na transferência de elétrons dos doadores aos receptores, neste caso, do NaBH_4 ao corante azul de metileno. Para que a catálise ocorra, o potencial redox das nanopartículas deve ser encontrado em um valor intermediário entre o potencial redox do doador e do sistema receptor (MALLICK; WITCOMB; SCURRELL, 2006).

O tamanho das AgNPs interfere na capacidade catalítica porque a reação ocorre apenas na superfície dos metais. Um aumento da área superficial disponível, conseqüentemente a redução do tamanho das partículas, aumentará a eficácia do catalisador. Apesar disto, há um tamanho crítico para as nanopartículas na qual abaixo disso ocorre dificuldade de catálise (VIDHU; PHILIP, 2014).

Os ramnolipídeos possuem capacidade de adsorção de corantes em solução aquosa conforme foi demonstrado por Silva (2018). Portanto, a fim de garantir que a melhoria da eficiência de redução foi causada apenas pela capacidade de catálise das AgNPs, foi realizado teste apenas com ramnolipídeos na mesma concentração utilizada na síntese das nanopartículas. A Figura 14 demonstra o gráfico gerado no espectrofotômetro UV-visível na faixa de comprimento de onda 400-800 nm.

Observa-se que utilizando os ramnolipídeos não houve mudanças de absorbância máxima no comprimento de onda 665 nm após um intervalo de tempo de 60 minutos, sugerindo que não houve remoção do corante. Apesar disto, em toda a faixa de comprimento de onda estudada (400-600 nm) houve absorção e posterior saturação entre 558 e 688 nm.

Figura 14. Gráfico de absorvância versus comprimento de onda para a solução composta por corante em solução aquosa e ramnolipídeos.



Fonte: Autora (2019).

5.3. TESTES DE TOXICIDADE

Após um período de exposição de 48h dos indivíduos-teste às soluções, foram verificados, nas amostras sem diluição, se houve ou não diferenças significativas entre o número de organismos imóveis em relação ao controle. Os resultados encontrados foram demonstrados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados de toxicidade das diferentes soluções estudadas.

| Solução | Resultados |
|--|------------|
| 150 µL de ramnolipídeos (10 g/L) em água destilada | Tóxico |
| 69 µL de ramnolipídeos (10 g/L) em água destilada | Tóxico |
| 15 µL de ramnolipídeos (10 g/L) em água destilada | CE50 |
| 400 µL de AgNPs sintetizadas em pH 8 e água destilada | Tóxico |
| Azul de metileno (1mM) em água destilada | Tóxico |
| Solução final em condições ótimas segundo Planejamento Experimental, após procedimentos para remoção do corante e das AgNPs | Tóxico |
| Solução final em condições ótimas segundo Planejamento Experimental, após procedimentos para remoção do corante, das AgNPs e do ramnolipídeo | Tóxico |

Fonte: Autora (2019).

Na solução composta apenas por ramnolipídeos e água destilada, na mesma concentração utilizada no estudo da redução do corante (0,15 g/L), os crustáceos apresentaram sensibilidade aguda com a morte de pelo menos 50% dos indivíduos em 48 horas. A diferença entre o número de organismos imóveis em relação ao controle foi significativa, portanto o resultado foi expresso como tóxico.

Estudo realizado por Gustafsson et al. (2009) testou diferentes concentrações de ramnolipídeo e obteve resultado diferente. Os ramnolipídeos em água, nas concentrações 1, 5 e 50 µg/mL, não apresentaram efeitos negativos sob a sobrevivência ou mortalidade dos crustáceos durante 48 horas.

Testes de toxicidade realizados em soluções com menor concentração de ramnolipídeo em água demonstraram uma concentração letal para 50% dos indivíduos de 0,015 g/L, uma concentração 10 vezes menor que a utilizada nos testes de redução do corante.

Outros trabalhos apresentaram os ramnolipídeos como tóxicos para *Daphnia similis*, como Santos (2013) e Anna et al. (2002). Anna et al. (2002) estudou a toxicidade do ramnolipídeo em concentrações de 0,5; 1; 10; 50 e 100 v/v e demonstrou CL50 de 13,8 ppm (0,0138g/L). O

fato pode ser atribuído à presença de outros fatores de toxicidade, como por exemplo: a quantidade de glicerol e sais, presença de lípases, elastases e proteases.

Na solução composta por água destilada e AgNPs, os crustáceos apresentaram sensibilidade aguda com a morte de 100% dos indivíduos. A diferença entre o número de organismos imóveis em relação ao controle foi significativa, portanto o resultado foi expresso como tóxico para *Daphnia similis*.

A partir do valor de densidade das AgNPs, foi calculada a concentração destas na solução (AMERICAN ELEMENTS, 2019). O valor encontrado de 420 g/L apresentou-se muito acima da concentração do agente tóxico que causa imobilidade a 50% dos organismos expostos (CE50) determinada por Maziero, Rogero e Alemany (2016) e Rogero et al. (2015). A média obtida da CE50, utilizando como organismo-teste a *Daphnia similis*, foi de 4,70 µg/L, demonstrando que os organismos aquáticos apresentam alta sensibilidade às AgNPs.

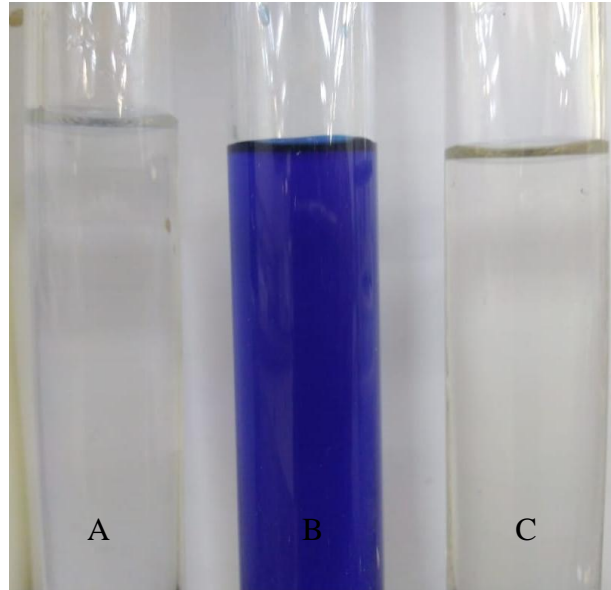
A solução composta apenas por água diluída e corante na concentração 1mM apresentou diferença estatisticamente significativa entre o número de organismos imóveis em relação ao controle. Sendo assim, o resultado foi expresso como tóxico para *Daphnia similis*.

Fungaro et al., (2010) obteve resultados que demonstraram que os crustáceos do gênero *Daphnia* são muito sensíveis ao corante azul de metileno. Foram encontrados valores de concentração do agente tóxico que causa imobilidade a 50% dos organismos expostos (CE 50) de 0,16 mg/L até 0,43 mg/L.

Há relatos de intoxicação animal com o corante azul de metileno. Na espécie humana, bebês intoxicados por azul de metileno apresentaram anemia, urina azulada, tonalidade azulada no nariz e insuficiência renal aguda (COSTA et al., 2016).

Para a realização dos demais testes de toxicidade, foi realizada a remoção das AgNPs da solução. O processo de remoção das AgNPs na solução em condições ótimas obteve um resultado de 75% de remoção. A Figura 15 possibilita a análise visual da coloração da solução final após a remoção das NPs.

Figura 15. Diferentes soluções utilizadas no processo de remoção e redução do corante azul de metileno. (A) Água destilada, (B) água destilada com corante azul de metileno (1mM) e (C) solução após redução do corante e remoção das AgNPs.



Fonte: Autora (2019).

Na solução final que apresentava em sua composição ramnolipídeos, os crustáceos apresentaram sensibilidade aguda, ocorrendo a morte de pelo menos 50% dos indivíduos. A diferença entre o número de organismos imóveis em relação ao controle foi significativa, portanto o resultado foi expresso como tóxico.

Após a remoção do ramnolipídeo, o último teste de toxicidade foi realizado. Neste, os crustáceos também apresentaram sensibilidade aguda com a morte de pelo menos 50% dos indivíduos. A diferença entre o número de organismos imóveis em relação ao controle foi significativa e o resultado foi expresso como tóxico.

Os resultados expressos como tóxicos podem ter sido causados pela elevada concentração de corante, AgNPs e ramnolipídeos. As concentrações utilizadas neste estudo foram muito acima dos valores de CE50 apresentados em outros estudos e discutidos anteriormente.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos neste trabalho, podemos concluir que o tamanho e agregação das AgNPs dependem do pH de sua síntese, e que estas nanopartículas são capazes de diminuir o tempo da reação de redução do corante de forma significativa.

Em relação ao Planejamento Experimental realizado, o modelo apresentou-se adequado e preditivo, com coeficiente de determinação R^2 de 93%, apesar de não ter se demonstrado ajustado pela ANOVA.

A partir da análise da superfície de resposta foi possível demonstrar que, em 60 minutos, a melhor condição para remoção do corante foi em pH 8, volume de AgNPs em 0,4mL e concentração de borohidreto de sódio em 0,45M.

Em relação à toxicidade, as soluções finais obtidas foram expressas como tóxica para *Daphnia Similis*. A toxicidade foi causada pela elevada concentração de AgNPs, ramnolípídeos e azul de metileno sendo necessária a realização de novos estudos para diminuição das concentrações iniciais ou diluição do efluente, antes do despejo em corpos d'água.

REFERÊNCIAS

ABDEL-MAWGOUD, Ahmad Mohammad; LÉPINE, François; DÉZIEL, Eric. Rhamnolipids: diversity of structures, microbial origins and roles. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 86, n. 5, p.1323-1336, 25 mar. 2010. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-010-2498-2>.

AKSU, Zümriye; DÖNMEZ, Gönül. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 40, n. 7, p.2443-2454, jun. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2004.09.013>.

ALENCAR, Maria Simone de Menezes et al. Análise da produção científica brasileira sobre nanotecnologia e saúde. **Revista Eletrônica de Comunicação, Informação e Inovação em Saúde**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.1-11, 3 abr. 2017. Instituto de Comunicacao e Informacao Cientifica e Tecnologica em Saude. <http://dx.doi.org/10.29397/reciis.v11i1.1199>.

ALMEIDA, Erica Janaina Rodrigues de. **Avaliação da Toxicidade de Corantes Azóicos por Allium cepa e Estudo da Capacidade de Remoção destes Compostos em Solução por Saccharomyces cerevisiae**. 2010. 86 f. TCC (Graduação) - Curso de Ecologia, Unesp, Rio Claro, 2010.

AMERICAN ELEMENTS. **Silver Nanoparticles**. Disponível em: <<https://www.americanelements.com/silver-nanoparticles-7440-22-4>>. Acesso em: 22 out. 2019

ANASTAS, Paul; EGHBALI, Nicolas. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chem. Soc. Rev.**, [s.l.], v. 39, n. 1, p.301-312, 2010. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b918763b>.

ANNA, L.m. Santa et al. Production of biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA 1 isolated in oil environments. **Brazilian Journal Of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 19, n. 2, p.159-166, abr. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0104-66322002000200011>.

ARAÚJO, Jaciara Silva de. **Produção de Rhamnolipídeos por Pseudomonas Aeruginosa AP029-GLVIIA Usando Glicose como Substrato e Aplicações**. 2018. 93 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

ASHARANI, P V et al. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. **Nanotechnology**, [s.l.], v. 19, n. 25, p.255102-255110, 14 maio 2008. IOP Publishing. <http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/19/25/255102>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA (ABIQUIM), **Corantes e pigmentos - O segmento no Brasil**, c2018. Disponível em: http://www.abiquim.org.br/corantes/cor_industria.asp . Acesso em: 20 set. 2018.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12713**: Ecotoxicologia aquática — Toxicidade aguda — Método de ensaio com *Daphnia* spp (Crustacea, Cladocera). Rio de Janeiro: Abnt, 2016.

AZEVEDO, Ana Paula G. B. et al. ANÁLISE DO POTENCIAL MERCADOLÓGICO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA DE ORIGEM BIOLÓGICA POR MAPEAMENTO DE TECNOLOGIAS E PRODUTOS EM DOCUMENTOS DE PATENTES. **Cadernos de Prospecção**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.431-440, 30 set. 2015. Universidade Federal da Bahia. <http://dx.doi.org/10.9771/s.cprosp.2015.008.048>.

BONNIA, N.n. et al. Green **Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using ‘Polygonum Hydropiper’ and Study its Catalytic Degradation of Methylene Blue**. **Procedia Chemistry**, [s.l.], v. 19, p.594-602, 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.058>.

BRILLAS, Enric; MARTÍNEZ-HUITLE, Carlos A.. Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. An updated review. **Applied Catalysis B: Environmental**, [s.l.], v. 166-167, p.603-643, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.11.016>.

CHAVES, Aníger Teresa Costa Aranha. **Otimização do processo de produção de biodiesel etílico do óleo de girassol (*Helianthus annuus*) aplicando um delineamento composto central rotacional (DCCR)**. 2008. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2008.

CHEQUER, Farah Maria Drumond et al. **Textile Dyes: Dyeing Process and Environmental Impact. Eco-friendly Textile Dyeing And Finishing**, [s.l.], p.151-176, 16 jan. 2013. InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/53659>.

CHRISTIE, R. M. **Environmental Aspects of Textile Dyeing**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2007. 256 p.

CONAMA, Resolução n° 357, de 17 de março de 2005. **Dispõe Sobre a Classificação dos Corpos de Água e Diretrizes Ambientais para o seu Enquadramento, bem como Estabelece as Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes, e dá Outras Providências, do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasil.

CONAMA. Resolução n° 430, de 13 de maio de 2011. **Dispõe Sobre As Condições e Padrões de Lançamento de Efluentes, Complementa e Altera A Resolução no 357, de 17 de Março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente**. Brasil.

CORRÊA, Nivea Fernanda. **Estudo das Propriedades Ópticas de Colóides de Nanopartículas de Prata Dispersas em BMLBF4**. 2015. 61 f. Tese (Doutorado) - Curso de Materiais, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2015.

COSTA, Carla Regina et al. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, [s.l.], v. 31, n. 7, p.1820-1830, 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422008000700038>.

COSTA, Samay Zillmann Rocha et al. Intoxicação por azul de metileno (cloreto de metiltionínio) em gato. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.145-148, nov. 2016.

COSTA, Siddhartha Georges Valadares Almeida; NITSCHKE, Márcia; CONTIERO, Jonas. Produção de biotenssoativos a partir de resíduos de óleos e gorduras. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.l.], v. 28, n. 1, p.34-38, mar. 2008. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612008000100007>.

DALLAGO, Rogério Marcos; SMANIOTTO, Alessandra; OLIVEIRA, Luiz Carlos Alves de. Resíduos sólidos de curtumes como adsorventes para a remoção de corantes em meio aquoso. **Química Nova**, [s.l.], v. 28, n. 3, p.433-437, jun. 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422005000300013>.

DE ALMEIDA, Érica Janaina Rodrigues; DILARRI, Guilherme; CORSO, Carlos Renato. **A indústria têxtil no Brasil: Uma revisão dos seus impactos ambientais e possíveis tratamentos para os seus efluentes**, 2014.

DEMIRBAS, Ayhan. Agricultural based activated carbons for the removal of dyes from aqueous solutions: A review. **Journal Of Hazardous Materials**, [s.l.], v. 167, n. 1-3, p.1-9, 15 ago. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.12.114>.

DIVYAPRIYA, Govindaraj; NAMBI, Indumathim.; SENTHILNATHAN, Jaganathan. Nanocatalysts in Fenton Based Advanced Oxidation Process for Water and Wastewater Treatment. **Journal Of Bionanoscience**, [s.l.], v. 10, n. 5, p.356-368, 1 out. 2016. American Scientific Publishers. <http://dx.doi.org/10.1166/jbns.2016.1387>.

DOGAN, Dogan; TÜRKDEMİR, Haluk. Electrochemical oxidation of textile dye indigo. **Journal Of Chemical Technology & Biotechnology**, [s.l.], v. 80, n. 8, p.916-923, 2005. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.1262>.

DOTTO, Guilherme Luiz. **Biossorção de Corantes Alimentícios Utilizando Nanopartículas de Spirulina Platensis**. 2012. 144 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2012.

DURÁN, Nelson et al. Nanotoxicologia de nanopartículas de prata: toxicidade em animais e humanos. **Química Nova**, [s.l.], p.206-213, 2018. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170318>.

EDISON, Thomas Nesakumar Jebakumar Immanuel; LEE, Yong Rok; SETHURAMAN, Mathur Gopalakrishnan. Green synthesis of silver nanoparticles using *Terminalia cuneata* and its catalytic action in reduction of direct yellow-12 dye. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [s.l.], v. 161, p.122-129, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.02.044>.

ELZEY, Sherrie; GRASSIAN, Vicki H.. Agglomeration, isolation and dissolution of commercially manufactured silver nanoparticles in aqueous environments. **Journal Of Nanoparticle Research**, [s.l.], v. 12, n. 5, p.1945-1958, 21 out. 2009. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11051-009-9783-y>.

FABRÍCIO, Tailena Naiara R. et al. Produção de biossurfactante e biodegradação no cultivo de *Geobacillus Stearothermophilus* com corante azul de metileno. In: **CONNEPI**, 5., 2010, Fortaleza.

FARIAS, Charles B.b. et al. Synthesis of silver nanoparticles using a biosurfactant produced in low-cost medium as stabilizing agent. **Electronic Journal Of Biotechnology**, [s.l.], v. 17, n. 3, p.122-125, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.04.003>.

FERREIRA, Hadma Sousa; RANGEL, Maria do Carmo. Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 7, p.1860-1870, 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000700033>.

FLECK, Leandro. **Aplicação do Controle Estatístico de Processos ao Tratamento de um Efluente Têxtil por Eletrofloculação**. 2011. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnologia em Gestão Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

FUNGARO, Denise A. et al. Adsorption of methylene blue from aqueous solution on zeolitic material and the improvement as toxicity removal to living organisms. **Orbital: The Electronic Journal Of Chemistry**, Campo Grande, v. 2, n. 3, p.235-247, 21 jul. 2010.

GARCIA, Marcus Vinicius Dias. **Síntese, caracterização e estabilização de nanopartículas de prata para aplicações bactericidas em têxteis**. 2011. 89 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Unicamp, Campinas, 2011.

GHODKE, Shailesh A. et al. **Advanced Engineered Nanomaterials for the Treatment of Wastewater**. Handbook Of Nanomaterials For Industrial Applications, [s.l.], p.959-970, 2018. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-813351-4.00055-9>.

GICHEVA, Gospodinka; YORDANOV, Georgi. Removal of citrate-coated silver nanoparticles from aqueous dispersions by using activated carbon. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 431, p.51-59, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.04.039>.

GUARATINI, Cláudia C. I.; ZANONI, Maria Valnice B.. **Corantes Têxteis**. Química Nova, Araraquara, v. 1, n. 23, p.71-78, 2000.

GUSTAFSSON, S. et al. On the control of HAB species using low biosurfactant concentrations. **Harmful Algae**, [s.l.], v. 8, n. 6, p.857-863, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.hal.2009.04.002>.

GUPTA, V.k.; SUHAS. Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 90, n. 8, p.2313-2342, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.11.017>.

GUZMÁN, Maribel G.; DILLE, Jean; GODET, Stephan. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. **International Journal Of Chemical And Biomolecular Engineering**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.104-111, 2009.

HEBEISH, A. et al. Nanostructural Features of Silver Nanoparticles Powder Synthesized through Concurrent Formation of the Nanosized Particles of Both Starch and Silver. **Journal Of Nanotechnology**, [s.l.], v. 2013, p.1-10, 2013. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/201057>.

HESSEL, C. et al. **Guidelines and legislation for dye house effluents**. Journal Of Environmental Management, [s.l.], v. 83, n. 2, p.171-180, abr. 2007. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2006.02.012>.

ISHIGAMI, Yutaka et al. Colloid chemical effect of polar head moieties of a rhamnolipid-type biosurfactant. **Langmuir**, [s.l.], v. 9, n. 7, p.1634-1636, jul. 1993. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/la00031a006>.

JORGE, Isabella Ribeiro; TAVARES, Fernanda Peres; SANTOS, KÁssia Graciela dos. Remoção do Corante Azul de Metileno no Tratamento de Efluentes por Adsorção em Bagaço de Cana de Açúcar. **Anais do Xxxvii Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados**, [s.l.], p.1-10, out. 2015. Editora Edgard Blücher. <http://dx.doi.org/10.5151/enemp2015-le-730>.

JYOTI, Kumari; SINGH, Ajeet. Green synthesis of nanostructured silver particles and their catalytic application in dye degradation. **Journal Of Genetic Engineering And Biotechnology**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.311-317, dez. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.09.005>.

KANAMADI, R.D.; AHALYA, N.; RAMACHANDRA, T.V. **Low cost biosorbents for dye removal**. CES Technical Report, 113 (2006).

KAUSHIK, P; A MALIK. Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. **Environment International**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.127-141, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.010>.

KIRAN, G. Seghal et al. Biosurfactants as green stabilizers for the biological synthesis of nanoparticles. **Critical Reviews In Biotechnology**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.354-364, 22 jan. 2011. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2010.539971>.

KITAMOTO, Dai et al. Self-assembling properties of glycolipid biosurfactants and their potential applications. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, [s.l.], v. 14, n. 5, p.315-328, out. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2009.05.009>.

KHAN, Sana; MALIK, Abdul. Degradation of Reactive Black 5 dye by a newly isolated bacterium *Pseudomonas entomophila* BS1. **Canadian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 62, n. 3, p.220-232, mar. 2016. Canadian Science Publishing. <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2015-0552>.

KOSARIC, Naim. **Biosurfactants: Production, Properties, Applications**. Ontario: Marcel Dekker, Inc, 1993.

KRONEMBERGER, Frederico de Araujo. **Produção de Rhamnolipídios por *Pseudomonas Aeruginosa* PA1 em Biorreator com Oxigenação por Contactor de Membranas**. 2007. 160 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Ufrj, Rio de Janeiro, 2007.

KUMAR, C. Ganesh. Synthesis of biosurfactant-based silver nanoparticles with purified rhamnolipids isolated from *Pseudomonas aeruginosa* BS-161R. **Journal Of Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.1061-1068, jul. 2010. Korean Society for Microbiology and Biotechnology. <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1001.01018>.

KUNZ, Airton et al. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, [s.l.], v. 25, n. 1, p.78-82, fev. 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000100014>.

LANG, S.; WULLBRANDT, D.. Rhamnose lipids - biosynthesis, microbial production and application potential. **Applied Microbiology And Biotechnology**, [s.l.], v. 51, n. 1, p.22-32, 27 jan. 1999. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s002530051358>.

LÓPEZ, M.j. et al. Decolorization of industrial dyes by ligninolytic microorganisms isolated from composting environment. **Enzyme And Microbial Technology**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.42-45, dez. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.035>

LOURITH, N.; KANLAYAVATTANAKUL, M. Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids. **International Journal Of Cosmetic Science**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.255-261, ago. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00493.x>.

MACIEL, Renan Almeida et al. Desidratação osmótica de filés de pirarucu (Arapaima gigas). **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.618-629, 30 jul. 2012. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). <http://dx.doi.org/10.3895/s1981-36862012000100001>.

MALLICK, Kaushik; WITCOMB, Mike; SCURRELL, Mike. Silver nanoparticle catalysed redox reaction: An electron relay effect. **Materials Chemistry And Physics**, [s.l.], v. 97, n. 2-3, p.283-287, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.08.011>.

MANENTI, Diego Ricieri. **Tratamento de Efluente Têxtil Utilizando o Processo Foto-Fenton**. 2011. 158 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Unioeste, Toledo, 2011.

MARIANO, Danielly Chargas de Oliveira. **Caracterização estrutural e físico-química dos biossurfactantes produzidos por uma cepa de Burkholderia kururiensis obtida por engenharia metabólica**. 2012. 77 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

MATHIAS, Francielle Tatiana; ROMANO, Marco Aurelio; ROMANO, Renata Marino. Avaliação dos Efeitos Toxicológicos e Ambientais de Nanopartículas de Sais de Prata. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s.l.], v. 35, n. 2, p.187-193, abr. 2013.

MAZIERO, Joana da Silva; ROGERO, Sizue Ota; ALEMANY, Adair. Estudo ecotoxicológico da nanopartícula de prata em *Daphnia similis*. **Journal Of The Health Sciences Institute**, [s.i.], v. 3, n. 34, p.133-139, 31 ago. 2016.

MELO, Celso Pinto de; PIMENTA, Marcos. **Nanociências e Nanotecnologia**. Parcerias Estratégicas, [s.l.], n. 18, p.09-21, ago. 2004.

MEZOHEGYI, Gergo et al. Towards advanced aqueous dye removal processes: A short review on the versatile role of activated carbon. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 102, p.148-164, jul. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.02.021>.

MULFINGER, Lorraine et al. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. **Journal Of Chemical Education**, [s.l.], v. 84, n. 2, p.322-325, fev. 2007. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ed084p322>.

MULLER, Markus Michael et al. Rhamnolipids—Next generation surfactants? **Journal Of Biotechnology**, [s.l.], v. 162, n. 4, p.366-380, dez. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.05.022>.

MULLIGAN, Catherine N.. Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution**, [s.l.], v. 133, n. 2, p.183-198, jan. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.009>.

MULLIGAN, Catherine N.. Recent advances in the environmental applications of biosurfactants. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, [s.l.], v. 14, n. 5, p.372-378, out. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2009.06.005>.

MONTEIRO, Safi Amaro. **Caracterização Molecular e Estrutural de Biosurfactantes Produzidos por Pseudomonas aeruginosa UFPEDA 614**. 2007. 118 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

NAGEL-HASSEMER, Maria Eliza et al. Processo UV/H₂O₂ como pós-tratamento para remoção de cor e polimento final em efluentes têxteis. **Química Nova**, [s.l.], v. 35, n. 5, p.900-904, 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422012000500007>.

NCHEMI. **Nanotecnologia**. Disponível em: <<http://nchemi.com/nanotecnologia/>>. Acesso em: 21 out. 2019.

NITSCHKE, Marcia; COSTA, Siddhartha G.v.a.o.; CONTIERO, Jonas. Rhamnolipids and PHAs: Recent reports on Pseudomonas-derived molecules of increasing industrial interest. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 46, n. 3, p.621-630, mar. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2010.12.012>.

NOVAES, C. G. et al. Otimização de Métodos Analíticos Usando Metodologia de Superfícies De Resposta - Parte I: Variáveis de Processo. **Revista Virtual de Química**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.1-32, 5 abr. 2017.

PALANISAMY, Prakash; RAICHUR, Ashok M.. Synthesis of spherical NiO nanoparticles through a novel biosurfactant mediated emulsion technique. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.199-204, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2008.06.008>.

PEIXOTO, F.; MARINHO, G.; RODRIGUES, K. **Corantes Têxteis: uma revisão**. Holos, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Natal, vol. 5, pp. 98-106, 2013.

PETER-VARBANETS, Maryna et al. Decentralized systems for potable water and the potential of membrane technology. **Water Research**, [s.l.], v. 43, n. 2, p.245-265, fev. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.030>.

PIRÔLLO, Maria Paula Santos. **Estudo da Produção de Biossurfactantes Utilizando Hidrocarbonetos**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas (microbiologia Aplicada), Unesp, Rio Claro, 2006.

PLAZA, Grażyna; CHOJNIK, Joanna; BANAT, Ibrahim. Biosurfactant Mediated Biosynthesis of Selected Metallic Nanoparticles. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 15, n. 8, p.13720-13737, 8 ago. 2014. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms150813720>

QU, Xiaolei; ALVAREZ, Pedro J.j.; LI, Qilin. Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment. **Water Research**, [s.l.], v. 47, n. 12, p.3931-3946, ago. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2012.09.058>.

RANDHAWA, Kamaljeet K. Sekhon; RAHMAN, Pattanathu K. S. M.. Rhamnolipid biosurfactants - past, present, and future scenario of global market. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 5, p.1-7, 2 set. 2014. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00454>.

RAVEENDRAN, Poovathinthodiyil; FU, Jie; WALLEN, Scott L.. Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. **Journal Of The American Chemical Society**, [s.l.], v. 125, n. 46, p.13940-13941, nov. 2003. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja029267j>.

REBELLO, Sharrel et al. Surfactants: toxicity, remediation and green surfactants. **Environmental Chemistry Letters**, [s.l.], v. 12, n. 2, p.275-287, 20 abr. 2014. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-014-0466-2>.

REDDY, A. Satyanarayana et al. Synthesis of silver nanoparticles using surfactin: A biosurfactant as stabilizing agent. **Materials Letters**, [s.l.], v. 63, n. 15, p.1227-1230, jun. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matlet.2009.02.028>.

ROGERO, Sizue O. et al. Toxicidade de Nanopartículas de Prata (NPAg): Estudo Comparativo entre Suspensões de NPAg Obtidas por Diferentes Métodos. In: **Workshop de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais**, 4., 2015, Campina Grande: Sociedade Latino Americana de Biomateriais, Engenharia de Tecidos e Órgãos Artificiais, 2015. p. 1 - 10.

ROYER, Betina. **Remoção de Corantes Têxteis Utilizando Casca de Semente de Araucaria Angustifolia como Biossorvente**. 68 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SAHA, Jayanta et al. A novel green synthesis of silver nanoparticles and their catalytic action in reduction of Methylene Blue dye. **Sustainable Environment Research**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.245-250, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.serj.2017.04.003>.

SALAZAR-BRYAM, Ana María. **Aproveitamento de Glicerol Residual como Fonte de Carbono para Produção de Rannolipídios por Linhagens de Pseudomonas aeruginosa**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), Unesp, Rio Claro, 2016.

SANTOS, Danilo Mamede da Silva. **Diversidade de bactérias tolerantes ao naftaleno das areias da praia de Suape-PE e produção simultânea, por Pseudomonas aeruginosa, de rannolipídeo e polihidroxialcanoato**. 2013. 88 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Civil, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

SANTOS, Graziely Cristina dos. **Análise Comparativa da Capacidade de Remoção do Corante Direct Blue 71 em Solução pelos Fungos Phanerochaete chrysosporium e Aspergillus oryzae**. 2011. 119 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada), Unesp, Rio Claro, 2011.

SARRAI, Abd et al. Using Central Composite Experimental Design to Optimize the Degradation of Tylosin from Aqueous Solution by Photo-Fenton Reaction. **Materials**, [s.l.], v. 9, n. 6, p.428-439, 30 maio 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ma9060428>.

SHARMA, Virender K.; YNGARD, Ria A.; LIN, Yekaterina. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. **Advances In Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 145, n. 1-2, p.83-96, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2008.09.002>.

SIGNORI, Aline Maria. **Desenvolvimento de uma Nova Metodologia para Preparação de Nanopartículas de Prata Estabilizadas pela Polietilenoimina Funcionalizada e Aplicação em Catálise**. 2010. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

SILVA, Vinícius Luiz da. **Estudo do metabolismo dos ramnolipídios produzidos por Pseudomonas aeruginosa**. 2018. 167 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas (microbiologia Aplicada), Unesp, Rio Claro, 2018.

SRIKAR, Sista Kameswara et al. Green Synthesis of Silver Nanoparticles: A Review. **Green And Sustainable Chemistry**, [s.l.], v. 06, n. 01, p.34-56, 2016. Scientific Research Publishing, Inc., <http://dx.doi.org/10.4236/gsc.2016.61004>.

SOUZA, Gustavo Duarte de et al. Prata: Breve histórico, propriedades e aplicações. **Educação Química**, México, v. 24, n. 1, p.14-16, jan. 2013.

THAKKAR, Kaushik N.; MHATRE, Snehit S.; PARIKH, Rasesh Y.. Biological synthesis of metallic nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.257-262, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.002>.

TRAIWATCHARANON, Pranlekha; TIMSORN, Kriengkri; WONGCHOOSUK, Chatchawal. Effect of pH on the Green Synthesis of Silver Nanoparticles through Reduction with Pistiastratiotes L. Extract. **Advanced Materials Research**, [s.l.], v. 1131, p.223-226, dez. 2015. Trans Tech Publications. <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1131.223>.

VERMA, Akshaya Kumar; DASH, Rajesh Roshan; BHUNIA, Puspendu. A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters. **Journal Of Environmental Management**, [s.l.], v. 93, n. 1, p.154-168, jan. 2012. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.09.012>.

VIDHU, V.k.; PHILIP, Daizy. Catalytic degradation of organic dyes using biosynthesized silver nanoparticles. **Micron**, [s.l.], v. 56, p.54-62, jan. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micron.2013.10.006>.

XIE, Yingwei; YE, Ruqiang; LIU, Honglai. Synthesis of silver nanoparticles in reverse micelles stabilized by natural biosurfactant. **Colloids And Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s.l.], v. 279, n. 1-3, p.175-178, maio 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.12.056>.

XIN, Qi et al. Silver nanoparticles affect the neural development of zebrafish embryos. **Journal Of Applied Toxicology**, [s.l.], v. 35, n. 12, p.1481-1492, 15 maio 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.3164>.

ZHANG, Xi-feng et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 17, n. 9, p.1534-1568, 13 set. 2016. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms17091534>.

YOCHIKAWA, Julio Tadao Hirata. **Avaliação da Atividade anti-Xanthomonas citri de ramnolipídios Produzidos por Pseudomonas aeruginosa**. 2016. 45 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas, Unesp, Rio Claro, 2016.