UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Instituto de Biociências
Câmpus do Litoral Paulista

Implementação de reator de leito fixo empacotado com nanopartículas de prata micológicas imobilizadas em alginato para desinfecção da água contaminada com bactérias potencialmente patogênicas

Carolina Assis da Silva

São Vicente - SP

2024

Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista
Praça Infante D. Henrique s/nº - CEP 11330-900 - São Vicente (SP) - Brasil
Tel. (13) 3569-7100 - Fax (13) 3569-7146 - coordenadoria@clp.unesp.br

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

CÂMPUS DO LITORAL PAULISTA

Implementação de reator de leito fixo empacotado com nanopartículas de prata micológicas imobilizadas em alginato para desinfecção da água contaminada com bactérias potencialmente patogênicas

Mestranda: Carolina Assis da Silva

Orientadora: Profª Drª Cristiane Angélica Ottoni

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Firmani Perna

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus do Litoral Paulista, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Biodiversidade de Ambientes Costeiros.

São Vicente - SP

2024

D229i

da Silva, Carolina Assis

Implementação de reator de leito fixo empacotado com nanopartículas de prata micológicas imobilizadas em alginato para desinfecção da água contaminada com bactérias potencialmente patogênicas / Carolina Assis da Silva. -- São Vicente, 2024

63 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, São Vicente

Orientadora: Cristiane Angélica Ottoni

Coorientador: Rafael Firmani Perna

1. Bionanopartículas. 2. Encapsulação em alginato. 3. Reator de leito fixo PBR. 4. Escherichia coli. 5. Tratamento de água. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

Agradecimentos

Agradeço à minha família por me apoiarem em todas as minhas decisões e sempre estarem por perto para me ampararem emocionalmente.

À Caterina que sempre me apoiou e incentivou, estando comigo em todos os momentos me mantendo sã e estável emocionalmente,

À Profª. Drª. Cristiane Angélica Ottoni por ter me apoiado e orientado durante esse período de graduação,

Aos meus amigos e amigas que estiveram por perto durante todo o período de faculdade,

À Universidade Estadual Júlio Mesquita Filho (UNESP) por me proporcionar a infraestrutura para meu experimento,

Agradeço pelo auxílio financeiro, Processo nº 2022/05716-3, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP),

Ao IEAMar pela infraestrutura e oportunidade de aprendizado,

Ao Instituto de Pesquisa Tecnológica do Estado de São Paulo (IPT) pelo material biológico cedido,

Ao Banco de Microrganismos Aidar & Kutner (BMAK) do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP) pelas microalgas cedidas,

E por fim, agradeço a mim, a todo o meu percurso e aos desafios que me propus para fazer este trabalho.

Resumo

O saneamento básico e o acesso à água potável são desafios críticos para países em desenvolvimento. Até 2025, a escassez de água pode afetar 50 % da população global. O Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) 6 busca melhorar o saneamento e o acesso à água, mas no Brasil, mais de 40 milhões de pessoas ainda não têm acesso a água potável, e 100 milhões não têm tratamento adequado de esgoto. Diante dessa situação, a busca por métodos sustentáveis e econômicos para a purificação da água motivou a investigação da aplicação de nanopartículas de prata (AgNP), produzidas biologicamente a partir do fungo filamentoso *Aspergillus niger* IBCLP20 encapsuladas em alginato de cálcio, em um reator de leito fixo (PBR) para tratar água contaminada com *Escherichia coli* IPT245 e *Pseudomonas aeruginosa* IPT365. As AgNP são amplamente reconhecidas por suas propriedades antibacterianas, que se devem à sua capacidade de interagir diretamente com as membranas celulares bacterianas e gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em danos ao DNA, RNA e outras biomoléculas essenciais. A obtenção das AgNP por métodos biológicos é vantajosa em comparação com métodos químicos, pois oferece uma alternativa mais ecológica e de baixo custo. Para a realização do estudo, as bio-AgNP foram caracterizadas utilizando técnicas de microscopia eletrônica de transmissão (MET), espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial zeta (Pζ) e índice de polidispersão (PDI). Os resultados mostraram que as nanopartículas têm formato esférico com um tamanho médio de 37,4 ± 67,4 nm e tamanho hidrodinâmico de 80 nm. A carga zeta das partículas foi medida em -38,56 mV, e o índice de polidispersão foi 0,215. Subsequentemente, as bio-AgNP foram encapsuladas em alginato de cálcio e testadas em um reator PBR para avaliar sua aplicabilidade na desinfecção de água contaminada. Foram examinados parâmetros operacionais, incluindo densidade do afluente (10^3, 10^4 e 10^5 UFC·ml^{-1}), temperaturas (25 ºC, 30 ºC, 37 ºC e 40 ºC), massas de catalisador (50 %, 75 % e 100 %) e vazões volumétricas (1,0, 4,0, 7,0 e 10,0 ml·min^{-1}). A atividade antibacteriana das bio-AgNP$_{AC}$ contra *E. coli* IPT245 foi observada em todas as massas de catalisador testadas, enquanto o efeito bactericida sobre *P. aeruginosa* IPT365 foi constatado durante 8 h apenas com 100 % da massa de catalisador. A temperatura não teve impacto significativo na aplicação do sistema, e a vazão volumétrica ideal foi determinada como 4,0 ml·min^{-1}. Os resultados confirmaram que o sistema de reator de leito fixo PBR com bio-AgNP encapsuladas é uma solução promissora para a desinfecção de água. A manutenção da atividade antibacteriana após a imobilização das nanopartículas e a análise detalhada dos parâmetros operacionais sustentam a viabilidade desse método para aplicações ambientais.

Palavras-chave: Bionanopartículas, encapsulação em alginato, reator de leito fixo PBR, *Escherichia coli*, tratamento de água.

Abstract

Basic sanitation and access to drinking water are critical challenges for developing countries. By 2025, water scarcity could affect 50 % of the global population. Sustainable Development Goal (SDG) 6 seeks to improve sanitation and access to water, but in Brazil, more than 40 million people still do not have access to drinking water, and 100 million do not have adequate sewage treatment. Given this situation, the search for sustainable methods and cost-effective methods for water purification has motivated the investigation of biologically silver nanoparticles (bio-AgNP) application, produced from the filamentous fungus *Aspergillus niger* IBCLP20 encapsulated in calcium alginate, in a fixed bed reactor (PBR) to treat water contaminated with *Escherichia coli* IPT245 and *Pseudomonas aeruginosa* IPT365. AgNP are widely recognized for their antimicrobial properties, which are due to their ability to interact directly with bacterial cell membranes and generate reactive oxygen species (ROS), resulting in damage to DNA, RNA and other essential biomolecules. Obtaining AgNP by biological methods is advantageous compared to chemical methods, as it offers a more environmentally friendly and low-cost alternative. To carry out the study, the bio-AgNP were characterized using transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), zeta potential (Pζ) and polydispersity index (PDI) techniques. The results showed that the nanoparticles have a spherical shape with an average size of 37.4 ± 67.4 nm and a hydrodynamic size of 80 nm. The zeta charge of the particles was measured at -38.56 mV, and the polydispersity index was 0.215. Subsequently, the bio-AgNP were encapsulated in calcium alginate and tested in a PBR reactor to evaluate their applicability in the disinfection of contaminated water. Operational parameters including influent concentrations (10^3, 10^4 and 10^5 CFU ml^{-1}), temperatures (25 ºC, 30 ºC, 37 ºC and 40 ºC), catalyst masses (50 %, 75 % and 100 %) and volumetric flow rates (1.0, 4.0, 7.0 and 10.0 ml min^{-1}) were examined. The antimicrobial activity of bio-$AgNP_{AC}$ against *E. coli* IPT245 was observed in all catalyst masses tested, while the bactericidal effect against *P. aeruginosa* IPT365 was observed for 8 h only with 100% of the catalyst mass. Temperature had no significant impact on system, and the optimum volumetric flow rate was determined to be 4.0 ml min^{-1}. The results confirmed that the PBR fixed bed reactor system with encapsulated bio-AgNP is a promising solution for water disinfection. The maintenance of antimicrobial activity after nanoparticle immobilization and the detailed analysis of the operational parameters support the feasibility of this method for environmental applications.

Keywords: Bionanoparticles, immobilization in alginate, packed-bed reactor (PBR), *Pseudomonas aeruginosa*, water treatment.

Sumário

Índice de Figuras..... 9
Índice de Tabelas..... 11
Lista de Siglas..... 12
1. Introdução..... 13
2.1. Saneamento Básico..... 16
2.2. Doenças disseminadas pela água..... 17
2.3. Nanotecnologia..... 18
2.4. Biossíntese de nanopartículas de prata (AgNP)..... 19
2.5. Imobilização de AgNP..... 20
2.6. Atividade antibacteriana das AgNP..... 20
2.7. Aplicação de AgNP no tratamento de água..... 22
3. Objetivos..... 24
3.1. Geral..... 24
3.2. Específicos..... 24
4. Metodologia..... 24
4.1. Microrganismos..... 24
4.1.1. Fungos..... 24
4.1.2. Bactérias..... 24
4.2. Biossíntese..... 25
4.3. Encapsulação com alginato de cálcio..... 25
4.4. Detecção e caracterização das AgNP na forma coloidal (bio-AgNP) e encapsuladas (bio-$AgNP_{AC}$)..... 26
4.4.1. UV-visível (UV-vis)..... 26
4.4.2. Análise de tamanho de partícula e distribuição das AgNP..... 26
4.4.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)..... 26
4.4.4. Espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF)..... 26
4.5. Implementação do reator de leito fixo empacotado com bio-$AgNP_{AC}$..... 27
4.5.1. Reator de leito fixo (PBR)..... 27
4.5.2 Avaliação dos parâmetros operacionais em PBR..... 29
4.5.3 Ensaios de estabilidade operacional..... 29
4.6. Análise dos dados..... 29
5. Resultados e discussão..... 29
5.1. Biossíntese e caracterização das bio-AgNP e bio-$AgNP_{AC}$..... 29
5.2. Implementação do reator de leito fixo empacotado com bio-$AgNP_{AC}$..... 34
5.2.1. Influência da densidade do afluente..... 34
5.2.2. Temperatura operacional..... 39

5.2.3. Massa de catalisador.....43
5.2.4. Vazão volumétrica de alimentação.....47
5.2.5. Estabilidade operacional no reator de leito fixo (PBR).....52
6. Conclusões..... 53
7. Referências..... 54

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura do reator de leito fixo (PBR): (1) Afluente; (2) bomba peristáltica; (3) entrada do afluente; (4) Leito fixo preenchido com encapsulados (Alginato, bio-AgNP$_{AC}$, $AgNO_3$, ou Pérolas de vidro); (5) retirada da amostra; (6) entrada de água do banho termostatizado; (7) saída de água do banho termostatizado..... **28**

Figura 2. Fungo Aspergillus niger IBCLP20 utilizado para a biossíntese de AgNP (a); bio-AgNP obtidas após a incubação do extrato do fungo IBCLP20 na presença de $AgNO_3$ (b)..... **30**

Figura 3. Ilustração do primeiro indício de formação da nanopartícula através das técnicas de espectrometria UV-visível (UV-vis), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (adaptado de Zwar *et al*., 2021)..... **31**

Figura 5. Esferas de bio-AgNP$_{AC}$..... **34**

Figura 6. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1} (a); 10^4 UFC·ml^{-1} (b); e 10^5 UFC·ml^{-1} (c)..... **36**

Figura 7. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1} (a); 10^4 UFC·ml^{-1} (b); e 10^5 UFC·ml^{-1} **(c)**..... **38**

Figura 8. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado em 25 ºC (a); 30 ºC (b); 37 ºC (c); e 40 ºC (d), fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **41**

Figura 9. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado em 25 ºC (a); 30 ºC (b); 37 ºC (c); e 40 ºC (d), fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **42**

Figura 10. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido em 50 % (a); 75 % (b); e 100 % (c) com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **45**

Figura 11. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido em 50 % (a); 75 % (b); e 100 % (c) com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **46**

Figura 12. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 1,0 ml·min^{-1} (a); 4,0 ml·min^{-1} (b); 7,0 ml·min^{-1}

(c); e 10,0 ml·min^{-1} (d) para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **49**

Figura 13. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 1,0 ml·min^{-1} (a); 4,0 ml·min^{-1} (b); 7,0 ml·min^{-1} (c); e 10,0 ml·min^{-1} (d) para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}..... **51**

Índice de Tabelas

Tabela 1. Caracterização das bio-AgNP..... **32**

Tabela 2. Determinação da concentração de prata na solução coloidal de bio-AgNP e bio-$AgNP_{AC}$ usando a técnica de espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF)..... **33**

Lista de Siglas

$AgNO_3$ - Nitrato de prata

AgNP - Nanopartícula de prata

bio-AgNP - Nanopartícula de prata de origem fúngica solução coloidal

bio-$AgNP_{AC}$ - Nanopartícula de prata de origem fúngica encapsuladas em alginato de cálcio

DLS - Espalhamento dinâmico de luz

ED-XRF - Espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia

Ff - Fungo filamentoso

IPT245 - *Escherichia coli* cepa IPT245

IPT365 - *Pseudomonas aeruginosa* cepa IPT365

MET - Microscopia eletrônica de Transmissão

MGLP - Malte glicose peptona e extrato de levedura

NP - Nanopartícula(s)

PBR - Reator de leito fixo empacotado

PDI - Índice de polidispersão

Pζ - Potencial Zeta

SPR - Ressonância plasmônica de superfície

TSA - *Trypticase Soy Agar*

TSB - *Trypticase Soy Broth*

1. Introdução

Os reatores de leito fixo têm se destacado como uma tecnologia altamente aplicável e promissora para o tratamento de água e esgoto, especialmente em países em desenvolvimento (Araujo, 2014). Esses reatores operam com partículas sólidas ou catalisadores imobilizados que promovem reações químicas e biológicas, permitindo a remoção de contaminantes em um processo contínuo (Mohapatra *et al.*, 2021; Chafi *et al.*, 2016).

A principal vantagem dos reatores de leito fixo (PBR) reside na maximização do contato entre o fluido a ser tratado e as partículas de suporte, o que potencializa a aplicabilidade do processo de tratamento (Fogler, 2012). Essa tecnologia não apenas permite o tratamento de grandes volumes de água, mas também apresenta menores custos operacionais e de manutenção em comparação com sistemas mais complexos, como os fotorreatores (Yusuf *et al.*, 2024), possuindo a facilidade de ampliação para escala industrial (Antonelli *et al.*, 2021).

A simplicidade de construção e a possibilidade de escalabilidade dos reatores (PBR) são fatores que os tornam interessantes para aplicação em regiões onde os recursos financeiros e tecnológicos são limitados (Chang *et al.*, 2024; Araujo, 2014). Eles podem ser facilmente adaptados para atender a diferentes demandas de tratamento, acomodando uma ampla gama de cargas de poluentes e oferecendo soluções viáveis para o reuso de água e a mitigação de impactos ambientais. Essa adaptabilidade é especialmente relevante em contextos tropicais, onde as condições climáticas e a disponibilidade de matéria-prima podem variar significativamente (Araujo, 2014).

Diante da crescente preocupação com a qualidade da água potável, a utilização de tecnologias avançadas no tratamento de água tem se tornado uma prioridade. A presença de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, representa uma ameaça significativa à saúde pública, especialmente em regiões onde o acesso à água tratada é escasso (Trata Brasil, 2020).

Escherichia coli é uma bactéria que, embora encontrada no trato gastrointestinal de humanos e animais, pode ser um indicador de contaminação fecal quando detectada em água. Certos sorotipos de *E. coli,* como o O157:H7, são

patogênicos e podem causar doenças graves, incluindo diarreia enterohemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica (Bhardwaj *et al.*, 2021). A contaminação de água potável por *E. coli* é uma preocupação global, com a presença deste microrganismo frequentemente associada a surtos de doenças transmitidas pela água e a altos índices de mortalidade infantil em países com sistemas de saneamento deficientes (Wolf *et al.*, 2018). Por outro lado, *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa que pode ser encontrada em ambientes variados, incluindo água, solo e superfícies de hospitais. Essa bactéria é conhecida por sua capacidade de causar infecções em indivíduos com sistema imunológico comprometido, como aqueles com fibrose cística, queimaduras ou imunossupressão (Sarangi, 2011). *P. aeruginosa* pode provocar infecções graves, como pneumonia, infecções do trato urinário e septicemia, e sua presença na água potável representa um alto risco para a saúde pública (Anversa *et al.*, 2019).

As abordagens convencionais de desinfecção, como a aplicação de cloro e dióxido de cloro, têm sido amplamente utilizadas, mas apresentam limitações, incluindo a formação de subprodutos tóxicos e a diminuição da atividade bactericida em águas com alta carga orgânica (Song *et al.*, 2016).

Os nanomateriais (NM) têm se destacado como uma área promissora de pesquisa, especialmente no campo da biomedicina e das ciências dos materiais. Entre eles, as nanopartículas de prata (AgNP) são amplamente reconhecidas por suas propriedades antibacterianas, aplicáveis a uma variedade de patógenos (Liao *et al.*, 2019 ; Mumtaz *et al.*, 2023). As AgNP podem ser obtidas tanto por métodos químicos, utilizando reagentes comerciais, e físicos, com a decomposição de materiais, quanto por síntese biológica, que emprega agentes redutores de origem natural, como bactérias, fungos filamentosos ou plantas (Ottoni *et al.*, 2017; Ndaba *et al.*, 2022). Estudos recentes têm demonstrado que as AgNP sintéticas podem apresentar uma boa aplicabilidade por conta da propriedade antibacteriana do NM, mas as AgNP biológicas muitas vezes exibem vantagens adicionais, como menor toxicidade ambiental e maior biocompatibilidade (da Silva *et al.* 2022). Além disso, os processos biológicos frequentemente resultam em partículas com tamanhos e formas mais uniformes, o que pode melhorar a aplicabilidade das AgNP no tratamento de água (Patar *et al.*, 2022). Este cenário tem fomentado o interesse na

exploração dessas nanopartículas para aplicações em áreas como desinfecção, medicina e agricultura, onde a resistência a antibacterianos é uma preocupação crescente.

A ação antibacteriana das AgNP é atribuída à liberação de íons de prata ($Ag^{+)}$, que interagem diretamente com as membranas celulares bacterianas e o DNA, resultando na morte dos microrganismos (Durán *et al.*, 2016; Tripathi & Goshisht, 2022). No entanto, a aglomeração e a potencial toxicidade das AgNP, bem como a necessidade de reutilização econômica e sustentável, são desafios que precisam ser abordados.

Deste modo, a utilização de AgNP imobilizadas em compostos não tóxicos, como por exemplo o alginato, utilizado como agente de encapsulação (Arroyo *et al.,* 2020; Ayinde et *al.*, 2020) e aplicado como recheio em reator de leito fixo para o tratamento de água potável por processo contínuo é uma alternativa bastante inovadora e promissora frente aos processos convencionais existentes, com a possibilidade de reduzir a aglomeração e controlar a liberação de íons de prata, potencializando sua atividade antibacteriana contra bactérias potencialmente patogênicas como *E. coli* e *P. aeruginosa* (Alavi e Rai, 2019). Ao se utilizar reator de leito fixo (PBR), além de ter maior contato entre o fluido e as NP, possui a possibilidade de aumentar o volume de afluente a ser tratado mediante uso de leitos fixos conectados em série (Fogler, 2012).

Além disso, a pesquisa neste campo se alinha aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da Agenda 2030 da ONU, especialmente o Objetivo 6, que visa garantir a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos. A implementação de tecnologias que melhorem o acesso à água potável de qualidade é crucial para a saúde pública, especialmente em países como o Brasil, onde a infraestrutura de saneamento ainda é insuficiente para atender às demandas da população.

Em resumo, a utilização de reatores de leito fixo, combinada com a nanotecnologia com o uso de bio-AgNP encapsuladas, representa uma abordagem inovadora e sustentável para o tratamento de água contaminada. Essa estratégia não só aprimora a aplicabilidade do processo de desinfecção, mas também contribui para a promoção de saúde pública e para o cumprimento dos compromissos

internacionais relacionados ao acesso à água potável e saneamento. A continuidade da pesquisa nessa área é fundamental para o desenvolvimento de soluções que atendam às necessidades de tratamento de água, especialmente em regiões vulneráveis, criando um impacto positivo na qualidade de vida da população.

2. Revisão Bibliográfica

Nesta revisão bibliográfica, foram abordados temas cruciais interligados ao saneamento básico e à saúde pública, destacando as doenças disseminadas pela água e a relevância de soluções inovadoras. Em particular, a nanotecnologia e a biossíntese de nanopartículas de prata (AgNP), enfatizando sua imobilização e atividade antibacteriana. Por fim, discutiremos as aplicações das AgNP no tratamento de água. Visando contribuir para a compreensão das possibilidades oferecidas pela nanotecnologia na melhoria da qualidade da água.

2.1. Saneamento Básico

O saneamento básico e higiene inadequados são recorrentes em países em desenvolvimento, cerca de 844 milhões de pessoas em todo o mundo ainda não possuem acesso à água potável segura (Bharti *et al.*, 2019), o que acarreta um grande risco à saúde humana devido à disseminação de doenças infecciosas (Bharti *et al.*, 2019; Wolf *et al.*, 2018). Aproximadamente 50.000 mortes de crianças menores de cinco anos (Wolf *et al.,* 2018; Bhardwaj *et al.*, 2021) são referenciadas anualmente em decorrência de doenças disseminadas principalmente por contaminação de águas de consumo humano (Mebrahtom *et al.*, 2022). Portanto, com o desafio do aumento populacional, a urbanização não planejada e com a pressão da produção de alimentos, a escassez de água potável pode chegar a 50 % até o ano de 2025 (Fukuda *et al.*, 2019; United Nations, 2023). Em acréscimo, cerca de 2,4 bilhões de pessoas serão afetadas com a escassez de água até 2050 (ONU, 2023). Deste modo, existe uma grande necessidade em se desenvolver tecnologias inovadoras, sustentáveis e economicamente viáveis para o tratamento da água (Gilca *et al.*, 2020; Laha *et al.*, 2019).

Por ser um fator social e ambiental definitivo da saúde pública, o saneamento básico está incluso entre os 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e

nas 169 metas da Agenda 2030 proposta pela Organização das Nações Unidas (ONU), que almejam solucionar problemáticas mundiais como a pobreza, fome, doenças, desigualdades, degradação ambiental, esgotamento de recursos naturais, entre outras, até o ano de 2030 (UNICEF. WHO, 2017; Carvalho *et al.,* 2020).

De acordo com a OMS/UNICEF (UNICEF. WHO, 2017) mais de 2 bilhões de pessoas não possuem instalações de saneamento básico adequadas (Kresch e Schneider, 2020), e, desta maneira, o ODS 6 da Agenda 2030 almeja assegurar a disponibilidade e gestão sustentável da água e saneamento para todos. Este é um dos maiores desafios globais de extrema relevância e o seu cumprimento, poderá auxiliar no cumprimento das demais metas da Agenda, relacionadas à pobreza, saúde e educação (Carvalho *et al*., 2020).

O Brasil possui grandes dificuldades para atingir o ODS 6. De acordo com Borelli (2020), no ano de 2019, cerca de 83,62% da população teve acesso ao serviço de tratamento de água, 53,15% ao serviço de esgoto e 58,06% possuíam tratamento de esgoto. Isso deixa mais de 40 milhões de pessoas sem acesso à água potável e mais de 100 milhões sem tratamento adequado do esgoto. Em adição, ainda há grande perda de água durante a sua distribuição. Diante deste panorama, parece improvável que o Brasil cumpra o ODS 6 até o ano de 2030, uma vez que, milhões de pessoas ainda não têm acesso à água tratada e à coleta de esgoto, contribuindo para a poluição e doenças no país (Trata Brasil, 2020).

2.2. Doenças disseminadas pela água

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que doenças que possuem sua disseminação pela água como a cólera, diarreia, gastroenterite viral, febre tifoide, salmonella e giardíase, matam anualmente mais de 2 milhões de pessoas (Bhardwaj *et al.,* 2021; WHO, 2022). De acordo com a portaria de consolidação MS nº 5 do Ministério da Saúde (Brasil Ministério da Saúde, 2017) a água disponível para consumo humano deve ser analisada quanto a ausência de coliformes totais e presença de *Escherichia coli* em 100 ml. Quanto à bactéria *Pseudomonas aeruginosa* que pode ser encontrada tanto em solo quanto na água e matéria orgânica em decomposição, tem habilidades de adaptação em ambientes com baixa quantidade de nutrientes, desta forma mesmo a espécie não sendo incluída na

análise de rotina da qualidade de água potável, ainda é possível encontrar o microrganismo em abastecimentos públicos, fazendo parte da análise do controle de água para uso em piscinas (Guida *et al.*, 2016; Anversa *et al.*, 2019).

Dentro desse contexto, os agentes potencialmente patogênicos *E.coli*, referenciado como um dos principais organismos indicadores de contaminação fecal além de uma das mais relevantes espécies do grupo de coliformes termotolerantes (Bhardwaj *et al.*, 2021).

Enquanto a *P. aeruginosa*, bactéria patogênica oportunista que vive na maior parte das superfícies, sendo amplamente encontrada na água utilizando material orgânico para sua alimentação e assim tendo potencial para causar infecções generalizadas e sépticas gerando um resultado fatal ao hospedeiro (Sarangi, 2011), são agentes tratados a partir de processos de saneamento da água pertencentes à tecnologia atual com desinfetantes comuns como o cloro e dióxido de cloro para remoção dos microrganismos contaminantes, porém, também podem oxidar contaminantes antropogênicos como a matéria orgânica da água (Song *et al.*, 2016).

A morfologia bacteriana influência na atividade antibacteriana de desinfecção devido a características distintas atribuídas à composição da parede celular das bactérias gram-positivas (por exemplo, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*) e gram-negativas (por exemplo, *E. coli* e *P. aeruginosa*). As bactérias gram-negativas possuem uma parede celular de camada dupla quimicamente complexa, auxiliando na interação para acessar nutrientes essenciais, porém possuindo menor resistência mecânica, enquanto as bactérias gram-positivas apresentam uma parede celular de camada única comparativamente mais espessa facilitando sua sobrevivência em condições adversas (Bahcelioglu *et al.*, 2020; Song *et al.*, 2016).

2.3. Nanotecnologia

Para a desinfecção da água, a nanotecnologia oferece novas possibilidades promissoras. As nanopartículas (NP), definidas como materiais com uma ou mais dimensões variando entre 1 e 100 nm (ISO, 2015), têm sido amplamente empregadas em diversos campos, como medicina, agricultura e meio ambiente (Khan *et al.*, 2021). Elas podem ser sintetizadas por duas abordagens principais: "Top down" (síntese física) e "Bottom up" (síntese química e biológica), cada uma

apresentando suas próprias vantagens e limitações (Ndaba *et al.*, 2022).

A síntese física envolve a quebra de materiais a granel para obter NP, permitindo uma produção rápida, mas frequentemente resultando em altas concentrações de impurezas, tamanhos, formas variáveis e custos elevados (Harish *et al*., 2023; Ndaba *et al.*, 2022). Em contraste, os métodos de síntese química, incluindo técnicas sol-gel, precipitação e hidrotérmicas, permitem um controle preciso sobre o tamanho e a morfologia da NP, mas podem representar preocupações de toxicidade ambiental devido ao uso de reagentes perigosos (Ahmed *et al.*, 2024).

2.4. Biossíntese de nanopartículas de prata (AgNP)

A síntese biológica de NP, também conhecida como síntese verde, tem ganhado destaque recentemente devido à sua abordagem ecológica e custo reduzido (Patar *et al.*, 2022). Além disso, seus benefícios incluem baixa ou inexistente toxicidade, reprodutibilidade do processo, facilidade na ampliação de escala e a produção de formas bem definidas (Chopra *et al.*, 2022 ; Singh *et al.*, 2020). Essa técnica utiliza organismos unicelulares ou pluricelulares, como bactérias, actinobactérias, algas e fungos filamentosos (Ff), ou seus subprodutos, como extratos, que têm sido amplamente relatados na literatura (Salem, 2023).

Os Ff são organismos promissores para a síntese biológica de NP devido principalmente à facilidade no cultivo e manutenção em laboratório (Neethu *et al*., 2019). Além disto, estes microrganismos apresentam elevada tolerância e capacidade em reduzir metais, incluindo os pesados a escalas nanométricas. As NP geradas apresentam maior biocompatibilidade em comparação às NP comerciais (Zainab *et al.*, 2023; Sonawane *et al.,* 2022). A síntese extracelular de AgNP por Ff, ocorre pela exposição do filtrado fúngico ao nitrato de prata ($AgNO_3$) formando prata básica (Ag^0) em escala nanométrica (Ameen *et al.*, 2023).

As NP de prata de origem fúngica (bio-AgNP), são um dos nanomateriais biogênicos mais produzidos, devido a sua reconhecida aplicação como agente antibacteriano (Jeevanandam *et al.*, 2022). A liberação de íons de prata (Ag^+) varia com base em fatores como tamanho de partícula, composição química, configuração de experimentos e condições da água. No entanto, a liberação de Ag^+ afeta tanto o

meio ambiente quanto a vida útil do material (WHO, 2017; Rosa *et al.*, 2016; USEPA, 2018).

2.5. Imobilização de AgNP

Todavia, as NP, incluindo as AgNP, apresentam uma tendência à aglomeração. A aglomeração pode desencadear alterações nas propriedades físico-químicas dos referidos compostos, podendo assim, interferir em suas aplicações. Portanto, a imobilização de AgNP e outras NP, impede a aglomeração e viabiliza em muitos casos a sua reutilização. Existem diversos materiais utilizados como agentes imobilizantes, dentre eles o gel de alginato.

O alginato de sódio é referenciado como um excelente material para imobilização, principalmente por ser um agente imobilizante isento de toxicidade (Alavi e Rai, 2019). A imobilização em alginato permite a obtenção de partículas sólidas facilmente separáveis do meio reacional por filtração, sendo a principal vantagem dos sistemas catalíticos heterogêneos e permitem aplicação em reatores de leito fixo (PBR) para conversão contínua de reagentes. Contudo, a principal limitação da imobilização em alginato e do uso de reatores de leito fixo é a transferência de massa, a qual pode limitar a velocidade da reação (Pettignano *et al.*, 2019).

A utilização de AgNP imobilizadas em alginato ou em outros agentes imobilizantes é promissora para diversos processos de desinfecção, incluindo o associado a descontaminação de águas para consumo humano contaminadas por agentes patogênicos. O suporte imobilizante possui a função de restringir a liberação de Ag^{+} e, também, minimiza os potenciais efeitos nocivos associados à lixiviação de AgNP coloidais em suspensão nos cursos d'água. Além disso, as propriedades das AgNP são mantidas por um maior tempo viabilizando assim, a sua reutilização (Mazumder *et al.*, 2019; Agnihotri *et al.*, 2019).

2.6. Atividade antibacteriana das AgNP

Os íons de prata liberados pelas nanopartículas de prata (AgNP) têm um papel crucial na atividade antibacteriana. Em nanopartículas com menos de 10 nm, a atividade antibacteriana é principalmente atribuída à própria nanopartícula, enquanto

em partículas maiores, o efeito predominante é mediado pelos íons de prata (Durán *et al.*, 2016; Corrêa, 2024). Os principais alvos do material nanoestruturado foram claramente identificados como a ruptura da membrana celular e a alteração do DNA, sendo as espécies reativas de oxigênio (ROS) os principais agentes responsáveis por esses efeitos (Durán *et al.*, 2016).

Estes íons (Ag^+) interagem diretamente com a membrana celular bacteriana, que é carregada negativamente. Esta interação promove a acumulação das nanopartículas na superfície celular, causando alterações na permeabilidade da membrana plasmática. As AgNP provocam a ruptura da membrana, comprometendo a integridade celular e resultando na liberação de componentes intracelulares essenciais (Tripathi e Goshisht, 2022; Agnihotri *et al.*, 2019). Além disso, as AgNP geram espécies reativas de oxigênio (ROS), como radicais de hidroxila (OH^-), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e superóxido (O_2), que induzem estresse oxidativo e causam danos adicionais à célula, incluindo a deterioração de proteínas e lipídios (Bhardwaj *et al.*, 2021; Mazumder *et al*., 2019).

Os Ag^+ também são capazes de interagir com o DNA e proteínas bacterianas. Eles interferem na replicação do DNA e na transcrição, além de desativar enzimas essenciais, como a RNA polimerase e a DNA girase, e afetar a síntese proteica ao modificar grupos funcionais de aminoácidos (Mumtaz *et al.*, 2023). Este efeito genotóxico é acompanhado pela inibição da transdução de sinais e bloqueio de processos celulares críticos, resultando na morte bacteriana.

Outrossim, as propriedades físico-químicas das AgNP, como tamanho, forma e estabilidade, influenciam sua atividade antibacteriana. AgNP menores e com formas específicas, como as triangulares, seguidas das esféricas mostraram maior atividade bactericida em comparação com outras formas (Liao *et al.*, 2019 ; Mumtaz *et al.*, 2023).

Conforme o desafio apresentado, o efeito bactericida das AgNP é resultado da combinação de sua interação direta com a membrana celular bacteriana interrompendo sua funcionalidade, e a produção de ROS causando desnaturação ou dano de DNAs, RNAs e outras biomoléculas. Desta forma, as AgNP detêm um grande potencial ao serem aplicadas no controle de infecções microbianas e em

sistemas associados ao tratamento de água (Bhardwaj *et al.*, 2021; Luukkonen *et al*., 2022; Hu *et al*., 2021; Ko *et al.*, 2021; Mazumder *et al.*, 2019).

2.7. Aplicação de AgNP no tratamento de água

A toxicidade deste NM em sua forma sintética pode afetar ambientes aquáticos, causando efeitos deletérios em diferentes níveis tróficos (Agnihotri *et al.*, 2019), visto que a bioacessibilidade de Ag^{+} coloidal é maior, apresentando assim maiores riscos à saúde a longo prazo (Rosa *et al.*, 2016).

AgNP comerciais são frequentemente introduzidas no ambiente aquático por meio de efluentes industriais e estações de tratamento de águas residuais. Agências reguladoras em todo o mundo têm sido desafiadas a regular o descarte de AgNP e estabelecer concentrações máximas permitidas no meio ambiente, alimentos e água potável. O limite superior para prata na água potável é definido com um valor máximo de 0,1 $mg \cdot l^{-1}$ nos EUA, Austrália e Suíça, enquanto a Alemanha e o Brasil têm limites de 0,08 $mg \cdot l^{-1}$ e 0,05 $mg \cdot l^{-1}$, respectivamente (WHO, 2011; Brasil Ministério da Saúde, 2006).

Em contrapartida, as AgNP de origem biológica (bio-AgNP) também começam a ser referenciadas como potenciais materiais a serem utilizados neste segmento (Patar *et al.*, 2022). Estudos recentes relacionados a utilização de AgNP em tratamento de águas contaminadas por patógenos reportam uma melhor aplicabilidade em sistemas operados com este nanomaterial imobilizado em diferentes suportes. Liu *et al.* (2021) otimizaram a tecnologia de ponto de uso (POU) imobilizando AgNP comerciais em papel de filtro de celulose modificado com ácido lipóico. De acordo com os autores, os sistemas exibiram excelente atividade bactericida contra *E. coli* e *Staphylococcus aureus,* sendo que a qualidade da água resultante atendeu aos padrões de água potável da OMS. Bharti *et al.* (2019) utilizaram um reator de leito fixo (FBR) recheado com AgNP comerciais imobilizadas em tubos capilares de vidro. A vazão, densidade inicial de agente patogênico contaminante e o volume do leito foram os parâmetros avaliados. Nas melhores condições obtidas, este sistema provou ser altamente aplicável para a desinfecção da água da torneira para uma faixa de densidade específica (10^{3}-10^{5} $UFC \cdot ml^{-1}$) de *E. coli* MTCC 443.

Mazumder *et al.* (2019) estudaram AgNP biossintetizada por extratos da folha de *Ocimum sanctum* (tulsi), imobilizada em superfície de vidro usando (3-Aminopropil) trimetoxissilano (APTES), para o tratamento de água contaminada pela bactéria *S. aureus* na densidade inicial de 10^6 UFC·ml^{-1}. Ao término da imobilização, as AgNP apresentaram morfologia esférica e tamanho de 12,09 nm, com ótimas propriedades antibacterianas. Foi avaliada a possibilidade de reutilização da AgNP imobilizada, já que o nanomaterial inibiu a sobrevivência microbiana em até 80 % (determinado por DO) após 2 h de tratamento. Esse nanomaterial imobilizado foi lavado e, após seco, reutilizado em novos ciclos para avaliação de seu desempenho. No quinto ciclo, o material inibiu 50 % da atividade bacteriana em virtude da liberação lenta de íons de prata decorrente da imobilização. Os resultados mostraram potencial de reutilização do nanomaterial, tornando-o mais econômico e sustentável devido a sua origem biológica.

A crise de saneamento e a falta de acesso à água potável destacam a urgência de soluções inovadoras e sustentáveis para enfrentar os desafios de saúde pública e desenvolvimento sustentável. A nanotecnologia, especialmente através das AgNP, oferece um potencial significativo para a desinfecção da água destinada ao consumo humano. Métodos como a biossíntese de nanomateriais proporcionam uma abordagem ecológica e econômica, alinhando-se aos princípios de sustentabilidade. Vale ressaltar que a utilização do sistema com reator não substitui todas as fases de tratamento de água; sua aplicação foca na fase final, atualmente realizada por cloro e dióxido de cloro, garantindo a eliminação de contaminantes (Song *et al.*, 2016). Contudo, é crucial equilibrar os benefícios da nanotecnologia com a necessidade de mitigar impactos ambientais e assegurar regulamentações adequadas. Portanto, o avanço e a integração de tecnologias como as bio-AgNP imobilizadas em alginato aplicadas em um reator de leito fixo PBR são passos significativos para melhorar o acesso à água segura, além de contribuir para os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável.

3. Objetivos

3.1. Geral

Implementar um reator de leito fixo empacotado com AgNP biológicas imobilizadas em alginato de cálcio para desinfecção de água contaminada por bactérias potencialmente patogênicas.

3.2. Específicos

- Biossintetizar as AgNP oriunda de fungo *Aspergillus niger* IBCLP20;
- Imobilizar, por encapsulação, as AgNP IBCLP20 em alginato de cálcio;
- Caracterizar físico e quimicamente as AgNP biológicas, em sua forma coloidal (bio-AgNP) e imobilizadas (bio-$AgNP_{AC}$);
- Avaliar a influência dos parâmetros operacionais (densidade do afluente, temperatura, massa de catalisador, e vazão volumétrica) de um reator PBR no processo contínuo para tratamento de água potável;
- Analisar os dados obtidos estatisticamente.

4. Metodologia

4.1. Microrganismos

4.1.1. Fungos

A linhagem *Aspergillus niger* IBCLP20 pertencente à Coleção de Cultura do Laboratório de Micologia e Aplicações Biotecnológicas e Nanotecnológicas (MICOBIONANOTEC - UNESP IB/CLP) foi isolada de sedimento marinho proveniente da Baía do Araçá, São Sebastião-SP. A manutenção da linhagem ocorreu utilizando meio de cultura batata dextrose ágar (BDA) (Kasvi®), composição final 39 $g \cdot l^{-1}$, sendo mantida a 4 ºC e renovada mensalmente.

4.1.2. Bactérias

As bactérias gram-negativas potencialmente patogênicas *Escherichia coli* IPT245 e *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 foram cedidas pelo Instituto de Pesquisa Tecnológica do Estado de São Paulo (IPT). Os microrganismos foram crescidos "*overnight*" em meio de cultura *Trypticase Soy Broth* (TSB), composição final ($g \cdot l^{-1}$): peptona bacteriológica (17,0) (Exodo®), peptona de soja (3,0) (Himedia®), glicose (2,0) (Exodo®), cloreto de sódio (5,0) (Exodo®), fosfato de dipotássio (2,0)

(Exodo®). As culturas foram preservadas em glicerol 60% e mantidas em ultra-freezer a -80ºC. Para os ensaios em reator, a densidade celular foi ajustada a 10^3 UFC·ml^{-1}, 10^4 UFC·ml^{-1} e 10^5 UFC·ml^{-1}.

4.2. Biossíntese

Cinco discos de 6 mm do fungo IBCLP20 previamente crescido em BDA (Kasvi®) pelo período de 7 dias, foram transferidos para um frasco Erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml de meio de cultura extrato de malte, glicose, peptona e extrato de levedura (MGLP) (composição final em g·l^{-1}): extrato de malte (3,0) (Goldlab®), glicose (10,0) (Exodo®), extrato de levedura (3,0) (Goldlab®), peptona bacteriológica (5,0) (Exodo®). O frasco Erlenmeyer foi incubado a 150 rpm, 30 ºC por 72 horas. A biomassa crescida foi filtrada e lavada com 300 ml de água deionizada estéril. Cerca de 5 g de biomassa úmida foi transferida ao frasco Erlenmeyer de 250 ml contendo 50 ml de água deionizada estéril. O frasco Erlenmeyer foi incubado a 150 rpm, 30 ºC por 72 horas. Após este período de incubação e nova filtração, um volume de 50 ml do filtrado foi transferido a um frasco Erlenmeyer de 250 ml e adicionados 500 µl da solução de nitrato de prata ($AgNO_3$) na concentração inicial de 100 mM. Para o controle, o mesmo procedimento foi adotado, contudo, com a biomassa autoclavada após o crescimento em MGLP.

4.3. Encapsulação com alginato de cálcio

As microcápsulas foram obtidas por gelificação ionotrópica com gel alginato de cálcio de acordo com Pereira *et al.* (2019) e Pereira *et al.* (2018). A solução do biopolímero foi preparada solubilizando 4 % (p/v) de alginato de sódio (Exodo®) em 12 ml de bio-AgNP. Posteriormente, a solução de biopolímero (100 ml) foi gotejada em 100 ml de uma solução aquosa de cloreto de cálcio (0,14 M) com auxílio de uma bomba peristáltica (MS Tecnopon®, modelo LAP-101-3) em temperatura ambiente. O sistema foi mantido sob agitação magnética (200 rpm) por 1 min. Após o processo de gelificação, as microcápsulas de alginato de cálcio contendo nanopartículas de prata biológicas imobilizadas (bio-$AgNP_{AC}$) foram filtradas utilizando uma bomba à vácuo 5005 (Nevoni®).

4.4. Detecção e caracterização das AgNP na forma coloidal (bio-AgNP) e encapsuladas (bio-AgNP$_{AC}$)

Todas as análises de detecção e caracterização das bio-AgNP e bio-AgNP$_{AC}$ foram realizadas no Instituto SisNANO-USP: Nanotecnologias em saúde, meio ambiente e energia.

4.4.1. UV-visível (UV-vis)

A detecção da AgNP IBCLP20 (bio-AgNP) foi feita com auxílio de um espectrofotômetro UV-vis (U-2000 Hitachi) no intervalo de comprimento de onda de 200-800 nm.

4.4.2. Análise de tamanho de partícula e distribuição das AgNP

As características principais para a utilização das NPs foram analisadas no equipamento *Dynamic Light Scattering* (Zetasizer Nano, ZS90). A determinação do tamanho hidrodinâmico foi realizada por Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), a de carga pelo Potencial Zeta (Pζ) e a aglomeração pelo índice de polidispersão (PDI).

4.4.3. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

A caracterização morfológica e medida do diâmetro das bio-AgNP foram realizadas empregando a técnica de microscopia eletrônica de transmissão (LEO 906E, Zeiss, Alemanha). As amostras de bio-AgNP foram depositadas por gotejamento em grades de cobre revestidas de carbono (tamanho de malha de 40 µm × 40 µm). As amostras foram secas durante 2 horas e as medições MET foram realizadas em um microscópio eletrônico JEOL operado a uma tensão de aceleração a 120 kV.

4.4.4. Espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF)

Os espectros a partir da espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF) foram obtidos em um modelo EDX-720 (Shimadzu, Japão). O equipamento é composto por um tubo Rh, tensão de 15-50 kV, corrente variável de 1-1000 UA e um detector semicondutor de Si(Li) resfriado à temperatura de nitrogênio líquido. Utilizando um porta-amostras de polietileno de 7 mm de diâmetro, posicionado sobre um filme fino especial de poliestireno (Mylar®), foi

incorporado um volume de 200 µl de amostra. Para amostras sólidas, foi utilizada uma massa de 1 mg. Os porta-amostras foram acomodados em um carrossel com operação automática programável. As determinações qualitativas foram obtidas por meio de valores de intensidade relativos aos espectros de fluorescência, característicos dos elementos químicos que compõem a amostra, em percentagem por massa.

4.5. Implementação do reator de leito fixo empacotado com bio-$AgNP_{AC}$

4.5.1. Reator de leito fixo (PBR)

O reator de leito fixo (PBR) (Fig. 1) foi construído em vidro de borossilicato com diâmetro e comprimento nominais de 1,2 e 20 cm, respectivamente. O leito foi preenchido a 100% (17,5 g), 75% (13,125 g) ou 50% (8,75 g), pesagens realizadas na balança analítica (Sigma-Aldrich), com (a) AgNP fúngicas encapsuladas em alginato de cálcio (bio-$AgNP_{AC}$); (b) $AgNO_3$ encapsulado em alginato como controle positivo; (c) alginato e (d) pérolas de vidro como controles negativos. O preenchimento de 100% do leito contou com 25 pérolas de vidro estéreis na parte inferior, 17,5 g do material encapsulado e 35 pérolas de vidro estéreis na parte superior.

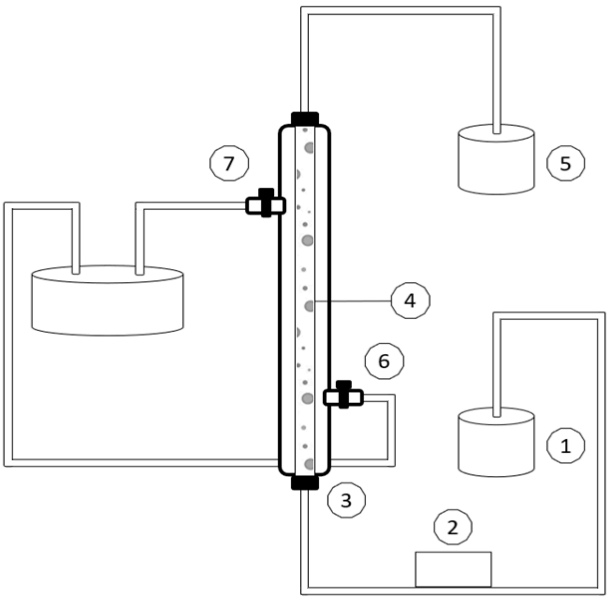


Figura 1. Estrutura do reator de leito fixo (PBR): (1) Afluente; (2) bomba peristáltica; (3) entrada do afluente; (4) Leito fixo preenchido com encapsulados (Alginato, bio-$AgNP_{AC}$, $AgNO_3$, ou Pérolas de vidro); (5) retirada da amostra; (6) entrada de água do banho termostatizado; (7) saída de água do banho termostatizado.

A alimentação do reator pelo afluente (água contaminada com bactéria potencialmente patogênicas, *Escherichia coli* IPT245 ou *Pseudomonas aeruginosa* IPT365) foi mantida em banho maria em condição ótima de temperatura de 37 ºC e feita em fluxo ascendente por meio de uma tubulação de silicone (0,5 cm de diâmetro) até a entrada do reator PBR com o auxílio de uma bomba peristáltica. E pela saída superior do reator PBR foram realizadas as coletas das amostras (efluente) a cada hora por um período de 8 horas, em triplicata da amostragem.

As amostras do efluente foram analisadas por meio de contagem de colônias crescidas em placas com meio *Trypticase Soy Agar* (TSA) composição final ($g \cdot l^{-1}$): ágar (15,0) (Exodo®), peptona bacteriológica (15,0) (Exodo®), peptona de soja (5,0) (Himedia®), cloreto de sódio (5,0) (Exodo®), após 24 horas.

A temperatura do processo foi controlada no reator por uma jaqueta térmica mediante circulação de água oriunda de um banho termostatizado. As extremidades (entrada e saída) do reator foram equipadas por bandejas de distribuição usinadas

em material Teflon® visando homogeneizar a dispersão radial do afluente através do leito do reator.

4.5.2 Avaliação dos parâmetros operacionais em PBR

Para a implementação do processo contínuo para desinfecção de água contaminada, foram avaliados os parâmetros de concentração do afluente (água contaminada nas densidades de 10^3 UFC·ml^{-1},10^4 UFC·ml^{-1} e 10^5 UFC·ml^{-1}), temperatura operacional do processo (25 ºC, 30 ºC, 37 ºC e 40 ºC), massa de catalisador (50 %, 75 % e 100 %), e vazão volumétrica de alimentação (1,0 ml·min^{-1}, 4,0 ml·min^{-1}, 7,0 ml·min^{-1} e 10,0 ml·min^{-1}), parâmetro utilizado previamente nos estudos de Cruz *et al.*, 2022 e Cardoso, 2023. Foram determinados como padrões os parâmetros de 10^3 UFC·ml^{-1}; 37 ºC; 100 % (17,5 g); e 4,0 ml·min^{-1}, tendo a variação do parâmetro avaliado.

4.5.3 Ensaios de estabilidade operacional

Os testes de estabilidade operacional foram realizados no reator operado em modo contínuo. Para isso, o reator PBR foi empacotado com bio-AgNP$_{AC}$ (diâmetro das esferas de alginato definido) e o processo foi conduzido conforme as melhores condições experimentais selecionadas no item 4.5.2. Nos ensaios de estabilidade operacional, foram monitoradas as atividades antibacterianas.

4.6. Análise dos dados

A atividade antibacteriana dos compostos foi analisada estatisticamente conforme USEPA (2002) no programa GraphPad Prism software v10.1.1 (270), com aplicação de teste *t*, após prévia avaliação dos pressupostos de normalidade pelo teste de Shapiro Wilk e homocedasticidade pelo teste *F*. Além do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95 %, para análise dos pares de médias.

5. Resultados e discussão

5.1. Biossíntese e caracterização das bio-AgNP e bio-AgNP$_{AC}$

A biossíntese das AgNP foi realizada utilizando o fungo *Aspergillus niger* IBCLP20 (Figura 2a). As bio-AgNP obtidas apresentaram coloração castanha

(Figura 2b), estando de acordo com Ameen *et al.* (2023) e Ottoni *et al.* (2017), que indicaram a coloração como o primeiro indício de formação de AgNP, além disso através da espectrometria ultravioleta-visível (UV-vis) é identificada a região de ressonância plasmônica de superfície (SPR) compreendida na região de 400-450 nm, como indicado na Figura 3.

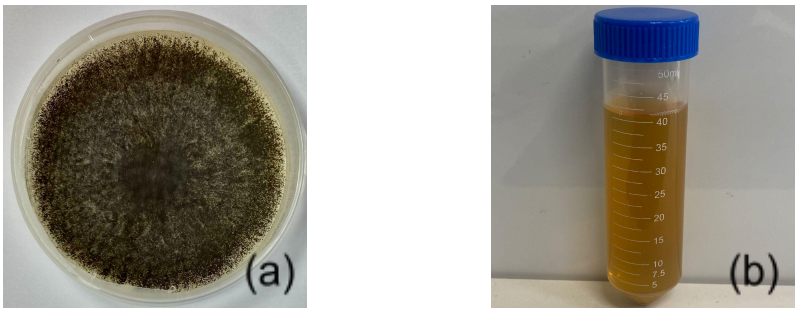


Figura 2. Fungo *Aspergillus niger* IBCLP20 utilizado para a biossíntese de AgNP (a); bio-AgNP obtidas após a incubação do extrato do fungo IBCLP20 na presença de $AgNO_3$ (b).

Utilizando um espectrômetro UV-visível a SPR das bio-AgNP foi determinada em 433 nm. Este comprimento de onda corresponde à região em que os elétrons da superfície das AgNP são excitados. A intensidade da banda SPR e o comprimento de onda estão associados ao tamanho e à forma das NP (Loza *et al*., 2020).

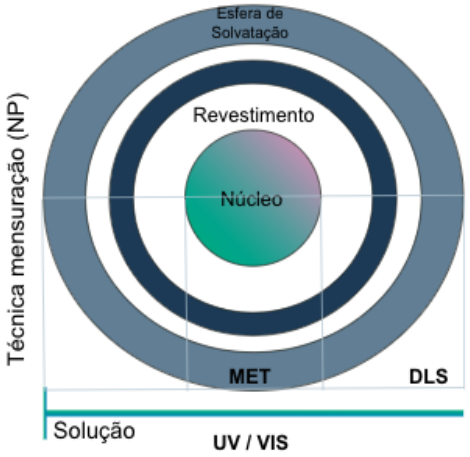


Figura 3. Ilustração do primeiro indício de formação da nanopartícula através das técnicas de espectrometria UV-visível (UV-vis), espalhamento dinâmico de luz (DLS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET) (adaptado de Zwar *et al.*, 2021).

Com relação à forma e tamanho das bio-AgNP, utilizando um microscópio eletrônico de transmissão (MET), foi possível identificar o formato esférico e tamanho médio compreendido entre 37,4 ± 67,4 nm (Figura 4).

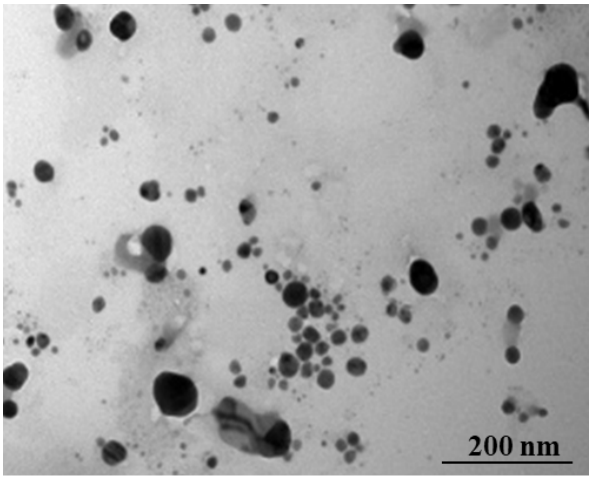


Figura 4. Micrografia de microscopia eletrônica de transmissão (MET) de NP metálicas em suspensão, com AgNP micogênicas sintetizadas pelo *Aspergillus niger* IBCLP20. Escala: 200 nm.

Os resultados dos demais parâmetros de caracterização, espalhamento dinâmico de luz (DLS), potencial zeta (Pζ), e o índice de polidispersão (PDI) são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização das bio-AgNP.

AgNP origem	DLS (nm)	Pζ (mV)	PDI	Absorbância (nm)
IBCLP20	80,5	-38,56	0,215	433

A caracterização de nanomateriais é muito importante para a aplicabilidade biotecnológica, além de validar a metodologia aplicada durante o processo de síntese, pois dependendo das características físico-químicas como morfologia, tamanho e carga podem ter propriedades diferentes (Loza *et al.*, 2020). O espalhamento dinâmico de luz apresentou o tamanho hidrodinâmico de 80 nm das bio-AgNP em dispersão, sendo complementado pelo MET, já que o DLS apesar de mostrar o tamanho do NM, por ser medido em solução pode acabar mensurando aglomerações, portanto com o MET, que mede o NM sólido acaba mostrando o tamanho do núcleo dando uma maior precisão da escala nanométrica das NP (Ndaba *et al.*, 2022; Ameen *et al.*, 2023).

A distribuição dos tamanhos de NP mensurada pelo PDI classifica as partículas entre monodispersas quando o valor obtido é mais próximo a 0 e polidispersa quando os valores são próximos à 1,0. As bio-AgNP utilizadas neste estudo possuem um índice de 0,215. Deste modo, foram classificadas como monodispersas. Outro importante parâmetro avaliado foi o Pζ, que indicou o valor de -38,56 mV para o NM biológico. O Pζ é um indicador da estabilidade química da NP, por definição, valores superiores a +30 mV ou inferiores à -30 mV referenciados como um indicativo de maior estabilidade. A estabilidade das NP é comprometida por interações físicas que desencadeiam a agregação, alterando assim, o seu tamanho (Phan e Haes, 2019). As NP biológicas possuem agentes estabilizantes, constituidos por biomoléculas que lhes conferem uma menor tendência a agregação e, por consequência, um aumento em sua estabilidade (Phan e Haes, 2019; Sardar e Mazumder, 2019; Arroyo *et al.,* 2020). Deste modo, as bio-AgNP apresentaram comprovada estabilidade o que reduz a possibilidade de aglomeração devido a repulsão das cargas (Ameen *et al.*, 2023; Ndaba *et al.*, 2022).

Junto a isso, a imobilização de nanopartículas como as AgNP evita a aglomeração e permite sua reutilização (Mazumder *et al.*, 2019;). A Tabela 2 mostra a concentração de Ag (%) presente na solução coloidal de bio-AgNP e bio-$AgNP_{AC}$ (encapsulada em alginato). Os resultados indicam que a bio-$AgNP_{AC}$ apresenta um teor de prata de 92 $mg \cdot l^{-1}$, uma concentração média obtida pela avaliação de cinco esferas. Embora a ED-XRF forneça uma análise confiável e não destrutiva, sua capacidade de distinguir entre formas metálicas e iônicas de prata é limitada (Bolewski *et al.*, 2020; Khan *et al.*, 2021). Isso significa que a presença de prata na solução pode incluir tanto nanopartículas de prata (AgNP) quanto íons de prata (Ag^+), e métodos adicionais são necessários para uma avaliação mais detalhada da dissolução das AgNP em íons Ag^+.

Tabela 2. Determinação da concentração de prata na solução coloidal de bio-AgNP e bio-$AgNP_{AC}$ usando a técnica de espectroscopia de fluorescência de raios X por dispersão de energia (ED-XRF).

Solução coloidal em ED-XRF			Esferas liofilizadas (média de 5)	
Absorbância (nm)	**ED-XRF (Ag %)**	**Concentração ($mg \cdot l^{-1}$)**	**Correção de Concentração ($mg \cdot l^{-1}$)**	**ED-XRF (Ag %)**
420	95	100	95	92
421	87	90	87	
418	66	75	66	
418	46	50	46	
417	19	25	19	
417	6	10	6	
417	0,6	1	0,6	

Contudo, o uso de AgNP imobilizada, especialmente em materiais como alginato, mostra-se promissor em processos de desinfecção, além da imobilização poder ajudar a controlar a liberação de íons Ag^+, reduzindo o dano potencial do AgNP disperso. Esta abordagem também preserva as propriedades das AgNP por longos períodos, facilitando seus múltiplos usos (Alavi e Rai, 2019; Agnihotri *et al.*, 2019). Já que, a toxicidade das AgNP está diretamente relacionada ao tamanho, forma e superfície de contato (Ottoni *et al.*, 2020; da Silva *et al.*, 2022; Rajan *et al.*, 2022).

5.2. Implementação do reator de leito fixo empacotado com bio-AgNP$_{AC}$

A Figura 5 apresenta as AgNP encapsuladas em gel de alginato (bio-AgNP$_{AC}$) conforme protocolo descrito no item 4.3. Sendo uma bio-AgNP$_{AC}$ pesando ≅ 40 mg e com tamanho médio de diâmetro de 3 mm.



Figura 5. Esferas de bio-AgNP$_{AC.}$

Nos testes realizados, o controle negativo (alginato) manteve as densidades iniciais constantes, comprovando a não toxicidade do agente imobilizante, alginato de cálcio, contra as bactérias potencialmente patogênicas, *E. coli* IPT245 e *P. aeruginosa* IPT365, corroborando com estudo prévio descrito por Alavi e Rai (2019) que destaca a biocompatibilidade do polímero e a sua baixa toxicidade. Em acréscimo, Ching e Bhandari (2017) e Kumar *et al.* (2014) destacaram outras características importantes associadas ao alginato, como biodegradabilidade e maior estabilidade. Desta forma, o uso do material encapsulado não comprometeu a sobrevivência bacteriana e, também, não alterou a funcionalidade das AgNP (Gonçalves *et al.,* 2016).

5.2.1. Influência da densidade do afluente

Os testes iniciais avaliaram a densidade do afluente sendo um parâmetro que depende da densidade celular das bactérias para melhor atividade antibacteriana da bio-AgNP$_{AC}$ assim como demonstrado no estudo de Ndaba *et al.* (2022).

Na menor densidade celular testada (10^3 UFC·ml^{-1}), é possível observar nas Figuras 6a e 7a, que a bio-$AgNP_{AC}$ teve efeito bactericida em ambas as bactérias, mostrando boa aplicabilidade do NM durante as 8 h de exposição.

Na densidade celular de 10^4 UFC·ml^{-1} a bio-$AgNP_{AC}$ apresentou maiores atividades antibacterianas pelo período de 8 h contra a *E. coli* IPT245 comparada com a *P. aeruginosa* IPT365. Na Figura 6b, é possível observar que o NM teve efeito bactericida após 1 h de exposição, e manteve a bactéria *E.coli* com a densidade celular abaixo de 10^4 UFC·ml^{-1} nas demais horas de amostragem, sendo 10^3 UFC·ml^{-1} nas horas 2, 3, 4 e 8; e 10^2 UFC·ml^{-1} em 5, 6 e 7 horas de amostragem, o $AgNO_3$ manteve a bactéria com densidades em 10^3 UFC·ml^{-1} durante as 8 h de experimento, com diferenças estatísticas tanto da bio-$AgNP_{AC}$ quanto do precursor ($AgNO_3$) em relação ao controle. Já com a *P. aeruginosa* IPT365 (Figura 7b) que se mostra mais resistente que a *E. coli* IPT245 (Nawaz *et al.,* 2012), as bio-$AgNP_{AC}$ não apresentaram atividade antibacteriana na 1 h de amostragem, mantiveram a densidade celular em 10^2 UFC·ml^{-1} na 2 hora e em altas densidades de 10^3 UFC·ml^{-1} nas demais horas, entretanto apresentou maior atividade antibacteriana em comparação ao seu precursor $AgNO_3$ que manteve o microrganismo em 10^3 UFC·ml^{-1} nas amostragens de 3, 6, 7 e 8 h porém nas demais amostragens (1, 2, 4 e 5 h) a bactéria se manteve em 10^4 UFC·ml^{-1}. Todavia, o agente imobilizante, alginato, apresentou diferença estatística em relação ao controle feito com pérolas de vidro, isso por conta da possibilidade de formação de biofilme nas esferas de pérolas de vidro utilizadas utilizadas, diminuindo a densidade celular para 10^3 UFC·ml^{-1} nas amostragens de 6, 7 e 8 h, característica da bactéria *P. aeruginosa* citada em diversos estudos (Thi *et al.*, 2020 ; Vetriveli *et al.*, 2021) e junto a isso os reatores biológicos que possuem alta capacidade de adesão dos microrganismos, sendo necessárias aplicações adequadas de limpeza para remoção da formação de biofilme (Kassab *et al.*, 2010). Além disso, o alginato de cálcio $(C_{12}H_{14}CaO_{12})_n$ possui uma alta disponibilidade de carbono, que pode ter sido utilizado como fonte de energia para as bactérias (Figuras 6a e 7b) fazendo com que houvesse maior sobrevivência celular no alginato em comparação ao controle (Alotaibi e Bukhari, 2021; Kıvılcımdan e Yildiz, 2016).

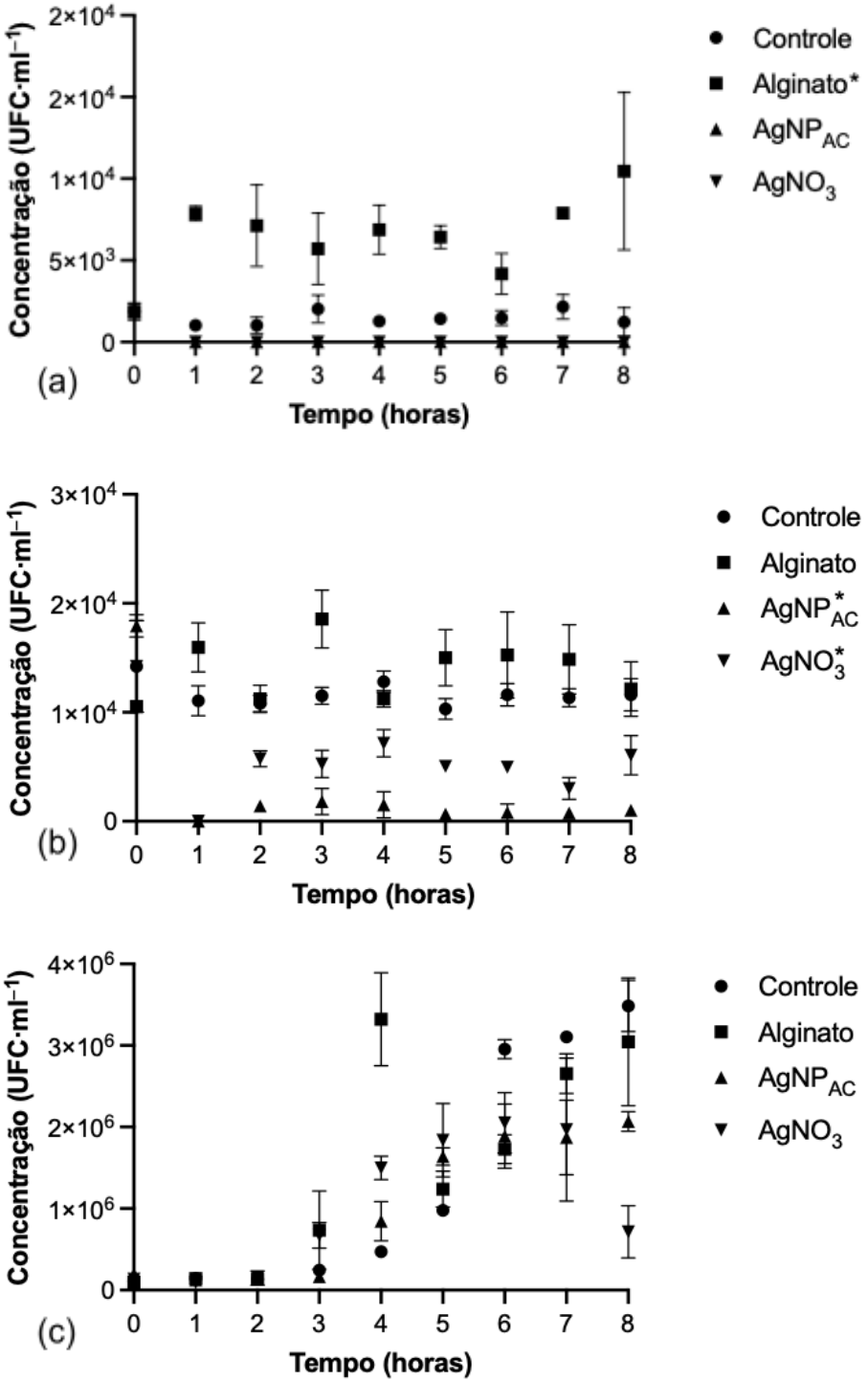


Figura 6. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-AgNP$_{AC}$ (▲), ou AgNO$_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1} (a); 10^4 UFC·ml^{-1} (b); e 10^5 UFC·ml^{-1} (c).

Conforme apresentado nas Figuras 6c e 7c tanto com a *E. coli* IPT245 quanto *P. aeruginosa* IPT365 ocorreu alta sobrevivência celular na densidade de 10^5 UFC·ml^{-1} independente do composto à que foram expostas, sendo a densidade de entrada de 1 x 10^5 UFC·ml^{-1} em ambas as bactérias. As densidades após 1 h de exposição se mantiveram em 10^5 UFC·ml^{-1}, exceto com $AgNO_3$ que as bactérias tiveram a densidade celular em 10^4 UFC·ml^{-1} tendo assim, maior toxicidade em relação a bio-$AgNP_{AC}$. E após 4 h de exposição, a densidade celular ultrapassou 10^6 UFC·ml^{-1} em ambas as bactérias testadas. Todavia, mesmo o $AgNO_3$ apresentando maior toxicidade na primeira hora, não foi observada diferença estatística em relação ao controle em nenhum dos compostos (Alginato, bio-$AgNP_{AC}$, $AgNO_3$).

A sobrevivência bacteriana foi observada mesmo na presença de $AgNO_3$. Isso pode ter ocorrido devido a concentração de Ag^+ disponível estar abaixo do necessário para inibir a sobrevivência celular bacteriana em 10^5 UFC·ml^{-1}, e/ou devido à temperatura de 37 ºC utilizada no experimento, e considerada ideal para a sobrevivência de ambas as bactérias estudadas. Embora a concentração de Ag^+ nas esferas tenha sido determinada em 92 mg·l^{-1} (conforme resultados do ED-XRF), a liberação de Ag^+ foi gradual, característica do agente imobilizante utilizado. Dessa forma, são necessárias densidades mais elevadas de prata para alcançar um efeito bactericida na maior densidade testada (Agnihotri *et al.,* 2019; Oe *et al.*, 2023).

Comparando com outros estudos, como o de Zarei *et al.* (2014), que determinaram uma concentração bactericida mínima (CBM) de 6,25 mg·l^{-1} de Ag^+ para bactérias gram-negativas em densidades de 10^5 a 10^6 UFC·ml^{-1}, e Li *et al.* (2010), que indicaram que 10 mg·l^{-1} de AgNPs poderiam inibir totalmente a sobrevivência de 10^7 UFC/mL de *E. coli*, fica claro que a concentração de prata disponível no presente estudo pode não ter atingido o mínimo necessário para alcançar o efeito bactericida em densidades mais elevadas.

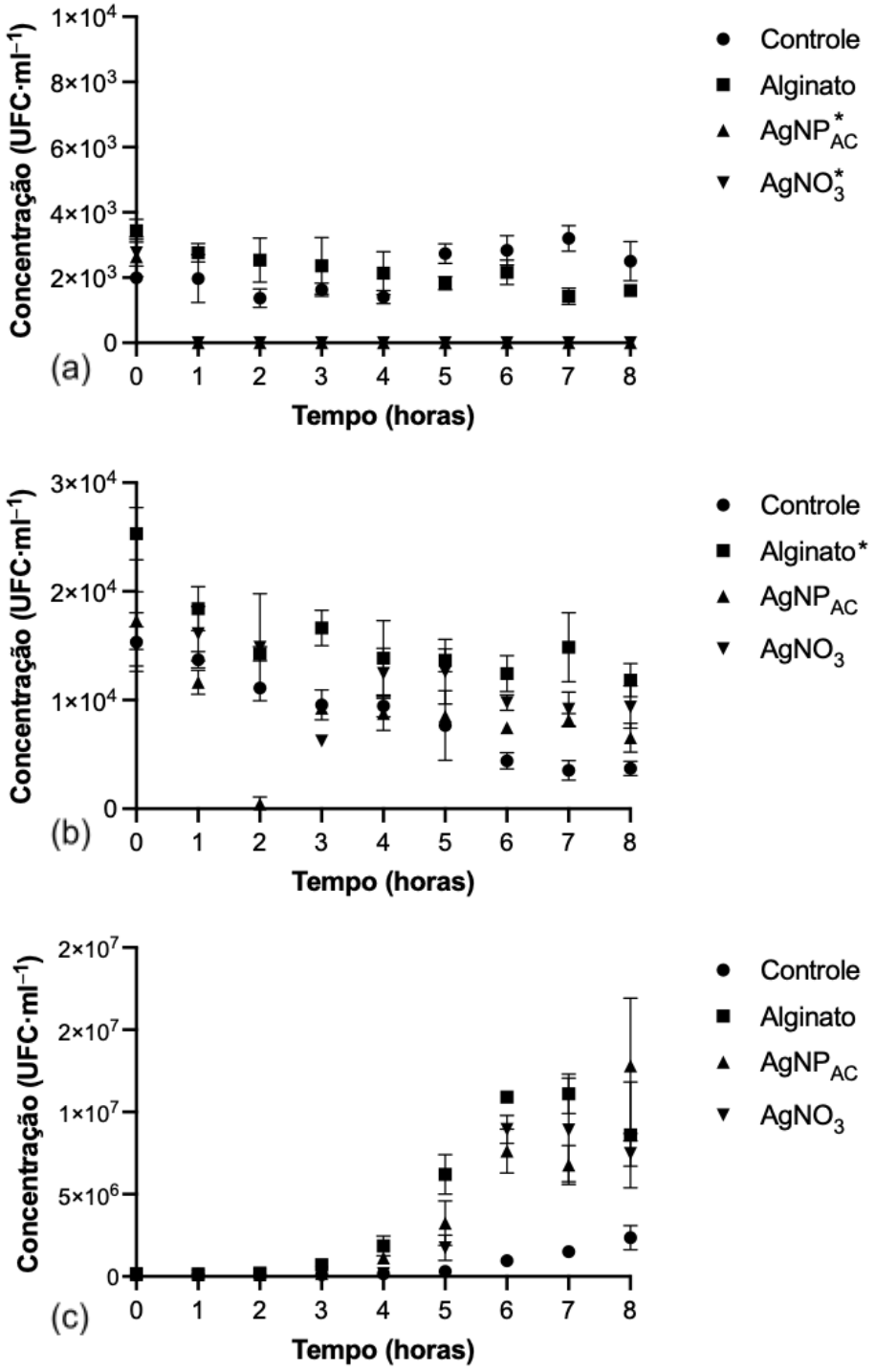


Figura 7. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 $ml \cdot min^{-1}$ para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 $UFC \cdot ml^{-1}$ (a); 10^4 $UFC \cdot ml^{-1}$ (b); e 10^5 $UFC \cdot ml^{-1}$ (c).

Além disso, Li *et al.* (2017) mostraram que íons de prata têm uma maior atividade antibacteriana comparada às AgNP, com concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 0,5 mg·ml^{-1} para *E. coli* e 1 mg·ml^{-1} para *P. aeruginosa,* em densidades iniciais de 10^6 UFC·ml^{-1}.

Portanto, a aplicabilidade das AgNP depende de vários fatores como a morfologia da NP, a concentração de Ag^+, vazão utilizada, temperatura, e a densidade do microrganismo (Bahcelioglu *et al.*, 2020). Desta forma, mesmo a faixa utilizada por muitos estudos sendo de 10^5 - 10^8 UFC·ml^{-1} (Tan *et al.*, 2018; Hong *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016), em maiores densidades celulares do microrganismo, as AgNP começam a perder sua grande taxa de inibição de sobrevivência do microrganismo, principalmente de bactérias (Bahcelioglu *et al.*, 2020). Sendo assim, a utilização da bio-$AgNP_{AC}$ na descontaminação das bactérias *E. coli* IPT245 e *P. aeruginosa* IPT365 à 10^3 UFC·ml^{-1} é aplicável já que além do efeito bactericida ocorrer em 8 h de funcionamento do processo contínuo ainda é uma densidade celular acima do imposto pelas regulamentações vigentes.

Em águas contaminadas, a densidade média de *E. coli* e *P. aeruginosa* pode variar significativamente, refletindo diferentes níveis de poluição e aplicabilidade dos sistemas de tratamento. Segundo a Portaria GM/MS Nº 888 (Brasil Ministério da Saúde, 2021), os sistemas de abastecimento de água devem monitorar mensalmente a presença de *E. coli.* Caso a média geométrica móvel dos últimos 12 meses seja igual ou superior a 1 x 10^3 UFC em 100 ml, é necessário avaliar a eficiência da Estação de Tratamento de Água (ETA) com monitoramento semanal de esporos de bactérias aeróbias.

Desta forma, a escolha da densidade de 10^3 UFC·ml^{-1} como valor fixo para os parâmetros avaliados no reator PBR se baseia na necessidade de garantir que o sistema seja aplicável para na remoção de bactérias potencialmente patogênicas, conforme exigido por regulamentações vigentes. Esta densidade serve como um ponto de referência crítico para avaliar a aplicabilidade dos processos de tratamento e garantir a qualidade da água tratada, alinhando-se com as normas estabelecidas para a segurança pública e controle de qualidade da água.

5.2.2. Temperatura operacional

O parâmetro de temperatura operacional foi testado em 25 ºC, 30 ºC, 37 ºC e 40 ºC, durante o período de 8 h de experimento. De acordo com as Figuras de 8 e 9, em todas as temperaturas avaliadas a sobrevivência microbiana de ambas as bactérias se manteve constante nos controles pérolas de vidro e alginato e as bio-$AgNP_{AC}$ e $AgNO_3$ mantiveram a atividade bactericida durante todo o período de realização dos ensaios.

Segundo Ohshima *et al*. (2002) muito embora a temperatura de 37 ºC seja considerada ótima para muitas bactérias, esses microrganismos possuem uma excelente tolerância à variação da temperatura. É reportado que temperaturas de 8 ºC promovem apenas a sobrevivência mínima deste microrganismos enquanto a temperatura de 44 ºC é considerada o limite máximo para sobrevivência exponencial e 50 ºC promove fragilidade em *E. coli* (Bhardwaj *et al.*, 2021; Moon *et al.*, 2023). E junto a isto, alguns estudos afirmam que a atividade antibacteriana das AgNP depende da temperatura em que são testadas, com aumento da propriedade de atividade antibacteriana em maiores temperaturas (Tartanson *et al.*, 2014; Song *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016). Apesar das bactérias possuírem mecanismos como implementação de ácidos graxos mais saturados nos fosfolipídios nas membranas celulares para manterem suas características independente da variação da temperatura (Ohshima *et al*., 2002; Moon *et al.*, 2023), a atividade antibacteriana das bio-$AgNP_{AC}$ continuou sendo observada mesmo em diferentes temperaturas.

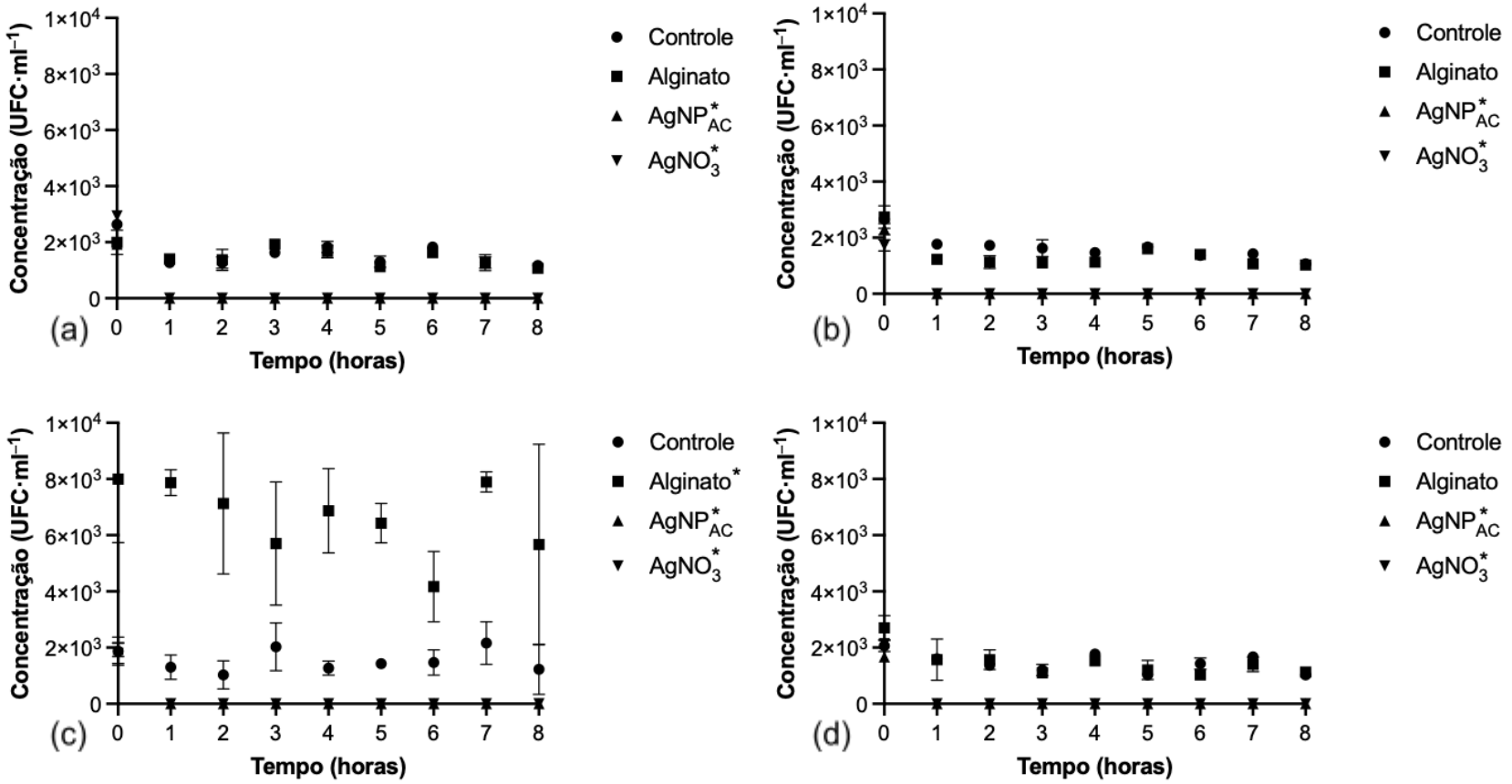


Figura 8. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado em 25 ºC (a); 30 ºC (b); 37 ºC (c); e 40 ºC (d), fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}

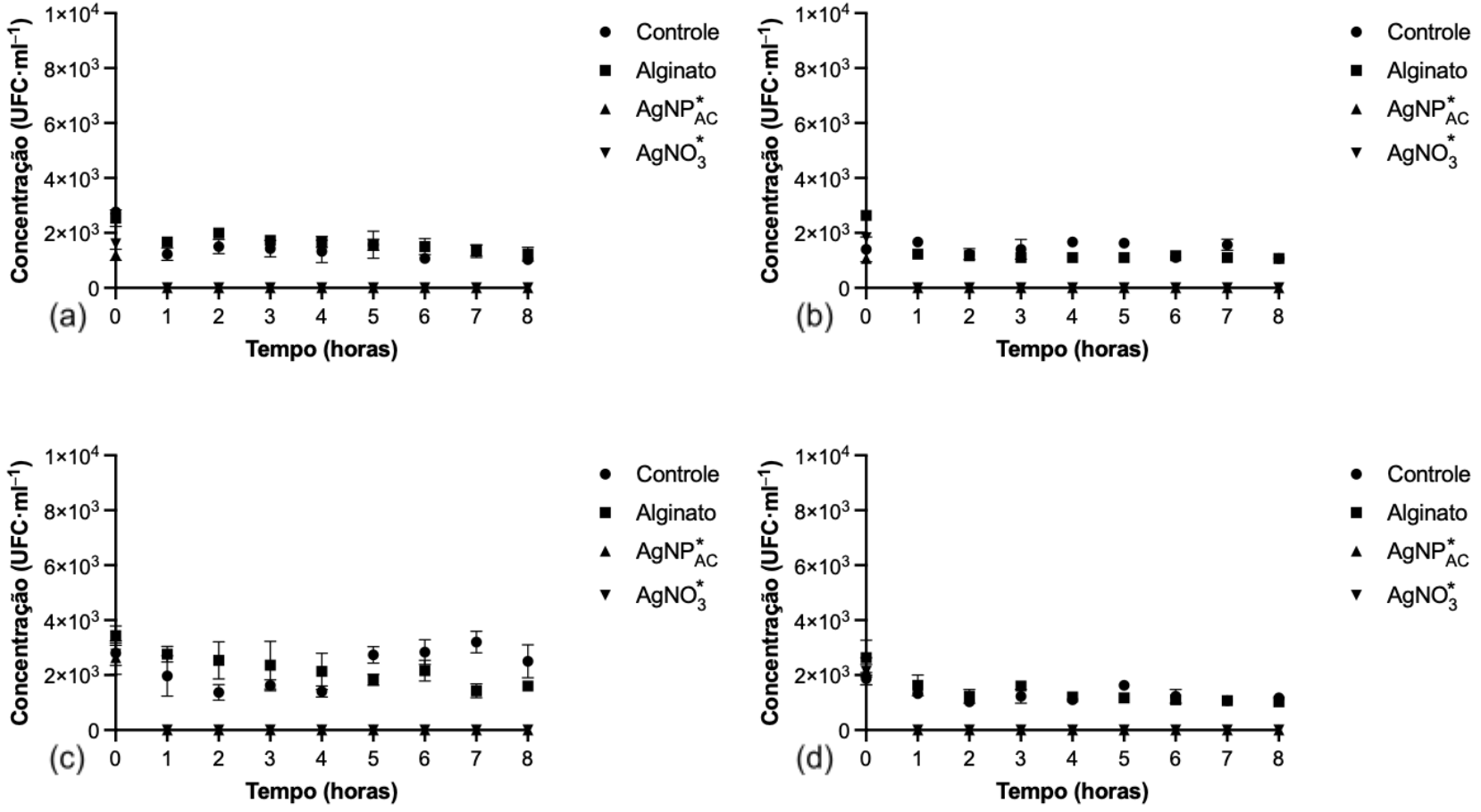


Figura 9. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado em 25 ºC (a); 30 ºC (b); 37 ºC (c); e 40 ºC (d), fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}.

Apesar da temperatura elevada da água aumentar a atividade antibacteriana de materiais contendo Ag^+, outros fatores como a turbidez e pH podem alterar os efeitos antibacterianos. Song *et al.* (2016) e Zhang *et al.* (2016) realizaram estudos sobre o efeito do pH no desempenho antibacteriano, verificou-se que a temperatura influencia a atividade antibacteriana; já que temperaturas mais altas reduziram o tempo necessário para a completa remoção bacteriana, todavia, os demais parâmetros precisam ser levados em consideração pois podem afetar o efeito antibacteriano do composto.

Desta forma, deve ser realizado maiores estudos em torno deste parâmetro para assim determinar a melhor temperatura para aplicação industrial, levando em consideração o aumento de escala.

5.2.3. Massa de catalisador

No parâmetro de massa de catalisador os microrganismos com densidade celular de 10^3 UFC·ml^{-1} foram expostos a quantidades de 8, 75 g (50%); 13,125 g (75%); e 17,5 g (100%) de bio-$AgNP_{AC}$ para avaliar a capacidade antibacteriana da bionanopartícula dependendo da quantidade de NM que as bactérias são expostas, pois na literatura existem controvérsias se a maior disponibilidade de Ag^+ no meio aumenta a atividade antibacteriana das AgNP (Song *et al.*, 2016; Strabryla *et al.*, 2018; Liao *et al.*, 2019).

A densidade de entrada em todos os compostos das duas bactérias foi de 10^3 UFC·ml^{-1}, todavia, na massa de 100 % do alginato para *E. coli* IPT245 (Figura 10c) a entrada foi de 8 x 10^3 UFC·ml^{-1} e por conta da elevada densidade na entrada do reator manteve ao longo do experimento elevadas densidades da bactéria e tendo assim diferença estatística em comparação ao controle com pérolas de vidro que tiveram a densidade de entrada em 2 x 10^3 UFC·ml^{-1}.

Os resultados apresentados na Figura 10 estão de acordo com o estudo de Doganay *et al.* (2019), em que mesmo com a exposição a menores quantidades (50 % e 75 %) de bio-$AgNP_{AC}$, o nanomaterial continuou apresentando efeito bactericida após a 2 h de exposição, com sobrevivência celular de 10^2 UFC·ml^{-1} na amostragem de 1 h e 2 h nas duas quantidades testadas, por outro lado na maior quantidade da

massa de catalisador de 17,5 g (Figura 10c) o NM apresentou efeito bactericida durante as 8 h de exposição. O precursor $AgNO_3$ apresentou uma atividade similar quando exposto com 50 e 75 % de sua massa à *E. coli* IPT245, tendo um efeito bactericida após a 1 h de exposição e durante as 8 h na maior quantidade de massa (17,5 g).

A bactéria *P. aeruginosa* IPT365 se mostrou mais resistente quando exposta a menor quantidade de massa (Figura 11a), tendo sobrevivência celular de 10^2 UFC·ml^{-1} até a 4 h de exposição à bio-$AgNP_{AC}$ e até a 6 h quando exposta à $AgNO_3$, com efeito bactericida apenas nas últimas horas de exposição aos compostos, podendo ter sido por conta da característica do alginato em controlar a liberação do composto imobilizado, possuindo assim uma menor quantidade de Ag^+ e bio-AgNP disponíveis (Agnihotri *et al.*, 2019 ; Oe *et al.*, 2023). Já na figura 11b, a bio-$AgNP_{AC}$ não teve atividade antibacteriana contra a *P. aeruginosa* IPT365 após 1 h de exposição, após 2 h a bactéria teve a densidade celular avaliada em 10^2 UFC·ml^{-1}, por fim da 3 a 8 h de exposição o NM teve efeito bactericida. Desta forma, estando de acordo com o estudo de Tan *et al.* (2018) em que a maior quantidade de AgNP, como mostra na Figura 11c, teve maior atividade antibacteriana, tendo efeito bactericida durante as 8 h de exposição.

Vários estudos examinaram o parâmetro da quantidade de Ag^+ e AgNP disponível no meio, com concentrações de Ag^+ variando de 0,01 a 5 % em peso (El-Aassar *et al.*, 2013; Hong *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Roy *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 2018; Doganay *et al.*, 2019). Com uso de diferentes materiais, sendo alguns indicando que o aumento da concentração de Ag^+ não afetou significativamente os diâmetros das zonas de inibição (Roy et al.; 2017; Doganay et al., 2019). Enquanto outros (El-Aassar *et al.*, 2013; Tan *et al.*, 2018) descobriram que o aumento da concentração de Ag^+ levou a maiores diâmetros da zona de inibição.

Existem pontos de vista conflitantes sobre o efeito da concentração de Ag^+ no desempenho da desinfecção. Consequentemente, a relação entre a concentração de Ag^+ e a taxa da desinfecção precisa ser elucidada, e os possíveis efeitos combinados com outros parâmetros requerem mais exploração.

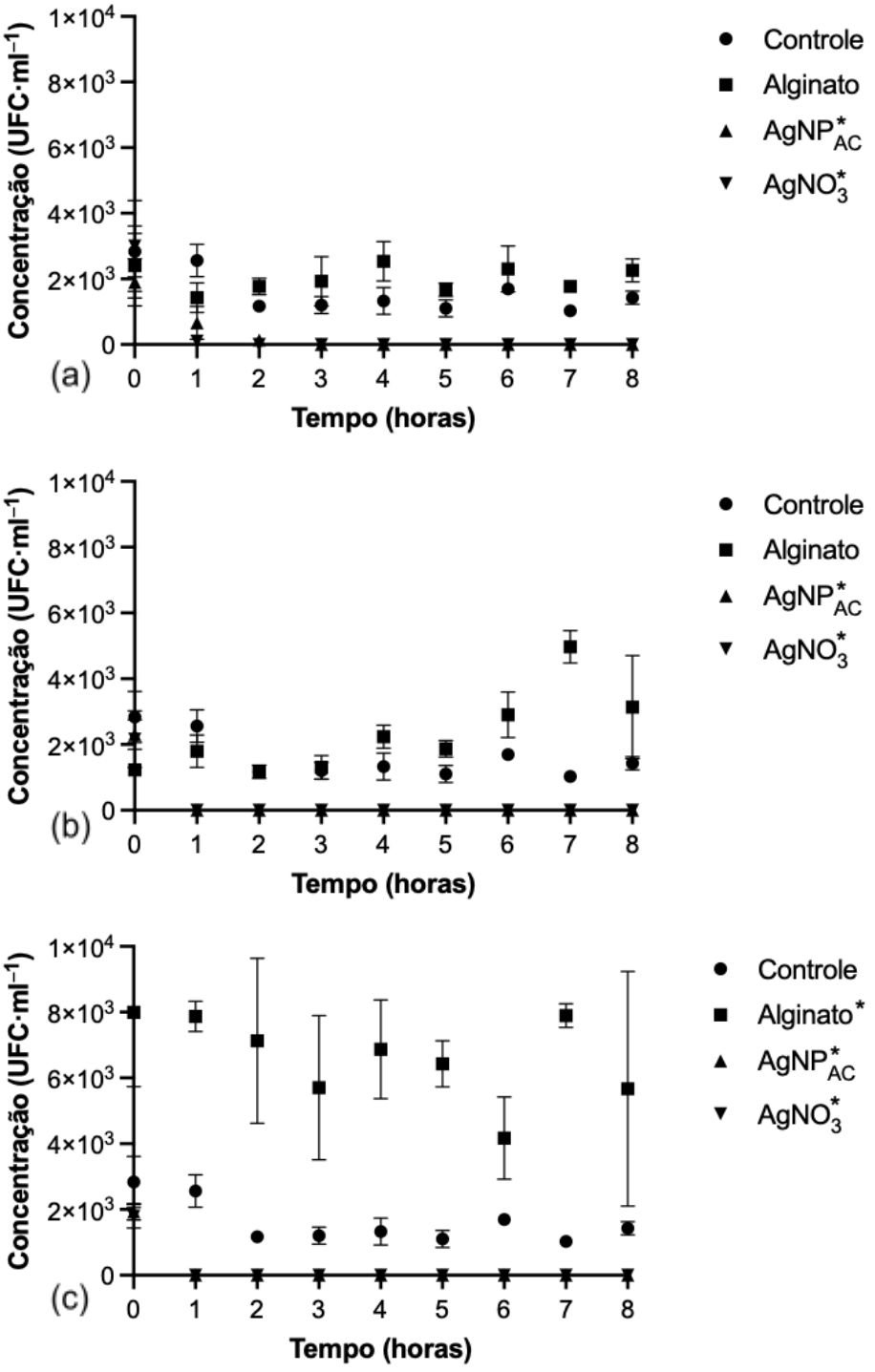


Figura 10. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido em 50 % (a); 75 % (b); e 100 % (c) com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}.

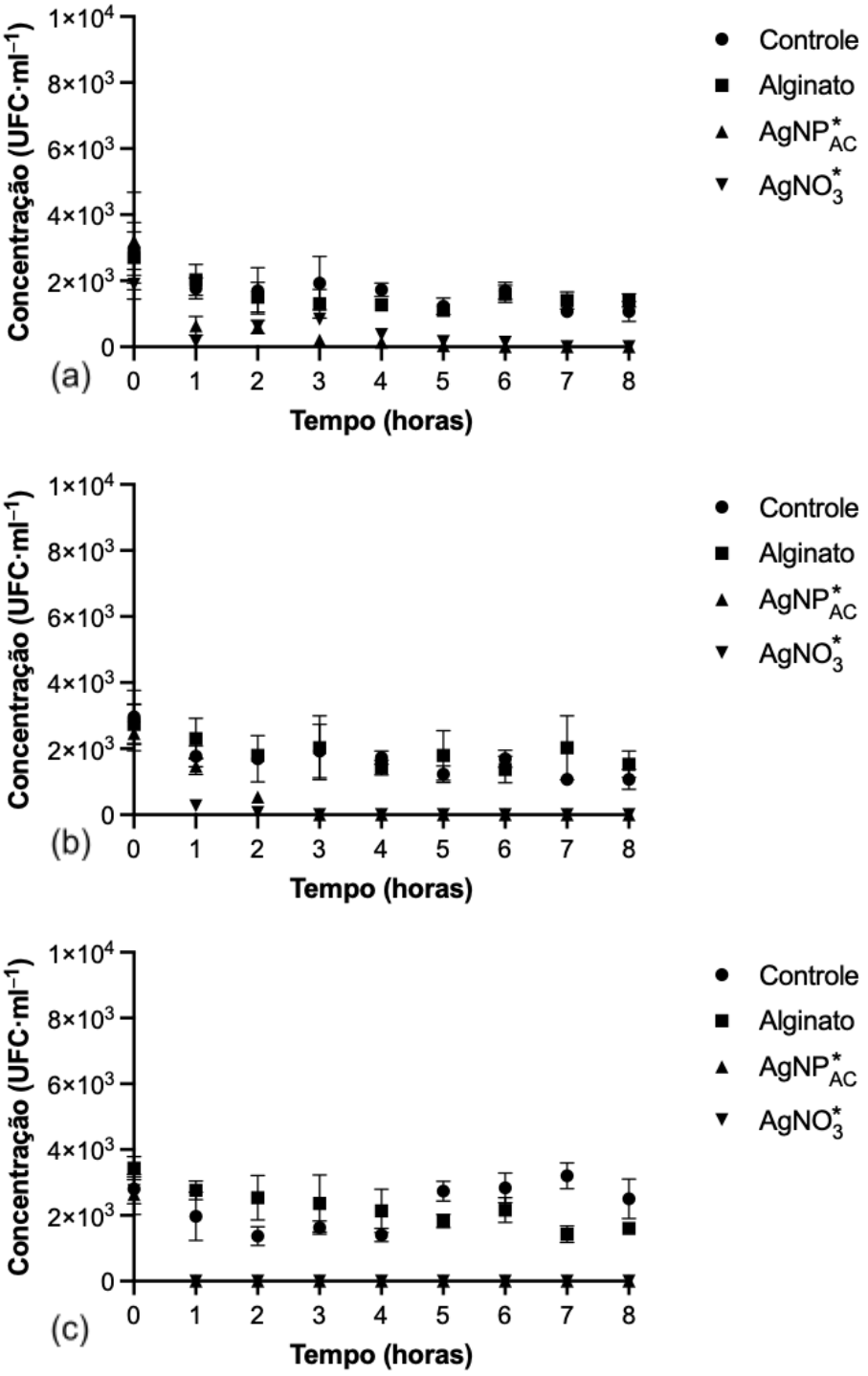


Figura 11. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido em 50 % (a); 75 % (b); e 100 % (c) com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 4,0 ml·min^{-1} para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}.

Todavia, com os resultados obtidos é possível afirmar que com a aplicação do processo contínuo a atividade bactericida contra *E. coli* IPT245 ocorre a partir de 3 h de operação do reator PBR enquanto para *P. aeruginosa* IPT365 seria a partir de 6 h de operação mesmo com uma menor quantidade de massa de catalisador no preenchimento do leito do reator PBR.

5.2.4. Vazão volumétrica de alimentação

O parâmetro de vazão volumétrica foi realizado com as vazões de 1,0 ; 4,0 ; 7,0 e 10,0 ml·min^{-1}, com a verificação sendo realizada a cada 30 minutos durante o período de 8 h de experimento. Sendo um parâmetro importante para avaliação da aplicabilidade da bio-AgNP$_{AC}$ dependendo do tempo de exposição que a água contaminada tem com o nanomaterial encapsulado em alginato.

As densidades de entrada dos microrganismos testados foi de 10^3 UFC·ml^{-1}. Na vazão de 1,0 ml·min^{-1} (Figura 12a) a bio-AgNP$_{AC}$ apresentou efeito bactericida contra a bactéria *E.coli* IPT245 durante praticamente as 8 h de experimento, com sobrevivência bacteriana mínimo na 6 h de amostragem de 33 UFC·ml^{-1}, demonstrando maior atividade antibacteriana do que o nitrato de prata em que foi possível observar sobrevivência celular em 10^2 UFC·ml^{-1} na 4 e 5 h de amostragem, reforçando a hipótese apresentada pelo estudo de Durán *et al.* (2016), de que não é apenas os íons de prata que agem contra os microrganismo tendo influência também das AgNP. Já com a *P. aeruginosa* IPT365 na mesma vazão (1,0 ml·min^{-1}) apresentada na figura 13a, a bio-AgNP$_{AC}$ apresentou efeito bactericida após 5 h de operação do reator PBR, com sobrevivência celular da bactéria em 10^2 UFC·ml^{-1} na 1 a 4 h de amostragem e apenas 33 UFC·ml^{-1} na 5 h, sendo as demais amostragens não apresentando nenhuma sobrevivência celular.

Entretanto, o alginato contra a *E. coli* IPT245 (Figura 12a) também apresentou atividade antibacteriana diminuindo a densidade celular da bactéria para 10^2 UFC·ml^{-1} da hora 3 até a 8 h de amostragem, pois com o maior tempo de residência da *E.coli* IPT245 com as microcápsulas de alginato, pode ter ocorrido a agregação do microrganismo ao encapsulado iniciando a formação de biofilme por conta da biocompatibilidade do agente imobilizante e fácil aderência (Halverson,

2009 ; Sharma *et al.*, 2016 ; Alavi e Rai, 2019), sendo uma característica da bactéria evitando assim que seja levada pelo fluxo da água (Rabin *et al.*, 2015). Ao contrário da *P. aeruginosa* IPT365 que na mesma vazão de 1,0 ml·min^{-1} (Figura 13a) não foi observado o mesmo padrão ao ser exposta ao alginato, mantendo a sobrevivência celular em 10^3 UFC·ml^{-1} ao longo das 8 h de experimento.

A vazão de 4,0 ml·min^{-1} (Figuras 12b e 13b) mantiveram efeito bactericida tanto da bio-AgNP$_{AC}$ quanto do $AgNO_3$ nas duas bactérias como demonstrado também nos itens 5.2.1 (Figuras 6a e 7a); 5.2.2 (Figuras 8c e 9c); e 5.2.3 (Figuras 10c e 11c). Sendo assim os parâmetros demonstrados com as melhores condições para aplicabilidade da bio-AgNP$_{AC}$.

De acordo com Hong *et al.* (2016), vazões volumétricas relativamente elevadas possuem menores capacidades de desinfecção usando nanocompósitos, em razão do menor tempo de residênciaato das bactérias com as AgNP, assim como no estudo de Wen *et al.* (2017) que também comprovou essa hipótese. Todavia, nas maiores vazões testadas (7,0 e 10,0 ml·min^{-1}) apesar da bio-AgNP$_{AC}$ não ter atividade bactericida ao longo das 8 h de exposição como na vazão de 4,0 ml·min^{-1} ainda assim contra a IPT365 na vazão de 7,0 ml·min^{-1} (Figura 13c) o NM teve efeito bactericida na maior parte das amostragens, exceto em 3 h que foi observado a sobrevivência celular de 10^2 UFC·ml^{-1}, diferente da IPT245 nas mesmas condições (Figura 12c) em que não foi observado efeito bactericida.

No entanto, na vazão de 10,0 ml·min^{-1} (Figura 12d) a bio-AgNP$_{AC}$ teve um efeito antibacteriano maior contra a *E.coli* IPT245, sendo observado a sobrevivência celular em apenas 67 UFC·ml^{-1} na hora 1 e 4, além de 10^3 UFC·ml^{-1} na hora 5, com efeito bactericida nas demais amostras realizadas. Essa divergência na atividade antibacteriana da bio-AgNP$_{AC}$ pode ter sido devido a existência de zonas mortas e/ou formação de caminhos preferenciais no reator na vazão de 7,0 ml·min^{-1}, em decorrência do empacotamento do leito catalítico, levando-se a uma diminuição do tempo de residência com a massa de catalisador (Cao *et al.*, 2020).

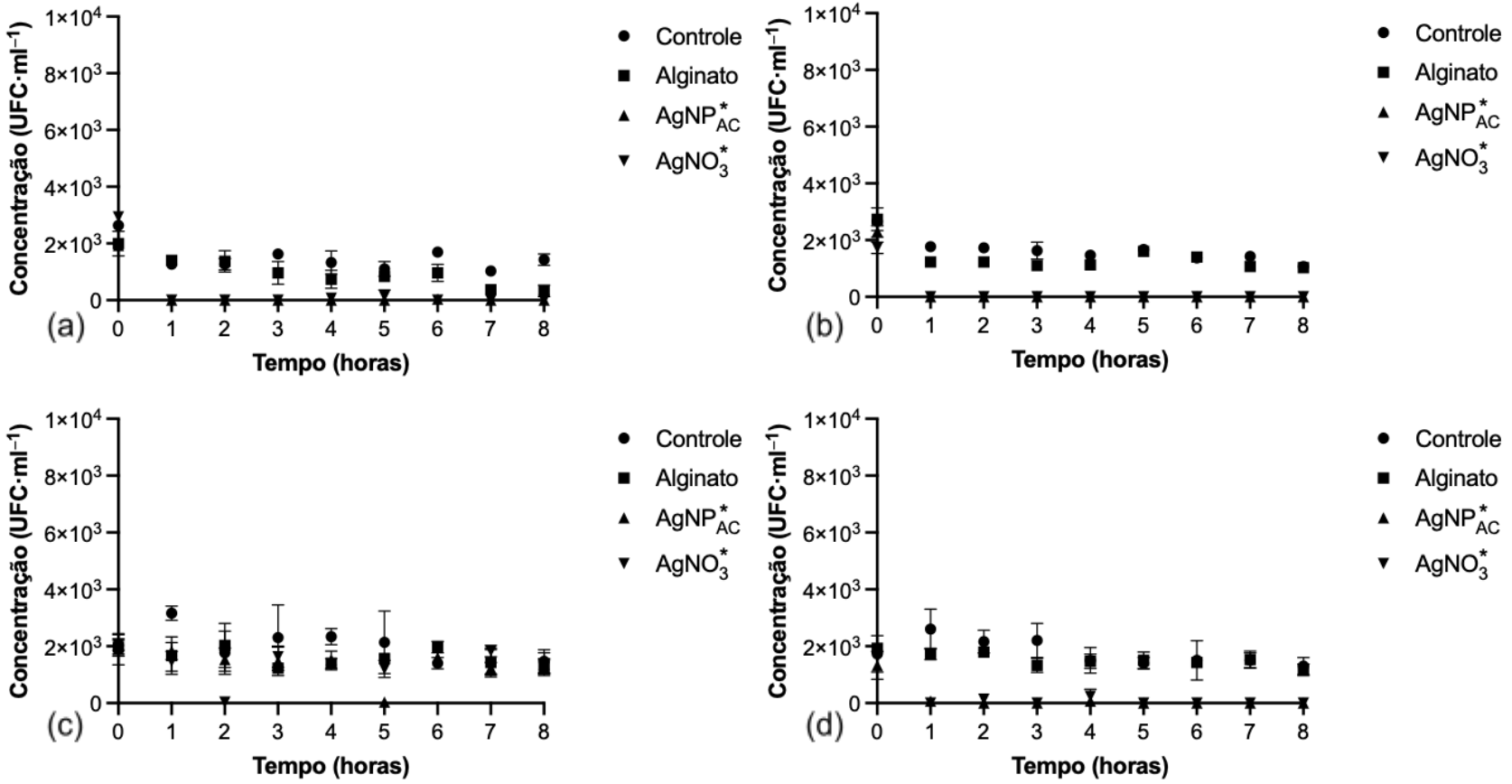


Figura 12. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 1,0 ml·min⁻¹ (a); 4,0 ml·min⁻¹ (b); 7,0 ml·min⁻¹ (c); e 10,0 ml·min⁻¹ (d) para a descontaminação de *Escherichia coli* IPT245 na densidade de 10^3 UFC·ml⁻¹.

Acredita-se também que, os baixos valores de atividades obtidos para o sistema reacional contínuo podem estar relacionados à baixa vazão volumétrica de alimentação no reator PBR. Baixas vazões volumétricas contribuem para a formação de uma camada limite difusional de maior espessura presente no entorno das partículas, fazendo com que o processo seja limitado pela transferência de massa externa. À medida que a vazão volumétrica aumenta, a espessura da camada limite diminui, favorecendo o acesso do microrganismo a bio-$AgNP_{AC}$, região em que ocorre a atividade antibacteriana (Levenspiel, 1999; Fogler, 2012; Dias *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2023).

Já com a *P.aeruginosa* IPT365 na vazão de 10,0 $ml \cdot min^{-1}$ (Figura 13d) é possível observar o efeito bactericida da bio-$AgNP_{AC}$ durante as 8 h de experimento, sendo um pouco mais tóxica do que seu precursor $AgNO_3$ em que pode ser observada sobrevivência celular apenas na 1 h de 10^2 $UFC \cdot ml^{-1}$.

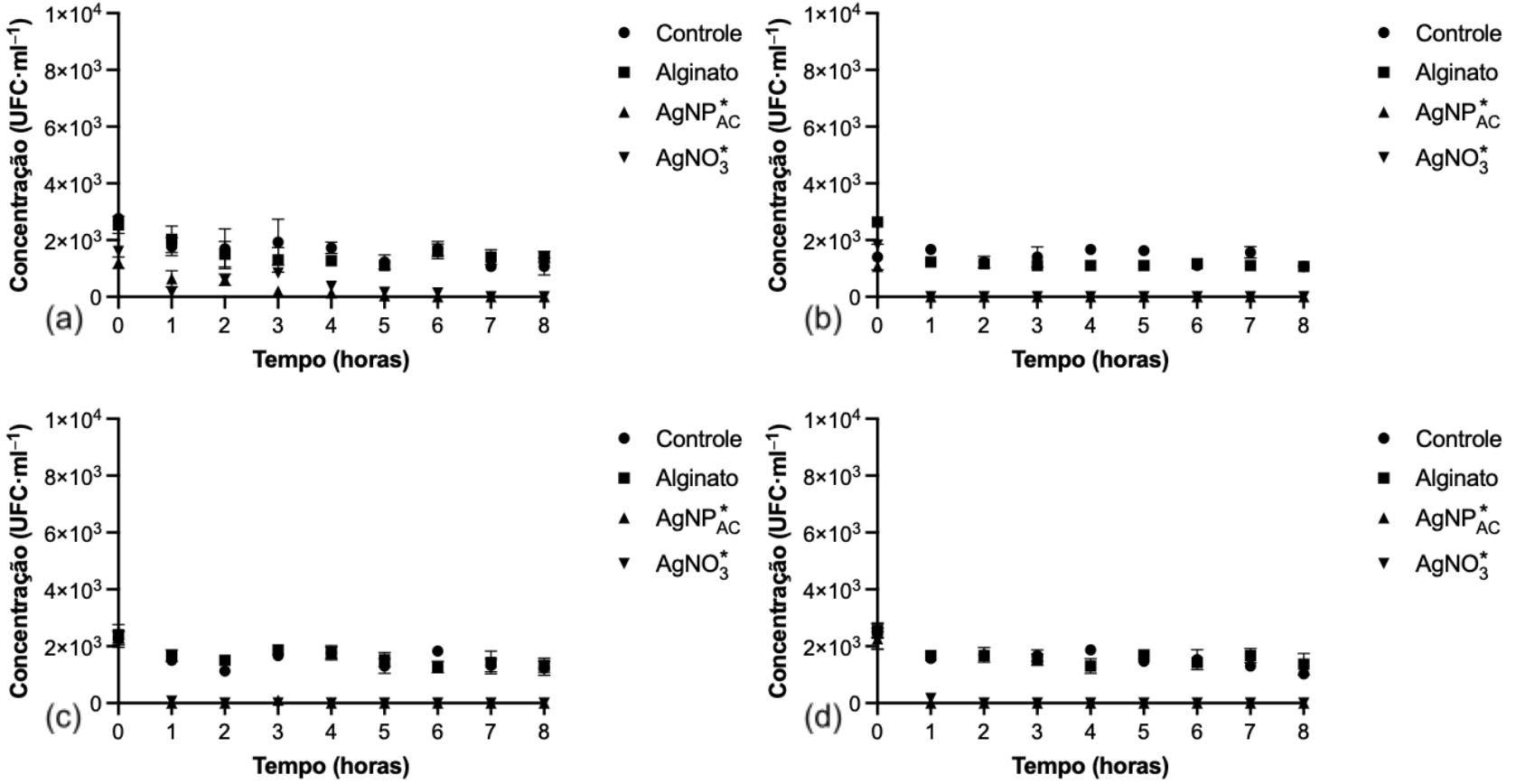


Figura 13. Avaliação da aplicabilidade do reator PBR preenchido a 100 % com pérolas de vidro no controle (●), Alginato (■), bio-$AgNP_{AC}$ (▲), ou $AgNO_3$ (▼) operado a 37 ºC e fluxo contínuo de 1,0 ml·min^{-1} (a); 4,0 ml·min^{-1} (b); 7,0 ml·min^{-1} (c); e 10,0 ml·min^{-1} (d) para a descontaminação de *Pseudomonas aeruginosa* IPT365 na densidade de 10^3 UFC·ml^{-1}.

5.2.5. Estabilidade operacional no reator de leito fixo (PBR)

A avaliação para definição dos parâmetros utilizados nos testes de estabilidade operacional foi feita a partir dos melhores parâmetros dos itens descritos anteriormente. A influência da densidade do afluente, item 5.2.1, foi comprovada através dos testes realizados, sendo a menor densidade testada (10^3 UFC·ml^{-1}) a mais promissora para melhor aplicabilidade da bio-$AgNP_{AC}$, em concordância com estudos que afirmam que a nanopartícula de prata tem maior atividade antibacteriana em densidades de 10^3 UFC·ml^{-1} em bactérias (Bharti *et al.*, 2019; Puti, 2014; Silva Junior, 2017).

O parâmetro da temperatura foi o único que não apresentou variação na atividade bactericida da bio-$AgNP_{AC}$ e $AgNO_3$ em nenhuma das temperaturas testadas. Desta forma, foi mantida a temperatura de 37 ºC, consenso na literatura como temperatura ideal para a sobrevivência das bactérias *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Ohshima *et al*., 2002; Bhardwaj *et al.*, 2021; Chilakamarry *et al.*, 2022; Moon *et al.*, 2023).

Todavia, os parâmetros de massa de catalisador e vazão volumétrica, apresentaram variações significativas já que para aplicação em larga escala um fator é dependente do outro, tendo uma melhor aplicabilidade vazões volumétricas maiores e menores quantidades de massa de catalisador. Contudo, a massa de catalisador que apresentou maior atividade bactericida nos dois microrganismos testados tanto da bio-$AgNP_{AC}$ quanto do precursor $AgNO_3$ durante as 8 h de experimento foi a de 17,5 g (100 %).

Ao mesmo tempo, dentre as vazões volumétricas testadas as maiores vazões (7,0 e 10,0 ml·min^{-1}) apesar de apresentaram resultados promissores da atividade antibacteriana da bio-$AgNP_{AC}$, apenas a vazão de 4,0 ml·min^{-1} teve atividade bactericida durante as 8 h de experimento nas duas bactérias gram-negativas. Dessa forma, a vazão volumétrica de 4,0 ml·min^{-1} foi considerada mais promissora para a estabilidade operacional do reator PBR. Esse parâmetro é relevante, pois, juntamente com a massa do catalisador, influencia o tempo de resistência. De acordo com Chao *et al.* (2020), isso se deve ao maior tempo de residência com o composto, o que aumenta a atividade bactericida.

Portanto, a aplicabilidade do reator de leito fixo PBR foi confirmada no período de 8 h apresentando estabilidade operacional com os parâmetros de 10^3 UFC·ml^{-1} e 37 ºC (densidade e temperatura do microrganismo); 17,5 g (massa de catalisador); e 4,0 ml·min^{-1} de vazão volumétrica.

6. Conclusões

O estudo demonstrou a aplicabilidade do reator de leito fixo PBR com nanopartículas de prata oriundas do Ff *Aspergillus niger* IBCLP20, imobilizadas em alginato de cálcio (bio-AgNP$_{AC}$), na desinfecção de água contaminada. As bio-AgNP$_{AC}$ mantiveram suas propriedades antibacterianas mesmo quando imobilizadas, indicando que a técnica de encapsulação em alginato preserva sua capacidade de combate a microrganismos. A caracterização físico-química das bio-AgNP, tanto na forma coloidal quanto imobilizada, confirmou que a imobilização não altera significativamente sua atividade antibacteriana.

A análise dos parâmetros experimentais, como a densidade do afluente, temperatura, massa de catalisador e vazão volumétrica, mostrou que as bio-AgNP$_{AC}$ são mais tóxicas contra a bactéria gram-negativa *Escherichia coli* IPT245 comparada com a *Pseudomonas aeruginosa* IPT365. Todavia com resultados promissores contra ambas as bactérias testadas e sendo a influência desses parâmetros muito relevante no desempenho do processo, destacando a necessidade de otimização para aprimorar o tratamento de água.

Diante do exposto, a implementação do reator de leito fixo PBR com bio-AgNP$_{AC}$ provou ser uma solução promissora para a desinfecção de água contaminada. A manutenção da atividade antibacteriana das nanopartículas após a imobilização e a análise detalhada dos parâmetros experimentais fornecem uma base sólida para o desenvolvimento de sistemas de tratamento de água mais sustentáveis.

7. Referências

1. Agnihotri, S., Mukherji, S., Mukherji, S., 2019. Impact of background water quality on disinfection performance and silver release of immobilized silver nanoparticles: Modeling disinfection kinetics, bactericidal mechanism and aggregation behavior. *Chem. Eng. Sci.*, 372, 684-696. https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.04.186
2. Ahmad, F., Ashraf, N., Ashraf, T., Zhou, R. B., Yin, D. C., 2019. Biological synthesis of metallic nanoparticles (MNPs) by plants and microbes: their cellular uptake, biocompatibility, and biomedical applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 103, 2913-2935. https://doi.org/10.1007/s00253-019-09675-5
3. Ahmed, B., Bilal Tahir, M., Sagir, M., 2024. Bio-inspired sustainable synthesis of silver nanoparticles as next generation of nanoproduct in antimicrobial and catalytic applications. *Mater. Sci. Eng.*, B. 301, 117165. https://doi.org/10.1016/j.mseb.2023.117165
4. Alavi, M., Rai, M., 2019. Recent progress in nanoformulations of silver nanoparticles with cellulose, chitosan, and alginic acid biopolymers for antibacterial applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. https://doi.org/10.1007/s00253-019-10126-4
5. Alotaibi, G. F., Bukhari, M. A., 2021. Factors influencing bacterial biofilm formation and development. *Am. J. Biomed. Sci. Res*, 12(6), 617-626. https://doi.org/10.34297/AJBSR.2021.12.001820.
6. Ameen, F., Al-Homaidan, A. A., Al-Sabri, A., Almansob, A., AlNAdhari, S., 2023. Anti-oxidant, anti-fungal and cytotoxic effects of silver nanoparticles synthesized using marine fungus *Cladosporium halotolerans*. *Appl. Nanosci.*, 13(1), 623-631. https://doi.org/10.1007/s13204-021-01874-9
7. Antonelli, R., Malpass, G. R. P., da Silva, M. G. C., Vieira, M. G. A., 2021. Fixed-bed adsorption of ciprofloxacin onto bentonite clay: characterization, mathematical modeling, and DFT-based calculations. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 60(10), 4030-4040. https://doi.org/10.1021/acs.iecr.0c05700
8. Anversa, L., Arantes Stancari, R.C., Garbelotti, M., da Silva Ruiz, L., Pereira, V.B.R., Nogueira Nascentes, G.A., Mores Rall, V.L., 2019. *Pseudomonas aeruginosa* in public water supply. *Water Pract. Technol.*, 14(3), 732-737. https://doi.org/10.2166/wpt.2019.057
9. Araujo, T. L. S., 2014. Desempenho de reator anaeróbio híbrido (leito fixo e manta de lodo) tratando esgoto sanitário em escala piloto. Master's Dissertation, Escola de Engenharia de São Carlos, University of São Paulo, São Carlos. https://doi.org/10.11606/D.18.2014.tde-02102014-095241. Retrieved 2024-09-17, from www.teses.usp.br
10. Arroyo, B. J., Bezerra, A. C., Oliveira, L. L., Arroyo, S. J., de Melo, E. A., Santos, A. M. P., 2020. Antimicrobial active edible coating of alginate and chitosan add ZnO nanoparticles applied in guavas (*Psidium guajava* L.). *Food Chem.*, 309, 125566. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125566
11. Ayinde, W. B., Gitari, W. M., Munkombwe, M., Samie, A., Smith, J. A., 2020. Green synthesis of AgMgOnHaP nanoparticles supported on chitosan matrix: defluoridation and antibacterial effects in groundwater. *J. Environ. Chem. Eng.*, 8(5), 104026. https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104026

12. Bahcelioglu, E., Unalan, H. E., Erguder, T. H., 2020. Silver-based nanomaterials: A critical review on factors affecting water disinfection performance and silver release. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 51(20), 2389-2423. https://doi.org/10.1080/10643389.2020.1784666
13. Bhardwaj, A. K., Sundaram, S., Yadav, K. K., Srivastav, A. L., 2021. An overview of silver nano-particles as promising materials for water disinfection. *Environ. Technol. Innov.*, 23, 101721. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101721
14. Bharti, S., Mukherji, S., Mukherji, S., 2019. Water disinfection using fixed bed reactors packed with silver nanoparticle immobilized glass capillary tubes. *Sci. Total Environ.*, 689, 991-1000. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.482.
15. Bolewski, A., Matosz, M., Pohorecki, W., del Hoyo-Meléndez, J.M., 2020. Comparison of neutron activation analysis (NAA) and energy dispersive X-ray fluorescence (XRF) spectrometry for the non-destructive analysis of coins minted under the early Piast dynasty. *Radiat. Phys. Chem. Oxf. Engl.* 171:108699. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.108699
16. Borelli, E., 2020. Política de saneamento básico no Brasil versus Agenda 2030. Ponto-e-Vírgula, (27), 19-32. https://doi.org/10.23925/1982-4807.2020i27p19-32
17. Brasil Ministério da Saúde, 2006. Vigilância e controle da qualidade da água para consumo humano/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2006. 212 p. – (Série B. Textos Básicos de Saúde).
18. Brasil Ministério da Saúde, 2017. Portaria de Consolidação MS nº 5 de 28 de setembro de 2017. Dispõe sobre a Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde.
19. Brasil Ministério da Saúde, 2021. Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.
20. Cao, Q., Sang, L., Tu, J., Xiao, Y., Liu, N., Wu, L., Zhang, J., 2020. Rapid degradation of refractory organic pollutants by continuous ozonation in a micro-packed bed reactor. *Chemosphere*, 128621. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128621
21. Cardoso, M. F. M. 2023. Implementação de reator de leito fixo empacotado com células de *Aspergillus oryzae* IPT - 301 imobilizadas em esponja de poliuretano para a produção enzimática de fruto-oligossacarídeos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG.
22. Carvalho, R. C. D., Nahas, M. I. P., Heller, L., 2020. Localizing Sustainable Development Goal 6: An Assessment of Equitable Access to Sanitation in a Brazilian Metropolitan Region. *Sustainability*, 12(17), 6776. https://doi.org/10.3390/su12176776
23. Chafi, M., Akazdam, S., Asrir, C., Sebbahi, L., Gourich, B., Barka, N., Essahli, M., 2016. Continuous fixed bed reactor application for decolourization of textile effluent by adsorption on NaOH treated eggshell. *Int. J. Mater. Text. Eng.*, 9(10), 1242-1248. https://doi.org/10.5281/zenodo.1339009
24. Chang, C., Li, Z., Rad, S., Gan, L., Dai, J., Shahab, A., 2024. Preparation and application of nano TiO2 filmcoated recycled low-iron crushed glass in a novel

packed-bed photocatalytic reactor for efficient removal of biodegradable contaminants. *Environ. Technol. Innov.,* 33, 103541. https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103541

25. Chilakamarry, C. R., Mimi Sakinah, A. M., Zularism, A. W., Khilji, I. A., Kumarasamy, S., 2022. Glycerol Waste to Bio-Ethanol: Optimization of Fermentation Parameters by the Taguchi Method. *J. Chem.*, 2022(1), 4892992. https://doi.org/10.1155/2022/4892992
26. Ching, S. H., Bansal, N., Bhandari, B., 2017. Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(6), 1133-1152. https://doi.org/10.1080/10408398.2014.965773
27. Chopra, H., Bibi, S., Singh, I., Hasan, M. M., Khan, M. S., Yousafi, Q., Baig, A.A., Rahman, Md.M., Islam, F., Emran T.B., Cavalu, S., 2022. Green metallic nanoparticles: biosynthesis to applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, 10, 548. https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.874742
28. Corrêa, A. E. d. N., 2024. Biossíntese de nanopartículas de prata de diferentes fontes e a influência do pH sobre sua atividade antibacteriana. Dissertação (Mestrado em Microbiologia). <https://repositorio.uel.br/handle/123456789/8792>
29. Cruz, J. A. ; Sandre Junior, L. R. ; Ribeiro, B. M. ; Araujo, I. M. ; Xavier, M. C. A. ; Maiorano, A. E. ; Perna, R. F ; Morales, S. A. V., 2022. Application of immobilized *Aspergillus oryzae* IPT-301 cells in a packed bed reactor aiming at Fructooligosaccharides production. In: XXIII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS ? SINAFERM, 2022, Armação dos Búzios, RJ. Anais do Simpósio Nacional de Bioprocessos, 2022.
30. da Silva, C. A., Ribeiro, B. M., do Valle Trotta, C., Perina, F. C., Martins, R., de Souza Abessa, D. M., Barbieri, E., Simões, M. F., Ottoni, C. A., 2022. Effects of mycogenic silver nanoparticles on organisms of different trophic levels. *Chemosphere*, 308, 136540. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.136540
31. Dias, G. S., Santos, E. D., Xavier, M. C. A., Almeida, A. F., Silva, E. S., Maiorano, A. E., Perna, R. F., Morales, S. A. V., 2022. Study on the transfructosylation activity of *Aspergillus oryzae* IPT-301 cells in a packed bed reactor aiming at fructooligosaccharide production. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, v. 97, n. 10, p. 2904–2911. https://doi.org/10.1002/jctb.7163
32. Doganay, D., Kanicioglu, A., Coskun, S., Akca, G., Unalan, H. E., 2019. Silver-nanowire-modified fabrics for wide-spectrum antimicrobial applications. J*. Mater. Res.*, 34(4), 500–509. https://doi.org/10.1557/jmr.2018.467
33. Durán, N., Durán, M., De Jesus, M. B., Seabra, A. B., Fávaro, W. J., Nakazato, G., 2016. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: NBM*, 12(3), 789-799. https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.016
34. El-Aassar, A. H., Said, M. M., Abdel-Gawad, A. M., Shawky, H. A., 2013. Using silver nanoparticles coated on activated carbon granules in columns for microbiological pollutants water disinfection in Abu Rawash area, Great Cairo, Egypt. *Aust. J. Basic Appl. Sci.*, 7(1), 422-432.
35. El-Kady, M. M., Ansari, I., Arora, C., Rai, N., Soni, S., Verma, D. K., Singh, P., Mahmoud, A. E. D., 2023. Nanomaterials: A comprehensive review of

applications, toxicity, impact, and fate to environment. *J. Mol. Liq.*, 370, 121046. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.121046.
36. Fogler, S. C., 2012. Elements of chemical engineering reactions, 4. ed. Rio de Janeiro: LTC.
37. Fukuda, S., Noda, K., Oki, T., 2019. How global targets on drinking water were developed and achieved. *Nat. Sustain.*, 2(5), 429-434. https://doi.org/10.1038/s41893-019-0269-3
38. Gilca, A. F., Teodosiu, C., Fiore, S., Musteret, C. P., 2020. Emerging disinfection byproducts: A review on their occurrence and control in drinking water treatment processes. *Chemosphere*, 259, 127476. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127476
39. Gonçalves, V. S., Gurikov, P., Poejo, J., Matias, A. A., Heinrich, S., Duarte, C. M., Smirnova, I., 2016. Alginate-based hybrid aerogel microparticles for mucosal drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 107, 160-170. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.07.003
40. Guida, M., Di Onofrio, V., Gallè, F., Gesuele, R., Valeriani, F., Liguori, R., Spica, V. R., Liguori, G., 2016. *Pseudomonas aeruginosa* in swimming pool water: evidences and perspectives for a new control strategy. International journal of environmental research and public health, 13(9), 919. https://doi.org/10.3390/ijerph13090919
41. Halverson, L. J., 2009. Role of Alginate in Bacterial Biofilms. *Microbiol. Monographs*, 135–151.https://doi.org/10.1007/978-3-540-92679-5_6
42. Harish, V., Ansari, M.M., Tewari, D., Yadav, A.B., Sharma, N., Bawarig, S., García-Betancourt, M.L., Karatutlu, A., Bechelany, M., Barhoum, A., 2023. Cutting-edge advances in tailoring size, shape, and functionality of nanoparticles and nanostructures: A review. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, Volume 149, 2023. 105010, ISSN 1876-1070, https://doi.org/10.1016/j.jtice.2023.105010.
43. Hu, Z., Lu, N., Wang, F., Ma, Y., Sun, H., Zhu, Z., Li, A., 2021. Hollow porous organic polymers spheres decorated with silver nanoparticles for sterilization and oil/water separation. *Microporous Mesoporous Mater.*, 324, 111307. https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2021.111307
44. Hong, X., Wen, J., Xiong, X., Hu, Y., 2016. Silver nanowire-carbon fiber cloth nanocomposites synthesized by UV curing adhesive for electrochemical point-of-use water disinfection. *Chemosphere*, 154, 537-545. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.013
45. Instituto Trata Brasil, 2020. Saneamento. Disponível em: <www.tratabrasil.org.br >
46. ISO/TS 80004-2:2015, 2015. Nanotechnologies—Vocabulary—Part 2: Nano-Objects.
47. Javed, R., Zia, M., Naz, S., Aisida, S. O., Ain, N. U., Ao, Q., 2020. Role of capping agents in the application of nanoparticles in biomedicine and environmental remediation: recent trends and future prospects. *J. nanobiotechnol.*, 18, 1-15. https://doi.org/10.1186/s12951-020-00704-4
48. Kassab, G., Halalsheh, M., Klapwijk, A., Fayyad, M., Van Lier, J. B., 2010. Sequential anaerobic–aerobic treatment for domestic wastewater–a review.

Bioresour. Technol., 101(10), 3299-3310. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.039

49. Khan, M., Khan, M.S.A., Borah, K.K., Goswami, Y., Hakeem, K.R., Chakrabartty, I., 2021. The potential exposure and hazards of metal-based nanoparticles on plants and environment, with special emphasis on ZnO NPs, TiO_2 NPs, and AgNPs: a review. *Environ. Adv.*, 6, 100128. https://doi.org/10.1016/j.envadv.2021.100128
50. Kıvılcımdan Moral, Ç., & Yıldız, M., 2016. Alginate production from alternative carbon sources and use of polymer based adsorbent in heavy metal removal. *Int. J. Polym. Sci.*, 2016(1), 7109825. https://doi.org/10.1155/2016/7109825
51. Ko, Y. S., Park, S., Ko, G., Woo, K., 2021. Bactericidal activity of immobilized silver nanoparticles on silica substrates with different sizes. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 1-11. https://doi.org/10.1007/s11356-021-17710-0
52. Kresch, E. P., Schneider, R., 2020. Political determinants of investment in water and sanitation: Evidence from Brazilian elections. *Econ. Lett.*, 109041. https://doi.org/10.1016/j.econlet.2020.109041
53. Kumar, S., Bhanjana, G., Sharma, A., Sidhu, M. C., Dilbaghi, N., 2014. Synthesis, characterization and on field evaluation of pesticide loaded sodium alginate nanoparticles. *Carbohydr. Polym.*, 101, 1061-1067. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.10.025
54. Laha, A., Biswas, D., Basak, S., 2019. Nanotechnology Explored for Water Purification. In Advanced Research in Nanosciences for Water Technology (pp. 181-193). *Springer, Cham*. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02381-2_8
55. Levenspiel, O., 1999. Chemical Reaction Engineering. 3rd Edition. John Wiley & Sons, New York, 54. http://dx.doi.org/10.1021/ie990488g
56. Li, W.-R., Sun, T.-L., Zhou, S.-L., Ma, Y.-K., Shi, Q.-S., Xie, X.-B., Huang, X.-M., 2017. A comparative analysis of antibacterial activity, dynamics, and effects of silver ions and silver nanoparticles against four bacterial strains. *Int. Biodeterior. Biodegradation.*, 123, 304–310. https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.07.015
57. Li, W. R., Xie, X. B., Shi, Q. S., Zeng, H. Y., Ou-Yang, Y. S., Chen, Y. B., 2010. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85, 1115-1122. https://doi.org/10.1007/s00253-009-2159-5
58. Liao, S., Zhang, Y., Pan, X., Zhu, F., Jiang, C., Liu, Q., Cheng, Z., Dai, G., Wu, G., Wang, L., Chen, L., 2019. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Nanomed.,* 1469-1487. https://doi.org/10.2147/IJN.S191340
59. Liu, G., Yu, R., Jiang, J., Ding, Z., Ma, J., Liang, R., 2021. Robust immobilization of anionic silver nanoparticles on cellulose filter paper toward a low-cost point-of-use water disinfection system with improved anti-biofouling properties. *RSC Adv.*, 11(9), 4873-4882. https://doi.org/10.1039/D0RA09152A
60. Loza, K., Heggen, M., Epple, M., 2020. Synthesis, structure, properties, and applications of bimetallic nanoparticles of noble metals. *Adv. Funct. Mater.*, 30(21), 1909260. https://doi.org/10.1002/adfm.201909260
61. Luukkonen, T., Bhuyan, M., Hokajärvi, A. M., Pitkänen, T., Miettinen, I. T., 2022. Water disinfection with geopolymer–bentonite composite foam

containing silver nanoparticles. *Mater. Lett.*, 131636. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.131636

62. Mazumder, J. A., Perwez, M., Noori, R., Sardar, M., 2019. Development of sustainable and reusable silver nanoparticle-coated glass for the treatment of contaminated water. Environ. *Sci. Pollut.* Res., 26(22), 23070-23081. https://doi.org/10.1007/s11356-019-05647-4
63. Mebrahtom, S., Worku, A., Gage, D. J., 2022. The risk of water, sanitation and hygiene on diarrhea-related infant mortality in eastern Ethiopia: a population-based nested case-control. *BMC Public Health*, 22(1), 1-14. https://doi.org/10.1186/s12889-022-12735-7
64. Mohapatra, T., Kumar, V., Sharma, M., Ghosh, P., 2021. Hybrid fenton oxidation processes with packed bed or fluidized bed reactor for the treatment of organic pollutants in wastewater: A review. *Environ. Eng. Sci.*, 38(6), 443-457. https://doi.org/10.1089/ees.2020.0070
65. Moon, S., Ham, S., Jeong, J., Ku, H., Kim, H., Lee, C., 2023. Temperature matters: Bacterial response to temperature change. *J. Microbiol.,* 61(3), 343-357. https://doi.org/10.1007/s12275-023-00031-x
66. Mumtaz, S., Ali, S., Mumtaz, S., Mughal, T. A., Tahir, H. M., Shakir, H. A., 2023. Chitosan conjugated silver nanoparticles: the versatile antibacterial agents. *Polym. Bull.*, 80, 4719–4736. https://doi.org/10.1007/s00289-022-04321-z
67. Nawaz, M., Han, M. Y., Kim, T. I., Manzoor, U., Amin, M. T., 2012. Silver disinfection of *Pseudomonas aeruginosa* and *E. coli* in rooftop harvested rainwater for potable purposes. *Sci. Total Environ.*, 431, 20-25. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.022
68. Ndaba, B., Roopnarain, A., Haripriya, R. A. M. A., Maaza, M., 2022. Biosynthesized metallic nanoparticles as fertilizers: An emerging precision agriculture strategy. *J. Integr. Agric.*, 21(5), 1225-1242. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(21)63751-6
69. Neethu, S., Radhakrishnan, E. K., Jyothis, M., 2019. Biofabrication of nanoparticles using fungi. *Nanotechnol. Agric.: Adv. Sustain. Agric.*, 53-73. https://doi.org/10.1007/978-981-32-9370-0_4
70. Nwanya, A. C., Razanamahandry, L. C., Bashir, A. K. H., Ikpo, C. O., Nwanya, S. C., Botha, S., Ntwampe, S.K.O., Ezema, F. I., Iwuoha, E. I., Maaza, M., 2019. Industrial textile effluent treatment and antibacterial effectiveness of Zea mays L. Dry husk mediated bio-synthesized copper oxide nanoparticles. *J. Hazard. Mater.*, 375, 281-289. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.004
71. Oe, T., Dechojarassri, D., Kakinoki, S., Kawasaki, H., Furuike, T., Tamura, H., 2023. Microwave-assisted incorporation of AgNP into chitosan–alginate hydrogels for antimicrobial applications. *J. Funct. Biomater.*, 14(4), 199. https://doi.org/10.3390/jfb14040199
72. Ohshima, T., Okuyama, K., Sato, M., 2002. Effect of culture temperature on high-voltage pulse sterilization of *Escherichia coli. J. Electrost.*, 55(3-4), 227-235. https://doi.org/10.1016/S0304-3886(01)00206-6
73. Organização das Nações Unidas (ONU), 2023. 46% da população global vive sem acesso a saneamento básico. ONU News. Disponível em:

https://news.un.org/pt/story/2023/03/1811712 > Acesso em: 19 de agosto de 2023.

74. Ottoni, C. A., Simões, M. F., Fernandes, S., Dos Santos, J. G., Da Silva, E. S., de Souza, R. F. B., Maiorano, A. E., 2017. Screening of filamentous fungi for antimicrobial silver nanoparticles synthesis. *AMB Express*, 7(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/s13568-017-0332-2
75. Ottoni, C. A., Neto, M. L., Léo, P., Ortolan, B. D., Barbieri, E., De Souza, A. O., 2020. Environmental impact of biogenic silver nanoparticles in soil and aquatic organisms. *Chemosphere*, 239, 124698. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124698
76. Patar, M., Moyon, N. S., Sinha, T., 2022. Biogenic Fabrication of Silver Nanoparticles: A Potent and Ideal Candidate for Wastewater Treatment and Water Disinfection. *ChemistrySelect*, 7(1), e202103374. https://doi.org/10.1002/slct.202103374
77. Pereira, D. S., L Fraga, J., M Diniz, M., C Fontes-Sant'Ana, G., FF Amaral, P., 2018. High catalytic activity of lipase from *Yarrowia lipolytica* immobilized by microencapsulation. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(11), 3393. https://doi.org/10.3390/ijms19113393
78. Pereira, A. D. S., Diniz, M. M., De Jong, G., Gama Filho, H. S., Dos Anjos, M. J., Finotelli, P. V., Amaral, P. F., 2019. Chitosan-alginate beads as encapsulating agents for *Yarrowia lipolytica* lipase: morphological, physico-chemical and kinetic characteristics. *Int. J. Biol. Macromol.*, 139, 621-630. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.08.009
79. Pettignano, A., Aguilera, D. A., Tanchoux, N., Bernardi, L., Quignard, F., 2019. Alginate: a versatile biopolymer for functional advanced materials for catalysis. *In Studies in surface science and catalysis*. *Elsevier.*, 178, 357-375. *Elsevier*. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64127-4.00017-3
80. Puti, F. D. C., 2014. Aplicação de filmes com nanopartículas de prata na conservação de morangos. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/7204>
81. Phan, H. T., Haes, A. J., 2019. What does nanoparticle stability mean?. *The J. Phys. Chem. C*, 123(27), 16495-16507. https://doi.org//10.1021/acs.jpcc.9b00913
82. Rabin, N., Zheng, Y., Opoku-Temeng, C., Du, Y., Bonsu, E., Sintim, H. O., 2015. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med. Chem.*, 7(4), 493-512. https://doi.org/10.4155/fmc.15.6
83. Rajan, R., Huo, P., Chandran, K., Dakshinamoorthi, B.M., Yun, S., Liu, B., 2022. A review on the toxicity of silver nanoparticles against different biosystems. *Chemosphere* 292, 133397. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133397
84. Ribeiro, B.M., de Sandre Junior, L.R., de Souza Dias, G., Xavier, M.D.C.A., da Silva, E.S., Maiorano, A.E., Perna, R.F, Morales, S.A.V., 2023. Crosslinked whole cells for the sucrose transfructosylation reaction in a continuous reactor. *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, (00), 15-15.
85. Rosa, L. R., Rosa, R. D., Da Veiga, M. A. M. S., 2016. Colloidal silver and silver nanoparticles bioaccessibility in drinking water filters. *J. Environ. Chem. Eng.*, 4(3), 3451–3458. https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.07.017

86. Roy, A., Butola, B. S., Joshi, M., 2017. Synthesis, characterization and antibacterial properties of novel nano-silver loaded acid activated montmorillonite. *Appl. Clay Sci.*, 146(June), 278–285. https://doi.org/10.1016/j.clay.2017.05.043
87. Salem, S.S., 2023. A mini review on green nanotechnology and its development in biological effects. *Arch. Microbiol.* 205, 128. https://doi.org/10.1007/s00203-023-03467-2
88. Sarangi, P. P., 2011. Biochemical characterization and antibiotic resistance of some medically important bacterial isolates (Doctoral dissertation).
89. Sardar, M., Mazumder, J. A., 2011. Biomolecules assisted synthesis of metal nanoparticles. *Environ. Nanotechnol.*: 2, 1-23. https://doi.org/10.1007/978-3-319-98708-8_1
90. Sharma, G., Sharma, S., Sharma, P., Chandola, D., Dang, S., Gupta, S., Gabrani, R., 2016. *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *J. Appl. Microbiol.*, 121(2), 309-319. https://doi.org/10.1111/jam.13078
91. Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Priya, P. M. S., Shivalkar, S., Samanta, S. K., 2020. Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. *Appl. Biotechnol. Rep.*, e00427. https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00427
92. Silva Junior, A. G. D., 2017. Desenvolvimento de biossensor impedimétrico nanoestruturado baseado em nanopartículas de ouro e peptídeo antimicrobiano para detecção de bactérias de interesse clínico (Master's thesis, Universidade Federal de Pernambuco). <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/31400>
93. Sonawane, H., Shelke, D., Chambhare, M., Dixit, N., Math, S., Sen, S., Borah, S.N., Islam, N.F., Joshi, S.J., Yousaf, B., Rinklebe, J., Sarma, H., 2022. Fungi-derived agriculturally important nanoparticles and their application in crop stress management–Prospects and environmental risks. *Environ. Res.*, 212, 113543. https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113543
94. Song, B., Zhang, C., Zeng, G., Gong, J., Chang, Y., Jiang, Y., 2016. Antibacterial properties and mechanism of graphene oxide-silver nanocomposites as bactericidal agents for water disinfection. *Arch. Biochem. Biophys.*, 604, 167-176. https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.04.018
95. Stabryla, L. M., Johnston, K. A., Millstone, J. E., Gilbertson, L. M., 2018. Emerging investigator series: It's not all about the ion: Support for particle-specific contributions to silver nanoparticle antimicrobial activity. *Environ. Sci. Nano*, 5(9), 2047–2068. https://doi.org/10.1039/C8EN00429C
96. Tan, X., Chen, C., Hu, Y., Wen, J., Qin, Y., Cheng, J., Chen, Y., 2018. Novel AgNWs-PAN/TPU membrane for point-of-use drinking water electrochemical disinfection. *Sci. Total Environ.*, 637, 408-417. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.012
97. Tartanson, M. A., Soussan, L., Rivallin, M., Chis, C., Penaranda, D., Lapergue, R., Calmels, P., Faur, C., 2014. A new silver based composite material for SPA water disinfection. *Water Res.*, 63, 135–146. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.06.019

98. Thi, M. T. T., Wibowo, D., Rehm, B. H., 2020. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(22), 8671. https://doi.org/10.3390/ijms21228671
99. Tripathi, N., Goshisht, M. K., 2022. Recent advances and mechanistic insights into antibacterial activity, antibiofilm activity, and cytotoxicity of silver nanoparticles. *ACS Appl. Bio Mater.*, 5(4), 1391-1463. https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00014
100. UNICEF. WHO, 2017. Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene: 2017 Update and SDG Baselines. World Health Organization (WHO) and the United Nations Children's Fund (UNICEF).
101. United Nations, 2023. Report of the United Nations Conference on the Midterm Comprehensive Review of the Implementation of the Objectives of the International Decade for Action, "Water for Sustainable Development", 2018–2028. New York, USA. https://documents.un.org/doc/undoc/gen/n23/315/00/pdf/n2331500.pdf
102. USEPA, 2002. EPA-821-R-02-013: Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms. U.S.*Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington*, DC, 335p.
103. USEPA, 2018. 2018 edition of the drinking water standards and health advisories. In United States Environmental Protection Agency.
104. Vetrivel, A., Ramasamy, M., Vetrivel, P., Natchimuthu, S., Arunachalam, S., Kim, G. S., Murugesan, R., 2021. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and its control. *Biologics*, 1(3), 312-336. https://doi.org/10.3390/biologics1030019
105. Wen, J., Tan, X., Hu, Y., Guo, Q., Hong, X. (2017). Filtration and Electrochemical Disinfection Performance of PAN/PANI/AgNWs-CC Composite Nanofiber Membrane. *Environmental Science & Technology*, 51(11), 6395–6403. https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06290
106. WHO, 2011. Guidelines for Drinking-Water Quality; WHO, 2011. There is no corresponding record for this reference.
107. WHO, 2017. Guidelines for drinking water quality (4th Ed.). https://doi.org/10.1016/S1462-0758(00)00006-6
108. WHO, 2022. Drinking-water. World Health Organization (WHO) fact sheets.
109. Wolf, J., Hunter, P. R., Freeman, M. C., Cumming, O., Clasen, T., Bartram, J., Prüss-Ustün, A., 2018. Impact of drinking water, sanitation and handwashing with soap on childhood diarrhoeal disease: updated meta-analysis and meta-regression. *TM & IH,* 23(5), 508-525. https://doi.org/10.1111/tmi.13051
110. Yusuf, A. O., Mohamed, G. H., Al-Sakkaf, R., Rodríguez, J., Žerjav, G., Pintar, A., Palmisano, G., 2024. Photocatalytic degradation of diclofenac amide in a fixed-bed reactor using TiO2/β-Bi2O3: Process optimization and stability analysis. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, 450, 115470. https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2024.115470
111. Zainab, S., Jadoon, M., Sikandar, S., Ali, N., 2023. *Thermomyces lanuginosus*: A prospective thermophilic fungus for green synthesis and stabilization of BioAgNPs through glucoamylase. *Mater. Chem. Phys.,* 297, 127442. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2023.127442

112. Zarei, M., Jamnejad, A., Khajehali, E., 2014. Antibacterial effect of silver nanoparticles against four foodborne pathogens. *Jundishapur J. Microbiol*., 7(1). https://doi.org/10.5812/jjm.8720
113. Zhang, H. Z., Zhang, C., Zeng, G. M., Gong, J. L., Ou, X. M., Huan, S. Y., 2016. Easily separated silver nanoparticle-decorated magnetic graphene oxide: Synthesis and high antibacterial activity. *J. Colloid Interface Sci.*, 471, 94–102. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.03.015
114. Zwar, I. P., 2021. Biossíntese de nanopartículas de prata por actinomicetos e sua potencial aplicação no setor agrícola. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo.
115. Zwar, I.P., Trotta, C.V., Ziotti, A.B.S., Neto, M.L., Araújo, W.L., Melo, I.S., Ottoni, C.A., Souza, A.O., 2022. Biosynthesis of silver nanoparticles using actinomycetes, phytotoxicity on rice seeds, and potential application in the biocontrol of phytopathogens. *J. Basic Microbiol*. https://doi.org/10.1002/jobm.202200439.