



MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA DO AMBIENTE 2016/2017

**DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA PARA PURIFICAÇÃO DE ÁGUA
ATRAVÉS DO USO DE NANOMATERIAIS**

MARIANA CERDEIRA LOPES COSTA PINTO

Dissertação submetida para obtenção do grau de
MESTRE EM ENGENHARIA DO AMBIENTE

Presidente do Júri: Cidália Maria de Sousa Botelho
(Professor Auxiliar do Departamento de Engenharia Química da Faculdade de
Engenharia da Universidade do Porto)

Orientador académico: Olívia Salomé Gonçalves Pinto Soares, Investigador Auxiliar
Coorientador académico: Manuel Fernando Ribeiro Pereira, Professor Associado
Coorientador académico: Olga Cristina Pastor Nunes, Professor Auxiliar

Orientador na empresa: Alexandra Gonçalves, Investigadora e Engenheira de
desenvolvimento na Bosch Termotecnologia, Aveiro

Porto, junho de 2017

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA DO AMBIENTE 2016/2017

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

Tel. +351- 22 508 1884

Fax +351- 22 508 1449

✉ mjmota@fe.up.pt

Editado por

FACULDADE DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE DO PORTO

Rua Dr. Roberto Frias

4200-465 PORTO

Portugal

Tel. +351- 22 508 1400

Fax +351- 22 508 1440

✉ feup@fe.up.pt

🌐 <http://www.fe.up.pt>

Reproduções parciais deste documento serão autorizadas na condição que seja mencionado o Autor e feita referência a *Mestrado Integrado em Engenharia do Ambiente - 2016/2017 - Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2017.*

As opiniões e informações incluídas neste documento representam unicamente o ponto de vista do respetivo Autor, não podendo o Editor aceitar qualquer responsabilidade legal ou outra em relação a erros ou omissões que possam existir.

Este documento foi produzido a partir de versão eletrónica fornecida pelo respetivo Autor.

Aos meus Pais,
Avós e Irmão

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar o meu profundo agradecimento às inúmeras pessoas que me apoiaram e contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho, e a todos aqueles que me acompanharam durante o percurso académico:

- › Aos meus orientadores, Doutora Salomé Soares, Professora Doutora Olga Nunes, Professor Doutor Fernando Pereira e Doutora Alexandra Gonçalves pela oportunidade de realizar este trabalho, pela disponibilidade, dedicação e conhecimento transmitido;
- › À Bosch Termotecnologia pela oportunidade de colaboração e de explorar esta brilhante ideia;
- › À Patrícia Ramalho, Sara Cunha, Nuno Moreira, Carla Pinto, Carla Ferreira e Diogo Santos por todo apoio, e ajuda nos laboratórios e conhecimentos transmitidos;
- › À Beatriz Vasconcelos e Raquel Correia, por terem tido a paciência de ler este trabalho;
- › Ao Alexander Uzcategui, Francisca Braga e Frederico Moreira por terem sido as pessoas que sempre me acompanharam durante os cinco anos de curso;
- › A todos os Professores e Amigos, que tornaram esta viagem bastante mais fácil, contribuindo para alargar os meus horizontes;
- › Aos meus pais e em especial ao meu irmão por ter sido sempre um exemplo para mim;

Este trabalho foi parcialmente financiado pelos projetos:

(i) “AIProcMat@N2020 - Advanced Industrial Processes and Materials for a Sustainable Northern Region of Portugal 2020”, com referência NORTE-01-0145-FEDER-000006, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE 2020), através do Portugal 2020 e do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER) e do Projeto POCI-01-0145-FEDER-006984 - Laboratório Associado LSRE-LCM - financiado FEDER, através do COMPETE2020 – Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) e por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia I.P.

(ii) POCI-01-0145-FEDER-006939 (Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, UID/EQU/00511/2013) financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do COMPETE2020 – Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI) e por fundos nacionais através da Fundação para a Ciência e a Tecnologia I.P.

(iii) NORTE-01-0145-FEDER-000005 – LEPABE-2-ECO-INNOVATION, cofinanciado pelo Programa Operacional Regional do Norte (NORTE 2020), através do Portugal 2020 e do Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).



BOSCH

Tecnologia para a vida

RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se desenvolver uma tecnologia para a purificação de água através do uso de nanomateriais. A empresa Bosch Termotecnologia, localizada em Aveiro, sugeriu este trabalho com o objetivo de estudar a viabilidade da utilização de nanopartículas magnéticas na remoção de microrganismos presentes na água para consumo doméstico, com foco em países em desenvolvimento, como a Índia e a China. A abordagem seguida visa a aplicação desta tecnologia no ponto de uso de residências, como por exemplo, em torneiras.

Sintetizou-se 7 tipos de nanopartículas diferentes com base em óxidos de ferro (FeO) nas quais se adicionou durante a síntese: Mn, Co, Cu ou carvão ativado; e se revestiu com materiais de carbono ou carbono dopado com azoto por deposição química em fase vapor (do inglês CVD). Os nanomateriais sintetizados foram caracterizados por diferentes técnicas: análise termogravimétrica, adsorção de azoto a -196 °C, redução a temperatura programada, microscopia eletrónica de transmissão e microscopia eletrónica de varrimento/ espectroscopia de raios-X por dispersão em energia.

Avaliou-se a eficácia de remoção das bactérias de uma suspensão bacteriana de *Escherichia coli* (*E. coli*) para cada uma das nanopartículas magnéticas produzidas. Todos os ensaios foram realizados em reator fechado, nas mesmas condições. Para os 3 nanomateriais mais promissores (FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD) realizaram-se ensaios adicionais. Executaram-se ensaios de remoção de *E. coli* (gram-negativa) variando o tempo de agitação e a concentração de catalisador. Efetuaram-se, também, ensaios de remoção de *Staphylococcus aureus* (gram-positiva), para os 3 catalisadores mais promissores, nas condições de concentração de catalisador e tempo escolhidas, para comparação. Igualmente, efetuaram-se ensaios para uma água de um poço situado na cidade de Vila Nova de Gaia para as partículas FeO e CuFeO.

Adicionalmente, realizaram-se 2 ensaios num reator a operar de modo contínuo usando uma suspensão bacteriana de *E. coli* e água do poço referido anteriormente, usando um leito fixo com nanopartículas magnéticas de FeO.

Finalmente, recorreu-se ao kit Live/Dead para verificar as propriedades antibacterianas das partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD sob as bactérias (*E. coli* e *S. aureus*).

Os ensaios realizados em reator fechado permitiram concluir que os materiais, FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD, são bastante promissores para a aplicação em estudo. Nos ensaios realizados em reator contínuo com as partículas FeO não se verificou uma elevada remoção de bactérias, sendo necessária a otimização deste processo.

PALAVRAS-CHAVE: Nanopartículas magnéticas (NPMs), purificação de água, remoção de bactérias, água potável.

ABSTRACT

This project aims at developing a water purification technology by using nanomaterials. The company, Bosch Termotecnologia, located in Aveiro, suggested this work with the goal of studying the viability of magnetic nanoparticles at removing existing microorganisms in water for domestic consumption, with special focus in developing countries, like India and China. The following approach intends this technology to be applied in residencies, for example, domestic taps.

There were 7 kinds of different nanomaterials synthesized with base on iron oxides (FeO) in which it was added during its synthesis: Mn, Co, Cu or activated carbon; and was it coated with carbon or nitrogen doped carbon by CVD. The nanomaterials synthesised were characterized by different techniques: thermogravimetric analysis, nitrogen adsorption at -196 °C, temperature-programmed reduction, transmission electron microscopy, scanning electron microscope/ energy-dispersive X-ray spectroscopy.

In this work, the bacteria removal efficiencies from a bacterial suspension of *Escherichia coli* (*E. coli*) for each of the magnetic nanoparticles produced were evaluated. All the tests were performed in batch, all in the same test conditions. For each of the most promising nanoparticles (FeO, CuFeO and N-CFeO@CVD) additional batch tests were performed. Tests of the removal of *E. coli* (gram-negative) with variation of contact time and catalyst concentration were executed. Tests for the removal of *Staphylococcus aureus* (gram-positive) were also performed with a chosen catalyst concentration and time for comparison with *E. coli*. In addition, experiments, for a water from a well located in the city of Vila Nova de Gaia were also carried out with the nanoparticles FeO and CuFeO.

Additionally, 2 tests were performed in a continuous reactor with FeO nanoparticles. A bacterial suspension of *E. coli* and the water referenced before were used.

Finally, the Live/Dead kit was used to investigate the behaviour of the bacteria (*E. coli* and *S. aureus*) when in contact with FeO, CuFeO and N-CFeO@CVD nanoparticles.

The experiments carried out in batch reactors, showed that the synthesised nanoparticles, in particular, FeO, CuFeO and N-CFeO@CVD, are very promising for the application considered in this work. In the continuous reactor tests, executed with FeO particles, the removal efficiency was not very high, more optimization tests being necessary for this bacteria removal process.

KEYWORDS: Magnetic nanoparticles (MNPs), water purification, bacteria removal, drinking water.

ÍNDICE GERAL

Resumo	iii
Abstract	v
Nomenclatura	xv
Nota da Empresa – Bosch Termotecnologia S.A.	1
1. Introdução	3
1.1. Enquadramento	3
1.2. Desinfecção Química	4
1.3. Desinfecção Física	6
1.4. Processos de tratamento de água com nanomateriais	8
1.5. Âmbito do Projeto e Objetivos	8
2. Estado da Arte	11
2.1. Nanomateriais no Tratamento de águas	11
2.2. Nanopartículas magnéticas na purificação de água	15
2.3. Consequências da utilização de campos magnéticos na água	16
2.4. Parâmetros e condições influenciáveis da água e dos microrganismos no tratamento com nanopartículas magnéticas	17
3. Materiais e Métodos	23
3.1. Síntese das nanopartículas magnéticas	23
3.1.1. Síntese de partículas Fe_2O_3 (FeO)	23
3.1.2. Síntese de partículas MnFe_2O_4 (MnFeO)	23
3.1.3. Síntese de partículas CoFe_2O_4 (CoFeO)	24
3.1.4. Síntese de partículas CuFe_2O_4 (CuFeO)	24
3.1.5. Síntese de partículas Fe_2O_3 com carvão ativado (Compósito FeO/CA)	25
3.1.6. Síntese de partículas Fe_3O_4 revestidas com material de carbono por CVD (CFeO@CVD) ..	25

3.1.7. Síntese de partículas Fe_3O_4 revestidas com material de carbono dopado com azoto por CVD (N-CFeO@CVD)	26
3.2. Caracterização das nanopartículas magnéticas	26
3.2.1. Análise Termogravimétrica (TGA)	26
3.2.2. Adsorção de azoto a -196°C	26
3.2.3. Redução a temperatura programada (TPR)	26
3.2.4. Microscopia eletrónica de transmissão (TEM)	27
3.2.5. Microscopia eletrónica de varrimento (SEM) / Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS)	27
3.3. Remoção de células bacterianas em ensaios em reator fechado	27
3.3.1. Preparação das suspensões bacterianas	27
3.3.2. Ensaios em reator fechado	28
3.3.3. Enumeração das células cultiváveis	28
3.3.4. Parâmetros testados	31
3.3.4.1. Ensaios de controlo	31
3.3.4.2. Comparação das nanopartículas magnéticas.....	31
3.3.4.3. Cinética de remoção de <i>E. coli</i>	32
3.3.4.4. Influência da concentração de NPMs na remoção de <i>E. coli</i>	32
3.3.4.5. Comparação dos resultados obtidos para a <i>E. coli</i> (gram-negativa) com <i>S. aureus</i> (gram-positiva) e uma água real	33
3.3.4.6. Ensaios de reutilização das partículas FeO e CuFeO	33
3.4. Remoção de células bacterianas em ensaios em reator contínuo	34
3.4.1. Preparação das suspensões bacterianas	34
3.4.2. Ensaios em contínuo	34
3.4.3. Enumeração das células cultiváveis	35
3.4.4. Parâmetros testados	36
3.4.4.1. Ensaio em contínuo com uma suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>	36

3.4.4.2. Ensaio em contínuo com uma água real	37
3.5. Enumeração das células vivas e mortas	37
4. Resultados e Discussão.....	39
4.1. Caracterização das nanopartículas magnéticas.....	39
4.1.1. Análise Termogravimétrica (TGA)	39
4.1.2. Adsorção de azoto a -196°C.....	41
4.1.3. Redução a temperatura programada (TPR)	42
4.1.4. Microscopia eletrónica de transmissão (TEM).....	44
4.1.5. Microscopia eletrónica de varrimento (SEM) / Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS)	45
4.2. Remoção de células bacterianas em ensaios em reator fechado	50
4.2.1. Ensaios de controlo.....	50
4.2.2. Comparação das nanopartículas magnéticas.....	50
4.2.3. Cinética de remoção de <i>E. coli</i>	51
4.2.4. Influência da concentração de NPMs na remoção de <i>E. coli</i>	55
4.2.5. Comparação dos resultados obtidos para a <i>E. coli</i> (gram-negativa) com <i>S. aureus</i> (gram-positiva) e uma água real.....	58
4.2.6. Ensaios de reutilização das partículas FeO e CuFeO	60
4.3. Remoção de células bacterianas em ensaios em contínuo	62
4.3.1. Ensaio em contínuo com uma suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>	62
4.3.2. Ensaio em contínuo com uma água real	63
4.4. Enumeração das células vivas e mortas	64
4.4.1. Ensaios com suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>	64
4.4.2. Ensaios com suspensão bacteriana de <i>S. aureus</i>	68
5. Conclusão	71
6. Perspetivas para o futuro	73

Referências Bibliográficas	75
----------------------------------	----

Anexos	
--------	--

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Nanomateriais correntemente em avaliação como materiais funcionais para a purificação da água.....	12
Figura 2: Esquema para o crescimento de carbono por CVD com etano à temperatura de 750 °C	25
Figura 3: Exemplo ilustrativo dos ensaios realizados em reator fechado	30
Figura 4: Imagem do procedimento realizado para os ensaios de reator em contínuo: (a) reator, b) bomba peristáltica, c) suspensão bacteriana antes do tratamento	35
Figura 5: Termográficos das nanopartículas magnéticas FeO antes e após o revestimento por CVD e do compósito FeO/CA (a) e das NPMs CoFeO, CuFeO e MnFeO (b)	40
Figura 6: Perfil TPR das nanopartículas magnéticas FeO antes e após o revestimento por CVD (a), MnFeO (b), CoFeO (c), CuFeO (d) e compósito FeO/CA (e)	43
Figura 7: Imagens de TEM das partículas de FeO (a), CFeO@CVD (b) e N-CFeO@CVD (c)	44
Figura 8: Imagens de SEM de partículas FeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	45
Figura 9: Imagens de SEM de partículas CFeO@CVD com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	46
Figura 10: Espectro EDS das partículas CFeO@CVD para a zona 1 (vermelho) e zona 2 (verde)	46
Figura 11: Imagens de SEM de partículas N-CFeO@CVD com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	47
Figura 12: Imagens de SEM das partículas compósitas FeO/CA com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	47
Figura 13: Imagens de SEM de partículas MnFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	48
Figura 14: Imagens de SEM de partículas CoFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	48
Figura 15: Imagens de SEM de partículas CuFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)	49
Figura 16: Espectro EDS das partículas CuFeO para a zona 1 (vermelho) e zona 2 (verde)	49
Figura 17: Remoção (%) (a) e redução em log (b) de <i>E. coli</i> para cada tipo de NPM sintetizada	51
Figura 18: Cinética de remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> por FeO	52
Figura 19: Cinética de remoção (%) e redução log de <i>E. coli</i> por CuFeO	53
Figura 20: Cinética de remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD	54
Figura 21: Remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> por FeO em função da concentração de catalisador	55

Figura 22: Remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> por CuFeO em função da concentração de catalisador	56
Figura 23: Remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD em função da concentração de catalisador	57
Figura 24: Eficiência de remoção (%) (a) e redução em log (b) de <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> e de heterotróficos totais de uma água real pelos catalisadores FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD	59
Figura 25: Eficiência de remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> pelos catalisadores CuFeO e FeO, respetivamente, nos ensaios de reutilização	61
Figura 26: Eficiência de remoção (%) e redução em log de <i>E. coli</i> pelo catalisador FeO num reator em contínuo	62
Figura 27: Eficiência de remoção (%) e redução em log de heterotróficos totais de uma água real pelo catalisador FeO num reator em contínuo.....	63
Figura 28: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>E. coli</i> antes a) e após o tratamento com partículas FeO b)	64
Figura 29: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>E. coli</i> antes a) e após o tratamento com partículas CuFeO b)	65
Figura 30: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>E. coli</i> antes a) e após o tratamento com partículas N-CFeO@CVD b).....	66
Figura 31: Imagens de SEM de partículas FeO (a) e CuFeO (b) após o contacto com <i>E. coli</i>	67
Figura 32: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>S. aureus</i> antes a) e após o tratamento com partículas FeO b).....	68
Figura 33: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>S. aureus</i> antes a) e após o tratamento com partículas CuFeO b)	69
Figura 34: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de <i>S. aureus</i> antes a) e após o tratamento com N-CFeO@CVD b)	70
Figura A1. 1: Reta de ajuste do caudal de rpm para mL/min.....	A1.1
Figura A3. 1: Controlo de pH para as NPMs N-CFeO@CVD (a), CuFeO (b) e FeO (c)	A3.1

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Exemplos de microrganismos patogénicos tendo como fonte a água e respetivas doenças [3, 8]	4
Tabela 2: Características de ensaios realizados para diferentes nanopartículas magnéticas presentes na literatura	19
Tabela 3: Condições de operação dos ensaios de controlo	31
Tabela 4: Condições de operação dos ensaios de comparação dos materiais	31
Tabela 5: Condições de operação dos ensaios de cinética de remoção	32
Tabela 6: Condições de operação dos ensaios de influência da concentração de NPMs na remoção de <i>E. coli</i>	32
Tabela 7: Condições de operação dos ensaios de comparação da bactéria <i>S.aureus</i>	33
Tabela 8: Condições de operação dos ensaios de reutilização das partículas (FeO para <i>S. aureus</i> e CuFeO para <i>E. coli</i>).....	34
Tabela 9: Condições de operação do ensaio em contínuo com uma suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>	36
Tabela 10: Condições de operação do ensaio em contínuo com uma água real	37
Tabela 11: Constituição, em percentagem, das nanopartículas magnéticas	41
Tabela 12: Caracterização textural das nanopartículas magnéticas	41
 Tabela A1. 1: Tempos determinados para encher um volume de 5 mL para 3 caudais diferentes ..	A1.1
Tabela A1. 2: Caudais obtidos em mL/min e caudais em rpm correspondentes	A1.1
 Tabela A2. 1: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de comparação de materiais	A2.1
Tabela A2. 2: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de <i>E. coli</i> por FeO	A2.1
Tabela A2. 3: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de <i>E. coli</i> por CuFeO	A2.2
Tabela A2. 4: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD	A2.2
Tabela A2. 5: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de <i>E. coli</i> por FeO em função da concentração de catalisador	A2.3

Tabela A2. 6: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de <i>E. coli</i> por CuFeO em função da concentração de catalisador	A2.3
Tabela A2. 7: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD em função da concentração de catalisador	A2.4
Tabela A2. 8: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios com gram-positiva (<i>S. aureus</i>) para as partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD	A2.4
Tabela A2. 9: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios com uma água real para as partículas FeO e CuFeO	A2.5
Tabela A2. 10: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de reutilização com partículas FeO e <i>S. aureus</i>	A2.5
Tabela A2. 11: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de reutilização com partículas CuFeO e <i>E. coli</i>	A2.5
Tabela A2. 12: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para o ensaio em reator contínuo com FeO e uma suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>	A2.6
Tabela A2. 13: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para o ensaio em reator contínuo com FeO e uma água real	A2.7

NOMENCLATURA

τ	Tempo de contacto
ϑ	Tempo de amostragem/Tempo de contacto
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
BET	Brunauer, Emmett e Taller
DLS	Espalhamento dinâmico de luz
EDS	Espectroscopia de raios-X por dispersão em energia
FTIR	Espectroscopia de Infravermelhos associada a Transformadas de Fourier
H-NMR	Espectroscopia por ressonância magnética nuclear
M	Molaridade
NPMs	Nanopartículas magnéticas
PCA	Plate count agar
PVC	Policloreto de vinilo
rpm	Rotações por minuto
SEM	Microscopia eletrónica de varrimento
STEM	Microscopia eletrónica de varrimento por transmissão
STEM-HAADF	Microscopia eletrónica de transmissão de varrimento de alta resolução
T	Temperatura
TEM	Microscopia eletrónica de transmissão
TGA	Análise termogravimétrica
UFCs	Unidades Formadoras de Colónias
XPS	Espectroscopia de fotoeletrões de raios-X
XRD	Difração de raios-X

NOTA DA EMPRESA – BOSCH TERMOTECNOLOGIA S.A.

Sob a designação de Vulcano Termodomésticos S.A., a Bosch Termotecnologia S.A. iniciou a sua atividade em Cacia (Aveiro), no dia 17 de março de 1977, com base num contrato de licenciamento com a Robert Bosch, para a transferência da tecnologia utilizada pela empresa alemã no fabrico de esquentadores.

Em 1988, a empresa foi adquirida pelo Grupo Bosch, que transferiu para Portugal competências e equipamentos, iniciando um processo de especialização dentro do Grupo.

Líder do mercado europeu desde 1992, e terceiro produtor mundial de esquentadores, a Bosch Termotecnologia SA é hoje o centro de competência da Robert Bosch para este produto, competindo-lhe a conceção e o desenvolvimento de novos aparelhos bem como, a sua produção e comercialização. Beneficiando de sinergias no desenvolvimento de aparelhos de queima a gás, a Bosch Termotecnologia iniciou em 1996 a produção de caldeiras murais a gás e em 2011 a produção de bombas de calor para uso doméstico.

O último passo no alargamento da gama de produtos produzidos em Aveiro, deu-se em 2016, com a produção de aparelhos elétricos para aquecimento de água.

Presente em 55 países e diversos mercados, desde a Europa até à Austrália, a Bosch Termotecnologia produz uma variada gama de modelos que são comercializados internacionalmente através de marcas próprias do Grupo (Bosch, Buderus, Junkers, Leblanc, Vulcano) ou de clientes.

Ao longo dos últimos anos a empresa introduziu no mercado mundial de esquentadores inúmeras inovações, como os aparelhos com ignição automática, esquentadores de elevada potência, o controlo remoto Celsius e a tecnologia de condensação. Produtos e componentes inovadores que se tornaram pontos de referência e que estimulam as vendas e reforçam a notoriedade dos seus produtos no mercado.

Além destes produtos inovadores que têm vindo a receber ao longo dos últimos anos inúmeros prémios nacionais e internacionais e que vêm comprovar o seu nível de excelência, a empresa melhora continuamente os seus próprios processos com o forte apoio e a participação de todos os seus colaboradores, sendo hoje reconhecida como uma das melhores empresas para trabalhar em Portugal.

As instalações de Aveiro e Lisboa encontram-se dentro do âmbito da certificação ISO 14001. O registo EMAS abrange apenas as instalações de Aveiro.

1

INTRODUÇÃO

1.1. ENQUADRAMENTO

Com o crescimento populacional, o desenvolvimento industrial e as alterações climáticas, têm vindo a surgir cada vez mais problemas associados à escassez de água potável. É expectável que, nas próximas décadas, estes problemas aumentem e a sua escassez se estenda às regiões onde este recurso é abundante, tornando-se imprescindível a inovação tecnológica para assegurar o seu fornecimento e a redução da sua poluição [1, 2]. A água é uma das principais fontes de contacto das pessoas aos agentes patogénicos em países em desenvolvimento, tendo como consequência problemas graves a nível da saúde pública [3, 4]. De acordo com a World Health Organization (WHO) e o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF), estima-se que, mundialmente, 663 milhões de pessoas não têm acesso a água potável, sendo que as regiões que mais sofrem com este problema são a África Subsariana (48%), a Ásia Meridional (20%) e a Ásia Oriental (10%) [5]. Adicionalmente, sabe-se que 11% das 7,6 milhões de mortes em crianças com menos de 5 anos devem-se a doenças gastrointestinais, sendo este acontecimento observado maioritariamente em países em desenvolvimento. Isto significa que 2 200 crianças morrem todos os dias como resultado deste tipo de doenças [6].

Microrganismos patogénicos, nomeadamente bactérias, existem na água em baixas concentrações, sendo consequentemente difícil a sua deteção e podendo agravar os riscos para a saúde humana [7]. Na Tabela 1 são apresentados os microrganismos mais comuns que estão na origem de doenças tendo a água como fonte e as respetivas doenças associadas.

Tabela 1: Exemplos de microrganismos patogénicos tendo como fonte a água e respetivas doenças [3, 8]

Grupo de microrganismo	Microrganismo	Doença
Bactérias	<i>Escherichia coli</i> patogénicas (<i>Enterohemorrágicas/enterotoxigénicas</i>) / <i>Shigella spp.</i>	Gastroenterite aguda
	<i>Salmonella typhi</i>	Febre tifoide
	<i>Salmonella paratyphi</i>	Febre paratifoide
	<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera
Vírus	Vírus da Hepatite A	Hepatite
	Vírus da Hepatite E	
	Poliovírus	Poliomielite
	Rotavírus	Gastroenterite
Protozoários	<i>Entamoeba histolytica</i>	Disenteria amébrica
	<i>Giardia lamblia</i>	Giardíase
Vermes	<i>Ascaris lumbricoides</i>	Ascaridíase

Para prevenir problemas de saúde pública, é necessário recorrer a tratamentos de desinfecção e purificação da água de modo a evitar o contacto das pessoas com estes organismos patogénicos [8]. Há mais de 6000 anos que existem diferentes tecnologias de tratamento de água, existindo evidências de a civilização grega utilizar filtros de carvão, ferver a água e expor a água residual à luz solar, com o objetivo de melhorar a qualidade estética deste recurso [3]. Atualmente, as tecnologias estão muito mais desenvolvidas passando principalmente por processos de desinfecção química, mas a desinfecção física está a ganhar cada vez mais relevância.

Idealmente, uma tecnologia de desinfecção de água, para além de matar todos os organismos potencialmente patogénicos, não deve adicionar compostos tóxicos à água e deve ser viável a nível económico. Normalmente, são usados compostos químicos com grandes capacidades desinfetantes como o cloro, cloroaminas e ozono, mas estes podem apresentar grandes riscos para a saúde humana devido à formação de mais de 600 tipos de subprodutos [9, 10].

1.2. DESINFEÇÃO QUÍMICA

Devido ao seu custo reduzido, à sua eficácia na desinfecção bacteriana da água e às características de operação, o gás cloro (Cl_2) tem sido o principal método usado para a desinfecção de

águas. Mas, como já foi referido, estes sistemas têm a desvantagem de produzir subprodutos tóxicos. O processo de cloração resulta na formação de compostos mutagénicos/carcinogénicos derivados da reação do cloro com compostos orgânicos presentes na água, e por isso, o tratamento dos mesmos antes do processo de desinfecção deve ser eficaz [8, 11, 12]. Adicionalmente, o cloro é ineficaz na desinfecção de cistos de *Giardia lamblia* e alguns vírus.

O hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) e hipoclorito de sódio (NaClO) são outras duas opções similares de desinfecção química da água. Estas são muito semelhantes em termos de eficiência de desinfecção e formação de subprodutos ao gás cloro. A vantagem do hipoclorito de cálcio, em relação aos dois desinfetantes anteriormente referidos, é a sua estabilidade e, por isso, maior segurança, porém, os seus custos são mais elevados que os custos do hipoclorito de sódio [11].

O dióxido de cloro (ClO_2) é mais uma alternativa de desinfetante químico. Este é mais eficiente que o cloro, reduz a produção de subprodutos trilometanos e não produz concentrações demasiado elevadas de compostos orgânicos halogenados. Por outro lado, é um composto muito instável, sendo necessárias várias precauções, e os seus custos de operação são substancialmente mais elevados do que os dos sistemas de gás cloro [11].

A cloraminação tem sido um método usado para a desinfecção de água desde os anos 30, sendo atualmente usado principalmente como um desinfetante secundário. A monoclaramina (NH_2Cl) é produzida no local através da dosagem controlada de amónia e cloro. A vantagem deste método em relação ao método do cloro é a sua reduzida reação com a matéria orgânica, formando assim menos subprodutos tóxicos. É também mais estável, persistente e eficaz contra a formação de biofilmes na rede de distribuição de água. Por outro lado, a monoclaramina é um desinfetante menos eficaz do que o cloro (200 vezes menos eficaz), sendo necessárias concentrações mais altas deste que aumentam o risco de ocorrer nitrificação caso haja excesso de amónia na rede de distribuição [11, 13].

A desinfecção da água com ozono já é realizada há um século, tendo começado na cidade de Nice, em França [11]. Este método de desinfecção é utilizado principalmente em estações de tratamento de água residuais de grande escala e em estações de tratamento de águas (ETAs). Oferece vantagens significativas em relação ao gás cloro e outros métodos à base de cloro. Ao contrário do que acontece com a desinfecção realizada com cloro (difusão através membrana celular, tornando a célula suscetível a um ataque enzimático), a desinfecção realizada com ozono tem como consequência uma oxidação das membranas celulares dos microrganismos, ocorrendo consequentemente uma lise celular que destrói o microrganismo [14]. Por esta razão, o ozono é muito mais eficaz como desinfetante do que o cloro; por exemplo, permitindo destruir *E. coli* 3000 vezes mais rápido. Como outras vantagens regista-se a não formação de trilometanos [15], e não é necessária uma

desclorinação na utilização deste método. Adicionalmente, o tratamento de água com ozono aumenta a concentração de oxigénio dissolvido, eliminando a necessidade de arejamento adicional. Por outro lado, o ozono só pode ser usado como desinfetante primário, uma vez que não fornece desinfecção residual na rede de distribuição de água. Embora não produza subprodutos, tais como trilometanos, o ozono pode reagir com a matéria orgânica e produzir subprodutos como aldeídos, cetonas e quinonas [15]. Finalmente, o ozono é tóxico e, por isso, deve ser constantemente monitorizado, agravando os seus custos de obtenção mas tendo custos de operação e manutenção relativamente baixos [11, 13].

1.3. DESINFEÇÃO FÍSICA

Conforme referido anteriormente, a desinfecção química tem várias desvantagens, incluindo a produção de subprodutos tóxicos, problemas de odor e sabor, assim como o aumento de microrganismos patogénicos resistentes, como a *Giardia* e *Cryptosporidium*. Todos estes problemas levaram a uma reavaliação dos métodos de desinfecção químicos tradicionais e a um aumento de interesse no estudo dos métodos físicos de desinfecção de água. Entre esses métodos físicos destacam-se a utilização de raios ultravioleta (UV), descargas eléctricas na água, cavitação e ultrasons. A grande vantagem dos processos físicos é a capacidade destas técnicas atuarem diretamente nos microrganismos, não alterando as propriedades e composição da água [8, 16].

A radiação UV, como método de desinfecção de água, é a alternativa ao cloro mais utilizada, com uma eficiência de desinfecção mais elevada para vírus e bactérias [17, 18] e, necessidade de tempo de contacto menor para inativar as bactérias [19]. Para efeitos de desinfecção, a gama ótima de radiação é entre os 245 e 285 nm. Nestes sistemas a água passa pelas lâmpadas, que transmitem radiação UV a 254 nm, expondo os microrganismos a este tipo de energia. Isto resulta numa modificação do ADN (ácido desoxirribonucleico) e ARN (ácido ribonucleico) dos microrganismos, tendo como consequência a impossibilidade de reprodução. A maior parte destes microrganismos requerem uma dosagem pequena de raios UV, contudo, os cistos de protozoários, em particular *Giardia* e *Cryptosporidium*, são consideravelmente mais resistentes à inativação por UV que os outros microrganismos [11, 16]. Uma das principais vantagens deste método de desinfecção é não ser necessário adicionar substâncias químicas à água, não tendo como consequência a mudança significativa da composição química da água nem a interação com nenhuma das substâncias químicas presentes nesta, não havendo assim produção de subprodutos tóxicos e não sendo necessário o processo de desclorinação, assim como as reduzidas medidas de segurança quando comparadas com as dos métodos de desinfecção química [11, 13, 20]. Adicionalmente, sistemas de luz ultravioleta são relativamente simples de operar e manter, para além de ocuparem menor espaço quando comparados

com os sistemas à base de cloro. No entanto, os custos de capital e manutenção deste método de desinfecção são relativamente elevados comparativamente com os métodos de desinfecção química [11, 17].

Por outro lado, este método de desinfecção não oferece uma desinfecção residual nos sistemas de distribuição de água, podendo haver novamente uma contaminação. Por isso, quando se recorre a este método para desinfecção de águas é necessária a adição de um desinfetante secundário. Finalmente, existe também o risco de reativação de alguns microrganismos (devido aos seus mecanismos de autodefesa), “fouling” nos tubos da luz UV e possível turvação da água, sendo estas algumas das desvantagens deste método de desinfecção físico [11, 13, 16].

Outra alternativa física de desinfecção de água é a filtração por membranas, permitindo uma desinfecção constante de alta qualidade [21]. O uso de membranas já é realizado há vários anos. Por exemplo, durante a II Guerra Mundial os alemães usavam membranas para eliminar possíveis contaminações da água após bombardeamentos [22]. A filtração por membranas consiste numa série de processos que conduzem a água sob pressão por uma membrana com poros de tamanhos controlados [23]. Geralmente são usadas membranas sintéticas, que são interfaces que separam duas fases e restringem o transporte de várias espécies de uma forma específica. Ou seja, membranas são filmes sintéticos constituídas por materiais orgânicos ou inorgânicos, que podem conferir uma separação seletiva entre um fluido e os seus componentes. Adicionalmente, filtração pode ser definida como a separação de matéria de um fluido, passando a mistura por um meio poroso, fibroso ou granular, que retém os sólidos na sua matriz ou na sua superfície [22]. A remoção de partículas por membranas, incluindo coloides biológicos ou não biológicos, depende de múltiplos fatores, destacando-se o tamanho dos poros, sendo este o parâmetro considerado mais crítico na desinfecção de águas. Consequentemente, os diâmetros dos poros das membranas devem ser menores que o tamanho dos microrganismos patogénicos [22, 24]. Estes processos de filtração por membranas são classificados de acordo com o tamanho dos seus poros, do mais elevado para o mais reduzido (pressões de operação do mais reduzido para o mais elevado), incluindo microfiltração, ultrafiltração, nano filtração e osmose inversa. Todos estes processos removem protozoários e bactérias, excluindo a remoção de vírus que requerem ultrafiltração, nano filtração ou osmose inversa [23]. Os microrganismos patogénicos são um problema no tratamento de águas quer estejam mortos ou vivos. Quando vivos estes podem-se multiplicar a taxas logarítmicas e quando mortos são uma fonte de pirogénicos [25]. Como os cistos de *Giardia lamblia* são resistentes aos métodos à base de cloro, este processo físico pode ser uma solução para a desinfecção de águas [26]. Algumas desvantagens deste método já foram referidas, contudo, a retenção de pequenas partículas, como vírus, coloides e entre

outros pode não ser completa e depende das condições de operação e do fluído, assim como o fluxo, que pode diminuir devido a entupimento da membrana. Os custos também são mais altos, principalmente para instalações de grande escala [23]. O desenvolvimento de novas membranas está dependente da disponibilidade de novos materiais, particularmente polímeros, materiais inorgânicos e, mais recentemente, nanomateriais [27].

1.4. PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUA COM NANOMATERIAIS

A inovação em processos de tratamento de água que utilizam nanomateriais foi identificada como tendo grande potencial para melhorar e aumentar a eficácia do tratamento de águas, assim como aumentar o abastecimento de água através de fontes seguras e não convencionais [28-30]. Avanços recentes nesta área oferecem oportunidades para desenvolver sistemas de abastecimento de água de próxima geração, sendo os presentes processos de tratamento e distribuição de água realizados à base de sistemas centralizados. Os processos altamente eficientes, modulares e multifuncionais permitidos pela nanotecnologia podem proporcionar soluções de tratamento de águas com alto desempenho e a preços acessíveis, que dependem menos de grandes infraestruturas [31].

De acordo com a recomendação da Comissão de 18 de outubro de 2011 (2011/696/EU), entende-se por nanomaterial “um material natural, incidental ou fabricado, que contém partículas num estado desagregado ou na forma de um agregado ou de um aglomerado, e em cuja distribuição número-tamanho 50 % ou mais das partículas têm uma ou mais dimensões externas na gama de tamanhos compreendidos entre 1 e 100 nm” [32]. As vantagens destes materiais podem ir desde altas áreas superficiais específicas, dissolução rápida, alta reatividade e forte sorção. Outros materiais tiram vantagens das suas propriedades descontínuas, como o super-magnetismo [29]. Nesta dissertação serão estudados os nanomateriais com propriedades magnéticas.

1.5. ÂMBITO DO PROJETO E OBJETIVOS

Com o objetivo de encontrar uma solução tecnológica limpa e eficiente que assegure a quantidade de água consumida pelas populações a Bosch Termotecnologia, em parceria com o LSRE-LCM e LEPABE, propôs o desenvolvimento de uma tecnologia de desinfecção de água baseada na aplicação de nanomateriais magnéticos. Para tal, foram desenvolvidos vários nanomateriais magnéticos constituídos por óxidos metálicos e materiais de carbono e foi avaliada a sua interação com os microrganismos. Estes nanomateriais foram escolhidos devido às suas capacidades magnéticas, sendo mais fácil a remoção das partículas aplicando um campo magnético e os materiais de carbono devido às suas capacidades no tratamento de águas. Também foram escolhidos materiais contendo

azoto, devido ao sucesso obtido noutros estudos presentes na literatura e foram sintetizados materiais com mistura de diferentes metais. Foi realizada uma otimização da eficiência de remoção de diferentes bactérias, nomeadamente *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e heterotróficos totais presentes numa água real. Parâmetros como o tipo de nanomaterial, concentração, tempo de contacto, tipo de bactéria (gram-positiva ou gram-negativa) e toxicidade, foram avaliados e investigados. Foram também realizados ensaios em reator fechado e em contínuo.

Esta dissertação está dividida, essencialmente, em 4 partes: estado da arte, materiais e métodos, resultados e discussão e conclusões. No estado da arte, está disponível uma visão geral sobre o tratamento de águas com nanomateriais e, mais especificamente, nanomateriais magnéticos, consequências da utilização de campos magnéticos na água e parâmetros, condições influenciáveis da água e dos microrganismos no tratamento com nanopartículas magnéticas. No capítulo materiais e métodos estão descritos os procedimentos realizados e materiais utilizados. Seguidamente, nos resultados e discussão estão expostos todos os resultados dos ensaios realizados, assim como a caracterização dos materiais usados, a discussão desses resultados e, por último, serão apresentadas as conclusões finais da dissertação e sugestões de trabalho futuro.

2

ESTADO DA ARTE

2.1. NANOMATERIAIS NO TRATAMENTO DE ÁGUAS

Os nanomateriais têm propriedades únicas, como já referido, podem ter desde uma grande área superficial específica, alta reatividade, forte sorção a propriedades descontínuas como o supermagnetismo, ressonância plasmática superficial localizada e efeito de confinamento quântico. Consequentemente, a adaptação da nanotecnologia a processos de engenharia tradicionais oferece não só novas oportunidades para o desenvolvimento de processos de tratamento e desinfecção de águas, como também permite a utilização de fontes de água não convencionais para expandir as redes de abastecimento da mesma. Estes materiais originam um conjunto de novas tecnologias menos dispendiosas, mais duráveis e eficientes tendo um papel importante na satisfação das necessidades em situações precárias, existentes principalmente nos países em desenvolvimento [1, 29, 30, 33-35].

Quatro classes de nanomateriais estão a ser avaliados como materiais funcionais para a purificação de água [30, 35, 36]:

1. Zeólitos;
2. Dendrímeros;
3. Nanomateriais de carbono;
4. Nanopartículas metálicas incluindo óxidos metálicos.

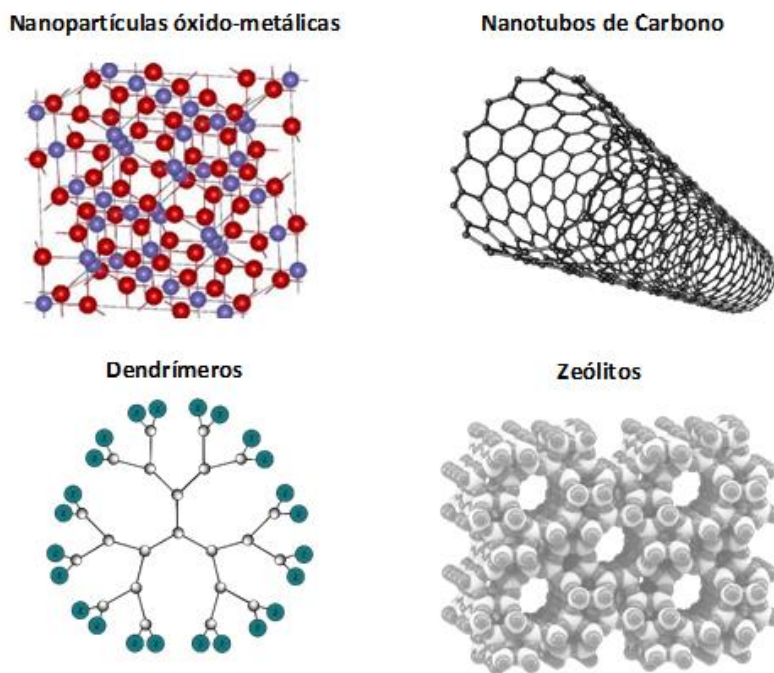


Figura 1: Nanomateriais correntemente em avaliação como materiais funcionais para a purificação da água

Zeólitos

Zeólitos são materiais inorgânicos, cristalinos e microporosos, com estruturas bem definidas. Geralmente a sua estrutura é composta por silício, alumínio e oxigênio, assim como catiões, água e/ou outras moléculas nos seus poros [35, 37, 38]. Apesar de estes materiais poderem ser obtidos naturalmente a partir de explorações mineiras, outros são sintéticos e podem ser produzidos para serem usados comercialmente, por exemplo, como adsorventes em filtros de coluna [35]. Os zeólitos nano-cristalinos, quando comparados com micro-zeólitos, exibem uma área superficial mais elevada e caminhos de difusão menores [39, 40]. Os zeólitos têm uma boa capacidade de adsorção, sendo esta influenciada por vários fatores, incluindo a sua composição, o pH da água, a concentração e tipo de contaminantes [35]. Adicionalmente, também podem ser utilizados para a remoção de iões metálicos. Zeólitos NaP1, sintetizados a partir de cinzas de carvão, conseguem adsorver metais pesados como Pb, Cu, Zn, Cd, Ni e Ag de águas residuais, e sob algumas condições, é possível adsorver Cr, Ar e Hg [35, 36, 41, 42]. Compósitos de PVC com zeólitos e com prata impregnada demonstraram ser materiais eficientes na desinfecção de microrganismos, incluindo bactérias. Além disso, estes compostos proporcionam uma proteção residual contra o recrescimento dos organismos anteriormente referidos [35]. A adição de zeólitos a membranas nanocompósitas permite aumentar a permeabilidade da água

e a rejeição de sal na nano-filtração e na osmose inversa [43, 44]. Contudo, estes materiais não são adequados para a remoção de contaminantes orgânicos [35].

Dendrímeros

Dendrímeros ou polímeros dendríticos são macromoléculas simétricas e esféricas com tamanhos compreendidos entre 1 e 20 nm, compostas por um núcleo, várias ramificações e grupos terminais com uma superfície bem definida, podendo ter vários grupos funcionais [45, 46]. Este material tem propriedades de adsorção excepcionais, podendo ser utilizado para a remoção de compostos orgânicos e metais pesados presentes nas águas, sendo possível realizar ligações químicas para um composto no seu núcleo e para outro nas ramificações periféricas [30, 35, 47]. Um sistema de ultrafiltração dendrítica foi usado para a remoção de Cu^{2+} , tendo sido obtida a sua completa remoção [48]. A regeneração deste adsorvente pode ser feita por uma simples mudança de pH mas, devido ao seu elevado custo de produção, a existência comercial deste produto é praticamente inexistente [1]. Dendrímeros também podem ser usados como suporte para agentes antimicrobianos, como a prata para a desinfecção [49, 50].

Nanomateriais de carbono

Os nanotubos de carbono são os nanomateriais mais promissores do grupo de nanomateriais de carbono. Estes são alótropos de carbono com uma estrutura cilíndrica e, dependendo do processo de sintetização, podem ser chamados nanotubos de parede simples ou nanotubos de parede múltipla [1]. Os nanotubos de parede simples têm diâmetros compreendidos entre 0,3 e 3 nm e os nanotubos de parede múltipla podem chegar aos 100 nm [51, 52]. Este tipo de material tem uma excelente capacidade de adsorção e, por isso, pode ser usado para remover metais pesados presentes na água [30], são exemplos o Cd^{2+} [53], o Cr^{3+} [54], o Pb^{2+} [55] e o Zn^{2+} [56], assim como também pode ser utilizado em membranas para filtração. Os nanotubos de carbono têm recebido especial atenção devido à sua excelente capacidade de remoção de microrganismos da água [30]. Estes causam stress oxidativo nas bactérias e destroem as membranas celulares e, embora ocorra oxidação química, não há produção de subprodutos tóxicos [57]. Esta capacidade deve-se às suas propriedades funcionais físicas, citotóxicas e superficiais [58], à sua forma fibrosa [59, 60], ao tamanho e comprimento dos tubos e, finalmente, do número de paredes [61, 62]. Há alguns anos os custos de produção de nanotubos de carbono eram muito elevados mas atualmente já não o são. Assim, pode-se considerar o seu uso em grande escala bastante viável [63].

Nanopartículas metálicas incluindo óxidos metálicos

As nanopartículas de ferro zero valente (nZVI) são um material eficaz para a remediação da água por possuírem alta reatividade com vários contaminantes e áreas específicas elevadas [64].

As nanopartículas de óxidos metálicos são alternativas promissoras ao carvão ativado e adsorventes eficientes na remoção de metais pesados. Para além de terem uma distância de difusão intraparticular curta são também compressíveis sem perderem uma redução significativa de área superficial [1].

As nanopartículas de prata e o dióxido de titânio (TiO_2) são dois tipos de nanopartículas, pertencentes a este grupo, consideradas bastante promissoras na desinfecção de águas. Em 1954, as nanopartículas de prata começaram a ser usadas em piscinas como algicida e, desde os anos 70, que têm sido usadas em filtros de água potável [1]. Apesar de estas partículas apresentarem atividade antimicrobiana não são tóxicas para os humanos [65]. Para além desta grande vantagem, existe uma grande disponibilidade deste composto; contudo a sua aplicação é restrita a volumes pequenos [1]. Estas nanopartículas podem ser aplicadas em membranas de filtração, como por exemplo, membranas de polissulfona [66], tendo sido comprovadas como eficientes contra uma grande variedade de bactérias (gram-positiva e gram-negativa) e vírus [30, 67-73]. Estas partículas também podem ser incorporadas em microfiltros de água potável de baixo custo, podendo ser usados em áreas remotas em países em desenvolvimento [74].

O dióxido de titânio apresenta grande estabilidade química e baixa toxicidade para os humanos, tem um preço baixo, podendo ser usado em processos de foto-desinfecção e descontaminação de águas de grande e pequena escala. Porém, a eficácia deste processo fotocatalítico ainda é relativamente baixa quando comparada com processos como a ozonização [1, 30, 75]. Pode ser aplicado em dois tipos de sistemas foto-catalíticos: luz solar ou com luz ultravioleta (UV) artificial. O equipamento necessário é mínimo e, por isso, apropriado para países em desenvolvimento ou locais remotos sem acesso a eletricidade [35]. A desinfecção ocorre através da formação de oxidantes altamente reativos, como radicais $\text{OH}^\bullet$. Devido à sua estabilidade na água, o TiO_2 pode ser incorporado em filmes ou filtros de membrana para filtração da água [76, 77]. A grande vantagem deste material em relação às nanopartículas de prata é a sua estabilidade durante a degradação de compostos orgânicos e microrganismos [1]. Por outro lado, este material requer, em alguns casos, energia UV, enquanto o tratamento com nanopartículas de prata não requer, sendo uma vantagem para alguns países em desenvolvimento [78].

Para além destas nanopartículas, existem alguns óxidos de metal que são super-magnéticos, como por exemplo a magnetite (Fe_3O_4), permitindo facilitar a separação e recuperação induzindo um campo magnético [1].

2.2. NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS NA PURIFICAÇÃO DE ÁGUA

O tratamento de água recorrendo a um campo magnético remonta ao ano de 1873, quando Hay recebeu a primeira patente para este processo [79]. Inovações tecnológicas relacionadas com nano-adsorventes magnéticos têm vindo a aumentar nos últimos anos [80], oferecendo soluções viáveis com a utilização de um campo magnético exterior [81]. À medida que o tamanho destes materiais diminui, as partículas tornam-se fortes adsorventes e super-magnéticas (maior suscetibilidade magnética), o que permite a sua fácil separação e recuperação de outros meios, mais especificamente de água tratada [29, 82]. Esta capacidade torna-se uma vantagem em relação a processos como a filtração, uma vez que é mais económico, seletivo e rápido [82, 83]. As nanopartículas magnéticas, com uma magnitude menor 2 a 3 vezes que as bactérias, têm um grande potencial no reconhecimento e captura destas, distinguindo-se como um processo promissor e inovador na purificação de água [36, 84, 85]. Para ocorrer uma interação específica, as nanopartículas magnéticas podem ser funcionalizadas com anticorpos [86], aptâmeros [87], proteínas [88] e hidratos de carbono [89]. Em alguns casos, quando a superfície funcionalizada das nanopartículas entra em contacto com a membrana celular das bactérias, as nanopartículas podem destruir a membrana celular das mesmas, matando-as. A eficiência de captura das bactérias depende da concentração do nano-adsorvente e do tempo de contacto das partículas com as bactérias, aumentando ambos com o aumento da concentração e do tempo. [90].

Ferrato é o termo genérico dado à classe de compostos de óxido de ferro magnéticos. Os átomos de ferro podem ser substituídos por outros iões metálicos (MFe_2O_4 , em que M pode ser Mn, Co, Cu, Ca, Zn, Mg e outros), sem alterar a sua estrutura de espinela [36, 91, 92]. Estes tipos de nanopartículas magnéticas distinguem-se devido às propriedades fortemente magnéticas, maior resistência química à oxidação e área superficial mais elevada quando comparadas com óxido de ferro [93-95]. A geometria cúbica dos ferratos espinelares consiste em dois tipos de zonas, zonas tetraédricas e zonas octaédricas, que têm um papel importante no controlo das características de sorção [96].

Uma vez que estes materiais existem em abundância na natureza, os custos da sua produção tornam-se bastante acessíveis, trazendo grandes vantagens a nível económico [97]. Adicionalmente, podem ser produzidos a partir de resíduos industriais utilizando estratégias sustentáveis [96]. Contudo,

estes materiais tendem a aglomerar, como resultado da sua elevada energia superficial, das forças Van der Waals e interações magnéticas dipolares [98, 99]. Geralmente, as partículas podem ser reutilizadas em vários ciclos, diminuindo ao longo do tempo a sua capacidade de sorção. Mas, sendo regeneradas ou não, as partículas devem passar por um tratamento apropriado após a sua utilização, devido à sua alta mobilidade e reatividade com outras espécies, podendo ser um risco à saúde humana e ao ambiente [96].

2.3. CONSEQUÊNCIAS DA UTILIZAÇÃO DE CAMPOS MAGNÉTICOS NA ÁGUA

Os efeitos na água devido à utilização de um campo magnético para o seu tratamento ainda não são completamente conhecidos [100]. As discrepâncias nos resultados obtidos dos efeitos do campo magnético na água podem dever-se a diferentes métodos de aplicação deste, águas com diferentes tipos e concentrações de poluentes, temperatura, tempo de tratamento, entre outros [100, 101]. Em testes realizados Hosoda et al. [102] observou-se o aumento da tensão superficial da água após o tratamento com um campo magnético. Alguns autores atribuíram esse efeito à estabilização das ligações de hidrogénio na água [103, 104]. Contudo, Amiri et al. [105] observaram a redução da tensão superficial, tendo atribuído a causa à existência de impurezas na água e não ao campo magnético.

Alabi et al. [100] realizaram testes para avaliar a influência da utilização de um campo magnético no potencial zeta. Valores altos deste resultam na repulsão das partículas em solução na água, não existindo coagulação. Por outro lado, valores próximos de zero resultam na coagulação de partículas. Parsons et al. [106] verificaram uma redução de 16% no potencial-zeta do carbonato de cálcio após tratamento com um campo magnético, resultando em partículas maiores e abundantes. Porém, existem estudos que sugerem que a indução de um campo magnético na água não tem qualquer efeito no potencial zeta das partículas presentes [107]

Szcze et al. [108] descobriram que não só a indução de um campo magnético resulta numa redução da condutividade da água, como também há um aumento de água evaporada antes e depois da sua destilação. Pang et al. [109] acreditam que há um aumento da condutividade da água após a aplicação de um campo magnético [109].

Por outro lado, Biryukov et al. [110] reportaram, após a aplicação de um campo magnético, o aumento de oxigénio na água, a formação de peróxido de hidrogénio em pequenas concentrações, processos catalíticos de oxidação de substâncias orgânicas mais rápidos e o aumento da atividade química do oxigénio dissolvido.

2.4. PARÂMETROS E CONDIÇÕES INFLUENCIÁVEIS DA ÁGUA E DOS MICRORGANISMOS NO TRATAMENTO COM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

A eficiência das partículas magnéticas na desinfecção de águas depende não só da configuração estrutural destas, mas também de parâmetros e condições da água a ser tratada e dos diferentes microrganismos a remover. Estudos mostram que a eficiência de captura das bactérias depende da carga superficial, hidrofobicidade e da matriz das bactérias [85]. As bactérias apresentam uma membrana com carga superficial predominantemente negativa, permitindo que a sua captura seja realizada via interações electroestáticas. Assim, a força iónica e o pH têm efeitos importantes na captura dos microrganismos [85]. Huang et al. [85] demonstraram que variações no pH não influenciaram a captura de *Sarcina Lutea* e *Escherichia coli*, mas por outro lado, para *Pseudomonas aeruginosa* o pH ótimo de captura está entre 4,0 e 11,0 e para *Staphylococcus aureus* entre 5,0 e 8,0.

As bactérias podem-se distinguir em dois tipos em relação à parede celular: bactérias gram-positivas e gram-negativas. A maior parte das gram-positivas têm uma parede celular espessa, composta maioritariamente por peptidoglicanos, ao contrário das gram-negativas, que contêm uma parede celular pouco espessa, mas contêm uma membrana externa adicional [111]. Abdolmaleki et al. [112] demonstraram que as nanopartículas magnéticas funcionalizadas com poliamida com β –ciclo dextrinas (CDPA – NPMs) foram eficientes na remoção de bactérias gram-negativas (*E. coli*) e gram-positivas (*Bacillus cereus*), tendo sido mais eficientes contra a gram-positiva. Xu et al. [113] observaram que com baixas concentrações de bactérias (menor ou igual a 1×10^4 UFC/mL) nas amostras de água a remoção destas com nanopartículas magnéticas estabilizadas com hidrocloreto de polialilamina era mais elevada (>99,5%) do que com altas concentrações de bactérias, isto devendo-se à adsorção de sólidos suspensos e outros compostos orgânicos presentes na água real. Adicionalmente, não há nenhuma correlação significativa observada entre o potencial zeta bacteriano e a adesão de nanopartículas. Sendo assim, pode-se assumir que o potencial zeta não é um fator crucial na remoção destes microrganismos [113].

Huang et al. [85] demonstraram que com o aumento da concentração de nanopartículas magnéticas a eficiência de remoção das bactérias também aumenta até atingir um ponto de estabilização da eficiência de remoção. El-Boubbou et al. [114] demonstraram que para tempos de contacto mais elevados das partículas com as bactérias maior é a eficiência de remoção das bactérias. Jin et al. [115] também reportaram que a eficiência de remoção das bactérias era também mais elevada para tempos de contacto mais elevados. Adicionalmente, mostraram que há um ponto de estabilização para o tempo de contacto, ou seja, por mais que se aumente o tempo de contacto a eficiência não aumentará. Os mesmos autores verificaram a influência que teria a presença aniões na

suspensão a tratar e concluíram que a presença de nitratos e sulfatos não influencia a captura das bactérias por parte das nanopartículas (Fe_3O_4 funcionalizadas com brometo de cetiltrimetilamônio), por outro lado, a presença de silicatos e fosfatos influencia moderadamente a eficiência de remoção das bactérias. A presença de matéria orgânica foi testada adicionando diferentes concentrações de ácido húmico tendo sido observada uma redução da eficiência de remoção dos microrganismos. Por fim, Jin et al. [115] verificaram que, para as nanopartículas anteriores, ao fim de 5 ciclos de reutilização das partículas houve uma diminuição da eficiência de remoção de 99% para 83%.

Na Tabela 2 estão apresentadas várias nanopartículas magnéticas aplicadas em tratamentos de águas, a sua caracterização, as condições dos ensaios e as respectivas eficiências de captura. Pode-se constatar que a maioria dos materiais utilizados são óxidos de ferro funcionalizados. Os testes foram maioritariamente realizados com as bactérias *E. coli*, *B. subtilis* e *B. cereus*. Note-se que as eficiências de remoção das bactérias encontram-se, em grande parte, acima dos 90% com tempos de contacto inferiores a 30 min.

Tabela 2: Características de ensaios realizados para diferentes nanopartículas magnéticas presentes na literatura

Nanopartículas magnéticas (NPMs)	Concentração de NPMs (mg/mL)	Tempo de contacto (min)	Eficiência de captura (%)	Métodos de caracterização dos NPMs	Método de detecção de microrganismos	Propriedades antibacterianas	Referência Bibliográfica
Fe ₃ O ₄	0,25	15	54,9 (<i>Escherichia coli</i>)	TEM, EDX, XRD, espectroscopia FTIR, XPS, isotérmicas de adsorção de azoto a -196°C, potencial zeta, propriedades magnéticas (magnetómetro)	Enumeração de bactérias cultiváveis	-	[116]
NPMs funcionalizadas com poliamida com β – ciclo dextrinas (CDPA – NPMs)	50	240	97 (<i>E. coli</i>) 98 (<i>Bacillus cereus</i>)	XRD, Espectroscopia EDX, TGA, espectroscopia FTIR e espectroscopia H-NMR	Enumeração de bactérias cultiváveis	-	[112]
Glico-NPMs	2	45 5	88 (<i>E. coli</i>) 65 (<i>E. coli</i>)	XRD, TEM, TGA, espectroscopia FTIR	Enumeração de células por Microscopia de Fluorescência	Não	[114]

Nanopartículas magnéticas (NPMs)	Concentração de NPMs (mg/mL)	Tempo de contacto (min)	Eficiência de captura (%)	Métodos de caracterização dos NPMs	Método de detecção de microrganismos	Propriedades antibacterianas	Referência Bibliográfica
NPMs funcionalizada com amina	0,5	10	93,8 (<i>E. coli</i> , <i>Sarcina Lutea</i>)	TEM, espectroscopia FTIR	Turbidimetria e Enumeração de bactérias cultiváveis	-	[85]
	1	1	97 (<i>E. coli</i>)				
Fe ₃ O ₄ -SiO ₂ -NH ₂	3	1	93,4 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	TEM, EDX, XRD, XPS, espectroscopia FTIR, análise superficial BET, testes de propriedades magnéticas e potencial zeta	Enumeração de bactérias cultiváveis	-	[117]
			97,4 (<i>Bacillus subtilis</i>) 95,1 (<i>E. coli</i>) 90,08 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) 90,1 (<i>Salmonella</i>)				

Nanopartículas magnéticas (NPMs)	Concentração de NPMs (mg/mL)	Tempo de contacto (min)	Eficiência de captura (%)	Métodos de caracterização dos NPMs	Método de detecção de microrganismos	Propriedades antibacterianas	Referência Bibliográfica
Compósitos de NPMs Fe ₃ O ₄ /grafeno	0,25	15	93,1 (<i>E. coli</i>)	TEM, EDS, XRD, espectroscopia FTIR, XPS, isotérmicas de adsorção de azoto a -196°C, potencial zeta, propriedades magnéticas (magnetómetro)	Enumeração de bactérias cultiváveis	Sim	[116]
NPMs estabilizadas com hidrócloro de polialilamina	0,1	10	99,5 (<i>B. subtilis</i>)	-	Turbidimetria e Enumeração de bactérias cultiváveis	Não	[113]
AgFe ₂ O ₃	0, 128	30	>99 (<i>E. coli</i>)	TEM, HRTEM, STEM-HAADF, XPS, Análise magnética	Enumeração de células por Microscopia de Fluorescência	Sim	[118]

Nanopartículas magnéticas (NPMs)	Concentração de NPMs (mg/mL)	Tempo de contacto (min)	Eficiência de captura (%)	Métodos de caracterização dos NPMs	Método de detecção de microrganismos	Propriedades antibacterianas	Referência Bibliográfica
Fe ₃ O ₄ ZnO	0,4	360	≈ 25 (<i>E. coli</i>) ≈ 65 (<i>S. aureus</i>)	XPS, SEM, TEM	Turbidimetria e Enumeração de bactérias cultiváveis	Sim	[119]
Fe ₃ O ₄ funcionalizada com ácido succínico	2	1440	35 (<i>E. coli</i>)	XRD, TEM, espectroscopia FTIR, potencial zeta, DLS	-	Sim	[90]
Fe ₃ O ₄ funcionalizada com ácido dimercaptossuccínico	2	1440	45 (<i>E. coli</i>)	XRD, TEM, espectroscopia FTIR, potencial zeta, DLS	-	Sim	[90]
Fe ₃ O ₄ funcionalizada com Etilenodiamina	2	1440	55 (<i>E. coli</i>)	XRD, TEM, espectroscopia FTIR, potencial zeta, DLS	-	Sim	[90]

3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Neste trabalho foram sintetizadas 7 nanopartículas magnéticas diferentes com o objetivo de posteriormente testar e comparar as suas eficiências na remoção de bactérias da água.

3.1.1. SÍNTESE DE PARTÍCULAS Fe_2O_3 (FeO)

As nanopartículas magnéticas Fe_2O_3 foram preparadas através do método de co-precipitação [120]. Inicialmente, preparou-se 500 mL de uma solução 1,5 M NaOH e 50 mL de uma solução 2 M HCl. De seguida, dissolveram-se 40 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e 20 mmol de $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ na solução de HCl. Esta solução foi adicionada gota-a-gota à solução de NaOH sob agitação. Formou-se imediatamente um precipitado de cor preta e a agitação foi mantida continuamente por mais 30 min. Após esse tempo de agitação, com o auxílio de um íman, separou-se o precipitado da solução e lavou-se o precipitado com água destilada até a água de lavagem ter um pH neutro. Finalmente, o produto final obtido foi levado para uma estufa a 100 °C até secar e moeram-se as partículas usando um almofariz e pilão.

3.1.2. SÍNTESE DE PARTÍCULAS MnFe_2O_4 (MnFeO)

As nanopartículas magnéticas MnFe_2O_4 foram preparadas através do método de co-precipitação [121]. Inicialmente, preparou-se 400 mL de uma solução 3 M NaOH e 10 mL de uma solução 0,5 M HCl. De seguida, dissolveu-se 40 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 80 mL de água destilada e 20 mmol de $\text{MnO}_4\text{S} \cdot \text{H}_2\text{O}$ na solução de HCl. Aqueceram-se ambas as soluções a uma temperatura de 50 °C e posteriormente misturaram-se. Aqueceu-se a 100 °C e agitou-se a solução de NaOH e posteriormente juntou-se a solução preparada anteriormente gota-a-gota. Após a mistura, deixou-se em agitação durante 2 h a 100 °C e, finalmente, deixou-se arrefecer a mistura até à temperatura ambiente. No fim, com o auxílio de um íman, separou-se o precipitado da solução e lavou-se o

precipitado com água destilada até a água de lavagem ter um pH neutro. O produto final obtido foi levado para uma estufa a 100 °C até secar e moeram-se as partículas usando um almofariz e pilão.

3.1.3. SÍNTESE DE PARTÍCULAS CoFe_2O_4 (CoFeO)

As nanopartículas magnéticas CoFe_2O_4 foram preparadas através do método de co-precipitação [121]. Inicialmente, preparou-se 400 mL de uma solução 3 M NaOH e 10 mL de uma solução 0,5 M HCl. De seguida, dissolveu-se 40 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 80 mL de água destilada e 20 mmol de $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ na solução de HCl. Aqueceram-se ambas as soluções a 50 °C e posteriormente misturaram-se. Aqueceu-se a 100 °C e agitou-se a solução de NaOH e posteriormente juntou-se a solução preparada anteriormente gota-a-gota. Após a mistura, deixou-se em agitação durante 2 h a 100 °C e, finalmente, deixou-se arrefecer a mistura até à temperatura ambiente. No fim, com o auxílio de um íman, separou-se o precipitado da solução e lavou-se o precipitado com água destilada até a água de lavagem ter um pH neutro. O produto final obtido foi levado para uma estufa a 100 °C até secar e moeram-se as partículas usando um almofariz e pilão.

3.1.4. SÍNTESE DE PARTÍCULAS CuFe_2O_4 (CuFeO)

As nanopartículas magnéticas CuFe_2O_4 foram preparadas adaptando o método de co-precipitação [121] usado na preparação das partículas MnFe_2O_4 e CoFe_2O_4 . Inicialmente, preparou-se 400 mL de uma solução a 3 M NaOH e 10 mL de uma solução 0,5 M HCl. De seguida, dissolveu-se 40 mmol de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 80 mL de água destilada e 20 mmol de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ na solução de HCl. Aqueceram-se ambas as soluções para uma temperatura de 50 °C e posteriormente misturaram-se. Aqueceu-se a 100 °C e agitou-se a solução de NaOH e posteriormente juntou-se a solução preparada anteriormente gota-a-gota. Após a mistura, deixou-se em agitação durante 2 h a 100 °C e, finalmente, deixou-se arrefecer a mistura até à temperatura ambiente. No fim, com o auxílio de um íman, separou-se o precipitado da solução e lavou-se o precipitado com água destilada até a água de lavagem ter um pH neutro. O produto final obtido foi levado para uma estufa a 100 °C até secar e moeram-se as partículas usando um almofariz e pilão.

3.1.5. SÍNTESE DE PARTÍCULAS Fe_2O_3 COM CARVÃO ATIVADO (COMPÓSITO FeO/CA)

Os compósitos de nanopartículas magnéticas de Fe_2O_3 e carvão ativado foram preparadas através do método de co-precipitação descrito na secção 3.1.1. adicionando 3 g de carvão ativado à solução de NaOH durante a fase de agitação magnética antes da formação do precipitado. O carvão ativado usado foi um carvão ativado comercial, NORIT GAC 1240, fornecido pela Norit com uma área superficial específica de $824 \text{ m}^2/\text{g}$.

3.1.6. SÍNTESE DE PARTÍCULAS Fe_3O_4 REVESTIDAS COM MATERIAL DE CARBONO POR CVD (CFeO@CVD)

Utilizando as partículas Fe_2O_3 já preparadas, procedeu-se ao seu revestimento com carbono através da técnica de deposição química em fase vapor (do inglês chemical vapour deposition - CVD) (adaptado de [122]). Para tal, numa primeira fase aqueceu-se a amostra a uma temperatura de 400°C numa corrente gasosa de hidrogénio (H_2) e azoto (N_2), com uma rampa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, a temperatura permaneceu nos 400°C durante 2 h. Na segunda fase, aqueceu-se a amostra até 750°C , com uma rampa de aquecimento de $5^\circ\text{C}/\text{min}$. Quando se atingiu a temperatura pretendida, trocaram-se os gases anteriores para hidrogénio e etano (C_2H_6), durante 2 h nesta temperatura. Finalmente, procedeu-se ao arrefecimento apenas usando azoto. Na Figura 2 está representado um esquema de aquecimento para o crescimento de carbono por CVD com etano, com os caudais utilizados para cada gás em cada fase de aquecimento.

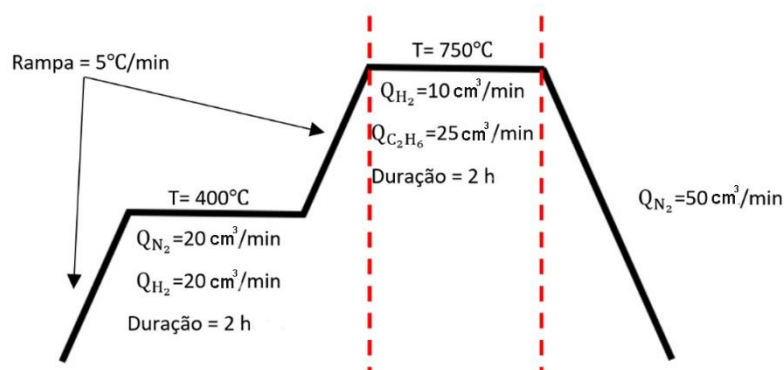


Figura 2: Esquema para o crescimento de carbono por CVD com etano à temperatura de 750°C

3.1.7. SÍNTESE DE PARTÍCULAS Fe_3O_4 REVESTIDAS COM MATERIAL DE CARBONO DOPADO COM AZOTO POR CVD (N-CFeO@CVD)

Utilizando as partículas Fe_2O_3 já preparadas, procedeu-se ao seu revestimento com material de carbono dopado com azoto através da técnica de deposição química em fase vapor (CVD), usando o mesmo procedimento descrito na secção 3.1.6. A única alteração prende-se com a substituição do hidrogénio por amónia (NH_3) na segunda fase do tratamento térmico (750 °C).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

3.2.1. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A análise termogravimétrica foi realizada, para todas as nanopartículas magnéticas sintetizadas, utilizando o modelo Netzsch STA 409 Luxx® de analisador térmico e a aquisição de resultados foi obtida através do software Proteus Thermal Analysis. As análises foram realizadas sob um caudal de hélio com uma rampa de 10 °C/min com uma gama de temperatura de 50 a 900 °C e com dois passos isotérmicos: 7 min com hélio e 13 min com ar. Esta análise teve como objetivo avaliar as propriedades térmicas dos materiais em função da temperatura observando a variação de massa destes.

3.2.2. ADSORÇÃO DE AZOTO A -196 °C

A caracterização textural dos materiais foi determinada com base nas isotérmicas de equilíbrio de adsorção do azoto (N_2) a -196 °C. As isotérmicas foram realizadas no equipamento *Quantachrome NOVA 4200e*. Foram pesados, aproximadamente, 100 mg de amostra de cada material sintetizado e, seguidamente, cada amostra foi desgaseificada, no equipamento, durante 3 h a 150 °C. Após a desgaseificação, obteve-se a massa da amostra através da diferença da massa total da amostra e da célula depois e antes da desgaseificação. Finalmente, as células com as amostras foram colocadas num banho contendo azoto líquido. As áreas superficiais específicas (S_{BET}) foram calculadas numa gama de pressão relativa entre 0,05 e 0,3 pelo método BET.

3.2.3. REDUÇÃO A TEMPERATURA PROGRAMADA (TPR)

A análise de redução a temperatura programada (TPR) determina o estado de redução dos metais em estudo. Este método permite a monitorização contínua das reações de redução consecutivas das espécies com a variação da temperatura [123, 124]. As análises de TPR foram

realizadas usando o equipamento *AMI-200 (Altamira Instruments)*. Uma amostra (100 mg) foi aquecida com uma rampa de 5 °C/min até aos 700 °C sob um caudal de 5% (v/v) de H₂ diluído em ar (caudal total de 30 cm³ (STP)/min). O consumo de H₂ foi quantificado por um detetor de condutividade térmica (TCD).

3.2.4. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE TRANSMISSÃO (TEM)

As imagens de TEM foram realizadas na Unidade de Microscopia Eletrónica da Universidade de Trás os Montes e Alto Douro no microscópio *LEO 906E* operando com uma tensão de aceleração de 120 kV. Estas análises foram realizadas com o objetivo de obter informação da estrutura das nanopartículas magnéticas.

3.2.5. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (SEM) / ESPECTROSCOPIA DE RAIOS - X POR DISPERSÃO EM ENERGIA (EDS)

A análise de SEM / EDS foi realizada utilizando o Microscópio Eletrónico de Varrimento ambiental, de alta resolução (Schottky), com Microanálise por Raios-X e Análise de Padrões de Difração de Elétrons Retro difundidos: Quanta 400FEG ESEM / EDAX Genesis X4M. Esta técnica de caracterização é geralmente utilizada para obter imagens tridimensionais da morfologia externa dos materiais, assim como a composição destes.

3.3. REMOÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS EM ENSAIOS EM REATOR FECHADO

Nestes ensaios procurou-se averiguar e otimizar a eficiência das nanopartículas produzidas na remoção de células de suspensões bacterianas.

3.3.1. PREPARAÇÃO DAS SUSPENSÕES BACTERIANAS

As estirpes *Escherichia coli* (DSM 1103) e *Staphylococcus aureus* (DSM 1104) foram cultivadas em meio sólido Plate Count Agar durante 20 h a 30 °C e 24 h a 37 °C, respetivamente. Após o período de incubação, prepararam-se suspensões em solução salina estéril (0,85% NaCl) com densidades celulares de 10⁸ UFC/mL, correspondendo a valores de densidade ótica de, aproximadamente, 0,1 (610 nm) para *E. coli* e de 0,13 (600 nm) para *S. aureus*. Seguidamente, foram realizadas duas diluições seriadas de 10 de modo a obter uma suspensão bacteriana com uma densidade de 10⁶ UFC/mL, uma vez que este é o valor padrão indicado para ensaios de desinfecção bacteriana, sendo esta a suspensão bacteriana de trabalho [124].

3.3.2. ENSAIOS EM REATOR FECHADO

Todo o material foi autoclavado antes de ser utilizado de modo a evitar qualquer tipo de contaminação ou erro nos resultados e as partículas foram esterilizadas utilizando uma estufa a 160 °C, durante 1 h. Após realizadas as diluições da suspensão bacteriana inicial, 10 mL de suspensão bacteriana de concentração 10^6 UFC/mL foram adicionados a um matraz de 100 mL onde se encontravam as nanopartículas magnéticas estéreis. Logo de seguida, a mistura no matraz (Erlenmeyer) foi colocada em agitação orbital a 150 rpm, sem qualquer contacto com luz exterior. Após um determinado tempo de agitação, com o auxílio de um íman as partículas foram separadas da suspensão e foi retirado 1 mL de amostra para enumerar as células em suspensão (Figura 4). Como controlo usou-se a mesma suspensão bacteriana na ausência de nanopartículas magnéticas.

3.3.3. ENUMERAÇÃO DAS CÉLULAS CULTIVÁVEIS

Para avaliar a eficiência de cada tipo de nanopartícula na remoção celular, enumeraram-se as células cultiváveis na suspensão inicial (t_0) e após diferentes tempos de contacto (t min).

Para enumerar as células cultiváveis no T_0 as suspensões bacterianas iniciais foram diluídas serialmente até à diluição 10^{-2} , usando 1 mL de amostra e 9 mL de solução salina (NaCl 0,85%) estéril; realizaram-se espalhamentos em PCA para as 3 últimas diluições, como exemplificado na Figura 4. A mesma metodologia foi usada para enumerar as células cultiváveis após diferentes tempos de contacto (Figura 4). Os espalhamentos nas placas foram feitos em duplicado com exceção da placa com uma diluição correspondente de 10^{-4} da amostra inicial no matraz, que foram feitos em triplicado, devido a estas placas terem sido as que serviram de comparação das UFC antes e após o tratamento com nanopartículas magnéticas. Para a água real, retirada de um poço situado na cidade de Vila Nova de Gaia, foram efetuadas, tanto para a amostra inicial e após o tratamento, 4 diluições e 5 espalhamentos começando na diluição 10^{-1} até à diluição 10^{-5} . Os espalhamentos nas placas foram todos feitos em duplicado. Utilizaram-se as condições de incubação descritas na secção 3.3.1. As UFC foram enumeradas após o período de incubação. A eficiência de remoção das bactérias da suspensão após tratamento foi calculada a partir da seguinte equação:

$$\text{Eficiência de remoção das bactérias (\%)} = \frac{\frac{\text{UFC}_{\text{inicial}}}{\text{mL}} - \frac{\text{UFC}_{\text{final}}}{\text{mL}}}{\frac{\text{UFC}_{\text{inicial}}}{\text{mL}}} \times 100$$

Para calcular a redução log após o tratamento com as nanopartículas recorreu-se à seguinte equação:

$$\text{Redução log} = \text{Log}_{\text{inicial}} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right) - \text{Log}_{\text{final}} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{mL}} \right)$$

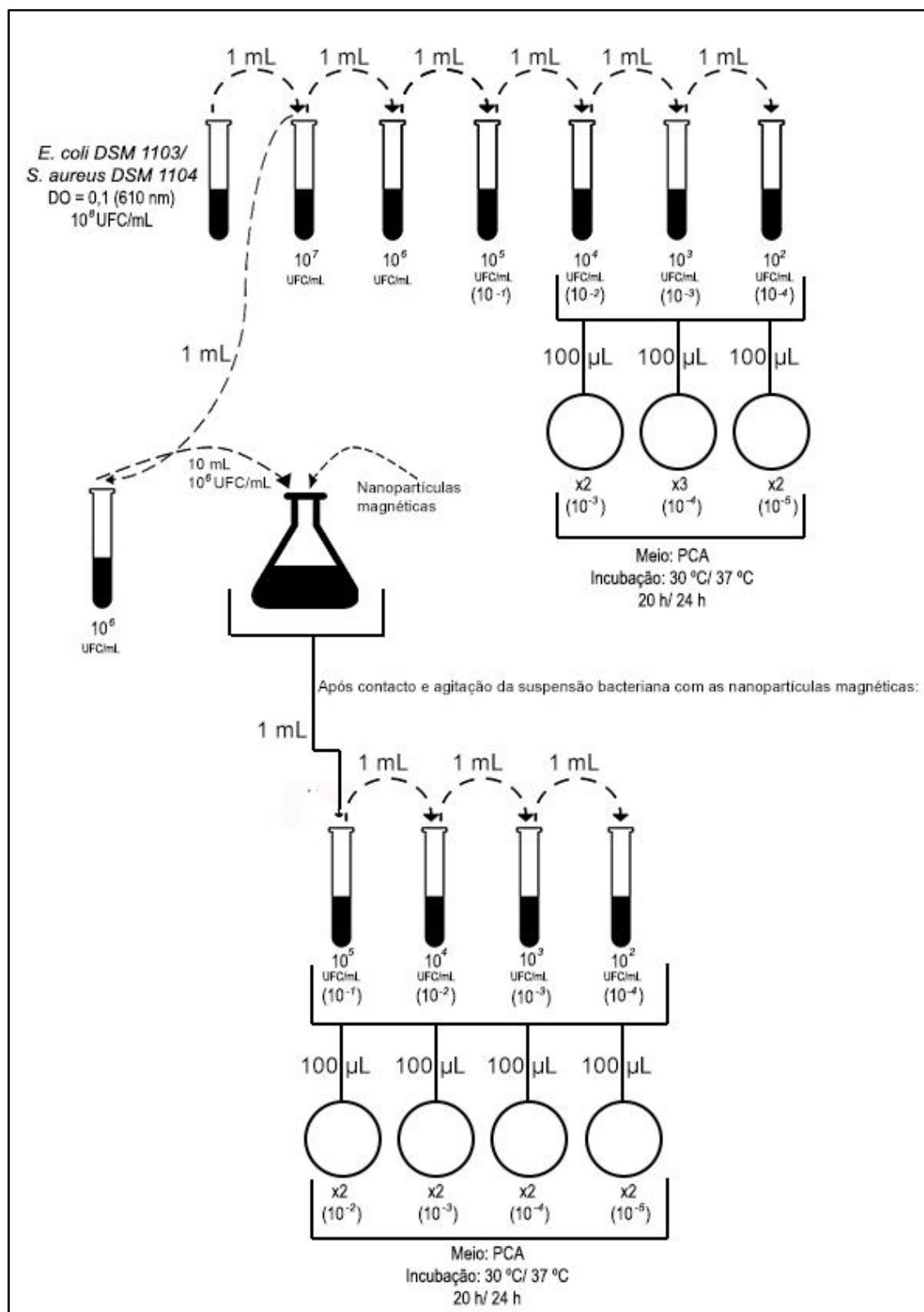


Figura 3: Exemplo ilustrativo dos ensaios realizados em reator fechado

3.3.4. PARÂMETROS TESTADOS

3.3.4.1. ENSAIOS DE CONTROLO

Foi realizado um ensaio de controlo seguindo o procedimento referido anteriormente com exceção da presença das nanopartículas magnéticas no matraz. As condições deste ensaio apresentam-se na Tabela 3.

Tabela 3: Condições de operação dos ensaios de controlo

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>E. coli</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm
Tempo de agitação	15 min

Foram também efetuados 3 controlos ao pH após a adição das nanopartículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD, de modo a aferir se havia alteração no pH da suspensão bacteriana após o contacto com as nanopartículas magnéticas.

3.3.4.2. COMPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Foram realizados ensaios para cada tipo de nanopartícula magnética sintetizada, na Tabela 4 encontram-se as condições de operação. Todos os ensaios foram realizados em duplicado exceto para FeO, que foram realizados em triplicado.

Tabela 4: Condições de operação dos ensaios de comparação dos materiais

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>E. coli</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm
Tempo de agitação	15 min
NPMs	FeO, CuFeO, CoFeO, MnFeO, Compósito FeO/CA, CFeO@CVD e N-CFeO@CVD
Concentração de NPMs	12 mg/mL

3.3.4.3. CINÉTICA DE REMOÇÃO DE *E. COLI*

Estes ensaios tiveram como objetivo determinar o comportamento, ao longo do tempo, das nanopartículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD em contacto com a bactéria *E. coli*. Para tal escolheram-se 7 tempos de contacto diferentes para as partículas FeO e 6 para as restantes partículas.

As condições de operação dos ensaios realizados apresentam-se Tabela 5.

Tabela 5: Condições de operação dos ensaios de cinética de remoção

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>E. coli</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm
NPMs	FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD
Concentração de NPMs	12 mg/mL
Tempos de agitação	30 s; 1, 2, 5, 10, 15 e 30 min

3.3.4.4. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NPMs NA REMOÇÃO DE *E. COLI*

Estes ensaios tiveram como objetivo determinar a cinética de remoção de *E. coli* variando a concentração de catalisador para um tempo de contacto e agitação fixo. Por conseguinte, a bactéria *E. coli* foi exposta a 7 concentrações de NPMs diferentes. Foi escolhido 1 min para o tempo de agitação visto que se pretendia obter resultados para tempos mais reduzidos. As condições de operação encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6: Condições de operação dos ensaios de influência da concentração de NPMs na remoção de *E. coli*

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>E. coli</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm
Tempo de agitação	1 min
NPMs	FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD
Concentração de NPMs	4; 8; 12; 16; 20; 30 e 50 mg/mL

3.3.4.5. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PARA A *E. COLI* (GRAM-NEGATIVA) COM *S. AUREUS* (GRAM-POSITIVA) E UMA ÁGUA REAL

Foram realizados ensaios com dois tipos de bactérias diferentes, bactérias gram-negativas (*E. coli*) e bactérias gram-positivas (*S. aureus*) e uma água real de um poço situado na cidade de Vila Nova de Gaia, com o objetivo de avaliar possíveis diferenças nas eficiências de remoção das bactérias para cada catalisador. As condições dos ensaios para a bactéria *S. aureus* e água real estão expostas na Tabela 7, os ensaios com *E. coli* foram realizados nas mesmas condições com o objetivo de se comparar resultados. Para a água real só foram realizados ensaios com FeO e CuFeO com um tempo de incubação de 2 dias em meio PCA, com incubação a 30 °C.

Tabela 7: Condições de operação dos ensaios de comparação da bactéria *S.aureus*

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>S. aureus</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm
Tempo de agitação	1 min
NPMs	FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD
Concentração de NPMs	50 mg/mL

3.3.4.6. ENSAIOS DE REUTILIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FEO E CUFeO

Foram realizados ensaios de reutilização das partículas que apresentaram melhores eficiências de remoção. A diferença no procedimento em relação aos restantes ensaios em reator fechado esteve na reutilização dos catalisadores. Com o auxílio de um ímã, imobilizaram-se as partículas, permitindo a separação da suspensão bacteriana para outro matraz e a reutilização do matraz inicial. Foram efetuadas duas reutilizações sem que as partículas entre as reutilizações sofressem qualquer tipo de tratamento. Na Tabela 8 apresentam-se as condições de operação dos ensaios de reutilização.

Tabela 8: Condições de operação dos ensaios de reutilização das partículas (FeO para *S. aureus* e CuFeO para *E. coli*)

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação do ensaio com FeO	Condições de operação do ensaio com CuFeO
Bactéria	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Agitação	Orbital a 150 rpm	Orbital a 150 rpm
Tempo de agitação	1 min	1 min
Concentração de NPMs	50 mg/mL	50 mg/mL
NPMs	FeO	CuFeO

3.4. REMOÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS EM ENSAIOS EM REATOR CONTÍNUO

Nestes ensaios procurou-se averiguar e otimizar a eficiência das nanopartículas FeO na remoção de células de uma suspensão bacteriana de *E.coli* e de uma água real de um poço situada na cidade de Vila Nova de Gaia.

3.4.1. PREPARAÇÃO DAS SUSPENSÕES BACTERIANAS

A suspensão bacteriana de *E.coli* foi preparada de acordo com o subcapítulo 3.3.1 do capítulo anterior.

3.4.2. ENSAIOS EM CONTÍNUO

Todo o material foi autoclavado antes de ser utilizado de modo a evitar qualquer tipo de contaminação ou erros nos resultados.

Para a realização destes ensaios, procedeu-se ao dimensionamento de um reator em contínuo, usando uma coluna (Omnifit) e uma bomba peristáltica. Procedeu-se aos cálculos das dimensões do reator de modo a obter o tempo de contacto das partículas com a suspensão bacteriana desejado, o caudal da suspensão bacteriana e a concentração de partículas a utilizar de modo a ser possível comparar com os ensaios realizados em reator fechado. Todos os cálculos realizados encontram-se em anexo (Anexo A1). Cada ensaio em contínuo foi realizado durante um período total de 3 h, com uma periodicidade de amostragem de 15 min e um tempo de contacto de 1 min entre a suspensão bacteriana e as partículas. Foi utilizada uma concentração de nanopartículas FeO de 1 g.min/mL.

Na Figura 4, pode-se observar uma imagem do procedimento experimental dos ensaios em contínuo. As setas mostram o fluxo da água real e da suspensão bacteriana.

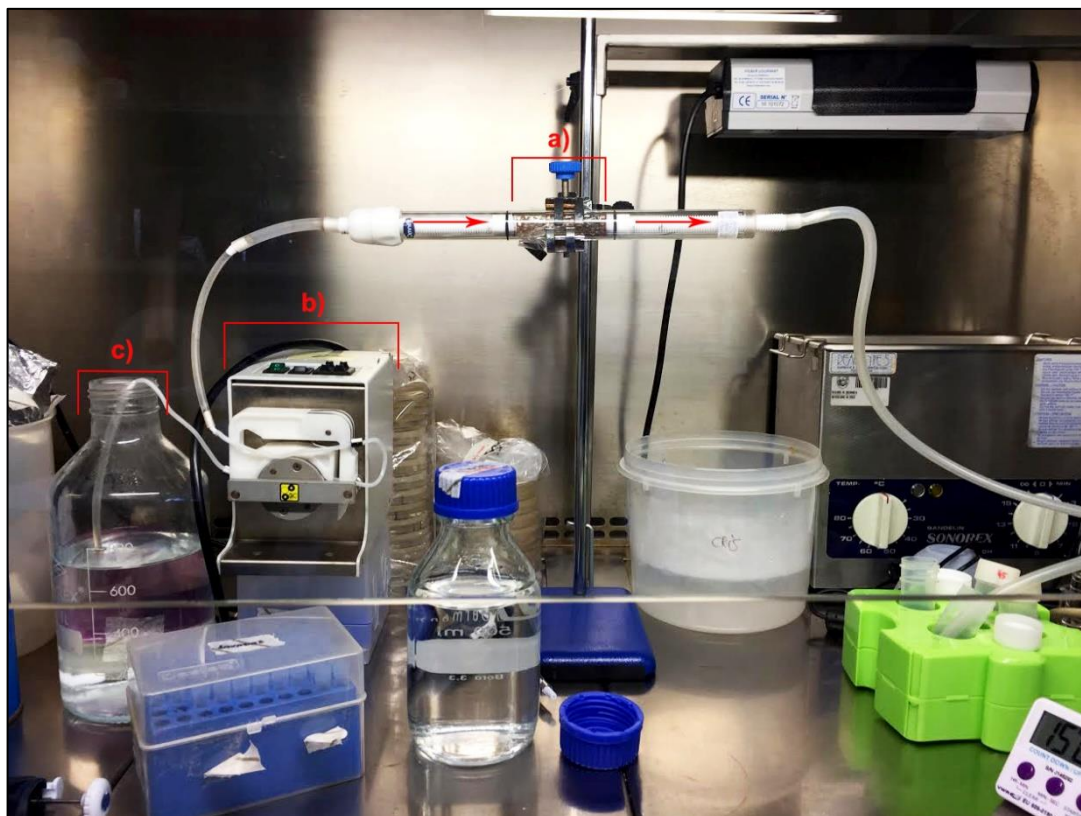


Figura 4: Imagem do procedimento realizado para os ensaios de reator em contínuo: (a) reator, b) bomba peristáltica, c) suspensão bacteriana antes do tratamento

3.4.3. ENUMERAÇÃO DAS CÉLULAS CULTIVÁVEIS

Para avaliar a eficiência de cada tipo de nanopartícula na remoção celular, enumeraram-se as células cultiváveis na suspensão inicial (t_0) e após diferentes tempos de contacto (t min). Para a amostra inicial da suspensão bacteriana de *E. coli* as diluições e os espalhamentos foram realizados de acordo com o subcapítulo 3.3.3. do capítulo anterior tal como para a água real que também se encontra nesse subcapítulo.

A eficiência de remoção das bactérias da suspensão após tratamento e a redução em log foram calculadas a partir das equações do subcapítulo 3.3.3. do capítulo anterior.

3.4.4. PARÂMETROS TESTADOS

3.4.4.1. ENSAIO EM CONTÍNUO COM UMA SUSPENSÃO BACTERIANA DE *E. COLI*

As condições de operação deste ensaio apresentam-se na Tabela 9.

Tabela 9: Condições de operação do ensaio em contínuo com uma suspensão bacteriana de *E. coli*

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Bactéria	<i>E. coli</i>
Tempo total do ensaio	180 min
Periodicidade de amostragem	15 min
NPM	FeO
Massa de MNP	1 g
Caudal	1 mL/min
Tempo de contacto (τ)	1 min
Concentração (Massa/Caudal)	1 g.min/mL

3.4.4.2. ENSAIO EM CONTÍNUO COM UMA ÁGUA REAL

As condições de operação deste ensaio apresentam-se na Tabela 10.

Tabela 10: Condições de operação do ensaio em contínuo com uma água real

Parâmetros dos ensaios	Condições de operação
Microrganismos	Heterotróficos totais
Tempo total do ensaio	180 min
Periodicidade de amostragem	15 min
NPM	FeO
Massa de MNP	5 g
Caudal	5 mL/min
Tempo de contacto (τ)	1 min
Concentração (Massa/Caudal)	1 g.min/mL

3.5. ENUMERAÇÃO DAS CÉLULAS VIVAS E MORTAS

O Kit Live/Dead é um kit que permite visualizar as células bacterianas ao microscópio de fluorescência distinguindo as células vivas das mortas. O kit é composto por dois corantes, verde e vermelho, que conferem fluorescência às células. O corante verde intercala o ADN, concedendo cor a todas as células. O corante vermelho só concede cor às células que têm a membrana danificada. Assim, pode-se assumir que as células com cor verde estão vivas e as vermelhas estão mortas.

Para este teste foram realizados ensaios em reator fechado de acordo com o procedimento apresentado em 3.3.2. Este ensaio foi executado para as partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD cada uma em contacto com *E. coli* e *S. aureus*, em separado. A densidade da suspensão inicial de trabalho foi de 10^6 UFC/mL. Foi utilizada uma concentração de catalisador de 12 mg/mL com 1 min de agitação. Observaram-se ao microscópio as suspensões bacterianas antes e após o tratamento.

Após o contacto das partículas com a suspensão bacteriana procedeu-se à pipetagem de 4 mL de suspensão para posterior filtragem (para as amostras iniciais foi pipetado 1 mL de suspensão bacteriana) com membranas de porosidade de 0,2 μ m (Whatman) e um diâmetro de 25 mm. Filtrou-se essa suspensão e adicionou-se 250 μ L de corante verde e 50 μ L de corante vermelho, por forma a

cobrir a superfície da membrana filtrante; tapou-se e deixou-se reagir durante 10 min. Após esses 10 min filtrou-se a solução e procedeu-se à visualização no microscópio.

A visualização foi realizada com uma ampliação de 1000 x usando um microscópio de fluorescência Nikon eclipse C1 com filtro simples para a mostra inicial de *S. aureus*; para as restantes amostras utilizou-se um microscópio de fluorescência Leica DM LB2 com filtro duplo. Para visualizar as imagens utilizou-se o software Lasv4.2.

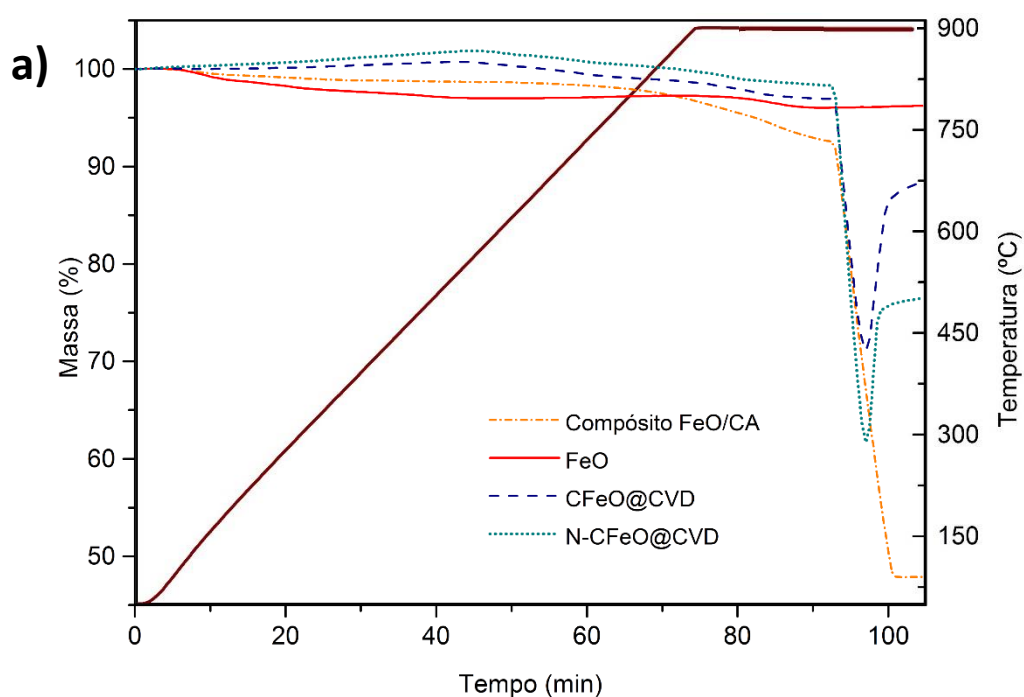
4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. CARACTERIZAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

4.1.1. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

A análise termogravimétrica teve como objetivo avaliar as propriedades térmicas dos materiais em função da temperatura observando a variação de massa destes. Na Figura 5 pode-se observar 2 gráficos que contêm a variação de massa dos materiais em função da temperatura e na Tabela 11 pode-se verificar os valores percentuais relativos à constituição mássica dos diferentes materiais.



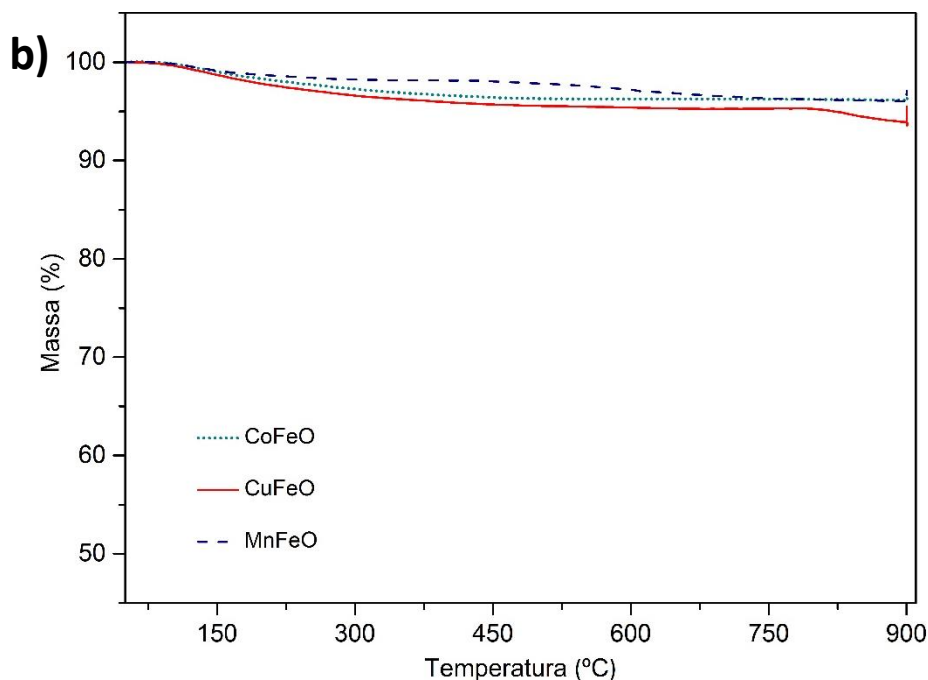


Figura 5: Termográficos das nanopartículas magnéticas FeO antes e após o revestimento por CVD e do composto FeO/CA (a) e das NPMs CoFeO, CuFeO e MnFeO (b)

Observando a Figura 5 verifica-se que nos materiais sem carbono (FeO, CoFeO, MnFeO e CuFeO) a perda de massa foi bastante reduzida quando comparada com os materiais com carbono presente na sua constituição, o que já seria de esperar tendo em conta a literatura [121]. Na Figura 5 a), encontra-se a comparação das partículas de FeO originais e revestidas com material de carbono e com material de carbono dopado com azoto e com o composto FeO/CA. A perda de massa para as partículas de FeO foi de 4%, enquanto que para as partículas de CFeO@CVD e N-CFeO@CVD foi de 12% e 24%, respetivamente, concluindo-se que as partículas que foram revestidas com material de carbono e carbono dopado com azoto continham, de facto, uma maior percentagem de carbono na sua constituição. Ainda na mesma figura, pode-se observar um ligeiro aumento de massa dos materiais preparados por CVD possivelmente devido à oxidação de fases reduzidas de Fe [125]. Adicionalmente, houve uma acentuada redução da massa do composto FeO/CA no final da análise o que demonstra que havia um alto teor de carbono presente nestas partículas.

A perda de massa foi muito reduzida para as partículas da Figura 5 b) sendo de 4% para CoFeO e MnFeO e de 6% para CuFeO. Adicionalmente, pode-se observar que, para estes materiais, houve um aumento de massa possivelmente devido à oxidação em contacto com ar que se encontrava em fluxo.

Tabela 11: Constituição, em percentagem, das nanopartículas magnéticas

Amostra	Humidade (%)	Voláteis (%)	Carbono (%)	Metal (%)
FeO	0,1%	3,9%	-	96,3%
CFeO@CVD	0,05%	3,0%	8,5%	88,4%
N-CFeO@CVD	0,3%	1,4%	21,9%	76,7%
Compósito FeO/CA	0,1%	7,2%	44,9%	47,9%
CoFeO	0,2%	3,7%	-	96,9%
MnFeO	0,2%	3,8%	-	97,2%
CuFeO	0,3%	6,1%	-	95,8%

A partir da Tabela 11, pode-se afirmar que os materiais sintetizados por CVD continham carbono, assim como o compósito de FeO com carvão ativado (FeO/CA). No último caso quase metade da constituição das partículas era carbono e a outra metade, metal. Pode-se também observar que a quantidade de carbono presente nas partículas N-CFeO@CVD era mais elevada do que a observada nas partículas não dopadas com azoto. Todas as partículas tinham uma quantidade de água inferior a 1% e com menos 10% de massa de voláteis em relação às suas massas totais. ´

4.1.2. ADSORÇÃO DE AZOTO A -196°C

A caracterização textural, mais especificamente, as áreas superficiais específicas (S_{BET}) foram calculadas a partir do método BET e estão presentes na Tabela 12.

Tabela 12: Caracterização textural das nanopartículas magnéticas

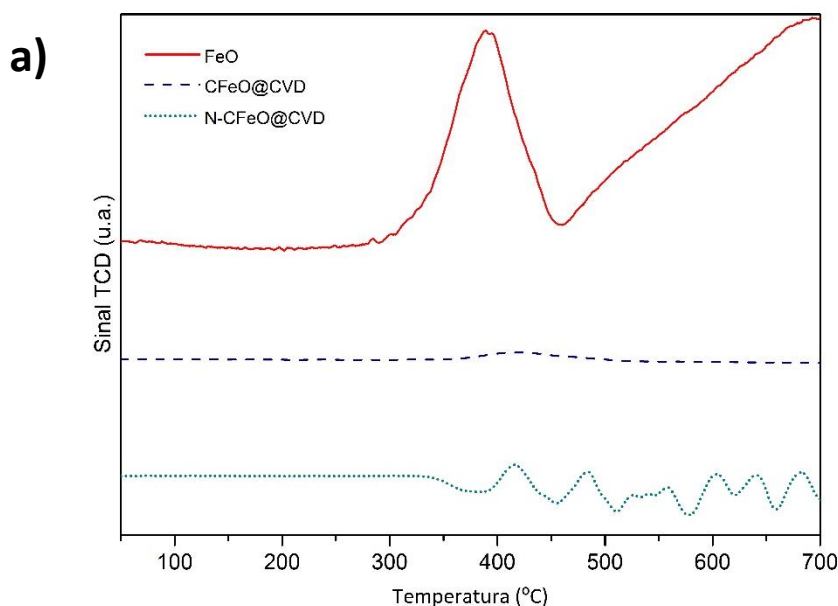
Amostra	S_{BET} (m ² /g)
FeO	116
CuFeO	197
MnFeO	126
CoFeO	189
Compósito FeO/CA	597
CFeO@CVD	4
N-CFeO@CVD	13

Observando a tabela anterior, pode-se constatar que as nanopartículas magnéticas tinham áreas superficiais específicas compreendidas entre 116 e 197 m²/g, com exceção das nanopartículas magnéticas com carvão ativado. Estas últimas tinham uma s_{BET} , muito elevada (597 m²/g) quando comparadas com as anteriores. A elevada área superficial deve-se à presença do carvão ativado no compósito que apresenta uma área de 824 m²/g. Após o revestimento com material de carbono e carbono dopado com azoto através de CVD, a área superficial diminuiu [126], indicando que esse revestimento diminuiu significativamente a área superficial do material inicial (Fe₂O₃) devido à elevada temperatura usada durante o processo de CVD.

4.1.3. REDUÇÃO A TEMPERATURA PROGRAMADA (TPR)

A análise de redução a temperatura programada foi realizada com o objetivo de determinar a temperatura de redução dos materiais em estudo. Como já referido, o consumo de H₂ foi monitorizado por um detetor de condutividade térmica.

Na Figura 6 a), é possível observar os picos de redução característicos das nanopartículas Fe₂O₃. O primeiro pico ocorreu entre os 300 e os 400 °C e neste instante ocorreu a redução das nanopartículas de Fe₂O₃ para Fe₃O₄ [127]. Seguidamente, entre os 400 e os 700 °C, ocorreu o segundo pico e neste houve uma redução sequencial de Fe₃O₄ para FeO e, finalmente, Fe⁰ [122, 127]. Após o revestimento das partículas de Fe₂O₃ pelo processo de CVD os dois picos referidos anteriormente não são possíveis de serem observados na figura, devido ao encapsulamento dos óxidos de ferro por material de carbono [122].



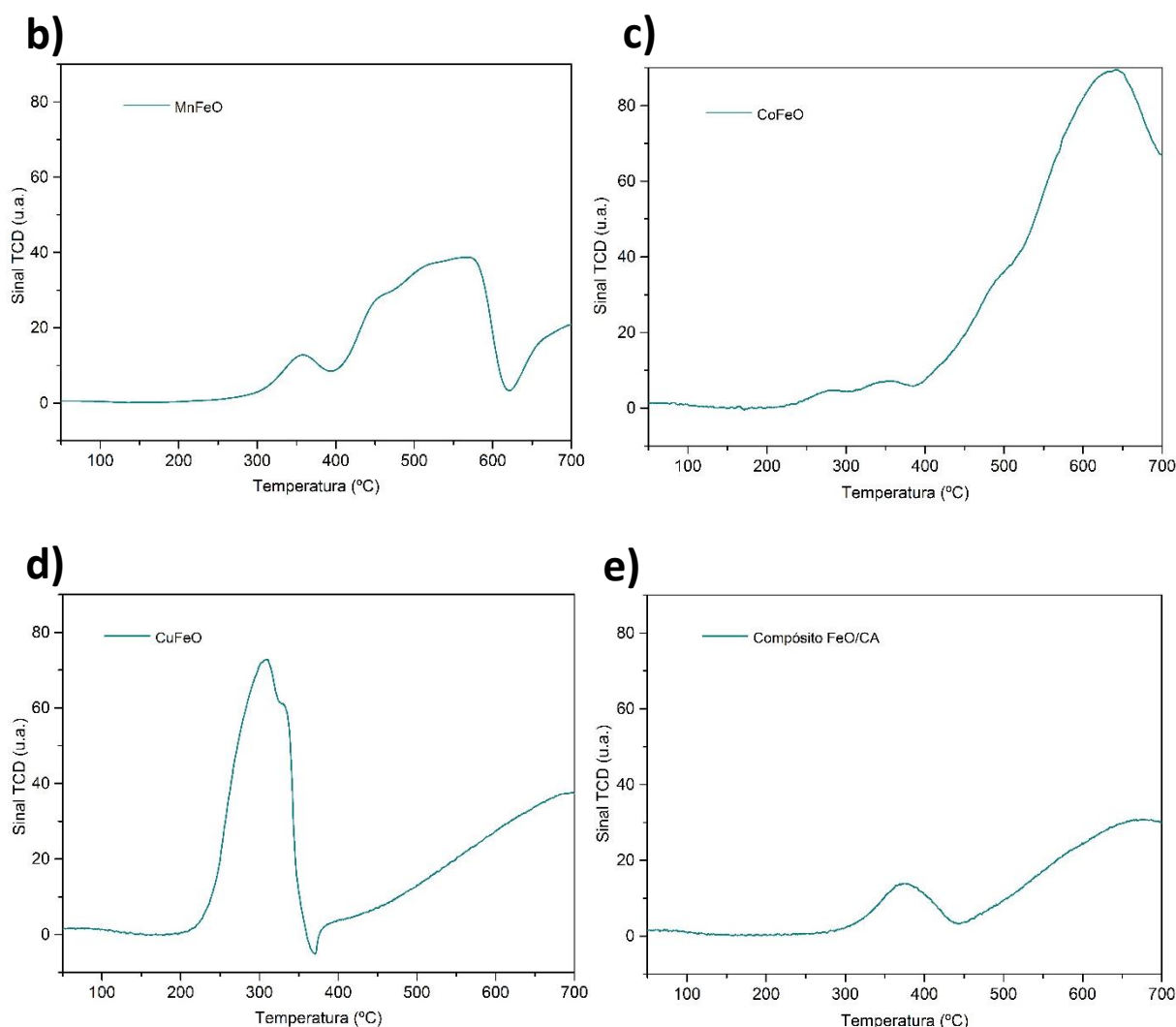


Figura 6: Perfil TPR das nanopartículas magnéticas FeO antes e após o revestimento por CVD

(a), MnFeO (b), CoFeO (c), CuFeO (d) e compósito FeO/CA (e)

Na Figura 6 b) é possível observar a presença de 3 picos de redução nas nanopartículas MnFeO. Para estas o processo de redução pode ser descrito como $\text{MnFe}_2\text{O}_4 \rightarrow \text{MnFe}_2\text{O}_{4-\delta} \rightarrow \text{MnO-FeO} \rightarrow \alpha\text{-Fe}$. Também se pode observar que o primeiro pico (aproximadamente aos 350 °C) é mais pequeno que o pico dos 400 aos 600 °C. Após os 600 °C, no terceiro pico, a estrutura de MnFe_2O_4 é destruída havendo formação de Fe_2O_3 . Assim, este material para além de conter MnFe_2O_2 , também continha Fe_2O_3 na sua estrutura [128].

Na Figura 6 c) pode-se verificar a presença de, essencialmente, dois picos, entre os 300 e os 500 °C. Isto é atribuído aos dois passos de redução de Co_3O_4 ($\text{Co}_3\text{O}_4 \rightarrow \text{CoO} \rightarrow \text{Co}^0$) [129, 130]. Observa-se outro pico, que atingiu o seu máximo aos 600 °C relacionado com a formação de magnetite (Fe_3O_4) para além da redução de Co_3O_4 para Co^0 [130, 131].

Na Figura 6 d) pode-se observar a existência de 2 picos de redução tal como acontece com o perfil do FeO. O primeiro pico ocorreu entre os 200 e 400 °C onde ocorre a redução de CuFe_2O_4 para Cu^0 e Fe_3O_4 . O segundo pico ocorreu entre os 400 e os 700 °C, neste intervalo de temperaturas ocorre a redução das partículas Fe_3O_4 a Fe^0 [132].

Na Figura 6 e) observam-se 2 picos de redução semelhantes aos observados no perfil das partículas FeO (ver Figura 6 a)). Constata-se, assim, que entre os 300 e 400°C (primeiro pico) ocorreu a redução de Fe_2O_3 para Fe_3O_4 e no segundo pico, dos 400 aos 700°C houve uma redução sequencial de Fe_3O_4 para FeO e, finalmente, Fe^0 [127].

4.1.4. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE TRANSMISSÃO (TEM)

As análises TEM foram realizadas com o objetivo de obter informação sobre a estrutura das nanopartículas magnéticas. Na Figuras 7 é possível observar as imagens de TEM das partículas magnéticas de FeO, partículas de FeO revestidas por material de carbono por CVD e partículas de FeO revestidas por material de carbono dopado com azoto por CVD, respetivamente.

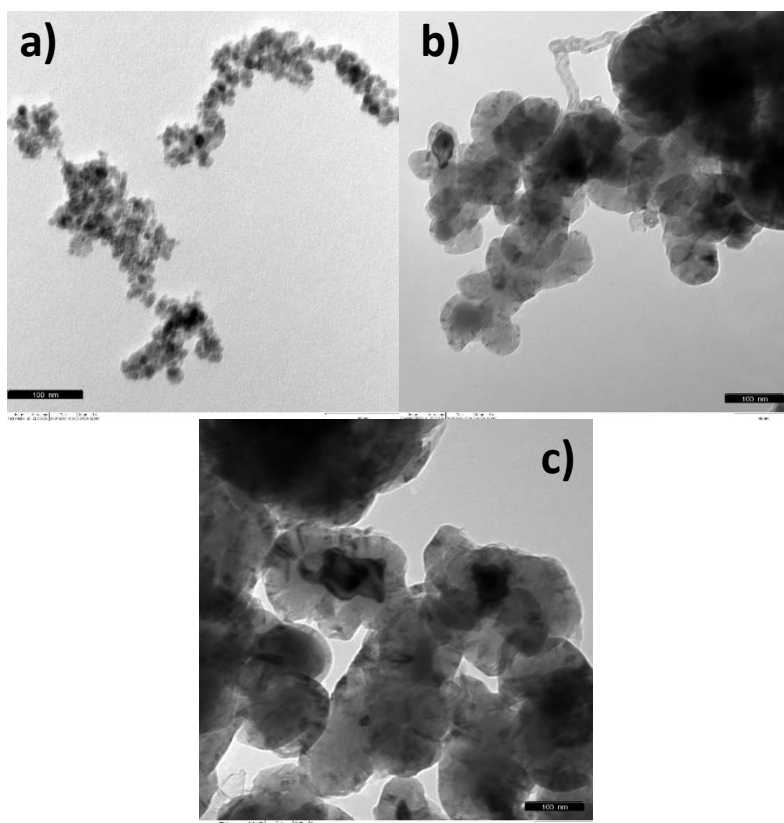


Figura 7: Imagens de TEM das partículas de FeO (a), CFeO@CVD (b) e N-CFeO@CVD (c)
Escala de 100 nm

Para as partículas FeO, presentes na Figura 7 a), pode-se verificar que as partículas metálicas tinham uma forma esférica reduzida que não era bem definida, com tamanhos compreendidos, aproximadamente, entre os 1 e os 30 nm.

Na Figura 7 b) é possível observar que o metal estava encapsulado no interior das partículas, pode-se assim constatar que as partículas magnéticas se encontravam revestidas por material de carbono, tendo-se detetado a presença de alguns nanotubos.

Na Figura 7 c) pode-se observar, igualmente, o metal no interior das partículas, podendo-se constatar que as partículas magnéticas estavam revestidas por material de carbono dopado com azoto.

4.1.5. MICROSCOPIA ELETRÓNICA DE VARRIMENTO (SEM) / ESPECTROSCOPIA DE RAIOS - X POR DISPERSÃO EM ENERGIA (EDS)

Recorreu-se a esta técnica de caracterização para obter imagens tridimensionais da morfologia externa dos materiais, assim como a composição destes.

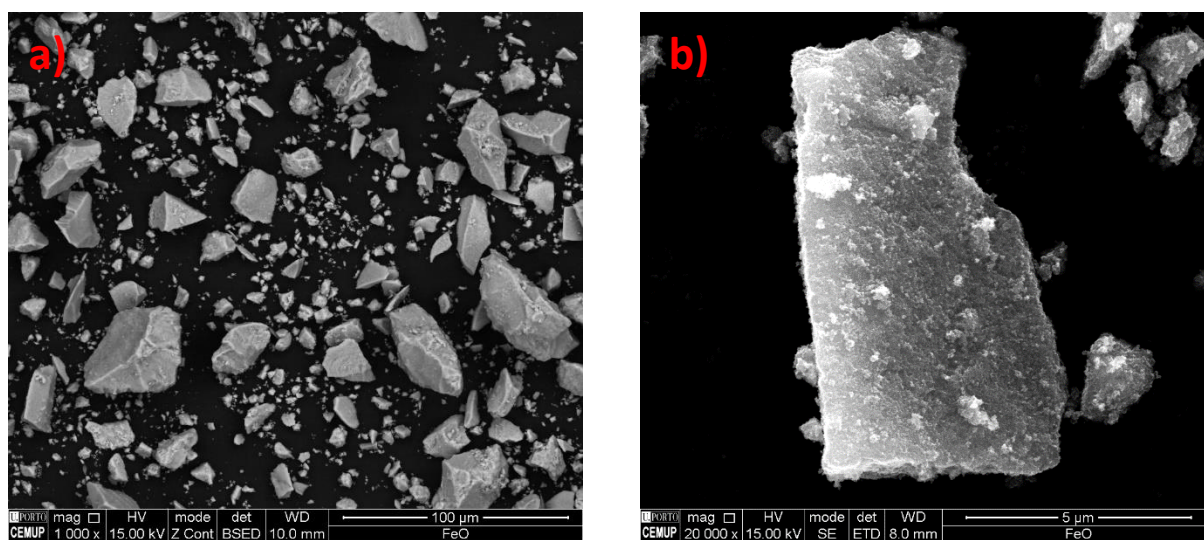


Figura 8: Imagens de SEM de partículas FeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

A partir da Figura 8, pode-se verificar que as partículas FeO eram bastante compactas. Eram também partículas muito pequenas e finas. Com tamanhos compreendidos entre 1 e 50 µm.

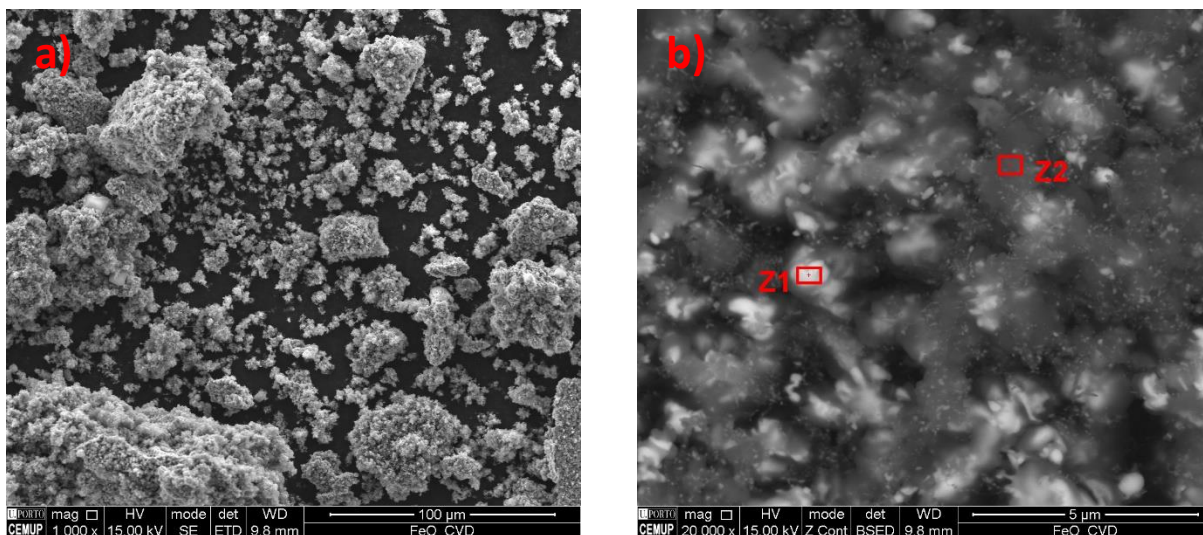


Figura 9: Imagens de SEM de partículas CFeO@CVD com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Analisando as Figuras 9 e 10, pode-se constatar a presença de material de carbono e do metal Fe. Estas partículas eram bastante heterogêneas. Na figura 10 pode-se observar o espectro dos constituintes da zona 1 e da zona 2 (Z1 e Z2).

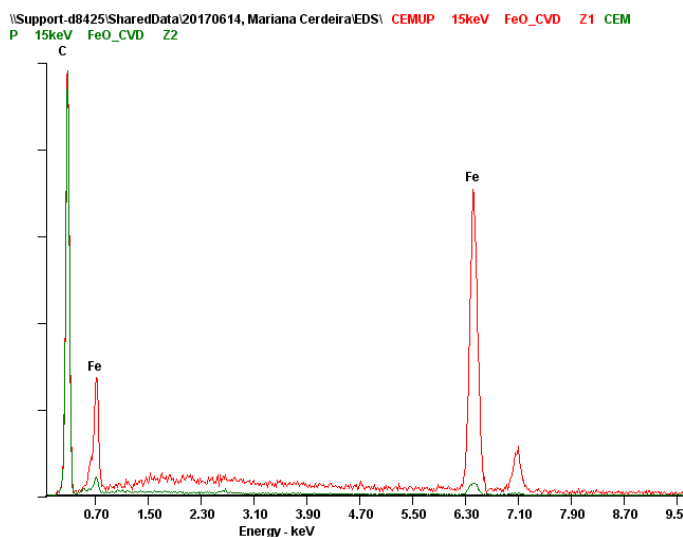


Figura 10: Espectro EDS das partículas CFeO@CVD para a zona 1 (vermelho) e zona 2 (verde)

Numa imagem SEM com difração de electrões retrodifundidos, as zonas mais claras, neste caso a zona Z1, são referentes ao metal devido ao seu maior número atómico. Pelo contrário, as zonas mais

escuras são as zonas que contêm carbono. Isto pode ser demonstrado pelo espectro da Figura 10, onde se pode ver que a zona 1 apresenta bastante mais Fe que a zona 2.

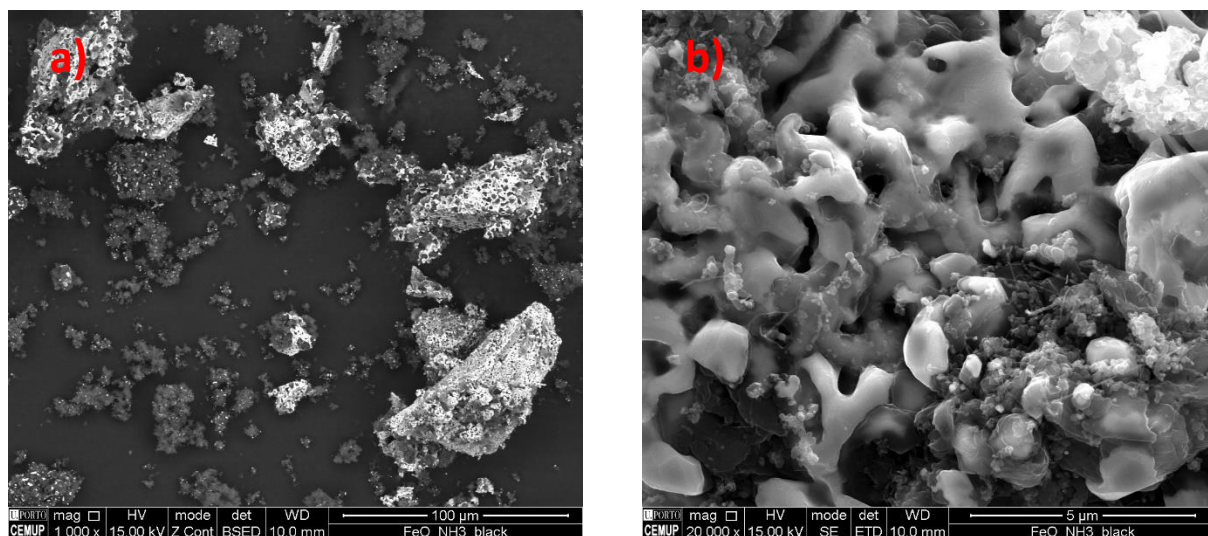


Figura 11: Imagens de SEM de partículas N-CFeO@CVD com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Na Figura 11, nota-se que após o tratamento por CVD, as partículas resultantes, partículas FeO revestidas com material de carbono, ficaram maiores. Na Figura 11 b) também se pode verificar a presença de nanotubos de carbono e o Fe envolvido por carbono. Nota-se que há partes do metal não recobertas pelo carbono.

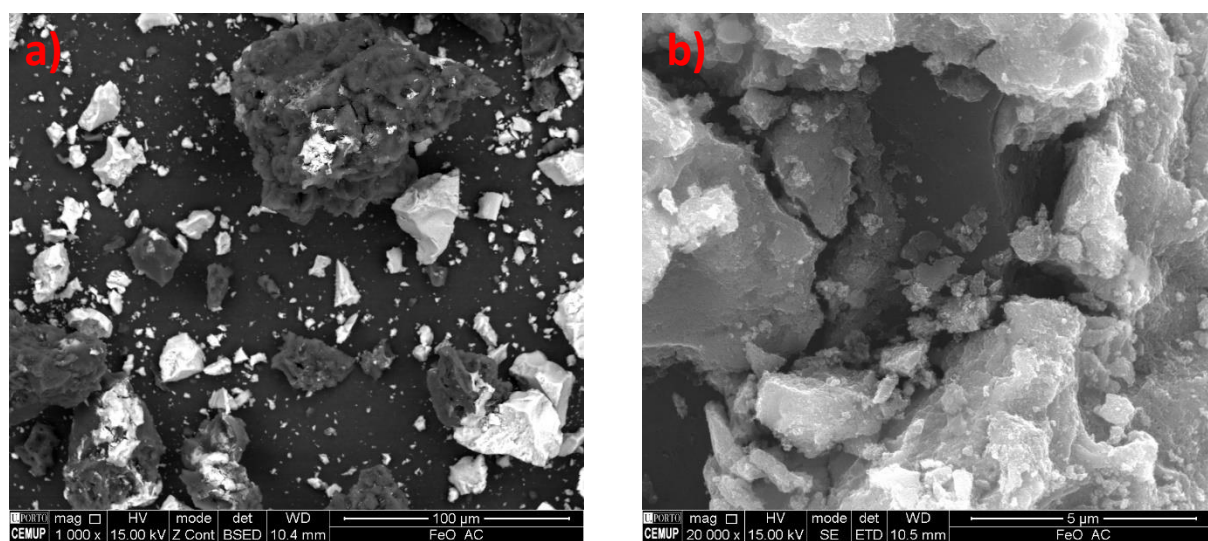


Figura 12: Imagens de SEM das partículas compostas FeO/CA com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Na Figura 12, pode-se verificar que o composto FeO e carvão ativado era muito heterogêneo, encontrando-se por vezes metal revestido por carbono ou o contrário, ou seja, carbono revestido pelo metal.

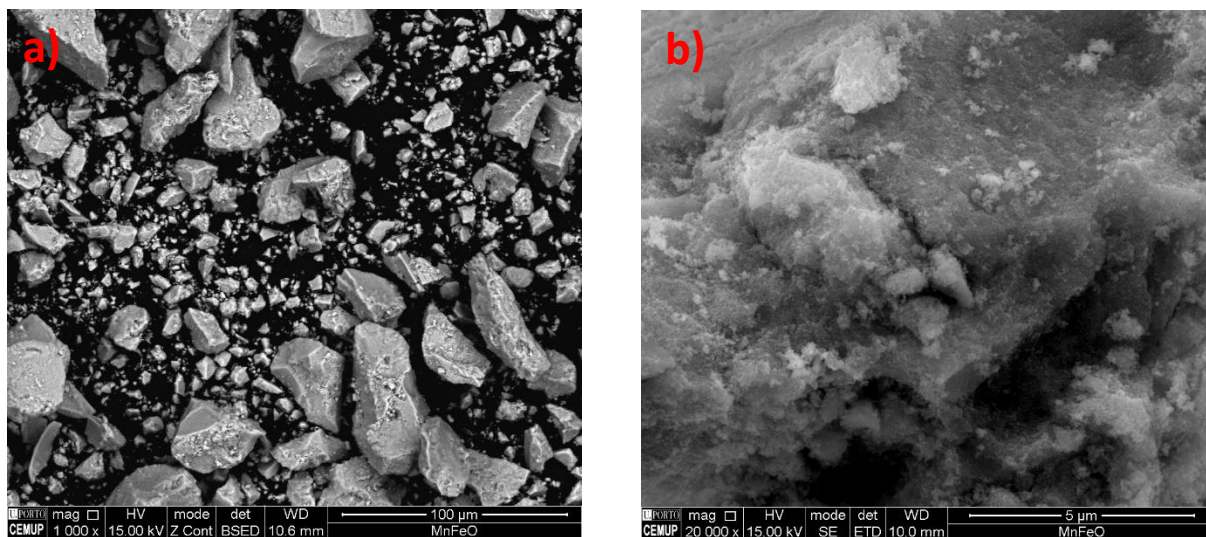


Figura 13: Imagens de SEM de partículas MnFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Na figura anterior (Figura 13) não foi possível distinguir de forma clara os metais Fe e Mn devido à proximidade dos seus números atômicos. Apesar de algumas partes terem tonalidades diferentes, o espectro EDS não revelou diferenças significativas, podendo-se considerar esta amostra como uma amostra muito homogênea.

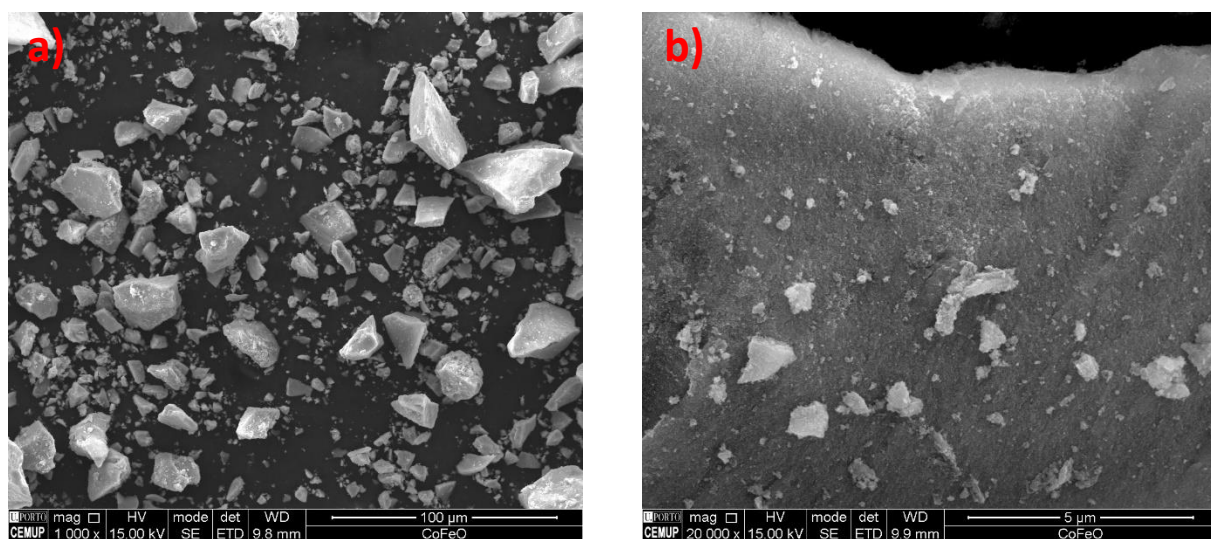


Figura 14: Imagens de SEM de partículas CoFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Tal como acontece na Figura 13, na Figura 14 não se notam diferenças significativas nos metais devido à proximidade dos números atômicos. É também uma amostra bastante homogênea.

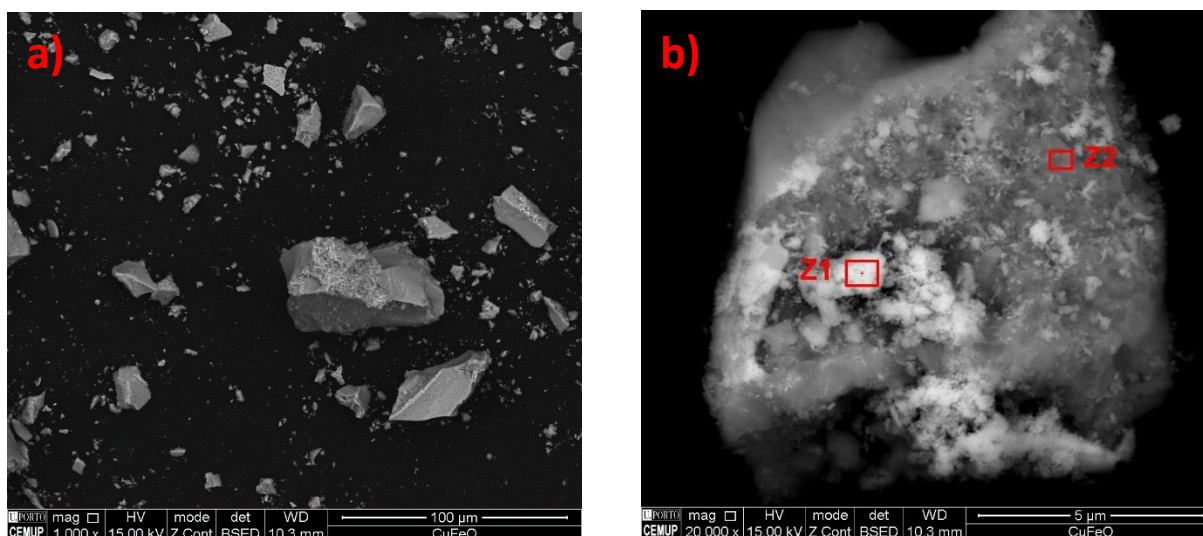


Figura 15: Imagens de SEM de partículas CuFeO com uma magnificação de 1000 x (a) e 20 000 x (b)

Na figura 15 b) pode-se verificar a existência de 2 zonas, zona Z1 e zona Z2, a zona Z1 (mais clara corresponde ao cobre, por outro lado a zona mais escura, zona Z2, corresponde ao ferro. Pode-se constatar que esta amostra era bastante heterogênea.

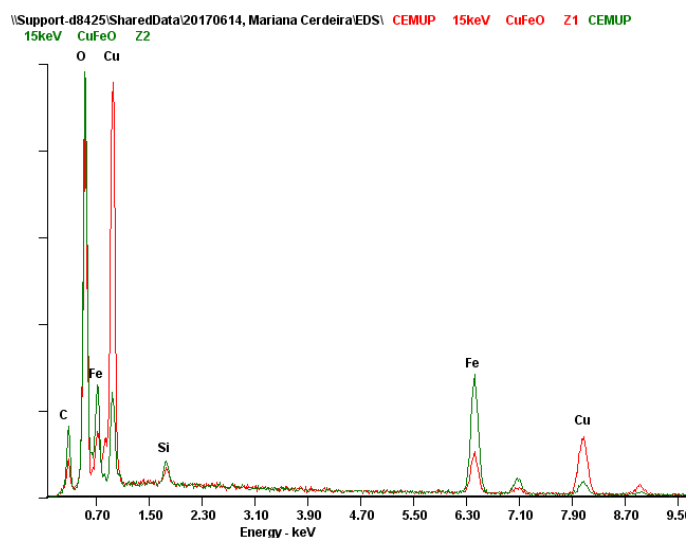


Figura 16: Espectro EDS das partículas CuFeO para a zona 1 (vermelho) e zona 2 (verde)

A partir do espectro EDS da Figura 16, pode-se verificar o que já foi anteriormente referido, a zona mais clara (zona Z1), corresponde a uma zona com mais cobre e a zona mais escura (zona Z2), corresponde a uma zona com mais ferro.

4.2. REMOÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS EM ENSAIOS EM REATOR FECHADO

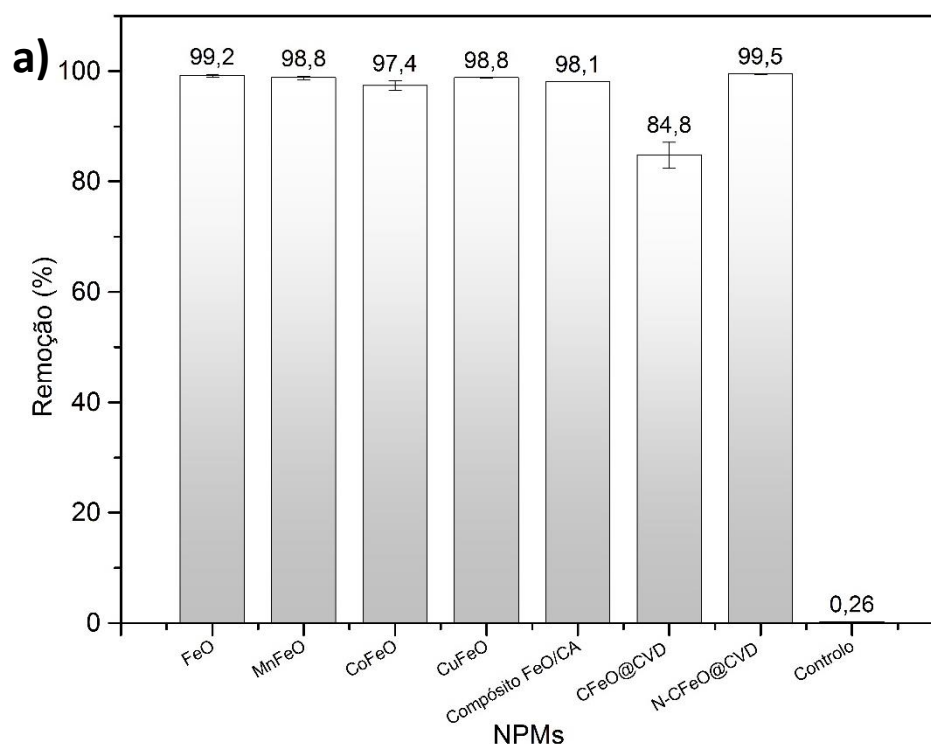
4.2.1. ENSAIOS DE CONTROLO

No ensaio de controlo realizado sem nanopartículas magnéticas e com um tempo de agitação e contacto de 15 min obteve-se uma eficiência de remoção de 0,26% e uma redução de 0,005 log.

Para o controlo do pH verificou-se que a adição de partículas não influenciou o pH mantendo-se neutro (igual a 7). A Figura A3.1 presente no Anexo A3 mostra o controlo efetuado.

4.2.2. COMPARAÇÃO DAS NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Este estudo teve como objetivo determinar as nanopartículas magnéticas sintetizadas que apresentam maior eficiência de remoção das bactérias. O controlo também se encontra representado no gráfico de barras.



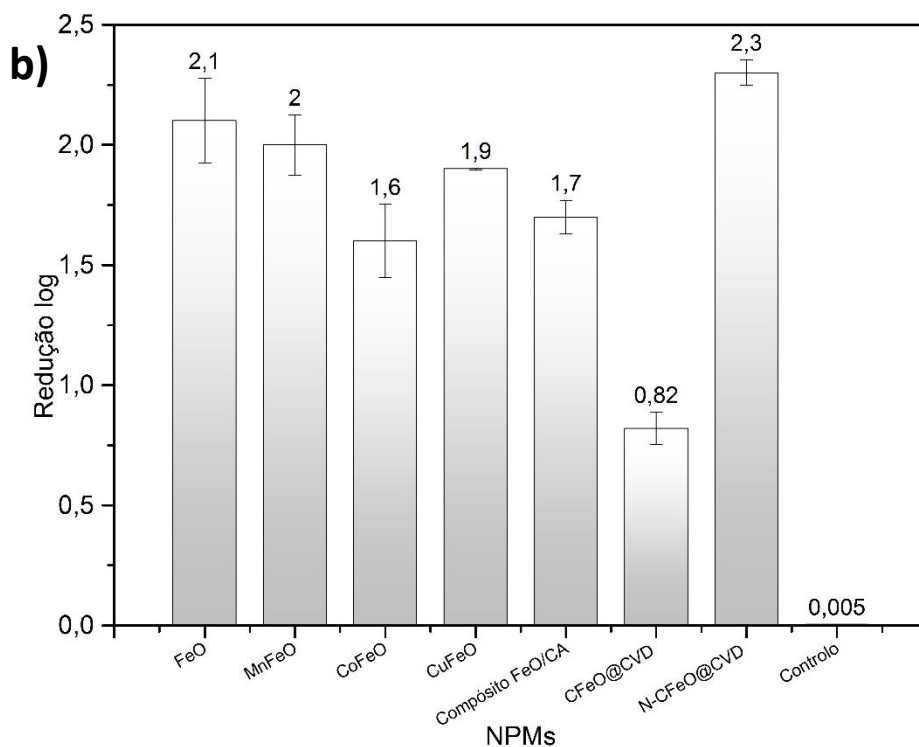


Figura 17: Remoção (%) (a) e redução em log (b) de *E. coli* para cada tipo de NPM sintetizada

Todos os ensaios foram realizados em duplicado exceto para FeO, que foram realizados em triplicado

Parâmetros experimentais: concentração = 12 mg/mL; tempo de contacto = 15 min

Na Figuras 17 são apresentados os valores de remoção de *E. coli* em percentagem e em redução log, com o desvio médio para cada valor. As nanopartículas magnéticas com maior eficiência na remoção de células viáveis de *E. coli* foram as partículas FeO e N-CFeO@CVD. Seguidamente, foram as partículas de MnFeO e CuFeO que apresentaram maior eficiência. As partículas com menor eficiência foram as CFeO@CVD, com eficiências abaixo dos 90%, correspondendo a valores menores do que 1 log de remoção.

Assim, as partículas escolhidas para estudos de otimização foram as partículas FeO, N-CFeO@CVD e as partículas de CuFeO. As partículas constituídas por cobre embora tenham tido menor eficiência de remoção das bactérias que as partículas MnFeO foram escolhidas devido à toxicidade que o cobre tem sob as bactérias [133].

4.2.3. CINÉTICA DE REMOÇÃO DE *E. COLI*

Estes ensaios tiveram como objetivo determinar o comportamento, ao longo do tempo, das nanopartículas anteriormente selecionadas em contacto com a bactéria *E. coli*.

A primeira cinética de remoção a ser realizada foi com as partículas de FeO. Neste ensaio analisaram-se 7 tempos de contacto, até um tempo máximo de 30 min. Tendo-se chegado à conclusão que a diferença na eficiência de remoção das bactérias não era significativa a partir dos 5 min, estabilizando nesse ponto, para as restantes partículas (CuFeO e N-CFeO@CVD) o ponto de 30 min não foi analisado, visto que o objetivo era obter a maior eficiência de remoção das bactérias no menor tempo possível. Na Figura 18 pode-se observar a cinética de remoção para as partículas FeO em percentagem de remoção e em redução em log.

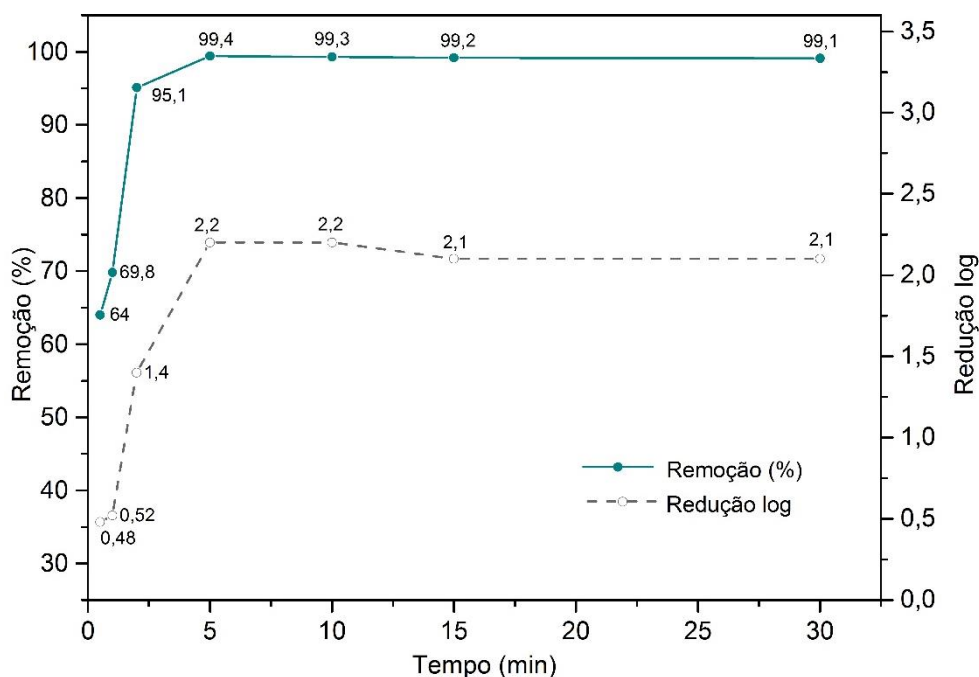


Figura 18: Cinética de remoção (%) e redução em log de *E. coli* por FeO

Para os 2 e 15 min os ensaios foram realizados em triplicado, para os 10, 5 min e 30 s os ensaios foram realizados em duplicado, para 1 e 30 min só foi realizado um ensaio
Parâmetros experimentais: concentração = 12 mg/mL

Observando a Figura 18, verifica-se que a percentagem de remoção de bactérias aumentou gradualmente até um valor máximo de 99,4%, correspondente a uma redução log de 2,2 aos 5 min. Entre os 5 e os 30 min os valores mantiveram-se acima dos 99% (redução log acima de 2). Assim, o ponto de eficiência de remoção de bactérias máximo e consequentemente a sua estabilização foi obtido após 5 min de contacto e agitação com os microrganismos.

O desvio médio máximo entre réplicas dos ensaios realizados com este tipo de partículas foi de 14,0% tendo-se verificado que este valor aumentava com a redução da eficiência de remoção das bactérias.

Na Figura 19 apresenta-se a cinética de remoção de *E. coli* obtida para as partículas que continham cobre.

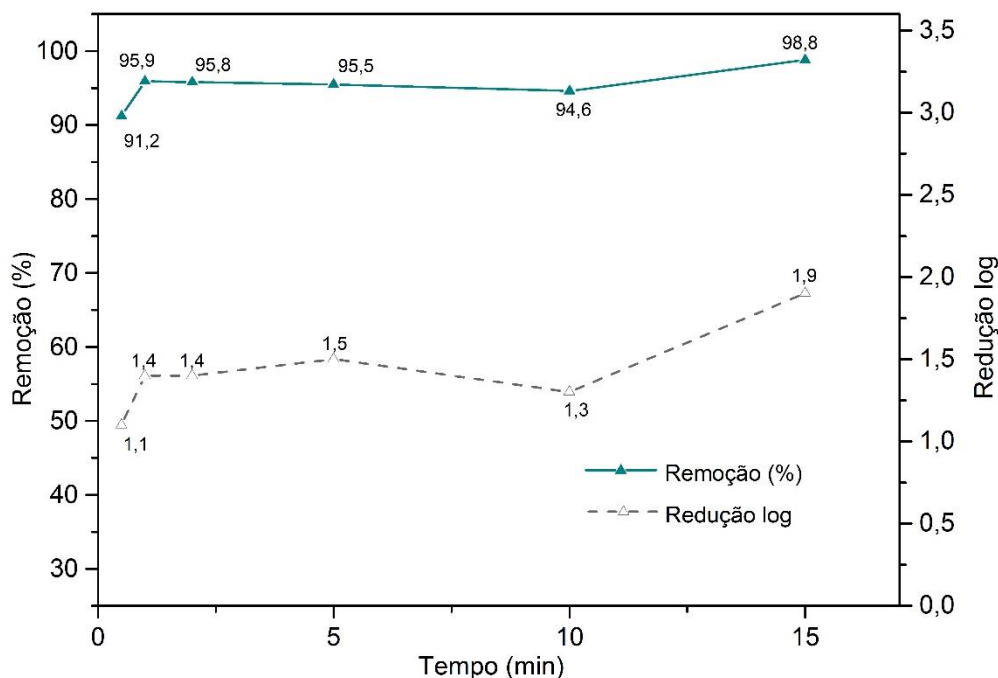


Figura 19: Cinética de remoção (%) e redução log de *E. coli* por CuFeO

Todos os ensaios foram realizados em duplicado exceto para o tempo de 10 min e 30 s, que só foi realizado um ensaio
Parâmetros experimentais: concentração = 12 mg/mL

Observando a figura anterior relativa às partículas CuFeO, pode-se verificar uma maior eficiência de remoção para tempos de contacto baixos quando comparado com as partículas de FeO. Após 30 s de contacto as partículas CuFeO removeram 91,2% de células, correspondendo a uma redução log de 1,1. Para este mesmo tempo de contacto, as partículas FeO apenas removeram 64% de células (redução log de 0,48). No entanto, com estas partículas não se obtiveram valores de remoção tão elevados como os obtidos para as partículas FeO nem após 5 min de contacto (95,5% e 99,4% para CuFeO e FeO, respetivamente), nem aos 15 min (98,8% e 99,2% para CuFeO e FeO, respetivamente). Verificou-se também que os resultados obtidos para as partículas CuFeO foram mais reprodutíveis do que os registados para as partículas de FeO. Para as partículas com cobre o desvio médio máximo entre réplicas foi de 2,9% (0,33 log) para os 5 min de contacto.

A capacidade para remover elevada quantidade de células com baixos tempos de contacto é uma grande vantagem quando se pretende desinfetar água corrente.

De seguida, apresentam-se as figuras relativas à cinética de remoção de *E. coli* pelas partículas N-CFeO@CVD em função do tempo.

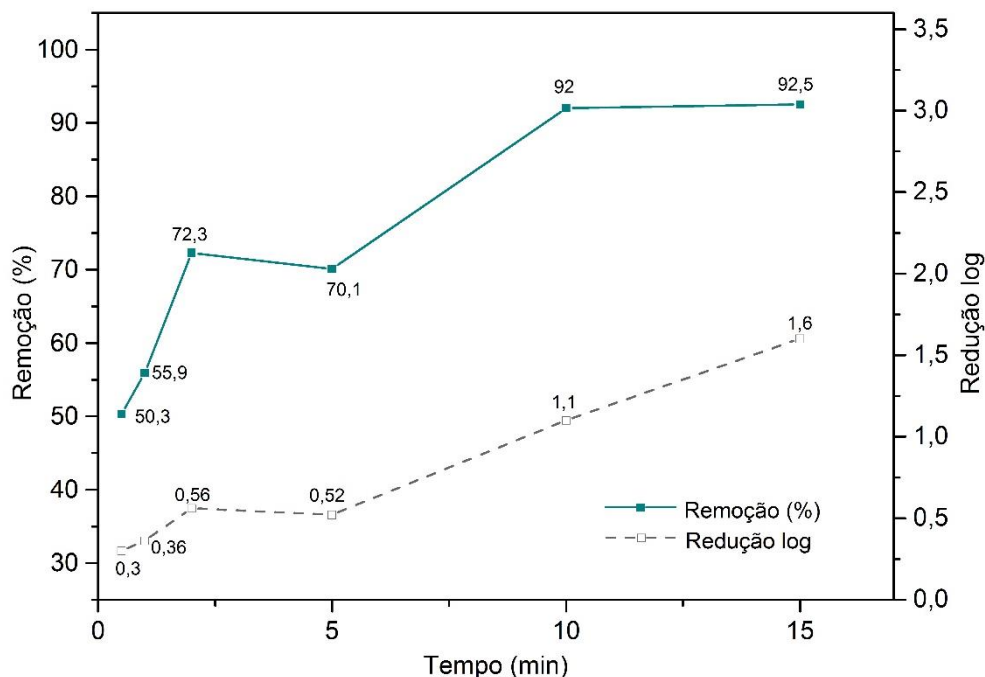


Figura 20: Cinética de remoção (%) e redução em log de *E. coli* por N-CFeO@CVD

Para todos os tempos de contacto só foi realizado um ensaio exceto para o tempo de 15 min que foram realizados 4 ensaios
Parâmetros experimentais: concentração = 12 mg/mL

Observando a Figura 20, pode-se verificar que estas partículas foram as que removeram menor quantidade de células viáveis, para qualquer tempo de contacto analisado. De facto, mesmo para os maiores tempos de contacto (10 e 15 min), as partículas N-CFeO@CVD apenas removeram 92,5% (1,6 log) das células viáveis iniciais. Adicionalmente, entre os 2 e os 5 min não houve grande variação nos valores registados, contrastando com os 16% de aumento da remoção entre o tempo de 1 min e os 2 min, e de 22% entre os 5 e os 10 min de contacto. Uma vez que este ensaio só foi realizado uma vez, muito provavelmente ocorreu algum tipo de erro na enumeração dos microrganismos nos tempos 2 e/ou 5 min.

Finalmente, o valor obtido para os 15 min neste ensaio foi mais baixo do que o obtido nos ensaios de comparação dos materiais (99,5%). Isto deveu-se à necessidade de preparar um novo lote de material para a realização destes ensaios e que devido à falta de amoníaco na garrafa de armazenamento presente na síntese do material, não tendo sido possível encomendar mais amoníaco até ao final dos ensaios, resultou na síntese de partículas de N-CFeO@CVD com menor capacidade de remoção de bactérias.

4.2.4. INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE NPMs NA REMOÇÃO DE *E. COLI*

Estes ensaios tiveram como objetivo avaliar a eficiência de remoção de *E. coli* variando a concentração de catalisador para um tempo de contacto e agitação fixo. Por conseguinte a *E. coli* foi exposta a 7 concentrações de NPMs diferentes e foram avaliadas as eficiências de remoção destas e a respetiva redução em log.

Embora os tempos reduzidos não fossem muito promissores para as partículas de FeO e N-CFeO@CVD, foi escolhido um tempo de agitação reduzido (1 min). Esta escolha deveu-se ao objetivo do trabalho que, como já foi referido, era obter o máximo de eficiência possível na remoção das bactérias no mínimo tempo de contacto.

Na Figura 21 pode-se observar a remoção de *E. coli* por partículas FeO em função da variação da concentração do catalisador.

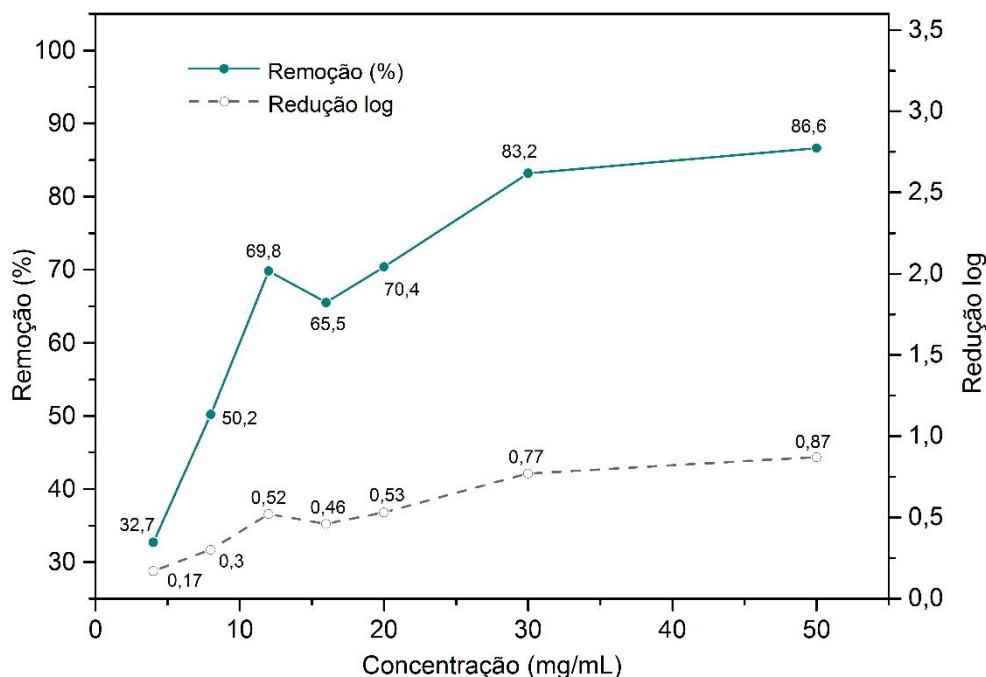


Figura 21: Remoção (%) e redução em log de *E. coli* por FeO em função da concentração de catalisador

Só foi realizado um ensaio para cada uma das concentrações de catalisador
Parâmetros experimentais: tempo de contacto = 1 min

A partir da figura anterior, pode-se verificar que há um maior aumento na eficiência de remoção de *E. coli* para concentrações mais baixas de catalisador (4 a 12 mg/mL). A partir de uma concentração de 12 mg/mL, embora haja um maior aumento na concentração de FeO a eficiência de remoção da bactéria tem uma evolução menor, começando a estabilizar e, finalmente, passa a ser constante. Observa-se que, para este catalisador e bactéria, a eficiência de remoção não será muito

mais elevada que os 86,6% e que os 0,87 log correspondentes, mesmo com um aumento da concentração de catalisador.

Na figura 22 pode-se observar a remoção de *E. coli* por partículas CuFeO em função da variação da concentração do catalisador.

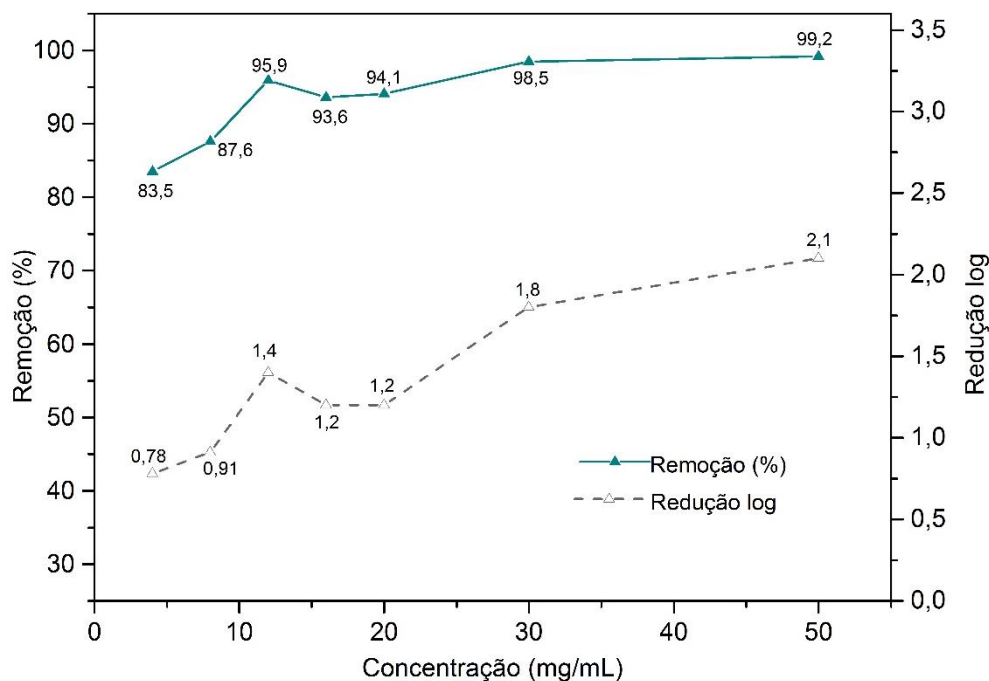


Figura 22: Remoção (%) e redução em log de *E. coli* por CuFeO em função da concentração de catalisador

Só foi realizado um ensaio para cada uma das concentrações de catalisador
Parâmetros experimentais: tempo de contacto = 1 min

Tal como na cinética de remoção de *E. coli* em função do tempo, a variação da eficiência de remoção de células viáveis foi nitidamente menor quando comparada com a variação das partículas FeO. Para as partículas FeO houve uma variação na eficiência de remoção de 53,9% nas concentrações estudadas, enquanto que para as partículas CuFeO a variação foi somente de 15,7%. Isto demonstra novamente que as partículas que contêm cobre são menos sensíveis às diferentes condições dos ensaios estudados. Por outro lado, a redução em log aumentou substancialmente com o aumento das concentrações de catalisador. Note-se que, para eficiências de remoção mais elevadas (a partir dos 98%), a redução em log aumenta substancialmente quando comparado com eficiências menores. Para uma concentração de catalisador de 50 mg/mL obteve-se uma redução em 2 log o que é bastante aceitável.

Finalmente, na Figura 23 pode-se observar a remoção de *E. coli* por partículas N-CFeO@CVD em função da variação da concentração do catalisador.

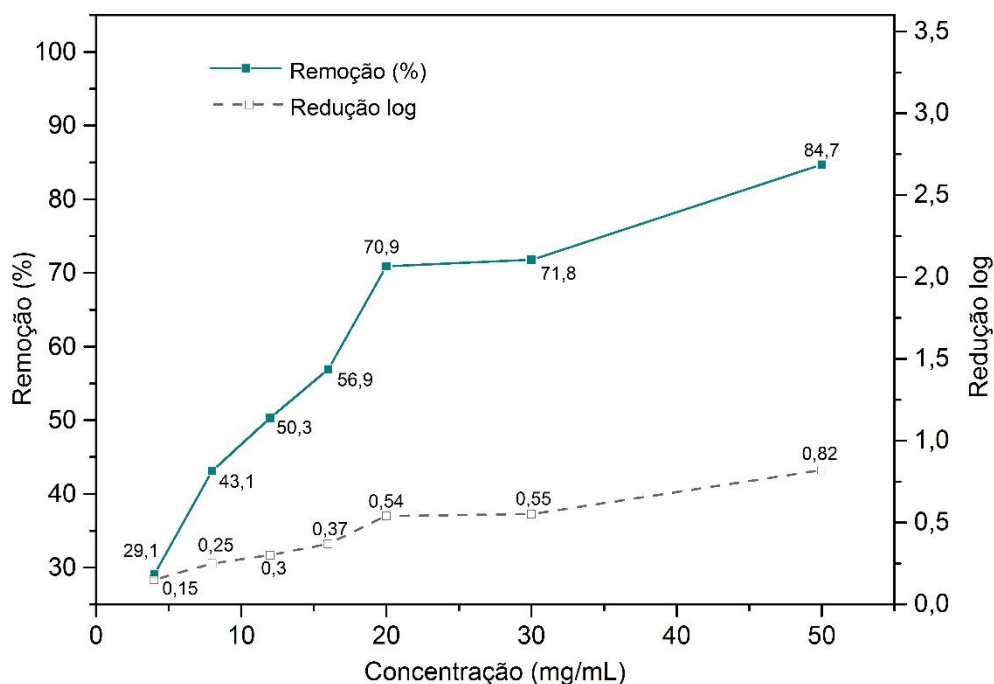


Figura 23: Remoção (%) e redução em log de *E. coli* por N-CFeO@CVD em função da concentração de catalisador

Só foi realizado um ensaio para cada uma das concentrações de catalisador
Parâmetros experimentais: tempo de contacto = 1 min

As partículas N-CFeO@CVD tiveram um comportamento bastante semelhante às partículas FeO na variação da eficiência de remoção da *E. coli* em função da concentração de partículas. Pode-se notar que houve uma variação de 55,6% na eficiência de remoção entre a concentração mais baixa e a concentração mais alta de catalisador. Isto significa que a bactéria estudada (*E. coli*) apresenta uma maior sensibilidade à variação da concentração dos catalisadores FeO e N-CFeO@CVD.

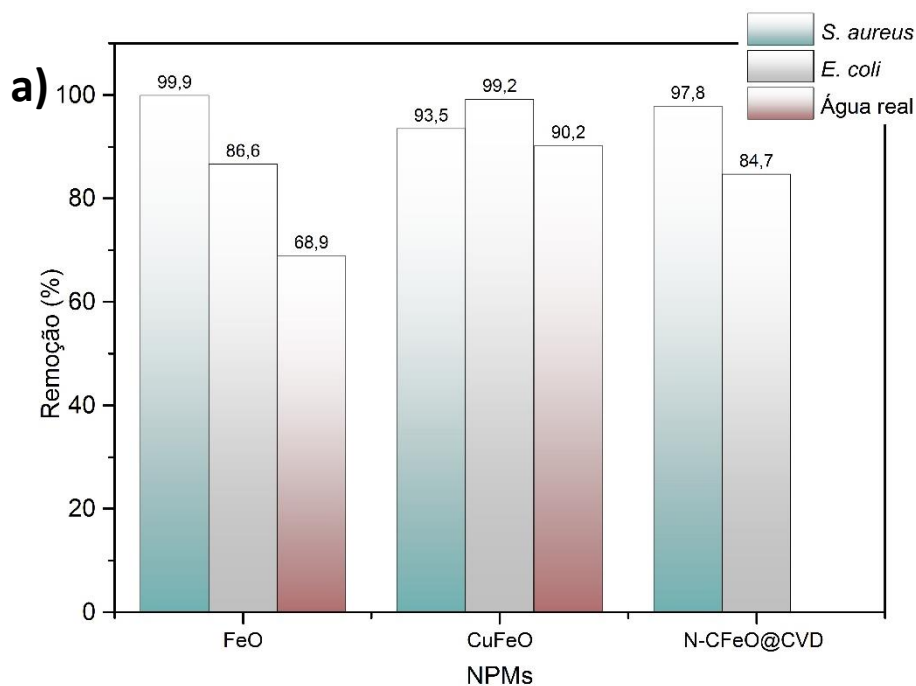
Contudo, ao contrário do que aconteceu com as partículas FeO em que para concentrações de catalisador mais altas se observou uma evolução mais lenta na eficiência de remoção das bactérias, na evolução desta cinética de remoção verificou-se um aumento acentuado da eficiência de remoção das células viáveis para as concentrações de catalisador mais elevadas (de 30 mg/mL para 50 mg/mL de catalisador). Assim, para verificar o ponto de estabilização da eficiência de remoção para a concentração do presente catalisador seria necessário realizar mais ensaios com uma maior concentração de N-CFeO@CVD.

4.2.5. COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PARA A *E. COLI* (GRAM-NEGATIVA) COM *S. AUREUS* (GRAM-POSITIVA) E UMA ÁGUA REAL

Foram realizados ensaios com dois tipos de bactérias diferentes, bactérias gram-negativas (*E. coli*) e bactérias gram-positivas (*S. aureus*) e uma água real com o objetivo de avaliar as eficiências de remoção das células viáveis em função do tipo de microrganismo(s) para cada catalisador em condições experimentais já estudadas anteriormente.

A espécie bacteriana *Staphylococcus aureus* caracteriza-se por apresentar células com forma esférica (cocos). É normalmente encontrada na pele dos humanos, nariz e no trato respiratório. É geralmente positiva para catalase, redução de nitrato e é anaeróbia facultativa [134]. Embora a *S. aureus* exista de forma simbiótica no organismo humano, por vezes pode causar doenças, sendo uma das maiores causas de bacteremia e endocardite infecciosa. Adicionalmente, pode causar infecções na pele [135]. O mesmo acontece para a bactéria *E. coli*, que pode ser encontrada nos humanos no trato gastrointestinal inferior e em organismos de sangue quente (endotérmicos). São aeróbias e anaeróbias facultativas. A maioria das estirpes de *E. coli* são inofensivas, mas em alguns casos podem causar graves intoxicações alimentares nos seres humanos [136]. Um dos maiores meios de transmissão de *E. coli* para os seres humanos é através do consumo de água sem tratamento.

Para as condições de operação dos ensaios foi escolhida uma concentração de catalisador de 50 mg/ml, visto ter sido a concentração em que se obteve melhores resultados para os três catalisadores estudados. Na Figura 24, são apresentadas as eficiências de remoção das células viáveis para 1 min de contacto de e agitação das partículas e as respectivas reduções em log.



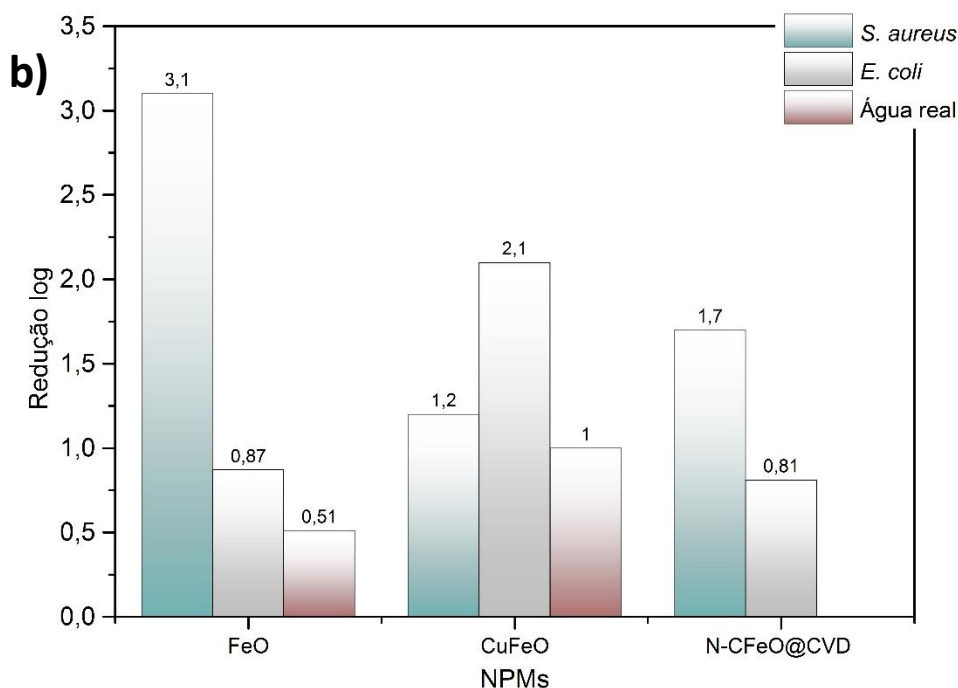


Figura 24: Eficiência de remoção (%) (a) e redução em log (b) de *E. coli*, *S. aureus* e de heterotróficos totais de uma água real pelos catalisadores FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD

Foram realizados ensaios em duplicado para a bactéria *S. aureus* e só um para a água real

Parâmetros experimentais: tempo de contacto = 1 min; concentração = 50 mg/mL

Na Figura 24, pode-se observar que para as partículas FeO e N-CFeO@CVD houve uma maior eficiência de remoção (aumento >10%) da bactéria *S. aureus* em relação à bactéria *E. coli*. Para o catalisador FeO foi possível obter uma eficiência de remoção de *S. aureus* de 99,9% com uma redução log correspondente de 3,1, contrastando com os 86,6% (redução 0,87 log) obtidos para *E. coli*. Para as partículas N-CFeO@CVD obteve-se uma eficiência de remoção de 97,8% (redução 1,7 log) para a bactéria *S. aureus*. Por outro lado, para a bactéria *E. coli* obteve-se, como já referido em ensaios anteriores, uma eficiência de remoção de 84,7% (redução 0,81 log). Pelo contrário, as partículas CuFeO obtiveram uma eficiência de remoção de células viáveis mais elevada para a bactéria *E. coli*. Para a *E. coli* obteve-se uma eficiência de remoção de 99,2% (redução 2,1 log) e para a bactéria *S. aureus* obteve-se uma eficiência de remoção da bactéria de 93,5% e redução 1,2 log. Pode-se, assim, destacar a capacidade das partículas FeO para a remoção de *S. aureus* e a capacidade das partículas CuFeO para a remoção de *E. coli*.

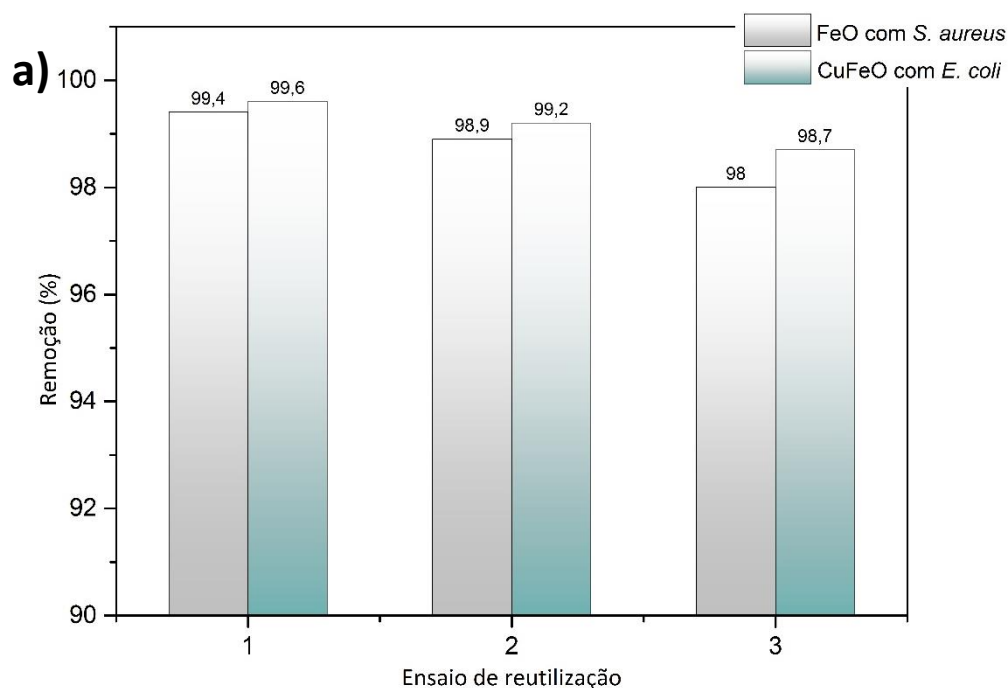
Para os ensaios realizados com uma água real, verificou-se que, para ambos os tipos de partículas testadas (FeO e CuFeO), as eficiências de remoção de células heterotróficas totais foram menores quando comparadas com as eficiências de remoção de *E. coli* e *S. aureus*. Isto pode dever-se à adsorção de aniões e matéria orgânica presentes na água, levando a uma menor remoção das bactérias [113, 115]. Por outro lado, também a densidade inicial de células pode ter tido influência nos

valores de eficiência de remoção obtidos. De facto, enquanto as suspensões iniciais de *E. coli* e *S. aureus* tinham uma densidade de 1×10^6 UFC/mL, o número de heterotróficos totais da água do poço era de 2×10^3 UFC/mL. Refira-se, no entanto, que numa água real o número de células totais por unidade de volume é geralmente 10-1000x superior aos dos heterotróficos totais, não só devido à presença de células já mortas (não viáveis) como também de organismos que não crescem nas condições de cultivo utilizadas (subcapítulo 3.3.1.).

4.2.6. ENSAIOS DE REUTILIZAÇÃO DAS PARTÍCULAS FeO E CuFeO

Foram realizados ensaios de reutilização das partículas que demonstraram melhores eficiências de remoção de células viáveis nos ensaios efetuados anteriormente. Isto foi efetuado com o objetivo de averiguar a possibilidade de reutilização dos catalisadores para realizar ensaios consecutivos no futuro.

Na Figura 25, são apresentadas as eficiências de remoção das células viáveis para o ensaio inicial (1) e os dois ensaios de reutilização consecutiva (2 e 3) e as respetivas reduções em log.



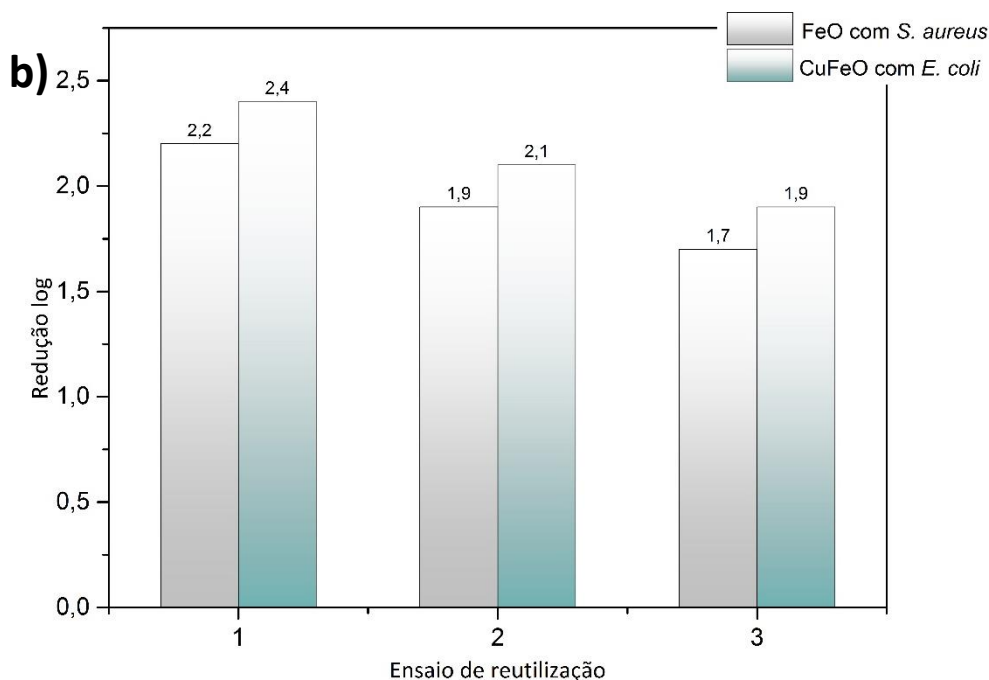


Figura 25: Eficiência de remoção (%) e redução em log de *E. coli* e *S. aureus* pelos catalisadores CuFeO e FeO, respetivamente, nos ensaios de reutilização

O ensaio de reutilização só foi realizado uma vez

Parâmetros experimentais: tempo de contacto = 1 min; concentração = 50 mg/mL

Observando a Figura 25, pode-se verificar que do ensaio inicial para a primeira reutilização das partículas de FeO houve uma diminuição na eficiência de remoção de *S. aureus* de, somente, 0,5% correspondente a uma redução de 0,3 log. Do segundo ensaio de reutilização para o terceiro há uma maior diminuição da eficiência de remoção, sendo, ainda assim, somente de 0,9%, correspondendo a uma redução de 0,2 log. Sendo assim, no total para dois ensaios de reutilização houve uma diminuição de eficiência de remoção por parte de FeO sob a *S. aureus* de 1,6%, o correspondente a 0,5 log.

Para as partículas CuFeO pode-se verificar que do ensaio inicial para a primeira reutilização há uma diminuição na eficiência de remoção de *E. coli* de, somente, 0,4% correspondente a uma redução de 0,3 log. Do segundo ensaio de reutilização para o terceiro a diminuição da eficiência de remoção manteve-se passando a corresponder a uma redução de 0,2 log. Sendo assim, no total para os dois ensaios de reutilização houve uma diminuição de eficiência de remoção por parte de CuFeO sob a *E. coli* de 1%, o correspondente a uma redução de 0,5 log.

4.3. REMOÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS EM ENSAIOS EM CONTÍNUO

Foram realizados dois ensaios em contínuo. O primeiro ensaio foi efetuado com uma suspensão bacteriana de *E. coli* durante 3 h. O segundo ensaio foi realizado com uma água real retirada de um poço situado na cidade de Vila Nova de Gaia.

4.3.1. ENSAIO EM CONTÍNUO COM UMA SUSPENSÃO BACTERIANA DE *E. COLI*

Na Figura 26, são apresentadas as figuras relativas à remoção em percentagem e redução e log em função de θ (tempo de amostragem/tempo de contacto) de células viáveis de *E. coli*.

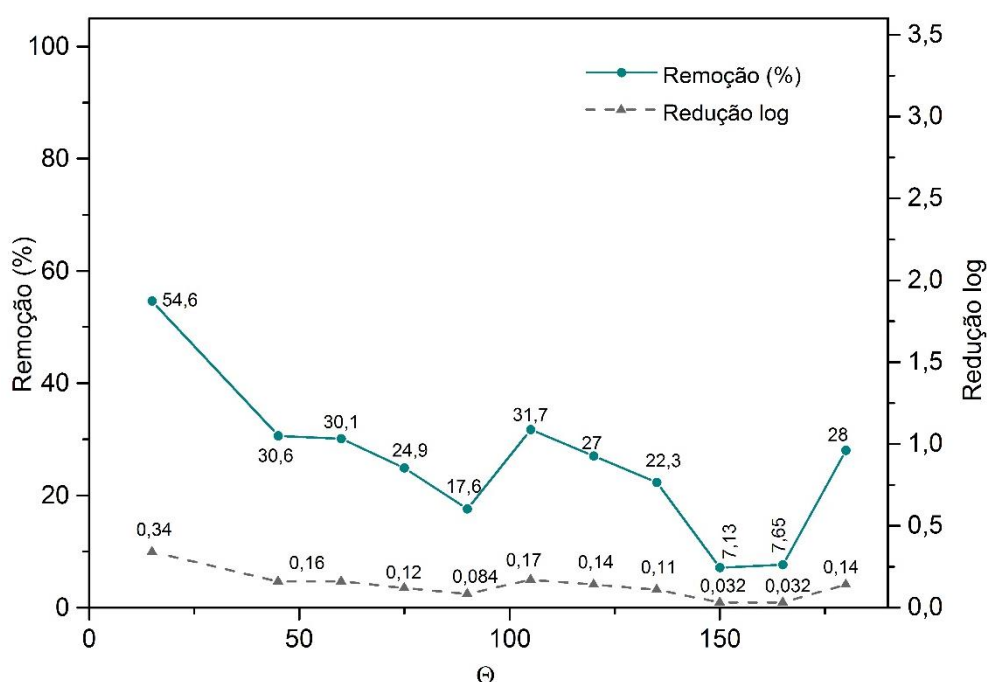


Figura 26: Eficiência de remoção (%) e redução em log de *E. coli* pelo catalisador FeO num reator em contínuo

Este ensaio só foi realizado uma vez

Parâmetros experimentais: concentração FeO = 1 g.min/mL; tempo de contacto = 1 min

Observando Figura 26 pode-se verificar que a remoção células viáveis da suspensão bacteriana de *E. coli* foi bastante reduzida. Após 15 min de operação obteve-se uma remoção de 54,6%, correspondente a uma redução log de 0,34, tendo sido esta a remoção mais elevada que se obteve. A partir desse ponto a remoção manteve-se abaixo dos 32% (reduções log correspondentes à gama 0-0,16).

4.3.2. ENSAIO EM CONTÍNUO COM UMA ÁGUA REAL

Na Figura 27, apresentam-se as figuras relativas à remoção em percentagem e redução log em função de θ (tempo de amostragem/tempo de contacto) de heterotróficos totais de uma água real.

A abundância de heterotróficos totais neste tipo de água ($3,90 \times 10^2$ UFC/mL) era inferior à das suspensões bacterianas de *E. coli* usadas neste estudo (1×10^6 UFC/mL).

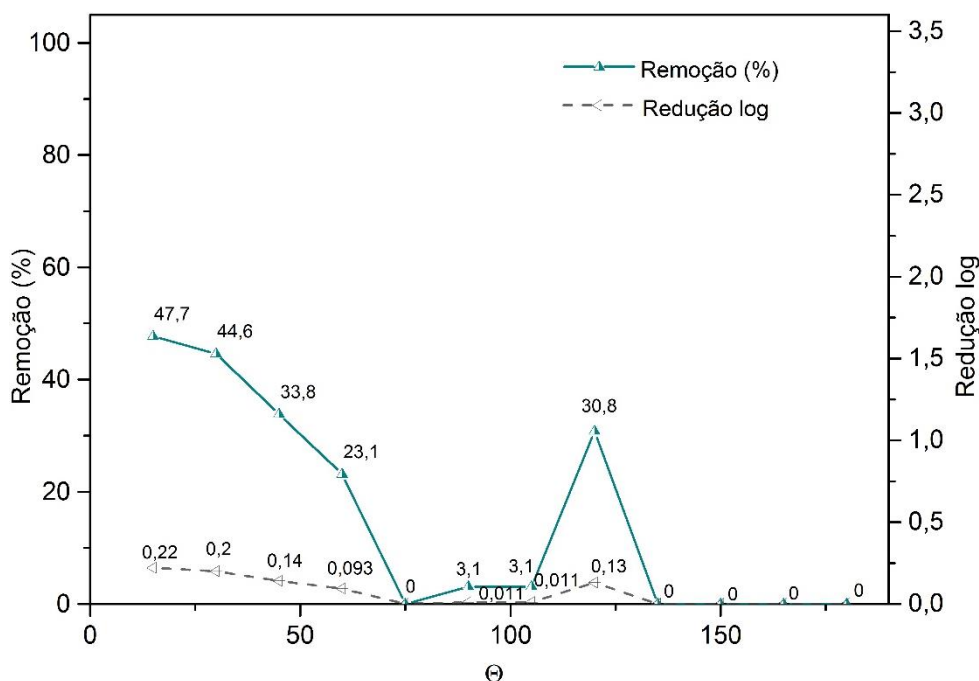


Figura 27: Eficiência de remoção (%) e redução em log de heterotróficos totais de uma água real pelo catalisador FeO num reator em contínuo

Este ensaio só foi realizado uma vez

Parâmetros experimentais: concentração FeO = 1 g.min/mL; tempo de contacto = 1 min

A

partir da Figura 27 observa-se que houve uma diminuição ao longo do tempo da eficiência de remoção dos heterotróficos totais, com exceção do ponto de amostragem dos 120 min. Pode-se considerar que os valores desse ponto correspondem a um possível erro de pipetagem. A remoção máxima que se obteve foi no primeiro ponto de amostragem, aos 15 min de operação, com uma remoção de 47,7% (correspondente a uma redução de 0,22 log). Ao fim de 135 minutos de operação, a remoção de bactérias foi nula. Pode-se assim constatar que a eficiência de remoção em reator em contínuo foi muito reduzida, não só para a amostra de água real como também para a suspensão bacteriana utilizada. De modo a obter eficiências mais elevadas deveriam ser realizados testes de otimização, como por exemplo, melhorar o contacto das partículas com a água em fluxo, ensaios com diferentes concentrações de catalisador e tempos de contacto com a água.

4.4. ENUMERAÇÃO DAS CÉLULAS VIVAS E MORTAS

Foram realizados 3 ensaios para cada bactéria (*E. coli* e *S. aureus*) com os catalisadores FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD com o objetivo de perceber o que acontecia quando as partículas estavam em contacto com as bactérias. Foram visualizadas imagens para a amostra inicial antes do tratamento (densidade 10^6 ufc/mL) tendo sido pipetado 1 mL e usada a mesma amostra inicial para os tratamentos com cada catalisador. Para a visualização da amostra após o tratamento foram pipetados 4 mL, devido à menor quantidade de bactérias existente.

4.4.1. ENSAIOS COM SUSPENSÃO BACTERIANA DE *E. COLI*

Nas figuras seguintes apresentam-se as imagens obtidas no microscópio de fluorescência para os tratamentos em reator fechado com uma suspensão bacteriana de *E. coli* para os catalisadores FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD.

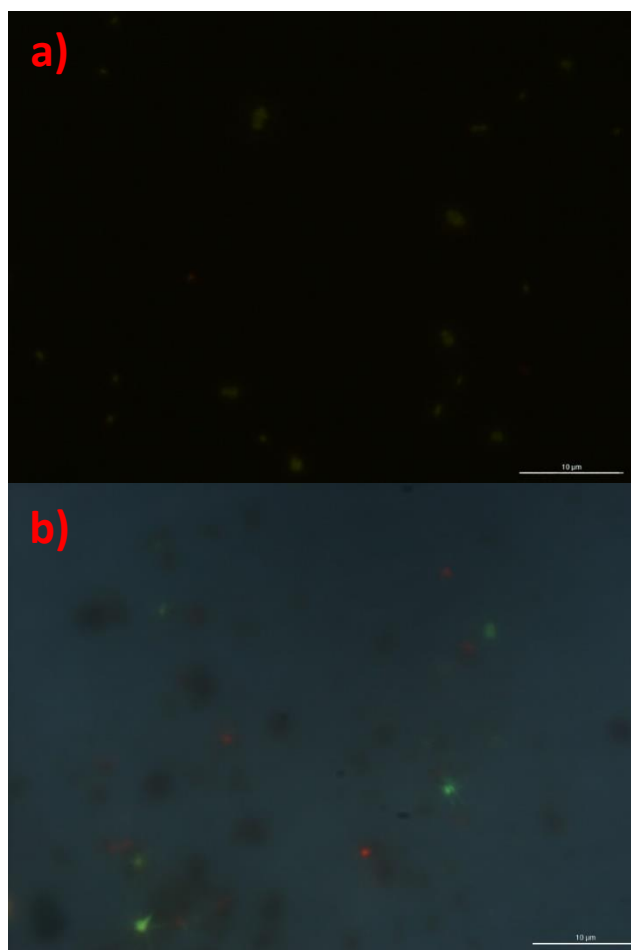


Figura 28: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *E. coli* antes
a) e após o tratamento com partículas FeO b)

Na Figura 28 pode-se observar que antes do tratamento as células encontravam-se todas vivas (verde). Após o tratamento, algumas células tinham cor vermelha, o que significa que estão mortas. Mesmo para a amostra inicial verificou-se que as células não estavam homogeneamente distribuídas, mas sim formando grupos de células. Após o tratamento verificou-se a presença de algumas nanopartículas (cor preta) e não foi possível distinguir bem as células, possivelmente porque se encontravam adsorvidas nas nanopartículas

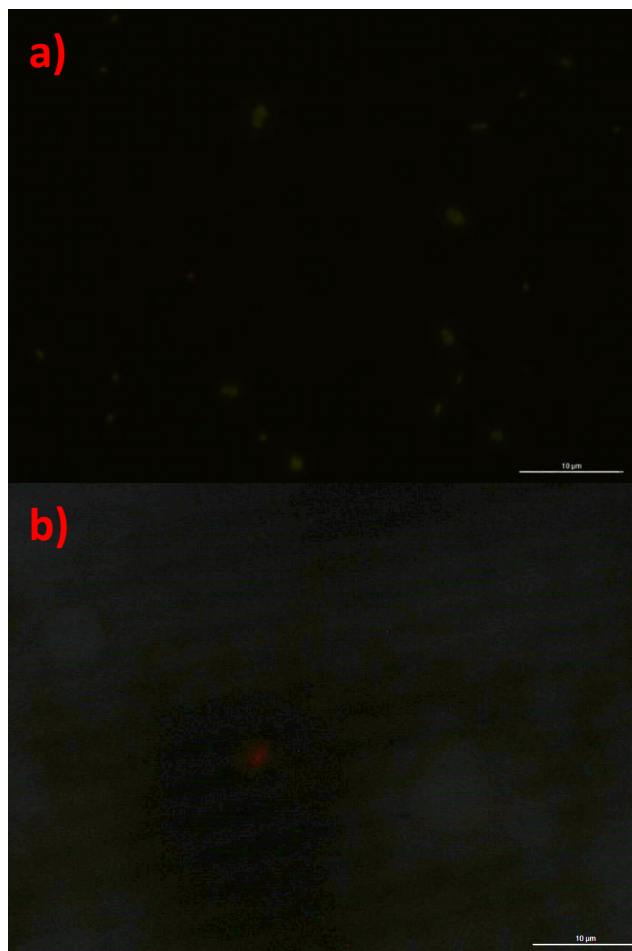


Figura 29: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *E. coli* antes a) e após o tratamento com partículas CuFeO b)

Tal como para o ensaio anterior, na Figura 29 pode-se observar que antes do tratamento com partículas CuFeO as células de *E. coli* encontravam-se todas vivas (verde). Após o tratamento, a visualização das células ao microscópio foi muito difícil, devido à elevada quantidade de partículas CuFeO. Isto deveu-se à difícil separação destas partículas da suspensão bacteriana com o íman. De

qualquer forma, pode-se verificar na Figura 29 b) a existência de uma única célula morta. Esta imagem não permite tirar conclusões em relação à toxicidade destas partículas sob a *E. coli*, visto que todas as células, muito possivelmente, se encontravam debaixo do manto de partículas que se observa na figura. Contudo, sabe-se pela literatura que o cobre tem propriedades antimicrobianas contra a *E. coli* e que, por isso, estas são, provavelmente, mortas quando em contacto com as partículas CuFeO [133].

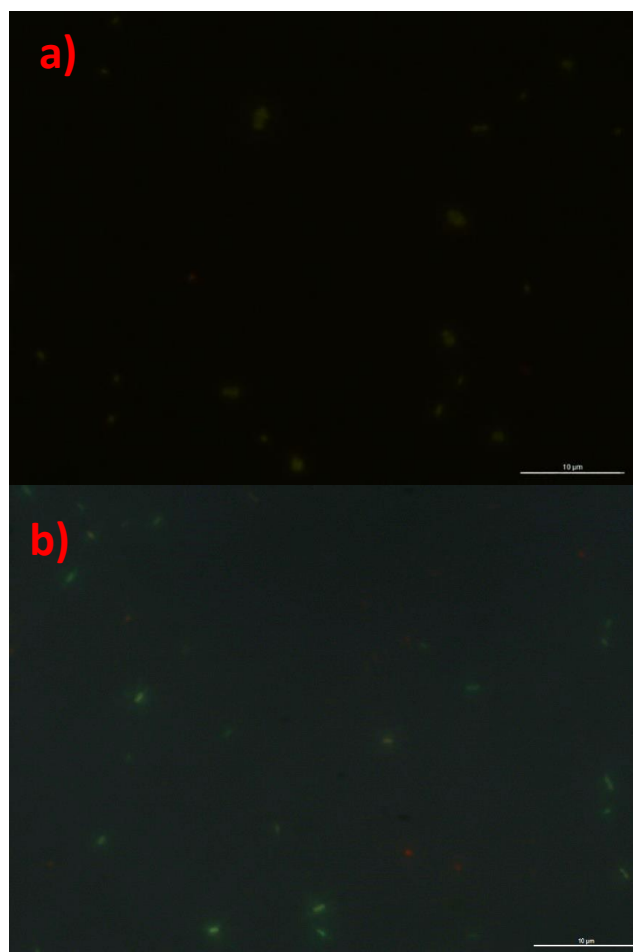


Figura 30: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *E. coli* antes a) e após o tratamento com partículas N-CFeO@CVD b)

Na Figura 30 observa-se que, como já referido, antes do tratamento as células encontravam-se todas vivas (verde). Após o tratamento, nota-se que algumas células têm cor vermelha, podendo algumas terem morrido após o tratamento, embora de forma muito reduzida. Não se verifica a presença de nanopartículas nesta amostra, visto ser uma amostra facilmente separável da suspensão bacteriana. Embora na amostra se observe uma quantidade elevada de células note-se que em comparação com a amostra inicial tem bastante menos, visto que para a amostra inicial foi utilizado 1

mL e para a amostra b) 4 mL. Isto deve-se, possivelmente, ao facto das restantes células terem adsorvido nas nanopartículas e quando foi aplicado um campo magnético as células também foram arrastadas com o catalisador.

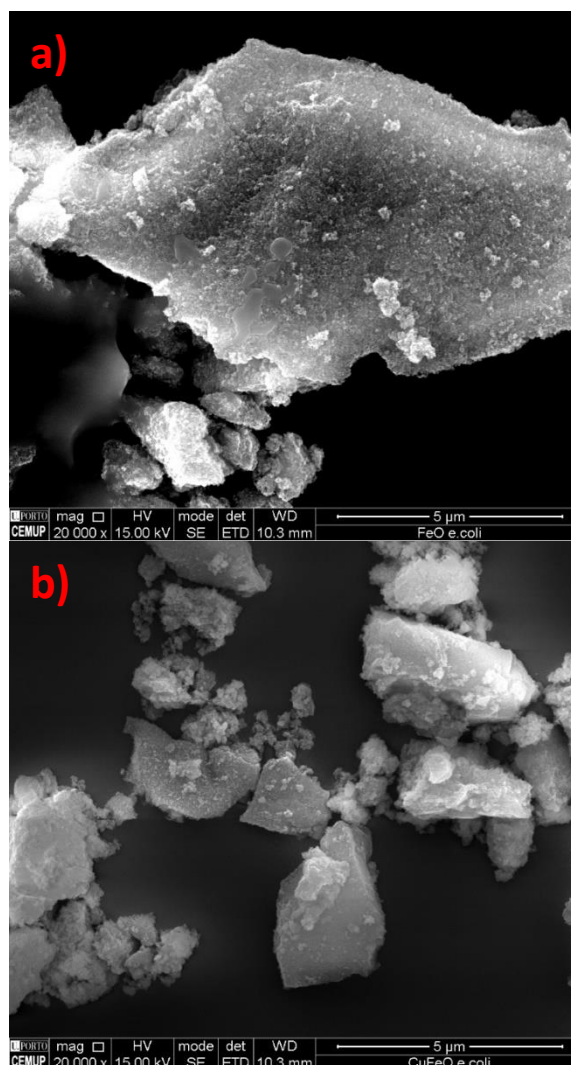


Figura 31: Imagens de SEM de partículas FeO (a) e CuFeO (b) após o contacto com *E. coli*

Na Figura 31, observam-se imagens SEM das partículas FeO (a) e CuFeO (b) após o contacto com a bactéria *E. coli*. Embora não se verifique a presença de bactérias nas imagens (não foi realizada a preparação adequada), pode-se constatar que após o tratamento das partículas com a bactéria não se verificou mudanças na estrutura das partículas.

4.4.2. ENSAIOS COM SUSPENSÃO BACTERIANA DE *S. AUREUS*

Nas Figuras 32-34 apresentam-se as imagens obtidos no microscópio de fluorescência para os tratamentos em reator fechado com uma suspensão uma bacteriana de *S. aureus* para as partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD.

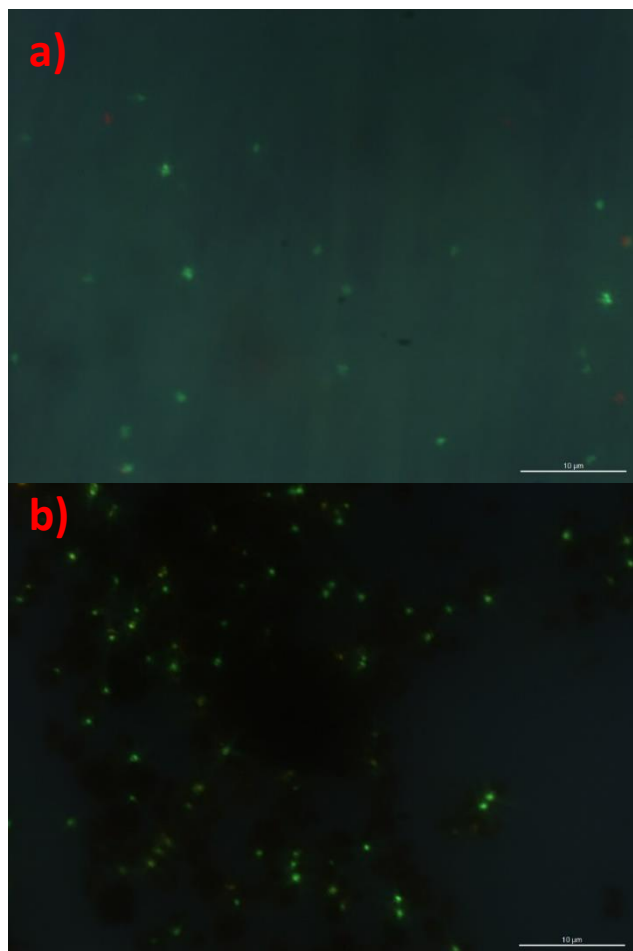


Figura 32: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *S. aureus* antes a) e após o tratamento com partículas FeO b)

Na Figura 32 a) observa-se células bacterianas *S. aureus* antes do tratamento, maioritariamente vivas, mas com algumas mortas o que já seria de esperar. Na mesma, Figura 32 b) é possível observar-se as células bacterianas após o tratamento com partículas FeO bem como as partículas (cor preta). Nota-se que algumas se encontravam aglomeradas, possivelmente adsorvidas, às partículas. Também se verificou que estavam todas vivas, podendo-se constatar que as partículas FeO não têm propriedades antibacterianas contra a *S. aureus*, sendo estas removidas através de adsorção às partículas.

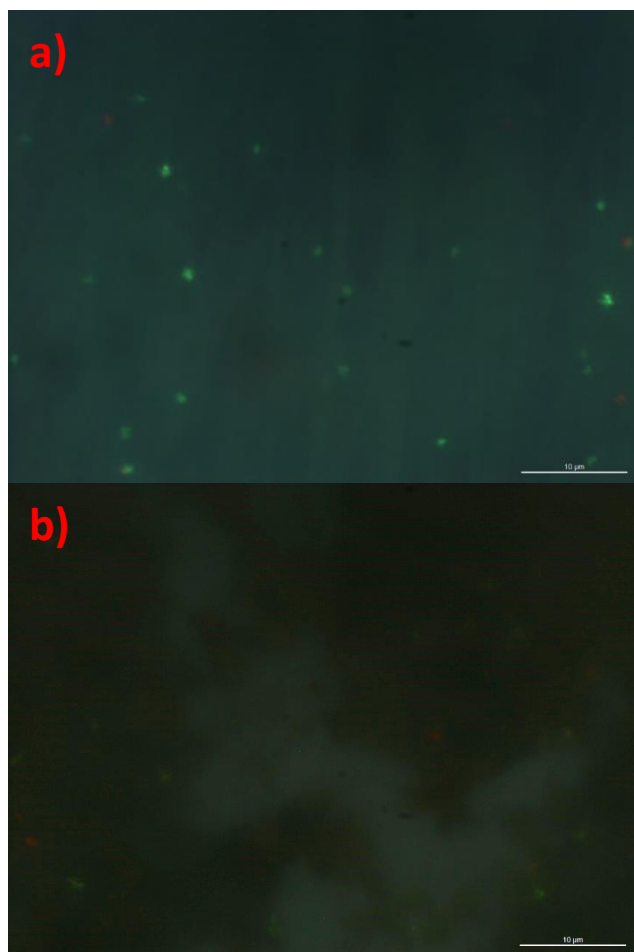


Figura 33: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *S. aureus* antes a) e após o tratamento com partículas CuFeO b)

Na Figura 33 verifica-se mais uma vez que a visualização foi muito difícil para as partículas CuFeO devido ao manto de partículas presentes na amostra. Pode-se observar a existência de células mortas e vivas, mas visto a quantidade de células ser tão reduzida não se pode tirar conclusões em relação às propriedades antibacterianas de CuFeO sob a bactéria *S. aureus*. Por outro lado, note-se que as células se encontravam posicionadas onde existiam partículas, sugerindo adsorção das bactérias às partículas.

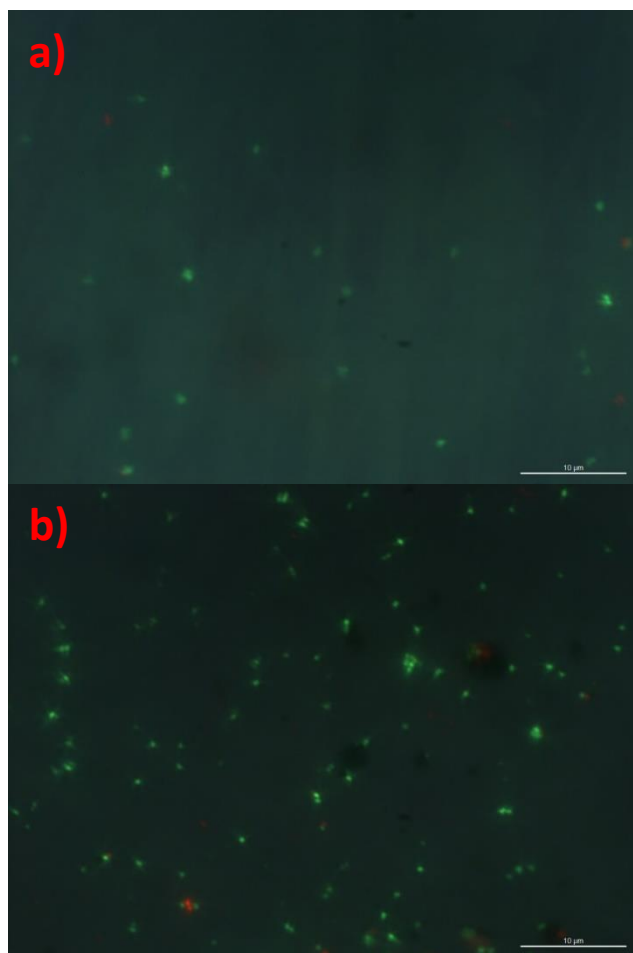


Figura 34: Imagens obtidas no microscópio de fluorescência de *S. aureus* antes a) e após o tratamento com N-CFeO@CVD b)

Na Figura 34, observa-se a presença de muitas células bacterianas e de algumas nanopartículas. Nota-se que existem algumas células agarradas às partículas, embora a maior parte esteja separada, por isso não se pode tirar conclusões em relação à adsorção. No que diz respeito às propriedades antibacterianas das partículas também não se pode tirar conclusões, visto que se observa algumas células mortas, mas a maior parte encontra-se viva.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados experimentais, podem ser estabelecidas as seguintes conclusões:

Dos nanomateriais magnéticos sintetizados, os que se mostraram mais promissores foram o FeO, o CuFeO e o N-CFeO@CVD, embora existissem outros materiais que mostraram elevada capacidade de remoção de bactérias como o MnFeO e o compósito FeO/CA (eficiências de remoção de 98,8% e 98,1% com reduções log de 2 e 1,7, respetivamente)

Apesar de as NPMs FeO e o N-CFeO@CVD terem altas eficiências de remoção de bactérias para tempos de contacto maiores, quando sujeitos a tempos de contacto menores as eficiências reduziram substancialmente ao contrário do que aconteceu com o CuFeO. O mesmo aconteceu com a variação da concentração de nanomaterial numa suspensão bacteriana. A eficiência de remoção foi mais suscetível às variações da concentração de nanomaterial para as partículas FeO e N-CFeO@CVD do que para as partículas CuFeO.

Ao contrário do que aconteceu na remoção de *E. coli* (gram-negativa), para 1 min de contacto e 50 mg/mL de nanomaterial a eficiência de remoção mais elevada foi das partículas CuFeO (99,2%), as eficiências de remoção de *S. aureus* (gram-positiva) mais elevadas ficaram a cargo dos catalisadores FeO e N-CFeO@CVD (99,9% e 97,8%, respetivamente). Para os ensaios com uma água real verificou-se que as eficiências de remoção foram menores quando comparadas com as eficiências de remoção de *E. coli* e *S. aureus*, podendo dever-se à adsorção de aniões e matéria orgânica presentes na água, que competem com as bactérias diminuindo a capacidade de remoção das mesmas [113, 115]. Também podem ter contribuído para estes resultados as densidades celulares mais reduzidas da amostra inicial.

Após a realização dos ensaios de reutilização, em reator fechado, para as partículas FeO e CuFeO com as suspensões bacterianas de *S. aureus* e *E. coli*, respetivamente, conclui-se que os nanomateriais apresentaram uma reduzida diminuição de desempenho (1 % e 0,5 log correspondente

para as partículas CuFeO e 1,6% e 0,5 log correspondente para as partículas FeO) após 2 ciclos de reutilização.

No que se refere aos ensaios realizados em contínuo com as partículas FeO para uma suspensão bacteriana de *E. coli* e para uma água real, não se obteve tão bons resultados como em reator fechado, tendo sido obtido eficiências de remoção muito reduzidas (diferença mínima de 30% e 20%, respetivamente, nas eficiências de remoção). Adicionalmente, notou-se que ao longo do tempo a eficiência de remoção baixava. Isto, possivelmente, deveu-se ao contacto pouco eficiente entre as partículas e o líquido, sendo necessária a realização de testes de otimização do sistema. Para aumentar a eficiência de remoção quando o sistema está a operar em contínuo, sugere-se redimensionar o sistema ou, então, usar um sistema baseado em reservatórios de tratamento de água, aplicando antes de chegar à torneira (por exemplo, por baixo da banca).

Finalmente, as imagens de microscopia permitiram verificar que há uma grande possibilidade de as células bacterianas de *E. coli* e *S. aureus* adsorverem às partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD. Em relação às partículas com cobre não se conseguiu aferir se estas realmente matam as células bacterianas. Este tipo de análise também permitiu concluir que o método utilizado para a separação magnética das partículas CuFeO deverá ser melhorado.

6

PERSPETIVAS PARA O FUTURO

Considerando os resultados obtidos sugerem-se as seguintes tarefas:

- › O estudo utilizando outras nanopartículas magnéticas com diferentes composições, como por exemplo prata que é um conhecido agente antimicrobiano. Síntese de mais partículas pelo processo de CVD;
- › Como se verificou que os resultados obtidos na otimização das partículas N-CFeO@CVD, devido à síntese com defeito de amónia, não foram tão promissores quanto esperado, sugere-se a realização de ensaios de otimização com as partículas corretamente sintetizadas;
- › Verificou-se durante os ensaios e nas imagens obtidas no microscópio que as partículas de cobre não são facilmente separáveis das suspensões bacterianas, sugere-se a síntese destas partículas por outros métodos com o objetivo de obter partículas com maiores capacidades magnéticas;
- › A realização de testes para verificar que, após o tratamento, a água fica completamente livre das nanopartículas magnéticas;
- › Realizar ensaios de remoção de bactérias com variação de pH e de temperatura, de forma a avaliar a influência destes parâmetros na capacidade de remoção das mesmas;
- › A realização de ensaios com mais tipos de amostras reais, atendendo à grande diversidade microbiana e à presença de matéria orgânica e inorgânica dissolvida e em suspensão, com as nanopartículas magnéticas mais promissoras de modo a aferir se existem diferenças na eficiência de remoção;
- › Possível mistura de diferentes nanopartículas magnéticas de modo a obter a máxima eficiência de remoção possível de diferentes bactérias;

- › A realização de testes em contínuo com partículas depositadas no interior de um íman cilíndrico no interior de uma coluna de reação, com o objetivo de aumentar a área de contacto e diminuir eventuais perdas de partículas para a água tratada;
- › A realização de testes em reservatórios de água utilizando o princípio dos ensaios em reator fechado, visto que estes ensaios se mostraram bastante promissores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gehrke, I., Geiser, A., Somborn-Schulz, A., *Innovations in nanotechnology for water treatment*. Nanotechnology, Science and Applications, 2015. **8**: p. 1-17.
2. Shannon, M.A., Bohn, P.W., Elimelech, M., Georgiadis, J.G., Marinas, B.J., Mayes, A.M., *Science and technology for water purification in the coming decades*. Nature, 2008. **452**(7185): p. 301-310.
3. Ashbolt, N.J., *Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions*. Toxicology, 2004. **198**(1-3): p. 229-238.
4. Woodford, N., Livermore, D.M., *Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge*. Journal of Infection, 2009. **59** Suppl 1: p. S4-16.
5. Organization, W.H., UNICEF, *Progress on sanitation and drinking water—2015 update and MDG assessment*. 2015: World Health Organization.
6. Liu, L., Johnson, H.L., Cousens, S., Perin, J., Scott, S., Lawn, J.E., Rudan, I., Campbell, H., Cibulskis, R., Li, M., Mathers, C., Black, R.E., *Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000*. The Lancet. **379**(9832): p. 2151-2161.
7. Lewis, D.L., Gattie, D.K., *Pathogen risks from applying sewage sludge to land*. Environmental Science and Technology, 2002. **36**(13): p. 286A-293A.
8. Biryukov, A.S., Gavrikov, V.F., Nikiforova, L.O., Shcheglov, V.A., *New physical methods of disinfection of water*. Journal of Russian Laser Research, 2005. **26**(1): p. 13-25.
9. Krasner, S.W., Weinberg, H.S., Richardson, S.D., Pastor, S.J., Chinn, R., Scrimanti, M.J., Onstad, G.D., Thruston, A.D., Jr., *Occurrence of a new generation of disinfection byproducts*. Environmental Science and Technology, 2006. **40**(23): p. 7175-7185.
10. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D.Y., Brunet, L., Liga, M.V., Li, D., Alvarez, P.J.J., *Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications*. Water Research, 2008. **42**(18): p. 4591-4602.
11. Snowden-Swan, L., Piatt, J., Lesperance, A., *Disinfection technologies for potable water and wastewater treatment: alternatives to chlorine gas*. Pacific Northwest National Laboratory (PNNL). Prepared for: US Army Forces Command Air Quality Division, 1998.
12. Sun, Y.-X., Wu, Q.-Y., Hu, H.-Y., Tian, J., *Effects of operating conditions on THMs and HAAs formation during wastewater chlorination*. Journal of Hazardous Materials, 2009. **168**(2-3): p. 1290-1295.
13. Ireland, E., *Water Treatment Manual: Disinfection*. 2011, Tillgänglig via: http://www.epa.ie/pubs/advice/drinkingwater/disinfection2_web.pdf [Hämtad 2015-02-23].
14. Nebel, C., *Ozone treatment of potable water-Part 1*. Public works, 1981: p. 86-90.
15. Am Water Works Res, F., Langlais, B., Reckhow, D.A., Brink, D.R., *Ozone in water treatment: application and engineering*. 1991: CRC press.
16. Pandit, A.B., Kumar, J.K., *Drinking Water Disinfection Techniques*. 2012: CRC Press. 270.
17. Jacangelo, J., Darby, J., Loge, F., Tchobanoglous, G., Heath, M., Swaim, P., *Comparison of UV irradiation to chlorination: Guidance for achieving optimal UV performance*. Final Rep., Water Environment Research Foundation, 1995.
18. SCHEIBLE, O., GUPTA, A., SCANNELL, D., *Ultraviolet disinfection technology assessment*. 1992.
19. (WEF), W.E.F., *Wastewater Disinfection Manual of Practice, Manual of Practice*. 1996.
20. USEPA, *Ultraviolet Light Disinfection Technology in Drinking Water Application: An Overview*. 1996. p. 270.
21. Cabassud, C., Anselme, C., Bersillon, J.L., Aptel, P., *Ultrafiltration as a nonpolluting alternative to traditional clarification in water treatment*. Filtration & separation, 1991. **28**(3): p. 194-198.

22. Madaeni, S., *The application of membrane technology for water disinfection*. Water Research, 1999. **33**(2): p. 301-308.
23. Hrudey, S.E., Hrudey, E.J., *Safe drinking water*. 2004: IWA publishing.
24. Leahy, T.J., Sullivan, M., *Validation of bacterial retention capabilities of membrane filters*. Pharmaceutical Technology, 1978. **2**(11): p. 64-75.
25. Fifield, C., Leahy, T., *Sterilization filtration*. 1983.
26. Jarroll, E.L., Bingham, A.K., Meyer, E.A., *Effect of chlorine on Giardia lamblia cyst viability*. Applied and environmental microbiology, 1981. **41**(2): p. 483-487.
27. Fane, A.G., Wang, R., Hu, M.X., *Synthetic membranes for water purification: status and future*. Angewandte Chemie International Edition, 2015. **54**(11): p. 3368-3386.
28. Bottero, J.Y., Rose, J., Wiesner, M.R., *Nanotechnologies: tools for sustainability in a new wave of water treatment processes*. Integrated Environmental Assessment and Management, 2006. **2**(4): p. 391-395.
29. Qu, X., Alvarez, P.J., Li, Q., *Applications of nanotechnology in water and wastewater treatment*. Water Research, 2013. **47**(12): p. 3931-3946.
30. Savage, N., Diallo, M.S., *Nanomaterials and water purification: opportunities and challenges*. Journal of Nanoparticle research, 2005. **7**(4): p. 331-342.
31. Qu, X., Brame, J., Li, Q., Alvarez, P.J., *Nanotechnology for a safe and sustainable water supply: enabling integrated water treatment and reuse*. Accounts of chemical research, 2013. **46**(3): p. 834-843.
32. Commission, E., *Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial (2011/696/EU)*. Official Journal of the European Communities: Legis, 2011.
33. Amin, M., Alazba, A., Manzoor, U., *A review of removal of pollutants from water/wastewater using different types of nanomaterials*. Advances in Materials Science and Engineering, 2014. **2014**.
34. Obare, S.O., Meyer, G.J., *Nanostructured materials for environmental remediation of organic contaminants in water*. Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering, 2004. **39**(10): p. 2549-2582.
35. Pacheco-Torgal, F., Diamanti, M.V., Nazari, A., Goran-Granqvist, C., *Nanotechnology in eco-efficient construction: Materials, Processes and Applications*. 2013: Elsevier.
36. Tiwari, D.K., Behari, J., Sen, P., *Application of Nanoparticles in Waste Water Treatment 1*. 2008.
37. Breck, D.W., *Zeolites Molecular Sieves, Structure. Chemistry and Use*, Wiley New York, 1974.
38. Cambor, M.A., Corma, A., Valencia, S., *Synthesis in fluoride media and characterisation of aluminosilicate zeolite beta*. Journal of Materials Chemistry, 1998. **8**(9): p. 2137-2145.
39. Song, W., Grassian, V., Larsen, S., *High yield method for nanocrystalline zeolite synthesis*. Chemical communications, 2005(23): p. 2951-2953.
40. Vogel, B., Schneider, C., Klemm, E., *The synthesis of cresol from toluene and N₂O on H [Al] ZSM-5: Minimizing the product diffusion limitation by the use of small crystals*. Catalysis letters, 2002. **79**(1): p. 107-112.
41. Alvarez-Ayuso, E., Garcia-Sánchez, A., Querol, X., *Purification of metal electroplating waste waters using zeolites*. Water Research, 2003. **37**(20): p. 4855-4862.
42. Moreno, N., Querol, X., Ayora, C., Pereira, C.F., Janssen-Jurkovicová, M., *Utilization of zeolites synthesized from coal fly ash for the purification of acid mine waters*. Environmental science & technology, 2001. **35**(17): p. 3526-3534.
43. Lind, M.L., Eumine Suk, D., Nguyen, T.-V., Hoek, E.M., *Tailoring the structure of thin film nanocomposite membranes to achieve seawater RO membrane performance*. Environmental science & technology, 2010. **44**(21): p. 8230-8235.
44. Lind, M.L., Ghosh, A.K., Jawor, A., Huang, X., Hou, W., Yang, Y., Hoek, E.M., *Influence of zeolite crystal size on zeolite-polyamide thin film nanocomposite membranes*. Langmuir, 2009. **25**(17): p. 10139-10145.

45. Ottaviani, M.F., Favuzza, P., Bigazzi, M., Turro, N.J., Jockusch, S., Tomalia, D.A., *A TEM and EPR investigation of the competitive binding of uranyl ions to starburst dendrimers and liposomes: Potential use of dendrimers as uranyl ion sponges*. Langmuir, 2000. **16**(19): p. 7368-7372.
46. Tomalia, D., *Dendrimers and other dendritic polymers*. 2001: Wiley.
47. Crooks, R.M., Zhao, M., Sun, L., Chechik, V., Yeung, L.K., *Dendrimer-encapsulated metal nanoparticles: synthesis, characterization, and applications to catalysis*. Accounts of chemical research, 2001. **34**(3): p. 181-190.
48. Diallo, M.S., Christie, S., Swaminathan, P., Johnson, J.H., Goddard, W.A., *Dendrimer enhanced ultrafiltration. 1. Recovery of Cu (II) from aqueous solutions using PAMAM dendrimers with ethylene diamine core and terminal NH₂ groups*. Environmental science & technology, 2005. **39**(5): p. 1366-1377.
49. Balogh, L., Swanson, D.R., Tomalia, D.A., Hagnauer, G.L., McManus, A.T., *Dendrimer– silver complexes and nanocomposites as antimicrobial agents*. Nano Letters, 2001. **1**(1): p. 18-21.
50. Chen, Y., Wang, L., Jiang, S., Yu, H., *Study on novel antibacterial polymer materials (I) preparation of zeolite antibacterial agents and antibacterial polymer composite and their antibacterial properties*. Journal of Polymer Materials, 2003. **20**(3): p. 279-284.
51. Balasubramanian, K., Burghard, M., *Chemically functionalized carbon nanotubes*. Small, 2005. **1**(2): p. 180-192.
52. Iijima, S., Ichihashi, T., *Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter*. Nature, 1993. **363**(6430): p. 603-605.
53. Li, Y.-H., Ding, J., Luan, Z., Di, Z., Zhu, Y., Xu, C., Wu, D., Wei, B., *Competitive adsorption of Pb 2+, Cu 2+ and Cd 2+ ions from aqueous solutions by multiwalled carbon nanotubes*. Carbon, 2003. **41**(14): p. 2787-2792.
54. Di, Z.-C., Ding, J., Peng, X.-J., Li, Y.-H., Luan, Z.-K., Liang, J., *Chromium adsorption by aligned carbon nanotubes supported ceria nanoparticles*. Chemosphere, 2006. **62**(5): p. 861-865.
55. Li, Y.-H., Di, Z., Ding, J., Wu, D., Luan, Z., Zhu, Y., *Adsorption thermodynamic, kinetic and desorption studies of Pb 2+ on carbon nanotubes*. Water Research, 2005. **39**(4): p. 605-609.
56. Lu, C., Chiu, H., Liu, C., *Removal of zinc (II) from aqueous solution by purified carbon nanotubes: kinetics and equilibrium studies*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2006. **45**(8): p. 2850-2855.
57. Liu, X., Wang, M., Zhang, S., Pan, B., *Application potential of carbon nanotubes in water treatment: a review*. Journal of Environmental Sciences, 2013. **25**(7): p. 1263-1280.
58. Upadhyayula, V.K., Deng, S., Mitchell, M.C., Smith, G.B., *Application of carbon nanotube technology for removal of contaminants in drinking water: a review*. Science of the total environment, 2009. **408**(1): p. 1-13.
59. Kang, S., Herzberg, M., Rodrigues, D.F., Elimelech, M., *Antibacterial effects of carbon nanotubes: size does matter!* Langmuir, 2008. **24**(13): p. 6409-6413.
60. Kang, S., Pinault, M., Pfefferle, L.D., Elimelech, M., *Single-walled carbon nanotubes exhibit strong antimicrobial activity*. Langmuir, 2007. **23**(17): p. 8670-8673.
61. Wick, P., Manser, P., Limbach, L.K., Dettlaff-Weglikowska, U., Krumeich, F., Roth, S., Stark, W.J., Bruinink, A., *The degree and kind of agglomeration affect carbon nanotube cytotoxicity*. Toxicology letters, 2007. **168**(2): p. 121-131.
62. Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D.Y., Brunet, L., Liga, M.V., Li, D., Alvarez, P.J., *Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: potential applications and implications*. Water Research, 2008. **42**(18): p. 4591-4602.
63. De Volder, M.F., Tawfick, S.H., Baughman, R.H., Hart, A.J., *Carbon nanotubes: present and future commercial applications*. Science, 2013. **339**(6119): p. 535-539.
64. Tosco, T., Papini, M.P., Viggi, C.C., Sethi, R., *Nanoscale zerovalent iron particles for groundwater remediation: a review*. Journal of Cleaner Production, 2014. **77**: p. 10-21.

65. Nowack, B., Krug, H.F., Height, M., *120 years of nanosilver history: implications for policy makers*. 2011, ACS Publications.
66. Zodrow, K., Brunet, L., Mahendra, S., Li, D., Zhang, A., Li, Q., Alvarez, P.J., *Polysulfone ultrafiltration membranes impregnated with silver nanoparticles show improved biofouling resistance and virus removal*. Water Research, 2009. **43**(3): p. 715-723.
67. Mauter, M.S., Wang, Y., Okemgbo, K.C., Osuji, C.O., Giannelis, E.P., Elimelech, M., *Antifouling ultrafiltration membranes via post-fabrication grafting of biocidal nanomaterials*. ACS applied materials & interfaces, 2011. **3**(8): p. 2861-2868.
68. Ma, H., Hsiao, B.S., Chu, B., *Thin-film nanofibrous composite membranes containing cellulose or chitin barrier layers fabricated by ionic liquids*. Polymer, 2011. **52**(12): p. 2594-2599.
69. De Gusseme, B., Hennebel, T., Christiaens, E., Saveyn, H., Verbeken, K., Fitts, J.P., Boon, N., Verstraete, W., *Virus disinfection in water by biogenic silver immobilized in polyvinylidene fluoride membranes*. Water Research, 2011. **45**(4): p. 1856-1864.
70. Ma, N., Quan, X., Zhang, Y., Chen, S., Zhao, H., *Integration of separation and photocatalysis using an inorganic membrane modified with Si-doped TiO₂ for water purification*. Journal of membrane science, 2009. **335**(1): p. 58-67.
71. Ma, N., Fan, X., Quan, X., Zhang, Y., *Ag-TiO₂/HAP/Al₂O₃ bioceramic composite membrane: fabrication, characterization and bactericidal activity*. Journal of membrane science, 2009. **336**(1): p. 109-117.
72. Lv, Y., Liu, H., Wang, Z., Liu, S., Hao, L., Sang, Y., Liu, D., Wang, J., Boughton, R., *Silver nanoparticle-decorated porous ceramic composite for water treatment*. Journal of membrane science, 2009. **331**(1): p. 50-56.
73. Lee, H., Yeo, S.Y., Jeong, S.H., *Antibacterial effect of nanosized silver colloidal solution on textile fabrics*. Journal of Materials Science, 2003. **38**(10): p. 2199-2204.
74. Peter-Varbanets, M., Zurbrugg, C., Swartz, C., Pronk, W., *Decentralized systems for potable water and the potential of membrane technology*. Water Research, 2009. **43**(2): p. 245-265.
75. Kim, E.-S., Hwang, G., El-Din, M.G., Liu, Y., *Development of nanosilver and multi-walled carbon nanotubes thin-film nanocomposite membrane for enhanced water treatment*. Journal of membrane science, 2012. **394**: p. 37-48.
76. Kwak, S.-Y., Kim, S.H., Kim, S.S., *Hybrid organic/inorganic reverse osmosis (RO) membrane for bactericidal anti-fouling. 1. Preparation and characterization of TiO₂ nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film-composite (TFC) membrane*. Environmental science & technology, 2001. **35**(11): p. 2388-2394.
77. Belháčová, L., Krýsa, J., Geryk, J., Jirkovský, J., *Inactivation of microorganisms in a flow-through photoreactor with an immobilized TiO₂ layer*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1999. **74**(2): p. 149-154.
78. Quang, D.V., Sarawade, P.B., Jeon, S.J., Kim, S.H., Kim, J.-K., Chai, Y.G., Kim, H.T., *Effective water disinfection using silver nanoparticle containing silica beads*. Applied Surface Science, 2013. **266**: p. 280-287.
79. Friedman, G., Yellen, B., *Magnetic separation, manipulation and assembly of solid phase in fluids*. Current opinion in colloid & interface science, 2005. **10**(3): p. 158-166.
80. Mahdavian, A.R., Mirrahimi, M.A.-S., *Efficient separation of heavy metal cations by anchoring polyacrylic acid on superparamagnetic magnetite nanoparticles through surface modification*. Chemical Engineering Journal, 2010. **159**(1): p. 264-271.
81. Hua, M., Zhang, S., Pan, B., Zhang, W., Lv, L., Zhang, Q., *Heavy metal removal from water/wastewater by nanosized metal oxides: a review*. Journal of Hazardous Materials, 2012. **211**: p. 317-331.
82. Yavuz, C.T., Mayo, J.T., Yu, W.W., Prakash, A., Falkner, J.C., Yean, S., Cong, L., Shipley, H.J., Kan, A., Tomson, M., Natelson, D., Colvin, V.L., *Low-Field Magnetic Separation of Monodisperse Fe₃O₄ Nanocrystals*. Science, 2006. **314**(5801): p. 964-967.

83. Yavuz, C.T., Prakash, A., Mayo, J.T., Colvin, V.L., *Magnetic separations: From steel plants to biotechnology*. Chemical Engineering Science, 2009. **64**(10): p. 2510-2521.
84. Li, C., Zhang, D., Song, Y., Jiang, B., Li, G., Huang, W.E., *Whole cell bioreporter for the estimation of oil contamination*. Environmental Engineering and Management Journal, 2013. **12**(7): p. 1353-1358.
85. Huang, Y.-F., Wang, Y.-F., Yan, X.-P., *Amine-functionalized magnetic nanoparticles for rapid capture and removal of bacterial pathogens*. Environmental science & technology, 2010. **44**(20): p. 7908-7913.
86. Ryan, S., Kell, A.J., van Faassen, H., Tay, L.-L., Simard, B., MacKenzie, R., Gilbert, M., Tanha, J., *Single-domain antibody-nanoparticles: promising architectures for increased Staphylococcus aureus detection specificity and sensitivity*. Bioconjugate chemistry, 2009. **20**(10): p. 1966-1974.
87. Torres-Chavolla, E., Alocilja, E.C., *Aptasensors for detection of microbial and viral pathogens*. Biosensors and Bioelectronics, 2009. **24**(11): p. 3175-3182.
88. Liu, J.-C., Tsai, P.-J., Lee, Y.C., Chen, Y.-C., *Affinity capture of uropathogenic Escherichia coli using pigeon ovalbumin-bound Fe₃O₄@ Al₂O₃ magnetic nanoparticles*. Analytical chemistry, 2008. **80**(14): p. 5425-5432.
89. Liu, L.-H., Dietsch, H., Schurtenberger, P., Yan, M., *Photoinitiated coupling of unmodified monosaccharides to iron oxide nanoparticles for sensing proteins and bacteria*. Bioconjugate chemistry, 2009. **20**(7): p. 1349-1355.
90. Singh, S., Barick, K., Bahadur, D., *Surface engineered magnetic nanoparticles for removal of toxic metal ions and bacterial pathogens*. Journal of Hazardous Materials, 2011. **192**(3): p. 1539-1547.
91. Kaur, R., Hasan, A., Iqbal, N., Alam, S., Saini, M.K., Raza, S.K., *Synthesis and surface engineering of magnetic nanoparticles for environmental cleanup and pesticide residue analysis: A review*. Journal of Separation Science, 2014. **37**(14): p. 1805-1825.
92. Ngomsik, A.-F., Bee, A., Draye, M., Cote, G., Cabuil, V., *Magnetic nano- and microparticles for metal removal and environmental applications: a review*. Comptes Rendus Chimie, 2005. **8**(6-7): p. 963-970.
93. Jacob, N.M., Kuruva, P., Madras, G., Thomas, T., *Purifying Water Containing Both Anionic and Cationic Species Using a (Zn, Cu)O, ZnO, and Cobalt Ferrite Based Multiphase Adsorbent System*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013. **52**(46): p. 16384-16395.
94. Song, Q., Zhang, Z.J., *Correlation between Spin-Orbital Coupling and the Superparamagnetic Properties in Magnetite and Cobalt Ferrite Spinel Nanocrystals*. The Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(23): p. 11205-11209.
95. Liu, J., Bin, Y., Matsuo, M., *Magnetic Behavior of Zn-Doped Fe₃O₄ Nanoparticles Estimated in Terms of Crystal Domain Size*. The Journal of Physical Chemistry C, 2012. **116**(1): p. 134-143.
96. Reddy, D.H.K., Yun, Y.-S., *Spinel ferrite magnetic adsorbents: alternative future materials for water purification?* Coordination Chemistry Reviews, 2016. **315**: p. 90-111.
97. Coey, J., Venkatesan, M., Xu, H., *Introduction to magnetic oxides*. Functional Metal Oxides: New Science and Novel Applications, 2013: p. 1-49.
98. Rooygar, A.A., Mallah, M.H., Abolghasemi, H., Safdari, J., *New "Magmolecular" Process for the Separation of Antimony(III) from Aqueous Solution*. Journal of Chemical & Engineering Data, 2014. **59**(11): p. 3545-3554.
99. Zhou, L., Ji, L., Ma, P.-C., Shao, Y., Zhang, H., Gao, W., Li, Y., *Development of carbon nanotubes/CoFe₂O₄ magnetic hybrid material for removal of tetrabromobisphenol A and Pb(II)*. Journal of Hazardous Materials, 2014. **265**: p. 104-114.
100. Alabi, A., Chiesa, M., Garlisi, C., Palmisano, G., *Advances in anti-scale magnetic water treatment*. Environmental Science: Water Research & Technology, 2015. **1**(4): p. 408-425.

101. Lee, S.H., Jeon, S.I., Kim, Y.S., Lee, S.K., *Changes in the electrical conductivity, infrared absorption, and surface tension of partially-degassed and magnetically-treated water*. Journal of Molecular Liquids, 2013. **187**: p. 230-237.
102. Hosoda, H., Mori, H., Sogoshi, N., Nagasawa, A., Nakabayashi, S., *Refractive indices of water and aqueous electrolyte solutions under high magnetic fields*. The Journal of Physical Chemistry A, 2004. **108**(9): p. 1461-1464.
103. Iino, M., Fujimura, Y., *Surface tension of heavy water under high magnetic fields*. Applied Physics Letters, 2009. **94**(26): p. 261902.
104. Fujimura, Y., Iino, M., *The surface tension of water under high magnetic fields*. Journal of Applied Physics, 2008. **103**(12): p. 124903.
105. Amiri, M., Dadkhah, A.A., *On reduction in the surface tension of water due to magnetic treatment*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2006. **278**(1): p. 252-255.
106. Parsons, S., Judd, S., Stephenson, T., Udol, S., Wang, B., *Magnetically augmented water treatment*. Process safety and environmental protection, 1997. **75**(2): p. 98-104.
107. Knez, S., Pohar, C., *The magnetic field influence on the polymorph composition of CaCO₃ precipitated from carbonized aqueous solutions*. Journal of Colloid and Interface Science, 2005. **281**(2): p. 377-388.
108. Szcześ, A., Chibowski, E., Hołysz, L., Rafalski, P., *Effects of static magnetic field on water at kinetic condition*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2011. **50**(1): p. 124-127.
109. Pang, X., Deng, B., *Investigation of changes in properties of water under the action of a magnetic field*. Science in China Series G: Physics Mechanics and Astronomy, 2008. **51**(11): p. 1621-1632.
110. Biryukov, A., Gavrikov, V., Nikiforova, L., Shcheglov, V., *New physical methods of disinfection of water*. Journal of Russian Laser Research, 2005. **26**(1): p. 13-25.
111. Baron, S., *Epidemiology--Medical Microbiology*. 1996: University of Texas Medical Branch at Galveston.
112. Abdolmaleki, A., Mallakpour, S., Mahmoudian, M., Sabzalian, M.R., *A new polyamide adjusted triazinyl- β -cyclodextrin side group embedded magnetic nanoparticles for bacterial capture*. Chemical Engineering Journal, 2017. **309**: p. 321-329.
113. Xu, Y., Li, C., Zhu, X., Huang, W.E., Zhang, D., *Application of magnetic nanoparticles in drinking water purification*. Environmental Engineering and Management Journal, 2014. **13**(8): p. 2023-2029.
114. El-Boubbou, K., Gruden, C., Huang, X., *Magnetic glyco-nanoparticles: a unique tool for rapid pathogen detection, decontamination, and strain differentiation*. Journal of the American Chemical Society, 2007. **129**(44): p. 13392-13393.
115. Jin, Y., Liu, F., Shan, C., Tong, M., Hou, Y., *Efficient bacterial capture with amino acid modified magnetic nanoparticles*. Water Research, 2014. **50**: p. 124-134.
116. Zhan, S., Zhu, D., Ma, S., Yu, W., Jia, Y., Li, Y., Yu, H., Shen, Z., *Highly efficient removal of pathogenic bacteria with magnetic graphene composite*. ACS applied materials & interfaces, 2015. **7**(7): p. 4290-4298.
117. Zhan, S., Yang, Y., Shen, Z., Shan, J., Li, Y., Yang, S., Zhu, D., *Efficient removal of pathogenic bacteria and viruses by multifunctional amine-modified magnetic nanoparticles*. Journal of Hazardous Materials, 2014. **274**: p. 115-123.
118. Wei, Z., Zhou, Z., Yang, M., Lin, C., Zhao, Z., Huang, D., Chen, Z., Gao, J., *Multifunctional Ag@Fe₃O₄ yolk-shell nanoparticles for simultaneous capture, kill, and removal of pathogen*. Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(41): p. 16344-16348.
119. Singh, S., Barick, K., Bahadur, D., *Inactivation of bacterial pathogens under magnetic hyperthermia using Fe₃O₄-ZnO nanocomposite*. Powder Technology, 2015. **269**: p. 513-519.

120. Pereira, C., Pereira, A.M., Quaresma, P., Tavares, P.B., Pereira, E., Araújo, J.P., Freire, C., *Superparamagnetic γ -Fe₂O₃@SiO₂ nanoparticles: a novel support for the immobilization of [VO(acac)₂]*. Dalton Transactions, 2010. **39**(11): p. 2842-2854.
121. Pereira, C., Pereira, A.M., Fernandes, C., Rocha, M., Mendes, R., Fernández-García, M.P., Guedes, A., Tavares, P.B., Grenèche, J.-M., Araújo, J.o.P., *Superparamagnetic MFe₂O₄ (M= Fe, Co, Mn) nanoparticles: tuning the particle size and magnetic properties through a novel one-step coprecipitation route*. Chemistry of Materials, 2012. **24**(8): p. 1496-1504.
122. Tristao, J.C., Oliveira, A.A., Ardisson, J.D., Dias, A., Lago, R.M., *Facile preparation of carbon coated magnetic Fe₃O₄ particles by a combined reduction/CVD process*. Materials Research Bulletin, 2011. **46**(5): p. 748-754.
123. Saitovitch, H., Silva, P.R., Passos, F.B., *Hyperfine interactions in metallic catalysts*. Química Nova, 2005. **28**(3): p. 529-534.
124. Choudhury, M.B., Ahmed, S., Shalabi, M.A., Inui, T., *Characterization of multi-component methanation catalysts by temperature-programmed reduction method to develop novel type methanation catalyst*. Chemical Engineering Department, King Fahd university of Petroleum & Minerals, Unknown.
125. Oliveira, A.A., Tristão, J.C., Ardisson, J.D., Dias, A., Lago, R.M., *Production of nanostructured magnetic composites based on Fe₃O₄ nuclei coated with carbon nanofibers and nanotubes from red mud waste and ethanol*. Applied Catalysis B: Environmental, 2011. **105**(1): p. 163-170.
126. Pereira, L., Dias, P., Soares, O., Ramalho, P., Pereira, M., Alves, M., *Synthesis, characterization and application of magnetic carbon materials as electron shuttles for the biological and chemical reduction of the azo dye Acid Orange 10*. Applied Catalysis B: Environmental, 2017. **212**: p. 175-184.
127. Oliveira, L.C., Rios, R.V., Fabris, J.D., Garg, V., Sapag, K., Lago, R.M., *Activated carbon/iron oxide magnetic composites for the adsorption of contaminants in water*. Carbon, 2002. **40**(12): p. 2177-2183.
128. Zhang, L., Wu, Y., *Sol-Gel synthesized magnetic MnFe₂O₄ spinel ferrite nanoparticles as novel catalyst for oxidative degradation of methyl orange*. Journal of Nanomaterials, 2013. **2013**: p. 2.
129. Ali, S., Zabidi, N.A.M., Subbarao, D., *Correlation between Fischer-Tropsch catalytic activity and composition of catalysts*. Chemistry Central Journal, 2011. **5**(1): p. 68.
130. Yang, Q., Choi, H., Al-Abed, S.R., Dionysiou, D.D., *Iron-cobalt mixed oxide nanocatalysts: heterogeneous peroxymonosulfate activation, cobalt leaching, and ferromagnetic properties for environmental applications*. Applied Catalysis B: Environmental, 2009. **88**(3): p. 462-469.
131. Braga, T.P., Dias, D.F., de Sousa, M.F., Soares, J.M., Sasaki, J.M., *Synthesis of air stable FeCo alloy nanocrystallite by proteic sol-gel method using a rotary oven*. Journal of Alloys and Compounds, 2015. **622**: p. 408-417.
132. Kameoka, S., Tanabe, T., Tsai, A.P., *Spinel CuFe₂O₄: a precursor for copper catalyst with high thermal stability and activity*. Catalysis letters, 2005. **100**(1): p. 89-93.
133. Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P., Mukherji, S., *Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles*. Acta Biomater, 2008. **4**(3): p. 707-716.
134. Masalha, M., Borovok, I., Schreiber, R., Aharonowitz, Y., Cohen, G., *Analysis of Transcription of the Staphylococcus aureus Aerobic Class Ib and Anaerobic Class III Ribonucleotide Reductase Genes in Response to Oxygen*. Journal of bacteriology, 2001. **183**(24): p. 7260-7272.
135. Tong, S.Y., Davis, J.S., Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, V.G., *Staphylococcus aureus infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management*. Clinical microbiology reviews, 2015. **28**(3): p. 603-661.
136. Vogt, R.L., Dippold, L., *Escherichia coli O157: H7 outbreak associated with consumption of ground beef, June-July 2002*. Public health reports, 2005. **120**(2): p. 174-178.

ANEXOS

A1. DIMENSIONAMENTO DO REATOR EM CONTÍNUO

A2. VALORES DAS UFCs E LOG DOS ENSAIOS REALIZADOS

A3. ENSAIO DE CONTROLO DO PH EM REATOR FECHADO

A1. DIMENSIONAMENTO DO REATOR EM CONTÍNUO

Para a obtenção da reta de calibração do caudal, em mL/min, do reator foram determinados os tempos que demorava a encher 5 mL de uma proveta, para 3 caudais diferentes, em rpm, da bomba peristáltica. Os resultados obtidos apresentam-se na Tabela A1.1.

Tabela A1. 1: Tempos determinados para encher um volume de 5 mL para 3 caudais diferentes

Caudal (rpm)	20	50	90
	135,81	53,81	30,01
	134,95	54,90	30,35
Tempo (s)	-	54,06	29,89
	-	53,61	29,9
	-	53,36	30,12
Média (s)	135,38	53,95	30,05

Tabela A1. 2: Caudais obtidos em mL/min e caudais em rpm correspondentes

Caudal (rpm)	90	50	20
Caudal (mL/min)	10,0	5,6	2,2

Os valores da Tabela A1.2 foram utilizados para obter a reta de ajuste do caudal em mL/min para um caudal em rpm.

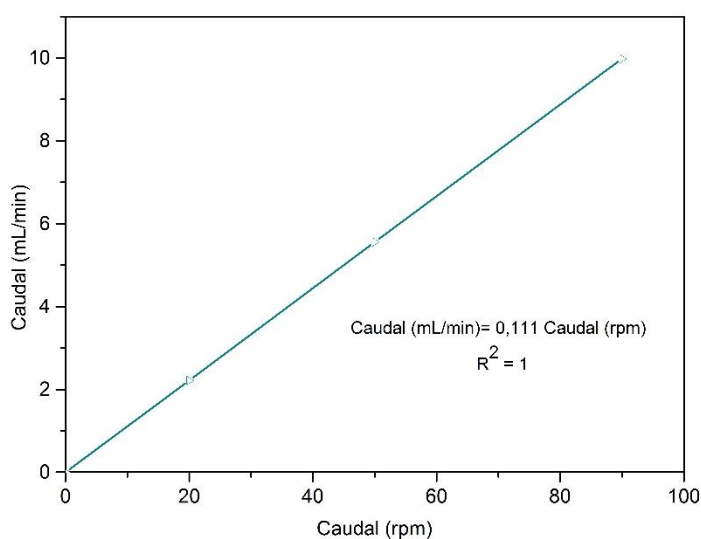


Figura A1. 1: Reta de ajuste do caudal de rpm para mL/min

Os cálculos seguintes serão efetuados tendo como exemplo as condições do ensaio em contínuo com uma suspensão bacteriana de *E. coli*.

Para este ensaio começou-se por medir o diâmetro interno da coluna de reação:

$$\text{Diâmetro interno da coluna de reação } (D_i) = 1,6 \text{ cm}$$

Para 1 g de partículas FeO, a altura de partículas na coluna correspondente é igual a 0,5 cm. Assim, a altura das partículas será:

$$\text{Altura das partículas na coluna de reação } (h) = \text{Massa das partículas} \times 0,5$$

Tendo a altura de partículas calculou-se o volume de partículas presente na coluna ou o volume de contacto.

$$\text{Volume de contacto } (V_c) = \pi \times \left(\frac{D_i^2}{4}\right) \times h \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow V_c = \pi \times \left(\frac{1,6^2}{4}\right) \times 0,5 = 1 \text{ cm}^3$$

Querendo-se obter um tempo de contacto de 1 min para ser comparável com os ensaios realizados em reator fechado, recorreu-se à equação seguinte:

$$\text{Tempo de contacto } (\tau) = \frac{V_c}{Q} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow 1 = \frac{1}{Q} \Leftrightarrow$$

$$Q = 1 \text{ mL/min}$$

O caudal correspondente em rpm, recorrendo à reta de ajuste de caudal, será 9 rpm.

Finalmente, a concentração será:

$$\text{Concentração} = \frac{\text{Massa}}{Q} \Leftrightarrow$$

$$\Leftrightarrow \text{Concentração} = \frac{1}{1} = 1 \text{ g.min/mL}$$

A2. VALORES DAS UFCs E LOG DOS ENSAIOS REALIZADOS

Tabela A2. 1: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de comparação de materiais

Comparação de Materiais				
Material	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
FeO	$6,54 \times 10^5$	5,8	$4,83 \times 10^3$	3,7
MnFeO	$4,21 \times 10^5$	5,6	$5,15 \times 10^3$	3,7
CoFeO	$2,63 \times 10^5$	5,4	$7,43 \times 10^3$	3,8
CuFeO	$6,15 \times 10^5$	5,8	$7,40 \times 10^3$	3,9
Compósito FeO/CA	$3,47 \times 10^5$	5,5	$6,63 \times 10^3$	3,8
CFeO@CVD	$3,83 \times 10^5$	5,6	$5,85 \times 10^4$	4,8
N-CFeO@CVD Lote 1	$3,80 \times 10^5$	5,6	$2,28 \times 10^5$	5,4
N-CFeO@CVD Lote 2	$9,43 \times 10^5$	6,0	$4,63 \times 10^3$	3,7

Tabela A2. 2: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de *E. coli* por FeO

Cinética de remoção de <i>E. coli</i> por FeO				
Tempo (minutos)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
0,5	$1,27 \times 10^6$	6,1	$4,03 \times 10^5$	5,6
1	$8,43 \times 10^5$	5,9	$2,55 \times 10^5$	5,4
2	$7,97 \times 10^5$	5,9	$3,92 \times 10^4$	4,5
5	$8,35 \times 10^5$	5,9	$5,30 \times 10^3$	3,7
10	$5,47 \times 10^5$	5,7	$3,38 \times 10^3$	3,1
15	$6,54 \times 10^5$	5,8	$4,83 \times 10^3$	3,7
30	$7,37 \times 10^5$	5,9	$6,60 \times 10^3$	3,8

Tabela A2. 3: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de *E. coli* por CuFeO

Cinética de remoção de <i>E. coli</i> por CuFeO				
Tempo (minutos)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
0,5	6,13 x 10 ⁵	5,8	5,40 x 10 ⁴	4,7
1	1,14 x 10 ⁶	6,1	4,70 x 10 ⁴	4,6
2	9,96 x 10 ⁵	6,0	3,88 x 10 ⁴	4,6
5	1,14 x 10 ⁶	6,0	1,25 x 10 ⁴	2,8
10	8,00 x 10 ⁵	5,9	4,30 x 10 ⁴	4,6
15	6,15 x 10 ⁵	5,8	7,40 x 10 ³	3,9

Tabela A2. 4: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de cinética de remoção de *E. coli* por N-CFeO@CVD

Cinética de remoção de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD				
Tempo (minutos)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
0,5	9,40 x 10 ⁵	6,0	4,15 x 10 ⁵	5,6
1	1,07 x 10 ⁶	6,0	5,30 x 10 ⁵	5,7
2	1,73 x 10 ⁶	6,2	4,80 x 10 ⁵	5,7
5	1,02 x 10 ⁶	6,0	3,05 x 10 ⁵	5,5
10	1,32 x 10 ⁶	6,1	1,06 x 10 ⁵	5,0
15	1,13 x 10 ⁶	6,0	1,04 x 10 ⁵	4,5

Tabela A2. 5: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de *E. coli* por FeO em função da concentração de catalisador

Remoção de <i>E. coli</i> por FeO em função da concentração de catalisador				
Concentração (mg/mL)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
4	$1,13 \times 10^6$	6,1	$7,60 \times 10^5$	5,9
8	$1,07 \times 10^6$	6,0	$5,30 \times 10^5$	5,7
12	$8,43 \times 10^5$	5,9	$2,55 \times 10^5$	5,4
16	$1,36 \times 10^6$	6,1	$4,70 \times 10^5$	5,7
20	$1,17 \times 10^6$	6,1	$3,45 \times 10^5$	5,5
30	$1,63 \times 10^6$	6,2	$2,75 \times 10^5$	5,4
50	$1,19 \times 10^6$	6,1	$1,60 \times 10^5$	5,2

Tabela A2. 6: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de *E. coli* por CuFeO em função da concentração de catalisador

Remoção de <i>E. coli</i> por CuFeO em função da concentração de catalisador				
Concentração (mg/mL)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
4	$2,18 \times 10^6$	6,3	$3,60 \times 10^5$	5,6
8	$2,02 \times 10^6$	6,3	$2,50 \times 10^5$	5,4
12	$1,14 \times 10^6$	6,1	$4,70 \times 10^4$	4,6
16	$6,43 \times 10^5$	5,8	$4,10 \times 10^4$	4,6
20	$1,09 \times 10^6$	6,0	$6,40 \times 10^4$	4,8
30	$1,66 \times 10^6$	6,2	$2,55 \times 10^4$	4,4
50	$1,30 \times 10^6$	6,1	$1,09 \times 10^4$	4,0

Tabela A2. 7: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de remoção de *E. coli* por N-CFeO@CVD em função da concentração de catalisador

Remoção de <i>E. coli</i> por N-CFeO@CVD em função da concentração de catalisador				
Concentração (mg/mL)	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
4	$2,37 \times 10^6$	6,4	$1,68 \times 10^6$	6,2
8	$9,93 \times 10^5$	6,0	$5,65 \times 10^5$	5,8
12	$1,07 \times 10^6$	6,0	$5,30 \times 10^5$	5,7
16	$9,40 \times 10^5$	6,0	$4,05 \times 10^5$	5,6
20	$2,01 \times 10^6$	6,3	$5,85 \times 10^5$	5,8
30	$7,27 \times 10^5$	5,9	$2,05 \times 10^5$	5,3
50	$1,11 \times 10^6$	6,0	$1,70 \times 10^5$	5,2

Tabela A2. 8: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios com gram-positiva (*S. aureus*) para as partículas FeO, CuFeO e N-CFeO@CVD

Ensaio com gram-positiva (<i>S. aureus</i>) em condições ótimas				
Material	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
FeO	$1,33 \times 10^6$	6,1	$8,75 \times 10^2$	2,9
CuFeO	$7,97 \times 10^5$	5,9	$7,15 \times 10^4$	4,9
N-CFeO@CVD	$6,80 \times 10^5$	5,8	$1,50 \times 10^4$	4,2

Tabela A2. 9: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios com uma água real para as partículas FeO e CuFeO

Ensaio com uma água real em condições ótimas				
Material	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
FeO	$2,19 \times 10^3$	3,3	$6,80 \times 10^2$	2,8
CuFeO	$1,90 \times 10^3$	3,3	$1,85 \times 10^2$	2,3

Tabela A2. 10: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de reutilização com partículas FeO e *S. aureus*

Ensaio de reutilização com partículas FeO e <i>S. aureus</i>				
Ensaio	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
1	$2,96 \times 10^6$	6,5	$1,80 \times 10^4$	4,3
2	$1,59 \times 10^6$	6,2	$1,82 \times 10^4$	4,3
3	$1,59 \times 10^6$	6,2	$3,20 \times 10^4$	4,5

Tabela A2. 11: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para os ensaios de reutilização com partículas CuFeO e *E. coli*

Ensaio de reutilização com partículas CuFeO e <i>E. coli</i>				
Ensaio	Antes do tratamento		Após o tratamento	
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log
1	$2,01 \times 10^6$	6,3	$7,45 \times 10^3$	3,9
2	$2,01 \times 10^6$	6,3	$1,68 \times 10^4$	4,2
3	$2,01 \times 10^6$	6,3	$2,55 \times 10^4$	4,4

Tabela A2. 12: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para o ensaio em reator contínuo com FeO e uma suspensão bacteriana de *E. coli*

Ensaio em reator em contínuo com FeO e uma suspensão bacteriana de <i>E. coli</i>					
θ	Antes do tratamento		Após o tratamento		
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log	
15	9,58 x 10 ⁵	6,0	4,35 x 10 ⁵	5,6	
30	9,58 x 10 ⁵	6,0	9,58 x 10 ⁵	6,0	
45	9,58 x 10 ⁵	6,0	6,65 x 10 ⁵	5,8	
60	9,58 x 10 ⁵	6,0	6,70 x 10 ⁵	5,8	
75	9,58 x 10 ⁵	6,0	7,20 x 10 ⁵	5,9	
90	9,58 x 10 ⁵	6,0	7,90 x 10 ⁵	5,9	
105	9,58 x 10 ⁵	6,0	6,55 x 10 ⁵	5,8	
120	9,58 x 10 ⁵	6,0	7,00 x 10 ⁵	5,8	
135	9,58 x 10 ⁵	6,0	7,45 x 10 ⁵	5,9	
150	9,58 x 10 ⁵	6,0	8,90 x 10 ⁵	5,9	
165	9,58 x 10 ⁵	6,0	8,85 x 10 ⁵	5,9	
180	9,58 x 10 ⁵	6,0	6,90 x 10 ⁵	5,8	

Tabela A2. 13: Valores de UFC/mL e log antes e após o tratamento para o ensaio em reator contínuo com FeO e uma água real

Ensaio em reator em contínuo com FeO e uma água real					
θ	Antes do tratamento		Após o tratamento		
	UFC/mL	Log	UFC/mL	Log	
15	$3,90 \times 10^2$	2,6	$2,35 \times 10^2$	2,4	
30	$3,90 \times 10^2$	2,6	$2,45 \times 10^2$	2,4	
45	$3,90 \times 10^2$	2,6	$2,80 \times 10^2$	2,4	
60	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,15 \times 10^2$	2,5	
75	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,90 \times 10^2$	2,6	
90	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,80 \times 10^2$	2,6	
105	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,80 \times 10^2$	2,6	
120	$3,90 \times 10^2$	2,6	$2,90 \times 10^2$	2,5	
135	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,90 \times 10^2$	2,6	
150	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,90 \times 10^2$	2,6	
165	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,90 \times 10^2$	2,6	
180	$3,90 \times 10^2$	2,6	$3,90 \times 10^2$	2,6	

A3. ENSAIO DE CONTROLO DO PH EM REATOR FECHADO



Figura A3. 1: Controle de pH para as NPMs N-CFeO@CVD (a), CuFeO (b) e FeO (c)