

OLAYR MODESTO JUNIOR

INATIVAÇÃO DE BACTÉRIAS EM FASE GASOSA POR FOTOCATÁLISE
HETEROGÊNEA: EFEITO DA ADIÇÃO DE METAIS

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de mestre em Química.

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Raquel Fernandes P. Nogueira

Araraquara / SP
2008

OLAYR MODESTO JUNIOR

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Química.

Araraquara, ____ de _____ de 2008

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Raquel Fernandes Pupo Nogueira (Orientadora)
Instituto de Química – UNESP, Araraquara/SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha filha Maria Victória Fiala Modesto, pois ela veio ao mundo para dar mais cor e sabor à minha existência; tudo tem mais sentido com a sua presença.

AGRADECIMENTOS

Em especial a Deus, por sempre dizer sim aos meus projetos, me abençoar e me guardar dos perigos que enfrentei e continuo a enfrentar todos os dias.

À Terezinha Fiala Modesto, o presente que pedi a Deus, meu amor, um braço forte a me apoiar e uma alma gêmea para sonhar os mesmos sonhos; hoje somos uma só carne em nossa filha.

À minha mãe Raimunda Maria Boldarin Modesto (*in memoriam*), por seu amor, sua dedicação, seu companheirismo, seus medos, seu grude, antes eu os aceitava e era feliz agora eu os vivo e os compreendo e sou muito mais feliz.

À Prof^a. Dr^a. Raquel Fernandes Pupo Nogueira, por me aceitar como seu orientado, pela paciência além da conta, pela atenção e pelo carinho só encontrados nos amigos; uma pessoa sábia que vale a pena madrugar para visitá-la e gastar a soleira de sua porta.

Ao Centro Universitário Católico Salesiano *Auxilium*, na pessoa do Magnífico Reitor Pe. Paulo Fernando Vendrame, por permitir a utilização de suas instalações para o desenvolvimento de parte desta pesquisa.

À Prof^a. Dr^a. Maria Valnice Boldrin, pela concessão de material e apoio à minha pesquisa.

Ao Prof. Dr. Peter Hammer, pelo apoio à minha pesquisa com a execução e interpretação dos espectros de XPS.

Ao Prof. Dr. Ademir dos Santos, pelo apoio à minha pesquisa com a determinação dos metais.

A todos os professores e funcionários, em particular àqueles com quem tive contato, por fazerem eu me sentir parte deste Instituto desde o princípio.

(...) "Se você quiser, meu filho, ficará instruído e se você se empenhar, se tornará hábil. Se você gosta de escutar, aprenderá; e se der ouvido, se tornará sábio. Freqüente a reunião dos anciãos e apeque-se a quem for sábio. Escute de boa vontade toda palavra divina, e não se descuide das máximas sábias. Se você encontrar um homem sábio, madrugue para visitá-lo, e que seu pé gaste a soleira da porta dele. Reflita sobre os preceitos do Senhor e medite sem cessar nos mandamentos dele. Então ele fortificará em você a inteligência, e o seu desejo de sabedoria ficará saciado." (...)

Eclesiástico 6.32-37

RESUMO

O controle de microorganismos em determinados ambientes é um fator essencial para a conservação de alimentos e prevenção de patologias humanas. Diversos métodos de controle da presença de microorganismos já foram desenvolvidos e são amplamente utilizados; porém, cada um deles tem uma limitação, suscitando a busca por outros meios. Assim, o objetivo desse trabalho é o de avaliar o efeito da adição de metais de transição (Pd, Ag e Fe) ao TiO_2 na desinfecção em fase gasosa pela fotocatalise heterogênea. Os ensaios foram realizados num reator que propiciou uma área de 720 cm^2 de fotocatalisador e 16 watts de luz UV; a névoa de microorganismos após tratamento foi colhida em água estéril e sua quantificação foi realizada por semeadura em *Plat Cont Agar*. Dentre os fotocatalisadores preparados com o TiO_2 comercial P25, os melhores resultados foram obtidos empregando-se o TiO_2 com paládio fotodepositado, inativando respectivamente, *E. coli*, *S. aureus* e *B. subtilis* numa taxa de 53%, 91% e 90%, contra 46%, 30% e 31% para o TiO_2 puro, demonstrando que a interação com o paládio produziu um efeito sinérgico aumentando a eficiência do fotocatalisador puro em até 200%. Considerando-se os fotocatalisadores sintetizados a partir do tetraisopropóxido de titânio, os melhores resultados foram obtidos com o TiO_2 dopado com ferro, inativando respectivamente, *E. coli*, *B. subtilis* e *S. aureus* numa taxa de 48%, 48% e 47%, contra 31%, 22% e 25% para o TiO_2 puro, mostrando que também neste caso ocorre um efeito sinérgico aumentando a eficiência do fotocatalisador em até 120%. Não há diferenças significativas (teste t) entre as radiações de 254 e 365 nm tanto para os ensaios de controle, utilizando somente radiação UV, quanto aquele com fotocatalisador irradiado, atribuída ao breve período de exposição de 15 segundos.

Palavras-chave: Química ambiental. Fotocatálise heterogênea. Dióxido de titânio. Desinfecção em fase gasosa.

ABSTRACT

The control of microorganisms in certain atmospheres is an essential factor for the conservation of foodstuff and prevention of human pathologies. Several methods of control of the presence of microorganisms have already been developed and they are widely used, however, each one of them has a limitation, prompting the search for other alternatives. Thus, the objective of this work is to evaluate the effect of the addition of transition metals (Pd, Ag and Fe) to TiO₂ in the disinfection in gaseous phase by heterogeneous photocatalysis. The experiments were carried out in a reactor that provided a photocatalyst area of 720 cm² and 16 watts of UV light; the mist of microorganisms after treatment was collected in sterile water and its quantification was made by inoculation in Plat Cont Agar. Among the prepared photocatalysts from commercial TiO₂ P25, the best results were obtained by the use of TiO₂ with Pd, inactivating respectively, *E. coli*, *S. aureus* and *B. subtilis* in a rate of 53%, 91% and 90%, against 46%, 30% and 31% for pure TiO₂, demonstrating that the interaction with the Pd produced a synergistic effect increasing the efficiency of the pure photocatalyst up to 200%. Considering the photocatalyst synthesized starting from the titanium tetraisopropoxide, the best results were obtained with TiO₂ doped with iron, inactivating respectively, *E. coli*, *B. subtilis* and *S. aureus* in a rate of 48%, 48% and 47%, against 31%, 22% and 25% for pure TiO₂, showing that also in this case a synergistic effect increasing the efficiency of the photocatalyst in up to 120% occurs. There are no significant differences (test t) between the radiations of 254 and 365 nm either for the control experiments using only UV radiation or those with irradiated photocatalyst, attributed to the brief exposure period of 15 seconds.

Keywords: Environmental chemistry. Heterogeneous photocatalysis. Titanium dioxide. Disinfection in gaseous phase.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mecanismo de ação da partícula de um fotocatalisador irradiado por luz de comprimento de onda adequado. 17
- Figura 2.** Representação do processo de XPS, as barras inferiores nominadas como E_1 , E_1' e E_1'' representam as energias de ligação dos elétrons dos orbitais E_1 de um átomo e as barras superiores nominadas como E_v , E_v' e E_v'' representam as energias de elétrons da banda de valência E_v 21
- Figura 3.** Exemplo de espectro exploratório de XPS – *survey scan*: amostra $((C_3H_7)_4N^+S_2PF_2)$ contendo vários elementos suportados sobre alumina. ... 22
- Figura 4.** Difração de raios-X por planos de átomos 23
- Figura 5.** Interferência construtiva (5a) e destrutiva (5b) causada respectivamente pela igualdade ou diferença, π , de fase das ondas dos raios-X utilizados no processo de difração. 24
- Figura 6.** Formas cristalinas e difratogramas das diferentes formas alotrópicas do TiO_2 25
- Figura 7.** Ilustração das diferenças estruturais das paredes celulares de bactérias. a) Gram-positivas. b) Gram-negativas. 27
- Figura 8.** Classificação das bactérias escolhidas para os ensaios de desinfecção em fase gasosa. 28
- Figura 9.** Croqui da câmara do reator em vista lateral com corte longitudinal, especificando dimensões e disposição dos componentes. 33
- Figura 10.** Croqui da câmara do reator em vista transversal. A fiação foi suprimida para facilitar a visualização. 33
- Figura 11.** Croqui do reator explodido, para melhor visualização da disposição dos componentes. 34
- Figura 12.** Peptização dos colóides de TiO_2 obtidos a partir da hidrólise do tetraisopropóxido de titânio. 39

Figura 13. Fluxograma de operação para coleta de amostras de experimentos controle e de desinfecção fotocatalítica.	41
Figura 14. Fluxograma de operação para coleta de amostras para análise da influência de metais como agentes dopantes no fotocatalisador.	43
Figura 15. Espectros de absorção na região UV-Vis de TiO ₂ preparado pelo processo sol-gel a partir do Ti(C ₃ H ₇ O) ₄ , puro e dopado com 1% molar de Pd ou Ag ou Fe.	45
Figura 16. Espectro de difração de raios-X do TiO ₂ comercial.	46
Figura 17. Espectro de difração de raios-X do TiO ₂ sintetizado.	46
Figura 18. Espectros de XPS de TiO ₂ comercial contendo Pd.	48
Figura 19. Espectros de XPS de TiO ₂ comercial contendo Ag.	49
Figura 20. Espectros de XPS de TiO ₂ comercial contendo Fe.	50

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Massas e número de mols do fotocatalisador TiO₂ – P25 Degussa imobilizada nas placas-suporte e respectivos número de mols de cada metal a ser fotorreduzido.37
- Tabela 2.** Massa em miligramas do fotocatalisador TiO₂ sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio imobilizado nas placas-suporte, formando quatro grupos de seis placas, cada um com seu respectivo metal de dopagem.40
- Tabela 3.** Composição do filme de TiO₂ contendo paládio determinada por XPS.47
- Tabela 4.** Composição do filme de TiO₂ contendo prata determinada por XPS.48
- Tabela 5.** Composição do filme de TiO₂ contendo ferro determinada por XPS.50
- Tabela 6.** Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ P25 Degussa e luz negra.51
- Tabela 7.** Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio pelo processo sol-gel e luz negra.55
- Tabela 8.** Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ P25 Degussa com Paládio fotorreduzido sobre sua superfície, irradiado com luz negra ($\lambda = 365$ nm) e luz germicida ($\lambda = 254$ nm)57

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	11
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1. Alguns problemas causados ao homem pela presença indesejada de microorganismos.....	15
2.2. Fotocatálise heterogênea	16
2.3. A Fotocatálise heterogênea em processos de desinfecção ...	18
2.4. Ação sinérgica de fotocatalisadores e metais de transição.....	20
2.5. Caracterização de materiais por Espectroscopia Fotoeletrônica de Raios-X (XPS).....	21
2.6. Caracterização de materiais por difração de raios-X (XRD)	23
2.7. Caracterização do dióxido de titânio	25
2.8. Caracterização dos microorganismos utilizados neste trabalho	26
2.6.1. <i>Bacillus subtilis</i>	28
2.6.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	29
2.6.3. <i>Escherichia coli</i>	29
3. OBJETIVOS.....	31
4. MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1. Construção do reator	32

4.2. Escolha, aquisição e manutenção das cepas dos microorganismos selecionados.....	35
4.3. Preparação e imobilização do fotocatalisador	35
4.3.1. Imobilização do fotocatalisador TiO ₂ comercial para deposição de Pd, Ag e Fe por fotorredução.....	36
4.3.2. Preparação e imobilização do fotocatalisador obtido a partir do tetra-isopropóxido de titânio e dopagem com Fe, Ag e Pd.	38
4.4. Coleta de amostras e metodologia de análises microbiológicas.....	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Análise das soluções preparadas para deposição dos metais escolhidos para avaliação após processo de fotorredução.	44
5.2. A influência da dopagem sobre o espectro de absorção do TiO ₂ preparado a partir do alcóxido.....	44
5.3. Caracterização dos fotocatalisadores utilizados por técnicas de raios X.....	45
5.3.1. Caracterização por difração de raios-X (XRD)	45
5.3.2. Caracterização por espectrometria fotoeletrônica de raios X - XPS.....	47
5.4. Avaliação do processo de desinfecção por fotocátalise heterogênea utilizando-se TiO ₂ comercial – P25 Degussa.....	50
5.5. Avaliação do processo de desinfecção por fotocátalise heterogênea utilizando-se TiO ₂ sintetizado a partir de tetraisopropóxido de titânio.....	54
5.6. Avaliação do processo de desinfecção por fotocátalise heterogênea utilizando-se TiO ₂ comercial irradiado por luz germicida.....	56
6. CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61

1. INTRODUÇÃO

Dentre os seres vivos há um grupo extremamente numeroso de organismos de tamanho microscópico de diferentes Reinos, dos quais se destaca o *Bacteria*. Este reino é formado por seres capazes de sobreviverem e se reproduzirem em ambientes onde nenhum outro organismo é capaz de fazê-lo. Por sua resistência e simplicidade, está presente em todas as partes da biosfera, vivendo sobre os mais diferentes substratos orgânicos ou inorgânicos, inclusive como simbiotes com o homem.

Alguns organismos desse grupo são denominados decompositores, pois são os responsáveis pela degradação ou mineralização da matéria orgânica, disponibilizando-a para novo ciclo biogeoquímico.

Embora a maioria desses microorganismos não cause mal algum ao homem e alguns sejam até utilizados na produção industrial ou artesanal de combustíveis, alimentos, medicamentos e outros, ao longo da história o homem comprovou também que alguns desses organismos microscópicos causam patologias ao homem, a plantas e a animais. Portanto, o controle da presença desses microorganismos em determinados ambientes é um fator essencial para a preservação da saúde. Problemas como infecções hospitalares e a síndrome do edifício doente – SED podem ser evitados, bem como, obter-se o aumento do tempo para o consumo de alimentos e para a germinação de sementes. Podem-se ainda criar ambientes limpos para a reprodução saudável de plantas e animais biotecnologicamente trabalhados.

Diversos métodos de controle da presença de microorganismos já foram desenvolvidos pelo homem e são amplamente utilizados; porém, cada

um deles tem uma limitação, suscitando que a busca por outros meios continue.

Assim, neste trabalho foi avaliada a ação da presença de paládio, prata e ferro no dióxido de titânio na desinfecção em fase gasosa de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Alguns problemas causados ao homem pela presença indesejada de microorganismos

A desinfecção em fase gasosa tem sua importância fundamentada na necessidade de execução de trabalhos em ambientes desinfetados ou estéreis como prevê a Portaria 3523 de 28/08/98 do Ministério da Saúde, dentre os quais se destacam as cirurgias em humanos e demais animais, a propagação clonal de vegetais a partir de tecidos meristemáticos, o processamento industrial de alimentos e a realização de análises microbiológicas (GONTIJO FILHO et al., 2000).

A climatização de edifícios dificulta a renovação do ar. Os sistemas de ar condicionado possuem locais de difícil acesso e limpeza. Aliados à soma de fatores como deficiência na manutenção, acúmulo de poeira, calor e umidade da unidade central, proporcionam um ambiente ideal para a proliferação de microorganismos que poderão ser disseminados através desse mesmo sistema para outros locais, causando problemas respiratórios, alergias e infecções. Este processo de proliferação e disseminação é denominado Síndrome do Edifício Doente (SED). O Brasil aprovou em 28 de agosto de 1998 a portaria nº 3.523 do Ministério da Saúde, uma legislação específica para o controle da qualidade do ar interno de ambientes climatizados. Pautada nessa portaria, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu padrões para a determinação da normalidade do ar em ambientes climatizados de uso público e coletivo através de sua Resolução nº 9 de 16 de janeiro de 2003, na qual se estabelece a relação:

- Para Bactérias: Valor Máximo Recomendável (VMR) = 750 UFC m⁻³ de ar.
- Para Fungos: $I/E \leq 1,5$ (em que I representa a quantidade de esporos de fungos no ambiente interno e E a quantidade de esporos no ambiente externo).

Esta mesma norma estabelece ainda condutas para a coleta e quantificação de fungos patogênicos e toxicogênicos no ar, sugerindo possíveis fontes de contaminação.

2.2. Fotocatálise heterogênea

A Fotocatálise Heterogênea é um processo oxidativo avançado que utiliza óxidos de metais de transição como semicondutores para promover reações de oxi-redução em meio aquoso e/ou gasoso de compostos orgânicos e/ou inorgânicos, convertendo-os em compostos de cadeias menores ou menos tóxicos podendo, inclusive, no caso de compostos orgânicos, mineralizá-los por completo (NOGUEIRA e JARDIM, 1998; RINCÓN e PULGARIN, 2003 e 2004).

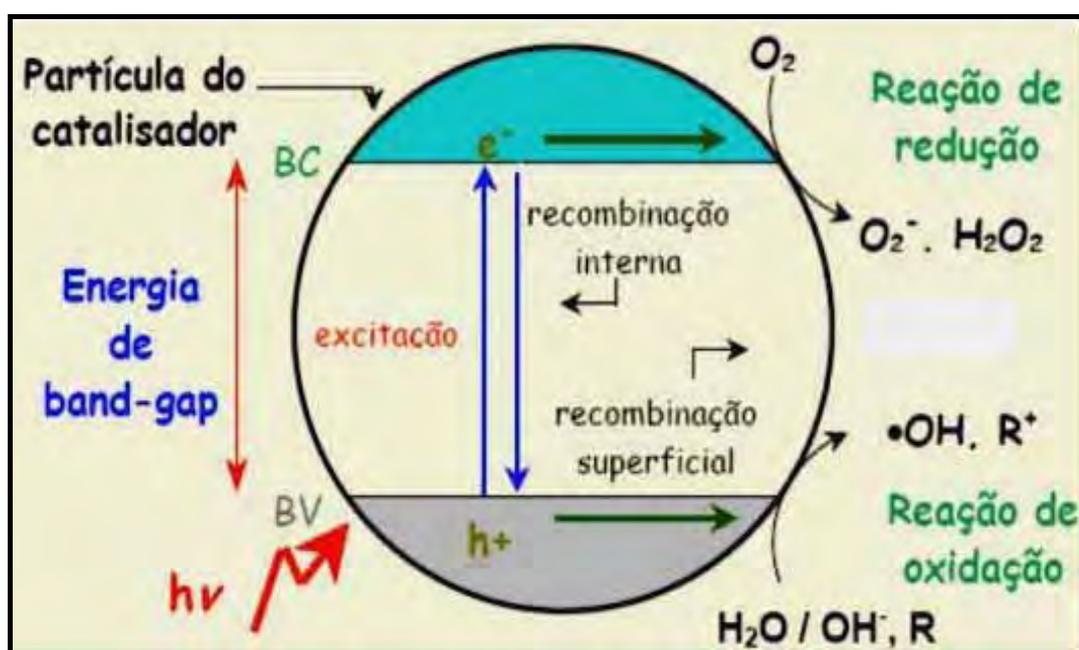
O processo se fundamenta na capacidade de semicondutores como o TiO₂ serem excitados por radiações de comprimento de onda adequado promovendo a migração interna de um elétron de uma região denominada banda de valência, para outra chamada banda de condução. A barreira energética entre elas é denominada "bandgap". Para o TiO₂ a magnitude dessa barreira é de 3,2 eV o que significa dizer que radiações UV-A podem excitá-lo. Nestas condições, o semicondutor é capaz de agir simultaneamente como agente oxidante e redutor. É o alto poder oxidante das lacunas deixadas na banda de valência pela saída de elétrons que promove a oxidação da água, por exemplo, gerando radicais hidroxilas que possuem forte potencial padrão de oxidação ($E^\circ = 2,73 \text{ V}$), que por sua vez atacam compostos orgânicos presentes no meio, de três modos:

- a) sua adição ao composto;
- b) retirada de hidrogênio para formar água e;

c) retirada de elétron para formar íon hidroxila.

Já na banda de condução, a oferta de elétrons promove a redução de íons metálicos e de outras espécies dentre as quais se destaca o oxigênio molecular que pode ser levado a peróxido ou superóxido que agirão também como oxidantes (RINCÓN e PULGARIN, 2003; VOHRA et al., 2005).

A atuação de um semiconductor, como o TiO_2 , utilizado neste trabalho é demonstrado na Figura 1.

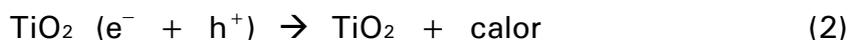
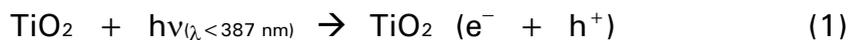


Fonte: MONTAGNER et al., 2005

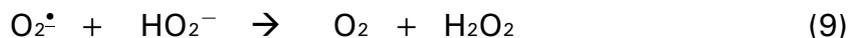
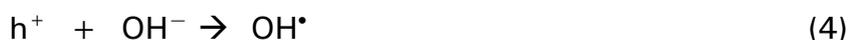
Figura 1. Mecanismo de ação da partícula de um fotocatalisador irradiado por luz de comprimento de onda adequado.

Foi o conhecimento desta técnica de oxi-redução, que permite oxidar compostos convertendo-os a outros de menor toxicidade ou mineralizando-os completamente, que propiciou experimentos de degradação de moléculas biológicas e por fim à elaboração de processos de desinfecção de água e ar.

Valente et al. (2005), elencam as reações que ocorrem no fotocatalisador para promover elétrons da banda de valência para a banda de condução bem como as de recombinação elétron-lacuna, mostradas nas equações 1 e 2.



Os mesmos autores descrevem também as reações que levam à formação dos radicais hidroxilas, pela ação direta do fotocatalisador ou indireta, por espécies químicas por ele gerados, mostradas nas equações 3 e 13.



As reações de oxidação dos compostos orgânicos, seja pela ação direta do fotocatalisador ou dos radicais hidroxilas por ele gerados, são mostradas nas equações 14 e 15 (VALENTE et al., 2005)



Onde: TOC_0 significa Carbono Orgânico Total inicial e TOC_1 Carbono Orgânico Total de espécies intermediárias no processo de mineralização.

2.3. A Fotocatálise heterogênea em processos de desinfecção

A ação da fotocatalise heterogênea usando TiO_2 como agente biocida foi relatada pela primeira vez em 1985 por Matsunaga et al. (1985). Neste estudo, foi observada a ação inibitória do semicondutor na produção da coenzima A (CoA) de bactérias *E. coli* e de fungos como *Saccharomyces cerevisiae*. A coenzima A é um composto essencial no processo de respiração e sua falta impede que o processo se realize.

O poder oxidante gerado pela ação conjunta TiO_2/UV provoca lesões na parede celular e na membrana plasmática das células bacterianas pela oxidação de lipídeos insaturados nelas presentes em grande quantidade. A ação do fotocatalisador provoca um aumento na permeabilidade da membrana plasmática permitindo que os radicais oxidantes ataquem estruturas internas da célula podendo causar, até mesmo, a lise celular, o que em ambos os casos, conduz à morte celular (HUANG et al., 1998; SÖKMEN et al., 2001).

Huang et al. (1998) foram os primeiros a demonstrar a inativação total da *Escherichia coli* em ar por ação da fotocatalise heterogênea utilizando TiO_2 , comprovada por análises por microscopia eletrônica de varredura.

A eficiência do TiO_2 irradiado por luz UV como agente desinfetante em meios aquosos foi comprovada em muitos outros trabalhos, dentre os quais podem-se citar: Cordeiro et al. (2004), que estudaram a inativação de *E. coli* e *Pseudomonas sp.*, obtidas em ambientes contaminados e cultivadas em laboratório, pela aplicação de fotólise e de fotocatalise, obtendo inativação de 100% dessas bactérias após 10 minutos de tratamento.

Rincón e Pulgarin (2004) buscaram a inativação de *E. coli* pela irradiação solar na presença e ausência de TiO_2 suspenso no efluente aquoso a ser tratado. As culturas utilizadas continham de 10^4 a 10^6 UFC mL^{-1} e o processo demonstrou ser ativo em ambas as propostas com eficiência extremamente aumentada quando o TiO_2 estava presente. A pequena atividade desinfetante observada pela ação luz solar foi reputada a ação sinérgica das radiações ultravioleta, provocando danos ao DNA pela

dimerização das pirimidinas, e infravermelha causando o aquecimento da água.

Embora muito já tenha sido publicado sobre fotocatalise heterogênea em processos de desinfecção, grande parte dos artigos encontrados versam sobre sua utilização em processos com efluentes aquosos ou em água potável, ou ainda, meios aquosos artificialmente preparados. Poucos foram os trabalhos em que a ação do fotocatalisador ocorreu sobre efluentes gasosos com o objetivo de desinfecção; dentre esses se citam o trabalho de Ollis (2000), que descreve a remediação e a purificação fotocatalítica de ar e água contaminados; de Kim et al. (2006), que discutem sobre a purificação do ar por fotocatalise; e de Vohra et al. (2006), que demonstram a ação de fotocatalisadores na desinfecção de ar de ambientes internos.

Considerando o reduzido número de trabalhos sobre fotocatalise heterogênea para desinfecção em fase gasosa, acredita-se que este assunto deva ser mais explorado, pois, a fotocatalise pode revelar-se um processo bastante útil na solução de problemas de desinfecção do ar para a obtenção de ambientes limpos.

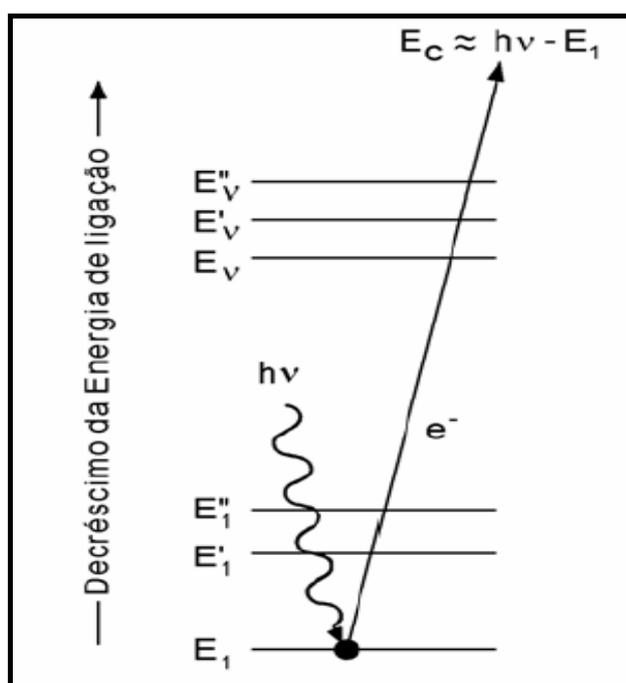
2.4. Ação sinérgica de fotocatalisadores e metais de transição

A presença de agentes dopantes, como paládio, prata e ferro, facilitam a transferência de carga por diminuir o “band-gap” do semicondutor, favorecendo a transferência de elétrons entre a banda de valência e a banda de condução (KONDO e JARDIM, 1991), evitam a recombinação elétron-lacuna e podem aumentar a área superficial do semicondutor (COLMENARES et al., 2006). Um aumento da atividade fotocatalítica provocada pela dopagem de TiO_2 com prata foi comprovada pelo trabalho de Vohra et al. (2006), que compararam a ação do TiO_2 puro e dopado com 2% de Ag^0 . Os experimentos foram conduzidos num reator em que o ar era recirculado e nele nebulizados 20 mL de uma suspensão de *E. coli* com 10^9 UFC mL^{-1} . No uso do fotocatalisador puro após 15 minutos

de operação, 75% das bactérias haviam sido destruídas e o processo se completou após 60 minutos. Já se empregando o fotocatalisador modificado após 2 minutos de operação, 100% de eficácia já havia sido obtida, demonstrando que a dopagem com prata aumentou a eficiência do processo.

2.5. Caracterização de materiais por Espectroscopia Foto-eletrônica de Raios-X (XPS)

A caracterização de materiais pela técnica de XPS fundamenta-se no efeito fotoelétrico externo exemplificado na Figura 2.



Fonte: RIBEIRO et al., 2008.

Figura 2. Representação do processo de XPS, as barras inferiores nominadas como E_1 , E_1' e E_1'' representam as energias de ligação dos elétrons dos orbitais E_1 de um átomo e as barras superiores nominadas como E_v , E_v' e E_v'' representam as energias de elétrons da banda de valência E_v .

A energia transportada por fótons de raios-X é absorvida por elétrons dos níveis eletrônicos mais internos do átomo, excitando-os a um estado

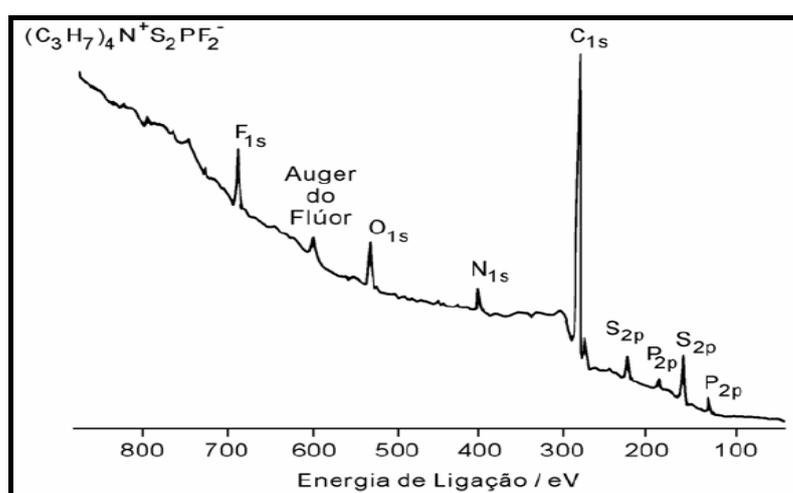
contínuo em forma de um fotoelétron com energia característica do átomo-alvo, gerando lacunas nos níveis de caroço.

A técnica mede a intensidade de fotoelétrons como uma função de suas energias cinéticas entre 10 e 1.400 eV detectando níveis fundamentais, K, dos átomos leves ou níveis L e M dos átomos mais pesados. A energia de ligação E_B dos estados envolvidos na fotoemissão é determinada a partir da conservação de energia:

$$E_B = h\nu - E_C - WF \text{ (WF: função de trabalho, 4-5 eV).}$$

Para o estudo e caracterização dos átomos de superfícies de sólidos, os fotoelétrons detectados não devem ter de atravessar mais do que algumas camadas atômicas através desse sólido (0,5 a 3 nm) o que torna esta técnica adequada à caracterização de superfícies de sólidos.

A Figura 3 mostra um espectro exploratório de uma amostra contendo diversos elementos químicos suportados sobre uma base de alumina com picos gerados num equipamento provido com anodo de magnésio ($h\nu = 1.253,6$ eV). Neste espectro, pode-se observar que a sobreposição de picos é praticamente nula, mesmo com elementos adjacentes na tabela periódica como é o caso do carbono (C 1s), nitrogênio (N 1s), oxigênio (O 1s) e flúor (F 1s).



Fonte: RIBEIRO et al., 2008.

Figura 3. Exemplo de espectro exploratório de XPS – *survey scan*: amostra $((C_3H_7)_4N^+S_2PF_2^-)$ contendo vários elementos suportados sobre alumina.

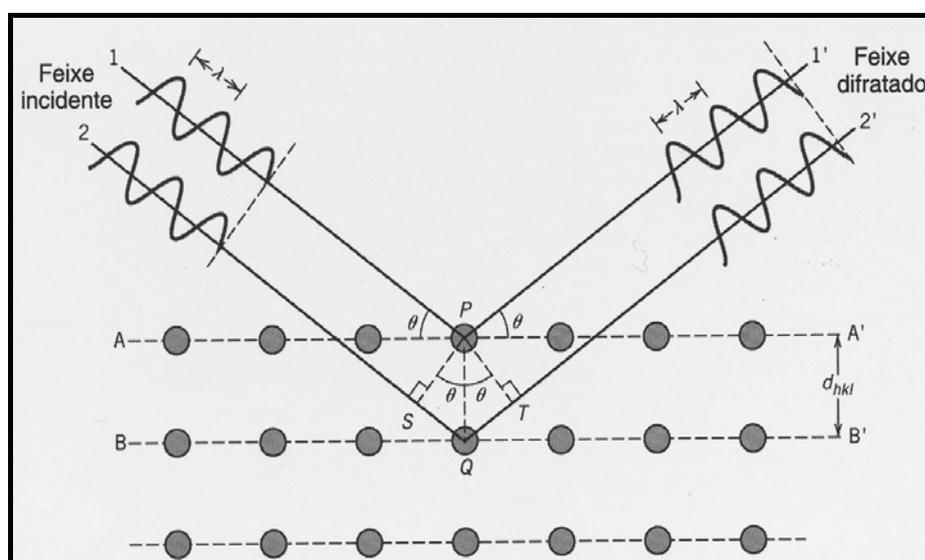
A quantificação percentual de cada elemento ou íon presente pode ser feita pela área integrada sob o pico, já que esta é proporcional ao número de átomos no volume analisado (RIBEIRO, 2008). A estrutura das ligações pode ser determinada a partir do deslocamento químico (0,1 a 10 eV) das energias de ligação em função da estrutura química local do átomo.

2.6. Caracterização de materiais por difração de raios-X (XRD)

A técnica analítica de difração por raios-X se fundamenta na lei de Bragg, que pode ser expressa pela equação 16

$$n = \frac{2d \sin \theta}{\lambda} \quad (16)$$

A Figura 4 demonstra os princípios do método de difração dos raios-X.



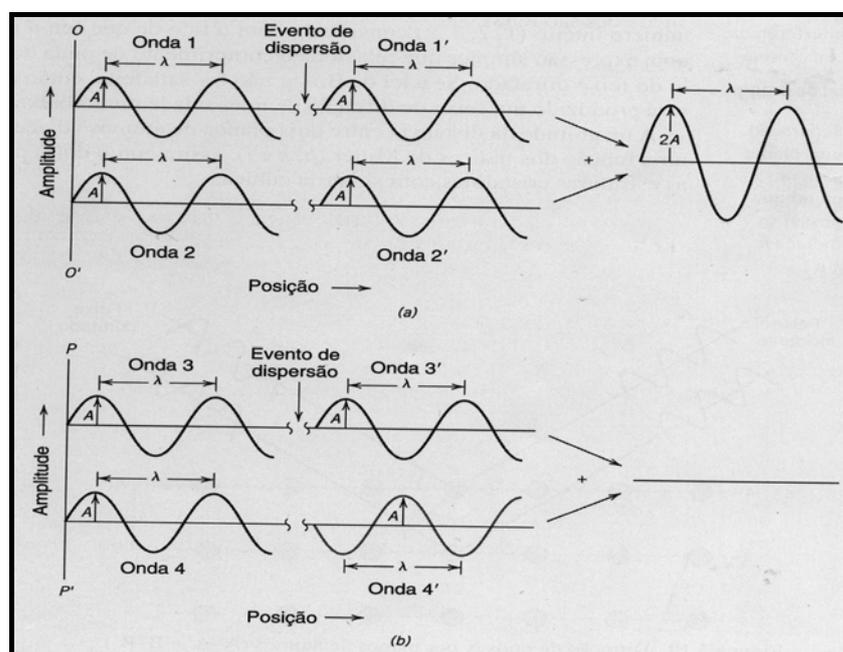
Fonte: CALLISTER JUNIOR, 2008

Figura 4. Difração de raios-X por planos de átomos

Quando na Equação 16, n resultar em um número inteiro pela combinação de fótons de raios-X de comprimento λ e ângulo de incidência θ incidindo na superfície de um sólido cujo conjunto de planos cristalinos tem distância interplanar d . Os feixes refletidos por planos adjacentes

apresentarão o fenômeno da difração, como mostrado na Figura 4. Assim, conhecendo-se o ângulo de incidência e o comprimento de onda utilizado é possível calcular a distância interplanar do cristal o que fornece informações para a determinação das formas alotrópicas desse cristal (CALLISTER JUNIOR, 2008).

O fenômeno da difração pode ser melhor compreendido ao se observar a figura 5. Nela, o feixe de raios X pode sofrer interferência construtiva (5a) ou destrutiva (5b) dependendo do comprimento de onda em relação à distância interplanar (diferença no caminho óptico) ou do ângulo de incidência. Nota-se na figura 5a, que ocorre interferência construtiva, os feixes difratados estão na mesma fase, reforçando o sinal de saída pela coerência entre as ondas, mostrando que n nestas condições é um número inteiro. Já na figura 5b, ocorre interferência destrutiva, as ondas estão fora de fase e se anulam.



Fonte: CALLISTER JUNIOR, 2008

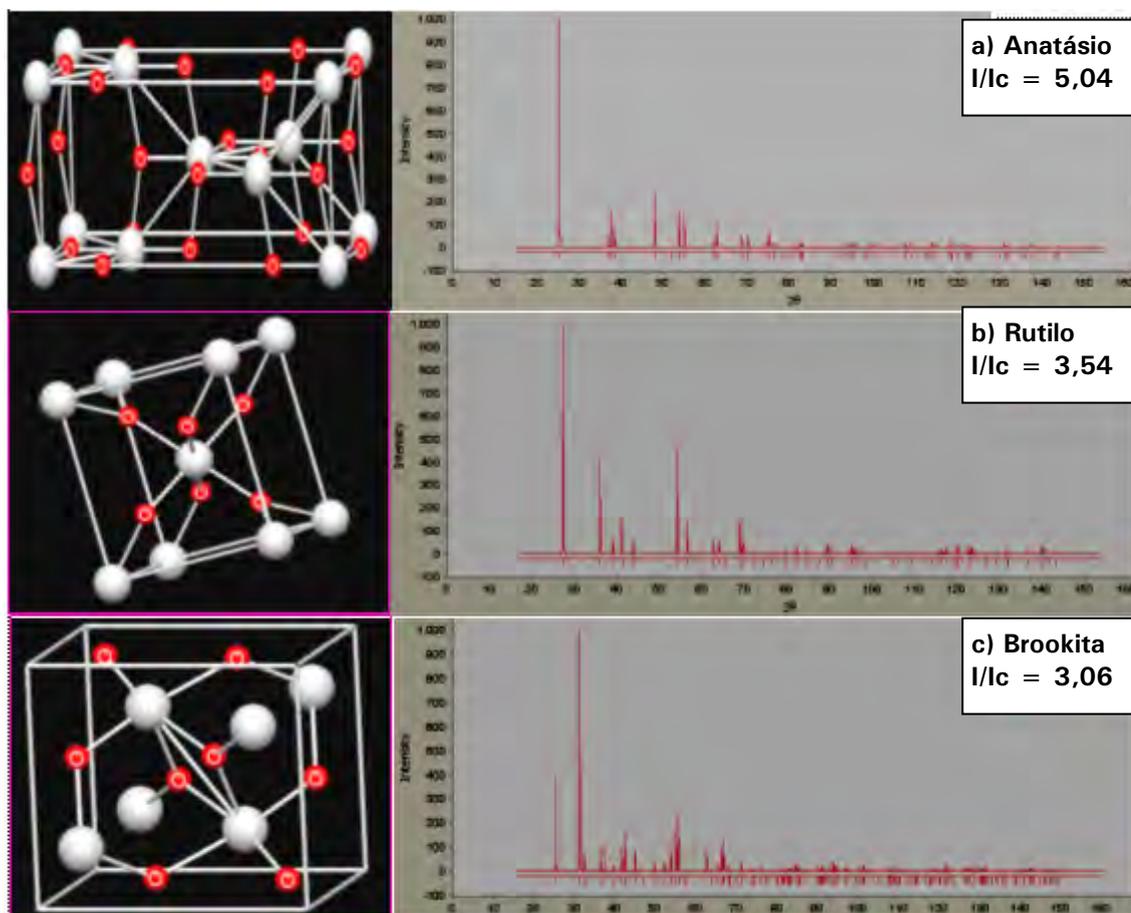
Figura 5. Interferência construtiva (5a) e destrutiva (5b) causada respectivamente pela igualdade ou diferença, π , de fase das ondas dos raios-X utilizados no processo de difração.

O difratograma gerado pelo padrão de difração de um cristal contém características específicas e únicas que identificam a estrutura cristalina do material.

A principal aplicação da difração de raios-X é a identificação de compostos cristalinos orgânicos ou inorgânicos e suas formas alotrópicas.

2.7. Caracterização do dióxido de titânio

O dióxido de titânio ocorre naturalmente em três formas cristalográficas distintas: anatásio, rutilo e brookita, representadas respectivamente nas Figuras 6a, 6b e 6c.



Fonte: International Centre for Diffraction Data, 2008.

Figura 6. Formas cristalinas e difratogramas das diferentes formas alotrópicas do TiO₂.

Embora as três formas ocorram naturalmente, a forma brookita é de difícil síntese, já as formas anatásio e rutilo podem ser sintetizadas sem dificuldades em laboratório a partir de cloretos ou alcóxidos de Ti(IV).

A maioria dos estudos sobre fotocatalise heterogênea utiliza um dióxido de titânio contendo 75% da forma anatásio e 25% da forma rutilo

produzido pela empresa *Evonik Industries* sob a marca Degussa denominado TiO₂ P25. Bickley et al. (1991) determinaram como sendo de aproximadamente 50 m² g⁻¹ a área superficial das partículas desse óxido com diâmetro de 20 nm.

Os motivos pelos quais o TiO₂ é amplamente utilizado nos estudos de fotocatalise heterogênea são:

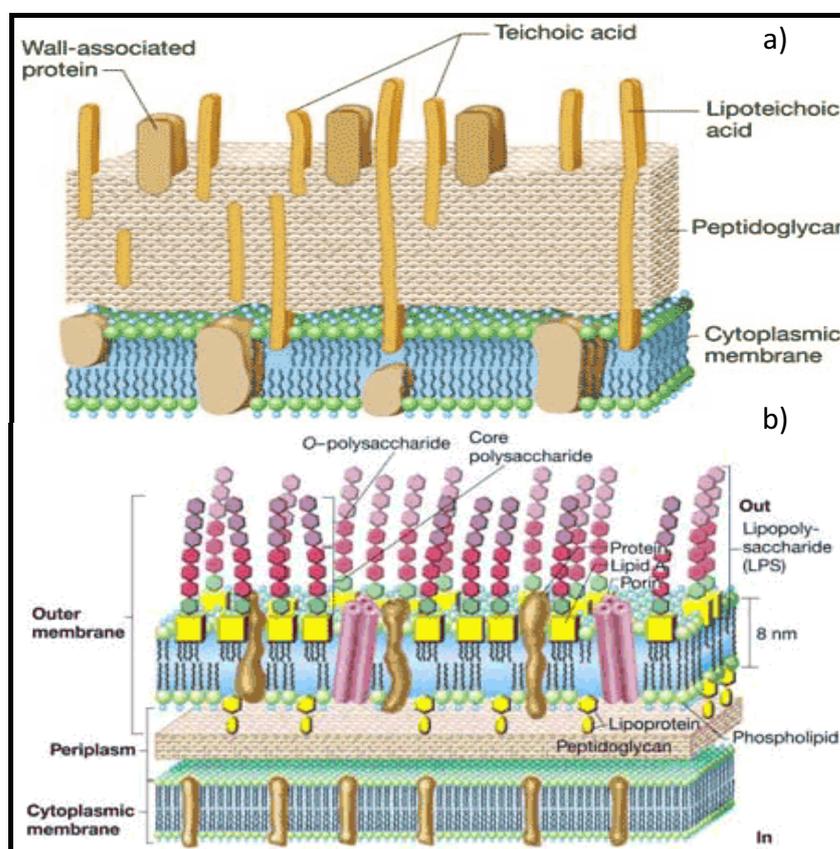
- Alta fotossensibilidade;
- Não tóxico;
- *Band-gap* de 3,2 eV, ideal para utilização com luz UV-A ou solar;
- Elevada estabilidade química;
- Pode ser utilizado em temperatura e pressão ambientes;
- Custo relativamente baixo;
- Dispensa reagentes coadjuvantes.

2.8. Caracterização dos microorganismos utilizados neste trabalho

Em microbiologia, uma das formas de se classificar as bactérias é quanto à sua forma: cocos (esféricos), bacilos (bastões cilíndricos), vibrios (bastonetes curvos), espirilos (bastonetes longos, helicoidais) e outros. Outra forma decorre de seu estado de agregação: micrococos (isolados), diplococos (em duplas), estafilococos (em forma de cachos, aglomerados irregulares), estreptococos (aglomerados lineares) e outros (MARGULIS e SCHWARTS, 2001).

As bactérias podem ainda ser classificadas dependendo das reações bioquímicas de suas paredes celulares. Dentre elas, destaca-se a coloração de Gram que se processa pelo tratamento de esfregaços bacterianos, sucessivamente, com cristal violeta ou violeta de genciana, lugol, etanol e fuccina. Esta técnica revela diferenças estruturais na parede celular das bactérias, classificando-as em Gram-positivas ou Gram-negativas. O cristal violeta e o lugol penetram a parede celular tanto de uma quanto da outra, formando no interior dessa um complexo de coloração roxa, a

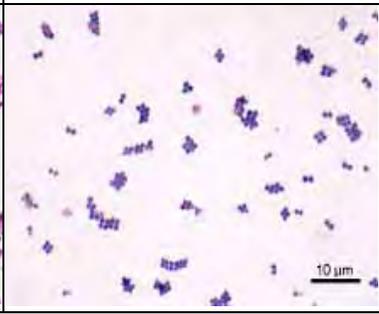
pararosanilina. A etapa diferencial é o banho em etanol que devido sua ação desidratante faz com que a espessa camada de peptidoglicano presente nas Gram-positivas se torne menos permeável retendo o complexo e corando-as em roxo. Já nas Gram-negativas, devido à pequena espessura e às descontinuidades dessa camada nas zonas de aderência entre as membranas interna e externa, o complexo é removido, deixando-as descoradas. Para facilitar a visualização das Gram-negativas faz-se uma coloração com fuccina, que as corará em róseo e não alterará a cor das primeiras (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008; MARGULIS e SCHWARTZ, 2001 e KYAW, 2008).



Fonte: KYAW, 2008.

Figura 7. Ilustração das diferenças estruturais das paredes celulares de bactérias. a) Gram-positivas. b) Gram-negativas.

A classificação científica dos três organismos selecionados para os ensaios de desinfecção por fotocatalise heterogênea em fase gasosa é mostrada na Figura 8.

<p><i>Bacillus subtilis</i> Bacilo Gram-positivo (Cohn, 1872)</p>	<p><i>Staphylococcus aureus</i> Coco Gram-positivo (Rosenbach, 1884)</p>	<p><i>Escherichia coli</i> Bacilo Gram-negativo (Escherich, 1885)</p>
		
<p>Classificação</p>		
<p>Super-Reino: <i>Prokaria</i> Reino: <i>Bactéria</i> Sub-Reino: <i>Eubactéria</i> Filo: <i>Firmicutes</i> Classe: <i>Bacilli</i> Ordem: <i>Bacillales</i> Família: <i>Bacillaceae</i> Gênero: <i>Bacillus</i> Espécie: <i>B. Subtilis</i> ATCC: 6633</p>	<p>Super-Reino: <i>Prokaria</i> Reino: <i>Bactéria</i> Sub-Reino: <i>Eubactéria</i> Filo: <i>Firmicutes</i> Classe: <i>Bacilli</i> Ordem: <i>Bacillales</i> Família: <i>Staphylococcaceae</i> Gênero: <i>Staphylococcus</i> Espécie: <i>S. Aureus</i> ATCC: 25923</p>	<p>Super-Reino: <i>Prokaria</i> Reino: <i>Bactéria</i> Sub-Reino: <i>Eubactéria</i> Filo: <i>Gracilicutes</i> Classe: <i>Gamma Proteobacteria</i> Ordem: <i>Enterobacteriales</i> Família: <i>Enterobacteriaceae</i> Gênero: <i>Escherichia</i> Espécie: <i>E. Coli</i> ATCC: 25922</p>

Fonte: MARGULIS e SCHWARTZ, 2001

Figura 8. Classificação das bactérias escolhidas para os ensaios de desinfecção em fase gasosa.

2.6.1. *Bacillus subtilis*

O *B. subtilis* é um bacilo não patogênico, Gram-positivo e saprófita, comumente presente no solo e na água. É um formador de endósporo, ou seja, capaz de formar em seu interior uma célula contendo parte do citoplasma e uma cópia do material genético, altamente resistente ao calor e a agentes físicos ou químicos utilizados nos processos de esterilização, devido à desidratação e à capa protéica impermeável rica em pontes de enxofre. Esta forma celular é capaz de permanecer latente por longos períodos de tempo e voltar a germinar dando origem à nova célula vegetativa (MARGULIS e SCHWARTZ, 2001).

Nogaroto (2008) afirma que por suas características este organismo é utilizado como indicador de eficiência dos processos de esterilização por processos físicos (calor seco ou calor úmido) e processos químicos (óxido de etileno e outros), podendo ser adquirido em lojas especializadas de materiais para microbiologia.

2.6.2. *Staphylococcus aureus*

O *S. aureus* é a espécie mais virulenta de seu gênero. É um dos causadores mais comuns, juntamente com a *E. coli*, de patologias humanas brandas, podendo provocar patologias graves se algum outro fator coadjuvante estiver presente, principalmente pela debilidade do sistema imunológico por uso de drogas imuno-supressoras, antibióticos ou outros. É um organismo Gram-positivo em forma de cocos que se agrupam com disposição semelhante a cachos de uvas pois se reproduzem por divisão binária em diferentes planos. Possuem coloração amarelada causada pela produção de carotenóides, daí serem algumas vezes chamados de *Staphylococcus dourados* (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

Ao nascer, o homem recebe as primeiras bactérias que formarão sua flora normal. O *S. aureus* está entre elas e pode ser encontrado na pele de até 40% das pessoas (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008). Assim, pode-se prever sua disseminação em todos os ambientes freqüentados pelo homem.

2.6.3. *Escherichia coli*

A *E. coli* é uma bactéria bacilar Gram-negativa que, juntamente com o *S. aureus*, é a mais antiga e comum das bactérias simbiontes humanas. Seu *habitat* natural é o lúmen intestinal do homem e de alguns outros animais de sangue quente. São organismos aeróbios e anaeróbios facultativos. Assim, como o *S. aureus* na pele, a *E. coli* faz parte da flora intestinal normal do ser humano e sua ação benéfica melhor comprovada é a defesa do intestino contra infecções por *Salmonella*. Outra infecção que

parece ser evitada por ela é a causada pelo *Clostridium difficile*, ambas observadas em pacientes que tiveram que tomar altas doses de antibióticos. Deste modo pode-se prever que esta bactéria, tal como o *S. aureus*, está presente nos ambientes freqüentados pelos seres humanos (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

Os mesmos autores ainda relatam que a estirpe presente em um indivíduo é muito bem conhecida e controlada pelo seu sistema imunológico. Normalmente, os processos infecciosos envolvendo *E. coli* ocorrem pelo contato com estirpes não reconhecidas pelos linfócitos do organismo.

A presença de *E. coli* em água e alimentos é um forte indicador de contaminação com fezes humanas, o que significa a possibilidade de contaminação dos mesmos por organismos mais perigosos e de difícil ou morosa detecção. Por isso mesmo, sua ausência é um dos indicadores da qualidade sanitária de água e alimentos (Portaria MS nº 518/2004).

3. OBJETIVOS

Tendo em vista a importância da criação de ambientes limpos para o desenvolvimento de atividades humanas tanto na área de saúde como alimentar e considerando-se que cada método existente apresenta uma limitação, estabeleceu-se como objetivo para este trabalho: estudar a ação desinfetante do dióxido de titânio puro e combinado com paládio, prata e ferro como agentes dopantes ou fotorreduzidos sobre sua superfície. A ação desinfetante se processou sobre ar contaminado com cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Construção do reator

Para a realização dos testes de desinfecção de ar contaminado foi construído um reator que poderá ser acoplado a diversos equipamentos, que necessitem de um processo de desinfecção.

Na confecção do reator utilizaram-se placas industrializadas formadas por fibras de madeira de média densidade (MDF) de 15 mm de espessura, revestidas em ambas as faces por fórmica branca, para facilitar a higienização. As dimensões internas da câmara do reator são: 42 cm x 10 cm x 4,5 cm de largura, altura e profundidade, respectivamente. Descontando-se o espaço ocupado pelas placas-suporte e pelas lâmpadas, o reator possui um volume aproximado de 1,89 dm³. O reator contém em suas laterais internas 6 placas de vidro comum com aproximadamente 3 mm de espessura, que atuam como suporte ao fotocatalisador, as dimensões úteis de cada placa são 10 cm x 12 cm, altura e largura respectivamente que em conjunto propiciam uma área de 720 cm² com fotocatalisador. Ao longo da câmara interna, centralizadas entre as placas-suporte, estão posicionadas 4 lâmpadas fluorescentes com 11,5 cm de comprimento e 1,5 cm diâmetro com potência de 4 W cada uma, totalizando 16 W em duas versões:

1^a) Lâmpadas BLB - luz negra, emissão na faixa de UV-A com pico em 365 nm, marca Nards de 4 W;

2ª) Lâmpadas germicidas, emissão na faixa de UV-B com pico em 254 nm, marca Polamp de 4 W.

As Figuras 9 e 10 mostram as dimensões do reator e a organização dos componentes.

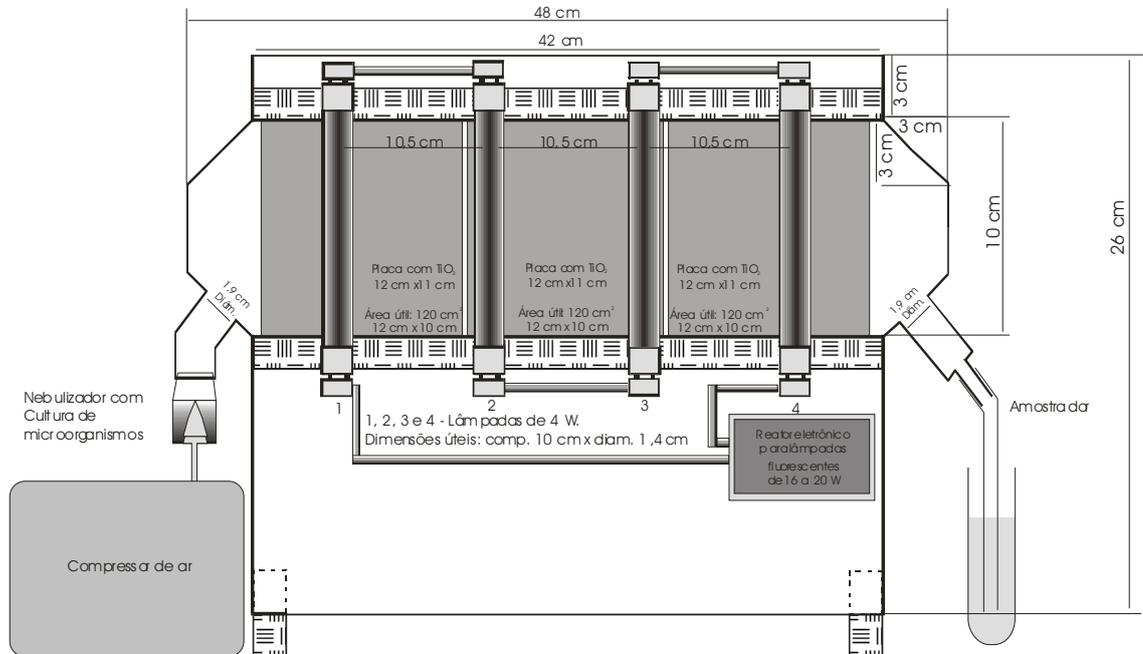


Figura 9. Croqui da câmara do reator em vista lateral com corte longitudinal, especificando dimensões e disposição dos componentes.

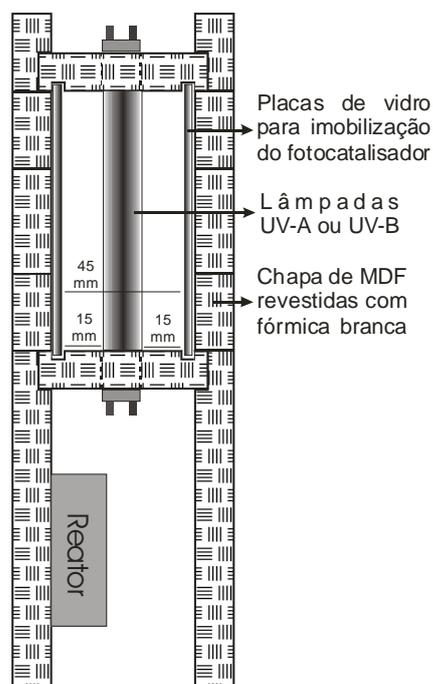


Figura 10. Croqui da câmara do reator em vista transversal. A fiação foi suprimida para facilitar a visualização.

A disposição das lâmpadas no interior do reator divide o fluxo do ar de modo a favorecer um fluxo turbulento, aumentando a probabilidade de contato dos microorganismos com o fotocatalisador.

Nas extremidades foram feitos cortes diagonais em ângulo de 45° para, inicialmente, dispersar o fluxo de névoa para tratamento e após este, concentrar o fluxo para a coleta das amostras. As extremidades foram fechadas com placas de aço inox e vedadas com anéis de espuma de poliuretano.

Para a nebulização das culturas de microorganismos foi utilizado um compressor para inalação marca Inalar que gerou uma vazão de $8 \text{ dm}^3 \text{ min}^{-1}$. Essa vazão promoveu a nebulização de aproximadamente $0,25 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ das suspensões microbianas em meio de cultura líquido. Considerando-se o volume do reator e a vazão do efluente, calcula-se um tempo de residência de 15 s. O fluxo de ar contaminado percorreu o reator uma única vez.

Para encaixe do frasco nebulizador e, para a conexão do tubo de silicone para coleta de amostras, foram utilizadas conexões de PVC de $\frac{1}{2}$ ".

A Figura 11 apresenta uma perspectiva explodida para facilitar a compreensão da disposição dos elementos que compõem o reator.

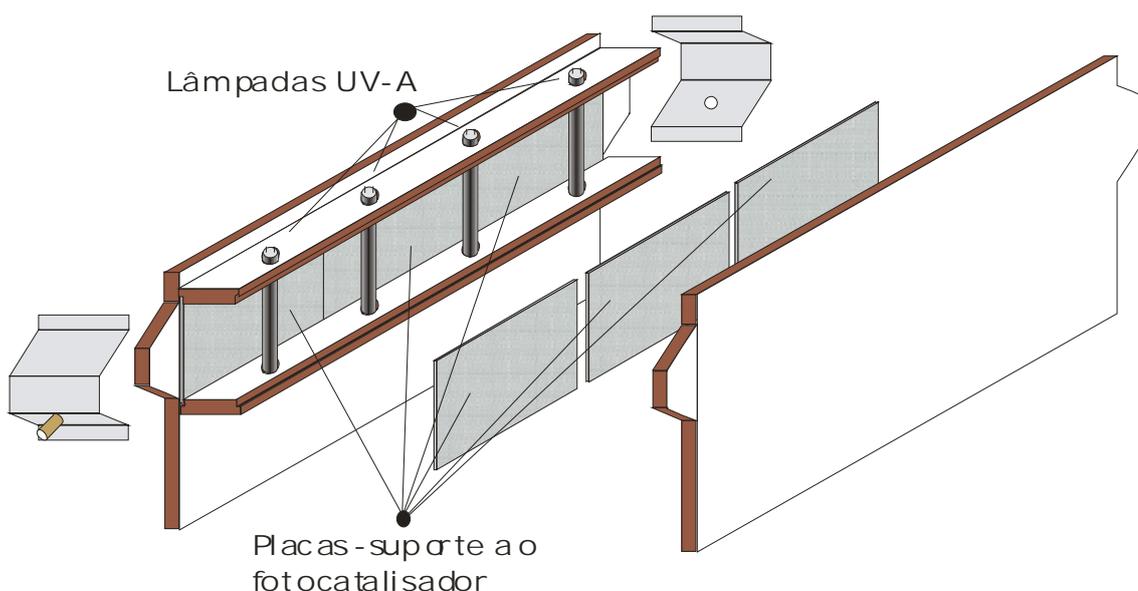


Figura 11. Croqui do reator explodido, para melhor visualização da disposição dos componentes.

4.2. Escolha, aquisição e manutenção das cepas dos microorganismos selecionados

Para os testes de desinfecção, foram escolhidas três espécies de microorganismos: *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923) e de *B. subtilis* (ATCC 6633). A *E. coli*, um bacilo Gram-negativo, e o *S. aureus*, um conjunto de cocos Gram-positivos foram escolhidos por comporem a flora humana natural e assim estarem presentes em todos os ambientes utilizados pelo homem. O *B. subtilis*, um bacilo Gram-positivo, saprófito e não patogênico é um microorganismo que vive no solo, possui grande resistência aos processos de desinfecção e, portanto, também podem ser encontrados em todos os lugares ocupados pelo homem (GONTIJO FILHO et al., 2000).

As cepas puras dos microorganismos utilizados nesse trabalho para os ensaios de desinfecção foram cedidas pelo LACI – Laboratório de Análises e Controle Industrial, laboratório químico e microbiológico, credenciado pelo Ministério da Agricultura, pertencente à Fundação Paulista de Tecnologia e Educação, com sede em Lins/SP.

Por orientação do fornecedor, as culturas puras, todas com potencial de desenvolvimento aproximado de 10^8 UFC mL⁻¹, deveriam ser preservadas sob refrigeração durante o prazo de validade e repicadas em *brain heart infusion broth*, um meio de cultura líquido, 24 horas antes de sua utilização na proporção de 1:1000 e mantidas incubadas em condições ideais para preservar o potencial de desenvolvimento inicial.

4.3. Preparação e imobilização do fotocatalisador

A imobilização do TiO₂ nas placas-suporte seguiu dois processos distintos, ditados pelo reagente inicial utilizado, se TiO₂ P25, produzido pela *Evonik Industries* sob a marca Degussa e posterior fotorredução de Fe, Ag e Pd ou sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio, Ti(C₃H₈O)₄,

produzido pela *Sigma-Aldrich Co.* e dopado com Fe, Ag e Pd no momento da síntese.

Ao todo foram confeccionados 8 jogos, com 6 placas-suporte cada um, para imobilização do fotocatalisador; 4 jogos contendo TiO₂ comercial e 4 com TiO₂ sintetizado a partir do Ti(C₃H₈O)₄.

Inicialmente, as placas de vidro foram jateadas com areia de fina granulação (250 µm), em seguida lavadas com água e detergente neutro, enxaguadas em água corrente e reenxaguadas por cinco vezes com água desmineralizada por osmose reversa (condutividade = $2 \pm 0,5 \mu\text{S}$), para remover resíduos do jateamento. As placas foram então tratadas com solução de ácido nítrico a 10%, por 5 minutos, para a remoção de quaisquer outros resíduos, principalmente metálicos, e novamente enxaguadas por cinco vezes com água desmineralizada. Foram secas em estufa a 100°C, taradas para permitir aferir a quantidade de fotocatalisador depositado e calcular a massa do metal para fotodeposição. Foram então embaladas em grupos de 6 para a continuidade do processo.

4.3.1. Imobilização do fotocatalisador TiO₂ comercial para deposição de Pd, Ag e Fe por fotorredução

Para a imobilização do TiO₂, foram preparados 500 mL de suspensão aquosa 1% (m/V) desse óxido com pH final da suspensão ajustado para pH 3,0 com solução 1 mol L⁻¹ de ácido nítrico p.a., marca Vetec.

A suspensão de TiO₂ foi colocada em uma cuba rasa com dimensões de 5 cm de altura, 20 cm de largura e 14 cm de profundidade. As placas eram então imersas nessa suspensão, retiradas e postas para secar ao ar numa inclinação de aproximadamente 2,5°, sendo o processo repetido por 10 vezes. Após a remoção do fotocatalisador das laterais e das faces não jateadas, as placas tiveram aferidas as massas de fotocatalisador depositadas nas faces jateadas, os valores estão relacionados na Tabela 1.

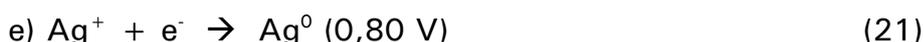
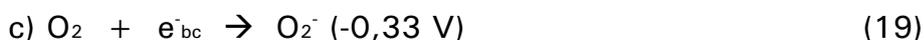
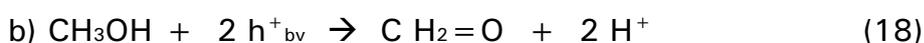
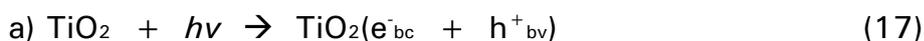
Tabela 1. Massa de TiO₂ – P25 imobilizada nas placas-suporte para cálculo da quantidade de cada metal a ser fotorreduzido.

CONJUNTOS COM 6 PLACAS	Massa de TiO ₂ imobilizada em cada uma das 6 placas (g)	Massa total de TiO ₂ imobilizada (g)
Grupo 1: TiO ₂ puro	0,286 ± 0,013	1,7179
Grupo 2: TiO ₂ + Pd	0,291 ± 0,013	1,7450
Grupo 3: TiO ₂ + Ag	0,280 ± 0,006	1,6808
Grupo 4: TiO ₂ + Fe	0,289 ± 0,010	1,7365

A deposição dos metais escolhidos sobre o fotocatalisador, ocorreu por fotorredução a partir de soluções salinas dos respectivos metais pelo próprio fotocatalisador imobilizado nas placas-suporte e irradiado por luz solar, como descrito por Sclafani et al. (1991) e por Keleher et al. (2002). Para este processo, foram preparadas soluções hidro-alcoólicas na razão molar de 100:2, água desmineralizada-metanol, nestas foram adicionadas 1% molar do respectivo metal em relação à quantidade de matéria do fotocatalisador imobilizada. Os sais utilizados foram: cloreto de paládio II, nitrato de prata e sulfato de ferro (II) heptahidratado.

As massas dos sais adicionados foram: 3,90x10⁻² g de PdCl₂, 3,61x10⁻² g de AgNO₃ e 6,09x10⁻² g de FeSO₄·7H₂O. Todos apresentando 99% de pureza.

As reações que ocorrem durante a fotorredução são mostradas nas Equações 17 - 22.



As placas foram colocadas em cubas rasas de 9 cm x 45 cm x 28 cm, altura, largura e profundidade respectivamente, de modo que ao se adicionar sobre elas as soluções, foram formadas lâminas de aproximadamente 1,5 cm de espessura, permitindo a penetração da luz solar para ativar o fotocatalisador e promover a fotorredução dos metais.

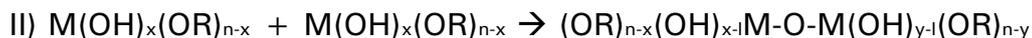
O TiO_2 permaneceu sob irradiação solar por 3 horas, das 12 às 15 horas. Após esse período, as placas foram retiradas do banho e secas ao ar. Das soluções remanescentes foram retiradas amostras para quantificação residual dos respectivos metais. A quantificação foi realizada num espectrometro de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICPAES), um equipamento da marca Thermo Jarrell, modelo IRIS/AP, cujo limite de quantificação para o paládio é de $0,01 \text{ mg L}^{-1}$ e para a prata e o ferro é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$.

Um dos jogos permaneceu com TiO_2 puro para ser utilizado como controle.

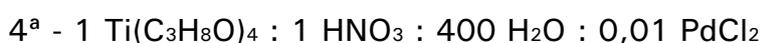
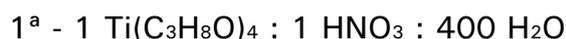
Amostras das placas-suporte de 1 cm^2 foram analisadas por XPS, visando determinar a composição e avaliar a estrutura local dos metais na matriz de TiO_2 . Foi utilizado o equipamento SPECS UNI-SECS UHV Analysis System com radiação Mg Ka ($h\nu = 1253,6 \text{ eV}$). Os espectros de fotoemissão de alta resolução de Ti 2p, O 1s, Fe 2p, Ag 3d e Pd 3d foram medidos com energia de passo de 10 eV. O fundo inelástico dos picos foi subtraído utilizando o método de Shirley. Efeitos de carregamento foram corrigidos através do ajuste de pico de C 1s de hidrocarbonetos, com energia de ligação de 285,0 eV. A composição da superfície foi determinada a partir da razão das áreas relativas dos picos corrigidos pelos fatores de sensibilidade atômica dos elementos correspondentes. Os espectros foram deconvoluídos utilizando funções Voigtianas formada pela combinação de curva Gaussiana e Lorentziana. A largura à meia altura variou entre 1.6 e 2.0 eV e o erro da posição dos picos foi de $\pm 0.1 \text{ eV}$.

4.3.2. Preparação e imobilização do fotocatalisador obtido a partir do tetra-isopropóxido de titânio e dopagem com Fe, Ag e Pd.

O TiO_2 foi preparado pela hidrólise de isopropóxido de titânio (IV) $\text{Ti}(\text{C}_3\text{H}_8\text{O})_4$ e posterior condensação e polimerização. As reações genéricas para a formação do polímero sol-gel segundo Airoidi e Farias (2004) são:



Para a deposição do fotocatalisador nas placas de vidro, a partir do tetraisopropóxido de titânio, foram preparadas quatro soluções distintas pelo processo sol-gel, todas com volume de 1 L, nas seguintes razões molares:



Para o preparo de cada solução, os respectivos reagentes foram misturados e homogeneizados por agitação magnética, exceto o tetraisopropóxido de titânio, que foi adicionado a estas, vagarosamente, numa vazão de 1 mL min^{-1} sob agitação enérgica e constante, permanecendo assim, ininterruptamente por 72 horas, como mostra a Figura 12.



Figura 12. Peptização dos colóides de TiO_2 obtidos a partir da hidrólise do tetraisopropóxido de titânio.

Após a completa peptização do TiO_2 , as quatro soluções foram dialisadas utilizando-se uma membrana de celulose, *Fisher brand – dialysis tubing*, da *Fisher Scientific*, com 30 mm de diâmetro e 220 mm de comprimento de modo a comportar 125 mL de cada vez sendo necessárias 8 etapas para o volume de cada solução a ser dialisada. Num frasco alto, compatível com o comprimento da membrana, foram colocados 800 mL de água desmineralizada (pH inicial de 4,8) e o tubo de diálise foi imerso nessa água até à estabilização relativa do pH que ocorreu em pH 2,3. Todo o processo ocorreu sob agitação constante e foi monitorado com um pHmetro Tecnal, modelo TEC 3 MP com eletrodo de vidro combinado Ag-AgCl.

Uma vez prontas as suspensões preparadas pelo processo sol-gel, fez-se uma avaliação para verificar se ocorreram mudanças no espectro de absorção dos fotocatalisadores dopados em relação ao puro, essa avaliação foi feita em um Espectrofotômetro UV-Mini 1240 Shimadzu.

O processo de imobilização dos fotocatalisadores nas placas-suporte foi realizado por *dip coating* numa velocidade de $1,5 \text{ mm min}^{-1}$.

Após receber cada camada, as placas secaram ao ar livre por um tempo não inferior a 2 horas. Depois de receberem 4 camadas, as placas foram pré-aquecidas a 100°C por 30 min e calcinadas a 350°C por 3 horas num forno Bravac, modelo *piromatic*, deixando-as esfriar lentamente, ficando prontas para os ensaios. As massas de fotocatalisador imobilizado pelo processo sobre as placas-suporte estão resumidas na Tabela 2.

Tabela 2. Massa em miligramas do fotocatalisador TiO_2 sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio imobilizado nas placas-suporte, formando quatro grupos de seis placas, cada um com seu respectivo metal de dopagem.

CONJUNTOS COM 6 PLACAS	Massa de TiO_2 imobilizada por placa (mg)	Massa total de TiO_2 imobilizada (mg)
Grupo 5: TiO_2 puro	$2,97 \pm 0,45$	17,80
Grupo 6: TiO_2 + Pd	$2,88 \pm 0,44$	17,30
Grupo 7: TiO_2 + Ag	$3,03 \pm 0,97$	18,20
Grupo 8: TiO_2 + Fe	$3,88 \pm 0,53$	23,30

4.4. Coleta de amostras e metodologia de análises microbiológicas

Cada uma das três suspensões bacterianas, contendo aproximadamente 10^8 UFC mL⁻¹, foi nebulizada pela passagem de ar ambiente comprimido numa vazão de 8 L min⁻¹, gerado por um compressor para inalação marca Inalar, e percorreu uma única vez o reator. Essa vazão promoveu a nebulização de aproximadamente 0,25 mL min⁻¹ das suspensões de microorganismos.

As amostras foram coletadas na seqüência mostrada na Figura 13, por borbulhamento do efluente gasoso tratado em água estéril.

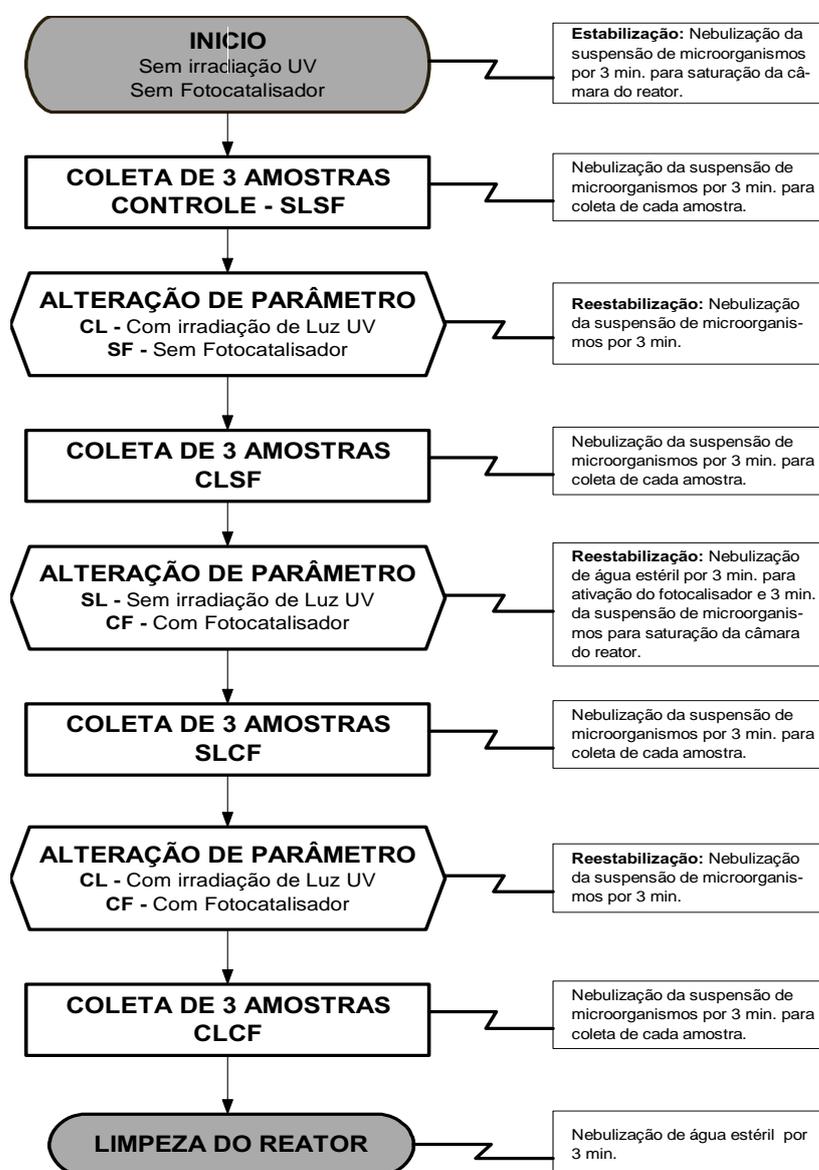


Figura 13. Fluxograma de operação para coleta de amostras de experimentos controle e de desinfecção fotocatalítica.

Todas as amostras coletadas foram analisadas em triplicata.

Essa seqüência foi realizada tanto com o TiO₂ P25 quanto com o sintetizado a partir do Ti(C₃H₇O)₄, utilizando-se cada um dos três microorganismos selecionados para determinar as seguintes influências:

- Amostras SLSF: para avaliação da influência das partes inertes do reator, a saber: chapa de MDF, lâmpadas, placas de vidro suporte;
- Amostras CLSF: para avaliação da influência da luz negra/germicida;
- Amostras SLCF: para avaliação da influência do dióxido de titânio sem irradiação, ou seja, retenção de microorganismos.
- Amostras CLCF: para avaliação do dióxido de titânio irradiado por luz negra.

Após a primeira etapa, que serviu para a construção de uma base para a avaliação da ação desinfetante do TiO₂, passou-se a realizar a seqüência mostrada na Figura 14 para a comparação entre os fotocatalisadores puros e fotodepositados ou dopados com os metais de transição escolhidos (Fe, Ag e Pd).

Essa nova seqüência também foi realizada tanto com o TiO₂ P25 puro e fotodepositado quanto com o sintetizado a partir do Ti(C₃H₇O)₄ puro e dopado com os três metais escolhidos, utilizando-se cada um dos três microorganismos selecionados para determinar as seguintes influências:

- Amostras SLCF_p: para estabelecimento do branco, ou seja, sem luz e com a presença do fotocatalisador;
- Amostras CLCF_p: para avaliação da influência do fotocatalisador puro;
- Amostras CLCF_{Pd ou Ag ou Fe}: para avaliação da influência do fotocatalisador com metais.

Todas as amostras coletadas foram analisadas em triplicata.

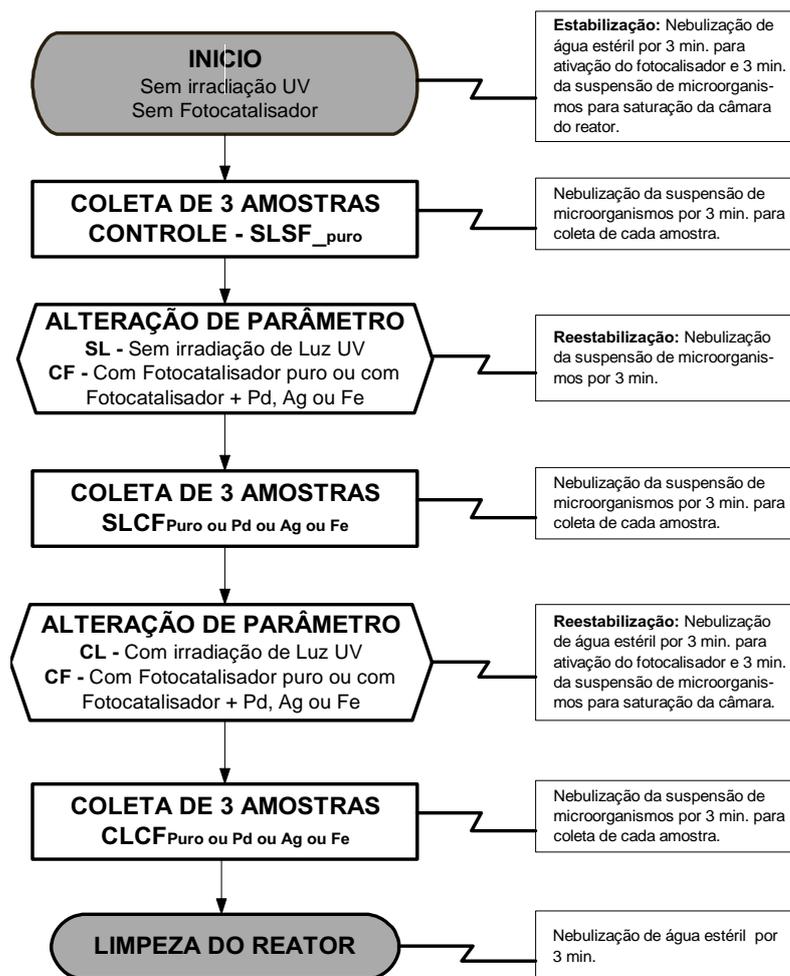


Figura 14. Fluxograma de operação para coleta de amostras para análise da influência de metais como agentes dopantes no fotocatalisador.

A metodologia para a quantificação microbiológica em cada uma das amostras coletadas foi feita em triplicata, e está descrita no *Standard Methods* para contagem total de microorganismos com *Plat Count Agar – PCA* (EATON et al., 2005).

As amostras brutas coletadas por borbulhamento em 10 mL de água estéril foram diluídas na razão de 1/10000 com água desmineralizada também estéril. Para a semeadura em *PCA* homogeneizou-se dentro de placas de Petri com 10 cm de diâmetro x 2 cm de altura, 1 mL da amostra diluída com 25 mL do meio de cultura ainda líquido e o deixou solidificar-se.

As placas com a cultura foram incubadas a $36 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 horas. As bactérias sobreviventes formaram colônias que foram contadas manualmente em contador digital marca Quimis, modelo Q295B.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise das soluções preparadas para deposição dos metais escolhidos para avaliação após processo de fotorredução.

Para certificar-se de que os três metais escolhidos para avaliação foram incorporados ao dióxido de titânio imobilizado no conjunto de placas, fez-se a análise por ICPAES, da solução residual após o processo de fotorredução. Todas as três soluções apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação, paládio $< 0,01 \text{ mg L}^{-1}$, prata $< 0,05 \text{ mg L}^{-1}$ e ferro $< 0,05 \text{ mg L}^{-1}$. Estes resultados permitem inferir que o paládio, a prata e o ferro se combinaram com o fotocatalisador.

5.2. A influência da dopagem sobre o espectro de absorção do TiO_2 preparado a partir do alcóxido

Considerando-se que o dióxido de titânio para exercer seu papel semicondutor atuando simultaneamente como agente oxidante e redutor necessita ser excitado por luz de comprimento de onda adequado, e que quanto mais extensa a faixa absorvida do espectro melhor se dará o processo de oxi-redução, buscou-se analisar a influência da dopagem sobre o espectro de absorção do TiO_2 puro e com os três metais escolhidos. Os resultados são apresentados na Figura 15.

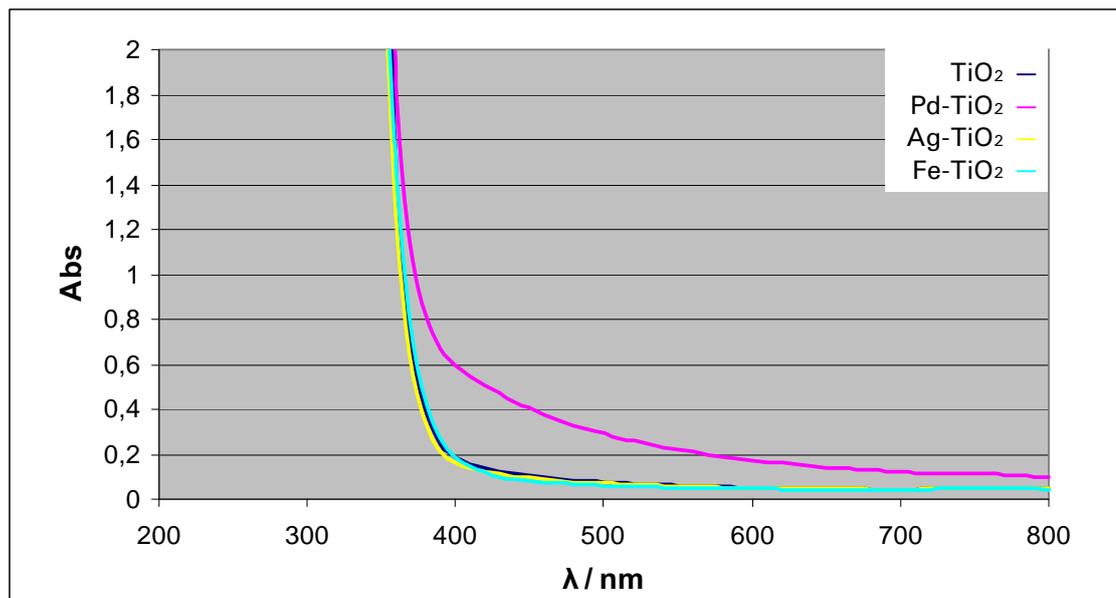


Figura 15. Espectros de absorção na região UV-Vis de TiO₂ preparado pelo processo sol-gel a partir do Ti(C₃H₇O)₄, puro e dopado com 1% molar de Pd ou Ag ou Fe.

Ao observar os espectros de absorção apresentados na Figura 15 vê-se que todos os 4 colóides, a saber, TiO₂ puro, Pd-TiO₂, Ag-TiO₂ e Fe-TiO₂, apresentam forte absorção até 350 nm, a partir do qual apenas o dióxido de titânio dopado com paládio, Pd-TiO₂ mantém significativa absorção até 570 nm. Acredita-se que isso se deve ao íon Pd (II) absorver energia na faixa do espectro visível caracterizado pela coloração intensa de seus sais.

5.3. Caracterização dos fotocatalisadores utilizados por técnicas de raios-X

5.3.1. Caracterização por difração de raios-X (XRD)

Os espectros mostrados nas Figuras 16 e 17 se prestam a revelar as formas alotrópicas presentes, respectivamente, no TiO₂ P25 e no sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio.

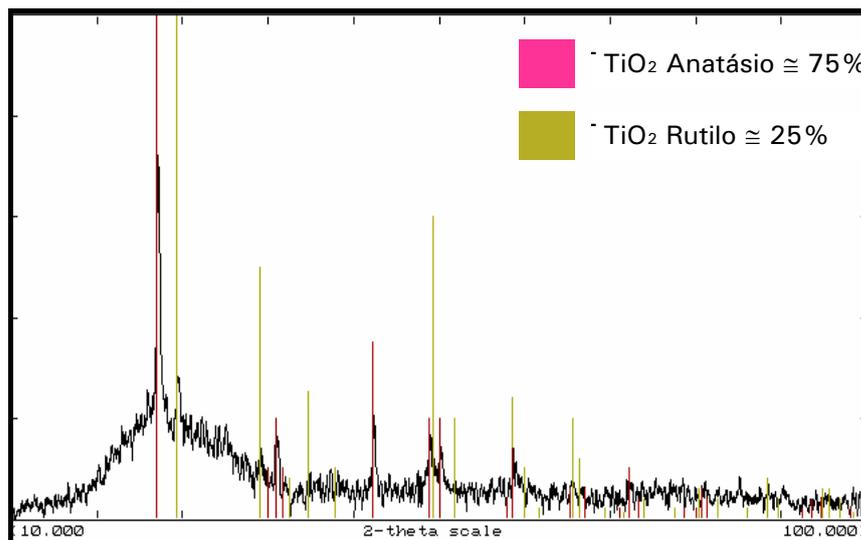


Figura 16. Espectro de difração de raios-X do TiO₂ comercial.

A presença de ruídos não impede de se comprovar que no P25 estão presentes as formas anatásio e rutilo, com forte predominância anatásio certa de 75%. Já no sintetizado, por ser muito amorfo, não se identificam formas cristalinas, porém nota-se um aumento da interferência construtiva na região que caracteriza a forma anatásio. Embora esta seja a forma mais ativa das duas nos processos de degradação dos compostos orgânicos, a combinação obtida no P25 demonstra superar os efeitos da forma anatásio pura como demonstrado, dentre outros, por Kim et al. (2006).

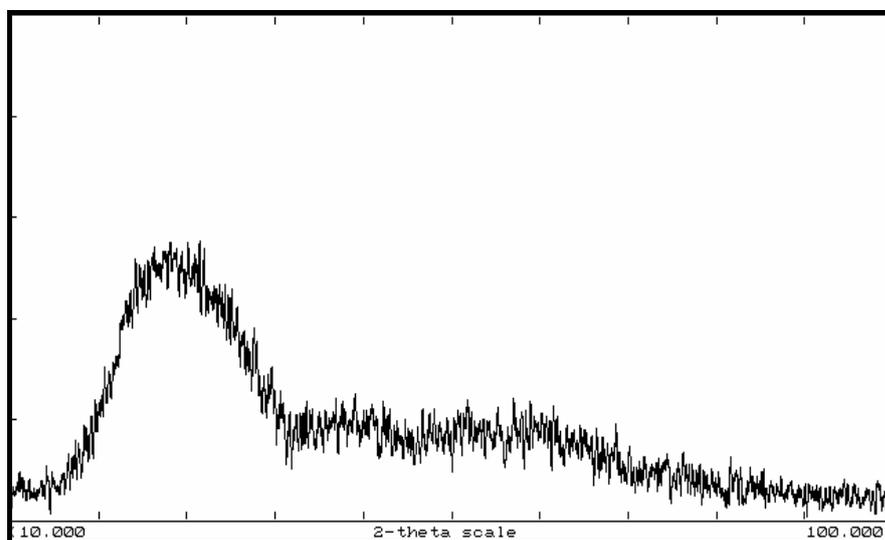


Figura 17. Espectro de difração de raios-X do TiO₂ sintetizado.

5.3.2. Caracterização dos filmes de TiO₂ P25 com fotodeposição de Pd, Ag e Fe por espectrometria fotoeletrônica de raios-X (XPS)

Para identificar a forma com que os metais Pd, Ag e Fe se encontravam associados ao TiO₂ P25 fizeram-se análises por XPS, cujos espectros são mostrados nas Figuras de 18 a 20 e os dados obtidos, respectivamente, nas Tabelas de 3 a 5.

A análise dos espectros da Figura 18, revelam as informações contidas na Tabela 3 que contém a composição da superfície do filme de TiO₂ com paládio fotorreduzido.

Tabela 3. Composição do filme de TiO₂ contendo paládio determinada por XPS.

Átomos analisados	Q ^{de.} %	Estados de oxidação	%	eV
Ti	27,3	Ti (IV)	100	458,5
O	61,1	O (II)	100	529,7
Pd	11,6	Pd ⁰	73	334,5
		Pd (II)	21	335,5
		Pd (IV)	6	337,6

Embora tenham sido feitos cálculos para a fotodeposição de 1% de paládio em relação à quantidade total de mols imobilizada do fotocatalisador, a quantidade de Pd colocado resultou em 11,6% desse metal na superfície do fotocatalisador. Acredita-se que esse efeito concentrador se deu pelo fato das reações de fotodeposição ocorrerem no contato do íon com a superfície do filme de TiO₂ imobilizado. Assim, a distribuição do Pd⁰ que era para ficar uniformemente distribuído por todo o TiO₂ se concentrou apenas na superfície filme e foi detectado pelo XPS.

Outro aspecto importante revelado é que nem todo Pd(II) colocado para fotorredução foi levado a Pd⁰, apenas 73%, e uma pequena parcela, 6%, foi oxidado a Pd(IV). O deslocamento das energias de ligação sugerem

que paládio iônico remanescente foi incorporado ao retículo cristalino do TiO_2 como óxido, outro fato que corrobora essa possibilidade é a presença de um excedente de 6,5% de oxigênio em relação ao esperado 54,6% já que a quantidade de titânio foi de 27,3%.

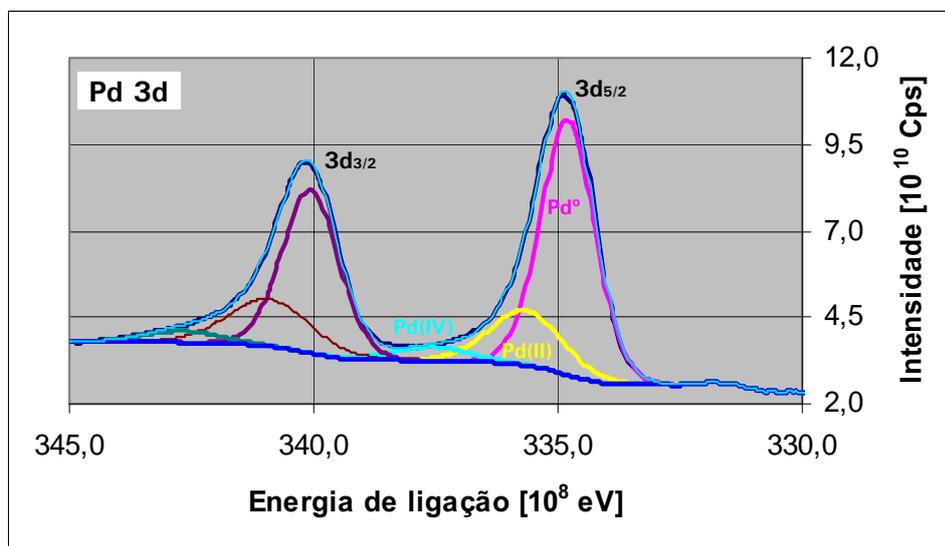


Figura 18. Espectros de XPS de TiO_2 comercial contendo Pd.

A análise do espectro das placas de TiO_2 com prata mostrado na Figura 19a, revelou as informações contidas na Tabela 4. Nesta observa-se que 90% da prata adicionada para fotorredução foi incorporada como Ag^0 ao fotocatalisador. Para certificar-se de que o sinal era realmente de Ag^0 e não de Ag(I) , pois ambas tem a mesma energia de ligação 367,8 eV, verificou-se o espectro de Auger, mostrado na Figura 19b, que confirmou a presença de Ag^0 .

Tabela 4. Composição do filme de TiO_2 contendo prata determinada por XPS.

Átomos analisados	Qde. %	Estados de oxidação	%	eV
Ti	27,5	Ti (IV)	100	458,5
O	58,7	O (II)	100	529,7
Ag	13,8	Ag^0	90	367,8
		nd	10	

No espectro mostrado na Figura 19, também se observa o efeito de concentração do metal fotorreduzido na superfície do TiO_2 . A prata que deveria ser incorporada gerando uma concentração de 1%, produziu uma superfície com 13,8% desse metal.

Os dados ainda mostram que não foi possível se definir o estado de oxidação de 10% da prata adicionada.

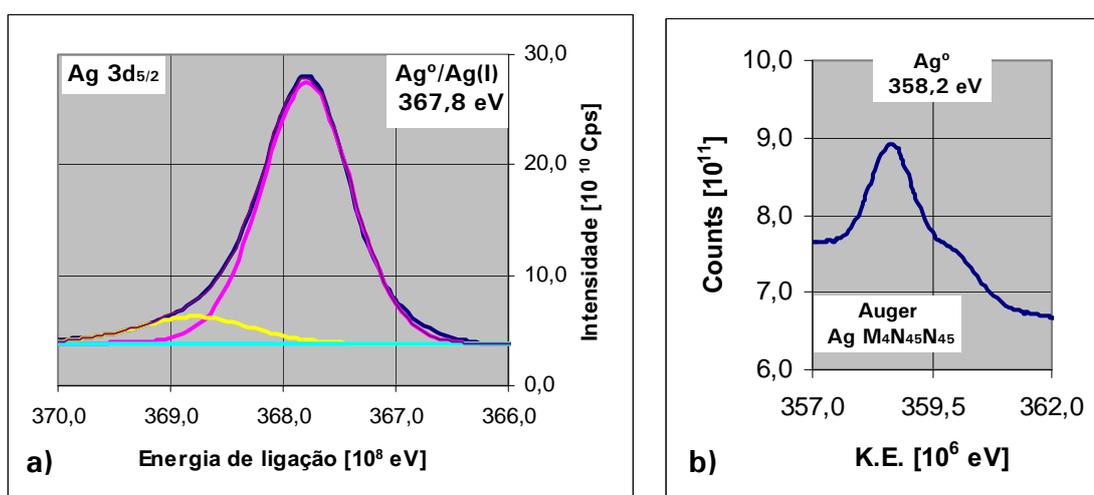


Figura 19. Espectros de XPS de TiO_2 comercial contendo Ag.

A análise do espectro mostrado na Figura 20 revelou os dados apresentados na Tabela 5. Nesta observa-se que 45% do ferro fotodepositado se encontra na forma de Fe^0 , mesmo o ferro tendo um $E^0 = -0,44$ V, propriedade que certamente é a causa da menor fração de ferro reduzido a Fe^0 em relação aos outros dois metais. O restante, 55%, se encontra na forma de Fe(II) .

Acredita-se que o deslocamento das energias de ligação observadas nas espécies de ferro presentes no material analisado se deve a possíveis associações desse metal com outras espécies presentes, não possíveis de serem determinadas pela pequena quantidade de ferro fotodepositado e pelo alto nível de ruído.

Tabela 5. Composição do filme de TiO₂ contendo ferro determinada por XPS.

Átomos analisados	Qde. %	Estados de oxidação	%	eV
Ti	32,6	Ti (IV)	100	458,5
O	67,3	O ⁻²	100	529,7
Fe	0,1	Fe ⁰	45	708,3
		Fe (II)	55	709,9

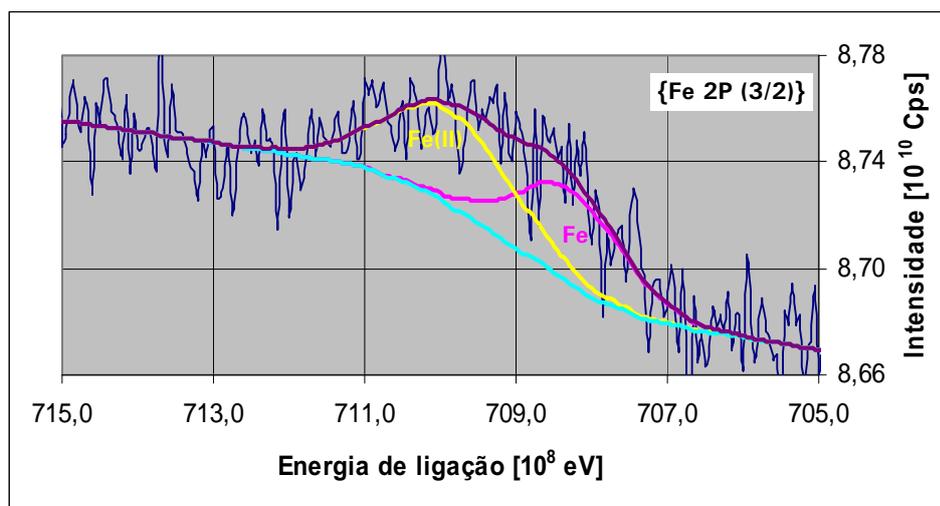


Figura 20. Espectros de XPS de TiO₂ comercial contendo Fe.

Os espectros de XPS dos TiO₂ sintetizados a partir do tetraisopropóxido de titânio (IV), tanto o puro quanto os dopados com paládio, prata e ferro foram feitos. Porém, devido às pequenas quantidades de material imobilizado de cada fotocatalisador, geraram filmes muito delgados e permitiram que componentes químicos das placas-suporte ao fotocatalisador fossem conjuntamente identificados e medidos, comprometendo a interpretação adequada dos espectros, acreditando que desse modo os espectros não acrescentariam compreensão aos processos de desinfecção, foram omitidos.

5.4. Avaliação do processo de desinfecção por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ comercial – P25 Degussa

Para a avaliação de cada parâmetro a ser analisado, foram coletadas três amostras, todas analisadas em triplicata; com os resultados calcularam-se as médias e os respectivos desvios-padrão, os quais são apresentados na tabela 6. Para avaliar a significância das diferenças dos resultados obtidos entre os diferentes ensaios aplicou-se o teste t de *Student* para 95% de confiança e 16 graus de liberdade. Este teste é utilizado para testar a diferença entre as médias de dois conjunto de dados, e dado pela expressão:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{comb} \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (23)$$

onde:

$$s_{comb} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \quad (24)$$

Tabela 6. Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ P25 Degussa e luz negra.

	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
	Bacilo Gram-negativo		Bacilo Gram-positivo		Cocos Gram-positivos	
	Média ± s	% Inativação	Média	% Inativação	Média	% Inativação
SLSF	1.655 ± 79	0	1.512 ± 73	0	1.709 ± 77	0
CLSF	1.547 ± 69	6	1.368 ± 65	10	1.504 ± 82	12
SLCF_{Puro}	1.524 ± 67	8	1.292 ± 88	15	1.589 ± 60	7
CLCF_{Puro}	827 ± 134	50	889 ± 56	41	1.106 ± 69	35
SLCF_{F-Pd}	1.509 ± 43	9	1.293 ± 44	14	1.602 ± 71	6
CLCF_{F-Pd}	712 ± 62	57	130 ± 13	91	137 ± 28	92
SLCF_{F-Ag}	1513 ± 64	9	1.264 ± 69	16	1.550 ± 71	9
CLCF_{F-Ag}	728 ± 67	56	216 ± 13	86	130 ± 18	92
SLCF_{F-Fe}	1544 ± 80	7	1.280 ± 58	15	1.576 ± 42	8
CLCF_{F-Fe}	876 ± 37	47	224 ± 7	85	95 ± 18	94

SLSF: Sem Luz e Sem Fotocatalisador. CLSF: Com Luz e Sem Fotocatalisador. SLCF: Sem Luz e Com Fotocatalisador. CLCF puro: Com Luz e Com Fotocatalisador puro. CLCF_{F-Pd}: Com Luz e Com Fotocatalisador com paládio fotorreduzido. CLCF_{F-Ag}: Com Luz e Com Fotocatalisador com prata fotorreduzida. CLCF_{F-Fe}: Com Luz e Com Fotocatalisador com ferro fotorreduzido.

Para estabelecer uma contagem inicial de bactérias onde os efeitos dos materiais de construção fossem compensados, eliminando o impacto desses materiais sobre o processo de desinfecção a ser testado, fizeram-se os ensaios sem irradiação e sem a presença dos fotocatalisadores (Amostras SLSF); a contagem de colônias obtidas em unidades formadoras de colônias (UFC) foi admitida como 0% de inativação bacteriana.

Como nem todos os parâmetros foram analisados simultaneamente, utilizou-se essa primeira contagem para normalizar todos os valores obtidos em cada etapa de avaliação dos diferentes parâmetros de interesse. Assim, a cada novo conjunto de ensaios esse ponto de controle, coleta de amostras SLSF, era repetido para permitir a normalização dos dados.

O primeiro parâmetro a ser avaliado foi o efeito da radiação UV-A (Amostras CLSF) gerado pelas lâmpadas de luz negra. Observou-se uma eficiência de 6 a 12% de inativação. Diversos autores dentre os quais Daniel (2001) e Cordeiro et al. (2004), atribuem esse efeito à absorção da radiação pelo DNA com formação de dímeros de bases pirimídicas. Caso esses dímeros não sejam desfeitos ou eliminados prejudicam a reprodução do organismo podendo causar sua morte ou mutação. Contudo, os microorganismos possuem mecanismos de recuperação desses danos causados ao seu DNA desde que a dose de radiação absorvida não seja letal.

O próximo parâmetro analisado foi a ação do fotocatalisador puro na ausência de radiação, que apresentou uma eficiência entre 7 e 15%. Esta ação foi atribuída à adsorção das bactérias no fotocatalisador; ensaios feitos para avaliar essa hipótese revelou grandes quantidades de bactérias viáveis adsorvidas nas superfícies das placas-suporte com fotocatalisador.

Resultados semelhantes foram observados ao se utilizar as placas de fotocatalisador com os metais fotodepositados, com destaque para as placas com prata fotodepositada que chegou a 16% de adsorção. Ao se aplicar o teste t para comparação entre os ensaios com fotocatalisadores na ausência de radiação vêem-se que as diferenças não são significativas, para *E. coli* ($0,56 < t < 0,58$), para o *B. subtilis* ($0,03 < t < 0,75$) e, para o *S.*

aureus ($0,42 < t < 1,26$); todos os valores de t , calculados para 95% de confiança e 16 graus de liberdade, ficaram abaixo do valor tabelado que é de 2,12. Diferentemente do obtido por Vohra et al. (2006), 55% de inativação do *S. aureus* com 2 minutos de exposição e 72% de inativação para *E. coli* após 5 minutos de exposição ao fotocatalisador com prata sem irradiação; acredita-se que o tempo de residência de 15 segundos seja insuficiente para diferenciar os danos causados às bactérias exclusivamente pela prata, embora esta seja tida como microbiocida, quer pura em sua forma coloidal, ou na forma de seus sais (KYAW, 2008).

Em seguida passou-se à avaliação da influência do fotocatalisador puro irradiado com luz negra. A Tabela 6 mostra uma eficiência de 50% de inativação da *E. coli*, 41% de inativação do *B. subtilis* e 35% de inativação do *S. aureus*. Cordeiro et al. (2004) atribui essa ação desinfetante do processo fotocatalítico, principalmente à produção de duas espécies altamente oxidantes: a partir do oxigênio é obtido o íon radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e a partir da água o radical hidroxila (HO^{\cdot}), porém outras espécies também contribuem para o processo (peróxido de hidrogênio, radical hidroperóxil e oxigênio singlete). As diferenças observadas nos índices de inativação das diferentes bactérias podem ser atribuídas às diferenças nas paredes celulares. O *B. subtilis* e o *S. aureus* são bactérias Gram-positivas, e a *E. coli* é Gram-negativa.

Por fim, avaliou-se a ação do fotocatalisador associado aos três metais, paládio, prata e ferro, todos irradiados com luz negra. A Tabela 6 mostra que ocorre uma ação sinérgica com essas associações tanto para o *B. subtilis* quanto para o *S. aureus*, ou seja, o efeito combinado fotocatalisador-metal é maior do que o observado quando separados. Vohra et al. (2006) relatam efeitos sinérgicos da associação da prata com o TiO_2 , assim como Trapalis et al. (2003) e Rincón e Pulgarin (2006) esse mesmo fenômeno com a associação de Fe(III) ao TiO_2 , todos em processos de desinfecção.

Analisando-se o conjunto dos ensaios realizados e considerando-se os três microorganismos empregados, verifica-se que a maior eficiência no

processo de desinfecção foi obtida como o uso do TiO_2 com paládio fotorreduzido sobre sua superfície, que inativou 57% de *E. coli*, 91% de *B. subtilis* e 92% de *S. aureus*.

Acredita-se que os melhores resultados obtidos empregando-se o fotocatalisador com paládio se deve, pelo menos em parte, ao aumento significativo da faixa de absorção do espectro luminoso, como mostrado na Figura 15.

O fotocatalisador associado com ferro demonstrou uma ação significativa inativando 47%, 85% e 94% de *E. coli*, *B. subtilis* e *S. aureus* respectivamente, mesmo com uma concentração muito baixa de ferro em relação à prata e ao paládio. Atribui-se esse efeito à associação da fotocatalise às reações tipo Fenton, já que uma das espécies químicas produzidas pelas reações fotocatalíticas, deste estudo, é o peróxido de hidrogênio.

Atribui-se os melhores resultados obtidos com os organismos Gram-positivos ao fato de sua parede celular, embora mais espessa que a das Gram-negativas, ser formada basicamente por peptidoglicanos de caráter hidrofílico, o que poderia favorecer o ataque dos agentes oxidantes produzidos pelo fotocatalisador. Analogamente, atribui-se a menor inativação dos organismos Gram-negativos à sua parede celular ser hidrofóbica, o que poderia dificultar a penetração dos agentes oxidantes (TRABULSI e ALTERTHUM, 2008).

Uma das explicações para a inversão observada nos índices de inativação entre Gram-negativas e Gram-positivas, utilizando-se o fotocatalisador puro e os com metais fotodepositados poderia ser atribuída a variações nas quantidades de cada agente oxidante. Este tema merece ser mais bem explorado para se certificar o que ocorre.

5.5. Avaliação do processo de desinfecção por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO_2 sintetizado a partir de tetraisopropóxido de titânio

A Tabela 7 apresenta os resultados da inativação bacteriana empregando-se TiO₂ sintetizado a partir de tetraisopropóxido de titânio irradiado por luz negra.

Semelhante ao que foi feito para o TiO₂ comercial, colheu-se amostras iniciais, nominadas SLSF, significando sem irradiação e sem a presença de fotocatalisador para eliminar a influência dos materiais de construção do reator e gerar um ponto de controle considerado como 0% de inativação.

Tabela 7. Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ sintetizado a partir do tetraisopropóxido de titânio pelo processo sol-gel e luz negra.

	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
	Média	% INATIVAÇÃO	Média	% INATIVAÇÃO	Média	% INATIVAÇÃO
SLSF	1.294 ± 41	0	1.188 ± 95	0	1.223 ± 35	0
CLSF	1.215 ± 46	6	1.061 ± 59	10	1.076 ± 104	12
SLCF_{Puro}	1.161 ± 58	10	1.011 ± 81	15	1.051 ± 77	14
CLCF_{Puro}	893 ± 93	31	932 ± 47	22	922 ± 97	25
CLCF_{D-Pd}	736 ± 38	43	679 ± 45	43	742 ± 23	39
CLCF_{D-Ag}	789 ± 47	39	220 ± 21	82	841 ± 28	31
CLCF_{D-Fe}	674 ± 33	48	620 ± 22	48	644 ± 24	47

SLSF: Sem Luz e Sem Fotocatalisador. CLSF: Com Luz e Sem Fotocatalisador. SLCF_{Puro}: Sem Luz e Com Fotocatalisador puro. CLCF_{Puro}: Com Luz e Com Fotocatalisador puro. CLCF_{D-Pd}: Com Luz e Com Fotocatalisador dopado com paládio. CLCF_{D-Ag}: Com Luz e Com Fotocatalisador dopado com prata. CLCF_{D-Fe}: Com Luz e Com Fotocatalisador dopado com ferro.

Iniciou-se a avaliação pela ação do fotocatalisador puro e na ausência de radiação UV-A. Obteve-se novamente a adsorção dos microorganismos, mais pronunciadamente nos organismos Gram-positivos, 10% de adsorção para a *E. coli*, 15% para o *B. subtilis* e 14% para o *S. aureus*.

Por fim, avaliou-se a ação dos fotocatalisadores irradiados por luz negra. Entre o grupo de metais analisado nesse processo o TiO₂ dopado com ferro apresentou as melhores taxas de inativação 48% para *E. coli*, 48% para o *B. subtilis* e 47% para o *S. aureus*. Admite-se que a maior

atividade observada nas placas dopadas com ferro possa ser em parte influenciada por reações tipo Fenton, já que uma das espécies produzidas no processo fotocatalítico, como já citado, é o peróxido de hidrogênio, como demonstrado também por Cordeiro et al. (2004) e Montagner et al. (2005).

Outro fato relevante para explicar a melhor performance do TiO_2 dopado com qualquer um dos três metais em relação ao fotocatalisador puro é fornecido por Colmenares et al. (2006), ao medir a área superficial de TiO_2 dopado com 1% dos três metais estudados neste trabalho, dentre outros, obtido pelo processo sol-gel, constataram que o ferro, a prata e o paládio aumentavam a área superficial do fotocatalisador de $35 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, TiO_2 puro, para $48 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, $53 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ e $65 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ quando dopado com ferro, prata e paládio respectivamente.

É importante ressaltar a eficiência do fotocatalisador dopado com prata na inativação do *B. subtilis*, 82%. Esta avaliação deverá ser refeita devido à discrepância em relação ao efeito observado com o *S. aureus*, 31%, um organismo também Gram-positivo, para confirmar a ação sobre o *B. subtilis*.

5.6. Avaliação do processo de desinfecção por fotocátalise heterogênea utilizando-se TiO_2 comercial irradiado por luz germicida

A partir dos resultados obtidos com os fotocatalisadores irradiados por luz negra, criou-se uma expectativa sobre os resultados que poderiam ser obtidos se os fotocatalisadores fossem irradiados com luz germicida ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Para estes ensaios foi utilizado somente o conjunto de placas, que na avaliação geral, irradiadas com luz negra, apresentou os melhores resultados, ou seja, as placas de TiO_2 P25 com paládio fotorreduzido.

Para avaliar o efeito da substituição das lâmpadas de luz negra por lâmpadas germicidas, tomaram-se lâmpadas de mesmas dimensões e potência (4 W).

A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos nessa avaliação.

A maioria das diferenças observadas na comparação dos resultados dos ensaios onde a variável a ser avaliada é a substituição das lâmpadas de luz negra por lâmpadas germicidas, mostrados na tabela 8, não são significativas ao se aplicar o teste t ($0,28 < t < 1,58$), exceto para a fotólise do *S. aureus*.

A fotólise provocada pelas lâmpadas germicidas foi 9% mais eficiente que a causada pelas lâmpadas de luz negra. Atribui-se esse incremento na ação da luz germicida ao seu comprimento de onda, mais efetivo na dimerização das bases nitrogenadas.

Tabela 8. Número de colônias obtidas em UFC mL⁻¹, após 48 ± 2 horas de incubação a 36 ± 0,5°C, de amostras de efluentes gasosos tratados por fotocatalise heterogênea utilizando-se TiO₂ P25 Degussa com Paládio fotorreduzido sobre sua superfície, irradiado com luz negra ($\lambda = 365$ nm) e luz germicida ($\lambda = 254$ nm)

	<i>E. coli</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	
	Média	% Inativ.	Média	% Inativ.	Média	% Inativ.
SLSF	1.208 ± 96	0	1.492 ± 99	0	1.604 ± 110	0
(UV-B) CLS F	1.084 ± 50	10	1.342 ± 54	10	1.350 ± 80	16
(UV-A) CLS F*	1.134 ± 69	6	1.343 ± 65	10	1.412 ± 82	12
(UV-B) CLCF_{F-Pd}	544 ± 58	55	134 ± 18	91	113 ± 8	93
(UV-A) CLCF_{F-Pd}*	520 ± 62	57	128 ± 13	91	129 ± 28	92

* Valores da tabela 6 normalizados para os resultados obtidos na avaliação inicial sem luz e sem fotocatalisador do processo de desinfecção empregando luz germicida.

Para Kyaw (2008), citando a norma da Organização Mundial de Saúde – OMS para agentes esterilizantes, o tempo de exposição a radiações não-ionizantes deve ser de 30 min para que a probabilidade de sobreviventes seja da ordem de 1/106. No reator utilizado, considerando-se o volume da câmara do reator de 1,89 dm³ e a vazão 8 dm³ min⁻¹, tem-se um tempo de residência e, portanto de exposição, de aproximadamente 15 segundos, insuficiente para efeito significativo da luz germicida. Daniel (2001) complementa a falta de eficiência da radiação UV observada nos processos de esterilização atribuindo esse fenômeno a uma indesejada recuperação de parte dos microorganismos inativados pela reversão das reações fotoquímicas que dimerizaram as bases pirimídicas do DNA

bacteriano causando sua inativação. O processo de reversão proporciona a recuperação dos microorganismos que receberam dose sub-letal de radiação ultravioleta. O que explica a baixa ação germicida tanto das lâmpadas de luz negra quanto das lâmpadas germicidas se for considerado o tempo de exposição de 15 s.

6. CONCLUSÕES

Após a análise dos dados, pode-se concluir que o TiO₂ P25 Degussa apresentou índices significativos de inativação bacteriana em fase gasosa quando irradiado por luz negra, entre 35 e 50%.

O maior índice de inativação bacteriana foi obtido utilizando-se o TiO₂ P25 Degussa com paládio fotodepositado, considerando-se a inativação dos três microorganismos utilizados, entre 57 e 92%.

Na avaliação do TiO₂ sintetizado os melhores resultados foram obtidos com as placas contendo ferro como agente dopante, entre 47 e 48% de inativação, acredita-se que reações tipo Fenton possam estar ocorrendo além da fotocatalise pela presença de íons Fe(II) e H₂O₂ produzido nas reações promovidas pelo fotocatalisador.

O baixo índice de inativação causado tanto pelas lâmpadas de luz negra, entre 6 e 12%, quanto pelas lâmpadas de luz germicida, entre 10 e 16%, utilizadas sem a presença de fotocatalisador, foi atribuída ao breve tempo de exposição, 15 s, proporcionado pelo reator utilizado. Porém, a fotocatalise heterogênea, com TiO₂, utiliza reações de oxidação a partir, principalmente, dos radicais hidroxilas gerados pelo fotocatalisador.

A utilização de luz germicida de mesma potência que a de luz negra, irradiando o TiO₂ P25 com paládio não incrementou, significativamente, os índices de inativação já obtidos, tendo-se uma inativação entre 55 e 93% dos diferentes microorganismos. A semelhança dos resultados pode ser atribuída ao alargamento da faixa do espectro de absorção provocada pela presença de paládio no filme de TiO₂, compensando a ação das lâmpadas germicida sobre o fotocatalisador.

Os menores índices de inativação obtidos no tratamento do efluente contaminado com *E. coli* foram atribuídas a propriedades da parede celular desse organismo Gram-negativo, alta complexidade química e estrutural além de produzir um revestimento externo hidrofóbico.

O ponto mais marcante desse trabalho é o fato de que a fotocatalise heterogênea é eficiente no processo de desinfecção de efluentes gasosos e que sua eficiência pode ser aumentada pela deposição ou dopagem com qualquer um dos três metais estudados com destaque para o paládio.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução nº 9, de 16 de janeiro de 2003. Determina a publicação de orientação técnica elaborada por grupo técnico assessor, sobre padrões referenciais de qualidade do ar interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 jan. 2003. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=17550&word=>>. Acesso em: 10 set. 2006.

AIROLDI, C.; FARIAS, R. F. Alcóxidos como precursores na síntese de novos materiais através do processo sol-gel. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 89-95, 2004.

BICKLEY, R. I. A structural investigation of titanium dioxide photocatalysts. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 92, p. 178-190, 1991.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 3.523, de 28 de agosto de 1998. Aprova regulamento técnico contendo medidas básicas referentes aos procedimentos de verificação visual do estado de limpeza, remoção de sujidades por métodos físicos e manutenção do estado de integridade e eficiência de todos os componentes dos sistemas de climatização, para garantir a qualidade do ar de interiores e prevenção de riscos à saúde dos ocupantes de ambientes climatizados. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 jan. 2003. Disponível em: <<http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=295&word=>>. Acesso em: 10 set. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 mar. 2004. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=22322&word=>>. Acesso em: 10 set. 2006.

CALLISTER JUNIOR, W. D. **Ciência e engenharia de materiais**: uma introdução. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2008.

- COLMENARES, J. C. et al. Synthesis, characterization and photocatalytic activity of different metal-doped titania systems. **Applied Catalysis A: General**, v. 306, p. 20–127, 2006
- CORDEIRO, A. C. S. et al. Inativação por fotocatalise heterogênea de *Eschericia coli* e *Pseudomonas sp.* **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 689-694, 2004.
- DANIEL L. A. (Coord.) **Processo de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2001.
- EATON, A. D. et al. **Standard methods for the examination of water & wastewater**. 21th. ed. Washington: American Public Health, 2005.
- GONTIJO FILHO, P. P. et al. Ambientes climatizados, Portaria 3.523 de 28/08/1998 do Ministério da Saúde e padrões da qualidade do ar de interiores do Brasil. **Pneumologia**, v. 26, n. 5, p. 254-258, 2000.
- HUANG, Z. et al. Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. **Environmental Science & Technology**, v.32, n.17, p. 2650-2653, 1998.
- INTERNATIONAL CENTRE FOR DIFFRACTION DATA. **Quantitative analysis: reference intensity ratio**. Disponível em: <[http://www.icdd.com/resources/tutorials/files/Quantitative Analysis RIR.ppt](http://www.icdd.com/resources/tutorials/files/Quantitative%20Analysis%20RIR.ppt)>. Acesso em: 20 ago. 2008.
- KELEHER, J. et al. Photo-catalytic preparation of silver-coated TiO₂ particles for antibacterial applications. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.18, p.133–139, 2002.
- KIM, J.H. et al. Development of air purification device through application of thin-film photocatalyst. **Catalysis Today**, v. 111, p. 271-274, 2006.
- KONDO, M. M.; JARDIM, W. F. Photodegradation of chloroform and urea using Ag-loaded titanium diode as catalyst. **Water Research**, v. 25, n. 7, p. 823-827. 1991.
- KYAW, C. M. **Microbiologia**. Disponível em: <<http://www.unb.br/ib/cel/microbiologia/index.html>> Acesso em: 18 ago. 2008.
- MARGULIS, L.; SCHWARTZ, K. V. **Cinco reinos: um guia ilustrado dos filós da vida na Terra**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- MATSUNAGA, T. et al. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. **FEMS Microbiology Letters**. v. 29, p. 211–214, 1985.

MONTAGNER, C. C.; PASCHOALINO, M. P.; JARDIM, W. F. Aplicação da fotocatalise heterogênea na desinfecção de água e ar. **Caderno Temático**, v. 4, 2005.

NOGAROTO, S. L. et al. **Validação de processos de esterilização**. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/Departamentos/FBT/HP_Professores/Penna/Projetos/NogarotoPenna04.pdf>. Acesso em: 18 jul. 2008.

NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 69-72. 1998.

OLLIS, D. F. Photocatalytic purification and remediation of contaminated air and water. **Comptes rendus de l'academie des sciences serie ii fascicule c - chimie**, v. 3, p. 405-411, 2000.

QUADROS, M. E. et al. O uso da fotocatalise para a desinfecção e desodorização do ar interno. In: SIMPÓSIO LUSO-BRASILEIRO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 13., 2008, Belém do Pará. **Anais ... Florianópolis, 2008**. Disponível em: <<http://www.lcqar.ufsc.br/adm/publicacoes/VI-040.pdf>> Acesso em: 15 ago. 2008.

RIBEIRO, E. S. et al. **Princípios básicos de XAS e XPS**. Disponível em: <<http://www.chemkeys.com>>. Acesso em: 08 abr. 2008.

RINCÓN, A. G.; PULGARIN, C. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous–intermittent) light intensity and of (suspended–fixed) TiO₂ concentration. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 44, p. 263–284. 2003.

RINCÓN, A. G.; PULGARIN, C. Field solar *E. coli* inactivation in the absence and presence of TiO₂: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection. **Solar Energy**, v. 77, p. 635-648. 2004.

SCLAFANI, A. et al. Effect of silver deposits on the photocatalytic activity of titanium dioxide samples for the dehydrogenation or oxidation of 2-propanol. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 59, p. 181-189, 1991.

SÖKMEN, M. et al. Disinfection of *E. coli* by the Ag-TiO₂/UV system: lipid peroxidation. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 143, p. 241-244, 2001.

TRAPALIS, C. C. et al. TiO₂(Fe³⁺) nanostructured thin films with antibacterial properties. **Thin Solid Films**, v. 433, p. 186-190, 2003.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2008.

VALENTE, J. P. S. et al. Síntese e caracterização textural do catalisador CeO/TiO₂ obtido via sol-gel: fotocatalise do composto modelo hidrogenoftalato de potássio. **Eclética Química**, v. 30, n. 4, p. 7-13. 2005.

VOHRA, A. et al. Enhanced photocatalytic inactivation of bacterial spores on surfaces in air. **Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 364-370, 2005.

VOHRA, A. et al. Enhanced photocatalytic disinfection of indoor air. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 65, p. 57-65. 2006.