



Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Química de Araraquara
Departamento de Química Analítica



BÁRBARA CAMILA DE ARAÚJO SOUZA

**Desinfecção de águas contaminadas com *Candida parapsilosis* utilizando
eletrodos de W/WO_3 em tratamento fotoeletrocatalítico**

Araraquara
2015

BÁRBARA CAMILA DE ARAÚJO SOUZA

**Desinfecção de águas contaminadas com *Candida parapsilosis* utilizando
eletrodos de W/WO₃ em tratamento fotoeletrocatalítico**

Bárbara Camila de Araújo Souza

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química de Araraquara como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Valnice Boldrin Zanoni

Co-orientadora: Dr.^a Thaís Tasso Guaraldo

Araraquara
2015

FICHA CATALOGRÁFICA

S719d Souza, Bárbara Camila de Araújo
Desinfecção fotoeletrocatalítica de águas contaminadas com *Candida parapsilosis* utilizando eletrodos de W/WO₃ em tratamento fotoeletrocatalítico / Bárbara Camila de Araújo Souza – Araraquara : [s.n], 2015
107 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Maria Valnice Boldrin Zanoni
Coorientador: Thaís Tasso Guaraldo

1. Semicondutores. 2. Candida. 3. Hemodiálise.
4. Eletroquímica. 5. Tungstênio. I. Título.

BARBARA CAMILA DE ARAÚJO SOUZA

Dissertação apresentada ao Instituto de
Química, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em
Química.

Araraquara, 30 de novembro de 2015.

BANCA EXAMINADORA



Prof^a. Dr^a. MARIA VALNICE BOLDRIN (Orientadora)
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^a. Dr^a. RAQUEL FERNANDES PUPO NOGUEIRA
Instituto de Química / UNESP / Araraquara - SP



Prof^a. Dr^a. REGINA HELENA PIRES GONÇALVES
Universidade de Franca / UNIFRAN / Franca - SP

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Gerson e Magaly por confiarem no meu potencial.

Aos meus irmãos Ricardo e Henrique pelo apoio e por todo o companheirismo.

À Rafaela (*in memoriam*), minha grande irmã que sempre torceu por mim.

A meu amado Giovani pela cumplicidade constante.

A todos aqueles que acreditaram e contribuíram para o desenvolvimento desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por acreditar que nossa existência pressupõe outra infinitamente superior e por sua imensa sabedoria e por estar junto comigo principalmente nos momentos difíceis.

À professora Doutora **Maria Valnice Boldrin**, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram possível a conclusão desta dissertação.

À Doutora **Thaís Tasso Guaraldo** pela co-orientação e ajuda no dia a dia do laboratório, principalmente nos momentos iniciais.

Aos professores doutores **Nelson Stradiotto**, **Hideko Yamanaka**, **Pilar Taboada** e **Fabíola Mascarenhas**, por contribuírem para o meu aprendizado cotidiano e principalmente nas reuniões de grupo.

Aos **membros do Grupo de Eletroanalítica** pelo agradável convívio e discussões construtivas.

Aos grandes amigos que fiz aqui em Araraquara em especial: **Elsa Materón**, **Glaúcia Tinoco** e **Paula Daltro**. Sem vocês não seria possível.

Aos meus queridos pais **Gerson Costa** e **Magaly Araújo** por acreditarem em mim.

Aos meus irmãos **Gerson Ricardo** e **Henrique César** pelo incentivo diário.

Ao meu amado **Giovani Ângelo** pelo carinho e intenso apoio.

Aos funcionários do **IQ-UNESP de Araraquara** pelo bom humor e disposição em ajudar.

A **CAPES**, **FAPESP** E **CNPq** pelo incentivo financeiro.

Meus sinceros agradecimentos a **todos** aqueles que de alguma forma doaram um pouco de si para que a conclusão deste trabalho se tornasse possível.

Muito obrigada!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O acesso à água de qualidade, livre de microrganismos patogênicos e de subprodutos potencialmente nocivos ao homem é um desafio constante do ser humano. Dentre os diversos microrganismos patogênicos, a presença daqueles pertencentes ao Reino *Fungi* tem chamado a atenção, principalmente em águas de hemodiálise, devido às consequências que a presença destes e de suas respectivas micotoxinas podem ocasionar a um paciente imunocomprometido. O presente trabalho teve como objetivo investigar a potencialidade de fotoânodos do tipo W/WO_3 em sistemas de desinfecção fotoeletrocatalítica de águas contaminadas por *Candida parapsilosis*. Para isto, foram sintetizados eletrodos de trióxido de tungstênio usando anodização oxidativa através do crescimento eletroquímico de filmes de WO_3 sobre W como substrato. O eletrodo proposto mostrou a formação de um filme homogêneo com nanoporos ao redor de 100nm, conforme a imagem de FEG-SEM e apresentou um *band gap* em torno de 2,5 eV calculado a partir do gráfico de Tauc pelo método Kubelka-Munk. O material construído é fotoativo e a curva de I_{ph} vs E sob radiação UV em NaCl $0,1 \text{ molL}^{-1}$ revelou uma fotocorrente igual a 19 mA. Estudos da degradação de *C. parapsilosis* em NaCl $0,1 \text{ molL}^{-1}$, pH 7, potencial igual a 1,5V e irradiação UV-Vis e Vis, condições previamente otimizadas, mostraram a morte das leveduras em 30 segundos de tratamento. Não foi verificada a formação significativa de cloro ativo nas condições empregadas assim como não há formação de íons clorato e perclorato durante a degradação fotoeletrocatalítica. Para as medidas fotoeletrocatalíticas realizadas no dialisato, verificou-se a morte microbiana em torno de 5 minutos e remoção de carbono orgânico total em torno de 73% e 45% para as soluções ácidas e básicas respectivamente.

Palavras-chaves: fotoeletrocatalise, *Candida*, tungstênio, semicondutor, hemodiálise.

ABSTRACT

The access to quality water, free of pathogenic microorganisms and potentially harmful to the community is a constant challenge of being human. Among the various pathogenic microorganisms, the presence of those belonging to the kingdom *Fungi* has drawn attention, especially in hemodialysis water, due to the consequences that the presence of these and their respective mycotoxins causes to an immunocompromised patient. The aim of this study was to investigate the capability of W/WO_3 as photoanode in disinfection systems using photoelectrocatalysis in water contaminated by *Candida parapsilosis*. For this, tungsten trioxide was synthesized using electrodes via electrochemical anodization by the growth of WO_3 films in tungsten foil as a substrate. The prepared electrode was characterized morphologically and electrochemically and was subsequently applied in a photoelectrochemical system. The FEM-SEM image showed a formation of a homogeneous film in the surface foil with nanopores around 100 nm. There was obtained a band gap of 2.5 eV calculated from Tauc's plot of the Kubelka-Munk method and photocurrent observed in $\text{NaCl } 0.1 \text{ molL}^{-1}$ was equal to 19 mA. Studies of *C. parapsilosis* degradation in $\text{NaCl } 0.1 \text{ molL}^{-1}$, pH 7, the potential equal to 1.5V and irradiating UV-Vis and Vis, previously optimized conditions, showed the death of yeast at 30 seconds of treatment. There was no significant formation of active chlorine under the conditions employed just as there is formation of chlorate and perchlorate ions during photoelectrocatalytic degradation. For photoelectrocatalytic measurements in the dialysate, there was microbial death in about 5 minutes and removal of total organic carbon at around 73% and 45% for acidic and basic solutions, respectively.

Keywords: photoelectrocatalysis, *Candida*, tungsten, semiconductor, hemodialysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Célula fúngica com destaque para os envoltórios.....	18
Figura 2. Representação gráfica de um blastoconídio, pseudo-hifa e a diferença entre uma hifa septada.....	19
Figura 3. Ilustração do processo de hemodiálise.....	25
Figura 4. Representação esquemática de um semiconductor fotoexcitado.....	28
Figura 5. Representação esquemática de um reator fotoeletrocatalítico usando um semiconductor tipo n incidido por luz. Os principais constituintes são: (A) fotoânodo, (B) cátodo e (C) potenciostato.....	31
Figura 6. Esquema de reator fotoeletrocatalítico: (A) entrada de água, (B) saída de água, (C) eletrodo de referência, (D) eletrodo de trabalho, (E) eletrodo auxiliar, (F) borbulhador de ar comprimido.....	47
Figura 7: Microscopia eletrônica de alta resolução (FE-SEM) para (A) folha de W com aumento de 2000 vezes, (B) do eletrodo de W/WO_3 preparado por anodização em $NaF\ 0,15\ mol\ L^{-1}$, 60 V, 2h com um aumento de 20.000 vezes e 40.000 vezes (C).....	49
Figura 8. Imagem de microscopia eletrônica de alta eficiência dos eletrodos de WO_3 com o respectivo resultado das análises de EDS da região escolhida.....	50
Figura 9. Difatograma de Raio-X obtido para a folha de tungstênio antes (A) e após anodização eletroquímica em $NaF\ 0,15\ mol\ L^{-1}$ (B).....	52
Figura 10. Curva de reflectância difusa obtida para o eletrodo nanoporoso de W/WO_3 construído através da anodização em $NaF\ 0,15\ mol\ L^{-1}$. No detalhe do gráfico encontra-se o gráfico da função de Kubelka-junction, permitindo o cálculo do <i>band gap</i> do material em questão.....	53
Figura 11. Espectro da lâmpada de Vapor de Mercúrio (125W) utilizada na fotoexcitação do semiconductor construído.....	54

- Figura 12.** Curvas de fotocorrente vs potencial obtidas para o para o eletrodo nanoporoso de W/WO_3 na ausência de luz e iluminado por uma lâmpada de 125W na região Vis e UV-Vis em Na_2SO_4 (A) e $NaCl$ 0,1 mol. L^{-1} (B).....56
- Figura 13.** Quadrado da densidade de fotocorrente vs. potencial aplicado para eletrodo de W/WO_3 em $NaCl$ 0,1 mol L^{-1} sobre irradiação UV, sendo a área dos eletrodos 1 cm^2 58
- Figura 14. :** Efeito do eletrólito suporte no tratamento fotoeletrocatalítico de 10×10^6 UFCmL $^{-1}$ *C. parapsilosis* em, $NaCl$ (a) Na_2SO_4 (b) e $NaNO_3$ 0,1 molL $^{-1}$ (c), pH 7 irradiação UV-Vis (125W), $E = 1,5$ V.....59
- Figura 15.** Efeito do eletrólito suporte na mineralização de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL $^{-1}$ em eletrodo de W/WO_3 em diferentes eletrólitos suporte: (a) $NaCl$ (b) Na_2SO_4 e (c) $NaNO_3$, 0,10 mol L^{-1} , pH 7,0, $E = 1,5$ V vs. $Ag/AgCl$ e irradiação UV-Vis..... 60
- Figura 16.** Efeito da concentração de $NaCl$ na degradação fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL $^{-1}$ sobre eletrodo de W/WO_3 em diferentes concentrações de $NaCl$: 0,01 (a), 0,05 (b), 0,1 (c) e 0,2 molL $^{-1}$ (d), pH 7, $E = 1,5$ V vs. $Ag/AgCl$ e irradiação UV-Vis.....62
- Figura 17:** Formação do intermediário colorido proveniente da reação entre Cl_2 e DPD.....65
- Figura 18 -** Espectro de absorção na região do visível correspondente à concentração de cloro ativo (calibrado com permanganato de potássio). Concentrações entre: 1,00 – 50,0 mgL $^{-1}$ (A) e Curva analítica obtida para a determinação de cloro ativo (B).....65
- Figura 19:** Cromatogramas obtidos para tratamento de *C. parapsilosis* em pH 7, $NaCl$ 0,1 mol.L $^{-1}$, potencial 1,5V e radiação UV-Vis, 125W para os tempos 1 min (Curva B), 3 min (Curva D), 5 min (Curva F), 10 min (Curva H), 30 min (Curva J), 60 min (Curva L), 120 min (Curva N).....66

Figura 20. Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de <i>C. parapsilosis</i> em pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c) . Eletrólito suporte NaCl 0,1 molL ⁻¹ e irradiação UV-Vis (125W), E =1,5 V.....	67
Figura 21. Efeito do pH desinfecção fotoeletrocatalítica de <i>C. parapsilosis</i> em pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c) sob eletrodo de W/WO ₃ (E= 1,5 V vs. Ag/AgCl), em NaCl 0,10 mol L ⁻¹ e irradiação UV-Vis.....	69
Figura 22. Efeito da variação do valor do pH em relação ao tempo de fotoeletrocatalise na geração de cloro ativo utilizando eletrodo de W/WO ₃ , sob irradiação UV-Vis 125W. pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c).....	71
Figura 23. Efeito do potencial na desinfecção fotoeletrocatalítica de 1,0 x 10 ⁶ UFC mL ⁻¹ de <i>C. parapsilosis</i> em NaCl 0,1 molL ⁻¹ (pH 7) utilizando-se eletrodo de W/WO ₃ e irradiação UV-Vis com aplicação de diferentes potenciais: 0,7V (a), 1,0V (b), 1,5V(c), 2,0V(d).....	74
Figura 24. Constantes de velocidade obtidas para desinfecção fotoeletrocatalítica de 1,0 x 10 ⁶ UFC mL ⁻¹ de <i>C. parapsilosis</i> em NaCl 0,1 molL ⁻¹ (pH 7) utilizando-se eletrodo de W/WO ₃ e irradiação UV-Vis em função dos potenciais aplicados.....	75
Figura 25. Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de <i>C. parapsilosis</i> em diferentes concentrações iniciais da levedura 1,0 x10 ⁵ (a), 1x10 ⁶ (b) e 1,0 x10 ⁷ (c) UFCmL ⁻¹ em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ (pH 7), irradiação UV-Vis, E =1,5 V.....	77
Figura 26. Gráfico de porcentagem de mineralização vs. tempo para desinfecção fotoeletrocatalítica de <i>C. parapsilosis</i> utilizando diferentes concentrações iniciais do analito 1,0 x10 ⁵ (a), 1x10 ⁶ (b) e 1,0 x10 ⁷ (c) UFCmL ⁻¹ sob eletrodo de W/WO ₃ (E= 1,5 V vs. Ag/AgCl), em NaCl 0,1 mol L ⁻¹ e irradiação UV-Vis.....	78

- Figura 27.** Contagem microbiana para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em 0,1 mol L⁻¹ de NaCl, irradiação UV-Vis, E= 1,5V.....80
- Figura 28.** Gráfico de porcentagem de mineralização para o controle, fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível, na região do visível sobre eletrodo W/WO₃ (E= +1,5 V vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ no intervalo de 120 minutos em NaCl 0,01 mol L⁻¹ (pH 7), fotocatalise e fotólise.....82
- Figura 29.** Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de *C. parapsilosis* em pH 7, NaCl 0,1 mol L⁻¹, irradiação UV-Vis (125W), E =1,5 V para os 60 segundos iniciais.....84
- Figura 30.** Gráfico de porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível, na região do visível sobre eletrodo W/WO₃ (E= +1,5 V vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ no intervalo de 120 minutos em NaCl 0,01 mol L⁻¹ (pH 7).....85
- Figura 31.** Contagem microbiana e % de mineralização para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em dialisato ácido, irradiação UV-Vis, pH 2.3 e E= 1,5 V.....87
- Figura 32.** Contagem microbiana e % de mineralização para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em dialisato básico, irradiação UV-Vis, pH 7,3 e E= 1,5 V.....89
- Figura 33:** Gráfico de contagem microbiana (A) porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível (a), na região do visível (b) sobre eletrodo W/WO₃ (E= +1,5 V vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ no intervalo de 120 minutos no dialisato ácido, pH 2.3 (B).....90

Figura 34: Gráfico de contagem microbiana (A) e porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível, na região do visível sobre eletrodo W/WO₃ (E= +1,5 V vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* 1,5 x 10⁶ UFC mL⁻¹ no intervalo de 120 minutos no dialisato básico, pH 7.4, (B).....91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição e concentração dos sais utilizados em uma máquina de hemodiálise.....24

Tabela 2: Principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo fotoeletrocatalise e desinfecção.....35

Tabela 3: Parâmetros estudados, intervalos avaliados e os valores otimizados para a desinfecção fotoeletrocatalítica da levedura.....76

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ADN- Ácido desoxirribonucleico

ATCC- *American type culture collection*

BC- Banda de condução

BV- Banda de valência

C. albicans- *Candida albicans*

C. globarata - *Candida globarata*

C. metapsilosis- *Candida metapsilosis*

C. orthopsilosis- *Candida orthopsilosis*

C. parapsilosis- *Candida parapsilosis*

CI- Carbono inorgânico

COT- Carbono orgânico total

CT- Carbono total

DPD- N,N-Dietil-p-*fenilenodiamina*

DRX- Difração de Raios-X

e⁻ - Elétron

EDX- Energia dispersiva de Raios-X

E_{fb} – Potencial de banda plana

E^o- Potencial padrão de redução

EU/cm²- Unidade de endotoxina por centímetro quadrado

eV- Elétron-volt

FEC- Fotoeletrocatalise

FEC-UV-Vis – Fotoeletrocatalise realizada com irradiação na região do ultravioleta e visível

FEC-Vis- Fotoeletrocatalise realizada com irradiação na região do visível

FEG-SEM – Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução com fonte de elétrons por emissão de campo

Lista de Abreviaturas, Siglas e Unidades

h⁺ - buraco

KV- Quilovolts

m/m- Unidade de massa por massa total

MΩ cm⁻¹ - Megaohms por centímetro

nm- Nanômetro

PA- Para análise

pH- Potencial hidrogeniônico

POA- Processo oxidativos avançados

SIDA- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

UV- Ultravioleta

UV-Vis- Ultravioleta e Visível

V- Volt

W- Watts

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
1.1. Fungos e a qualidade de água	17
1.2. O gênero <i>Candida</i> : Ocorrência em ambientes hospitalares principais consequências	20
1.3. Qualidade microbiológica da água e dos fluidos usados em hemodiálise	23
1.4. Processos oxidativos avançados e a fotoeletrocatalise	26
1.5. Fotoeletrocatalise aplicada à desinfecção de águas	32
1.6. Fotoeletrocatalise realizada em NaCl como eletrólito suporte	39
2. OBJETIVO	43
3. MATERIAIS E MÉTODOS	44
3.1. Reagentes utilizados	44
3.2. Procedimento Experimental	44
3.2.1. Preparo das suspensões de <i>C. Parapsilosis</i>	44
3.2.2. Preparo do eletrodo nanoporoso de W/WO_3	45
3.2.3. Caracterização do eletrodo nanoporoso de W/WO_3	45
3.2.4. Medidas fotoeletrocatalíticas	46
3.2.5. Contagem microbiana	47
3.2.6. Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)	48
3.2.7. Determinação de cloro ativo	48
3.2.8. Cromatografia Iônica	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1. Caracterização, morfológica, física e eletroquímica do eletrodo nanoporoso de W/WO_3 construído por anodização eletroquímica	49
4.1.1. Caracterização morfológica do eletrodo de W/WO_3 preparado por anodização eletroquímica por Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução	49
4.1.2. Espectroscopia de Raios-X dos eletrodos de W/WO_3	51

4.1.3. Espectroscopia de Reflectância Difusa.....	53
4.1.4. Estudo da fotoatividade dos eletrodos de W/WO_3	55
4.2. Avaliação do efeito do eletrólito suporte na desinfecção de <i>C. parapsilosis</i> por fotoeletrocatalise	59
4.3. Efeito da concentração do eletrólito suporte na desinfecção de <i>C. parapsilosis</i> por fotoeletrocatalise	61
4.4. Análise de Cloro ativo pelo método DPD durante processo fotoeletrocatalítico.....	64
4.5. Avaliação da formação de clorato e perclorato durante a degradação fotoeletrocatalítica por cromatografia iônica	66
4.6. Influência do pH na desinfecção de <i>C. parapsilosis</i> por fotoeletrocatalise.....	68
4.7. Efeito do potencial aplicado na desinfecção de <i>C. parapsilosis</i> por fotoeletrocatalise.....	72
4.8. Influência da concentração de <i>C. parapsilosis</i> no processo de desinfecção fotoeletrocatalítica	76
4.9. Eficiência do processo fotolítico, fotocatalítico e fotoeletrocatalítico na degradação de <i>C. parapsilosis</i> sobre eletrodos nanoporosos de W/WO_3 e irradiação UV-Vis.....	79
4.10. Estudo da Influência da radiação visível na degradação de <i>C. parapsilosis</i>	83
4.10.1. Determinação dos parâmetros cinéticos da inativação de <i>C. parapsilosis</i>	83
4.10.2. Comparação entre Luz UV-Vis e Vis na degradação de <i>C. parapsilosis</i> em meio de cloreto	84
4.11. Aplicação do método na desinfecção do dialisato contendo <i>C. parapsilosis</i>	86
4.11.1 Medidas realizadas no dialisato ácido	86
4.11.2 Medidas realizadas no dialisato básico.....	88
4.11.3 Comparação entre Luz UV-Vis e Vis na degradação de <i>C. parapsilosis</i> no dialisato.....	90
5. CONCLUSÃO	92
6. EXPERIMENTOS FUTUROS	94

7. REFERÊNCIAS.....	95
---------------------	----

1 INTRODUÇÃO

A água é um elemento indispensável à vida, pois atende desde as necessidades básicas do homem para sobrevivência até a sua aplicação em atividades correlacionadas a sua qualidade de vida, tais como fonte de energia, obtenção de matéria prima de produção e via de transporte. Para a água ser considerada como potável e adequada para o consumo humano precisa atender a parâmetros físicos, químicos, microbiológicos e organolépticos pré-estabelecidos (BRASIL, 2011). Dentre estes, tem sido preocupante os parâmetros microbiológicos que influenciam a saúde diretamente. O uso inadequado da água coloca em risco o seu consumo pela contaminação direta e indireta por microrganismos patógenos (MACHADO, 2006).

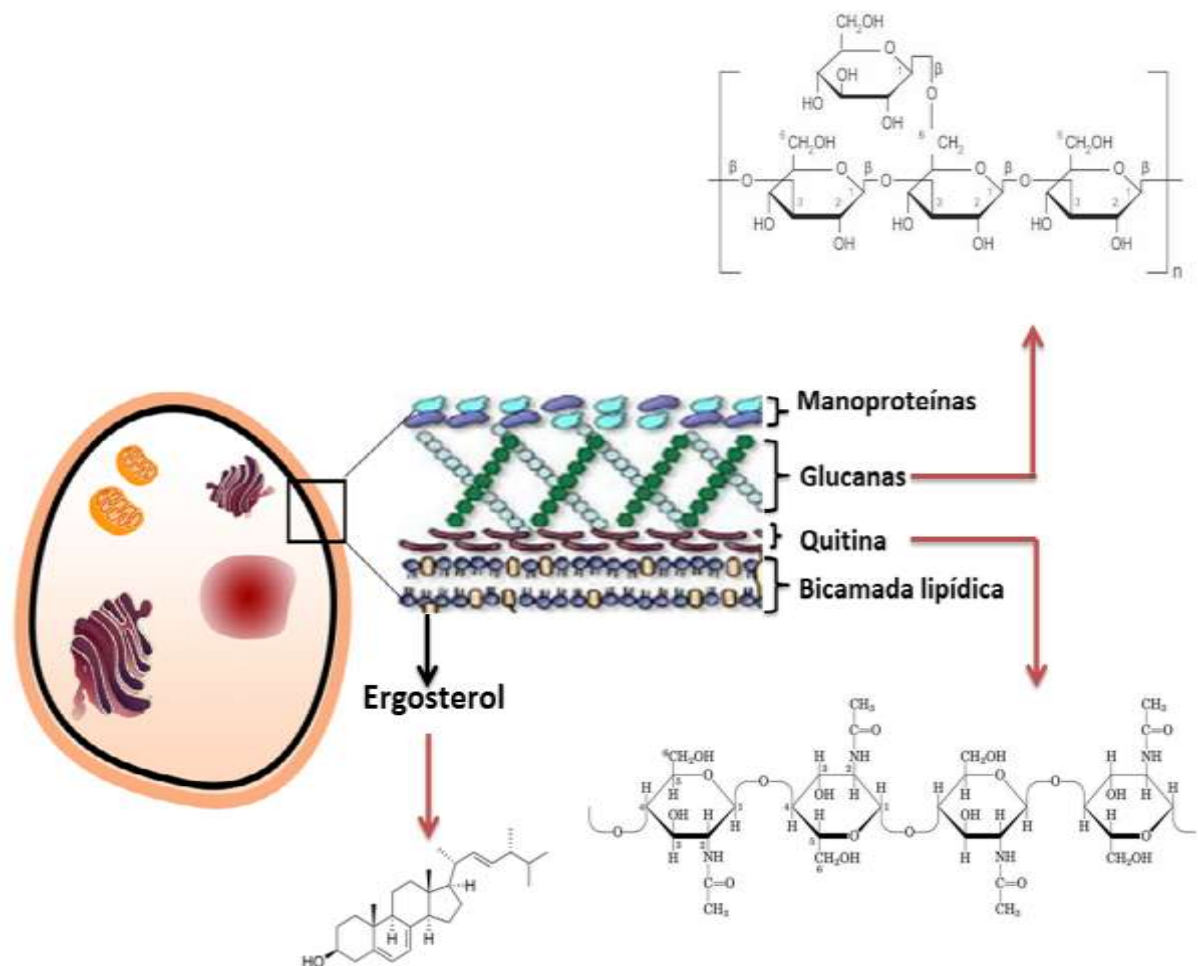
1.1 Fungos e a qualidade de água

O fornecimento de água potável com qualidade é uma crescente preocupação da humanidade. A escassez deste recurso natural e deterioração dos mananciais, ambos resultantes de ações antrópicas (BRASIL, 2006; DANIEL et al., 2001) tem sido alarmante. Segundo a Organização Mundial de Saúde, a ingestão de água contaminada é responsável pela morte de 5000 pessoas por dia no mundo, principalmente em países pobres. Na maioria das vezes, os problemas microbiológicos associados à distribuição de água potável estão relacionados com a presença de biofilmes formados pelo crescimento de microrganismos em superfícies de distribuição ou armazenamento da mesma (PIRES, 2010).

Outro problema que tem chamado atenção é a ocorrência de patologias em pacientes hemodialisados decorrente do uso de águas contaminadas. Esta tem sido, por exemplo, a segunda causa de morte em pacientes renais crônicos, que tem desenvolvido doenças infecciosas pelo uso de dialisatos não totalmente livres de microrganismos (GOLDBLUM; REED, 1980). Entre estes, destaca-se a preocupação com microrganismos pertencentes ao Reino *Fungi*.

Os fungos podem ser definidos como organismos eucariontes que possuem membrana chamada de carioteca, a qual delimita o núcleo celular. Os fungos podem ser unicelulares, ou pluricelulares. A membrana plasmática nesses organismos possui características únicas por conter o ergosterol. Este é composto por esterol e difere de animais (colesterol) e das plantas (fitosterol e β -sitosterol) pela estrutura e propriedades únicas (PELCZAR, 2005; DEACON, 2006). A Figura 1 representa esquematicamente a estrutura de uma célula fúngica genérica e seus principais constituintes.

Figura 1: Célula fúngica com destaque para os envoltórios.

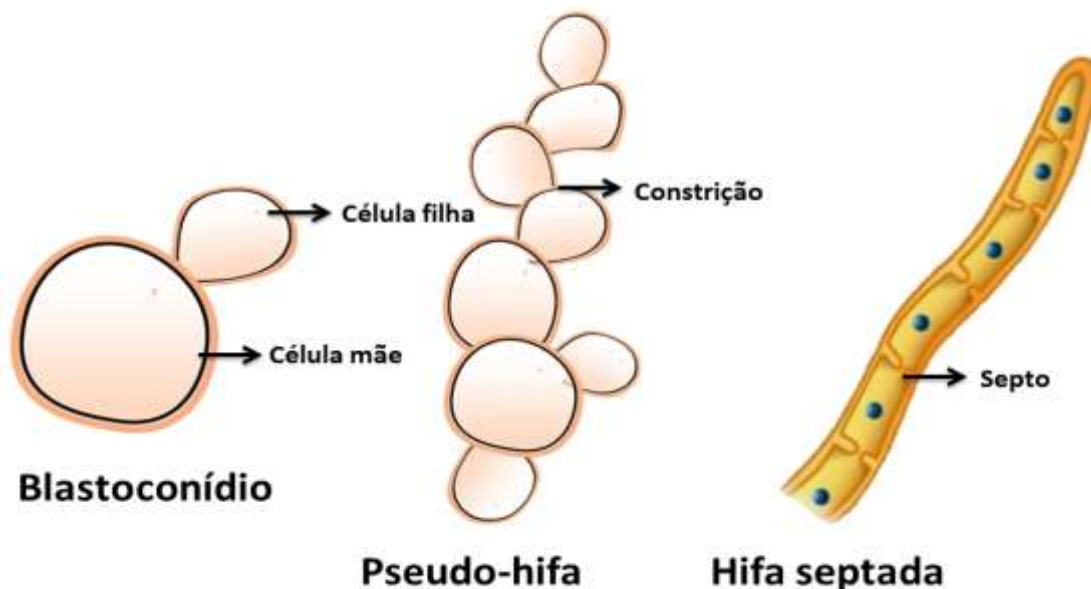


Fonte: Próprio autor.

Os fungos unicelulares mais conhecidos são as leveduras. As leveduras podem apresentar morfologia oval, arredondada ou alongada. A reprodução

pode ocorrer por via assexuada (estado anamorfo), brotamento ou fissão de células somáticas. Durante o processo de brotamento, acontece a formação do blastoconídio (broto ou gema) na superfície da levedura, que se separa, formando uma nova célula. Entretanto, em alguns casos, pode ocorrer a permanência da célula filha à célula mãe e este gerar um novo blastoconídio. A repetição deste fenômeno culmina na formação de um arranjo de células que são separadas por uma constrição no septo, originando uma estrutura denominada de pseudo-hifa. É válido lembrar que as hifas não possuem constrição em sua estrutura e sim paredes celulares paralelas a seus septos, como pode ser visto na Figura 2. Há leveduras que se reproduzem sexuadamente (estado teleomorfo), como as ascoporogeneas, por exemplo, (TORTORA et al., 2000).

Figura 2: Representação gráfica de um blastoconídio, pseudo-hifa e a diferença entre uma hifa septada.



Fonte: Próprio autor.

Dentre as leveduras, encontram-se as espécies de *Candida*, pertencentes à divisão *ascomycota* capazes de causar inúmeras enfermidades ao homem (PELCZAR, 2005).

1.2 O gênero *Candida*: Ocorrência em ambientes hospitalares principais consequências

O gênero *Candida*, como já salientado, pertence ao Reino *Fungi*, Filo *Ascomycota*, Classe *Saccharomycetes*, Ordem *Saccharomycetales*, Família *Saccharomycetaceae* (GUARRO et al., 1999; RIBEIRO et al. 2004; BUTLER et al., 2010).

As leveduras do gênero *Candida* possuem dimorfismo invertido. Isso quer dizer que, ao contrário dos demais fungos dimórficos, essas espécies crescem como leveduras durante a fase saprofítica e filamentam-se quando expostos a temperaturas em torno de 35°C e 37°C, com exceção de *C. glabrata*, que se trata de um organismo haplóide (TORTORA et al., 2000; BRANDT et al., 2011). Em adição, tais leveduras apresentam-se normalmente como células individuais e se replicam de maneira assexuada por blastoporação e gemulação. (SCHLUZE; SONNENBORN, 2009).

De acordo com o trabalho publicado por TROFA et al. (2008), desde os anos 80, os fungos surgiram como as principais causas de doenças humanas, especialmente entre indivíduos imunocomprometidos e os pacientes hospitalizados com condições subjacentes de gravidade elevada.

As espécies pertencentes ao gênero *Candida* tem sido os agentes mais frequentemente isolados em recintos hospitalares e correspondem a 80% das infecções fúngicas de origem hospitalar (TAMURA et. al, 2008). Além disso, tais espécies constituem a quarta causa de infecções nosocomiais relatadas na literatura (BARADKAR et al, 2008). Em especial, *Candida parapsilosis* é o segundo agente etiológico isolado mais frequentemente em hemoculturas, sendo responsável por uma grande variedade de manifestações clínicas que ocorrem em, sua grande maioria, em indivíduos imunocomprometidos (MEDRANO, 2006; TROFA et. al., 2008; NASCIMENTO et al., 2010).

O primeiro relato de *C. parapsilosis* na literatura se deu por volta de 1928, quando Ashrford a isolou a partir das fezes de um paciente com diarreia em Porto Rico no ano de 1928 (ASHFORD, 1928; NUCCI et. al., 2010).

Inicialmente, *C. parapsilosis* recebeu o nome de *Monila parapsilosis* visto que era uma espécie semelhante à *Monila psilosis* (hoje conhecido como *Candida albicans*) incapaz de fermentar maltose. Apesar de não ser considerado como patogênico inicialmente, *C. parapsilosis* foi identificado como o agente responsável pelo um caso fatal de endocardite em uma via intravenosa de um usuário de drogas em 1940. A partir daí, pesquisadores prenunciaram a ligação de *C. parapsilosis* com instrumentação médica (JOACHIM; POLAYES, 1940; TROFFA et al., 2010).

Anteriormente, a espécie *C. parapsilosis* representava um complexo constituído por três grupos geneticamente distintos (grupo I, II e III). Atualmente, de acordo com Tavantini et al. (2005), estes grupos foram renomeados em espécies distintas, porém estreitamente relacionadas: *C. parapsilosis* sensu stricto, *C. orthopsilosis*, e *C. metapsilosis*. *Candida parapsilosis* é considerada um membro da população microbiana endógena em indivíduos saudáveis. Entretanto, o desfecho da interação do microrganismo e hospedeiro depende da virulência do mesmo e da suscetibilidade do hospedeiro, pois espécies comensais podem se tornar patógenos oportunistas, explorando as fragilidades locais ou sistêmicas na resistência do hospedeiro e invadir tecidos estéreis, danificando-os (MARETTO, 2014).

Ademais, *C. parapsilosis* apresenta várias características biológicas, sendo algumas relacionadas com a sua virulência, pois tem a facilidade em formar biofilmes nos dispositivos médicos implantados, o que aumenta a sua adesão a tais equipamentos e contribui para a produção de enzimas extracelulares. Além disso, expressa diferentes fenótipos e possui a capacidade de proliferar na presença de concentrações elevadas de glicose e lipídios (SILVA, 2012). Embora *C. parapsilosis* seja muitas vezes considerado como um organismo menos virulento, quando comparado à *C. albicans*, foi dessa espécie o maior aumento na incidência desde 1990, o que vem despertando uma significativa atenção para esse patógeno emergente (NOSECK, 2009; TROFFA et al., 2008; MARETTO, 2014).

Pacientes imunocomprometidos, tais como pacientes com SIDA, pacientes cirúrgicos e aqueles que necessitam de prolongado uso de cateter venoso, como os hemodialisados e pacientes de câncer possuem um risco

acrescido para a infecção com *C. Parapsilosis* (PIRES, 2010; CORTI et al., 2013).

A infecção na corrente sanguínea ocasionada por leveduras do gênero *Candida* é denominada de candidemia e muitas vezes conhecida como a “doença do doente”. A candidemia pode resultar na formação de micro abscessos renais hepatoesplênicos, endocardite, meningite, atrite, osteomielite, dentre outros (BARBEDO, SGARBI, 2010; VALLE et al., 2010; ARRAES, 2012). A candidemia é considerada como a maior causa de mortalidade em pacientes em tratamento de hemodiálise, os quais utilizam enormes quantidades de água potável para o funcionamento de “rins artificiais” (PYRGOS et al., 2009). A *Candida* spp. provoca um grande espectro de infecções que vão desde uma simples candidíase na pele e em mucosas até infecções mais graves e letais (MIRANDA, 2001).

Em alguns casos, *C. parapsilosis* tem ultrapassado *C. albicans* entre as espécies que causam candidemia. Dentre os anos de 1997 e 1999 espécies de *Candida* foram responsáveis por 102 hemoculturas positivas em um hospital na Malásia, das quais 51% eram identificados com *C. parapsilosis* e apenas 11,8% como *C. albicans* (TROFFA et al., 2008). Outro estudo realizado na América do sul mostrou que *C. parapsilosis* representa 34,9% de todos os isolados, em quanto *C. albicans* foi responsável por 30,2% (MUJICA et al., 2004). Aqui no Brasil, um trabalho realizado na cidade de Fortaleza no ano de 2006, verificou que das 50 culturas de sangue realizadas, 18 continham a presença de *C. parapsilosis*, enquanto que 14 cresceram *C. albicans* (MEDRANO et al., 2006).

Cappelli et al. (2005) reportam a detecção de biofilmes presentes no circuito hidráulico de máquinas de hemodiálise, particularmente nos setores de baixo fluxo, espaços mortos e ultrafiltros, com uma concentração microbiana na ordem de 1×10^3 a 1×10^6 células/cm² e nível de endotoxina na faixa de 1-10 EU/cm². A liberação de endotoxinas produzidas por esse microrganismo, constituintes da parede celular ou fragmentos de ADN no dialisato podem induzir a produção de citocinas integrantes da resposta autoimune (PIRES, 2010).

1.3 Qualidade microbiológica da água e dos fluidos usados em hemodiálise

Em um centro de hemodiálise, enormes quantidades de água são utilizadas para diluir os concentrados para produzir fluido de diálise e geralmente a água é purificada no local através do uso de unidades de osmose reversa. Para ser realizada uma diálise em um paciente é imprescindível avaliar a qualidade química e microbiológica da água que está sendo utilizada. Contudo, é válido ressaltar que a qualidade microbiológica da água, não depende da unidade de osmose reversa, mas na manutenção de todo o sistema. Dependendo do método de análise microbiológica, a água pode ser considerada dentro do padrão, mesmo que na realidade possa se encontrar fora das recomendações ideais. Sendo assim, é necessário haver uma padronização dos métodos de análise, com cultivo adequado de amostras de água. Com isso, a precisão dos testes será melhor e, como resultado, as unidades de diálise poderão usar os seus recursos para manter os sistemas de água em boa forma, de forma preventiva, com um sistema de desinfecção de qualidade (NYRSTRAND, 2008).

O fluido de diálise é constituído por até 99% da água purificada em sistema de osmose reversa com produtos químicos adicionados, tais como sais de cloreto e carbonato (PIRES, 2010). Uma unidade de diálise de tamanho médio produz mais de um milhão de litros de diálise como resíduo por ano. Em escala mundial, a produção de líquido de diálise é por volta de vinte e cinco milhões de litros, tornando este um dos maiores produtos por volume utilizado na medicina (NYSTRAND, 2008). A Tabela 1 reúne os principais componentes adicionados à água de osmose reversa para a formação do dialisato.

Tabela 1: Composição e concentração dos sais utilizados em uma máquina de hemodiálise

Componentes	Solução básica (pH 7.5 a 8.2)	
	Concentração (mEq/L)	Quantidade (g\L)
NaCl	20	23.6
NaHCO₃	39	65.9
H₂O		QS 1L
	Solução ácida (pH 1.7 a 2.6)	
	Concentração (mEq/L)	Quantidade (g\L)
NaCl	80	172.20
KCl	02	5.50
CaCl₂.2H₂O	2.5	8.00
MgCl₂.2H₂O	1.0	3.72
H₂O		QS 1L

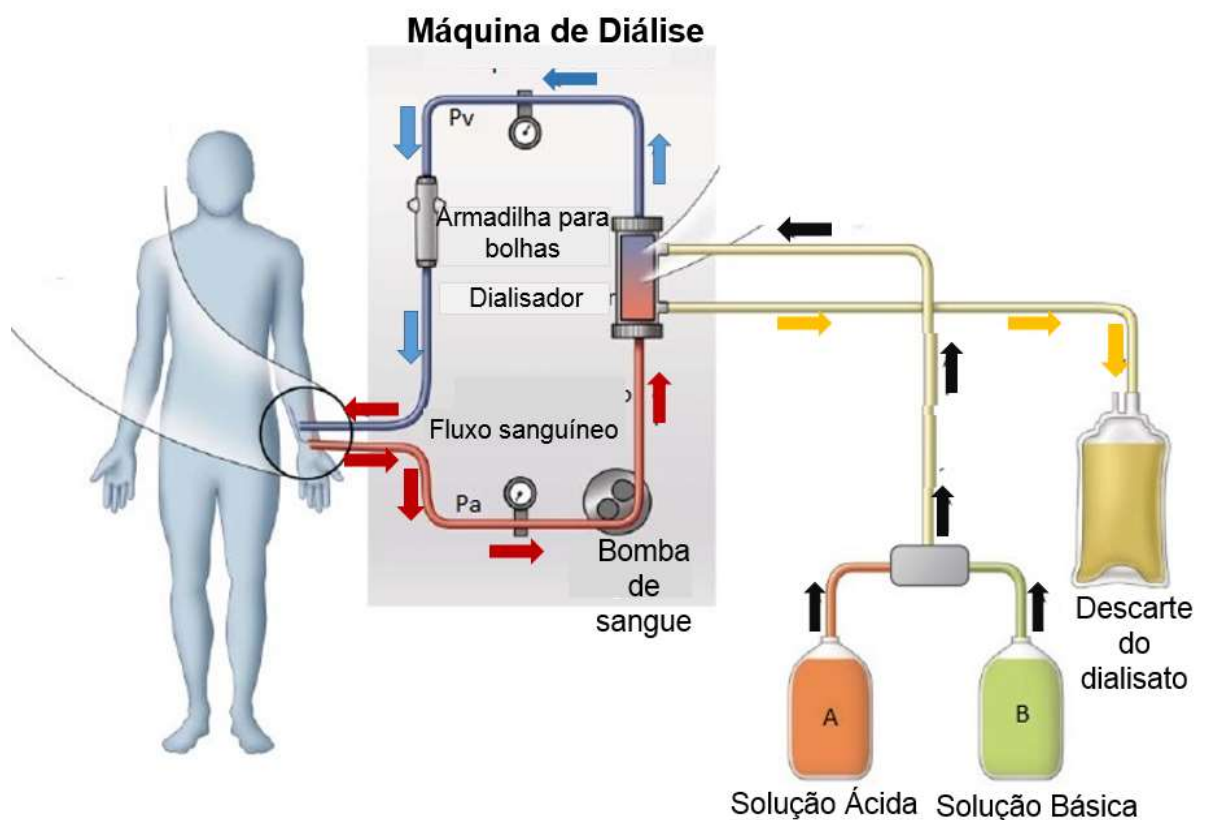
O dialisato é então preparado pela mistura dos concentrados ácidos e básicos, sendo a proporção de 4,9 mL de concentrado ácido para 2,7 mL de concentrado básico em 92,4 mL de água.

A análise dos dados apresentados na Tabela 1 indica que nas sessões de hemodiálise são empregadas duas soluções concentradas, sendo uma básica e outra ácida. Tal estratégia é utilizada com a finalidade de evitar precipitações e, principalmente, as reações adversas atribuídas ao acetato, utilizado como tampão em sistemas mais antigos. Durante a sessão, o paciente é submetido ao tratamento utilizando a mistura das duas soluções que são continuamente aspiradas, constituindo o banho de diálise e com pH resultante

na faixa de 6,8 a 7,3, sem risco de proporcionar a precipitação de sais de cálcio ou magnésio. (BRASIL, 2008).

Conforme pode ser visto na Figura 3, durante o processo de hemodiálise, o sangue é obtido por um acesso endovenoso. Este é impulsionado por uma bomba de diálise em direção ao dialisador, região onde esse é exposto ao dialisato, previamente preparado, por meio de uma membrana semipermeável, permitindo desta forma as trocas de substâncias entre o sangue e a solução de diálise. Após ser retirado do paciente e passado pelo dialisador, o sangue é então devolvido ao paciente pelo acesso vascular. Desta maneira, cada paciente é exposto a volumes de água que variam de dezoito mil a trinta e seis mil litros de água por ano. Portanto, se a água não for corretamente tratada, vários contaminantes químicos e bacteriológicos possivelmente tóxicos poderão ser transferidos para o paciente, causando danos ao mesmo (SILVA et al., 1986).

Figura 3: Ilustração do processo de hemodiálise



Fonte: Adaptado de Darvasula; Himmelfarb (2013).

Em geral, a inativação de microrganismos patogênicos na água é essencial para garantir o seu uso seguro. Para solucionar os problemas relacionados à presença de contaminantes biológicos em águas, usam-se os processos de desinfecção capazes de promover a inativação de microrganismos patogênicos. Dentre os diferentes métodos, destacam-se os tratamentos baseados na aplicação direta de energia na forma de calor, radiação ultravioleta, radiação ionizante, microondas, ultrassom e fotocatalise (BRASIL, 2006).

Os processos químicos de desinfecção consistem na adição de agentes químicos como hipoclorito de sódio, dióxido de cloro, ozônio, peróxido de hidrogênio e permanganato de potássio em amostras de água. Dentre eles, o método mais convencional de desinfecção de água consiste no tratamento com cloro ou bromo da amostra em questão. No caso de muitas estações de hemodiálise, este tratamento se dá com a administração de agentes a base de cloro na água a ser utilizada futuramente no dialisato. Contudo, tal atividade pode promover a formação de trialometanos, como por exemplo, o clorofórmio, apresentando alto risco à saúde humana por ser carcinogênico (BRASIL, 2006).

Devido às desvantagens inerentes à administração de cloro ativo em água para eliminação de microrganismos, inúmeras alternativas de desinfecção de águas estão sendo propostas. Em decorrência ao seu baixo custo, alta eficiência no tratamento e compatibilidade ambiental, a desinfecção por métodos oxidativos avançados emergiu como uma alternativa promissora para a desinfecção primária e residual (LIU et al., 2011).

1.4 Processos oxidativos avançados e a fotoeletrocatalise

Os processos oxidativos avançados (POAs) possuem a capacidade de oxidar uma quantidade significativa de compostos orgânicos de estrutura complexa e vem despertando a atenção por serem mais sustentáveis em longo prazo. O fundamento básico dos POAs é a geração de radicais hidroxilas via reações catalisadas pela ação da luz ou substâncias químicas. Em

consequência da alta reatividade ($E^\circ = 2,8V$ contra o eletrodo padrão de hidrogênio/ENH), o radical hidroxila pode promover a oxidação de uma infinidade de compostos orgânicos a espécies inócuas como água e CO_2 (NOGUEIRA; JARDIM, 1996).

A oxidação química pode ser definida como uma reação na qual os elétrons são removidos a partir de uma substância aumentando a seu estado de oxidação (BOCKRIS, 1977). As reações que envolvem agente oxidante tal como H_2O_2 e O_3 são termodinamicamente favorecidas. No entanto, podem ser cineticamente lentas. Na presença de radicais livres altamente oxidantes, tais como os radicais hidroxila ($\bullet OH$), poderia se obter as taxas de reação maiores em comparação com a situação com outros agentes oxidantes como, por exemplo, peróxido de hidrogênio (RAJESHWAR et al., 1997).

A geração de radicais hidroxila ($\bullet OH$) é um passo essencial para a eficiência dos processos oxidativos avançados (CHAPLIN, 2014). Eles são formados, por exemplo, através da oxidação da água na sobre a superfície de, um semicondutor fotoexcitado, como mostrado na Figura 4.

Estas espécies químicas são eficazes na destruição de produtos químicos orgânicos porque são eletrófilos que reagem rapidamente e não seletivamente com quase todos os compostos orgânicos ricos em elétrons (CHAPLIN, 2014; ZHUO et al., 2011). Além disso, estes reagem com uma vasta gama de produtos orgânicos recalcitrantes, muitas vezes limitados em processos convencionais (CARTER, 2008).

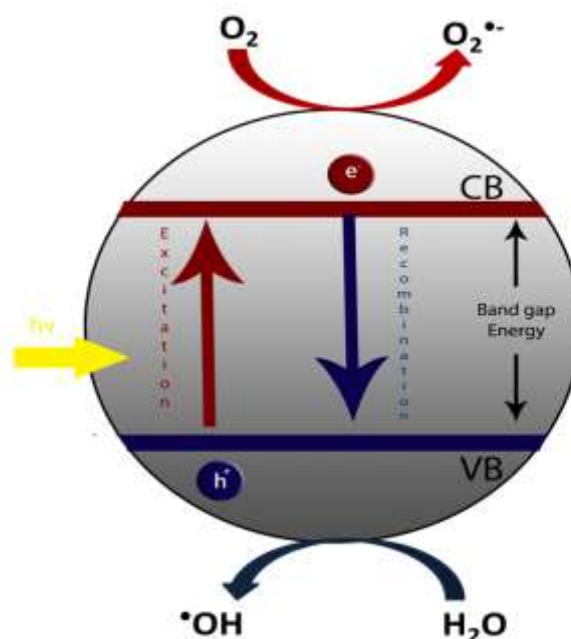
Desde o trabalho publicado por Fujishima e Honda (1972), o qual descreve a oxidação da água em uma suspensão de TiO_2 numa célula fotoeletroquímica, promovendo a geração de gás hidrogênio e oxigênio, houve um aumento importante na investigação dedicada à compreensão dos processos fotocatalíticos que envolvem a oxidação da água e todos os íons inorgânicos.

Matsunaga et. al. (1985) realizaram uma investigação cuja qual consistiu na primeira reportagem na literatura envolvendo fotocatalise e desinfecção, abrindo perspectivas para trabalhos futuros. Eles comunicaram à sociedade

científica um novo conceito para esterilização fotoquímica utilizando partículas de platina suportadas com dióxido de titânio, TiO_2/Pt . De acordo com o autor, a Co-enzima A presente nas células é oxidada pelos radicais formados, promovendo à inibição da atividade respiratória e consequente a morte celular. Diante desta premissa, suspensões de *Saccharomices cerevisiae*, *Lactobacillus acidophilus* e *Escherichia coli* foram incubadas em um reator fotoquímico juntamente com as partículas de TiO_2/Pt e Co-A, resultando em uma diminuição da concentração de Co-A concomitantemente à inativação dos microrganismos.

A fotocatalise heterogênea (Figura 4) tem como princípio básico a ativação de um material semiconductor, como por exemplo, TiO_2 ou WO_3 por irradiação de luz. Um semiconductor é um material que possui propriedades de condução elétrica intermediárias entre aquelas inerentes a um material condutor e isolante. Bandas de valência (BV) e bandas de condução (BC) são características de materiais semicondutores e a região localizada entre essas bandas é denominada como “*band gap*”. (FINKLEA, 1988).

Figura 4: Representação esquemática de um semiconductor fotoexcitado



Fonte: Próprio autor.

Quando o semicondutor absorve fótons com energia superior à energia de “*band gap*”, ocorre a promoção do elétron, antes presente na banda de valência, para a banda de condução, culminando no aparecimento de um buraco na banda de valência. Os buracos existentes na BV podem propiciar a oxidação de moléculas de água adsorvidas na superfície do semicondutor, levando à formação de radicais $\bullet\text{OH}$ que, como já salientado, possuem alta reatividade. Cabe ressaltar que a eficiência da fotocatalise está na competição que se estabelece entre o processo de formação do radical hidroxila pelo buraco gerado e o processo de recombinação do par elétron/buraco (NOGUEIRA; JARDIM, 1996).

O buraco formado na superfície do fotocatalisador (tipo n, por exemplo) pode propiciar à oxidação de espécies adsorvidas na superfície de semicondutor e/ou a oxidação de água, levando à formação de radical hidroxila, o qual pode atuar na degradação do material orgânico presente. Diferentes mecanismos podem ser propostos:

- a) A matéria orgânica (MO), como a parede celular de um microrganismo, por exemplo, adsorve na superfície do fotocatalisador e pode ser oxidada pelo buraco formado na banda de valência (h^+), formando um cátion o qual pode reagir rapidamente com o oxigênio (ANDREOZZI et al., 1999);



- b) Dependendo do semicondutor escolhido e o pH do sistema, a água adsorvida sobre a superfície é oxidada de radicais hidroxila através do buraco formado na banda de valência (ANDREOZZI et al., 1999). Como mencionado anteriormente, o radical hidroxila tem um alto poder de oxidação e pode promover a oxidação das espécies presentes no sistema, subsequentemente;



- c) Outras espécies de radicais de oxigênio formados por captura de elétrons fotogerados no cátodo podem promover o processo de oxidação secundariamente (WONG et al., 1995; LINSEBIGLER et al., 1995);



Com o intuito de conhecer melhor o mecanismo de ação biocida de um sistema fotocatalítico, CHO et al., (2004) estudaram a correlação linear entre a concentração do radicais $\bullet OH$ e inativação de *E. coli* sob tratamento por fotocátalise usando eletrodos de TiO_2 . Sabe-se que as espécies reativas de oxigênio (EROs) e radicais $\bullet OH$ são os radicais livres que desempenham o papel de promover as reações radicalares subsequentes, culminando na degradação da matriz orgânica presente no meio reacional. Todavia, há alguma controvérsia sobre a atuação dos principais fotooxidantes (buraco ou radical hidroxila). No entanto, a maioria dos trabalhos sugere que os radicais hidroxilas formados pela oxidação da água são as espécies oxidantes primárias responsáveis pela inativação de *E. coli* no processo de fotocátalise.

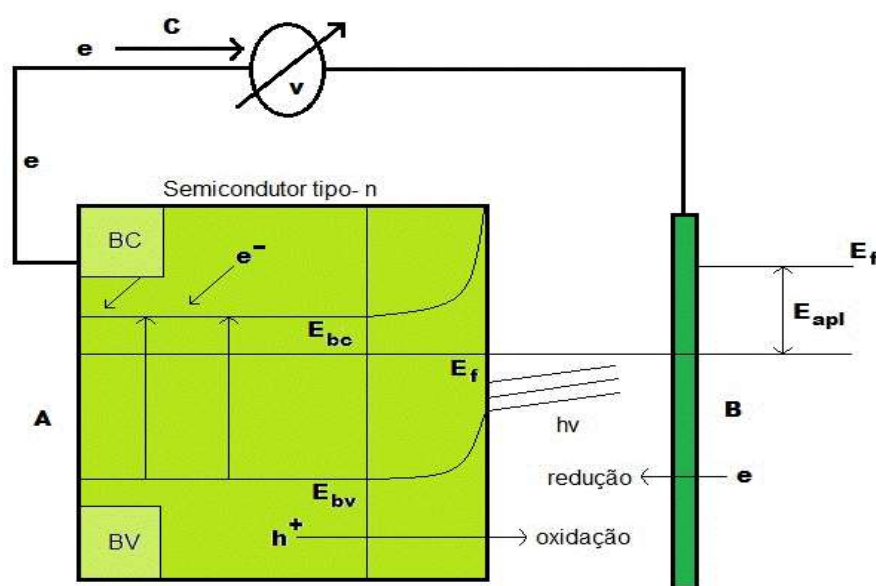
Embora a oxidação fotocatalítica seja uma boa opção para a desinfecção de água, o seu desempenho é muito restrito pela rápida recombinação do par elétron-buraco (e/h^{+}) que resulta na liberação de calor. A velocidade de fotodegradação pode ser limitada por adsorções superficiais, transferência de carga, transporte de reagente ou produto gerado na superfície do semicondutor e recombinação das cargas fotogeradas em sistema onde o catalisador está suportado em um substrato. Tal limitação corrobora com uma baixa eficiência quântica para a geração de radicais na superfície do semicondutor, que é de aproximadamente 4%. Como uma primeira aproximação, a origem do baixo rendimento quântico é a velocidade de recombinação entre elétrons e buracos em relação à transferência de carga a aceptores em solução (BLESÁ, 2001; BRUGNERA, 2013).

Para atender a necessidade de melhorar a eficiência do processo fotocatalítico, diversas metodologias são adotadas tais como: uso de dopantes, agentes de sacrifício e fotoeletrocátalise (FEC). Esta consiste na introdução de

um potencial de polarização no ânodo revestido com o fotocatalisador (LENG et al., 2006; WALDNER et al., 2003; BYRNE et al., 1998). O processo FEC minimiza a recombinação porque cria no material um gradiente de potencial suficiente para promover o entortamento de bandas na interface e propiciar o fluxo de elétrons da banda de condução do ânodo para o cátodo, utilizado como contra eletrodo no sistema. Isso aumenta a disponibilidade de buracos e consequentemente dos radicais $\bullet\text{OH}$ na superfície do fotoânodo que são capazes de promover a degradação de compostos orgânicos presentes no meio, como por exemplo, a parede celular de um fungo (LENG, 2006).

A aplicação de um potencial maior ou igual ao potencial de banda plana (*flat band*) do semiconductor concomitante à irradiação eletromagnética maior ou igual ao potencial de banda proibida (*band gap*) do material é a chave da técnica de fotoeletrocatalise. A Figura 5 resume graficamente um reator fotoeletroquímico.

Figura 5: Representação esquemática de um reator fotoeletrocatalítico usando um semiconductor tipo n sob incidência de luz com $\lambda < E_{Bg}$. Os principais constituintes são: (A) fotoânodo, (B) cátodo e (C) potenciostato.



Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Figura 5, observa-se que, sob gradiente de potencial, os elétrons gerados pela irradiação de luz são redirecionados para o cátodo, promovendo a minimização da combinação entre os buracos (h^+) originadas na banda de valência e os elétrons presentes na banda de condução do semiconductor em questão. A oxidação da água pelos buracos gerados pode formar radicais hidroxilas ($\bullet OH$) com alto poder oxidante. (FINKLEA, 1988).

Dentro deste contexto, investigar a potencialidade da fotoeletrocatalise como alternativa para a inativação de microrganismos (BRUGNERA, et al., 2012; BRUGNERA, 2013) principalmente fungos pode ser altamente relevante, principalmente em sistemas para tratamento de agua de hemodiálise.

1.5 Fotoeletrocatalise aplicada à desinfecção de águas

Butterfield et al. (1995) são autores da primeira aplicação de fotoeletrocatalise na desinfecção de água. O estudo se baseou na desinfecção de soluções contaminadas por *E. coli* e esporos de *C. perfringens* utilizando um filme imobilizado de TiO_2 . A inativação de ambos os microrganismos após 25 minutos de tratamento fotoeletrocatalítico foi um resultado muito promissor, abrindo perspectivas para a realização de novos estudos.

O estudo realizado por Christensen (2003) foi uns dos trabalhos pioneiros que envolvem fotoeletrocatalise e desinfecção. Neste trabalho foram utilizados dois eletrodos de TiO_2 , obtidos por via térmica e método sol-gel. Uma vez preparados, estes foram aplicados na inativação de suspensões com concentrações em torno de 10^6 e 10^7 UFC mL^{-1} de *Escherichia. Coli*. Os autores demonstraram que a fotoeletrocatalise pode ser uma técnica satisfatoriamente utilizada para inativação de microrganismos, visto que foi verificada 100% e 95% de morte microbiana após 25 minutos de tratamento para os eletrodos obtidos por via térmica e método sol gel, respectivamente. Neste mesmo trabalho, foi estudada a influência da presença do íon carbonato no meio reacional onde foi realizada a degradação e observou-se um aumento

na porcentagem de microrganismos vivos após os 25 minutos de tratamento por FEC, diminuindo a eficiência do método.

Posteriormente, Egerton et al. (2006) utilizaram um reator fotoeletrocatalítico para a oxidação das soluções de nitrofenol inoculadas com *E. coli*, utilizando TiO_2 como semicondutor, o qual foi fotoexcitado perpendicularmente por luz UV e obtiveram resultados bem promissores, foi constatada uma degradação de 80% do nitrofenol inicial e 100% de morte microbiana após 25 minutos de tratamento. BARAM et al. (2009) investigaram a eficiência do eletrodo de nanotubos de TiO_2 confeccionado eletroquimicamente, cujo qual foi aplicado na inativação de *E. Coli*. O eletrodo apresentou uma fotocorrente relativamente alta e rápida inativação de 10^6 UFC mL^{-1} em 10 minutos de reação, mostrando-se mais efetivo que o pó Degussa P25.

Selcuk (2010) reportou a desinfecção de *E. coli* e detectou a formação de subprodutos provenientes do tratamento fotoeletrocatalítico desta bactéria utilizando TiO_2 . A formação de trialometanos foi observada quando as medidas eram realizadas em presença de cloreto. Neste trabalho também foi verificada que, na presença de íons H_2PO_4^- e HCO_3^- tem-se a inibição da inativação da bactéria, sendo possível obter 60% de mineralização após 30 minutos de tratamento. No mesmo ano, a aplicação do compósito Ag- TiO_2 e Cu- TiO_2 suportado em um substrato de grafite para desinfecção de água contaminada com *E. coli* foi realizada por Rahmawati et al. (2010). O método desenvolvido teve um melhor rendimento para o material modificado com prata, tendo uma porcentagem de inativação de 87% após 30 minutos de tratamento fotoeletrocatalítico, contra 83,1% e 79,7% para eletrocatalise e fotocatalise, respectivamente.

A Tabela 2 compila os principais resultados encontrados na literatura para a aplicação da técnica de fotoeletrocatalise. A maioria dos trabalhos envolve o uso de TiO_2 como semicondutor e o microrganismo mais estudado é a *E. coli*. Dentre os trabalhos que estudam outros tipos de microrganismos, pode-se destacar a inativação do bacteriófago M2-2 através do uso de semicondutores de TiO_2 revestidos com óxido de índio-estanho (ITO) e

fotoeletrocatalise. O trabalho também reporta a inativação de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, esporos de *Bacillus subtilis* e *Cryptosporidium parvum*, sendo este último pertencente ao reino *Protozoa*, diferente dos demais que são classificados bactérias. É importante ressaltar que todos os organismos são patogênicos, mostrando a relevância do estudo desenvolvido (CHO et al., 2010).

Outro trabalho interessante foi realizado por Brugnera et al. (2013). Neste trabalho é reportada a inativação de *Mycobacterium smegmatis* após 30 minutos de tratamento através da irradiação na região do visível ao semiconductor composto por Ti/TiO₂-Ag. O método proposto também foi aplicado para uma população em torno de 5×10^8 UFC mL⁻¹ de *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium avium*, onde se obteve uma mineralização de aproximadamente 99,99% do material orgânico após 240 minutos de tratamento e inativação de 3 minutos para estas micobactérias a uma concentração de $7,5 \times 10^4$ UFC mL⁻¹. Em 2014, Brugnera et al. evidenciam a inativação após 3 minutos de tratamento fotoeletrocatalítico dos patógenos *Mycobacterium fortuitum*, *M. chelonae*, e *M. abscessus*, utilizando eletrodos de Ti/TiO₂. Os metabólitos liberados durante a lise celular também foram degradados após 240 minutos e verificou-se uma mineralização superior a 70%.

Brugnera (2013) mostra que o método proposto para a inativação de micobactérias usando a técnica de fotoeletrocatalise em meio de sulfato sobre Ti/TiO₂ como eletrodo também apresenta bom desempenho quando testado para desinfecção de soluções contendo as leveduras *C. orthopsilosis* e *C. parapsilosis*, tanto na forma livre como na forma de biofilme aderidos aos materiais de vidro, silicone, teflon e PVC. Para estas, foi possível obter 99,99% de desinfecção após 3 min de tratamento quando na forma livre.

Tabela 2: Principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo fotoeletrocatalise e desinfecção

Tipo de Eletrodo	Método de Síntese	Microrganismo alvo	Principais resultados	Referência
Ti/TiO ₂	Sol-gel	<i>E. coli</i> <i>Clostridium perfringes</i>	Inativação da bactéria após 25 min	BUTTERFIELD et al., 1996
Ti/TiO ₂	Via térmica Sol-gel	<i>E. coli</i>	Inativação de 95% das bactérias após 25 min e aplicação de 1,0V como potencial para os eletrodos construídos por via térmica, mais eficientes em relação os construídos por sol-gel.	HARPER et al., 2001
Ti/TiO ₂	Via térmica Sol-gel	<i>E. coli</i>	Inativação após 25 min de tratamento. Os eletrodos construídos por via térmica são mais resistentes ao envenenamento por íons H ₂ PO ₄ ⁻ e HCO ₃ ⁻ em relação aos produzidos por sol-gel.	CHRISTENSEN et al., 2003
Fe dopado com TiO ₂	Sol-gel	<i>E. coli</i>	Inativação de <i>E. coli</i> após 25 minutos de tratamento.	EGERTON et al., 2005
Ti/TiO ₂	Via térmica Sol-gel	<i>E. coli</i>	Inativação das bactérias após 25min em uma suspensão contendo nitrofenol.	EGERTON et al., 2006

Continuação Tabela 2: Principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo fotoeletrocatalise e desinfecção

Tipo de Eletrodo	Método de Síntese	Microrganismo alvo	Principais resultados	Referência
Ti/TiO ₂ (Nanotubo)	Anodização eletroquímica	<i>E. coli</i>	Inativação da bactéria a uma concentração na ordem 10 ⁶ UFC mL ⁻¹ em 10 minutos de reação	BARAM et al., 2009
W/WO ₃	Anodização eletroquímica	<i>M. aeruginosa</i>	Degradação de <i>M. aeruginosa</i> e suas microcistinas. Foi verificada uma remoção de COT de aproximadamente 95% após 180 min de degradação.	FRAGA et al., 2009
Ti/TiO ₂	Deposição de TiO ₂ no substrato por dip coating	<i>E. coli</i>	A inativação de 10 ³ UFC mL ⁻¹ de <i>E. coli</i> seguiu uma cinética de primeira ordem, enquanto que os parâmetros tais como potencial aplicado, tipo de semicondutor e concentração de microrganismos desempenham um papel importante que afeta a velocidade de reação.	PHILIPPIDS et al., 2010

Continuação Tabela 2: Principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo fotoeletrocatalise e desinfecção

Tipo de Eletrodo	Método de Síntese	Microrganismo alvo	Principais resultados	Referência
Ag-TiO ₂ /G Cu-TiO ₂ /G	Deposição química Modificação com Ag e Cu por eletrodeposição	<i>E. coli</i>	Melhor desenvolvimento para o eletrodo modificado com prata. Foi obtido um porcentual de desinfecção de 89,7% para este eletrodo após 25 min de tratamento.	RAHMAWATI et al., 2010
Ti/TiO ₂	Sol-gel	<i>E. coli</i>	A formação de trialometanos foi observada quando as medidas eram realizadas em presença de cloreto. Foi verificada a inibição da inativação da bactéria que, quando há a presença de íons H ₂ PO ₄ ⁻ e HCO ₃ ⁻ .	SELCUK, 2010
Ti/TiO ₂ (Nanotubo)	Anodização eletroquímica	<i>C. orthopsilosis</i> <i>C. parapsilosis</i>	Foi possível obter 100% de desinfecção após 3 min de tratamento para uma concentração em torno de 10 ⁶ UFC mL ⁻¹ .	BRUGNERA, 2013

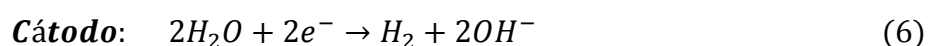
Continuação Tabela 2: Principais trabalhos encontrados na literatura envolvendo fotoeletrocatalise e desinfecção

Tipo de Eletrodo	Método de Síntese	Microrganismo alvo	Principais resultados	Referência
Ag-Ti/TiO ₂ (Nanotubo)	Anodização eletroquímica	<i>M. smegmatis</i> <i>Mycobacterium kansasii</i> <i>Mycobacterium avium</i>	O método desenvolvido se mostrou eficiente para a inativação destas espécies após 3 min. Observou degradação de 100% do material orgânico após 240 minutos de reação.	BRUGNERA et al., 2013
Ti/TiO ₂	Hidrólise do butóxido de titânio	<i>E. coli</i>	Neste trabalho foi feita uma comparação entre as técnicas de fotocatalise e fotoeletrocatalise para sistemas PEC-Br e PEC-Cl. Foi observado que O sistema de PEC-Br é mais eficiente como bactericida eficaz dentre todos os sistemas estudados, capaz de inativar 100% de $9,0 \times 10^6$ UFC/mL ⁻¹ de <i>E. coli</i> após 25 min de degradação.	GUIYING et al., 2013
Ti/TiO ₂ (Nanotubo)	Anodização eletroquímica	<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i> <i>M. abscessos</i>	O método desenvolvido se mostrou eficiente para a inativação destas espécies após 3 min.	BRUGNERA et al., 2014

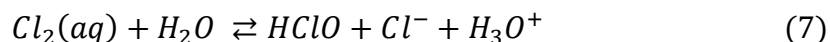
O uso de eletrodos compostos por TiO_2 para desinfecção de águas está bem consolidado na literatura, como pode ser observado pelos estudos compilados na Tabela 2. Contudo, tal material apresenta Energia de *band gap* por volta de 3,2 eV, sendo necessário excitação pela ação da luz na região do ultravioleta ($\leq 380\text{nm}$). Uma alternativa promissora ao uso de TiO_2 é o trióxido de tungstênio (WO_3) que apresenta energia de *band gap* menor (2,4 – 2,8 eV), podendo ser fotoexcitado sob radiação eletromagnética na região do visível (FRAGA e ZANONI, 2011). A maioria dos estudos encontrados na literatura explora o trióxido de tungstênio apenas como aplicações eletrocromicas, conversão de energia e degradação de materiais orgânicos (FRAGA e ZANONI, 2011). Poucos trabalhos são encontrados na literatura para desinfecção usando WO_3 como catalisador, e exceto pelo trabalho de FRAGA et al., que investigou a aplicação de eletrodos de W/WO_3 na formação de cloro ativo e degradação de microcistina produzida pela *M. aeruginosa*, a maioria investiga somente técnica de fotocatalise (TATSUMA et al., 2003; MAKWANA et al., 2015; GONDAL; KHALIL, 2009). Deste modo, seria bastante pertinente explorar o uso de W/WO_3 na técnica de fotoeletrocatalise principalmente em meio de cloreto de sódio, aditivo presente em soluções de hemodiálise.

1.6 Fotoeletrocatalise realizada em NaCl como eletrólito suporte

De acordo com a Tabela 1 apresentada no item 1.3, nota-se que cloreto de sódio é o componente majoritário em águas de hemodiálise. Por outro lado, a literatura revela que o uso de NaCl como eletrólito suporte em processos eletroquímicos submetidos a condições oxidativas pode culminar na formação de espécies como Cl_2 , HClO , ClO^- e ClO_3^- (PATEL et al., 2011; WEI et al., 2012; MARTÍNEZ-HUITLE; BRILLAS et al. 2005), como mostrado nas equações 5 a 10.



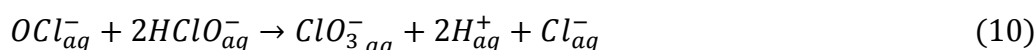
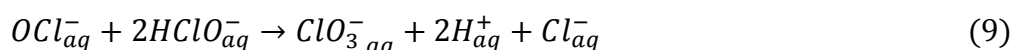
Uma vez que o cloro é eletrogerado no meio reacional, este pode ser rapidamente hidrolisado a ácido hipocloroso:



Em solução, o ácido hipocloroso pode se dissociar formando hipoclorito:



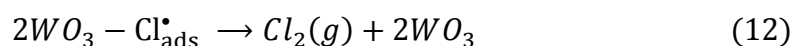
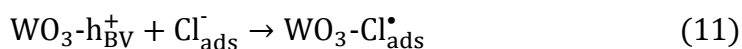
O hipoclorito formado pode sofrer reações subsequentes, levando a formação de clorato no meio reacional:



A formação dessas espécies no meio reacional pode resultar em algumas desvantagens, as quais tem sido descritas (MARTÍNEZ-HUITLE et al., 2009; BERGMAN et al., 2002; BERGMAN et al., 2007; BRILLAS et al., 2015) como, por exemplo, a formação de derivados indesejáveis e tóxicos, tais como clorofórmio e eletrogeração de subprodutos, como clorito, clorato e perclorato, que têm um elevado risco para a saúde dos seres vivos. Deste modo, a realização de medidas fotoeletrocatalíticas para desenvolvimento do método proposto em meio de cloreto merece atenção.

De acordo com os trabalhos encontrados na literatura, a geração de cloro ativo durante processos fotoeletrocatalíticos é atribuída à oxidação de íons cloreto presentes no sistema reacional (FRAGA et al. 2012; RAJKUMAR et al., 2012; MIJIN et al., 2012). A eletrólise do íon cloreto em soluções aquosas em uma célula não dividida envolve a oxidação direta deste íon no ânodo, produzindo cloro solúvel e a redução da água no cátodo gerando íon hidróxido e gás de hidrogênio, de acordo com as equações 5 e 6 apresentadas anteriormente.

Adicionalmente, trabalhos na literatura (ZANONI et al., 2004; FRAGA et al., 2009) mostram que a formação de cloro molecular também pode ocorrer via radical cloro, adsorvido na superfície do eletrodo:



Zanoni et al., (2004) relatam a oxidação fotoeletrocatalítica dos íons cloreto a cloro ativo em potenciais superiores a 1,3V (*versus* Ag/AgCl), onde é observada a relação entre pH e produção de cloro ativo. Em valores de pH mais ácidos, há uma maior adsorção dos íons cloreto na superfície do eletrodo, favorecendo a reação destas espécies com os buracos fotogerados e culminando na formação de cloro presente no meio (ZANONI et al, 2003).

A produção fotoeletrocatalítica de cloro ativo foi investigada também por Xiao et al. (2009). Os experimentos foram conduzidos em pH 3 e aplicação de potencial de 0,5V sob um eletrodo de Ti/TiO₂. Os resultados revelam que quanto maior a concentração de cloreto, maior será a produção de cloro ativo no meio. Contudo, em soluções superiores a 0,1 molL⁻¹, há pouca conversão dos íons cloreto a cloro ativo, evidenciando a existência de uma concentração ótima de íons cloreto para a produção dessas espécies.

Sendo assim, diante da possível formação de outras espécies no meio, além dos radicais •OH, a investigação a respeito da formação de cloro ativo no meio, assim como seus subprodutos, é de grande relevância neste trabalho. Considerando ainda que a ocorrência de *Candida* sp tem sido relatada em diversas matrizes como em águas naturais e centros de tratamento de hemodiálise, a busca por processos fotoeletrocatalíticos usando W/WO₃ como fotoânodo e testar esses semicondutores em meio contendo NaCl como eletrólito suporte poderia ser de grande relevância.

Devido à facilidade intrínseca do uso da eletroquímica para preparar eletrodos nanoestruturados, a presente proposta busca integrar a construção dos eletrodos de W/WO₃ por anodização eletroquímica e testar seu

desempenho fotocatalítico. A anodização eletroquímica é um método que consiste em um tratamento eletroquímico utilizado com a finalidade de crescer filme de um dado óxido de interesse sob uma superfície metálica em solução eletrolítica sob aplicação de uma diferença de potencial (FRAGA, 2012; QIN et al., 2015). A otimização do material para a inativação destes fungos em soluções de hemodiálise tem grande importância tanto na área de proteção ambiental quanto da saúde humana.

2 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é investigar a potencialidade da técnica de fotoeletrocatalise como método de desinfecção de água contaminada por *Candida parapsilosis*. O presente estudo visa a criação de uma nova metodologia para o tratamento de fluidos de hemodiálise. Para isto eletrodos nanoporosos de W/WO₃ foram preparados por anodização em meio de fluoreto, caracterizados por métodos convencionais e testados na inativação de *C. parapsilosis* em meio de cloreto e fluído de hemodiálise. Parâmetros tais como: eletrólito, pH, potencial aplicado, irradiação ultravioleta e visível, concentração do fungo e tempo de tratamento foram investigados monitorando-se por meio de contagem microbiana e remoção de carbono orgânico total.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes utilizados

Os reagentes utilizados na preparação das soluções são de grau analítico, utilizando água destilada purificada através do sistema Milli-Q ($18,2\text{M}\Omega\text{ cm}^{-1}$ Millipore) para o preparo das mesmas. Os reagentes sulfato de sódio, nitrato de sódio, cloreto de sódio, hidróxido de sódio, ácido clorídrico e álcool isopropílico foram adquiridos da Merck. Fluoreto de sódio da Fischer Chemicals Scientific e a acetona utilizada foram da marca Synth PA. Para análise de cloro ativo, o reagente N-dietil-p-fenilendiamina utilizado para medidas espectrofotométricas foi adquirido da empresa Sigma Aldrich

3.2 Procedimento Experimental

3.2.1 Preparo das suspensões de *C. Parapsilosis*

As cepas ATCC 22019 das leveduras de trabalho foram cedidas pela Dr.^a Maria José Soares Mendes Giannini (Faculdade de Ciências Farmacêuticas- UNESP, Araraquara). Inicialmente, estas foram incubadas em meio Ágar Sabouraud Dextrose, ideal para o cultivo de leveduras. Após o crescimento do microrganismo, foi preparada uma suspensão deste na solução de NaCl $0,1\text{ molL}^{-1}$. Posteriormente, o microrganismo foi quantificado pelo auxílio de um microscópio óptico, da marca Olympus e modelo CH30, em uma câmara de Neubauer (Neubauer Improved KASVI, resolução de $0,0025\text{mm}^2$ e profundidade de $0,100\text{mm}$) e transferido para o reator fotoeletroquímico e diluído para as concentrações de interesse.

3.2.2 Preparo do eletrodo nanoporoso de W/WO₃

O eletrodo nanoporoso de W/WO₃ foi preparado pela oxidação eletroquímica de uma placa de tungstênio (FRAGA e ZANONI, 2011). Uma placa com dimensões de 1 x 1 cm² de tungstênio metálico (Alfa Aesar, 0,25 mm, 99,95%) foi polida mecanicamente com lixas de diferentes granulometrias (800, 1000, 1200, 1500, 2000). Após este tratamento, a placa foi lavada em banho de ultrassom durante cinco minutos em presença de acetona seguida de isopropanol e água. Posteriormente, a placa foi submetida a fluxo de gás nitrogênio com a finalidade de secagem. Na sequência a placa de W foi imersa em uma solução de 0,15 molL⁻¹ de fluoreto de sódio e submetido a uma rampa de potencial de 0,2 V por segundo, até ser atingido o potencial equivalente a 60 V, mantido durante duas horas. Para a anodização da placa de W foi utilizada uma fonte de tensão estabilizada 60V/2A Tectrol®. Como contra eletrodo utilizou-se uma rede de platina.

Após o término da anodização, o eletrodo foi cuidadosamente lavado pela imersão em água deionizada, seguido da secagem por fluxo de N₂ (FRAGA e ZANONI, 2011). Na sequência, o eletrodo foi submetido a um processo de calcinação a 450°C por duas horas em uma mufla modelo 650-14 (Isotemp Programmable Muffle Furnace, Fisher Scientific).

3.2.3 Caracterização do eletrodo nanoporoso de W/WO₃

A morfologia da superfície do eletrodo de W/WO₃ foi avaliada por imagens de FEG-SEM em um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução com fonte de elétrons por emissão de campo, da marca Zeiss, modelo Supra 35, acoplado a medida de energia dispersiva de Raios-x (EDX).

A estrutura física do eletrodo foi avaliada por meio da análise de difratometria de Raios-X (DRX) em equipamento de marca Siemens, modelo D5000, equipado com anodo rotatório, de 4° a 100°, com passo de 0,050° por 1 segundo.

Espectros de Reflectância Difusa na região do UV-vis foram obtidos em um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer Lambda 35. Os valores de *band gap* foram estimados por gráficos de Tauc (função de Kubelka – Munk vs energia do fóton).

Medidas de voltametria de varredura linear sob velocidade de varredura de $0,01 \text{ Vs}^{-1}$ foram realizadas para averiguar a fotoatividade do eletrodo usando fotoexcitação na região do UV e visível, utilizando um potenciostato/galvanostato da marca Autolab modelo PGSTAT 302 acoplado a um sistema de obtenção de dados da GPES em meio de sulfato de sódio $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e NaCl $0,1 \text{ molL}^{-1}$.

3.2.4 Medidas de fotoeletrocatalise

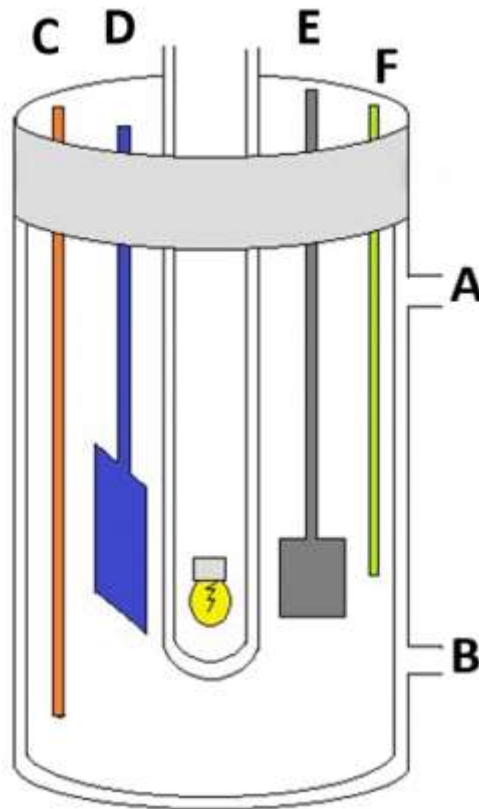
Inicialmente, todo o material de trabalho foi submetido à autoclavagem com a finalidade de esterilização.

Todas as medidas de fotocorrentes e aplicação de potencial controlado foram realizadas em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT 30 (Eco Chemie) acoplado a um sistema de obtenção de dados da GPES. Os experimentos foram realizados em um reator fotoeletroquímico de aproximadamente 250 mL, o qual é apresentado na Figura 6.

O reator de vidro é constituído por dois compartimentos concêntricos ($v = 250 \text{ mL}$), com entrada para eletrodo de trabalho, eletrodo auxiliar, eletrodo de referência, borbulhador e tubo de quartzo de 2,5 cm de diâmetro e 15 cm de profundidade. O reator possui um sistema de resfriamento entre os dois compartimentos, para a qual tem sido utilizado um banho termostático a 19°C . Para iluminação do fotoânodo utilizou-se uma lâmpada a vapor de mercúrio Philips de 125 W de potência.

Após o tratamento, alíquotas da solução foram removidas e analisadas por contagem de leveduras, medidas de carbono orgânico total, avaliação da formação de clorato no meio e investigação da formação de cloro ativo usando de medidas espectrofotométricas.

Figura 6: Esquema de reator fotoeletrocatalítico: (A) entrada de água, (B) saída de água, (C) eletrodo de referência, (D) eletrodo de trabalho, (E) eletrodo auxiliar, (F) borbulhador de ar comprimido.



Fonte: Próprio autor.

3.2.5 Contagem microbiana

Alíquotas de 0,1mL de amostras submetidas à desinfecção após 0, 1, 3, 5, 10, 30, 60, 120 minutos foram removidas da solução submetida ao tratamento. Após diluições sucessivas em PBS de 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 e 1/100000, em meio Ágar Sabouraud Dextrose e incubadas a 35 °C por períodos de 3 a 5 dias. A partir destas realizou-se a contagem de colônias visualmente.

3.2.6 Determinação de Carbono Orgânico Total (COT)

A mineralização de matéria orgânica na solução durante a fotoeletrocatalise foi monitorada por análises de carbono orgânico total (COT) em um Analisador de Carbono Orgânico Total Shimadzu TOC-VCPN. Para a determinação de carbono total (CT), a amostra injetada é carregada para um tubo de combustão contendo Pt suportada em alumina a 680°C e sofre oxidação catalítica a CO₂. Para a determinação de carbono inorgânico (CI) a amostra injetada reage com ácido clorídrico 10%, sendo que todo carbono inorgânico convertido a CO₂ é detectado por absorção no infravermelho não dispersivo. O COT é obtido pela subtração de CT e CI.

3.2.7 Determinação de cloro ativo

O monitoramento da possível formação de cloro ativo foi realizado através da reação com N, N-p-fenilenodiamina em tampão fosfato pH 7 (ZANONI et al., 2004). A absorção do produto colorido proveniente desta reação ($\lambda=514$ nm) foi analisada em um espectrofotômetro UV-VIS de arranjo linear de diodo da Hewlett Packard, modelo 8453, interfaciado a um programa UV-visible Chemstation Software, da Hewlett Packard modelo HP-854X. Todas as medidas foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

3.2.8 Cromatografia Iônica

A formação de clorato e perclorato no meio reacional durante o tratamento para a desinfecção foi realizada por cromatografia iônica. Para tal, utilizou-se um cromatógrafo iônico DIONEX ICS 1000. Como fase estacionária, foi utilizada uma coluna específica para análise de clorato e perclorato AS16 e como fase móvel utilizou-se NaOH 40 mmolL⁻¹. Foi realizada uma corrida isocrática e a vazão utilizada foi de 0.25 mL.s⁻¹.

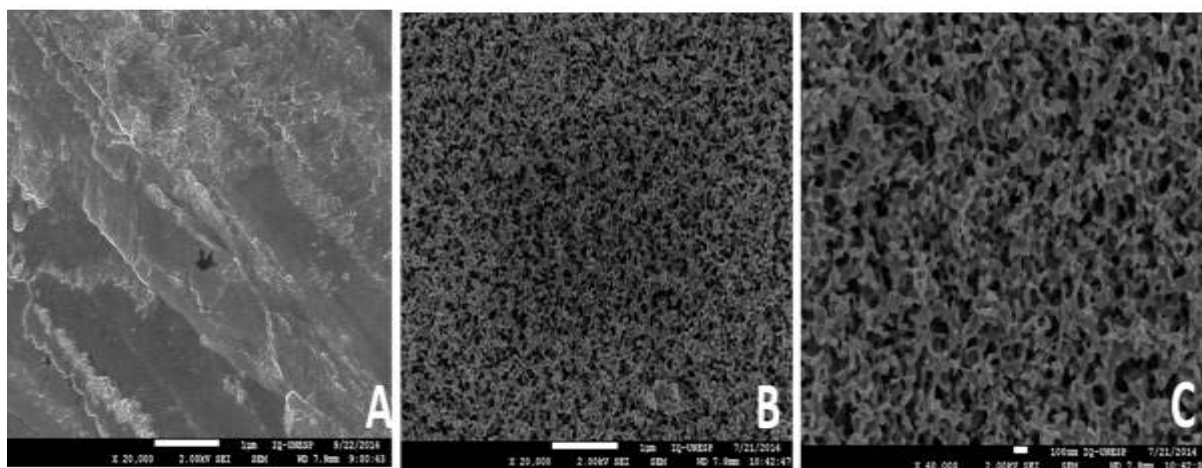
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização, morfológica, física e eletroquímica do eletrodo nanoporoso de W/WO₃

4.1.1. Análise de Microscopia eletrônica de varredura de alta resolução

A Figura 7 apresenta as imagens obtidas para o fotoânodo de W/WO₃ preparado pela anodização da placa de W (1,0 cm²) em meio de NaF 0,15 molL⁻¹ sob potencial controlado de 60 V durante duas horas.

Figura 7: Microscopia eletrônica de alta resolução (FEG-SEM) para (A) folha de W com aumento de 2000 vezes, (B) do eletrodo de W/WO₃ preparado por anodização em NaF 0,15 molL⁻¹, 60 V, 2h com um aumento de 20.000 vezes e 40.000 vezes (C).

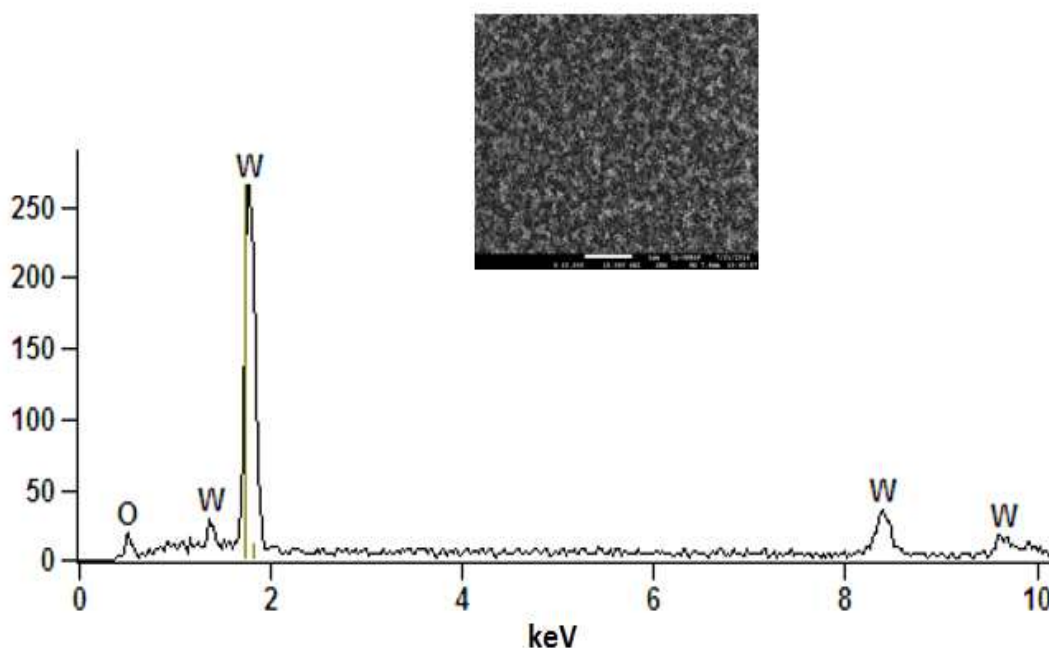


Fonte: Próprio autor.

A análise da imagem permite a verificação de um filme nanoporoso e homogêneo, com considerável rugosidade na superfície. Os tamanhos dos nanoporos estão por volta de 100 nm (Figura 7C).

O espectro de EDS (energy-dispersive X-ray spectroscopy) para o referido eletrodo é mostrado na Figura 8. A medida foi obtida através do microscópio eletrônico de alta eficiência (FEG-SEM) com voltagem de aceleração de 10 KV e amplificação de 20.000 vezes.

Figura 8: Imagem de microscopia eletrônica de alta eficiência dos eletrodos de WO_3 com o respectivo resultado das análises de EDS da região escolhida.



Fonte: Próprio autor.

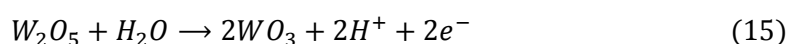
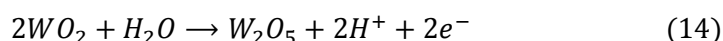
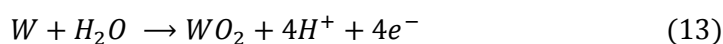
A análise desta figura mostra que o eletrodo construído por anodização eletroquímica é constituído por tungstênio e oxigênio respectivamente. A formação de WO_3 sobre chapa de tungstênio na forma de filmes é reportado na literatura por Zhu, Chong e Chan, (2014). O crescimento eletroquímico do filme de WO_3 em meio aquoso é atribuído à oxidação anódica inicial do tungstênio que pode resultar em uma mistura de óxidos como WO_2 , W_2O_5 e WO_3 , sendo

as espécies contendo tungstênio com estado de oxidação 6+ predominantes no sistema, como pode ser demonstrado nas equações de posteriores. A presença de fluoreto presente no meio reacional tem a função de contribuir para a formação da morfologia desejada (TSUCHIYA et al., 2005; LAI, 2014; LEE et al., 2015).

a) Cátodo:



b) Ânodo

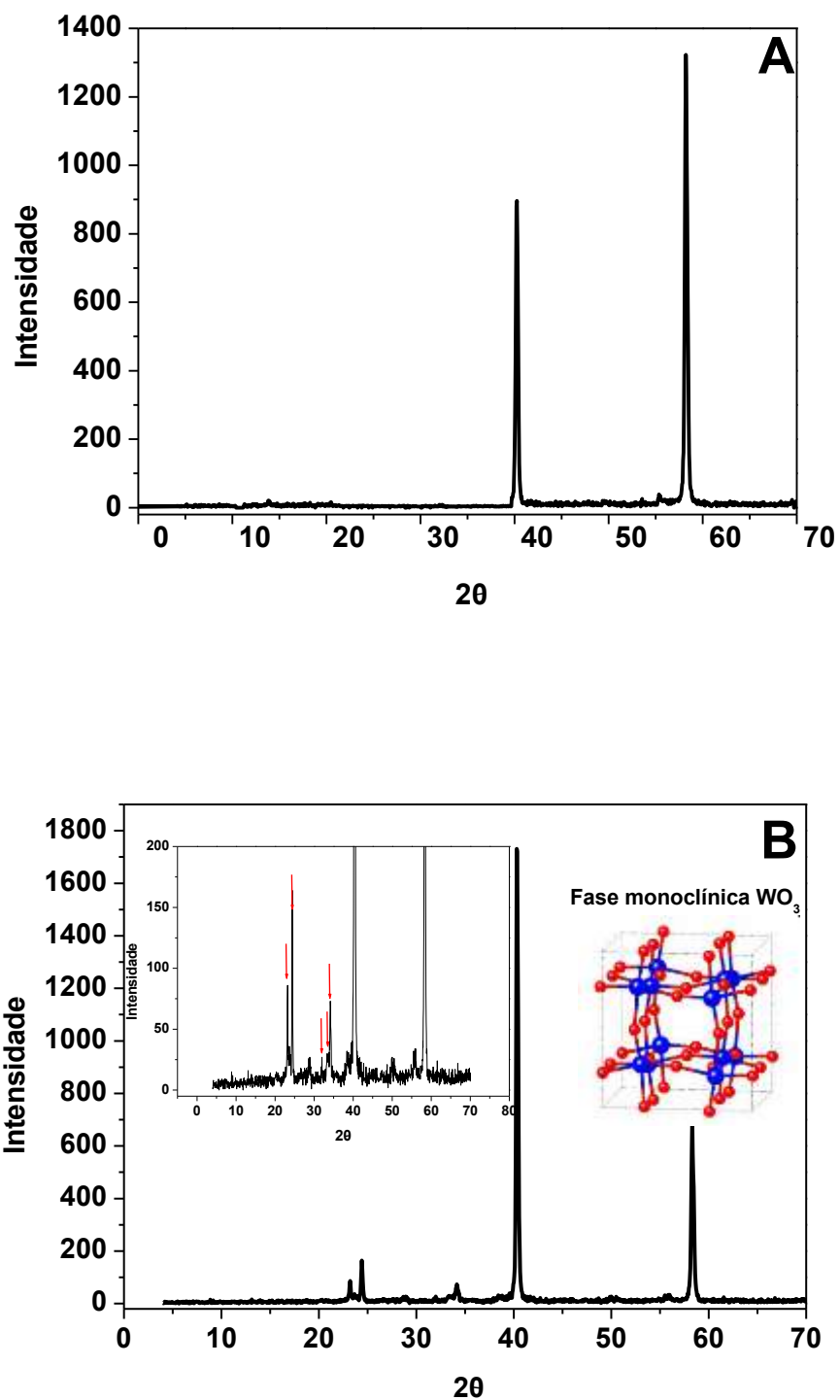


4.1.2. Espectroscopia de Raios-X dos eletrodos de W/WO₃

A Figura 9 ilustra os difratogramas de raios-X da folha de tungstênio sem modificação (A) e sob anodização eletroquímica em meio de NaF 0,15 molL⁻¹ (B).

Observa-se claramente que houve a formação de WO₃ na sua forma monoclinica na placa anodizada, forma mais fotoativa deste óxido (SANTATO et al., 2001; SOLARSKA et al., 2005; KALUNUR, 2013, HONG, 2009) que foi comprovada pela presença dos picos em (2θ= 23,71; 2θ = 24,36; 2θ = 33,16 2θ = 33,65 e 2θ = 34), atribuídos à presença de WO₃ (FRAGA e ZANONI, 2011). Os picos em 2θ=40 e 2θ=58 são atribuídos ao tungstênio metálico.

Figura 9: Difratograma de Raios-X obtido para a folha de tungstênio antes (A) e após anodização eletroquímica em NaF 0,15 molL⁻¹ (B).

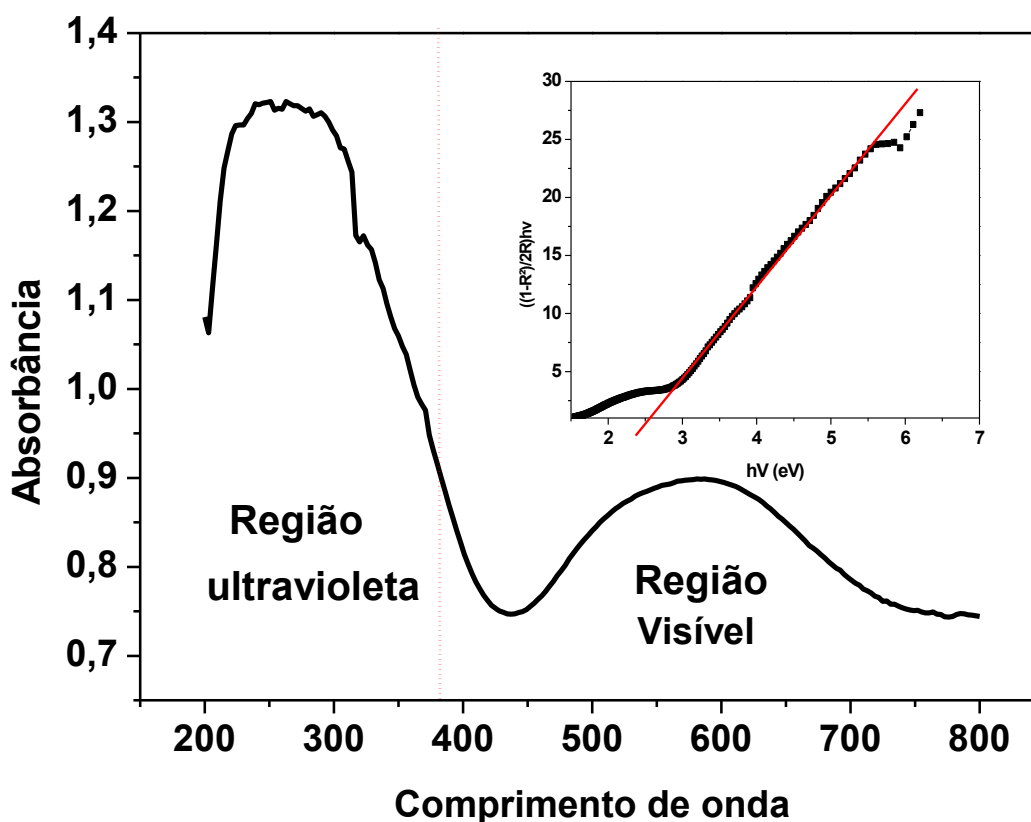


Fonte: Próprio autor

4.1.3. Espectroscopia de Reflectância Difusa

A Figura 10 traz uma curva de reflectância difusa típica obtida para o eletrodo de W/WO_3 construído.

Figura 10: Curva de reflectância difusa obtida para o eletrodo nanoporoso de W/WO_3 construído através da anodização em NaF $0,15\text{ molL}^{-1}$. No detalhe do gráfico encontra-se o gráfico de Tauc, permitindo o cálculo do *band gap* do material em questão (TYCZKOWSKI, J. et al., 2011).



Fonte: Próprio autor.

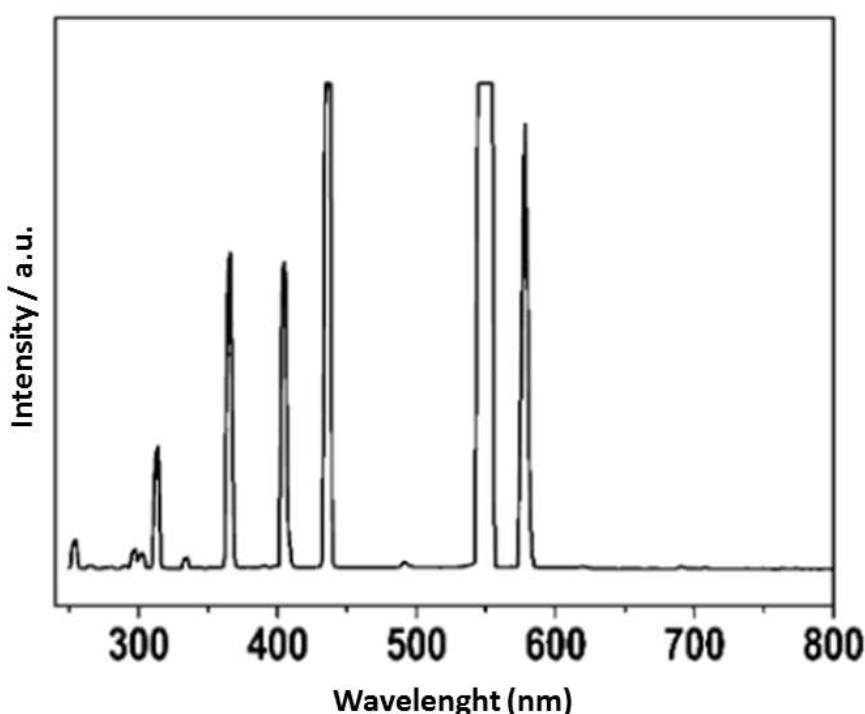
A análise da Figura 10 revela que o trióxido de tungstênio possui dois máximos de absorção, sendo um deles na região do visível, em região maior que 450 nm. Outro máximo ocorre na região do ultravioleta $\lambda < 380\text{ nm}$ o que

potencializa sua atuação como fotocatalisador visto que ter-se-á a contribuição do ultravioleta e visível na sua fotexcitação.

Com base no método proposto por Kubelka-Munk (Figura 10), através da construção do gráfico de Tauc foi calculado o band gap para o eletrodo de W/WO_3 obtendo um valor equivalente a 2,5 eV, próximo daquele encontrado para o WO_3 na literatura (HODES et al., 1976), que é de aproximadamente 2.8 eV.

Estes resultados mostram que o eletrodo de W/WO_3 pode ser ativado tanto na região do UV quanto na região do visível e poderia apresentar máximo aproveitamento quando submetido à irradiação com lâmpada de vapor de mercúrio, que possui emissão em outras regiões de comprimento de onda, como mostrado na Figura 11.

Figura 11: Espectro da lâmpada de Vapor de Mercúrio (125W) utilizada na fotoexcitação do semicondutor construído.



Fonte: Bessegato et al., 2014.

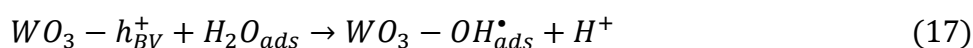
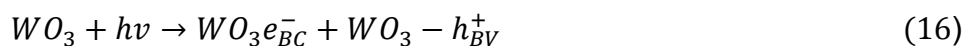
4.1.4 Estudo da fotoatividade dos eletrodos de W/WO₃.

A Figura 12 apresenta as curvas de fotocorrentes vs potencial obtidas por voltametria linear (10 mVs⁻¹) registradas no intervalo de potencial entre -0,5 a 2,0V para Na₂SO₄ 0,1 molL⁻¹ (A) e NaCl 0.1 molL⁻¹ (B). As medidas foram obtidas com iluminação da lâmpada de Hg de 125W, utilizando radiação eletromagnética na região UV-Vis e Visível. As medidas em NaCl são justificadas pela alta concentração deste íon no dialisato.

Ambas as curvas mostram que na ausência de luz, a fotocorrente é praticamente negligenciável. No entanto, quando o eletrodo é exposto tanto à radiação UV quanto visível há um aumento pronunciado da fotocorrente, mostrando que o eletrodo confeccionado se comporta como um fotoânodo.

Em meio de sulfato, sob irradiação em potenciais superiores ao de banda plana, observa-se o surgimento de fotocorrente anódica atribuída à geração do par e-/h⁺ fotogerados, segundo a Equação 16. A separação de cargas propicia maior formação de buracos, que são responsáveis pela oxidação da água e geração de radicais hidroxilas na superfície do eletrodo (Equação 17). Por outro lado, o elétron é redirecionado para o contra eletrodo onde ocorre a redução da água, conforme demonstrado na Equação 6.

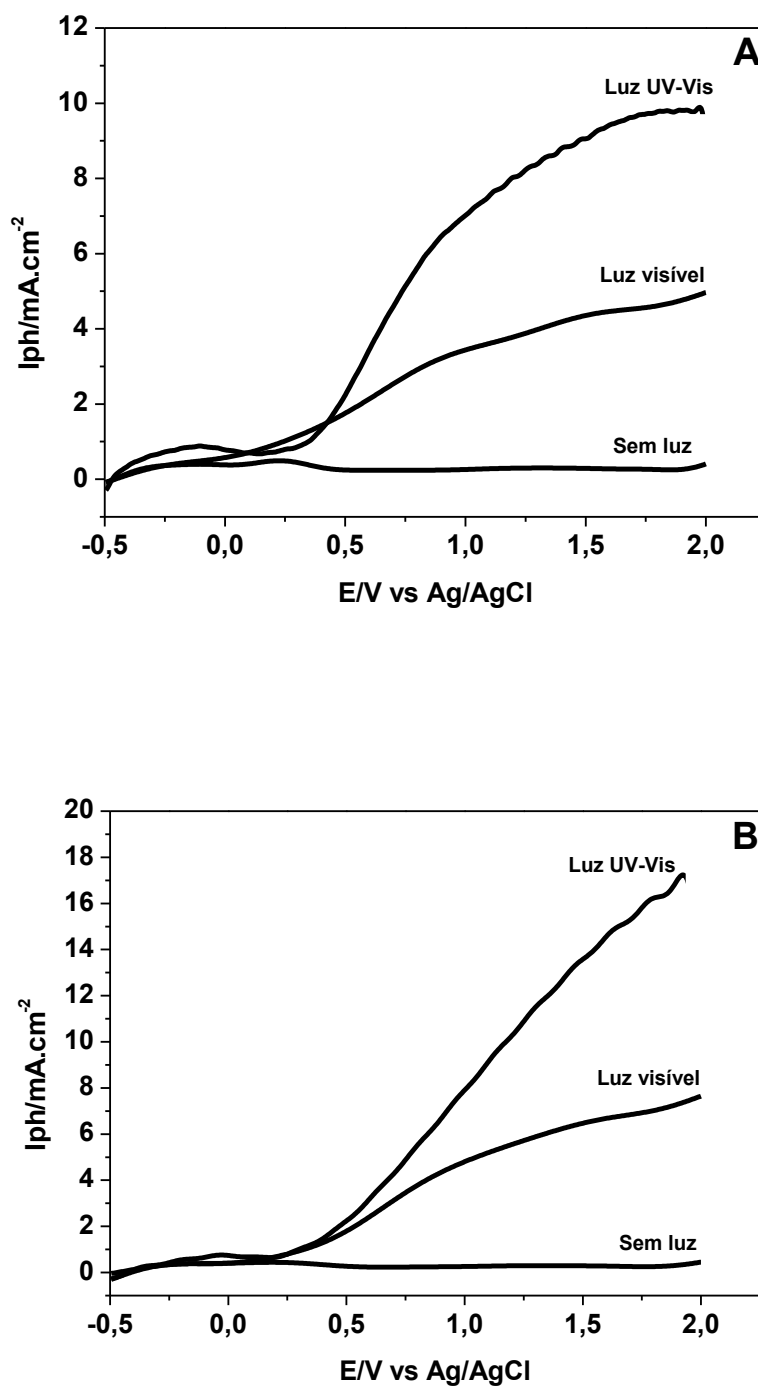
a) Fotoânodo



b) Cátodo



Figura 12: Curvas de fotocorrente vs potencial obtidas para o para o eletrodo nanoporoso de W/WO_3 na ausência de luz e iluminado por uma lâmpada de 125W na região Vis e UV-Vis em Na_2SO_4 (A) e NaCl 0,1 mol. L^{-1} (B)



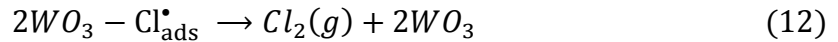
Fonte: Próprio autor.

A comparação entre as curvas obtidas para Na₂SO₄ indicam maior fotocorrente sob a excitação do fotoânodo na região do ultravioleta. Contudo, este também é fotoativo na região do visível. O comportamento observado é previsto uma vez que o band gap calculado para o material é em torno de 2,5eV e o mesmo mostrou-se fotoativo em ambas as regiões de comprimento de onda (Figura 10).

As fotocorrentes obtidas em NaCl (Figura 12B) apresentaram maiores valores de fotocorrentes quando comparados com as curvas obtidas em Na₂SO₄. De acordo com a literatura, esse resultado pode ser atribuído à oxidação de íons cloreto adsorvidos na superfície do eletrodo, gerando radical cloro, como pode ser visto na Equação a seguir.



A oxidação de cloreto adsorvido na superfície do eletrodo leva à formação de radical cloro (Equação 11) concomitantemente à formação de radical hidroxila, que ocorre via oxidação da água (preponderante em meio de sulfato). Este comportamento indica que o uso de NaCl como eletrólito suporte, embora presente em águas de hemodiálise, pode ser um agente complicador pela possibilidade de gerar radical cloro, que por sua vez pode ocasionar a formação de cloro ativo, conforme a seguinte equação:



Adicionalmente, foi calculado o potencial de banda plana (E_{fb}) para o fotoânodo em NaCl, utilizando-se a equação de Butler (BUTLER, 1977):

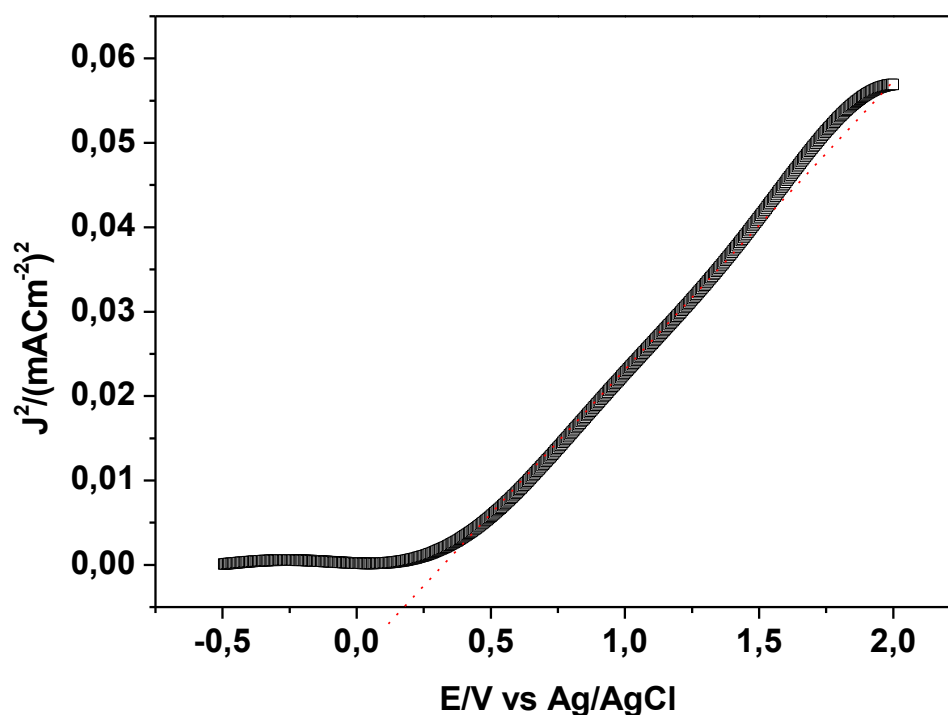
$$J_f^2 = \left(\frac{2q\epsilon\epsilon_0 I_0^2 \alpha^2}{N_d} \right) (E - E_{fb}) \quad (18)$$

Sendo J_f = densidade de fotocorrente, q = carga do elétron, ξ = constante dielétrica, ξ_0 = permeabilidade no vácuo, I_0 = fluxo fotônico, α = coeficiente de

absorção, N_d = densidade efetiva de estados na banda de condução, E = potencial aplicado e E_{fb} = potencial de banda plana.

O gráfico do quadrado da fotocorrente vs. potencial resulta em uma reta, cujo intercepto corresponde ao E_{fb} . A Figura 13 ilustra a cálculo de potencial de banda plana para o eletrodo de W/WO_3 irradiado com energia na região do UV-Vis em $NaCl$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como eletrólito suporte. Para este eletrodo, sob essas condições, foi encontrado um valor de aproximadamente $0,20 \text{ V vs. Ag/AgCl}$.

Figura 13: Quadrado da densidade de fotocorrente vs. potencial aplicado para eletrodo de W/WO_3 em $NaCl$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sobre irradiação UV, sendo a área dos eletrodos 1 cm^2 .

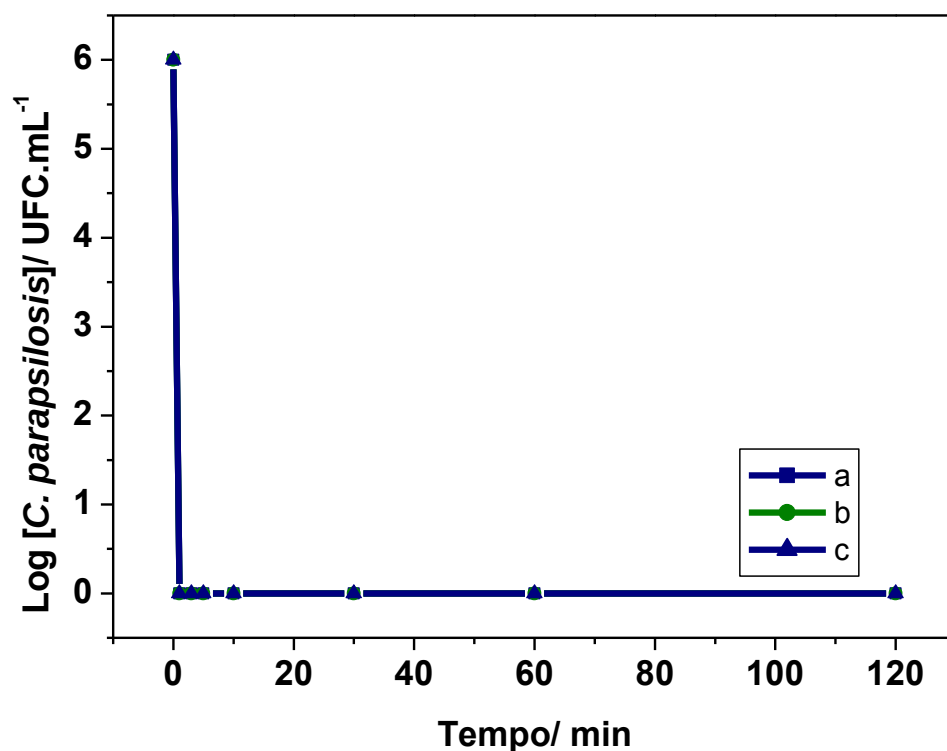


Fonte: Próprio autor.

4.2 Avaliação do efeito do eletrólito suporte na desinfecção de *C. parapsilosis* por fotoeletrocatalise

O efeito dos eletrólitos de suporte NaCl, NaNO₃ e Na₂SO₄ 0,10 mol L⁻¹ (pH 7) sobre a desinfecção fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis* usando eletrodos de W/WO₃ foi investigada monitorando-se a porcentagem de remoção de COT e contagem microbiana durante o tratamento de 1,0x10⁶ UFCmL⁻¹ de *C. parapsilosis* nos diferentes eletrólitos sob fotoeletrocatalise em potencial de 1,5 V e irradiação UV-Vis. A Figura 14 compara a morte do fungo submetido a 120 min de tratamento nos três eletrólitos.

Figura 14: Efeito do eletrólito suporte no tratamento fotoeletrocatalítico de 10 x10⁶ UFCmL⁻¹ *C. parapsilosis* em, NaCl (a) Na₂SO₄ (b) e NaNO₃ 0,1 molL⁻¹ (c), pH 7 irradiação UV-Vis (125W), E =1,5 V.

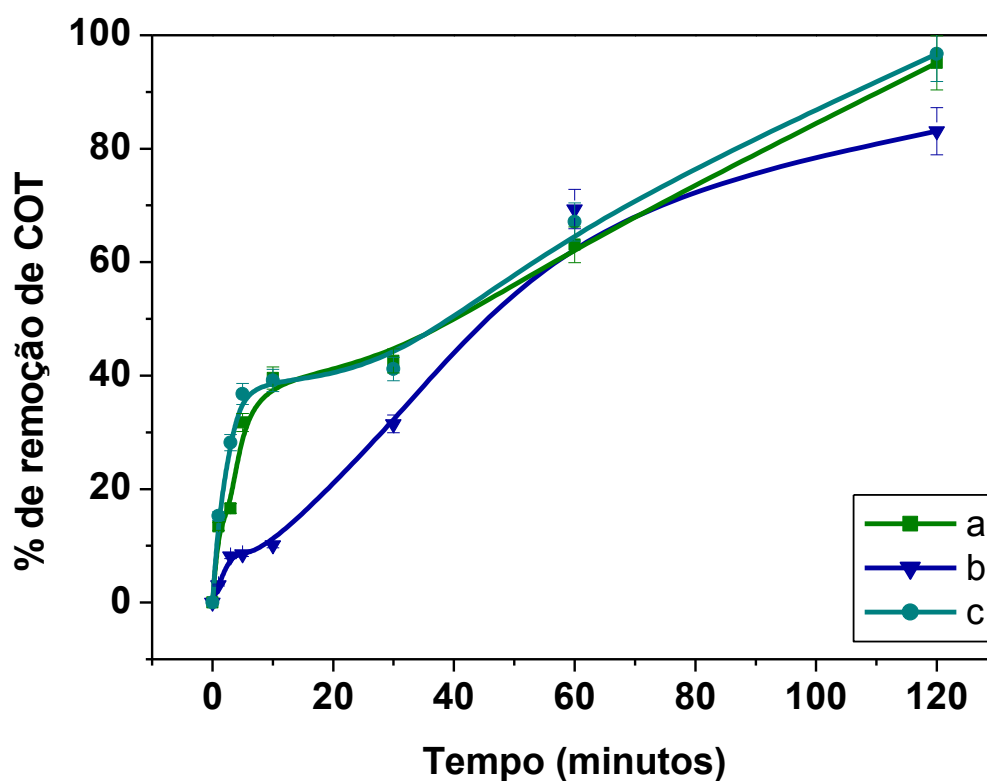


Fonte: Próprio autor.

Para os três eletrólitos, houve morte microbiana das leveduras presentes após um minuto de tratamento, como pode ser visto na Figura 14, sugerindo que o tratamento é eficiente para os três eletrólitos utilizados.

Além da morte do microrganismo, a sua mineralização é de grande importância, uma vez que se pretende degradar todo o microrganismo e eliminar possíveis micotoxinas produzidas pelo mesmo. A seguir, a Figura 15 ilustra as medidas de carbono orgânico para os eletrólitos testados.

Figura 15: Efeito do eletrólito suporte na mineralização de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em eletrodo de W/WO₃ em diferentes eletrólitos suporte: (a) NaCl (b) Na₂SO₄ e (c) NaNO₃, 0,10 mol L⁻¹, pH 7,0, E= 1,5 V vs. Ag/AgCl e irradiação UV-Vis.



Fonte: Próprio autor.

De acordo com a Figura 15, a desinfecção fotoeletrocatalítica realizada em NaCl permite 80% de mineralização após 120 minutos de tratamento, enquanto NaNO_3 e Na_2SO_4 permitem alcançar aproximadamente 99% de mineralização. A concentração inicial de carbono orgânico total para as medidas realizadas foi de aproximadamente 22 mg.L^{-1} . As constantes de velocidade inicial para os distintos eletrólitos foram: $k_1 = 5,6 \times 10^{-4}$, $k_2 = 6,2 \times 10^{-4}$ e $k_3 = 6,1 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ para NaCl, NaNO_3 e Na_2SO_4 , respectivamente.

A explicação para uma menor remoção de carbono em meio de cloreto pode ser atribuída ao fato de que íons cloreto podem competir com a água pelo buraco na área superficial do eletrodo e gerar radical cloro. Em adição, estudos prévios (BRUGNERA, 2013) tem mostrado que o mecanismo de oxidação fotoeletrocatalítica das leveduras envolve a adsorção do analito em questão e oxidação pelo buraco ou pelo radical hidroxila formado pela oxidação da água, o que seria dificultado pela reação competitiva entre cloreto e água pelo buraco diminuindo a eficiência do processo.

No entanto, considerando que o dialisato é composto por NaCl, optou-se por escolher este como eletrólito suporte para as demais medidas. A seguir, investigou-se o efeito da concentração de NaCl no processo fotoeletrocatalítico.

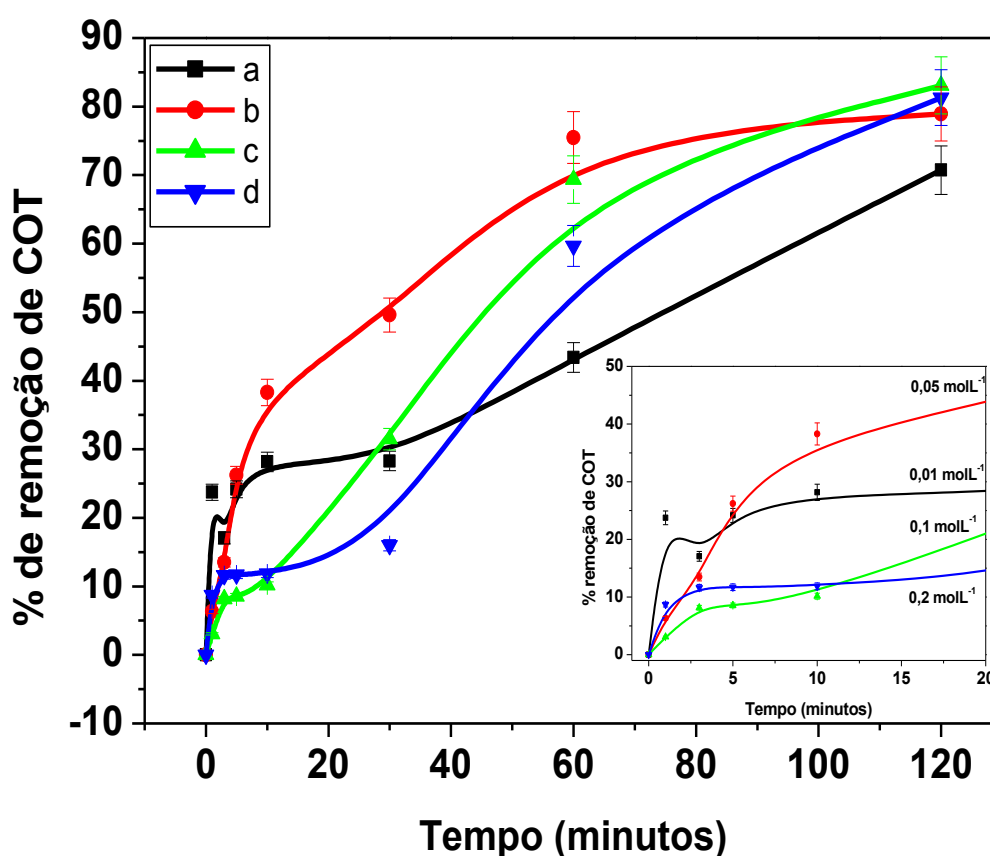
4.3 Efeito da concentração do eletrólito suporte na desinfecção de *C. parapsilosis* por fotoeletrocatalise

A influência da concentração de NaCl como eletrólito suporte na desinfecção fotoeletrocatalítica de $1,0 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *C. parapsilosis* foi investigada para as concentrações de NaCl: 0,01 0,05 e 0,10 e 2,0 mol L^{-1} sobre eletrodo nanoporoso de W/WO_3 aplicando-se um potencial de +1,5 V vs. Ag/AgCl e irradiação UV-Vis, pH 7,0. Estas amostras foram analisadas por contagem microbiana, COT e espectrofotometria UV-Vis para dosagem de cloro ativo.

Dados de contagem microbiana revelaram a morte dos fungos após um minuto de tratamento, como já esperado.

A Figura 16 apresenta o gráfico referente ao efeito porcentagem de mineralização durante 120 minutos de tratamento.

Figura 16: Efeito da concentração de NaCl na degradação fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosiss* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ sobre eletrodo de W/WO₃ em diferentes concentrações de NaCl: 0,01 (a), 0,05 (b), 0,1 (c) e 0,2 molL⁻¹(d), pH 7, E= 1,5 V vs. Ag/AgCl e irradiação UV-Vis.



Fonte: Próprio autor.

Os dados correspondentes à remoção de COT mostram que em todas as concentrações do eletrólito, há um aumento da remoção de carbono orgânico com o tempo de tratamento, evidenciando que há a degradação do

material orgânico lixiviado pela ruptura e consumo da parede celular. No entanto, estes valores são menores na concentração de 0,01 e 0,05 molL⁻¹. Sob estas concentrações, observa-se uma maior velocidade de oxidação que pode ser explicada pelo estresse osmótico devido à presença de poucos íons na água deionizada levando a perda de nutrientes da parede celular e consequentemente a perda da permeabilidade celular (GUILLARD et al, 2008, ALROUSAN et al, 2009).

Desta forma, as células da levedura são menos estáveis em soluções com baixa concentração de íon. Para concentrações mais altas de íons há necessidade de uma maior quantidade de danos acumulados para que a célula em questão seja inativada, o que confere uma cinética de desinfecção aparentemente mais lenta.

Contudo, sabe-se que ocorre um melhoramento na eficiência do tratamento fotoeletrocatalítico quando se incrementa a concentração do eletrólito suporte devido a um aumento do transporte de cargas presentes no meio devido ao efeito da dupla camada elétrica. Em concentrações elevadas de eletrólito, por exemplo, 0,10 e 0,20 molL⁻¹, a camada difusa desaparece, o que facilita o transporte de cargas (BRUGNERA, 2013). Cálculos realizados revelam que a concentração de cloreto no dialisato produzido conforme a Tabela 1 é de aproximadamente a 0,1 molL⁻¹. Desta forma, aliando-se aos resultados obtidos, otimizou-se 0,10 mol L⁻¹ como a melhor concentração, a qual foi utilizada para experimentos posteriores.

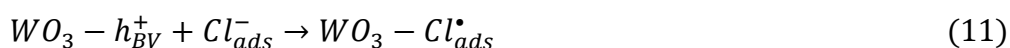
Considerando que a morte do fungo poderia estar ocorrendo pela geração de cloro ativo durante a oxidação fotoeletrocatalítica em meio de cloreto, investigou-se a seguir a geração de cloro ativo concomitante no sistema.

4.4 Análise de Cloro ativo pelo método DPD durante processo fotoeletrocatalítico

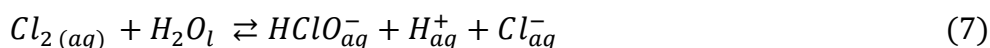
Considerando que a fotoeletrocatalise em meio de cloreto pode promover formação de cloro ativo (Cl_2 , HClO e ClO^-), construiu-se uma curva analítica para a determinação de cloro ativo, a ser usado para monitoramento do mesmo durante o tratamento empregado .

Segundo a literatura (PARRA, 2013; ZANONI, 2009) processos fotoeletrocatalíticos conduzidos sobre ânodo de W/WO_3 podem proporcionar a eletrogeração de espécies de cloro ativo de alto poder oxidante em um processo dependente do pH e temperatura do meio, conforme as equações a seguir:

a) Ânodo:



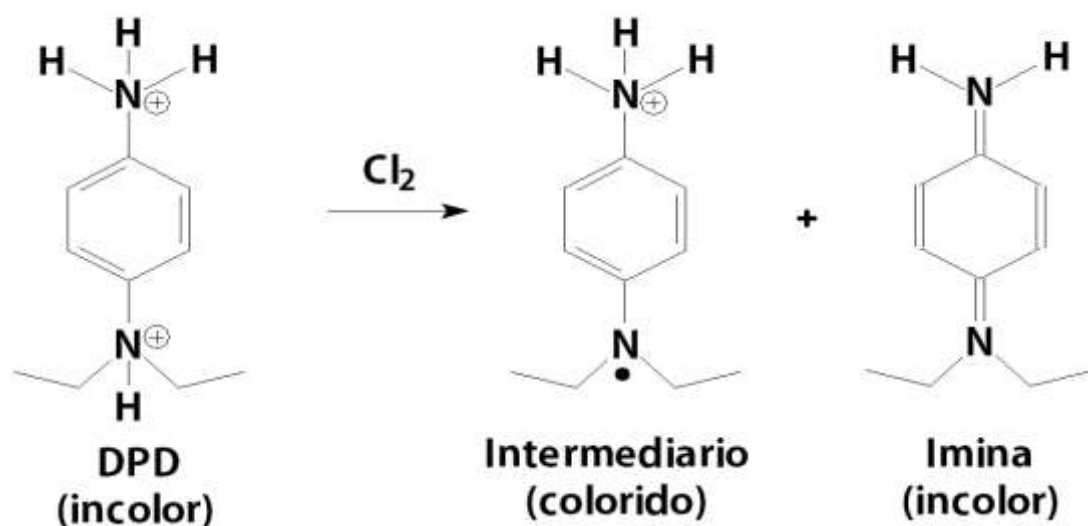
O cloro ativo corresponde ao somatório das espécies em meio aquoso em equilíbrio:



A quantificação de cloro ativo pelo método colorimétrico é baseada na reação instantânea com N,N-Dietil-p-fenilediamina (DPD) em meio tampão fosfato. O produto intermediário da reação entre DPD e cloro ativo, Figura 17, possui um produto de cor vermelha com espectros na região do visível típicos, e máxima absorbância em comprimento de onda de $\lambda = 515 \text{ nm}$. O tempo de

residência do intermediário colorido formado é muito baixo, ocorrendo em poucos segundos a minutos (ZANONI et al., 2004).

Figura 17: Formação do intermediário colorido proveniente da reação entre Cl_2 e DPD.

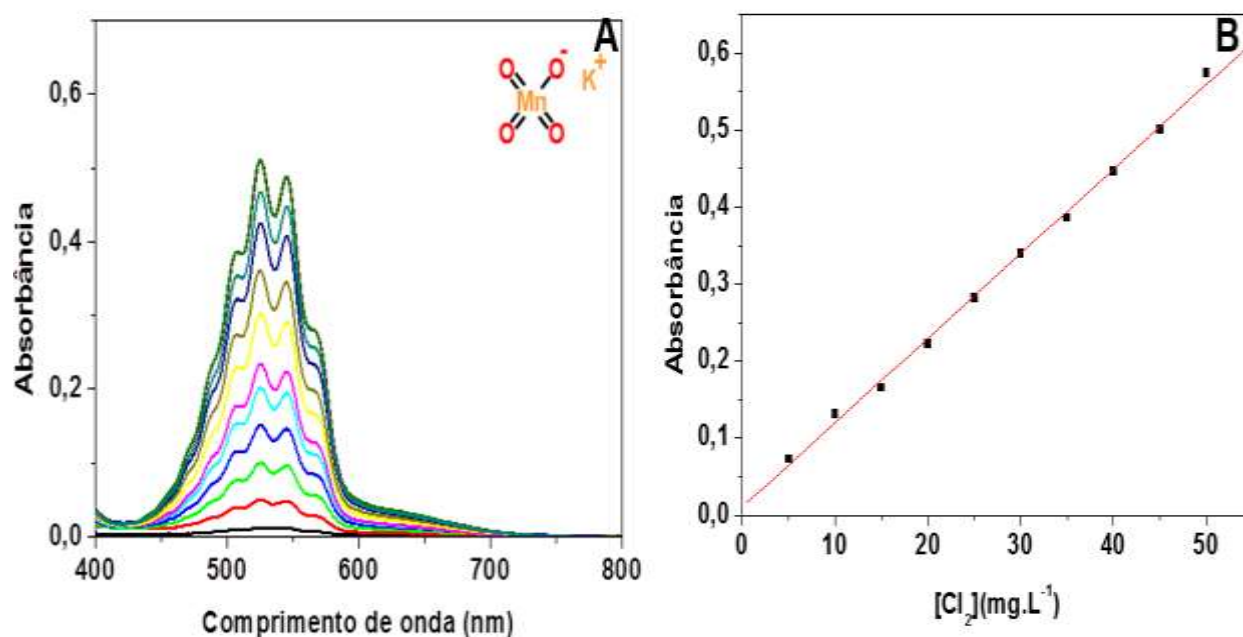


Fonte: Próprio autor.

Os espectros de UV-Vis foram obtidos no intervalo de 1,00 a 50,0 mgL^{-1} , $\lambda = 515 \text{ nm}$ e estão representados na Figura 18 (A). A respectiva curva analítica é mostrada na Figura 18 (B).

A Figura 18 representa a curva analítica de acordo com os valores de máxima absorvância em 515 nm do espectro. A equação da reta é: $A = 0,0105[\text{Cl}_2] + 0,01097$, $r = 0,9998$ ($n = 11$) e limite de detecção igual a 23,36 μgL^{-1} .

Figura 18 - Espectro de absorção na região do visível correspondente à concentração de cloro ativo (calibrado com permanganato de potássio). Concentrações entre: 1,00 – 50,0 mgL⁻¹(A) e Curva analítica obtida para a determinação de cloro ativo (B).

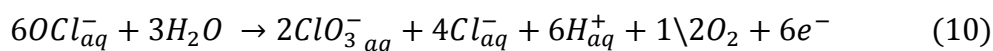
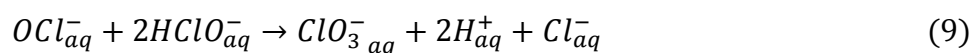


Fonte : Próprio autor.

4.5 Avaliação da formação de clorato e perclorato durante a degradação fotoeletrocatalítica por cromatografia iônica

Considerando ainda que poderia haver a formação de clorato e perclorato durante a degradação fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis* em meio de cloreto, é apresentada a seguir a metodologia para verificação destes subprodutos.

As reações representadas pelas Equações 9 e 10 podem competir com outras reações, tais como formação de clorato e perclorato, que ocorrem simultaneamente à geração de cloro ativo, podendo favorecer a formação de clorato no meio de acordo com as equações a seguir:

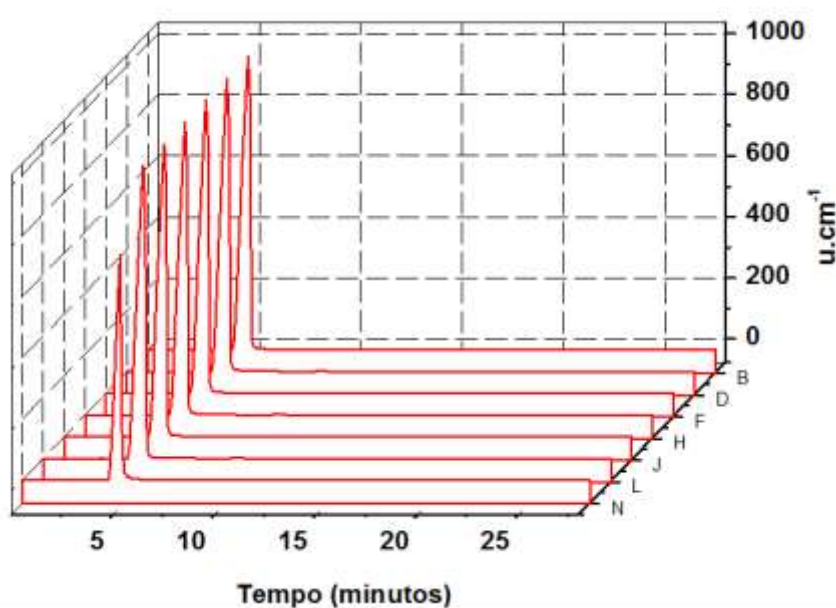


A seguir, encontram-se os cromatogramas obtidos para as alíquotas tomadas durante a reação fotoeletrocatalítica sucedida com os parâmetros previamente otimizados: NaCl 0,1 mol.L⁻¹, potencial igual a 1,5V em pH 7.

O método utilizado tem limite de detecção equivalente a 1,0 x10⁻⁵ mg L⁻¹ e 1,0 x10⁻⁴ mg L⁻¹ para clorato e peclorato, respectivamente.

As alíquotas retiradas durante a fotoeletrocatalise passaram por uma coluna (AS16) típica para a análise íon como clorato e perclorato.

Figura 19: Cromatogramas obtidos para tratamento de *C. parapsilosis* em pH 7, NaCl 0,1 mol.L⁻¹, potencial 1,5V e radiação UV-Vis, 125W para os tempos 1 min (Curva B), 3 min (Curva D), 5 min (Curva F), 10 min (Curva H), 30 min (Curva J), 60 min (Curva L), 120 min (Curva N).



Fonte: Próprio autor.

A análise dos cromatogramas, permite visualizar que não há formação de íon clorato e perclorato no meio reacional. Verifica-se apenas o pico referente ao íon cloreto em aproximadamente 5 minutos. Também pode-se perceber que na Curva referente a duas horas de degradação (Curva N), há uma diminuição na intensidade do pico referente ao cloreto, mostrando que há alguma reação paralela a qual ainda não foi verificada, abrindo perspectivas para uma possível formação de organoclorado no meio reacional. Sendo assim, a análise de organoclorados no meio por espectrometria de massas torna-se imprescindível para uma melhor investigação do sistema em estudo.

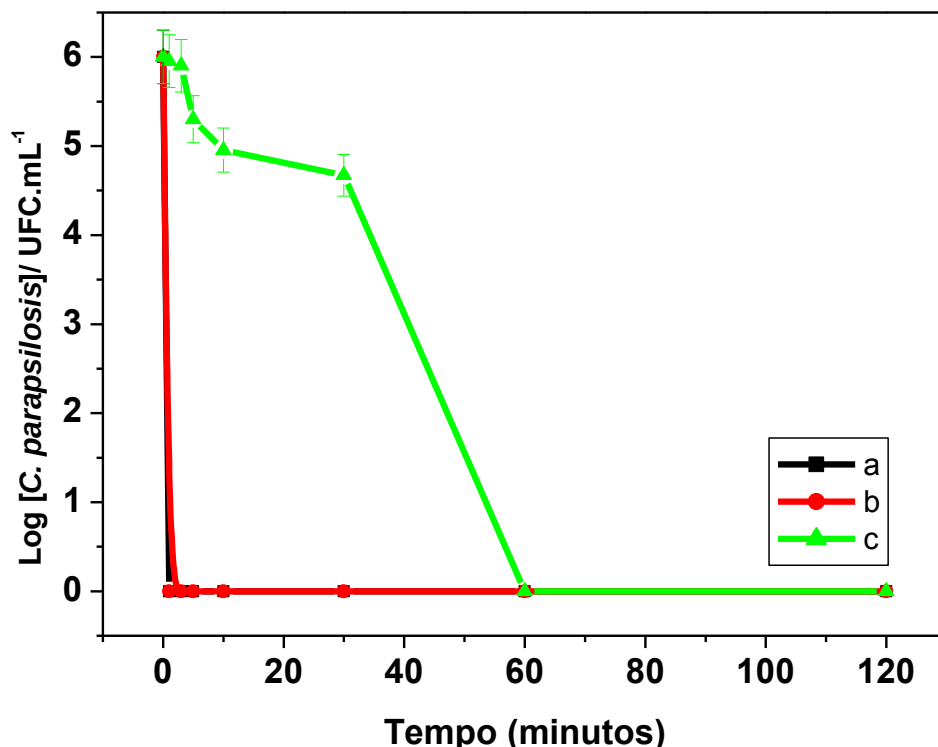
Em seguida, investigou-se a inativação de *C. parapsilosis* usando eletrodo nanoporoso de W/WO_3 , $4 \times 4 \text{ cm}^2$ de área, sob irradiação UV-Vis em meio de NaCl a $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diferentes valores de pH.

4.6 Influência do pH na desinfecção de *C. parapsilosis* por fotoeletrocatalise

Com o objetivo de investigar as melhores condições para a desinfecção fotoeletroquímica do fungo *C. parapsilosis*, estudou-se a influência do pH do eletrólito suporte, em pH 5, 7 e 8. As fotoeletrocatalises foram conduzidas em NaCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, em pH adequado controlado pela adição de NaOH ou H_2SO_4 , aplicando-se um potencial de $1,5 \text{ V vs. Ag/AgCl}$ e irradiação UV. Alíquotas provenientes do tratamento durante 0, 1, 3, 5, 10, 30, 60 e 120 minutos foram retiradas e submetidas à contagem microbiana, análise de carbono orgânico total e geração de cloro ativo durante o processo fotoeletrocatalítico usando método espectrofotométrico

Os resultados provenientes da inativação de *C. parapsilosis* em NaCl $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ pH 5,7 e 8 são mostrados na Figura 20.

Figura 20: Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de *C. parapsilosis* em pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c) . Eletrólito suporte NaCl 0,1 molL⁻¹ e irradiação UV-Vis (125W), E =1,5 V.

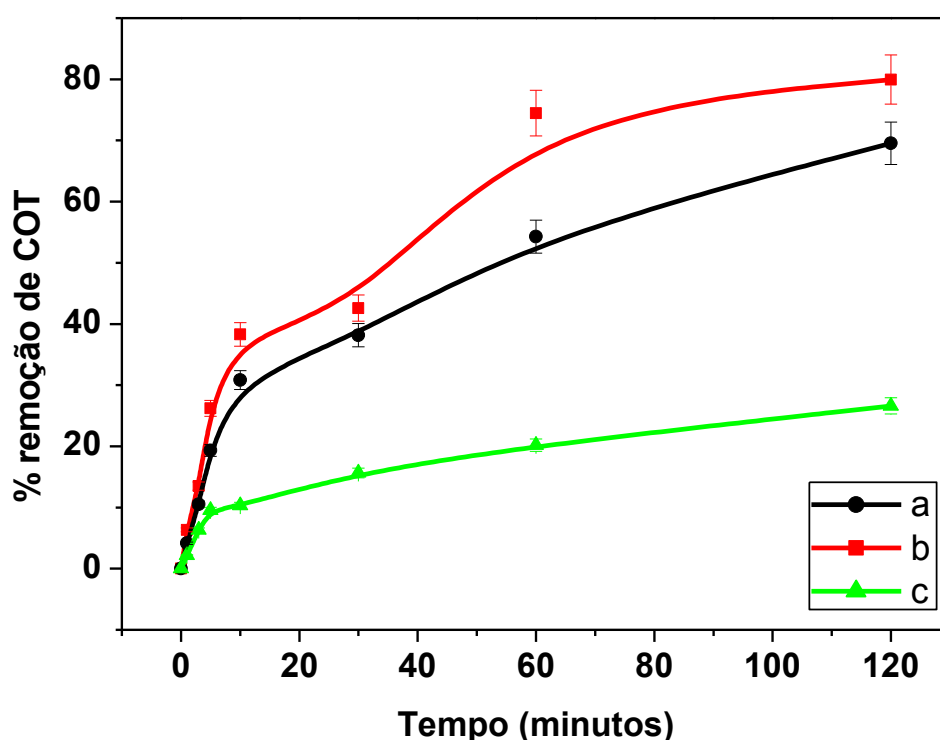


Fonte: Próprio autor.

Os resultados mostram 99,9% de morte do microrganismo após 1 minuto de tratamento sob pH 7 e 5. Contudo, tal comportamento não é observado para o pH 8. Em pH ligeiramente alcalino há um decréscimo na eficiência da técnica, que requer aproximadamente 60 minutos para morte do fungo. Isto pode ser explicado de acordo com o potencial de carga zero do eletrodo que em valores altos de pH, a superfície estará altamente carregada com cargas negativas em pH > 7, permitindo uma menor adsorção do fungo, carregado negativamente, na superfície do eletrodo e menor velocidade de degradação (MUSTAFA e TUBA, 2005).

Análises de remoção de COT correspondentes às amostras de interesse tratadas em NaCl sob diferentes valores de pH são mostradas na Figura 21.

Figura 21: Efeito do pH na mineralização vs. tempo para desinfecção fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis* em pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c) sob eletrodo de W/WO₃ (E= 1,5 V vs. Ag/AgCl), em NaCl 0,10 mol L⁻¹ e irradiação UV-Vis.

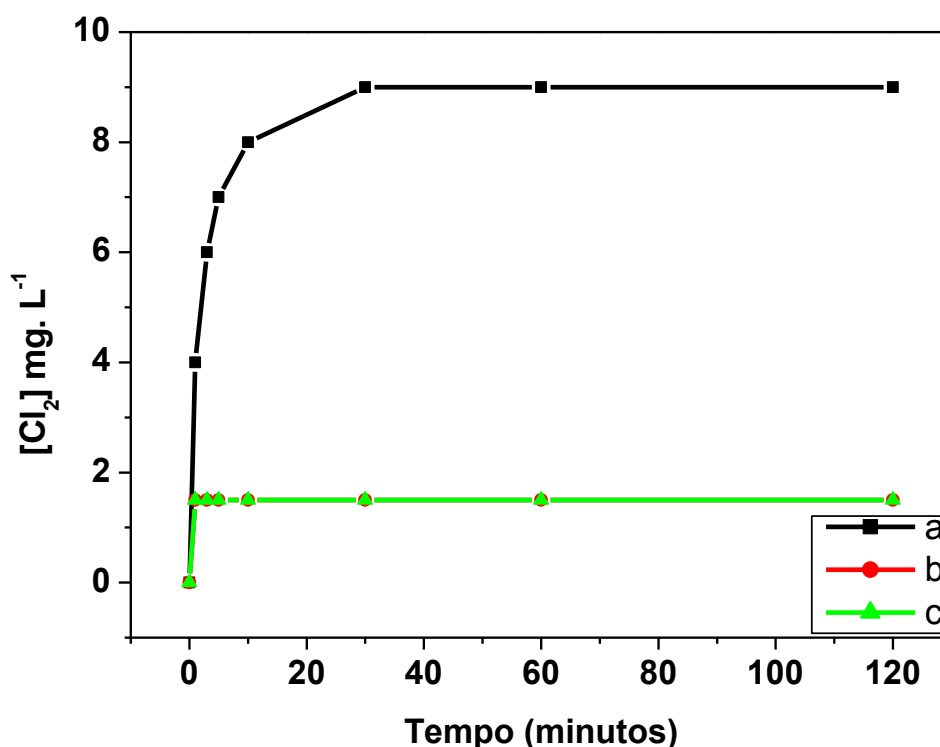


Fonte: Próprio autor.

Analisando-se a Figura 21, é possível observar que após duas horas de tratamento sob os pH 5, 7 e 8 tem-se uma mineralização de 69,5%, 79,9% e 26,6%, respectivamente. Estes resultados sugerem que o método é potencialmente eficaz para causar a mortalidade das leveduras e promover a degradação dos produtos liberados após a clivagem celular e melhor desempenho em meio neutro.

No entanto, comparando-se as três curvas de mineralização para *C. parapsilosis*, pode ser visto que a velocidade de degradação é maior em pH 7. Considerando que em meio de cloreto pode estar ocorrendo a formação de cloro ativo, avaliou-se a seguir a geração de cloro ativo em durante tempo de fotoeletrocatalise de *C. parapsilosis*. A Figura 22 exibe os resultados.

Figura 22: Efeito da variação do valor do pH em relação ao tempo de fotoeletrocatalise na geração de cloro ativo utilizando eletrodo de W/WO₃, sob irradiação UV-Vis 125W. pH 5 (a), 7 (b) e 8 (c)



Fonte: Próprio autor.

A análise da figura 22 permite verificar que nos 10 primeiros minutos de fotoeletrocatalise, somente a curva de pH 5 apresentou um aumento significativo na geração de cloro ativo. A geração de cloro ativo n pH 7 e 8 é

negligenciável, corroborando com os dados da literatura que indicam que em pH neutro e alcalino a oxidação fotoeletrocatalítica de cloreto é irrisória devido à fraca adsorção do cloreto na superfície do eletrodo também carregado negativamente. sendo que as demais curvas dos respectivos valores de pH permaneceram constantes. No estágio de 30 minutos de fotoeletrocatalise, a curva de pH 5 apresentou o máximo de cloro ativo gerado, onde a mesma permanece constante até o final do processo. As curvas de pH 7 e 8 apresentaram-se constantes em todo o estágio fotoeletrocatalítico, gerando aproximadamente $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ de cloro ativo.

Deste modo, pode-se verificar que a geração de cloro ativo pelo processo de fotoeletrocatalise ocorre prioritariamente em meio ácido pela adsorção do cloreto na superfície do eletrodo de trabalho carregado positivamente (FRAGA, 2008). A fotoeletrocatalises conduzidas em meio neutro poderiam ser uma grande vantagem nos processos de desinfecção neste caso, visto que o NaCl atuará apenas como eletrólito suporte, não sofrendo reações secundárias.

Diante destes resultados, o pH 7 foi escolhido como melhor condição experimental para desinfecção fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis*, pois este valor pH é se encontra na faixa de pH do dialisato. Adicionalmente, tem-se um menor efeito do íon cloreto no tratamento fotoeletroquímico das leveduras sem a formação de cloro ativo.

4.7 Efeito do potencial aplicado na desinfecção de *C. parapsilosis* por fotoeletrocatalise

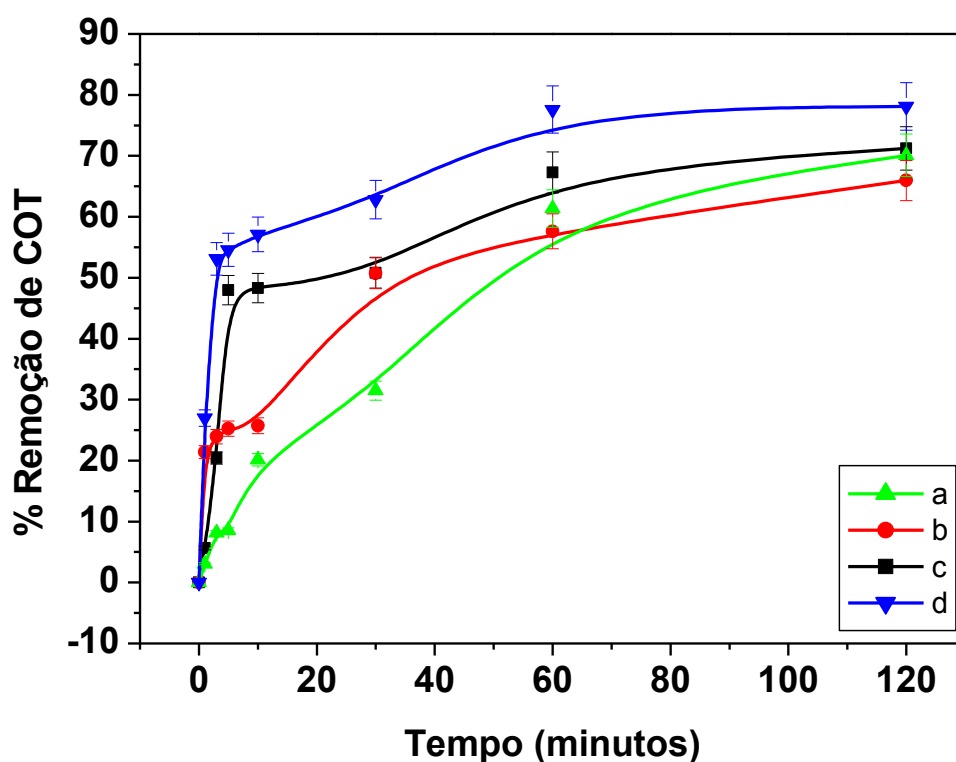
Em seguida, estudou-se a influência do potencial aplicado na eficiência do processo no intervalo de 0,7 a 2,0 V vs. Ag/AgCl em NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ sob irradiação UV-VIS. Alíquotas do tratamento foram retiradas e submetidas à contagem microbiana, análise por espectrofotometria UV-Vis para doseamento de cloro ativo e COT durante 120 minutos.

Em potenciais acima do potencial de banda plana do semicondutor que é igual a 0,20V (Figura 13), observa-se que a aplicação de um gradiente de potencial sobre o filme do fotoânodo, há a morte de *C. parapsilosis* após 1 minuto de tratamento para os potenciais aplicados entre 0,7 e 2,0V. Isto ocorre porque sob irradiação UV-Vis e aplicação de potencial positivo ocorre a separação das cargas (e-/h+) fotogeradas. Assim, o potencial aplicado age apenas na minimização do processo de recombinação destas cargas e, portanto, qualquer dos potenciais positivos aplicados favorecerá a desinfecção de *C. parapsilosis*, pois é suficiente para a ativação do eletrodo semicondutor.

O efeito do potencial aplicado na porcentagem de mineralização de *C. parapsilosis* é mostrado na Figura 23.

Embora tenha ocorrido a morte das leveduras após um minuto de tratamento para todos os valores de potenciais estudados, as porcentagens de mineralização obtidas após 120 minutos de tratamento apresentam cinéticas e remoção de COT diferenciadas. Os melhores valores encontrados foram para os valores de potenciais de 1,5 e 2,0V, encontrando-se aproximadamente 75 e 80% de degradação da matéria orgânica.

Figura 23: Efeito do potencial na desinfecção fotoeletrocatalítica de $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ de *C. parapsilosis* em NaCl 0,1 molL⁻¹ (pH 7) utilizando-se eletrodo de WWO₃ e irradiação UV-Vis com aplicação de diferentes potenciais: 0,7V (a), 1,0V (b), 1,5V(c), 2,0V(d)

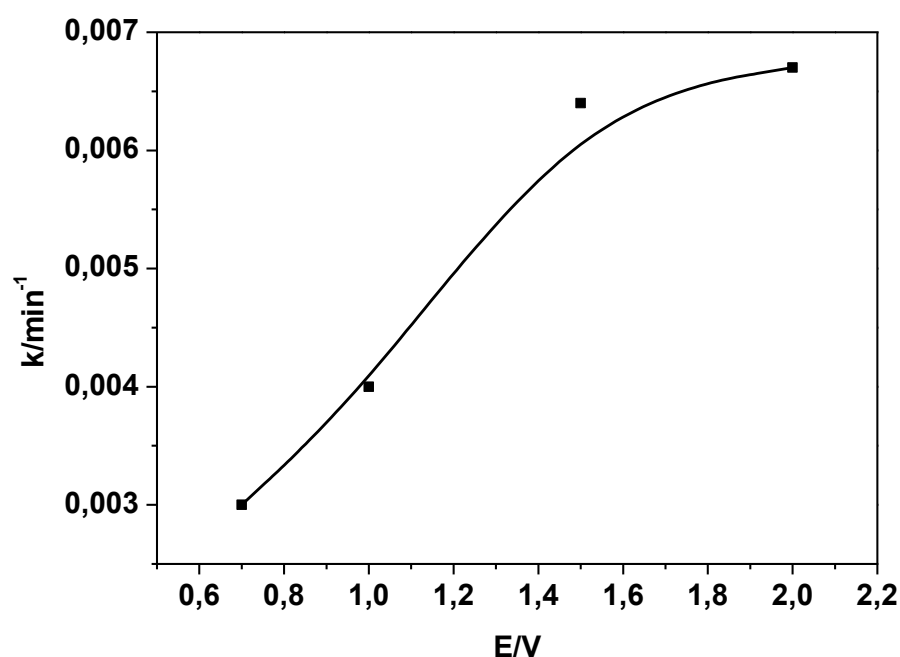


Fonte: Próprio autor

A Figura 24 ilustra as pseudo-constantes de velocidade de pseudo primeira ordem obtidas para os diferentes potenciais aplicados.

A velocidade de degradação dos produtos de lise celular aumenta linearmente quando o potencial aplicado aumenta entre os potenciais 0,7 e 1,5V. Em potenciais superiores, tal comportamento permanece mais constante. Deste modo, fixou-se o valor referente a 1,5V para os dados subsequentes.

Figura 24: Constantes de velocidade obtidas para desinfecção fotoeletrocatalítica de $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ de *C. parapsilosis* em NaCl 0,1 molL⁻¹ (pH 7) utilizando-se eletrodo de W/WO₃ e irradiação UV-Vis em função dos potenciais aplicados.



Fonte: Próprio autor.

Os resultados encontrados referentes ao ensaio com DPD para as investigações experimentais mostraram que não houve formação considerável de cloro ativo no meio para os diferentes potenciais em pH 7, verificando que o processo de desinfecção ocorre devido predominantemente à geração de radical hidroxila gerado após a oxidação da água pelo buraco fotogerado.

A Tabela 3 sintetiza os parâmetros estudados, bem como os intervalos e os valores otimizados a fim de se obter bons resultados para a desinfecção fotoeletrocatalítica.

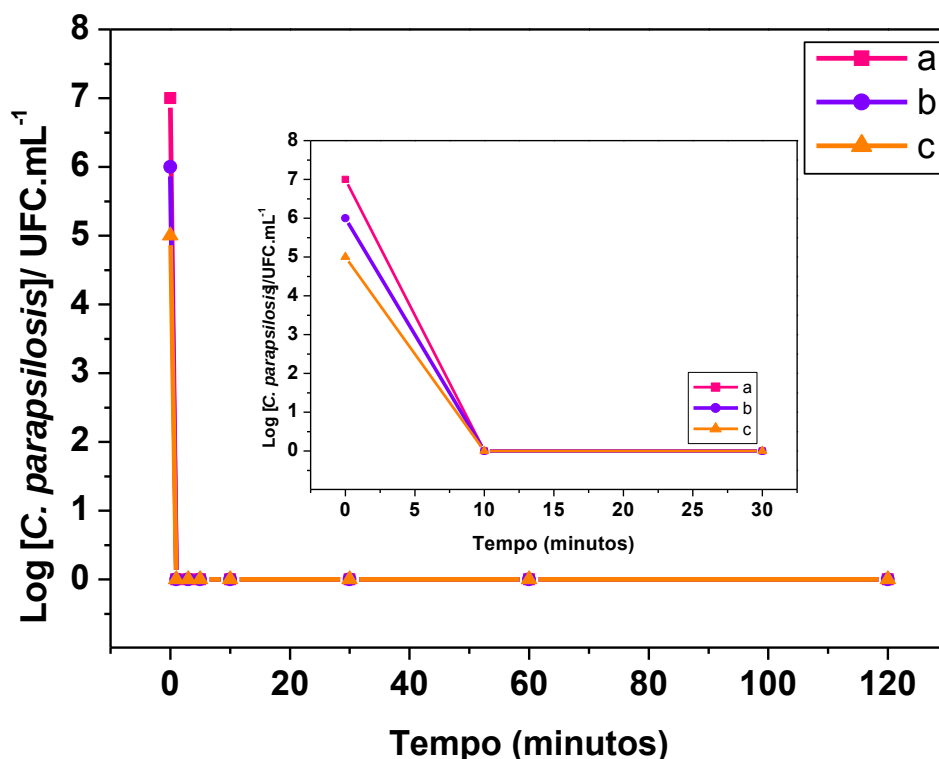
Tabela 3: Parâmetros estudados correspondentes à desinfecção fotoeletrocatalítica da levedura e parâmetros selecionados na otimização do método

Parâmetro	Intervalo de análise	Parâmetro otimizado
Eletrólito	NaCl, Na ₂ NO ₃ , Na ₂ SO ₄	NaCl
Concentração do eletrólito	0,01, 0,05, 0,10 e 0,20 molL ⁻¹	0,10 molL ⁻¹
pH	5,7 e 8	7
Potencial aplicado	0,7, 1,0, 1,5 e 2,0 V	1,5V

4.8 Influência da concentração de *C. parapsilosis* no processo de desinfecção fotoeletrocatalítica

A seguir investigou-se o intervalo de concentração de *C. parapsilosis* aplicada na degradação. Para isto testou-se o efeito da concentração de *C. parapsilosis* no intervalo de $1,0 \times 10^5$ a $1,0 \times 10^7$ UFC mL⁻¹ nem NaCl 0,1molL⁻¹, pH 7, E= 1,5 V e irradiação UV-Vis 125 W. A curva de morte microbiana obtida nas diferentes concentrações avaliadas é mostrada na Figura 25.

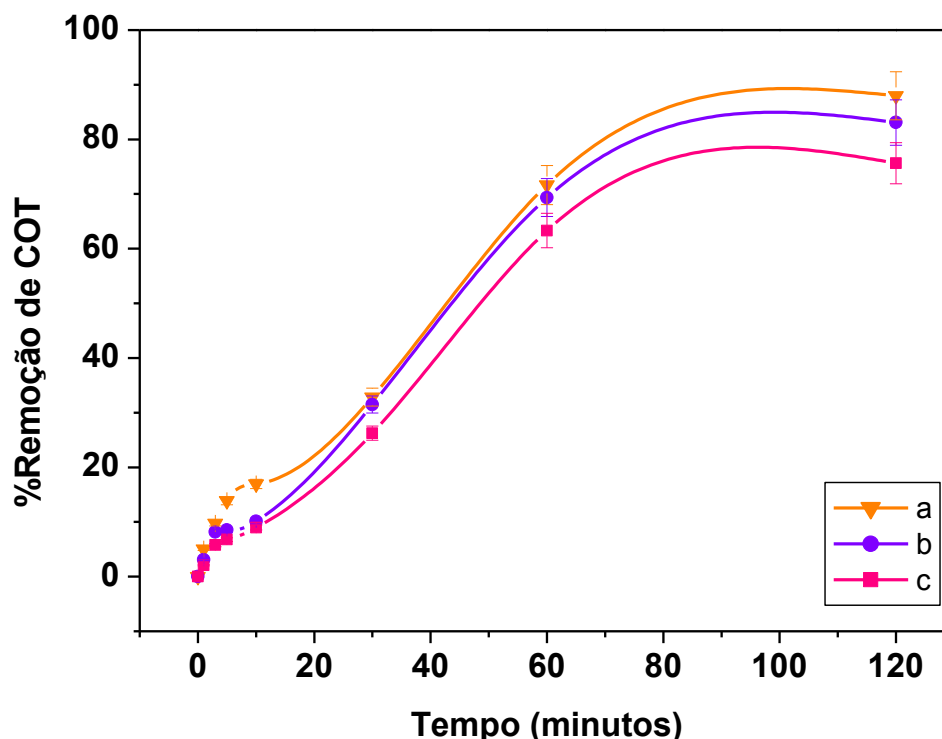
Figura 25: Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de *C.parapsilosis* em diferentes concentrações iniciais da levedura $1,0 \times 10^5$ (a), 1×10^6 (b) e $1,0 \times 10^7$ (c) UFCmL⁻¹ em NaCl 0,1 mol L⁻¹ (pH 7), irradiação UV-Vis, E =1,5 V.



Fonte: Próprio autor.

Com base no gráfico acima, é possível observar que após um minuto de tratamento ocorre a morte celular de todas as células presentes. Apesar dos resultados microbiológicos indicarem 100% da morte celular, é de grande relevância degradar as possíveis toxinas e os componentes liberados durante a lise celular. Desta forma, os resultados obtidos para medidas de carbono orgânico total no intervalo de duas horas de degradação para *C. parapsilosis* em diferentes concentrações são apresentados na Figura 26.

Figura 26: Gráfico de porcentagem de mineralização vs. tempo para desinfecção fotoeletrocatalítica de *C. parapsilosis* utilizando diferentes concentrações iniciais do analito $1,0 \times 10^5$ (a), 1×10^6 (b) e $1,0 \times 10^7$ (c) UFCmL⁻¹ sob eletrodo de W/WO₃ (E= 1,5 V vs. Ag/AgCl), em NaCl 0,1 mol L⁻¹ e irradiação UV-Vis.



Fonte: Próprio autor.

A relação entre $\log [COT]$ (concentração de carbono orgânico total no tempo t)/ $[COT_0]$ (concentração de carbono orgânico inicial) e o tempo apresentou comportamento linear nos 30 min iniciais de tratamento, demonstrando uma cinética de pseudo-primeira ordem. Sendo assim, as constantes de mineralização obtidas foram $k_1 = 4,9 \times 10^{-4}$, $k_2 = 5,0 \times 10^{-4}$ e $k_3 = 5,6 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1}$ para *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^5$, $1,0 \times 10^6$ e $1,0 \times 10^7$ UFC mL⁻¹, respectivamente.

A análise do gráfico apresentado na Figura 27 leva à conclusão que com o aumento da concentração de *C. parapsilosis*, não há uma mudança significativa na eficiência da técnica empregada. Caso houvesse um decréscimo no desempenho da fotoeletrocatalise, este poderia ser explicado pela turbidez adquirida pela solução em altas concentrações da levedura, o que dificulta a penetração da luz até a superfície do eletrodo, necessária para ativá-lo. No entanto, o método mostrou-se eficiente mesmo em altas concentrações do fungo estudado.

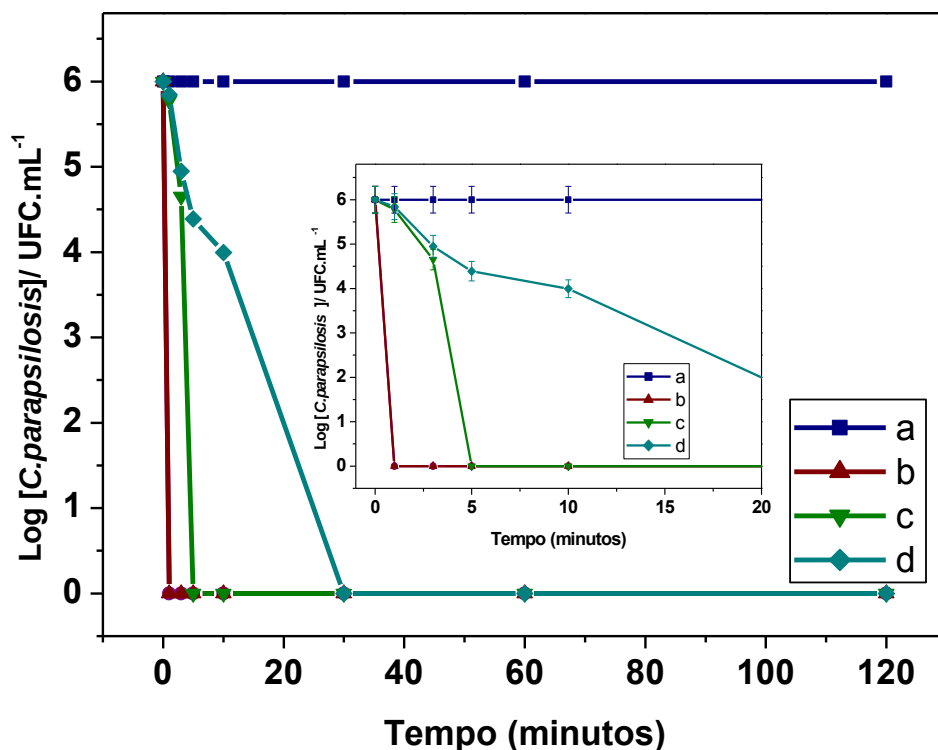
4.9 Eficiência do processo fotolítico, fotocatalítico e fotoeletrocatalítico na degradação de *C. parapsilosis* sobre eletrodos nanoporosos de W/WO_3 e irradiação UV-Vis

A avaliação da potencialidade da fotoeletrocatalise (aplicação de potencial e irradiação UV-Vis) utilizando eletrodo nanoporoso de W/WO_3 frente à fotocatalise (irradiação UV-Vis sobre eletrodo de W/WO_3) e fotólise (irradiação UV-Vis) é imprescindível para estabelecer o efeito de cada parâmetro na desinfecção. Os experimentos foram realizados em NaCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 7 com concentrações de *C. parapsilosis* em torno de $1,0 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$.

Adicionalmente, uma suspensão de *C. parapsilosis* foi preparada e mantida sem nenhum tratamento por duas horas. Tal análise foi realizada com a finalidade de investigar se o eletrólito suporte poderia estar influenciando na morte de *C. parapsilosis*. Esta amostra foi denominada controle.

A Figura 27 compara a eficiência da técnica de fotoeletrocatalise usando eletrodo de W/WO_3 fotoexcitado com irradiação UV-Vis com as técnicas de fotólise e fotocatalise. O monitoramento da desinfecção de $1,0 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ de *C. parapsilosis* em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ NaCl , pH 7 durante 120 min é explicitado na Figura 27.

Figura 27: Contagem microbiana para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em 0,1 molL⁻¹ de NaCl, irradiação UV-Vis, E= 1,5 V.



Fonte: Próprio autor.

A morte do fungo atingiu 99,9% após um minuto de tratamento utilizando radiação UV-Vis. A fotocatalise permitiu a morte microbiana total em torno de 30 minutos. No entanto, para a fotólise foi necessário 60 minutos para 100% de desinfecção. Nos três processos, não foi verificada a formação de cloro ativo, clorato juntamente com perclorato durante a reação.

Estes resultados sugerem que no processo fotoeletrocatalítico deve haver uma maior formação de radicais hidroxilas (BRUGNERA, 2013). Os radicais $\bullet\text{OH}$ são altamente letais para microrganismos e muito reativos para substâncias orgânicas, danificando os ácidos nucleicos e a parede celular

(OZYLDIZ et al., 2010). Em adição, a forte reatividade destes radicais frente ao material orgânico pode ser responsável pela degradação dos produtos oxidados da lise celular durante o processo. Assim na presença apenas da luz UV (fotólise) a formação de radicais hidroxilas é negligenciável e os danos causados podem ser atribuídos à luz UV que promove estresse oxidativo e formação de radicais de oxigênio dentro da célula (BOCK et al., 1998). Existem na literatura diferentes tipos de danos ao ADN, como, por exemplo, a ruptura da dupla fita e foto-modificação das bases nitrogenadas. Entretanto, estes tipos de danos podem ser reparados pelas células após determinado tempo, o que explica uma menor cinética de desinfecção observada. Se o estresse da célula excede determinado limite, a célula morre ou torna-se incapaz de futuras divisões. A extensão deste tipo de efeito depende do tipo de microrganismo e de sua fisiologia (fase de crescimento, estado de nutrição, condições de crescimento, entre outros). Deste modo, apenas a utilização da fotólise não é muito efetiva (BRUGNERA, 2013). Por outro lado, na fotocatalise há formação de radicais hidroxilas pela oxidação da água pelos buracos gerados durante a irradiação sob o semicondutor. Contudo, o processo é complicado pela recombinação de cargas que diminuiu a eficiência do processo.

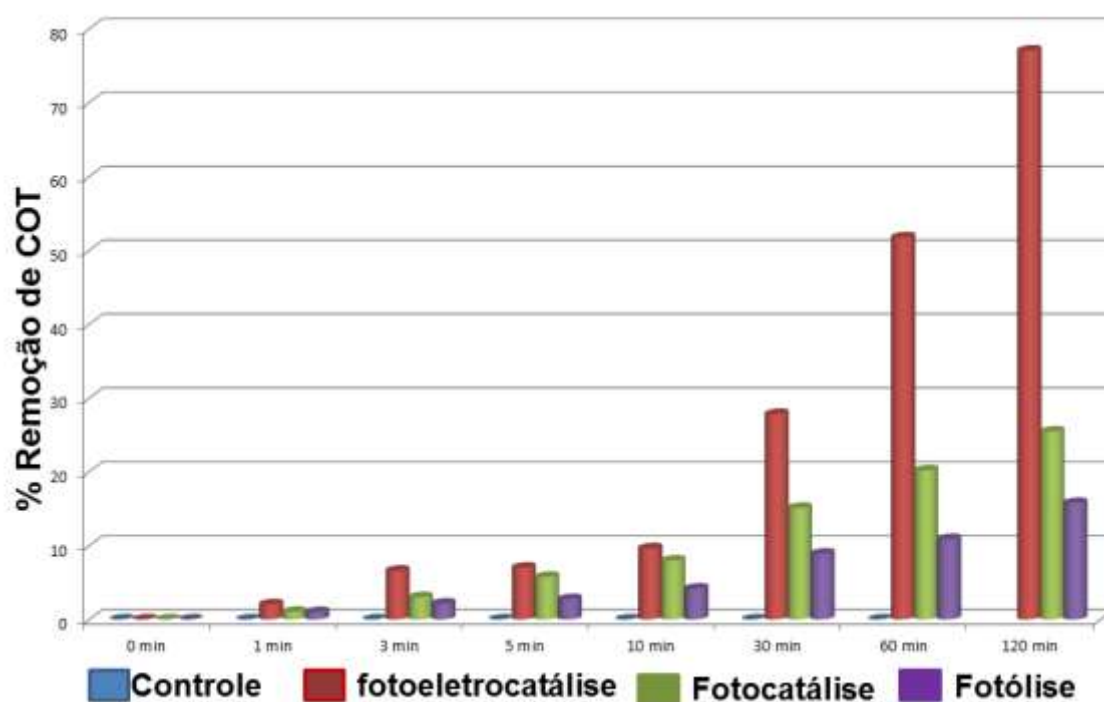
O efeito fotólise na mineralização da matéria orgânica proveniente do tratamento do fungo foi comparado por fotólise, fotocatalise e fotoeletrocatalise e mostrado na Figura 28. Os resultados mostram que 15% de mineralização é obtida para a fotólise (apenas a presença da luz). A fotocatalise permite uma mineralização de 28%, resultado inferior ao apresentado pela fotoeletrocatalise. Embora os princípios para fotocatalise e fotoeletrocatalise sejam os mesmos, a aplicação de potencial diminui a possibilidade de recombinação do par elétron/buraco, possibilitando a obtenção de melhores resultados.

Segundo Kühn et al. (2003), a redução microbiana tem se mostrado decrescente na seguinte ordem: *Escherichia coli* > *Pseudomonas aeruginosa* > *Staphylococcus aureus* > *Enterococcus faecium* > *Candida albicans*. A complexidade e densidade da parede celular aumenta na mesma ordem de procedência. Sendo assim, *E. coli* e *P. aeruginosa* possuem uma parede celular fina e fraca (gram-negativa), *S. aureus* e *E. faecium* parede celular mais espessa e densa (gram-positiva), e *C. albicans* tem uma parede celular e trata-

se de um organismo eucarionte, portanto é necessário a ruptura da parede celular, membrana plasmática e membrana nuclear para causar algum dano ao ADN. Esta ordem de precedência aparece razoável considerando-se que o primeiro passo na decomposição fotoeletrocatalítica consiste do ataque de radicais $\bullet\text{OH}$ sobre a parede celular (KÜHN et al., 2003).

Assim, considerando-se a eficiência do método proposto para desinfecção de *C. parapsilosis*, que é um microrganismo pertencente ao gênero mais resistente aos processos de desinfecção, este método é uma excelente alternativa para desinfecção de águas contaminadas com microrganismos unicelulares de diferentes gêneros. Ademais, os resultados observados revelam que a fotoeletrocatalise é a técnica mais eficiente a ser empregada em detrimento das demais para a desinfecção de *C. parapsilosis* nas condições otimizadas.

Figura 28: Gráfico de porcentagem de mineralização para o controle, fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível, na região do visível sobre eletrodo W/WO_3 ($E = +1,5 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ no intervalo de 120 minutos em $\text{NaCl } 0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7), fotocatalise e fotólise.



Fonte: Próprio autor.

4.10 Estudo da Influência da radiação visível na degradação de *C. parapsilosis*

Tendo em vista que o trióxido de tungstênio absorve também na região de visível (Figura 10), podendo ser fotoexcitado por este tipo de radiação, optou-se por investigar a eficiência da técnica de fotoeletrocatalise sob fotoexcitação do semiconductor construído com luz visível. Para promover a filtração da luz UV, utilizou-se um tubo de vidro.

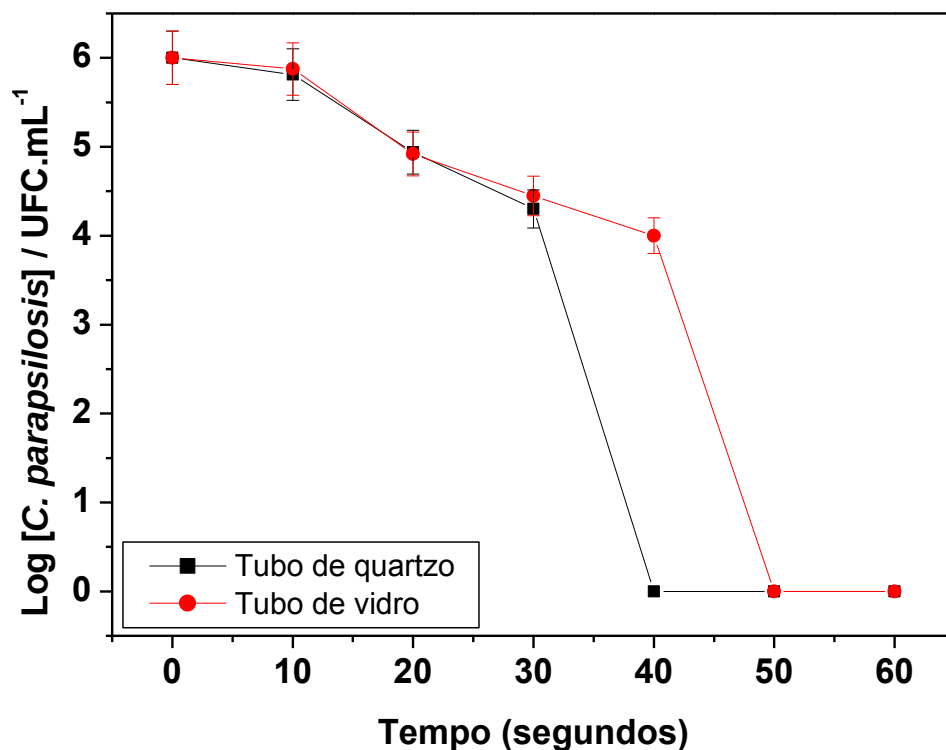
4.10.1 Determinação dos parâmetros cinéticos da inativação de *C. parapsilosis*

Considerando que a morte microbiana da levedura nas condições previamente otimizadas ocorre após um minuto de tratamento fotoeletrocatalítico, investigou-se a seguir o comportamento do sistema durante os 60 segundos iniciais. A Figura 30 traz a curva de contagem microbiana durante os 60 segundos iniciais para o experimento com irradiação luz ultravioleta e visível.

A análise da Figura 29 permite a constatação de uma cinética relativamente parecida entre os experimentos realizados com irradiação visível e ultravioleta, onde a morte microbiana se deu em torno de 30 segundos de tratamento.

A relação entre $\log N$ (concentração de levedura no tempo t) / $\log N_0$ (concentração de levedura inicial) vs tempo mostrou-se linear nos 30 segundos iniciais de tratamento, demonstrando uma cinética de pseudo-primeira ordem. Sendo assim, as constantes de desinfecção obtidas para o tubo de quartzo e vidro foram $k_1 = 5,1 \times 10^{-3}$ $k_2 = 4,3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$, respectivamente.

Figura 29: Contagem microbiana para tratamento fotoeletrocatalítico de *C. parapsilosis* em pH 7, NaCl 0,1 mol L⁻¹, irradiação UV-Vis (125W), E =1,5 V para os 60 segundos iniciais.

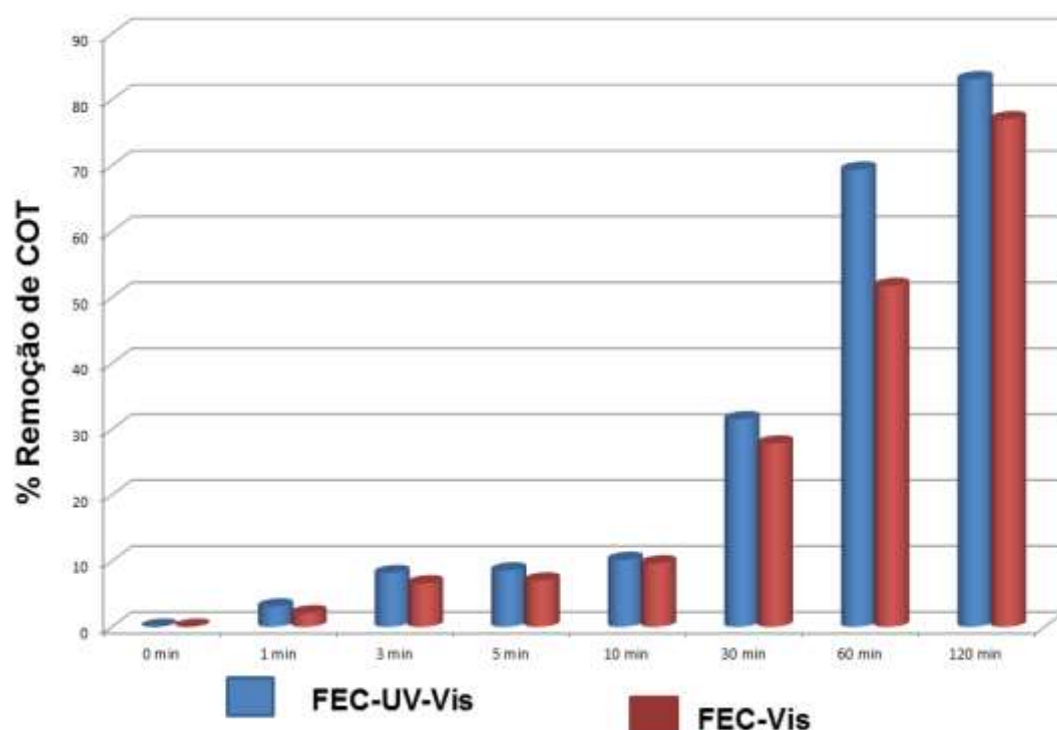


Fonte: Próprio autor.

4.10.2 Comparação entre Luz UV-Vis e Vis na inativação de *C. parapsilosis* em meio de cloreto

A Figura 30 traz o gráfico de remoção de carbono orgânico total para o tratamento de $1,0 \times 10^6$ UFCmL⁻¹ de *C. parapsilosis* em NaCl 0,1 mol L⁻¹, pH 7, E=1,5V e irradiação UV-Vis e UV.

Figura 30: Gráfico de porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível, na região do visível sobre eletrodo W/WO_3 ($E = +1,5 \text{ V vs. Ag/AgCl}$) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6 \text{ UFC mL}^{-1}$ no intervalo de 120 minutos em $\text{NaCl } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 7).



Fonte: Próprio autor.

O resultado encontrado mostra que o semicondutor construído pode ser fotoexcitado com auxílio de luz visível uma vez que houve um desempenho muito parecido entre as fotoeletrocatalises realizadas sob luz UV-Vis e Visível, com porcentagem de mineralização de 83,1% e 77,6%, respectivamente. A diferença observada entre a FEC-UV-Vis e FEC-UV pode ser atribuída a uma melhor excitação do eletrodo por conta da contribuição da radiação na região do visível e violeta, visto que o tungstênio absorve em ambas as regiões, aumentando a geração de cargas na superfície do semicondutor, ver Figura 10.

4.11 Aplicação do método na desinfecção do dialisato contendo *C. parapsilosis*

Considerando os resultados relevantes para a inativação de *C. parapsilosis* em meio aquoso e desejando encontrar métodos eficientes para resolver o problema de contaminação de águas em equipamentos de hemodiálise causados por fungos, em especial leveduras. Optou-se por investigar a aplicação do método desenvolvido no tratamento de dialisato usado em estações de hemodiálise. Baseando-se nos dados apresentados na Tabela 1, o método foi testado em duas soluções utilizadas em estações de hemodiálise.

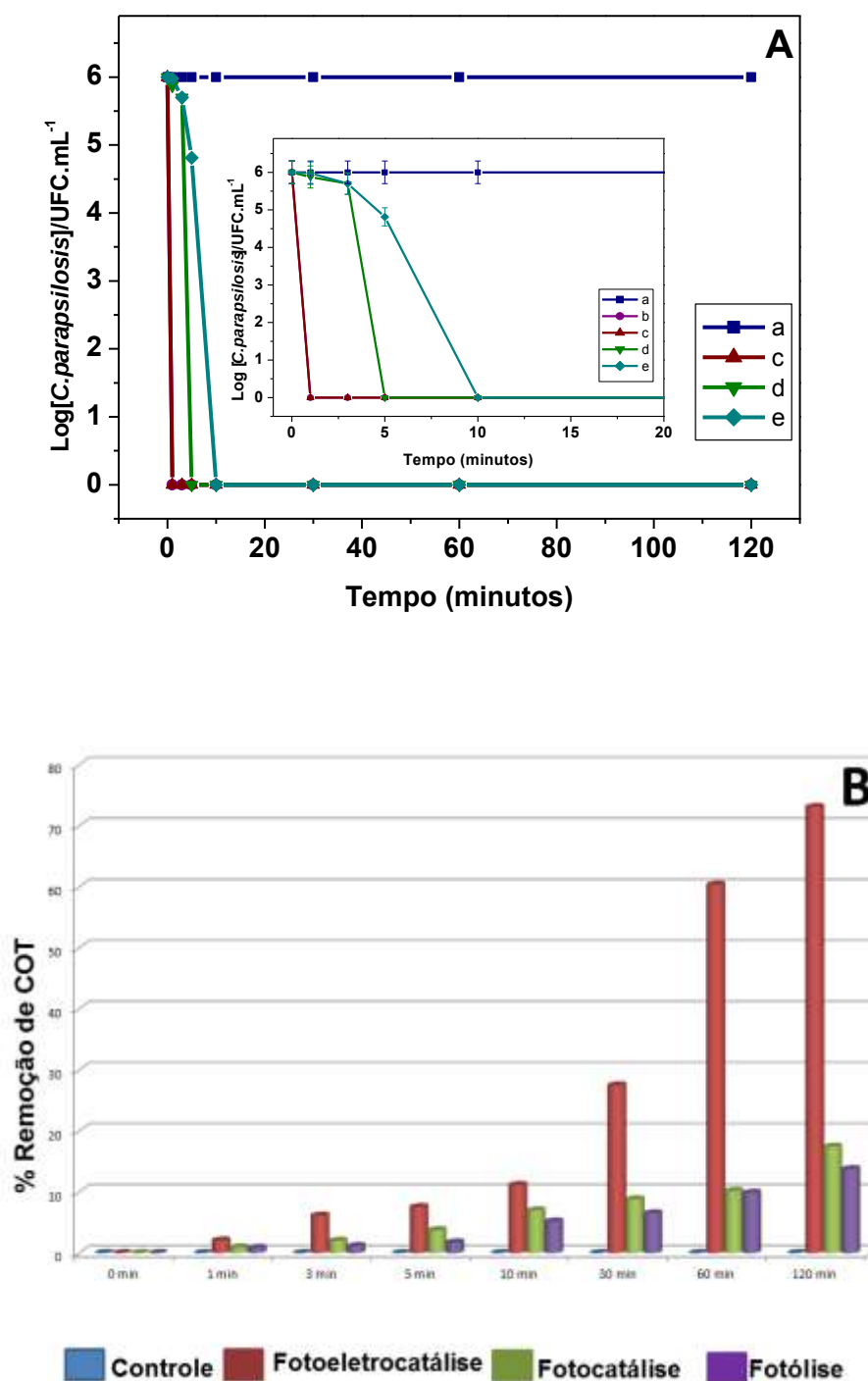
Estas soluções foram contaminadas com $1,0 \times 10^6$ UFCmL⁻¹ de *C. parapsilosis* e submetidas ao tratamento fotolítico, fotocatalítico e fotoeletrocatalítico.

4.11.1 Medidas realizadas no dialisato ácido

A Figura 31 apresenta a curva de morte microbiana obtida (A) e sua respectiva porcentagem de mineralização encontrada (B) para os experimentos realizados no dialisato ácido sob irradiação UV-Vis e potencial E=1,5V. Os resultados apresentados mostram 100% de desinfecção após 1 minuto para a fotocatalise, após 5 minutos para a fotocatalise e aproximadamente 10 minutos para a fotólise.

Avaliando-se a porcentagem de mineralização é possível também verificar que foi atingido 73% de remoção de carbono orgânico para FEC-UV-Vis, 17% para a fotocatalise e 14% para a fotólise.

Figura 31: Contagem microbiana e % de remoção de COT para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em dialisato ácido, irradiação UV-Vis, pH 2,3 e E= 1,5 V.



Fonte: Próprio autor.

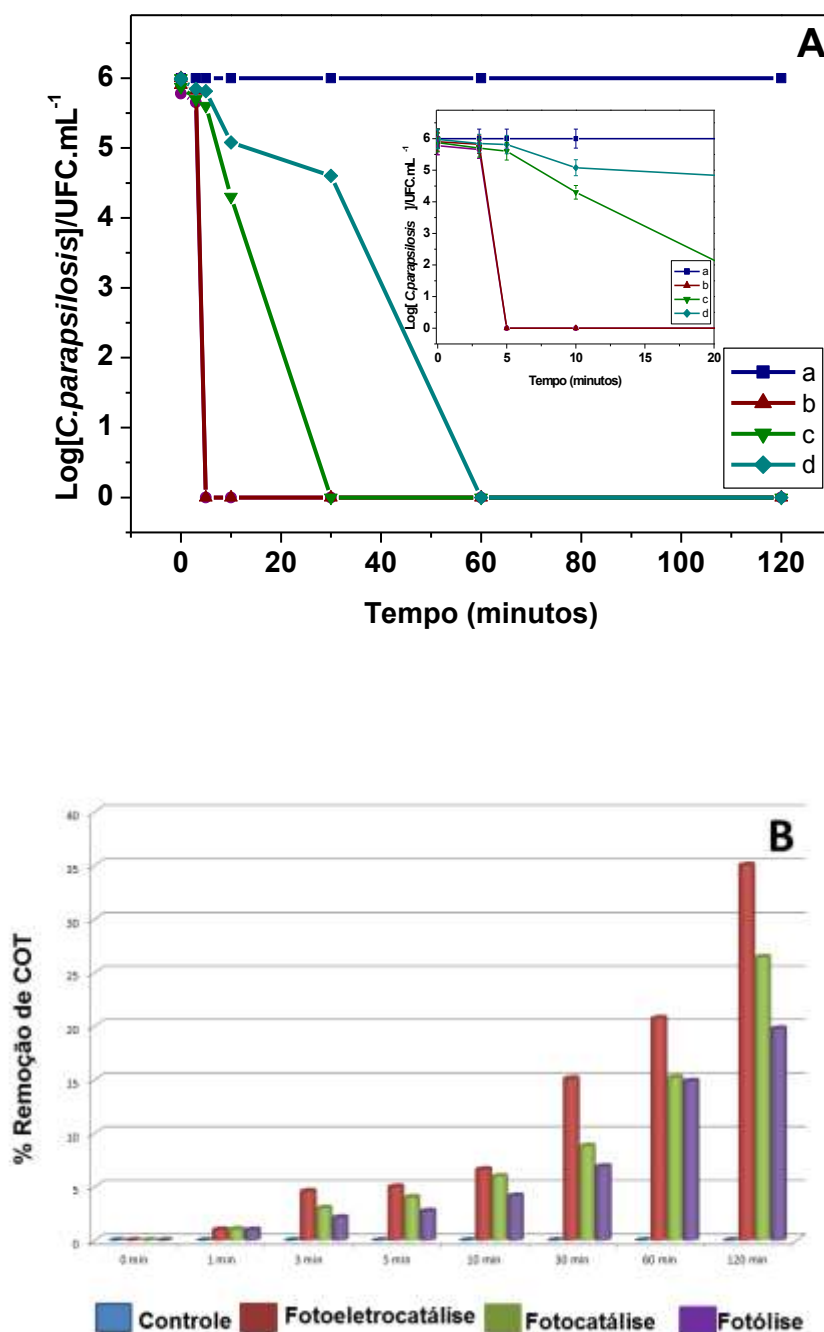
4.11.2 Medidas realizadas no dialisato básico

A seguir na Figura 32 encontram-se a curva de morte microbiana e o gráfico de porcentagem de mineralização obtidos no experimento realizado no dialisato básico.

Os resultados obtidos indicaram que foram necessários aproximadamente 5 minutos de tratamento fotoeletrocatalítico com excitação UV-Vis para se obter 100% de desinfecção, entre 10 minutos para fotocátalise e entre 30 min para fotólise. Para o TOC, foi obtida uma remoção de carbono orgânico total 45,1, 26,4 e 19,7% para fotoeletrocátalise, fotocátalise e fotólise, respectivamente.

O resultado observado pode ser explicado pelos componentes que estão presentes na composição do dialisato, Tabela 1. A baixa eficiência encontrada para tratamento do fluido de hemodiálise na desinfecção e remoção de carbono orgânico pode ser atribuída à alta concentração de carbonato presente na mesma, visto que este é um trapeador de buracos bem conhecido na literatura, inibindo, portanto a formação de radicais hidroxila e, conseqüentemente, diminuindo a eficiência da técnica. Pode-se ressaltar também que, durante o experimento, houve formação de aglomerado de sais sobre o eletrodo auxiliar. Uma boa alternativa para etapas futuras e obter resultados mais promissores é realizar a desinfecção em fluxo, conforme opera uma estação de hemodiálise.

Figura 32: Contagem microbiana e % de mineralização para o controle (a) tratamento fotolítico (b), fotocatalítico (c) e fotoeletrocatalítico (d) de *C. parapsilosis* $1,0 \times 10^6$ UFC mL⁻¹ em dialisato básico, irradiação UV-Vis, pH 7,3 e E= 1,5 V.

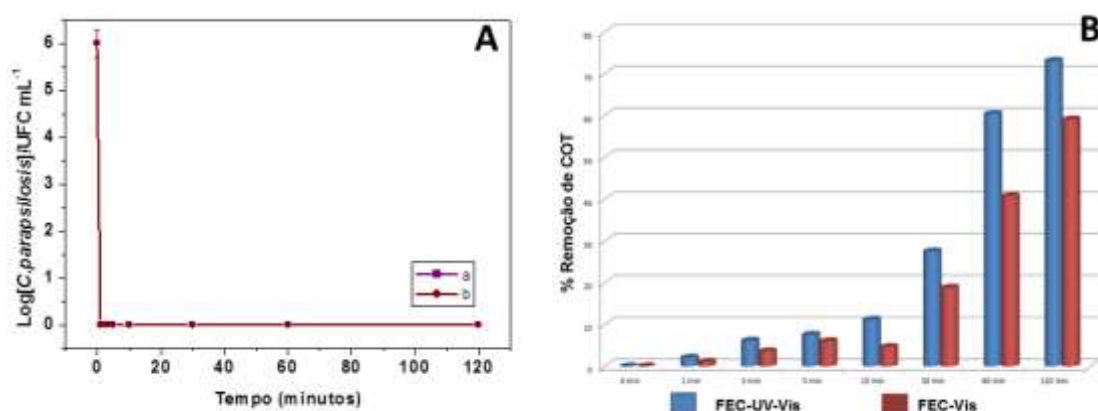


Fonte: Próprio autor.

4.11.3 Comparação entre Luz UV-Vis e Vis na degradação de *C. parapsilosis* no dialisato

Na Figura 33 encontram-se os gráficos de contagem microbiana e remoção de COT (B) obtidos depois do tratamento fotoeletrocatalítico do dialisato ácido, sob irradiação UV-Vis (a) e Vis (b), $E=1,5V$.

Figura 33: Gráfico de contagem microbiana (A) porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível (a), na região do visível (b) sobre eletrodo W/WO_3 ($E= +1,5 V$ vs. $Ag/AgCl$) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* $1,5 \times 10^6$ UFC mL^{-1} no intervalo de 120 minutos no dialisato ácido, pH 2.3 (B)

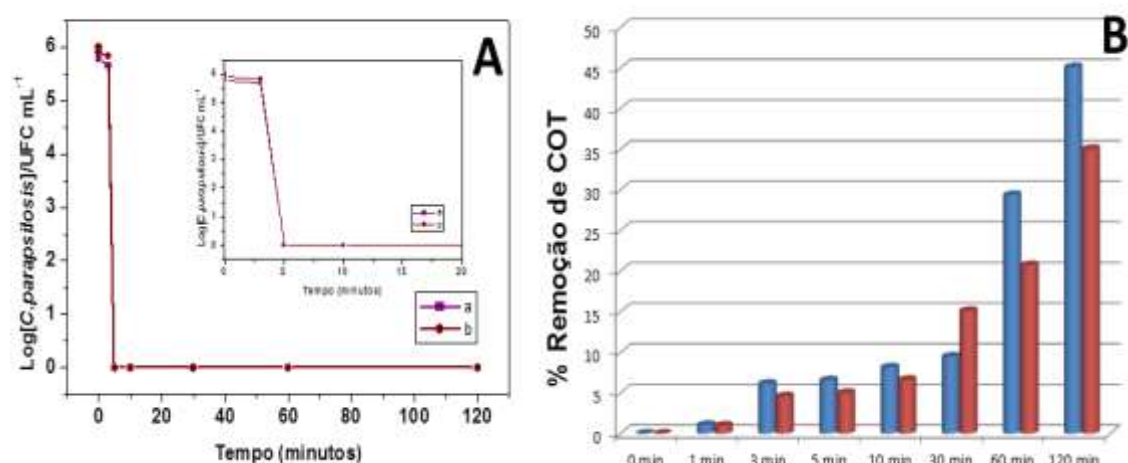


Fonte: Próprio autor

Foi obtida 100% de morte microbiana após 1 minuto de degradação tanto para luz UV-Vis e Vis, conforme os resultados anteriores. Para a medida de carbono orgânico, obteve-se uma remoção de carbono orgânico total de aproximadamente 73,1% e 59,2% para as medidas fotoeletrocatalíticas com UV-Vis e Vis, respectivamente.

A Figura 34 traz os resultados de morte microbiana e porcentagem de mineralização encontrados para o dialisato básico provenientes das medidas fotoeletrocatalíticas realizadas com fotoexcitação de semicondutor por luz UV e Vis.

Figura 34: Gráfico de contagem microbiana (A) e porcentagem de mineralização para fotoeletrocatalise realizada com luz na região do ultravioleta e visível (a), na região do visível (b) sobre eletrodo W/WO₃ (E= +1,5 V vs. Ag/AgCl) obtido para desinfecção de *C. parapsilosis* 1,5 x 10⁶ UFC mL⁻¹ no intervalo de 120 minutos no dialisato básico, pH 7.4, (B).



Fonte: Próprio autor.

As medidas realizadas com o dialisato básico revelaram 99,9% de morte microbiana por volta de 5 minutos para ambos os tratamentos. As medidas de carbono orgânico total apresentaram uma mineralização de 45,9% e 35,1% para as fotoeletrocatalises realizadas com luz UV-Vis e Vis, respectivamente.

Como já esperado, a baixa mineralização obtida pode ser atribuída à presença de íons carbonato que atuam como trapeadores de buracos, diminuindo a eficiência do método.

Os resultados preliminares obtidos para ambas as soluções de dialisato mostra a potencialidade da técnica empregada como um novo método para a desinfecção de águas de hemodiálise. Contudo, ainda é necessário realizar estudos a respeito da formação de possíveis espécies químicas durante o tratamento fotoeletrocatalítico e buscar formas de minimizar o efeito do íons carbonatos presentes em alta concentração no meio da solução empregada.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicam que o eletrodo de W/WO_3 preparado eletroquimicamente apresenta estrutura nanoporosa e fase monoclinica com *band gap* em torno de 2,5 eV. O eletrodo é fotoativo e absorve na região do visível e do ultravioleta e apresenta maior fotocorrente em NaCl 0,1 molL⁻¹ e radiação UV-Vis.

Parâmetros tais como: pH, eletrólito suporte, concentração do eletrólito suporte e potencial aplicado na desinfecção de *C. parapsilosis* e as melhores condições observadas foram para NaCl 0,1 mol.L⁻¹, pH 7 e potencial igual a 1,5V. Durante um minuto de tratamento foi diagnosticada a morte das leveduras quando o fotoânodo era irradiado com luz UV-Vis e Vis com auxílio da lâmpada de vapor de Hg 125W. Não foi verificada a formação significativa de cloro ativo nas condições empregadas assim como não há formação de íons clorato e perclorato durante a degradação fotoeletrocatalítica.

A comparação entre fotólise, fotocatalise e fotoeletrocatalise mostra que esta última mostrou-se mais eficiente, obtendo uma mineralização de matéria orgânica de 83%, Levando à conclusão que a metodologia adotada é bastante promissora para a desinfecção do dialisato contaminado com *C. parapsilosis*.

O método proposto foi aplicado na desinfecção do dialisato, usando as melhores condições experimentais. Para as medidas fotoeletrocatalíticas, verificou-se a morte microbiana em torno de 5 minutos e remoção de carbono orgânico total em torno de 73% e 45% para as soluções ácidas e básicas respectivamente.

Através dos resultados preliminares obtidos, pode-se concluir que o uso de eletrodos de W/WO_3 pode ser uma promissor alternativa para desinfecção de água em meio de cloreto e de cunho totalmente inovador para o tratamento da água de hemodálise. A fotoeletrocatalise é uma técnica eficiente para a desinfecção de águas, considerando-se que permitiu 100% de desinfecção em curtos tempos de tratamento para microrganismo altamente resistente aos

tratamentos convencionais, sem geração de subprodutos tóxicos até o momento. Entretanto, a análise da formação de organoclorado no meio é de grande relevância para o trabalho, assim como formas de diminuir o tempo de tratamento e aumentar a porcentagem de mineralização da matriz orgânica.

6 EXPERIMENTOS FUTUROS

Ficam como etapas futuras para este trabalho:

- a) Avaliação da formação de organoclorado no meio reacional por espectrometria de massas;
- b) Tratamento fotolítico, fotocatalítico e fotoeletrocatalítico em fluxo, para minimizar a formação de sais aglomerados e mimetizar um sistema de hemodiálise;
- c) Desinfecção fotocatalítica e fotoeletrocatalítica com o método proposto, utilizando os os eletrodos nanotubular e nanoestruturado.
- d) Medidas fotoeletrocatalíticas na misturas das soluções e investigação sobre as espécies formadas durante a desinfecção.

REFERÊNCIAS

ALROUSAN, D. M. A. et al. Photocatalytic inactivation of *E. coli* in surface water using immobilised nanoparticle TiO₂ films. **Water Research**, v. 43, n. 1, p. 47-54, 2009.

ANDREOZZI, R. et al. Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery. **Catalysis Today**, v. 53, p. 51-59, 1999.

ARRAES, A. C. P. **Detecção da diversidade molecular de *Candida* spp. isoladas de UTI neonatal**. 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2012.

ASHFORD, B. Certain conditions of the gastrointestinal tract in Puerto Rico and their relation to tropical sprue. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 8, p. 507-538, 1928.

BARADKAR, V. P. et al. Meningitis caused by *Candida parapsilosis* in HIV infected patient. **Bombay Hospital Journal**, v. 50, p. 94-95, 2008.

BARAM, N. et al. Enhanced inactivation of *E. coli* bacteria using immobilized porous TiO₂ photoelectrocatalysis. **Electrochimica Acta**, v. 54, p. 2281-3386, 2009.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BERGMANN, H.; ROLLIN, J. Product and by-product formation in laboratory studies on disinfection electrolysis of water using boron-doped diamond anodes. **Catalysis Today**, v. 214, p. 198-293, 2007.

BERGMANN, H. et al. New UV irradiation and direct electrolysis-promising methods for water disinfection. **Chemical Engineering Journal**, v. 85, n. 2/3, p. 111-117, 2002.

BESSEGATO, G. G.; GUARALDO, T. T.; ZANONI, M. V. B. Enhancement of photoelectrocatalysis efficiency by using nanostructured electrodes. In: ALIOFKHAZRAEI, M. (Ed.). **Modern electrochemical methods in nano, surface and corrosion science**. Rijeka: InTech, 2014. p. 271-319.

BLESA, M. A. **Eliminación de contaminantes por fotocátalisis heterogênea**. Buenos Aires: Digital Grafic, 2001.

BOCK, C. et al. Comet assay detects cold repair of UV-A damages in a human B-lymphoblast cell line. **Mutation Research- DNA Repair**, v. 408, n. 2, p. 111-120, 1998.

- BOCKRIS, J. O'M.; REDDY, A. K. N. **Modern electrochemistry**. New York: Plenum Press, 1977.
- BRANDT, M. E.; LOCKHART, S. R.; WARNOCK, D. W. Laboratory aspects of medical mycology. In: KAUFFMAN, C. A. et al. (Ed.). **Essentials of clinical mycology**. 2nd ed. New York: Springer, 2011. p. 3-27.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 36, de 12 de dezembro de 2011**, Brasília, DF, 1990. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>. Acesso em: 11 dez. 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância e controle da qualidade da água para o consumo humano**. Brasília, DF, 2006. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia_controle_qualidade_agua.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2015.
- BRUGNERA, M. F. **Métodos eletroanalíticos e cromatográficos aplicados na análise de micobactérias e desinfecção fotoeletrocatalítica de micobactérias e cândidas utilizando eletrodos de nanotubos de Ti/TiO₂ e Ti/TiO₂-Ag**. 2013. 203 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2013.
- BRUGNERA, M. F. et al. Inactivation and disposal of by-products from *Mycobacterium smegmatis* by photoelectrocatalytic oxidation using Ti/TiO₂-Ag nanotube electrodes. **Eletrochimica Acta**, v. 85, p. 33-41, 2012.
- BRUGNERA, M. F. et al. Silver ion release from electrodes of nanotubes of TiO₂ impregnated with Ag nanoparticles applied in photoelectrocatalytic disinfection. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 278, p. 1-8, 2014.
- BUTLER, G. Fungal sex and pathogenesis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 23, n. 1, p. 140-159, 2010.
- BUTLER, M. A. Photoelectrolysis and physical properties of the semiconducting electrode WO₂. **Journal of Applied Physics**, v. 48, p. 1914-1920, 1977.
- BUTTERFIELD, M. et al. Water disinfection using an immobilised titanium dioxide film in a photochemical reactor with electric field enhancement. **Water Research**, v. 31, n. 3, p. 675-677, 1997.
- BYRNE, A. J.; EGGINS, B. R. Photoelectrochemistry of oxalate on particulate TiO₂ electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 457, p. 61-72, 1998.
- CAPELLI, G. et al. Biofilm on artificial surfaces. **Contribution to Nephrology**, v. 154, p. 61-71, 2007.
- CARTER, K. E.; FARRELL, J. Oxidative destruction of perfluorooctane sulfonate using boron-doped diamond film electrodes. **Environmental Science and Technology**, v. 42, n. 16, p. 6111-6115, 2008.

- CHAPLIN, B. P. Critical review of electrochemical advanced oxidation processes for water treatment applications. **Environmental Sciences: Processes and Impacts**, v. 16, p. 1182-1203, 2014.
- CHO, M.; CATES, E. L.; KIM, J. H. Inactivation and surface interactions of MS-2 bacteriophage in TiO₂ photoelectrocatalytic reactor. **Water Research**, v. 45, p. 2104-2110, 2011.
- CHO, M. et al. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. **Water Research**, v. 38, p. 1069-1077, 2004.
- CHRISTENSEN, P. A. et al. Photoelectrocatalytic and photocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions by titanium dioxide. **Applied catalysis B: Environmental**, v. 41, p. 371-386, 2003.
- DANIEL, A. L. (Coord.). **Processos de desinfecção e desinfetantes alternativos na produção de água potável**. São Carlos: RiMa, 2001.
- DEACON, J. W. **Fungal biology**. 4th ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006.
- DURVASULA, R. V.; HIMMELFARB, J. Insuficiência renal crônica e diálise. **MedicinaNET**, 2013. Figura 8. Disponível em: <http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acp-medicine/5400/insuficiencia_renal_cronica_e_dialise_%E2%80%93_raghu_v_d_urvasula_%E2%80%93_jonathan_himmelfarb.htm>. Acesso em: 12 nov. 2015.
- EGERTON, T. A. et al. Photoelectrocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions by iron doped TiO₂. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 8, p. 398-406, 2005.
- EGERTON, T. A. et al. Photoelectrocatalysis by titanium dioxide for water treatment. **International Journal of Environment and Pollution**, v. 27, n. 1/3, p. 2-19, 2006.
- FINKLEA, H. O. **Semiconductor electrodes**. New York: Elsevier, 1988.
- FRAGA, L. E. **Estudo da degradação de microcistina através da geração de cloro ativo por fotoeletrocatalise utilizando eletrodo nanoporoso de Ti/TiO₂**. 2008. 64 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal de Sergipe, 2008.
- FRAGA, L. E.; ZANONI, M. V. B. Nanoporous of W/WO₃ thin film electrode grown by electrochemical anodization applied in the photoelectrocatalytic oxidation of the basic red 51 used in hair dye. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 4, p. 718-725, 2011.
- FRAGA, L. E. et al. Active chlorine and chlorine radicals generation by photoelectrochemical oxidation of chloride and its greater efficiency in organic compounds abatement. In: MANGIONE, R.; CARLYLE, D. (Ed.). **Chlorine: properties, applications and health effects**. New York: Nova Science Publisher, 2012. p. 225-239.

- FRAGA, L. E. et al. Evaluation of the photoelectrocatalytic method for oxidizing chloride and simultaneous removal of microcystin toxins in surface waters. **Electrochimica Acta**, v. 54, n. 7, p. 2069-2076, 2009.
- FUJISHIMA, A.; HONDA K. Eletrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. **Nature**, v. 38, p. 37-38, 1972.
- GOLDBLUM, E. S.; REED, W. Host defences and immunologics alterations associated with chronic hemodialysis. **Annals of Internal Medicine**, v. 93, n. 4, p. 597-613, 1980.
- GONDAL, M. A.; KHALIL, A. Synthesis of nano-WO₃ and its catalytic activity for enhanced antimicrobial process for water purification using laser induced photocatalysis. **Catalysis Communications**, v. 11, p. 214-219, 2009.
- GUARRO, J.; GENE, J.; STCHIGEL, A. M. Developments in fungal taxonomy. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 3, p. 454-500, 1999.
- GUILLARD, C. et al. Microbiological disinfection of water and air by photocatalysis. **Comptes Rendus Chimie**, v. 11, n. 1/2, p. 107-113, 2008.
- GUIYING, L. et al. Comparative studies of photocatalytic and photoelectrocatalytic inactivation of *E. coli* in presence of halides. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 140/141, p. 225-232, 2013.
- HARPER, J. C. et al. Effect of catalyst type on the kinetics of the photoelectrochemical disinfection of water inoculated with *E. coli*. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 31, p. 623-628, 2001.
- HODES, G.; CARREN, D.; MANASSEN, J. Tungsten trioxide as a photoanode for a photoelectrochemical cell (PEC). **Nature**, v. 260, p. 312-313, 1976.
- HONG, S. J. et al. Size effects of WO₃ nanocrystals for photooxidation of water in particulate suspension and photoelectrochemical film systems. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 34, n. 8, p. 3234-3242.
- JOACHIM, H.; POLAYES, S. Subacute endocarditis and systemic mycosis (*monilia*). **The journal of American Medical Association**, v. 115, n. 3, p. 205-208, 1940.
- KALUNUR, S. S. et al. Facile growth of aligned WO₃ nanorods on FTO substrate for enhanced photoanodic water oxidation activit. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 1, p. 3479-3488, 2013.
- KÜHN, K. P. et al. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. **Chemosphere**, v. 55, n. 1, p. 71-77, 2003.
- LAI, C. W. Photocatalysis and photoelectrochemical properties of tungsten trioxide nanostructured films films. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014. doi:http://dx.doi.org/10.1155/2014/843587.

- LEE, H. W.; LAI, C. W.; HAMID, S. B. A. In situ anodization of WO₃-decorated TiO₂ nanotube arrays for efficient mercury removal. **Materials**, v. 8, n. 9, p. 5702-5714, 2015.
- LENG, W. H. et al. Photoelectrocatalytic destruction of organics using TiO₂ as photoanode with simultaneous production of H₂O₂ at the cathode. **Applied Catalysis**, v. 300, p. 24-35, 2006.
- LINSEBIGLER A. L.; LU, G.; YATES, J. T. Photocatalysis on TiO₂ surfaces: principles, mechanisms, and selected results. **Chemical Reviews**, v. 95, p. 735-758, 1995.
- LIU, T. et al. Drinking water disinfection by hemin-modified graphite felt and electrogenerated reactive oxygen species. **Electrochimica Acta**, v. 56, p. 8278-8284, 2011.
- MACHADO, A. P. S. **Uso de técnicas de detecção rápidas de fungos filamentosos na água**. 2006. 50 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ambiente) - Escola de Engenharia, Universidade do Minho, [Braga], 2006.
- MAKAWANA, N. M. Photocatalytic water disinfection by simple and low-cost monolithic and heterojunction ceramic wafers. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 14, p. 1190-1196, 2015.
- MARETTO, J. P. M. **Caracterização da Candidemia por *Candida parapsilosis* senso lato em recém-nascidos**: aspectos epidemiológicos, clínicos, moleculares e susceptibilidade a antifúngicos. 2014. 77 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- MARTÍNEZ-HUITLE; C. A.; BRILLAS, E. Descontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. An updated review. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 166/167, p. 603-646, 2015.
- MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. Electrochemical alternatives for drinking water disinfection. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 47, n. 11, p. 1998-2005, 2008.
- MATSUNAGA, T. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. **FEMS Microbiology Letters**, v. 29, p. 211-214, 1985.
- MEDRANO, D. J. et al. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *Candida parapsilosis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 48, p. 17-20, 2006.
- MIJIN, D. et al. Decolorization of textile dye CI basic yellow 28 with electrochemically generated active chlorine. **Chemical Engineering Journal**, v. 204/206, p. 151-157, 2012.
- MIRANDA, L. **Colonização por *Candida* em indivíduos com candidemia**. 2008. 120 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

- MUJICA, M. et al. Prevalence of *Candida albicans* and *Candida non-albicans* in clinical samples during 1999-2001. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 36, p.107-112, 2004.
- MUSTAFA, A.; TUBA, C. Dissolution kinetics of WO_3 in acidic solutions. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 36, p. 603-608, 2005.
- NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C. D. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, p. 247-256, 2000.
- NOGUEIRA, R. F. P.; JARDIM, W. F. A fotocatalise heterogênea e sua aplicação ambiental. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 69-72, 1998.
- NOSECK, J.; HALESOVA, Z.; KOSA, P. Biology and genetics of pathogenic yeast *Candida parapsilosis*. **Current Genetics**, v. 55, n. 5, p. 497-509, 2009.
- NUCCI, M. et al. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. **Infectious Diseases**, v. 51, n. 5, p. 561-570, 2010.
- NYSTRAND, R. Microbiology of water and fluids for hemodialysis. **Journal of Chinese Medical Journal Association**, v. 71, p. 223-229, 2008.
- ÖZYILDIZ, F. et al. Antimicrobial activity of TiO_2 -coated orthodontic ceramic brackets against *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 15, n. 4, p. 680-685, 2010.
- PARRA, K. **Degradação de tetracilina em meio de urina artificial**. 2013. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.
- PATEL, U. D. Electrocoagulation of simulated floor-wash containing Reactive Black 5 using iron sacrificial anode. **Journal of Hazardous Materials**, v. 197, p. 128-136, 2011.
- PELCZAR, M. J. Jr.; CHAN, E. C. S.; KRIEGER, N. R. Objetivos da microbiologia. In: _____. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 2005. v. 1, cap. 2, p. 52-74.
- PHILIPPIDS, N. et al. Photoelectrocatalytic inactivation of *E. coli* XL-1 blue colonies in water. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 85, p. 1054-1060, 2010.
- PIRES, R. H. **Formação de biofilmes e resistência a antifúngicos e biocidas em *Candida parapsilosis* e *C. orthopsilosis* isoladas de águas usadas para hemodiálise**. 2010. 172 f. Tese (Doutorado em Biociências aplicadas a Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.
- PYRGOS, V. et al. *Candida* bloodstream infections in hemodialysis recipients. **Medical Mycology**, v. 47, p. 463-467, 2009.

- QIN, L. J. Effect of andozation parameters on morphology and photocatalysis properties of TiO₂ nanotubes arrays. **Journal of Materials Science & Technology**, v. 31, p. 1059-1064, 2015.
- RAJESHWAR, K.; IBANEZ, J. G. **Environmental electrochemistry: fundamentals and applications in pollution abatement**. San Diego: Academic Press, 1997.
- RAJKUMAR, K.; MUTHUKUMAR, M. Optimization of electro-oxidation process for the treatment of reactive orange 107 using response surfasse methodology. **Environmental Science**, v. 19, p. 148-169, 2012.
- RAMAWATI, F. et al. Ag e Cu loaded on TiO₂/graphite as a catalyst for *Escherichia coli*- contaminated water disinfection. **Chemical Papers**, v. 64, n. 5, p. 557-565, 2010.
- RIBEIRO, E. L. et al. Aspectos das leveduras de *Candida* vinculadas as infecções nosocomiais. **NewsLab**, v. 64, p. 106-128, 2004.
- SANTATO, C.; ULMANN, M.; AUGUSTYNSKI, J. Photoelectrochemical properties of nanostructured tungsten trioxide films. **Journal of Physical Chemistry B**, v.105, n. 5, p. 936-940, 2001.
- SCHULZE, J.; SONNENBORN, U. Yeasts in the gut: from commensals to infectiou agents. **Deutsches Ärzteblatt Internacional**, v. 106, n. 51/52, p. 837-841, 2009.
- SELCUK, H. Disinfection and formation of disinfection by-products in a photoelectrocatalytic system. **Water Research**, v. 44, n. 13, p. 3966-3972, 2010.
- SILVA, A. T. P. **Infection by *Candida Parapsilosis*: multifatorial analysis of an emerging medical problem**. 2012. 301 f. Tese (Doutorado em Biomedicina) - Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, 2012.
- SILVA, J. O. et al. Atividade antimicrobiana de liquens brasileiro. **Boletim da Sociedade Broteriana**, v. 59, p. 87-96, 1986.
- SOLARSKA, R. et al. Photoelectrolytic oxidation of organic species at mesoporous tungsten trioxide film electrodes under visible light illumination. **Journal of Applied Electrochemistry**, v. 35, p. 715-721, 2005.
- TAMURA, N. K. et al. Fatores de virulência de *Candida* spp isoladas de cateteres venosos e mãos de servidores hospitalares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, p. 91-93, 2007.
- TATSUMA, T. et al. Bactericidal effect of an energy storage TiO₂-WO₃ photocatalyst in dark. **Electrochemistry Communications**, v. 5, p. 793-796, 2003.

- TAVANTI, A. et al. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp nov. to replace *Candida parapsilosis* groups II and III. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 284-292, 2005.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2000.
- TROFA, D.; GACSER, A.; NOSANCHUK, J. D. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. **Cinical Microbiology Reviews**, v. 21, p. 606-625, 2008.
- TSUCHIYA, H. et al. Self-organized porous WO₃ formed in NaF electrolytes. **Electrochemistry Communications**, v. 7, p. 295-298, 2005.
- TYCZKOWSKI, J. et al. Amorphous semiconductor and amorphous insulator – two kinds of hydrogenated carbon – silicon films fabricated in the three-electrode reator. **Surface and Coatings Tecnology**, v.142 -144, p. 843-848, 2011.
- VALLE, G. C.; RENDE J. C.; OKURA, M. H. Estudo da incidência do gênero *Candida* em hospital público universitário. **NewsLab**, v. 101, p. 202-222, 2010.
- WALDNER, G. et al. Photoelectrocatalytic degradation of 4-chlorophenol and oxalic acid on titanium dioxide electrodes. **Chemosphere**, v. 50, n. 8, p. 989-998, 2003.
- WEI, M. C. et al. Improvement of textile dye removal by electrocoagulation with low-cost steel wool cathode reactor. **Chemical Engineering Journal**, v. 192, p. 37-34, 2012.
- WONG J. C. S. et al. Photooxidation of CH₃ Cl on TiO₂ (110) single cristal and powdered TiO₂. **Journal of Physical Chemistry**, v. 9, p. 335-338, 1995.
- XIAO, S. et al. Fabrication of TiO₂/Ti nanotube electrode and the photoelectrochemical behaviors in NaCl solutions. **Journal of Solid State Electrochemistry**, v. 13, p. 1959-1964, 2009.
- ZANONI, M. V. B.; SENE, J. J.; ANDERSON, M. A. Photoelectrocatalytic degradation of Remanzol Brilliant Orange 3R on titanium dioxide thin-film electrodes. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 175, p. 55-63, 2003.
- ZANONI, M. V. B. et al. Photoelectrocatalytic production of active chlorine on nanocrystalline titanium dioxide thin-film electrodes. **Environmental Science & Technology**, v. 11, p. 3203-3208, 2004.
- ZHU, T.; CHONG, M. N.; CHAN, E. S. Nanostructured tungsten trioxide thin films synthesized for photoelectrocatalytic water oxidation: a review. **ChemSusChem**, v. 7, p. 2974-2997, 2104.

ZHUO, Q. et al. Efficient electrochemical oxidation of perfluorooctanoate using a Ti/SnO₂-Sb-Bi anode. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 7, p. 2973-2979, 2011.