doi: http://dx.doi.org/10.5016/DT000609976

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais

Jomilson Moraes dos Santos

DESENVOLVIMENTO DE BIOCIDAS INORGÂNICOS A BASE DE ÓXIDOS DE TITÂNIO E SILÍCIO COM PRATA PARA DESINFECÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM MICRORGANISMO

Botucatu
2010

Jomilson Moraes dos Santos

DESENVOLVIMENTO DE BIOCIDAS INORGÂNICOS A BASE DE ÓXIDOS DE TITÂNIO E SILÍCIO COM PRATA PARA DESINFECÇÃO DE ÁGUAS CONTAMINADAS COM MICRORGANISMO

Tese apresentada como requisito a obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Materiais à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Programa de Pós-Graduação Interunidades em Ciência e Tecnologia de Materiais da UNESP, sob a orientação do Prof. Dr. Ariovaldo de Oliveira Florentino (em memória) e da Profª. Drª. Margarida Juri Saeki.

Botucatu

2010

PREFÁCIO

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório do Grupo de Eletroquímica e Química de Superfície (GEQS), do Departamento de Química e Bioquímica da UNESP, no Campus de Botucatu, sob orientação do Professor Dr. Ariovaldo de Oliveira Florentino (em memória) e da professora Drª Margarida Juri Saeki, co-orientação do professor Dr. José Pedro Serra Valente aos quais presto os mais sinceros agradecimentos.

A tese teve por objetivo desenvolver biocidas inorgânicos a base de óxidos de Titânio e silício com prata para desinfecção de águas.

No trabalho, contou-se com a colaboração da professora Drª Vera Lucia Mores Rall do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências (IB), UNESP, Campus de Botucatu, que contribuiu com os ensaios antimicrobianos.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

A Deus

A quem dedico toda minha gratidão,
Como diz o sábio Salomão: "Ensina a criança no caminho em que deve andar,
e, ainda quando for velho, não se desviará dele".
Provérbios, 22;6

Aos Meus Pais

José Pereira e Bernarda Moraes (*em memória*)
Minha imensa gratidão, por seu imensurável amor
e sua constante dedicação.

A Minha Eterna Namorada (Esposa)

Maria (Eleneude)
Pelo amor, companheirismo, dedicação, compreensão
e muita paciência em todos os momentos durante esta caminhada.

Ao Filho

Robson Marcel
Por toda a alegria que ele está me proporcionando.

Aos Meus Irmãos

José Carlos, Jobson, Jodson, Zenaide, Simão e Joás
Pelo companheirismo, amizade, idéias (conversas)
e por tudo que passamos juntos, valeu!.

AGRADECIMENTOS

Se hoje estou aqui, é porque Deus me guiou e nos momentos de desânimo em Seus braços me carregou.

A Ele devo toda minha vida, e também, mais essa etapa cumprida; pois quando pensei em desistir ou recuar Ele estendia o Seu braço e me ajudava a continuar.

Obrigado Senhor, pelas pessoas que me ajudaram a crescer e também por seu amor que me incitou a viver.

A ti dedico toda a glória por mais esse passo, mais essa vitória.

Agradeço em especial ao casal: Prof. Dr. Ariovaldo de Oliveira Florentino (em memória) e a Profª. Drª. Margarida Júri Saeki, pela orientação profissional, e contribuição na minha formação enquanto pesquisador, e pela sua sincera amizade e paciência.

Aos Professores: Prof. Dr. José Pedro Serra Valente, Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha e Profª. Drª. Sônia Maria Alves Jorge, pela ajuda, explicações e discussões que foram de grande valia para a realização do presente trabalho.

Aos Professores Doutores: Julio Toshimi, Alberto Cavalheiro e Fernando Broetto, pelo auxilio constante e convivência.

Aos colegas pós-graduandos Jorge Diniz, Silvio, Fabio, Renato, Valtair, Adriana, Rafael, Murilo, Emanuel, Felipe, Sidney e Priscylla Kelliny, pelo companheirismo e convivência agradável.

Aos Técnicos do departamento de Química e Bioquímica do IB, Fabinho, Luis Cláudio, Ivalde e Vânia, pela ajuda constante e por sempre contribuírem positivamente com todos que trabalham juntos, ou perto deles.

Ao Pessoal da Seção de Pós-graduação(SPG) da Faculdade de Ciências de Bauru (FC)-UNESP, do departamento de Microbiologia e Imunologia e ao departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências (IB)-UNESP, Campos de Botucatu-SP.

A FAPESP, FAPEMA e ao Governo do Maranhão pelo suporte financeiro.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

"A maior necessidade do mundo é a de homens – homens que se não comprem nem se vendam; homens que no seu íntimo sejam verdadeiros e honestos; homens que não temam chamar o pecado pelo seu nome exato; homens, cuja consciência seja tão fiel ao dever como a bússola o é ao pólo; homens que permaneçam firmes pelo que é reto, ainda que caiam os céus" (Educação, p.57).

Ellen G. White.

SANTOS, J.M.; "**Desenvolvimento de Biocidas Inorgânicos a Base de Óxidos de Titânio e Silício com Prata para Desinfecção de Águas Contaminadas com Microrganismos**". 2010. 142 f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais). UNESP, Botucatu – SP, 2010.

Resumo

O presente trabalho teve por finalidade preparar, pelo método sol-gel, biocidas inorgânicos (catalisadores) a base de óxido de titânio (ou titânia, TiO_2), modificados ou não com prata e/ou óxido de silício (ou sílica, SiO_2), na forma de pó, para a desinfecção de águas. Os materiais preparados foram testados para inativação das bactérias padrões ATCC, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, em reatores utilizados em fotocatálise heterogênea. Em baixas temperaturas de calcinação (250°C e 450°C), os catalisadores são monofásicos (titânia na fase anatásio, An), independentes das modificações (adição de prata e/ou sílica). Por outro lado, a cristalinidade das amostras diminui enquanto a área superficial aumenta com o aumento da quantidade dos modificadores. Quando a temperatura de tratamento é de 900°C, as amostras estruturam-se sob forma de titânia rutilo (Rt), sendo que na presença de prata, ela é segregada. Quando as amostras de TiO_2 são modificadas por sílica, a transição para a fase rutilo é dificultada e a titânia permanece estruturada sob forma de anatásio. Com a adição de prata à mistura titânia-sílica, somente 10% permanece na forma de anatásio e 90% sofre a transição para rutilo. Os resultados de FTIR confirmam que a adição de modificadores não introduz mudanças significativas aos grupos superficiais. A presença do silício e prata no material não alterou as posições das bandas de titânia An (não há indícios de formação de solução sólida), sendo que uma banda adicional associada ao grupo Si-O para as amostras contendo este modificador foi observada.

Os testes bactericidas, feitos sob irradiação (365 nm) e no escuro, mostraram que TiO_2 modificado com a prata acelera a inativação das bactérias e é ativo mesmo na ausência de luz.

Não se observa uma influência clara da temperatura de calcinação (estrutura cristalográfica do suporte e da fase ativa) na atividade antimicrobiana, pois materiais com o suporte rutilo também apresentam uma boa atividade. Todavia, temperaturas de tratamento entre 250 e 900°C são requeridas para otimizar a atividade. A sílica diminui a atividade, apesar das propriedades texturais (área superficial, porosidade) serem aquelas que favorecem a atividade.

Palavras-chave: Biocidas inorgânicos, fotocatálise heterogênea, oligodinâmico, titânia, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa.*

SANTOS, J.M.; **"Development of Inorganic biocides based on titanium oxide and silica with silver for the disinfection of water contaminated with microrganisms"**. 2010. 142 f. Thesis (Program of Doctor Degree in Science and Technology of Materials). UNESP, Botucatu-SP, 2010.

Abstract

This study aimed to prepare inorganic biocides based on TiO_2, modified or not by silver and/or SiO_2 (powder), by the sol-gel method, to be used for treatment of contaminated water. The ability to inactivate bacteria (ATCC standard) as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* was tested in a reactor used in heterogeneous photocatalysis. The samples are structured as single phase (anatase titania, An) at low temperatures of calcination (250°C and 450°C) even in the presence of silver and/or silica. Their crystallinity decreases with increasing amount of modifiers while the surface area increases. The sample, without modifiers, is structured as the rutile titania (Rt) when treated at 900°C and, in the presence of silver, this metal segregates. When the samples are modified by silica, the transition to rutile is suppressed and titania remains as anatase. Adding silver to titania-silica mixture, 90% of titania transforms to rutile but 10% still remain as anatase. The FTIR results confirm that the addition of modifiers does not introduce significant change in the surface groups. The presence of silicon and silver in the material does not change the positions of the An titania bands, exhibiting an additional band attributed to the Si-O group.

The bactericidal tests, carried out under irradiation (365 nm) and in the dark, showed that TiO_2 modified with silver accelerates the inactivation of bacteria and that it is active even in the absence of light. The influence of the calcination temperature (crystallographic structure of the support and active phase) on the bactericidal activity is not clear, since samples based on rutile support also exhibit good activity. Anyway, temperatures between

250 and 900°C are required to optimize the activity. The silica decreases the activity although the textural properties (surface area, porosity) are those that favor the activity.

Keywords: Inorganic biocides, heterogeneous photocatalysis, oligodynamic, titania, *Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Ilustração do Mecanismo da Fotocatálise Heterogênea em água sobre a superfície da titânia (CARDONA, 2001)..... **30**

Figura 3.1 Fluxograma da síntese do bactericida de óxido de titânio contendo íons prata e sílica pelo método sol-gel..... **48**

Figura 3.2 Fluxograma de preparação do bactericida na forma de pó (T, TA, TS e TSA)..... **49**

Figura 3.3 Sistema utilizado para os testes bactericidas usando o catalisador em suspensão, na presença da luz (λ=365 nm, 5,11 mW cm^{-2}, 15 W)..... **54**

Figura 3.4 Sistema utilizado para contar as Unidades Formadoras de Colônias (UFC)..... **55**

Figura 3.5 Placas de Petri contendo *E. coli*, resultado da incubação a 35°C por 24 horas de 1mL de solução à: a) 10^6 UFC/mL, b) 10^5 UFC/mL, c) 10^4 UFC/mL, 10^3UFC/mLe, e)10^2 UFC/mL..... **56**

Figura 3.6 Esquema do experimento para o estudo da influência do catalisador no crescimento das bactérias após incubação no PCA..... **58**

Figura 4.1 Análise Termogravimétrica dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C..... **59**

Figura 4.2 Análise derivativa da curva Termogravimétrica dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO2, TS = TiO2-SiO2, TA = Ag/TiO2 e TSA = Ag/TiO2-SiO2) tratados a 100°C..... **61**

Figura 4.3 Análise térmica diferencial dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C..... **62**

Figura 4.4 Difratograma de raios X das amostras de titânia sem modificador obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto)..... **67**

Figura 4.5 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto)..... **67**

Figura 4.6 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto)..... **68**

Figura 4.7 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto)..... **68**

Figura 4.8 Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra T25..... **71**

Figura 4.9 Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TS25..... **72**

Figura 4.10 Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TA45..... **72**

Figura 4.11 Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TS45..... **73**

Figura 4.12 Difratogramas de raios X das amostras de titânia sem e com modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 900°C e padrão de difração da fase anatásio (PDF 21-1272, em cinza claro) e rutilo (PDF 21-1276, em preto) do TiO_2 e prata (PDF 21-1272, em cinza escuro)..... **74**

Figura 4.13 Difratogramas de raios X, mostrando: gráfico de Rietveld da amostras T90 [DRX observado em pontos, DRX calculado em linhas contínuas, posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado)]..... **74**

Figura 4.14 Difratograma de raios X das amostras de titânia sem modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 550°C (verde), 650°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO2 (PDF 21.1276, em vermelho):TiO2 (T)..... **81**

Figura 4.15 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata)

obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 550°C (verde), 650°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO2 (PDF 21.1276, em vermelho): Ag/TiO2 (TA)..... **82**

Figura 4.16 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (silica) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 650°C (verde), 800°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO2 (PDF 21.1276, em vermelho): SiO_2/TiO2 (TS)..... **83**

Figura 4.17 Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata e sílica) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 650°C (verde), 800°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO2 (PDF 21.1276, em vermelho): Ag/SiO_2-TiO2 (TSA)..... **83**

Figura 4.18 Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinadas a 250°C: a) T25, b) TA25, c) TS25 e d) TSA25. (Magnificação de 5.000X)..... **84**

Figura 4.19 Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinadas a 450°C: a) T45, b) TA45, c) TS45 e d) TSA45. (Magnificação de 5.000X)..... **85**

Figura 4.20 Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinados a 900°C: a) T90, b) TA90, c) TS90 e d) TSA90. (Magnificação de 5.000X)..... **86**

Figura 4.21 Isotermas de adsorção de N_2 a 77K sobre amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C..... **89**

Figura 4.22 Isotermas de adsorção de N_2 a 77K sobre amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 450°C..... **90**

Figura 4.23 Distribuição de tamanhos de poros (desorção BJH) para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C..... **92**

Figura 4.24 Distribuição de tamanhos de poros (desorção BJH) para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 450°C..... **93**

Figura 4.25 Espectros na região do Infravermelho para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a: a) 250°C e b) 450°C..... **96**

Figura 4.26 Espectros na região do Infravermelho para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 900°C..... **97**

Figura 4.27 Inativação da *E.coli* (concentração inicial de bactéria, $2{,}0 \times 10^4$ UFC/mL) em

função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 250°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.coli*-E) e na presença de luz (*E.coli*-L)..... **99**

Figura 4.28 Inativação da *E.coli* (concentração inicial de bactéria, $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 450°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.c*oli-E) e na presença de luz (*E.coli*-L)..... **101**

Figura 4.29 Inativação da *E.coli* (concentração inicial de $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 900°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.coli*-E) e na presença de luz (*E.coli*-L)..... **103**

Figura 4.30 Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 250°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* -E) e na presença de luz (*P.aeruginosa*-L)..... **106**

Figura 4.31 Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 450°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* -E) e na presença de luz (*P.aeruginosa* -L)..... **107**

Figura 4.32 Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 900°C; Sufixo E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* -E) e na presença de luz (*P.aeruginosa* -L)..... **108**

Figura 4.33 Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,01 mg (concentração no PCA: 0,00067 mg/mL) no crescimento da bactéria *E. coli* (teste feito no escuro)..... **111**

Figura 4.34 Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,01 mg (concentração no PCA: 0,00067 mg/mL) no crescimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (teste feito no escuro)..... **111**

Figura 4.35 Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,1 mg (concentração no PCA: 0,0067 mg/mL) no crescimento da bactéria *E. coli* (teste feito no escuro)..... **112**

Figura 4.36 Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,1 mg (concentração no PCA: 0,0067 mg/mL) no crescimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (teste feito no escuro)..... **112**

Figura A1 Gráfico de TGA (vermelho) e sua derivada, DTG (azul) (RODRIGUES, 2007).. **127**

Figura A2 Desenho detalhado de um equipamento de termogravimetria (RODRIGUES, 2007)..... **128**

Figura A3 Diagrama esquemático do compartimento da amostra na análise DTA (RODRIGUES, 2007)..... **129**

Figura A4 Curva típica de uma análise térmica diferencial: a) Variação da capacidade calorífica b) Reação exotérmica c) Reação endotérmica (RODRIGUES, 2007). **130**

Figura B1 Difração de raios X por um cristal (Adaptado: YASUDA, 2008 e ETH ZURCH, 2009)..... **134**

Figura C1 Desenho esquemático da coluna do MEV, Adaptado da referência (YASUDA, 2008)..... **138**

Figura D1 Tipos de isotermas de adsorção na classificação BDDT..... **140**

Figura D2 Tipos de hiterese segundo a classificação da IUPAC..... **141**

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Dados estruturais de referência para as fases identificadas nas amostras deste trabalho..... **65**

Tabela 4.2 Dados obtidos para as amostras calcinadas a 250°C e 450°C..... **69**

Tabela 4.3 Dados obtidos para as amostras calcinadas a 900°C..... **75**

Tabela 4.4 Dados de área superficial e diâmetro médio de poros obtidos pelo método B.E.T..... **91**

LISTA DE SÍMBOLOS

An - Anatásio Óxido de titânio não modificado

A3c - Fase cúbica da Prata

CVD - Deposição química de vapor (*Chemical Vapor Deposition*)

DRX - Difratometria de raios X

DTA - Análise térmica diferencial

E - Escuro

e_{CB} - elétron na banda de condução

FTIR - Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier

FWHM - largura total à meia altura (*Full Width at Half Maximum)*

h^{+}_{BV} - buraco de elétrons formado na banda de valência

L - Luz

MDA -malondialdeído

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

PCA -Agar padrão (*Plate Count Agar*)

PDF -Arquivo de difração de pó (*Powder Diffraction File)*

Rt - Rutilo

S_{BET} - Área superficial B.E.T.

T - Óxido de titânio não modificado

TA - Óxido de titânio modificado com 5% em mol de prata

TG -Termogravimetria

TS - Óxido de titânio modificado com 20% em mol de silício

TSA - Óxido de titânio modificado com 20% mol de silício e 5% em mol de

	prata
T25	- TiO_2 , calcinado a 250^oC
T45	-TiO_2 , calcinado a 450^oC
T90	-TiO_2 , calcinado a 900^oC
TA25	- Ag/TiO_2 , calcinado a 250^oC
TA45	- Ag/TiO_2 , calcinado a 450^oC
TA90	-Ag/TiO_2 , calcinado a 900^oC
TS25	-SiO_2/TiO_2 , calcinado a 250^oC
TS45	-SiO_2/TiO_2 , calcinado a 450^oC
TS90	-SiO_2/TiO_2 , calcinado a 900^oC
TSA25	-Ag/SiO_2-TiO_2 , calcinado a 250^oC
TSA45	-Ag/SiO_2-TiO_2 , calcinado a 450^oC
TSA90	-Ag/SiO_2-TiO_2 , calcinado a 900^oC
UFC	- Unidades Formadoras de Colônias
25	- 250^oC
45	- 450^oC
90	-900^oC

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 23

1.1 Microrganismo em Corpos d'agua..... 25

1.1.1 *Pseudomonas*..... 27

1.1.2 *Escherichia coli* 28

1.2 Processo Fotocatalítico sobre TiO2..... 29

1.3 Ação Oligodinâmico da Prata..... 32

1.4 Método Sol-gel..... 33

1.5 Revisão bibliográfica..... 38

2 OBJETIVO..... 46

3 PARTE EXPERIMENTAL..... 47

3.1 Preparação da Solução Precursora 47

3.2 Preparação do Precursor na Forma de Pó 48

3.3 Caracteristica Física 50

3.3.1 Análise Térmica (TG/DTA) dos Pós 50

3.3.2 *Difratometria de Raios* X (DRX)..... 50

3.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 52

3.3.4 Análise Textural (BET)..... 52

3.3.5 Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)..... 53

3.4 Metodologia Microbiológica 53

3.5 Ensaio para verificação da influência do catalisador no crescimento das bactérias após incubação no PCA..... **56**

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 59

4.1 Análises Térmicas 59

4.2 Difratometria de Raio X..... 64

4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 84

4.4 Caracterização Textural por Adsorção de Nitrogênio..... 87

4.5 Espectrofotometria no Infravermelho..... 95

4.6 Resultado Bactericida..... 98

4.7 Ensaio para verificação da influência do pó no crescimento das bactérias após incubar no PCA..... **110**

5 CONCLUSÕES 114

6 TRABALHOS FUTUROS..... 116

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 117

APÊNDICE A – Análises Térmicas..... 126

APÊNDICE B – Difração de Raio X..... 132

APÊNDICE C – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... 137

APÊNDICE D – Método Brunauer-Emmett-Teller (BET) 139

1 INTRODUÇÃO

O progressivo interesse e preocupações com os problemas causados ao meio ambiente e esgotamento de fontes de energia, têm motivado distintas aplicações da tecnologia solar. Desenvolvimento dos processos fotocatalíticos para degradar contaminantes orgânicos persistentes em corpos d'águas residuais (industriais ou urbanas) é uma das decorrências destas preocupações (FREIRE, 2000; ALMEIDA, 2004; AGUIAR, 2007).

A mineralização de contaminantes dissolvidos em água e no ar mediante a fotocatálise se baseia no uso da parte mais enérgica do espectro solar (comprimento de onda inferior a 400 nm) para produzir uma reação de oxidação, através da ativação de um semicondutor (geralmente o dióxido de titânio, TiO_2) na presença de oxigênio. Nestas circunstâncias geram-se radicais hidroxilas ($OH^{\bullet}$) que reagem com substâncias orgânicas presentes no meio, promovendo a quebra progressiva de ligações até concluir em compostos como CO_2 e água (DIONYSIOS, 2000; ARAÚJO, 2006).

Este processo, que faz parte dos processos oxidativos avançados (POA), tem como vantagens: i) destruir um grande número de substâncias orgânicas, sejam simples ou misturas complexas, incluindo substâncias difíceis e perigosas normalmente tratadas por outros métodos dispendiosos como o caso de dioxinas, PCBs, solventes, pesticidas etc; ii) os subprodutos são compostos não tóxicos como água, N_2, CO_2 e ácidos orgânicos simples; iii) as substâncias contaminantes são eliminadas em um só processo sem a necessidade de serem extraídas do meio em que se encontram dissolvidas. Além disso, o processo acontece à temperatura ambiente, utilizando energia procedente de uma fonte limpa, ecológica, barata e inesgotável. Estas vantagens, associadas à simplicidade e economia do processo, têm despertado interesse também para o tratamento industrial de águas contaminadas com resíduos de origem farmacológica, fitossanitários ou de contaminação química como

pesticidas e outros defensivos agrícolas (NAMAN, 2002; PRADO, 2003; ARAÚJO, 2006; SANTOS, 2006).

Além de promover a total mineralização de uma grande variedade de contaminantes orgânicos, a fotoxidação utilizando TiO_2 como catalisador é promissora para a eliminação de microrganismos, podendo ser aplicada como material autolimpante e auto-esterilizante. Uma dessas aplicações é o uso em azulejos de hospitais, particularmente de salas cirúrgicas. Ao contrário dos bactericidas comuns, os azulejos revestidos com TiO_2 são continuamente ativos, enquanto houver iluminação. Visando a implementação de sistemas fotocatalíticos contínuos em grande escala, diversos estudos sobre a inativação de microrganismos, envolvendo bactérias, protozoários, vírus e fungos, vêm sendo realizados tanto na água como no ar, objetivando a desinfecção de efluentes de águas para abastecimento e de ambientes interiores sujeitos a contaminação (NAMAN, 2002; TIBURTIUS, 2004; ALMEIDA, 2004; SANTOS, 2006).

Contudo no desenvolvimento da tecnologia de assepsia, é importante que estes materiais sejam ativos também na ausência de luz. Uma alternativa interessante é adicionar metais na sua formulação constituindo sistemas do tipo M/TiO_2 que associam o efeito fotocatalítico do semicondutor à ação oligo-dinâmica do metal em uma reação catalítica que ativa o oxigênio do ar ou oxigênio dissolvido na água e promove a destruição das membranas celulares de microrganismos como bactérias, fungos etc, mesmo na ausência de luz (KAWASHITA, 2000; BORZANO, 2003).

O TiO_2 ocorre em três formas cristalinas, anatásio (tetragonal – banda proibida de 3,2 eV), rutilo (tetragonal – banda proibida de 3,0 eV) e bruquita (ortorrômbico) (YOSHINAKA, 1997). O rutilo tem maior resistência térmica, densidade de empacotamento de átomos maior e índice de refração também maior. A calcinação do anatásio acima de $600^{o}C$ leva a conversão de anatásio para rutilo (HERMANN et al., 1999). Apesar da sua banda proibida ser

maior, a fotoatividade superior do anatásio se deve à sua forma cristalina, que assegura uma menor taxa de recombinação do par elétron-buraco (e^-_{BC}/h^+_{BV}) e maior capacidade de fotoadsorção do oxigênio molecular e de suas formas ionizadas (BLESA, 2001).

Modificações no TiO_2 com a dopagem com metais nobres ou deposição na superfície do TiO_2, altera o mecanismo fotocatalítico: (i) reforçando a separação elétron-buraco, agindo como armadilhas eletrônica, (ii) alargando a absorção da luz na faixa do visível e valorizando a excitação eletrônica de superfície por ressonância plasmon animado pela luz visível e, (iii) modificando as propriedades da superfície fotocatalítica (SUNG-SUH, 2004). Estes efeitos podem agir isolada ou simultaneamente em função das condições da fotorreação. A adição de óxidos como SiO_2 na superfície do TiO_2, pode trazer dois beneficios: inibição da recombinação do par e^-_{BC}/h^+_{BV} e diminuição da energia da banda proibida. Além disso, o TiO_2 pode ter a sua área superficial aumentada (BLESA, 2001; CHAO, 2003; SHCHUKIN, 2004; BAIFU, 2005; VALENTE, 2005).

O enfoque desse trabalho está em desenvolver fotocatalisadores a base de TiO_2 modificados ou não com SiO_2 e/ou Ag, na forma de pós, obtidos via sol-gel, visando sua aplicação na desinfecção e/ou decomposição de meios contaminados com microrganismos padrão ATCC: *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, na ausência de luz.

1.1 – Microrganismo em corpos d'água

A água é essencial à vida, mas caso não seja tratada, pode causar doenças. Assim, deve ser utilizada somente após o reconhecimento de sua qualidade para ingestão (potabilidade) ou para o contato físico (balneabilidade) (VALENTE, 2008).

Segundo o Banco Nacional de Desenvolvimento (BNDES), a causa dos 65% das internações hospitalares, feitas no Brasil em 1998, de crianças menores de 10 anos é devida à

falta de saneamento básico. Em 2000, a Organização Mundial da Saúde (OMS), no relatório "Situação Global de Suprimento de Água e Saneamento", afirmou que 80% de todas as doenças e pelo menos 1/3 das mortes nos países em desenvolvimento estão associadas à contaminação por água e que pelo menos 1/10 da vida produtiva das pessoas é sacrificada devido às doenças relacionadas com a qualidade da água (VALENTE, 2008).

As conseqüências do uso da água contaminada à saúde podem ser de curto, médio ou longo prazo dependendo das concentrações de microrganismos e substâncias químicas. Em geral, os microrganismos patogênicos causam doenças com curto tempo de exposição (24 horas), sendo facilmente identificadas por manifestações como diarréia abundante, vômitos, rápida desidratação etc (COHN, 1999).

O Ministério da Saúde estabelece através da portaria No. 518/2004 que o padrão de potabilidade aceito é a ausência de coliformes termotolerantes (SPERLING, 2005). Entretanto, estima-se que 90% das águas de fontes ou reservatórios não atendem os parâmetros estabelecidos por leis (VALENTE et al, 2008).

A água para consumo público deve ser submetida aos métodos de desinfecção, geralmente a cloração. Por outro lado, existem trabalhos que demonstram que a cloração pode levar à formação de trialometano (DERISIO, 1992), que possui efeitos abortivos e associam-na a ocorrências de câncer dos tratos digestivo e urinário, sendo que em alguns países esta prática é proibida.

Deste modo, é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias que preservem o efeito bactericida ou bacteriostático de certas substâncias, sem que se formem resíduos indesejáveis. A desinfecção pode ser realizada com a utilização de alguns metais nobres, como a prata, que parece exercer efeitos letais sobre as bactérias em concentrações extremamente pequenas, conhecido como efeito oligodinâmico (PELCZAR, 1981). Segundo

Miotto e colaboradores (2000), a prata reage com algumas substâncias da célula, levando à coagulação e precipitação de importantes enzimas vitais aos microrganismos.

1.1.1 – *Pseudomonas*

Esse gênero pertence à família *Pseudomonadaceae* e apresentam-se como bastonetes Gram-negativos, retos ou ligeiramente curvados (0,5 a 1,0 x 1,5 a 5,0 μm). São aeróbios estritos, mas podem sobreviver em anaerobiose, utilizando nitrato ou arginina como aceptor final de elétrons. São móveis e algumas espécies produzem pigmentos hidrossolúveis, que se difundem no ágar (SPICER, 2002).

Com relação às características bioquímicas, *Pseudomonas* não fermentam a glicose ou lactose, não produzem gás e H_2S e são oxidase-positiva. São microorganismos que apresentam uma ampla distribuição de ocorrência, sendo encontrados no solo, em matéria orgânica em decomposição, na vegetação e na água. Também são encontradas em ambientes hospitalares e em reservatórios úmidos como nos alimentos, flores cortadas, pias, sanitários, esfregões para pisos, equipamentos de tratamento respiratório, diálise e até mesmo em soluções desinfetantes. São componentes da microbiota do trato gastrentestinal em cerca de 8% dos indivíduos sadios. Essa distribuição ubiquitária ocorre por não apresentarem grandes exigências nutricionais. Algumas cepas se multiplicam até em água destilada, utilizando quantidades mínimas de nutrientes (MURRAY, 2004).

Pseudomonas são, geralmente, patógenos oportunistas que infectam indivíduos imunodeprimidos (exceto pelos patógenos primários *P. mallei* e *P. pseudomallei*). Esse gênero é constituído de aproximadamente 10 espécies, sendo a *P. aeruginosa* a mais comum (BROOKS, 2000). Ela apresenta flagelos polares e suas colônias são planas, foscas, expansivas ou mucóides, com pigmentação verde e um odor típico adocicado, semelhante ao

de uva. Pode ser produtora de biofilmes (adesão das células a uma superfície sólida, devido à secreção de um polissacarídeo). *P. aeruginosa* é invasiva e toxigênica, provocando infecções em pacientes imunodeprimidos, sendo um potente patógeno hospitalar (SPICER, 2002). É freqüentemente observada em pequeno número na microbiota intestinal e da pele dos seres humanos (atuando como saprófitas) (SPICER, 2002).

P. aeruginosa veiculadas pela água podem causar infecções em feridas e em queimaduras. A superfície da queimadura úmida e a falta de resposta dos neutrófilos à invasão tecidual é o motivo da maior predisposição desses pacientes a tais infecções. A imersão em águas contaminadas pode causar a foliculite e, em pessoas cujas mãos ficam muito tempo expostas à água, essa bactéria pode causar infecções nas unhas. É comumente encontrada na otite externa branda em nadadores, sendo que em diabéticos e idosos pode provocar otite externa invasiva (maligna) (SPICER, 2002; MURRAY, 2004).

1.1.2 – *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* faz parte da família Enterobacteriaceae e, também, do grupo dos "coliformes" ou "bactérias entéricas". São bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, com capacidade de fermentar a glicose e lactose, com produção de gás. Apresentam resultados negativos nas provas bioquímicas de Citrato de Simmons, redução de compostos contendo enxofre para H_2S, degradação de uréia e fermentação butilenoglicólica (Voges Proskauer), e são então indol positivas (VALENTE, 2008).

Fazem parte da microbiota intestinal, mas alguns sorotipos causam várias doenças veiculadas por água e alimentos contaminados, como diarréias, disenterias e a Síndrome Urêmica Hemolítica (SPICER, 2002).

Os fatores de virulência da *E. coli* incluem as várias toxinas, cápsula, variação de fase antigênica, captação de fatores de crescimento, resistência à destruição sérica e resistência antimicrobiana. Atualmente, algumas cepas de *E. coli* apresentam grande resistência aos antibióticos, um problema cada vez maior no tratamento das infecções, sobretudo, na infecção hospitalar ou quando a disseminação comunitária é rápida. Sua presença em água é evidência de contaminação fecal. Grande parte das doenças infecciosas e parasitárias é transmitida pela água contendo fezes humanas e de animais. Como existem vários microrganismos patogênicos que podem transmitir doenças pela água, na prática, esta é avaliada pela presença de *E. coli* e de coliformes termotolerantes (SPICER, 2002; MURRAY, 2004; VALENTE, 2008).

A *E. coli* é uma bactéria mais comumente envolvida em doenças diarréicas e, nos países em desenvolvimento, é a causa principal das internações hospitalares de crianças menores de 10 anos que vivem em ambientes sem saneamento básico. Tal bactéria adere à mucosa causando desidratação (diarréia), sendo que a *E. coli* enteropatogênica (EPEC) produz enterotoxinas que destroem os vilos do ID (intestino delgado), levando à má absorção de nutriente. Causam também disenterias onde a bactéria invade e danifica a mucosa intestinal, provocando a eliminação das fezes com sangue e muco. A diarréia do viajante, diarréia do lactente em países subdesenvolvidos e a diarréia aquosa são geralmente doenças associadas à *E. coli* (MURRAY, 2004).

1.2 – Processo Fotocatalítico sobre TiO_2

O mecanismo da fotocatálise se baseia na ativação de um semicondutor, geralmente o TiO_2, pela luz solar ou artificial (radiação UV). A incidência da radiação luminosa sobre o

semicondutor excita os elétrons da banda de valência para a banda de condução. A excitação produz buracos (h^+_{BV}) na banda de valência que atuarão como sítios oxidantes, enquanto os elétrons (e_{CV}) fotogerados combinam-se com o oxigênio dissolvido, retardando a recombinação do par elétron buraco (BALASUBRAMANIAN, 2004; FERREIRA, 2004; MORAIS, 2006; SANTOS, 2006). O oxigênio que reagiu com os elétrons da banda de condução formam inicialmente o íon-radical superóxido (O_2^-) e, posteriormente, uma série de reações destacando a formação de radicais hidroxilas (ZHU, 2004, SEKLER, 2004). No mecanismo em que envolve buracos de elétrons, a água adsorvida no semicondutor atua no processo catalítico; tanto a água molecular quanto a dissociada (grupos OH^- ligados na superfície do TiO_2), reagem com os buracos h^+_{BV} fotogerados para formar radicais hidroxilas altamente oxidantes (E^o=2,8V) (VALENTE et al., 2005). Uma ilustração deste mecanismo é mostrada na Figura 1.1.

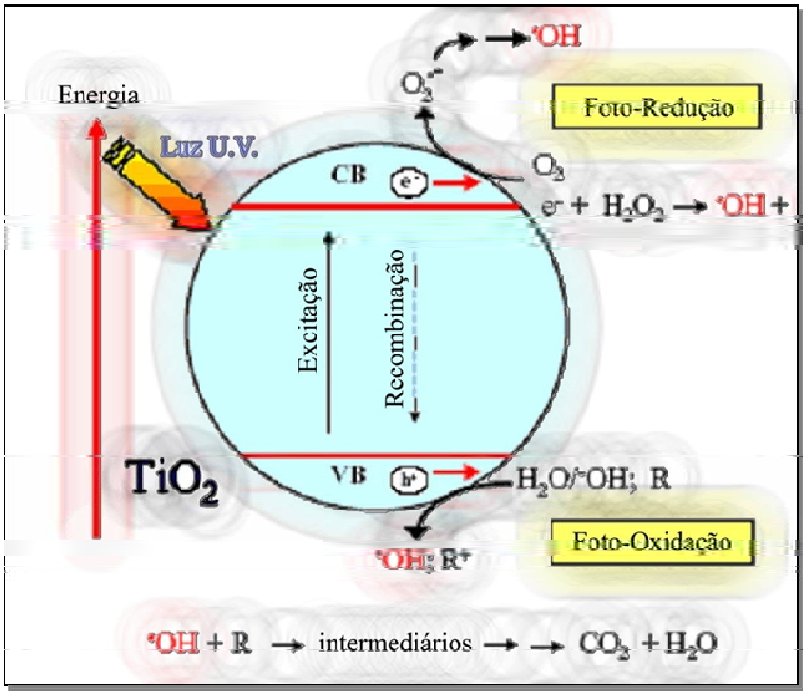

Figura 1.1: Ilustração do Mecanismo da Fotocatálise Heterogênea em água sobre a superfície da titânia (CARDONA, 2001).

O semicondutor dióxido de titânio (TiO_2) é o mais usado como fotocatalisador devido fundamentalmente à sua alta atividade, boa estabilidade química em uma ampla faixa de pH, por não ser tóxico e ser foto-estável. Aliado a estas vantagens, ele é abundante e de baixo custo (MILLS, 2003; AHN, 2003).

Este material é utilizado basicamente na forma de pó, em suspensão aquosa, ou ainda imobilizado em suportes inertes. Em suspensão, Mills and Wang (1998) recomendam que para trabalhos científicos seja utilizado uma concentração de 0,5 g/L de TiO_2, por ser uma concentração que, geralmente, permite que todas as partículas do catalisador sejam expostas a luz. Concentrações muito altas causam elevada turbidez impedindo que a radiação chegue às partículas do seio da suspensão diminuindo a eficiência quântica. O uso do catalisador imobilizado na forma de filmes tem a vantagem de não ser necessário a separação do catalisador após o tratamento, no entanto, devido a menor transferência de massa a velocidade da fotodegração é menor.

O processo em que usa o pó consiste fundamentalmente em suspender o óxido de titânio na água contaminada, borbulhar oxigênio e irradiar a solução com energia igual ou superior a energia requerida para excitação do semicondutor. Esta energia é a responsável pela promoção do elétron da banda de valência para a banda de condução e é conhecida como energia da banda proibida. A presença do elétron na banda de condução dá início a todo o processo de oxidação no meio circundante, e se estende enquanto irradiar o material com a fonte luminosa. Isso conduz à degradação de substâncias orgânicas tóxicas a intermediários logo nos primeiros estágios do processo e, depois de um determinado tempo, a completa mineralização desses poluentes (DIONYSIOU, 2000).

A utilização do TiO_2 na forma dispersa é bastante eficiente no tratamento destes resíduos industriais devido a sua alta área superficial (maiores que 50 m^2/g). A geração de radicais hidroxilas, os quais são responsáveis pela degradação oxidativa, é um fenômeno

estritamente de superfície. O pó de TiO_2 disponível comercialmente pode ser puro (anatásio ou rutilo) ou apresenta-se como mistura de duas fases cristalinas: anatásio e rutilo. No TiO_2 P25 da Degussa a fase anatásio compõe cerca 3/4 do material e é tido como o material que exibe alta atividade catalítica na degradação de várias espécies orgânicas (BOZANO, 2003; CHOI, 2004; SANKAPAL, 2005).

O anatásio é considerado a fase mais fotoativa. Uma das explicações é que esta fase tem um número maior de sítios reduzidos de Ti^{3+} que o rutilo. Os Ti^{3+} são formados pela redução de sítios Ti^{4+} por elétrons fotogerados. Devido à captura dos elétrons fotogerados por Ti^{4+}, a velocidade de recombinação dos pares elétron/buraco na superfície do TiO_2 é diminuída e a quantidade de buracos disponíveis para participar na formação de radicais é consideravelmente aumentada (ZHANG, 2003; BALASUBRAMANIAN, 2004).

1.3 – Ação Oligodinâmica da Prata

A ação oligodinâmica é definida como: "a capacidade que quantidades extremamente pequenas de certos metais, particularmente a prata, possuem de exercerem efeito letal sobre as bactérias" (PELKZAR Jr, 1998). O termo origina-se do grego "*oligos* = pequeno" e "*dinamikós* = poder" e ocorre quando há substância que em concentração baixas, afetam a atividade de organismo vivo. Dependendo das condições em que se encontra o organismo vivo e da concentração da substância oligodinamicamente ativa, esta última poderá estimular, inibir, ou até mesmo destruir o organismo vivo (BORZANI, 2003).

De longa data já era conhecida a ação oligodinâmica de alguns íons metálicos, entre os quais estão a prata, o cobre etc. O estudo das propriedades oligodinâmicas foi iniciado por Von Naegeli, em 1893. Em 1929, na Alemanha, Krausel tornou mais popular o uso destes íons metálicos como bactericida. Desde então, tem sido base para o desenvolvimento de

muitos processos e produtos (PRAT, 1989; ATSUMI, 1992; OKU, 1998). No Brasil, a ação oligodinâmica da prata sobre microrganismo foi estudada por Roberto Hottinger, Professor da Escola Politécnica da USP, no período de 1900 à 1942, ano de seu falecimento. Os trabalhos de Hottinger, realizados na década de 1920, conduziram ao processo por ele denominado "esterilização doméstica de água", que ainda hoje é muito empregado. A ação oligodinâmica dos chamados metais tóxicos, principalmente a prata, sobre microrganismo vivo, é citada com bastante freqüência em livros de microbiologia (BORZANI, 2003 e NOBRE, 2005).

Os íons de prata, em baixas dosagens, atuam nas atividades celulares pela reação representada pela equação: $R\text{-}S\text{-}H + Ag^{+} = R\text{-}S\text{-}Ag + H^{+}$. O radical -S-Ag influi na multiplicação bacteriana devido a sua ação constante e permanente. Dependendo da quantidade do material antimicrobiano, da condição da água e dos tipos de colônias de microrganismos, o material antimicrobiano pode atuar não só na eliminação microbiana, mas aniquilando ou anulando suas atividades proliferativas (NOBRE, 2005). Numa micro-visão da ação oligodinâmica tem-se dois tipos de ações: na primeira, em que há liberação do íon prata na água ou no ambiente úmido e a ação catalítica deste íon prata que destrói a membrana plasmática das bactérias pela diferença de potencial (eletropotência) estabelecida entre as partes interna e externa das células e a segunda ação em que o íon prata no ambiente úmido (água ou ar) penetra na membrana plasmática da célula bacteriana, destruindo o citoplasma das bactérias (NOBRE, 2005).

1.4 – Método Sol-Gel

O método sol-gel consiste na hidrólise e condensação de um precursor, que geralmente está na forma de alcóxido, com transformação em uma suspensão coloidal (sol) e estabelecimento de ligações entre as partículas ou espécies moleculares, levando a formação

de uma rede sólida tridimensional (gel). Após a transição (sol-gel), a estrutura sólida permanece permeada pela fase líquida (BRINKLER, 1990; JING, 2003; VALENTE, 2005). O gel é seco e calcinado para a obtenção do óxido desejado (xerogel).

A eficiência desse método pode ser verificada pela obtenção de sistemas multicomponentes com alta homogeneidade e pureza, maior controle da microestrutura e distribuição de tamanho de poros bem definida (HIRATSUKA, 1995, BRINKLER, 1990; SANKAPEL, 2005).

As reações envolvidas no processo sol-gel são mostradas, em detalhes, abaixo (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005):

Reação de hidrólise do precursor

Nesse processo, ocorre primeiramente a reação de hidrólise do precursor com a formação de grupos – OH terminais (Reação 1).

A hidrólise dos radicais alcoxi ocorre gradativamente até a hidrólise total. Apenas a primeira etapa da hidrolise é bem conhecida, pois as reações de condensação começam antes que a hidrólise se complete, ou seja, quando os grupos alcoxi ainda remanescem (hidrólise incompleta), tornando o mecanismo muito complexo. O tamanho do grupo alcóxido e sua eletronegatividade influenciam a velocidade de hidrólise, sendo o *n*-butóxido de titânio (IV) e o isopropóxido de titânio (IV) os mais utilizados (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

Duas formas diferentes de promover a reação de hidrólise têm sido propostas. Em uma delas a hidrólise é feita por adição de álcool com uma pequena quantidade de água na solução de alcóxido formando polímeros inorgânicos. Na outra, a hidrólise é feita só com água

gerando um sol particulado e uma subseqüente gelatinização. A escolha depende da taxa de hidrólise, ou seja, do metal e grupo alcoxi (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

$$\begin{array}{c} OR \\ | \\ OR - Ti - OR \\ | \\ OR \end{array} + H_2O \underset{Condensação}{\overset{Hidrólise}{\rightleftharpoons}} \begin{array}{c} OH \\ | \\ OH - Ti - OH \\ | \\ OH \end{array} + 4ROH$$

Reação 1 – Reação de hidrólise do alcoxi-precursor de titânio. O termo OR refere-se aos grupos alcoxi ligados no átomo de titânio.

Reações de condensação

As reações de condensação começam antes das reações de hidrólise completarem. Através delas formam ligações Ti – O – Ti, liberando moléculas pequenas tais como água e/ou álcool (Reação 2). Tanto as reações de hidrólise como condensação formam núcleos de partículas primárias (sol) que desenvolvem agregados de partículas secundárias (gel) (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

$$\equiv Ti - OH + \equiv Ti - OH \underset{Hidrólise}{\overset{Condensação\ aquosa}{\rightleftharpoons}} \equiv Ti - O - Ti \equiv$$

$$\equiv Ti - OH + \equiv Ti - OR \underset{Hidrólise}{\overset{Condensação\ alcóolica}{\rightleftharpoons}} \equiv Ti - O - Ti \equiv$$

Reação 2 – Reação de condensação do alcoxi-precursor de titânio. O termo (≡) significa que o átomo de titânio pode estar ligado a mais três grupos OH ou grupos OR.

Policondensação

Na policondensação ocorre a formação de múltiplas ligações Ti—O—Ti cruzadas levando a formação de uma rede (condensação cruzada), um produto de alta massa molar (Reação 3).

Durante o processo, conhecido também como gelatinização, ocorre a formação de estruturas tridimensionais sólidas, com propriedades determinadas pelo tamanho da partícula e extensão de ligações cruzadas das partículas, sendo que as condições do processo de gelatinização influenciam na estrutura, volume e tamanho do espaço da rede do gel. O processo de hidrólise-policondensação de alcóxido para a formação do gel não é reversível (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

$$\equiv Ti - O - Ti \equiv + \equiv Ti - O - Ti \equiv \rightleftharpoons Ti - O - \overset{|}{\underset{|}{Ti}} - O - \underset{|}{Ti} - O - Ti \equiv$$

Reação 3 – Reações de policondensação do alcoxi-precursor de titânio.

Essas reações que ocorrem em solução dependem de vários fatores como: composições e concentrações do alcóxido e dos solventes, quantidade de água adicionada, tipo e concentração de catalisador, seqüencia no qual os componentes são adicionados, condições de agitação e temperatura (JESCHKOWISKI, 1997; PIERRE, 1998; VALENTE, 2005; SANTOS, 2006).

Secagem

A remoção de líquidos dos interstícios da estrutura tridimensional produz um óxido hidratado e amorfo conhecido como xerogel (reação 4).

$$\equiv Ti-O-\underset{|}{\overset{|}{Ti}}-O-\underset{|}{Ti}-O-Ti\equiv \xrightarrow[100°C]{Secagem} Ti(OH)_4\,H_2O$$

Reação 4 – Secagem do gel para obtenção xerogel.

A secagem pode também ser feita em condições acima do ponto crítico, em que a remoção do solvente é feita sem colapsar a estrutura tridimensional do gel. Isso leva a formação de um sólido com alta área superficial, chamado de aerogel (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

Calcinação

Na calcinação, ocorre a destruição de resíduos orgânicos e ânions de ácidos, perda de água da estrutura polimérica e obtenção do TiO_2, sendo que a fase e a forma cristalina do TiO_2 dependem da temperatura de calcinação e atmosfera (Reação 5) (HIRATSUKA, 1995; VALENTE, 2005; ARAÚJO, 2006).

$$= Ti-O-\underset{|}{\overset{|}{Ti}}-O-\underset{|}{Ti}-O-Ti\equiv \xrightarrow{Calcinação} TiO_2+H_2O$$

$$Ti(OH)_4 \xrightarrow{Calcinação} TiO_2+H_2O$$

Reação 5 – Calcinação do gel ou do xerogel para a obtenção do óxido desejado.

1.5. Revisão bibliográfica

Em 1985, Matsunaga e colaboradores anunciaram pela primeira vez o efeito antimicrobiano das reações fotocatalítica de TiO_2. Desde então, trabalhos em que usam TiO_2 e seu efeito fotocatalítico para a inativação de organismos como vírus, bactérias, fungos, algas e células cancerosas tem-se intensificado (SRINIVASAN, 2003). Em geral, os trabalhos visam determinar as leis cinéticas e os mecanismos que levam à morte celular. No trabalho feito por Matsunaga, ele notou que a quantidade de coenzima A de diversos microrganismos (*Lactobacillus acidophilus, Saccharomyces cerevisiae* e *Escherichia coli*) diminuía quando eram tratadas com luz e TiO_2 contendo depósitos de platina. Propôs, assim, que a morte celular decorria da oxidação da coenzima A no contato do TiO_2 com células alvo e luz UV pela inibição da respiração celular (MATSUNAGA, 1985).

Em 1993, Ireland et al. estudaram a inativação da bactéria *E. coli* usando também o dióxido de titânio (anatásio) (IRELAND, 1993). Postularam que a espécie radicalar •OH (radical hidroxila), formada na reação do semicondutor (TiO_2) fotoexcitado com o oxigênio molecular e/ou água, é um potente antimicrobiano devido a seu alto potencial de oxidação (reatividade não-seletiva). Mostraram que esse material é capaz de gerar esta espécie numa concentração na ordem de 10^{-9} mol L^{-1}, no estado estacionário, enquanto que outras tecnologias (como ozonizarão, fotólise direta de peróxido de hidrogênio etc.) poderiam gerar numa concentração menor (~10^{-12} mol L^{-1}). Trataram 12 L de água contendo *E. coli* na concentração de 10^5 a 10^9 UFC/100mL (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) que eram re-circulados através de 4 foto-reatores onde eram irradiados por luz rica em radiação de 300 a 400nm. O fotoreator consistia de lâmpadas montadas coaxialmente dentro de uma jaqueta de aço. As lâmpadas eram cobertas com capas de tela de fibra de vidro as quais eram, por sua vez, recobertas com camadas de TiO_2. A água contaminada era bombeada através do

reator (espaço entre jaqueta lâmpada) com fluxo paralelo a lâmpada. Observaram que em 6 min a população diminuiu em 7 ordens de grandeza (de $2{,}0x10^9$ para $2{,}6x10^2$ UFC/100mL).

WATTS et al. (1995) utilizaram o dióxido de titânio (comercial: Fisher, fase anatásio) numa concentração de 250 mg L^{-1} e estudaram a inativação fotocatalítica em solução aquosa de pH 5 a 8 na presença de $5x10^7$ UFC mL^{-1} de coliforme ou 3000 virus mL^{-1} (poliovirus 1). Observaram que a cinética de inativação é de primeira ordem (obedece a lei de Chick, uma relação linear entre -ln N/No e tempo, onde N é a concentração da UFC ou vírus num tempo t e N_o é a concentração inicial da UFC). O tempo requerido para a população de coliforme decrescer duas ordens de grandeza foi de 150 min. Para o vírus, esse tempo foi de 30 min. Apesar disso, concluíram que o tempo requerido para a desinfecção dos efluentes contaminados com esses microrganismos não é o bastante para substituir os métodos convencionais de desinfecção (tratamento com cloração etc).

Huang et al. (2000) também estudaram a atividade antimicrobiano do TiO_2 (P25 da Degussa com área de 50 m^2/g), com o objetivo de investigar os sítios das células da *E. coli* que são atingidos pelo fenômeno fotocatalítico. Utilizaram *o*-nitrofenol-β-D-galactopiranosídeo (ONPG) como molécula sonda para estudar a mudança da sua permeabilidade através do envoltório celular e componente intracelular, ou seja, a integridade celular em conseqüência da ação fotocatalítica. A parede celular impõe barreira à entrada de ONPG e a disponibilidade da lactose permease é normalmente um fator limitante para o transporte da molécula sonda através da membrana citoplasmática. Como conseqüência imediata da irradiação da luz UV na presença de TiO_2 verificaram-se que a membrana aumenta a permeabilidade para moléculas pequenas de ONPG que está correlacionada com a perda da viabilidade celular. Ao entrar na célula estas moléculas eram hidrolisadas pela β-D-galactosidade, uma enzima intracelular, formando *o*-nitrofenol (ONP), um produto amarelo em meio alcalino que foi utilizada para acompanhar a permeabilidade. Ocorria também

vazamento de moléculas intracelulares grandes como β-D-galactosidade após 20 min, seguido de um progressivo dano da membrana citoplasmática e também dos componentes intracelulares, notado pela perda na atividade total da β-D-galactosidade. Verificaram também que partículas menores de TiO_2 causam danos mais rapidamente.

Sun et al. (2003) estudaram a degradação/mineralização da *E. coli* por uma mistura de óxidos TiO_2-Fe_2O_3 (suspensão, onde a fase anatásio é predominante para TiO_2) em um sistema constituído de uma lâmpada de mercúrio (de 11 W rica em emissão de radiação de 253,7 nm) encapsulado com quartzo e inserido dentro do reator cilíndrico (250 mL). A mistura de gás de O_2 e N_2 a diferentes fluxos relativos era alimentada pelo fundo do reator a uma taxa total de 550 mL/min. A suspensão da bactéria e catalisador também era alimentado a uma taxa diferencial para testar a reação sob diferentes tempos de retenção. Os resultados mostraram que a quantidade de oxigênio dissolvido, o tempo de retenção hidráulica (HRT) e a concentração da bactéria modelo afetam na eficiência da remoção de bactéria. Em última instância encontraram uma eficiência de remoção de 99% a um nível de oxigênio de 21,34 mg/L, HRT de 60s e uma concentração alta de *E. coli* (de 10^9 UFC/mL). Os resultados revelaram também que a taxa de fotomineralização de *E. coli* obedece uma cinética de pseudo primeira ordem. O modelo de reação consistente foi a combinação da quebra da célula com UV e um mecanismo Langmuir-Hinshelwood envolvendo dois sítios, onde a etapa determinante da reação é a interação superficial entre fragmentos de células das bactérias adsorvidas e radicais hidroxila.

Srinivasan et al. (2003) utilizaram TiO_2 na forma de pó ou filmes para esterilizar água contendo *E. coli* ou microcistinas, toxinas produzidas por cianobactérias. Demonstraram a boa eficiência da titânia para os tratamentos propostos.

Rincón et al. (2004) analisaram a eficiência do tratamento solar na redução da carga de bactérias em uma água potável na ausência e presença de TiO_2 (Degussa P-25, de 50 m^2/g).

No experimento de campo com água contaminada com *E. coli* K12 observaram que a titânia acelera a ação detrimental da radiação, a desinfecção é total em qualquer período do ano e que nenhuma recuperação da bactéria é observada em 24 h após exposição ao sol. Entretanto, na ausência de titânia, especialmente quando a desinfecção não era completa, observaram a recuperação das bactérias.

Num outro estudo, os mesmos autores (RINCÓN, 2004) explicaram esta recuperação da seguinte maneira: a radiação ultravioleta pode ser classificada em UV-A ou UV-distante (320-400 nm) e UV-B ou UV-próximo (290-320 nm). O UV-A causa somente danos ao DNA celular intermediados por espécies reativas de oxigênio como $\bullet O_2^-$, H_2O_2 e $\bullet OH$, que se formam catalisados por esta radiação. O UV-B causa danos ao DNA diretamente, induzindo a formação de dímeros de piridina ciclobutano (CPD) e piridina (6-4) pirimidinona (6-4PP). Caso esses dímeros sejam removidos por enzimas especificas de reparo intracelular, a replicação do DNA não é inibida ou alterada, e não causam mutações ou mortes. Assim, no processo de desinfecção por UV de água potável e água residuária, é importante monitorar os microrganismos de veiculação hídrica devido à capacidade dos microrganismos de reparar os danos causados na estrutura do seu DNA, principalmente se uma dose subletal de radiação é usada.

Seo et al. (2007) testaram a atividade de TiO_2 anatásio, preparado pelo método não-hidrolítico em alta temperatura, para a inativação de células de câncer (melanoma A-375). Notaram que, na ausência de luz, o TiO_2 não apresenta citotoxidade, pois 95% das células sobreviveram sob 400 mg/mL desse óxido. No entanto, somente 14% de células sobreviveram após 30 min de irradiação (20 mW cm^{-2}, rica em luz de comprimento de onda de 340-440 nm).

Conforme mencionado anteriormente, os trabalhos mostram que apesar do TiO_2 exibir excelentes propriedades anti-bacteriana, apresenta-na somente sob radiação UV. Uma

alternativa interessante é adicionar metais como prata na sua formulação, constituindo sistemas do tipo M/TiO_2, que associam o efeito fotocatalítico do semicondutor à ação oligodinâmica do metal (BORZANI, 2003), em uma reação catalítica que ativa o oxigênio do ar ou dissolvido na água e promove a destruição das membranas celulares de microrganismos como bactérias, fungos etc, mesmo na ausência de luz. Entretanto, vários estudos mostrando excelentes resultados onde se obtêm um efeito bactericida expressivo sobre a bactéria *E. coli* e outros, têm sido feitos somente na presença de luz.

Sökmen et al. (2001) estudaram a desinfecção da água a pH 7 contendo *E. coli* (K12, $1x10^8$ UFC mL^{-1}) usando Ag-TiO_2 (TiO_2 anatásio com 1% em massa de Ag) na presença de luz UV. Mostraram que a prata diminui drasticamente o tempo requerido para a degradação completa de bactéria (<1-2 min). Determinaram que a concentração mínima necessária do catalisador é de 0,1 mg mL^{-1}. Como possível mecanismo para inativação propuseram a reação de peroxidação do lipídeo que leva à formação de malondialdeído (MDA) e morte celular. Este mecanismo foi proposto inicialmente por Maness et al. (1999). Detectaram vários intermediários da reação por espectrômetro de massa associado a um cromatógrafo gasoso (GC-MS), mas justificaram que a eficiência do catalisador com prata para a degradação dos intermediários não permitiu determinações mais precisas do mecanismo.

Zhang et al. (2003) prepararam também o sistema Ag-TiO_2 depositando $[Ag(NH_3)_2]^+$, dissolvida em solução de etanol, sobre TiO_2 (P25 da Degussa). Prepararam depósitos de Ag a Ag/Ti=0,25 e 0,5 (expressa em termos do volume de $[Ag(NH_3)_2]^+$ 0,1 mol L^{-1}) com tamanho de partículas na ordem de 2 nm por irradiação de luz. O teste antibactericida foi feito para *Micrococcus lylae* (a $3x10^7$ UFC mL^{-1}), uma bactéria Gram-positiva, sob irradiação com lâmpada de 15 W rica em radiação de 365 nm. As quantidades de bactérias inativadas foram 5% e 30% superior em uma hora de teste quando continha prata a Ag/Ti=0,25 e 0,5, respectivamente, em comparação ao TiO_2 sem prata.

Sunada et al. (2003) testaram a atividade bactericida do filme de Cu-TiO_2 sob irradiação fraca de luz UV (1 $\mu W/cm^2$). Testaram a atividade para *E. coli* normal e aquele resistente ao cobre. O último mostrou nenhuma inativação na ausência de irradiação. A curva de decaimento de bactérias sobreviventes quando irradiadas (fraca) sugere que a inativação ocorre em duas etapas: a primeira em que o envoltório celular é decomposto permitindo a permeação dos íons cobre para dentro da membrana citoplasmática; numa segunda etapa, a desordem na membrana causada pelo íon cobre resulta na perda da integridade celular. Este mecanismo é o mesmo para *E. coli* normal, sob irradiação de alta intensidade, demonstrando que o sistema Cu/TiO_2 apresenta atividade antimicrobiano mesmo sob iluminação de baixa intensidade.

Xu et al. (2005) estudaram o efeito da prata também sob ação da luz. Mostraram que na fotodegradação do *orange II* pelo sistema de catalisador Ag-TiO_2/SiO_2/Fe_3O_2, a eficiência fotocatalítica é superior que quando o sistema não contém a prata. Explicaram o efeito da seguinte maneira: o TiO_2 é um semicondutor que quando os elétrons da banda de valência são excitados pela radiação UV para a banda de condução, geram pares de elétron-buraco. A reação fotocatalítica procede com esses elétrons e buracos separados espacialmente e a sua eficiência está correlacionada à densidade desse par na superfície do TiO_2. Porém, os elétrons excitados também podem voltar para a banda de valência e recombinar com os buracos produzindo normalmente o calor. Para otimizar a atividade fotocatalítica é necessário evitar a recombinação. O aumento na atividade observada foi atribuído à aceleração da formação de radical hidroxila pela prata, que diminui as chances para a recombinação, através da seguinte reação:

$$e_{CB} + nAg \rightarrow nAg^- \quad (1)$$

$$nAg^- + 1/2O_2 \rightarrow O^{2-} + nAg \quad (2)$$

onde e_{CB} representa o elétron na banda de condução. Aumentando o número e tamanho dos domínios de prata aumenta a eficiência fotocatalítica, mas a partir de certa quantidade de prata seus domínios se tornam tão grande que a reação de recombinação (reação 3) passa a competir com a reação (2).

$$Ag_n^- + h^+_{VB} \rightarrow Ag_n \qquad (3)$$

Cheng et al. (2006) modificaram a superfície do material antimicrobiano nanométrica de TiO_2/Ag^+ (comercial de 70 nm com 0,4% em massa de Ag) com γ-aminopropiltretoxisilano (APS) e PVC (cloreto de polivinila). Testaram a capacidade antibacterial do compósito para *E. coli* e *Staphylococci* e notaram que, em 24 horas, a população diminui em uma ordem de grandeza para *E. coli* (93,3%) e duas, para *Staphylococci* (96,7%). Mostraram que essas modificações não trazem efeitos negativos à atividade antimicrobiano.

Em 2006, Szabó-Bárdos et al. estudaram a decomposição do ácido aspártico sobre Ag-TiO_2 (SZABÓ-BÁRDOS, 2006). Demonstraram que este aminoácido é convertido predominantemente à NH_3 (detectado na forma de NH_4^+) quando irradiado por UV e que a exposição prolongada a esta radiação leva o NH_4^+ a oxidar para NO_2^- e NO_3^-. Mostraram, ainda, a importância da espécie •OH neste processo de fotodegradação. Num outro trabalho (SZABÓ-BÁRDOS, 2003), demonstraram que a oxidação fotocatalítica do ácido oxálico é intensificada quando a deposição de prata sobre a superfície do TiO_2 é feita simultaneamente. O experimento foi feito sob irradiação por uma fonte de 40 W rica em radiação de 350nm. Este trabalho mostra a importância do acoplamento redox do orgânico e da prata na atividade foto catalítica.

Liu et al. (2007) prepararam monólitos porosos de TiO_2 dopados com Ag pelo método sol-gel. Mostraram que o tratamento do precursor a 500°C proporciona monólitos com

estrutura porosa mais uniforme e TiO_2 estruturada na forma de anatásio. Comprovaram ainda que a temperatura de 500°C confere ao material maior atividade bactericida para *E. coli*.

Brook et al. (2007) prepararam filmes de TiO_2 por deposição química de vapor (CVD), sobre substratos de vidro mantidos em diferentes temperaturas (500°C e 650°C), e modificaram-no funcionalmente e estruturalmente com prata via CVD assistida por chama. Testaram a atividade fotocatalítica usando o ácido esteárico sob luz UV (365 nm, a 3 mW/cm^2) e encontraram que a taxa de degradação desse ácido varia entre 0,0017 e 0,0020 cm^{-1} min^{-1} (expressa em termos da redução na área do pico de absorção do ácido esteárico na região de infravermelho) dependendo da condição usada na funcionalização. A taxa foi menor no caso do filme sem Ag, onde aos 40 min, a quantidade de ácido degradado era somente a metade. Atribuíram a redução na atividade em alguns casos à presença do TiO_2 na forma de rutilo. O teste antimicrobiano foi feito para *E. coli* (ATCC 10536) expondo à luz UV-A a 2,29 mW/cm^2 na presença do catalisador. Mostraram que a prata é mais ativa quando está associada ao TiO_2 anatásio e que a atividade biocida maior de Ag-TiO_2 se deve à toxidade da prata e a fotoatividade do TiO_2 e sua capacidade de auto-regeneração.

Embora vários trabalhos citem sobre a atividade biocida da prata, os estudos da literatura se limitam a verificar o efeito da prata na atividade do TiO_2 na presença de luz UV.

2 OBJETIVO

O objetivo do projeto foi sintetizar, pelo método sol-gel, biocidas inorgânicos (em forma de pós) a base de TiO_2, modificado ou não com SiO_2 e/ou Ag, visando a aplicação na sanitização de amostras de águas contaminadas com microrganismos sem o auxílio da luz.

Os biocidas sintetizados foram: TiO_2, Ag/TiO_2, SiO_2-TiO_2 e Ag/SiO_2-TiO_2, tendo como objetivos específicos: (i) a caracterização física desses materiais mediante Análises Térmicas (TG/DTA), Difratometria de Raio X (DRX), Espectroscopia no Infravermelho (FTIR) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e, (ii) verificar a atividade antimicrobiana frente aos microrganismos como *E. coli* e *P. aeruginosa*.

O estudo foi conduzido de forma a entender a relação entre a atividade antimicrobiana e propriedades estruturais.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Preparação da solução precursora

Os materiais foram sintetizados pelo método sol-gel usando os seguintes precursores: isopropóxido de titânio [$Ti(CH_3OCHCH_3)_4$, da Acros organics, 98%], tetraetilortossilicato (TEOS) [$Si(OCH_2CH_3)_4$, da Merck, 98%] e $AgNO_3$ (Ecibra, 99,7%).

Inicialmente, o sal precursor de prata, $AgNO_3$, foi dissolvido em água contendo ácido nítrico (Merck, 65%), HNO_3. A solução resultante foi denominada solução "A".

Para as formulações contendo silício, o precursor TEOS foi pré-hidrolisado mantendo-se a solução de TEOS, etanol e água com pH ajustado para 2,0 (utilizando-se HNO_3), sob agitação, durante 2 horas. A solução obtida foi denominada solução "B".

A solução "A" foi adicionada a solução "B" e submetida à agitação durante 1 hora, formando-se a solução "C".

Separadamente, o precursor de titânio, $Ti(CH_3OCHCH_3)_4$, foi complexado com ácido acético glacial (Merck, 100%) para reduzir sua taxa de hidrólise e evitar gelatinizações localizadas. O complexo formado, em temperatura ambiente, foi diluído em isopropanol e agitado durante 1 hora. A solução resultante foi denominada solução "D".

A solução "C" foi adicionada à solução "D" e mantida sob agitação durante 1 hora.

A solução final, composta do sol de prata/titânia-silica (denominada de solução "E"), é a solução que contém todos os metais e apresenta pH em torno de 1.

O tempo de gelatinização da solução "E" variou de algumas horas até vários dias dependendo da quantidade de $Si(OCH_2CH_3)_4$ presente na composição. Cabe informar que ácido acético em excesso presente na solução "D" reduz a taxa de hidrólise do

$Ti(CH_3OCHCH_3)_4$ mas acelera a hidrólise do $Si(OCH_2CH_3)_4$. A Figura 3.1 mostra o fluxograma dessa síntese.

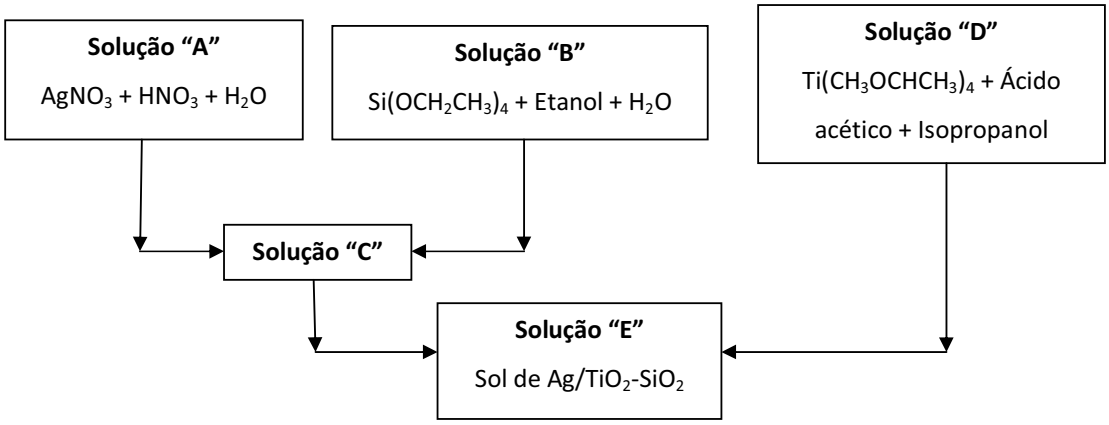

Figura 3.1. Fluxograma da síntese do bactericida de óxido de titânio contendo íons prata e sílica pelo método sol-gel.

As amostras sem prata ou silício foram preparada da mesma forma, porém não acrescentando a prata na solução "A" e TEOS na solução "B", respectivamente.

3.2 Preparação do precursor na forma de pó

Após a hidrólise ácida da solução "E" (formação gel), esta foi seca a 100°C por 24 horas em estufa. Em seguida, foram triturados em almofariz de ágata e levados ao processo de calcinação seqüencial. Foram preparados 4 conjuntos de amostras: T - óxido de titânio não modificado, TA - óxido de titânio modificado com 5% em mol de prata, TS – óxido de titânio modificado com 20% em mol de silício e TSA - óxido de titânio modificado com 20% em mol de silício e 5% em mol de prata (relativa à massa total de óxido de titânio e silício). Cada uma destas amostras foi levada à calcinação seqüencial: a 250, 450 e 900°C, por quatro horas

em cada temperatura, em forno tipo mufla com atmosfera estática de ar. Esse processo se faz necessário para secagem da solução e eliminação dos orgânicos cujas temperaturas foram estabelecidas com base nos resultados da termoanálise.

Ao longo deste trabalho a designação das amostras se dará pelas letras T (TiO_2), TA (Ag/TiO_2), TS (TiO_2-SiO_2) ou TSA (Ag/TiO_2-SiO_2), referentes à composição da amostra, seguidas de 25 (250), 45 (450) ou 90 (900°C), referentes às temperaturas finais de calcinação, mencionadas acima. A preparação dos pós encontra-se resumida no fluxograma abaixo (Figura 3.2).

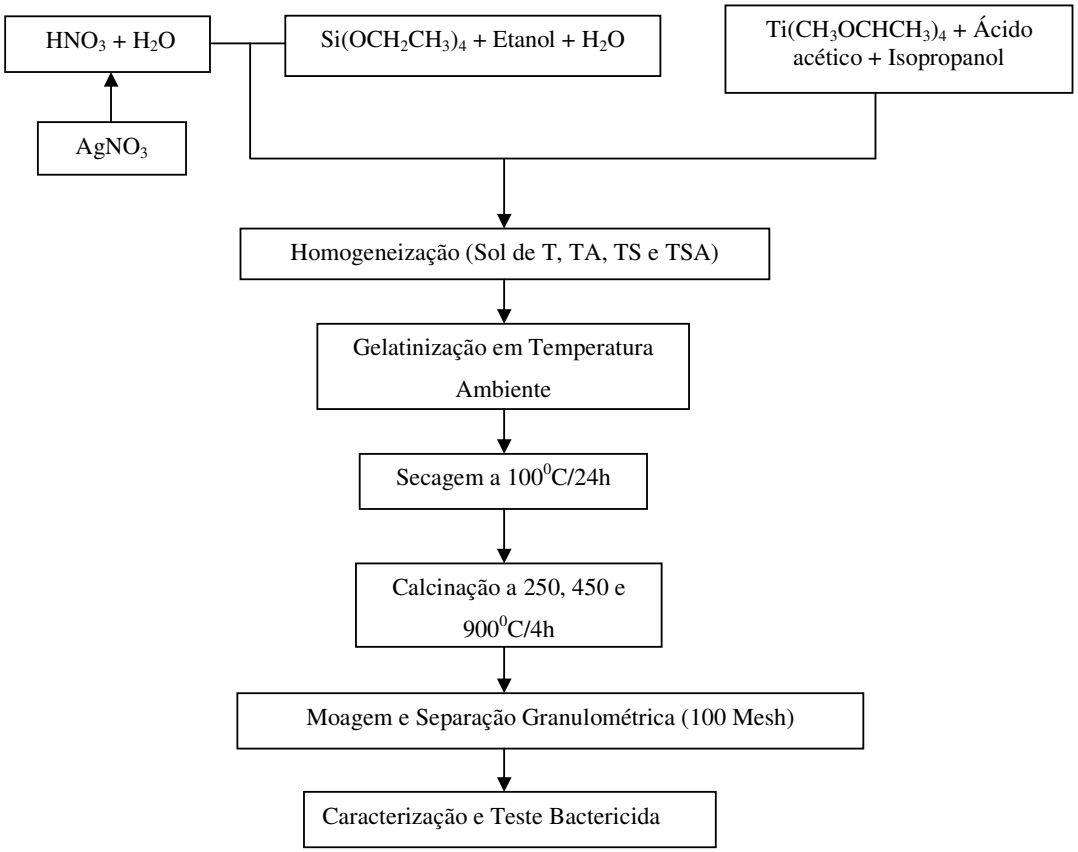

Figura 3.2. Fluxograma de preparação do bactericida na forma de pó (T, TA, TS e TSA).

3.3 Caracterização Física

3.3.1 – Análise Térmica (TG/DTA) dos Pós

Na análise térmica para identificação dos processos que ocorrem durante o tratamento térmico dos precursores de TiO_2, modificados ou não, utilizou-se um equipamento da marca Netzsch STA, modelo 409C. As análises simultâneas de termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA) foram feitas sob fluxo de ar sintético a 60 mL/min no compartimento da amostra e uma taxa de aquecimento à 10 K/min. Detalhes desta técnica encontra-se no Apêndice A.

3.3.2 – *Difratometria de Raios* X (DRX)

As análises por difração de raios X (Método do pó) foram feitas para todas as amostras na forma de pó (seção 3.2), ou seja, aquelas que foram tratadas termicamente em três temperaturas diferentes: 250, 450 e 900ºC, após triturar em almofariz de ágata, peneirar para homogeneizar o tamanho de grãos. Para tanto, utilizou-se um difratômetro da marca Rigaku, modelo Sistema D/MAX – 2100/PC, com radiação K_α do Cu (1,5406 Å) acelerado por um potencial de 40 kV e uma corrente de 20 mA, sendo que a radiação K_β era filtrada pelo Ni. Utilizou-se um goniômetro vertical varrido no modo de tempo fixo com passo de 0,02 graus e tempo de coleta de 1 s em cada ângulo, no intervalo de 10 a 90º (2θ). Detalhes desta técnica encontram-se no Apêndice B.

Após análise por DRX, foi feita a identificação das fases presentes nas amostras utilizando o banco de dados PDF2 “Powder Diffraction File - PDF2 database” distribuído por *Joint Committee on Powder Difraction Standards,* JCPDS*,* que contém cerca de 150 mil

padrões de difração. Após a identificação de fases e correlação com o banco de dados ICSD2003 "Inorganic Crystal Structure Database – version December 2003", que contém cerca de 75 mil modelos de estruturas cristalinas, os dados foram refinados pelo Método de Rietveld (RIETVELD, 1969), usando o programa DBWS-9807 (YOUNG, 1998).

O método de Rietveld é um método de refinamento de estruturas cristalinas que consiste da construção matemática de um padrão de difração de raios X (simulação), baseando-se num modelo estrutural adotado (estrutura que se espera para o material). Normalmente os dados cristalográficos [sistema, grupo espacial (simetria), posições atômicas, posições de ocupação e parâmetros de rede] são introduzidos no programa e o difratograma é simulado e comparado com o experimental cujo padrão de difração é obtido pelo método do pó num processo de varredura de ângulo passo a passo (*step scan* ou tempo fixo), com incremento $\Delta(2\theta)$ constante. Em seguida os parâmetros são refinados para minimizar a diferença entre os difratogramas simulado e experimental. Neste ajuste (refinamento da estrutura cristalina) a soma dos quadrados das diferenças entre as intensidades calculadas e observadas a cada passo angular é minimizado e o conjunto de parâmetros que resultar numa menor diferença dá informações sobre a estrutura ou um conjunto de estruturas cristalinas que proporcionam aquele padrão de difração.

A qualidade do refinamento é definida com base em três fatores: *Rwp*, S e R_B. O *Rwp* é o índice que indica a convergência do refinamento [se *Rwp* aumenta, significa que algum(s) parâmetro(s) está(ão) divergindo; se *Rwp* diminui, significa que o refinamento procede de forma que a diferença entre os padrões de difração simulado e experimental diminui e o final é estabelecido quando o *Rwp* atinge um valor mínimo e não varia mais]. O índice S é a razão entre *Rwp* e *Rexp*, sendo que o último é o valor estatisticamente esperado para o *Rwp*. S é chamado de *"goodnes of fit"* e deve estar próximo à 1,0 ao final do refinamento. O índice de Bragg (R_B) é um parâmetro que indica a qualidade do modelo escolhido, com base na

estrutura cristalina real, que foi adotado como sendo daquele composto que gerou o padrão de difração. Quanto menor o índice de Bragg mais confiável é o resultado. O método de Rietveld é aplicado na análise quantitativa de fases, parâmetros das células, deformações etc (SANTOS, 2009).

No presente trabalho, a quantidade do refinamento foi avaliada com base nos valores de *Rwp,* R_B e S, indicando que a qualidade foi satisfatória. Assim, não serão tecidos comentários sobre a qualidade na parte de resultados.

O refinamento foi feito com colaboração com o professor Dr. Alberto Adriano Cavalheiro professor da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) – Unidade de Naviraí.

3.3.3 – Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia do material (pó) foi analisada após os tratamentos térmicos a 250, 450 e 900°C. Após suspender o pó em etanol, foi disperso sobre lamínula de vidro, secado e metalizadas com ouro (camada de ~30 nm). Em seguida foram analisadas utilizando-se microscópio eletrônico de varredura (MEV) da marca FEI, modelo Quanta 200. Os detalhes desta técnica encontram-se no Apêndice C.

3.3.4 – Análise textural (BET)

A caracterização quanto à porosidade e área específica do pó de TiO_2 foi feita mediante a técnica de adsorção de N_2 a 77 K no equipamento da marca Micrometrics, modelo ASAP 2010. Detalhes desta técnica encontram-se no Apêndice D.

3.3.5 – Espectroscopia no Infravermelho (FTIR)

Amostras foram caracterizadas por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), usando um Espectrofotômetro da Marca Nicolet, Modelo Nexus 670 ou Magna760. As medidas foram feitas para identificar os grupos superficiais das amostras usando-se o acessório "Smart Collector" ou DRIFT (reflectância difusa), respectivamente.

3.4 Metodologia microbiológica

Esta parte foi desenvolvida com a colaboração da Profª Drª Vera Lucia Mores Rall do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biociências (IB) da UNESP, Campus de Botucatu-SP.

As cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) *e Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), foram repicadas para um tubo com caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI – Difco), que foi incubado a 35°C por 24 horas.

Após o crescimento no caldo, foi feito ajuste da diluição, comparando-se com a Escala 0,5 de Mac Farland (1,5 x 10^8 UFC/mL – Unidades Formadoras de Colônias por mililitro). A seguir, foram realizadas diluições seriadas decimais até obter uma suspensão com concentração de 10^6 UFC/mL. As diluições foram feitas em soluções salinas de 0,85%. Um mililitro (1 mL) dessa suspensão diluída foi transferido para 50 mL de água destilada (esterilizada), obtendo-se uma suspensão com concentração final de 2x10^4 UFC/mL, a qual foi colocada em um reator cilíndrico termostatizado para 25°C e mantida sob agitação.

Com o intuito de comprovar a atividade dos catalisadores na ausência de radiação, e distingui-la também da atividade biocida da própria radiação UV, cada teste foi feito nas

seguintes condições: ausência de luz e de catalisador (controle); ausência de luz e presença de catalisador; presença de luz sem catalisador e presença de ambos (luz e catalisador).

Para estudos com catalisador, na suspensão de $2x10^4$ UFC/mL eram colocados os bactericidas inorgânicos (catalisadores T, TA, TS e TSA, tratados em diferentes temperaturas) de modo a obter uma suspensão, em catalisador, de 0,0001 g/mL.

Nos testes com irradiação utilizou-se 4 lâmpadas de 15 W de potência, colocadas a 5 cm de distância do reator resultando numa irradiância de 5,11 mW cm^{-2} de luz UV (ajustado com radiômetro da Solar Ligh, modelo PMA 2100), cujo comprimento de onda predominante é de 365 nm. A Figura 3.3 ilustra o sistema utilizado neste teste.

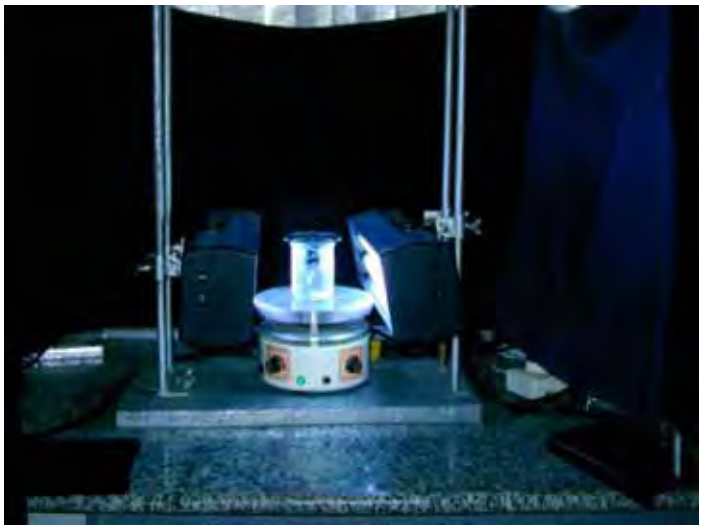

Figura 3.3 – Sistema utilizado para os testes bactericidas usando o catalisador em suspensão, na presença da luz (λ=365 nm, 5,11 mW cm^{-2}, 15 W).

Ao iniciar o teste, alíquotas de 1 mL eram retiradas a cada intervalo de tempo de 5 min durante um período de 30 min para a contagem de células viáveis.

A contagem das células viáveis (não degradada) foi feita utilizando-se o método de *Pour Plate* ou plaqueamento em profundidade, onde alíquota de 1 mL era depositada em uma placa de Petri esterilizada e, em seguida, era adicionado um volume de 15 mL de ágar padrão (Plate Count Agar - PCA) (Difco) fundido (resfriado até uma temperatura de aproximadamente 45ºC). Após a homogeneização e solidificação do ágar, as placas eram incubadas em posição invertida por 24 horas a 35°C. Após esse tempo de incubação, a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC) era feita com o auxílio de um contador de colônia tipo Quebec (Figura 3.4) (EATON, 1995).

Contudo, quando o número de UFC não estava na faixa adequada para contagem (placas com 25 e 250 UFC), eram escolhidas as placas em que foram incubadas alíquotas diluídas (em 10 ou 100 vezes em solução salina), e o resultado (número de UFC) era corrigido pela diluição correspondente. A Figura 3.5 ilustra as placas originadas da mesma alíquota, sem e com diluições decimais com solução salina. Na Figura 3.5 (foto "e") encontra-se a placa que contém um número adequado de UFC para contagem.

Figura 3.4 – Sistema utilizado para contar as Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

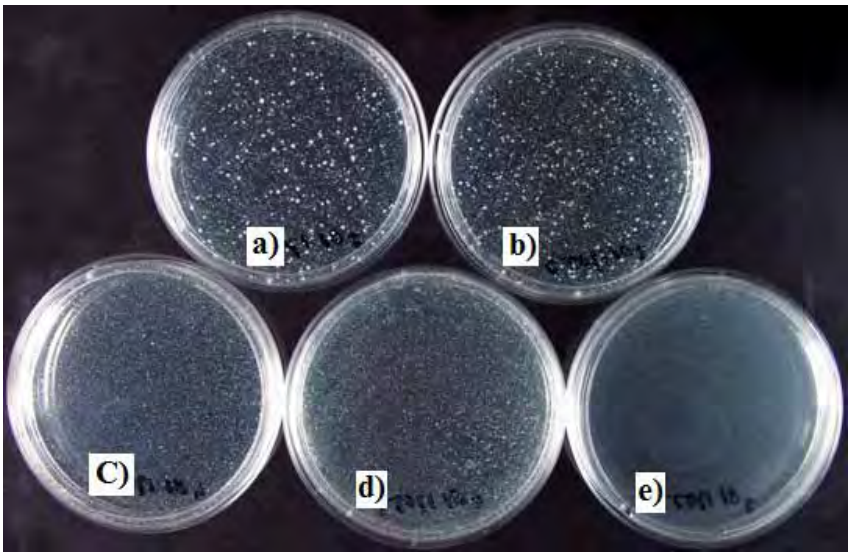

Figura 3.5 – Placas de Petri contendo *E.coli*, resultado da incubação a 35°C por 24 horas de 1mL de solução à: a) $2x10^4$ UFC/mL, b) $2x10^3$ UFC/mL, c) $2x10^3$ UFC/mL, d) $2x10^2$ UFC/mL e, e) 2x10 UFC/mL.

Os resultados dos testes bactericidas são apresentados na forma de log N/N_0 em função do tempo, sendo N o número de UFC num tempo t e N_0 é o número de UFC no t=0. Tais resultados não foram analisados usando-se métodos estatísticos, mas as medidas foram conduzidas com repetição no tempo (duplicata) e reproduzidas considerando o efeito de dois fatores: luz e catalisador (pó), condições necessárias para que os resultados sejam validados estatisticamente mais tarde. A análise permite correlacionar os dados ao longo do tempo [existência ou não de interação de grupos de tratamento (variáveis: luz e catalisador) com o tempo].

3.5 Ensaio para verificação da influência do catalisador no crescimento das bactérias após incubação no PCA

A concentração do catalisador (pó) utilizada nos testes bactericidas foi de 0,0001 g/mL o que significa que ao coletar uma alíquota de 1 mL, que posteriormente é acrescida de 15 mL

de solução de PCA (*Plate Count Agar* ou agar padrão) e incubada, as bactérias crescem na presença de 0,1 mg de catalisador (concentração: 0,0067mg/mL). Quando a alíquota é diluída uma ou duas vezes antes de transferir para a placa de Petri, 0,01 e 0,001 mg de catalisador são incubados com as bactérias. É importante certificar então de que o catalisador (nestas quantidades) não interfere no crescimento das bactérias após a semeadura. É igualmente importante certificar também que a quantidade de prata contida em 0,1 e/ou 0,01 mg de catalisador não é suficiente para estimular o crescimento das bactérias (BORZANI, 2003). Neste ensaio foi realizado o estudo da influência de 0,1 mg e 0,01 mg de catalisador (Ag/TiO_2, tratado a 450°C) no crescimento das bactérias *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Os experimentos foram conduzidos, sem irradiação, em dois reatores termostatizados, conforme mostra esquema na Figura 3.6, sendo que o **Reator 1** continha 51 mL de suspensão de concentração celular de $2x10^4$ UFC mL^{-1}. O **Reator 2** continha 51 ml de salina e catalisador a 0,1 mg mL^{-1}. A cada tempo pré-determinado 2 ml da suspensão contendo a bactéria foi retirado do **Reator 1**, sendo levado à duas placas de Petri (1mL/placa), estéreis e descartáveis. Em uma das placas acrescentava-se 1 mL da solução salina e na outra, 1mL da suspensão retirada do **Reator 2**. Após tais transferências, ambas as placas foram acrescidas de 15 mL de ágar padrão fundido e resfriado a uma temperatura de aproximadamente 45ºC. Após a homogeneização e solidificação do PCA, as placas foram incubadas em posição invertida a 35ºC por 24 horas e o número de bactérias viáveis, contado. A comparação das duas séries indica se há influência do catalisador.

Contudo, para que o número de UFC após a incubação esteja na faixa adequada para contagem (entre 25 e 250 UFC) foram retiradas ao mesmo tempo mais duas alíquotas de 1 mL do **Reator 1** em que uma delas era diluída seqüencialmente 10 e 100 vezes em um tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina. Um mililitro de cada suspensão diluída era depositado em uma placa de Petri, acrescida de 15 mL de PCA padrão fundido e após a

solidificação eram incubadas a 35ºC por 24 horas. A contagem foi feita nas placas que continham entre 25 e 250 UFC.

A outra alíquota de 1 mL, retirada do **Reator 1**, era diluída (10 vezes) transferindo-a para um tubo de ensaio contendo 8 mL de suspensão salina sobre o qual era acrescentado 1 mL da suspensão retirada do **Reator 2**. Foi feito mais uma diluição (de 100 vezes) transferindo 1mL desta última suspensão para um tubo contendo 9 mL de solução salina. Um mililitro de cada suspensão diluída era transferido em uma placa de Petri, acrescida de 15 mL de PCA padrão fundido e após a solidificação eram incubadas a 35ºC por 24 horas. A contagem foi feita nas placas que continham entre 25 e 250 UFC.

O teste foi feito para diferentes tempos (os mesmos usados nos testes bactericidas), seguindo o procedimento descrito na seção 3.4.

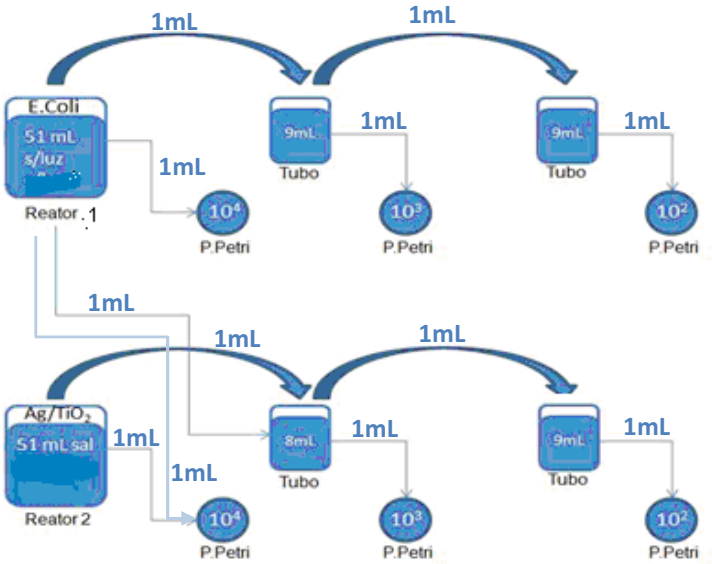

Figura 3.6: Esquema do experimento para o estudo da influência do catalisador no crescimento das bactérias após incubação no PCA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Análises Térmicas

Medidas de Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) foram feitas objetivando elucidar os processos físicos e químicos que ocorrem nas amostras no intervalo de temperaturas de 25°C a 900°C. As medidas foram feitas para quatro sistemas de amostra: T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C. Na Figura 4.1 estão dispostos os resultados da análise termogravimétrica (TG) dos pós citados.

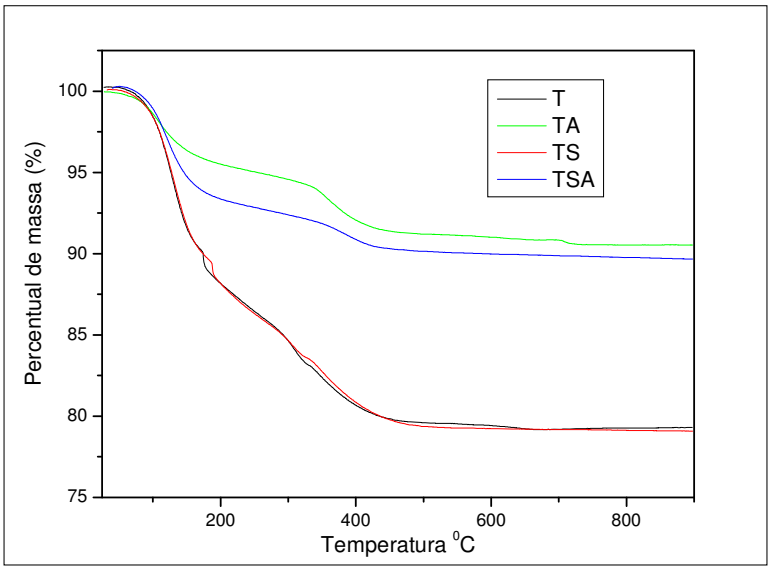

Figura 4.1. Análise termogravimétrica dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C.

Numa análise geral, é possível dizer que as perdas maiores de massa ocorrem em torno de duas faixas de temperaturas: uma ao redor de 170°C e a outra, 350°C. Uma perda pequena é notada em torno de 700°C sendo que nas amostras contendo silício, a perda nesta faixa não é

observada. Nota-se também que a perda de massa das amostras contendo prata é menor que naquelas que não a contêm. A perda percentual de massa, do par de amostras T-TS e TA-TSA, é semelhante ao longo de toda a análise.

Em detalhes, as amostras T e TS apresentam perda acentuada de massa de cerca de 10,57% no intervalo de temperatura compreendido entre 90 e 190°C. No intervalo semelhante (90 e 200°C), as amostras TA e TSA perderam somente 3,6 e 5,2%, respectivamente. Entre as temperaturas de 150 e 450°C as perdas notadas para T e TS foram de 11,45% e para TA e TSA, de 5,0 e 3,9%, respectivamente. São perdidos ainda 0,6% entre 450 e 650°C por T e TS e 0,08 e 0,13% até o final da análise (a 900°C), respectivamente. Nos pós de TA e TSA são perdidos, respectivamente, 0,5 e 1,0% entre 450 e 650°C e 0,33 e 0,26%, entre 650 e 900°C. Para as amostras T e TS as perdas de massa ao longo de toda a análise totalizaram 20,7 e 20,9% respectivamente, enquanto que para TA e TSA as perdas foram de 9,46 e 10,33% da massa inicial.

Na Figura 4.2 estão expostas as análises derivativas das curvas termogravimétricas (dTG) dos mesmos pós (T, TS, TA e TSA) e a Figura 4.3 expõe as curvas referentes às Análises Térmicas Diferenciais (DTA) para cada uma das amostras citadas. A comparação e correlação entre estas figuras nos permitem elucidar alguns fenômenos físicos e químicos que ocorrem nas amostras ao longo do aquecimento aos quais estas foram submetidas.

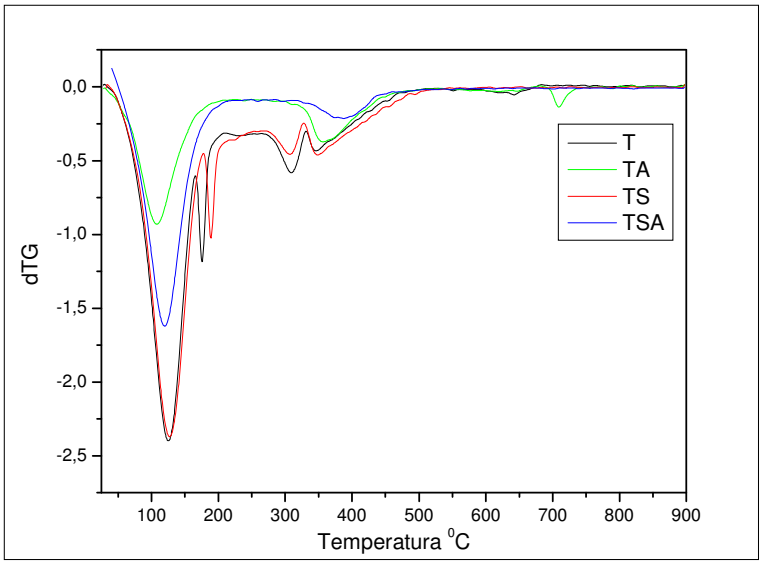

Figura 4.2. Análise derivativa da curva Termogravimétrica dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C.

Nota-se das medidas de DTA, Figura 4.3, que todas as amostras apresentam picos iniciais endotérmicos com início em temperatura ambiente e que se estendem até 200°C. Para o mesmo intervalo, as curvas de dTG da Figura 4.2 mostram acentuadas perdas de massa. Este processo está relacionado com a perda de água e evaporação de outros solventes em todas as amostras. Nota-se, no entanto, que para as amostras T e TS o calor envolvido é maior em atribuição às perdas de massa centradas nas temperaturas de 175 e 189°C, respectivamente. Tais perdas são reflexos da eliminação de moléculas de água contidas no retículo cristalino das amostras. Ainda para as amostras T e TS é notado um processo exotérmico centrado em 321,3°C com uma pequena perda de massa associada. LI-YUAN e colaboradores (2008) associam um processo semelhante à eliminação de grupos hidroxila presentes na superfície do material oriundos das soluções precursoras dos metais.

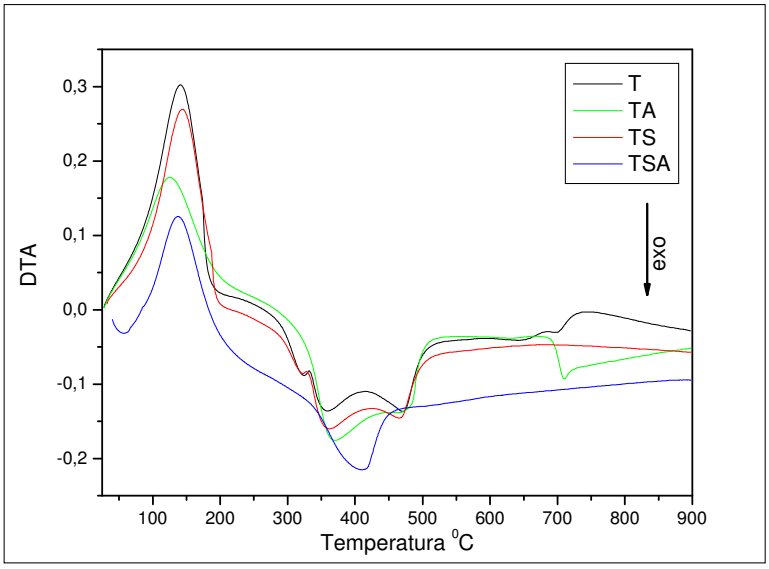

Figura 4.3. Análise térmica diferencial dos pós de T, TS, TA e TSA (T = TiO_2, TS = TiO_2-SiO_2, TA = Ag/TiO_2 e TSA = Ag/TiO_2-SiO_2) tratados a 100°C.

Entre 330 e 410°C são notados, para as amostras T e TS, picos característicos de processos exotérmicos. Tendo em vista as variações negativas das massas de cada um dos materiais estes processos podem ser associados à combustão de compostos orgânicos (CHAO, 2003). Processos semelhantes são notados para TA e TSA, no entanto, para estas o evento exotérmico e a perda de massa associada se estendem até 450°C como um reflexo da decomposição do $AgNO_3$ (CHAO, 2003). Para as amostras T e TS são notados ainda processos exotérmicos entre 450 e 490°C sem variação de massa associada. Para tais, pode-se associar o evento de maior ordenamento atômico das amostras, especialmente a transformação de fases amorfas de titânio em anatásio (DAVIES et al, 1995). Mesmo que este evento possa ocorrer em temperaturas inferiores, a grande presença de matéria orgânica, efetivamente eliminada somente em torno de 450°C, impede que o mesmo atinja magnitude tal que se pronuncie na forma de um pico exotérmico. Para as amostras TA e TSA o pico referente ao ordenamento atômico do material não pode ser notado com tanta clareza, pois, a

decomposição do $AgNO_3$ e perda de material orgânico ocorrem na mesma faixa de temperatura (CHAO, 2003; ALBARICI, 2004).

A amostra T apresenta, em seguida, dois processos exotérmicos centrados em 649 e 704°C, que podem estar associados à transição e cristalização de fases. Como é esperada para esta amostra uma composição praticamente pura de TiO_2, a única transição de fases que é esperada nesta faixa de temperatura é a passagem da fase anatásio para a fase rutilo. Entretanto, a presença dos dois picos sugere a formação da fase rutilo em dois diferentes momentos, podendo trazer como conseqüência uma cristalinidade heterogênea na amostra. Adianta-se que isso foi confirmada na caracterização dos pós obtidos em diferentes temperaturas por difratometria de raios X, cujos resultados encontram-se discutidos na seção 4.2. Com a adição de prata, como é o caso da amostra TA, apenas um pico associado à cristalização centrado em 710°C é notado. No entanto, a maior intensidade dos sinais referentes a este processo sugere que ou a prata atua de modo a favorecer a formação e cristalização mais homogênea da fase rutilo em comparação à amostra T, ou, concomitante à transição de fases do titânio, uma fase cristalina característica da prata forma ou ambos os processos ocorrem na mesma faixa de temperatura. A análise conjunta com os resultados de difratometria de raios X pode elucidar melhor este problema.

Para as amostras contendo sílica (TS e TSA) os picos de cristalização e formação de fases são reduzidos a tal ponto que não mais podem ser notados sugerindo que a presença do silício inibe a transição anatásio – rutilo. Mais uma vez, a análise conjunta com os resultados de difratometria de raios X pode comprovar e eventualmente quantificar esta inibição causada pelo modificador silício.

4.2 Difratometria de raios X

A análise dos padrões de difração (difratogramas) permite identificar as fases e estrutura cristalina presentes nas amostras. A interpretação desses padrões usando o método de refinamento (Rietveld) permite observar a variação da quantidade de fases e alterações de estrutura e ainda obter evidências dos prováveis mecanismos de formação e equilíbrio de fases que se estabelecem durante o processo de síntese, incluindo a influência dos tratamentos térmicos, efeitos da adição de modificadores etc. Na Tabela 4.1 são mostrados os dados disponíveis no banco de padrões de difração JCPDS (2003) para as fases identificadas nas amostras estudadas e, também, os modelos estruturais disponíveis no banco de dados ICSD (2005). Com base nestes modelos, as estruturas foram refinadas para determinação dos parâmetros de rede, largura do pico à meia altura (da sigla em inglês FWHM - *Full Width at Half Maximum*) que pode ser associada ao tamanho, amorficidade, defeitos das fases e assimetria (não mostrada). Para as fases tetragonais Anatásio (An) e Rutilo (Rt) da titânia, diferente da fase cúbica da Prata- 3c (A3c), os parâmetros térmicos anisotrópicos e as coordenadas do oxigênio (componente z para a fase An e componentes x e y, para a fase Rt) foram também refinados. Estes resultados serão discutidos ao longo dessa seção.

Tabela 4.1. Dados estruturais de referência para as fases identificadas nas amostras de TiO_2 modificados ou não com prata e sílica.

TiO_2 – Anatásio Óxido de titânio de estrutura Tetragonal I41/amd. Transforma-se em Rutilo em ~600°C.	
Designação: An **PDF:** 21-1272 **Parâmetros de rede:** **a:** 3,7852 Å e **c:** 9,5139 Å **Densidade calculada (Dx):** 3,893 g.cm^{-3}	**ICSD**: 202242 **Grupo espacial**: I41/amdZ (nº 141) **Parâmetros de rede:** **a:** 3,78479 Å e **c:** 9,51237 Å, **Vol**: 136,26 Å^3 **D(calc)**: 3,89 g.cm^{-3} **(Z=4)** **Átomo OX Sítio x y z** Ti +4 4b 0 0,25 0,375 O -2 8e 0 0,25 0,167
TiO_2 – rutilo Também conhecido como Titânia, esta forma de óxido de titânio tem estrutura Tetragonal P42/mnm. Sua forma mais estável e não se altera mesmo a alta temperatura (~1600°C).	
Designação: Rt **PDF:** 21-1276 **Parâmetros de rede** **a:** 4,5933 Å e **c:** 2,9592 Å **Densidade calculada (Dx):** 4,250 g.cm^{-3}	**ICSD**: 33837 **Grupo espacial**: P42/mnm (nº 136) **Parâmetros de rede:** **a:** 4,5924 Å e **c:** 2,9575 Å, **Vol**: 62,37 Å^3 **D(calc)**: 4,25 g.cm^{-3} **(Z=2)** **Átomo OX Sítio x y z** Ti +4 2a 0 0 0 O -2 4f 0,305 0,305 0
Ag - Prata - 3c É um metal nobre, facilmente foto-reduzido a sua forma metálica a partir de seu íon mais comum (Ag^+). Alto coeficiente de expansão térmico e sua forma menos densa, com estrutura hexagonal P63/mmc (Prata - 4h), é somente encontrada como mineral.	
Designação: Ag3c **PDF:** 89-3722 **Parâmetros de rede: a:** 4,0855 Å **Densidade calculada (Dx):** 10,505 g.cm^{-3}	**ICSD**: 44387 **Grupo espacial**: Fm-3m (nº 225) **Parâmetros de rede:** **a:** 4,0855 Å, **Vol**: 68,19 Å^3 **D(calc)**: 10,5 g.cm^{-3} **(Z=4)** **Átomo OX Sítio x y z** Ag 0 4a 0 0 0
PDF: *Powder Diffraction File* (Arquivo de difração de pó).	

Na Figura 4.4 estão os difratogramas de raios X das amostras em pó de TiO_2, sem modificador, calcinadas nas temperaturas de 250°C (T25) e 450°C(T45). Para temperaturas de

calcinação inferiores a 450°C, as amostras exibiram somente a fase An como constituinte do material. Observa-se também que o aumento na temperatura de calcinação leva a um aumento da intensidade e a um estreitamento da largura dos picos do padrão de difração como decorrência do ordenamento de mais longo alcance, ou seja, cristais maiores.

Para temperaturas de calcinação de 250 e 450°C, somente a fase An foi notada como aquela que constitui o material, independente da composição (com ou sem prata e sílica). Comparando os difratogramas da Figura 4.4, referente às amostras de titânia não modificadas e calcinadas a 250°C (T25) e 450°C (T45), observa-se que o aumento na temperatura de calcinação leva a um aumento da intensidade e a um estreitamento da largura dos picos do padrão de difração como decorrência do ordenamento de maior alcance, ou seja, cristais maiores. Este comportamento também foi verificado nas amostras modificadas por adição de prata à titânia, mostrada na Figura 4.5, calcinadas a 250°C (TA25) e 450°C (TA45). No entanto, a adição de óxido de silício diminui o grau de cristalinidade, como pode ser observado na Figura 4.6 (amostras calcinadas a 250°C está identificado como TS25 e a 450°C, como TS45). Este comportamento também foi verificado quando da adição de ambos, prata e silício, calcinados a 250°C (TSA25) e 450°C (TSA45), mostrada na Figura 4.7. Apesar da sutil diferença entre os padrões de difrações destas amostras, é válido afirmar que a presença de óxido de silício incrementa o caráter refratário do material, diminuindo o grau de cristalinidade.

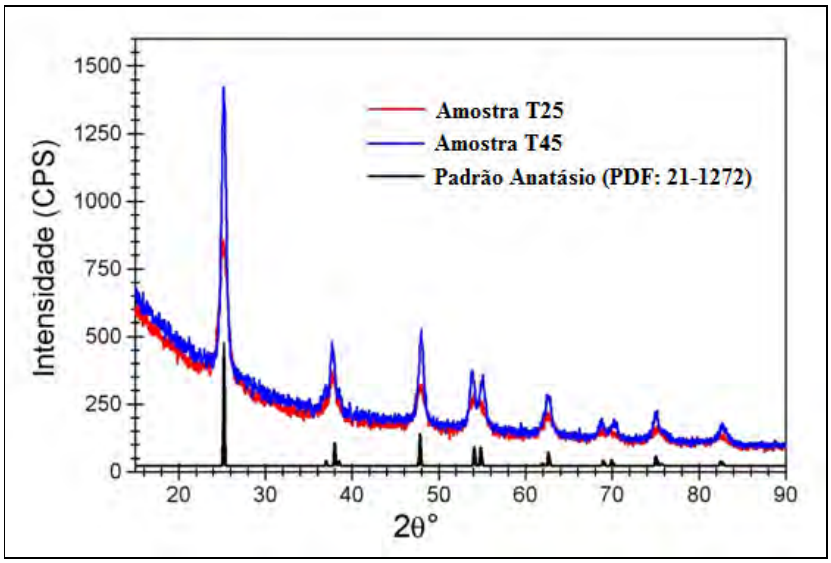

Figura 4.4. Difratograma de raios X das amostras de titânia sem modificador obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto).

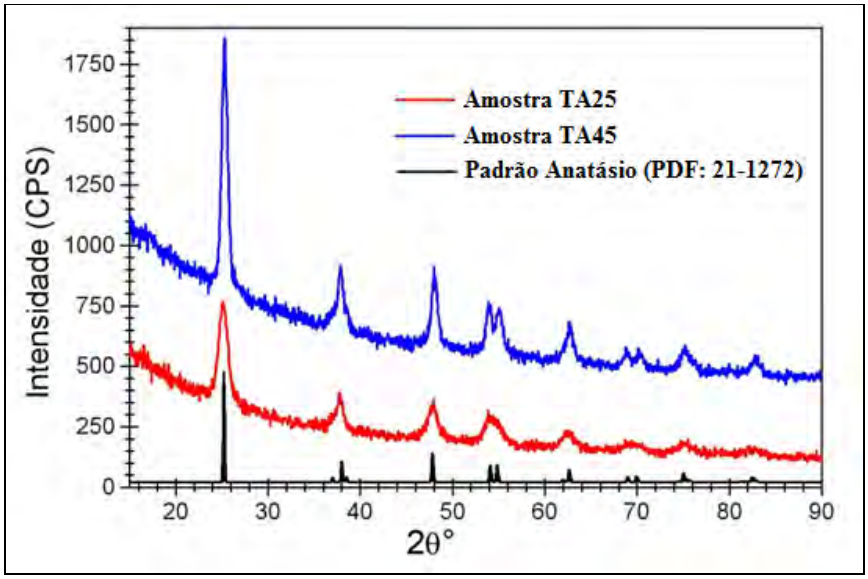

Figura 4.5. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto).

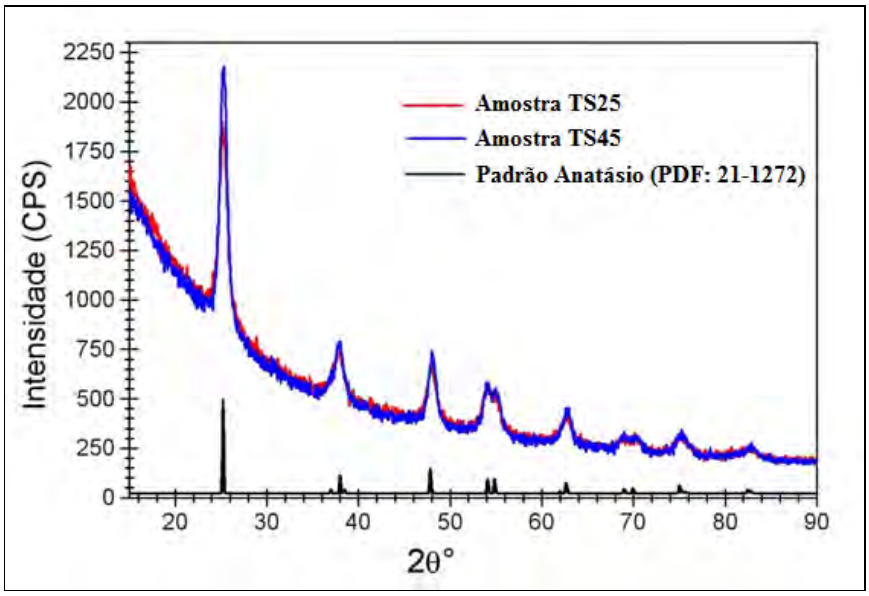

Figura 4.6. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto).

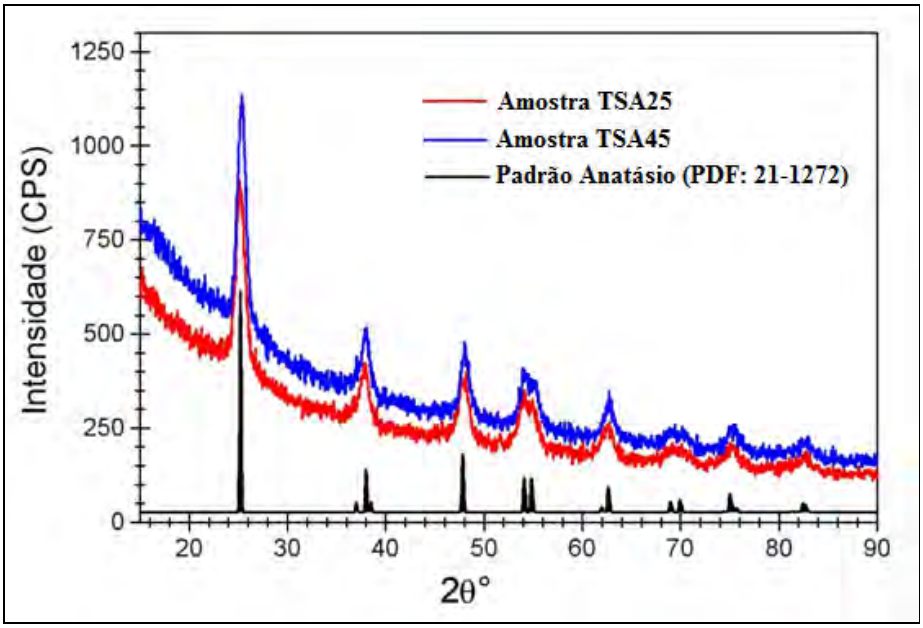

Figura 4.7. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (vermelho) e 450°C (azul), e padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto).

O aumento do caráter refratário do material com adição de silício foi estimado pelos valores de FWHM (do inglês, *Full Width at Half Maximum*, ou seja, largura à meia altura), e é mais notório nas amostras tratadas 450°C. Os valores foram tomados do pico mais intenso [plano (011) da fase An] e estão mostrados na Tabela 4.2. Os valores indicam que o nível de ordenamento estrutural alcançado para as amostras T e TA, quando tratado a 450°C, não é verificado na presença do óxido de silício (TS e TSA). Observa-se, também, que a diminuição na cristalinidade (maior valor de FWHM) é acompanhada pelo aumento dos parâmetros de rede, sendo que este evento pode ser associado ao maior desordenamento estrutural, como conseqüência da maior quantidade de defeitos estruturais (vacâncias e espécies intersticiais). Esta observação se baseia no fato de que a modificação do TiO_2 por substituição do Ti^{4+} por Si^{4+} causaria uma diminuição nos parâmetros de rede pois o raio iônico do Si^{4+} é menor do que do Ti^{4+} ($r_{Si^{4+}}$ = 0,540Å; $r_{Ti^{4+}}$ = 0,745Å).

Tabela 4.2. Dados obtidos para as amostras calcinadas a 250°C e 450°C.

Amostra [a]	*a* (Å)	*c* (Å)	*c* / *a*	V (Å^3)	Coord. Ox. [b]	FWHM [c] (Δ2θ)	Posição (°2θ)	D (g.cm^{-3})
T25	3,8017	9,531	2,507	137,8	0,165	0,405	25,37	3,85
TA25	3,7912	9,499	2,506	136,5	0,165	0,376	25,14	3,89
TS25	3,802	9,467	2,490	136,9	0,165	0,320	25,15	3,92
TSA25	3,7916	9,503	2,506	136,6	0,166	0,346	25,28	3,89
T45	3,7854	9,5118	2,513	136,3	0,166	0,204	25,22	3,90
TA45	3,7892	9,5102	2,510	136,6	0,166	0,230	25,31	3,89
TS45	3,804	9,441	2,482	136,6	0,168	0,254	25,23	3,92
TSA45	3,7839	9,489	2,508	135,4	0,166	0,328	25,21	3,91

[a] *Todas as amostras possuem 100% de fase Anatásio I41/amdZ.*

[b] *Coordenada atômica do oxigênio, refere-se ao componente z.*

[c] *Valores de FWHM obtido do pico (011).*

A componente z representa a coordenada cristalográfica do oxigênio, ou seja, a posição de um ponto arbitrário ou átomo descrito pelo vetor: $\vec{r_i} = x_i\vec{a} + y_i\vec{b} + z_i\vec{c}$. Em todas as amostras a coordenada z, que se refere à posição atômica do oxigênio na fase An, está próxima à do modelo estrutural (0,166) (Tabela 4.2).

Cabe ressalvar que as amostras obtidas por tratamento a 250°C apresentam uma tendência diferente da observada em temperaturas maiores, ou seja, a adição de prata e de sílica promoveu um aumento na cristalinidade da fase An. Provavelmente, a energia térmica nessa temperatura ainda não é suficiente para promover uma intensa cristalização da fase An (picos de baixa intensidade). Assim, um aumento na movimentação (difusão) iônica devido aos modificadores produz o aumento na cristalinidade (ordenamento). A relação dos processos inverte a 450°C: a cristalização é maior e, assim, os modificadores impedem o ordenamento da estrutura.

A qualidade do refinamento, de onde os dados da Tabela 4.2 foram extraídos, pode ser visualizada nas Figuras 4.8 a 4.11, que mostra um DRX residual (diferença entre o calculado e o observado) pequeno. Este DRX residual é correlacionado matematicamente pelo fator de refinamento S (*goodness of fit* ou grau de ajuste), com limite mínimo possível de 1,00, que é o limite estatístico do refinamento. O refinamento de todas as amostras resultou em valores entre 1,07 e 1,14, demonstrando que o refinamento foi satisfatório.

Sabe-se que o íon silício tem um tamanho muito reduzido frente ao titânio ($r_{Si^{4+}}$ = 0,540Å; $r_{Ti^{4+}}$ = 0,745Å). Assim, a substituição atômica do titânio pelo silício numa estrutura do titânio que tende a um grande ordenamento estrutural (alta cristalinidade) é um evento improvável. De fato, na consulta dos bancos de dados PDF2 e ICSD2003, não foi encontrada qualquer fase de óxido de titânio contendo silício como substituinte catiônico. Ao contrário, as fases de óxido de silício é que são capazes de formar solução sólida com o óxido de titânio, mas apenas em quantidades inferiores a 3% em mol de titânio. Espera-se então, que a sílica

segregue da matriz de titânia à medida que a temperatura de calcinação é elevada para maior ordenamento estrutural em fases separadas. Porém, devido à natureza dos compostos de óxido de silício, as temperaturas usadas não são capazes de levar à cristalização das fases à base deste óxido. Isso torna improvável a verificação de picos destas fases, que deverão estar distribuídos na matriz de titânia como uma fase vítrea amorfa. Há de considerar também a possibilidade da formação de uma zeólita, como a observada no material MCM-48, que exibe picos em ângulos muito baixos, próximos a 2θ = 3°, não visualizados nestes difratogramas.

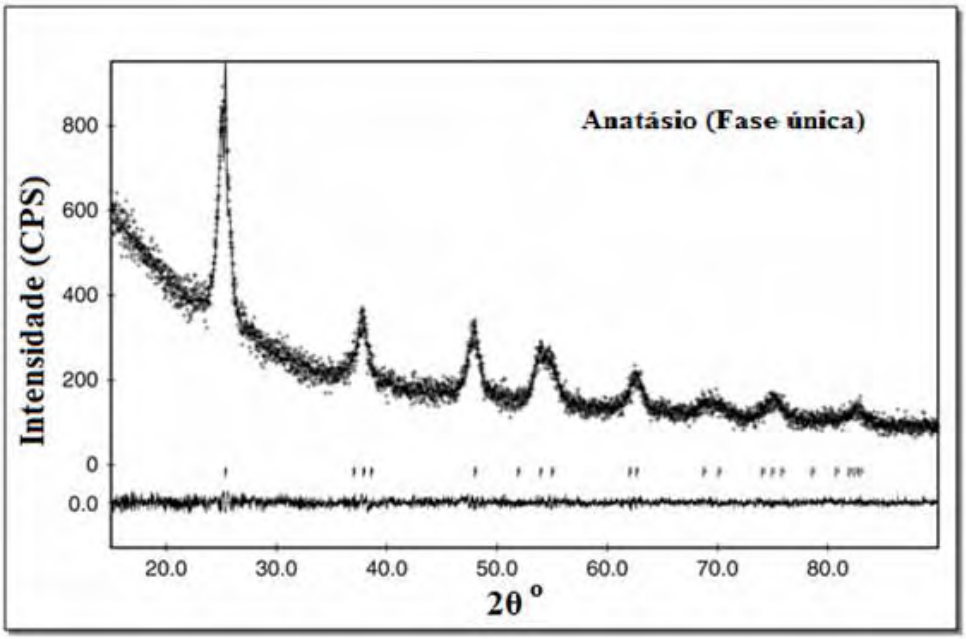

Figura 4.8. Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra T25.

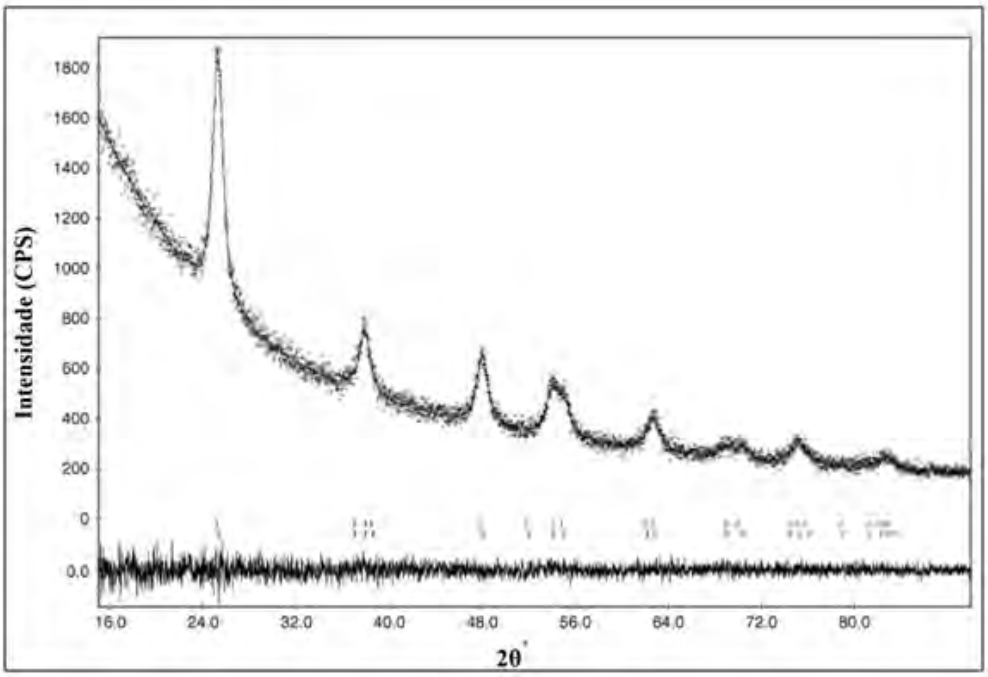

Figura 4.9. Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TS25.

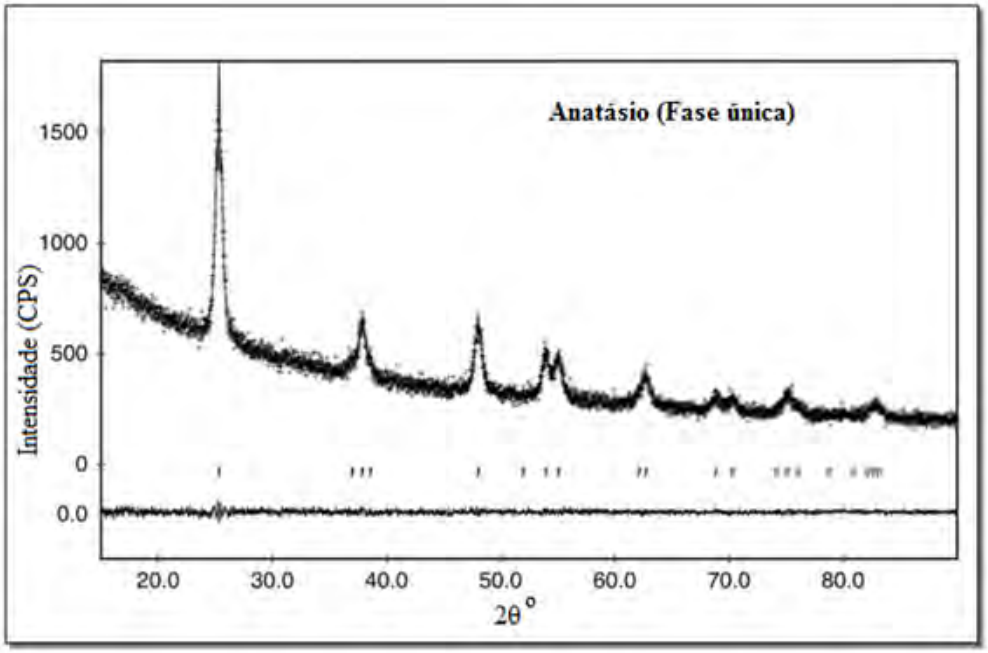

Figura 4.10. Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TA45.

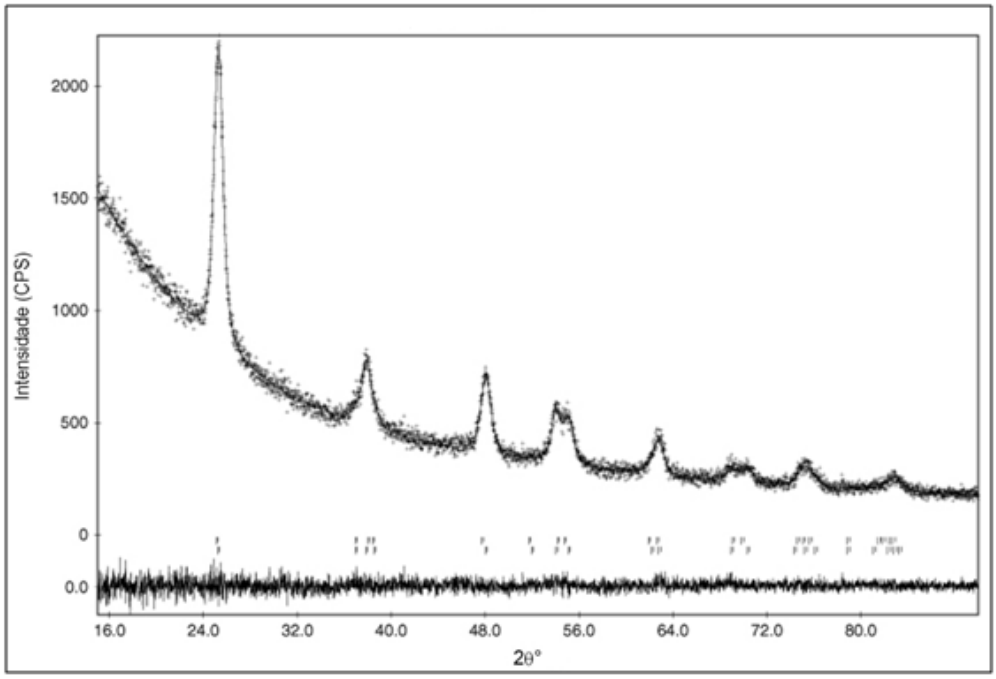

Figura 4.11. Gráfico de Rietveld mostrando o DRX observado (pontos), o DRX calculado (contínuo), as posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado) para a amostra TS45.

Quando a temperatura é elevada para 900°C, o material se reestrutura completamente. Na Figura 4.12 podem ser observados os difratogramas das amostras de titânia, modificadas ou não, com identificação de fases e, na Figura 4.13, o Gráfico de Rietveld para a amostra TSA90. Verifica-se que considerando as 3 fases (titânia anatásio, rutilo e fase cúbica da prata) e as superposições de picos, o DRX residual é mínimo, o que garante que o refinamento atingiu seu limite estatístico. Nas amostras que não contem silício, a fase An que estava nas amostras calcinadas a 250 e 450°C se transforma completamente em Rutilo (Rt). Na presença de prata, seus núcleos sofrem coalescência e cristalizam-se como prata fase - 3c (A3c), de estrutura cúbica densa. No entanto, o evento mais importante se dá quando o material é modificado com silício. Estes apresentam ainda uma quantidade significativa de fase An em equilíbrio com a fase Rt (amostras TS90 e TSA90 apresentam as três fases: An, A3c e Rt). Na Tabela 4.3 estão os dados obtidos após refinamento das amostras calcinadas a 900°C.

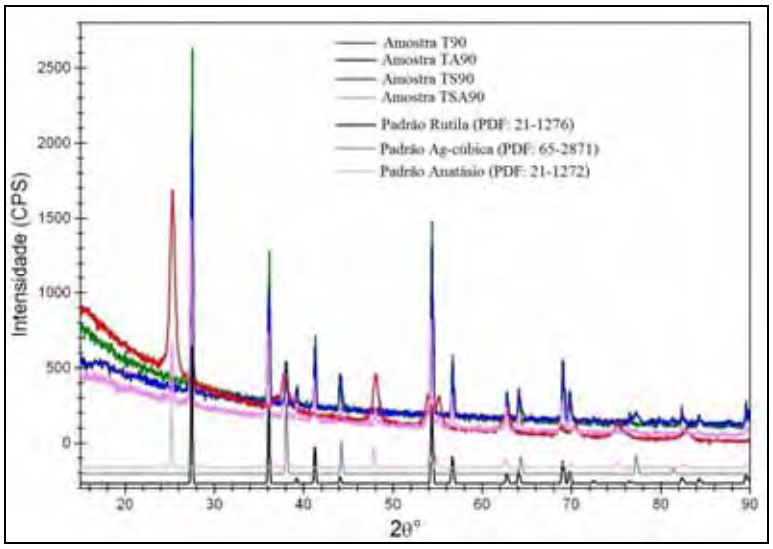

Figura 4.12. Difratogramas de raios X das amostras de titânia sem e com modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 900°C e padrão de difração da fase anatásio (PDF 21-1272, em cinza claro) e rutilo (PDF 21-1276, em preto) do TiO_2 e prata (PDF 21-1272, em cinza escuro).

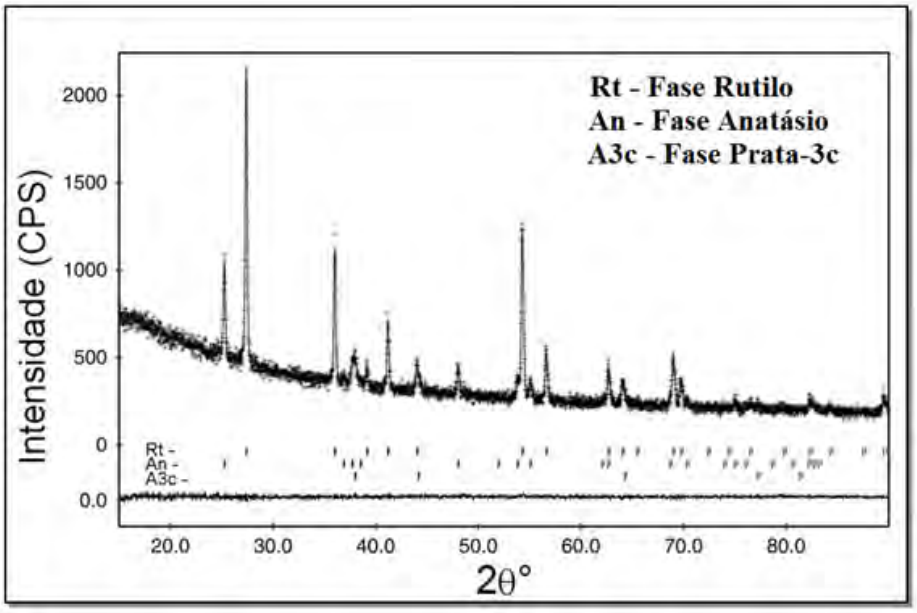

Figura 4.13. Difratogramas de raios X, mostrando: gráfico de Rietveld da amostras T90 [DRX observado em pontos, DRX calculado em linhas contínuas, posições dos índices de Bragg e o DRX residual em baixo (diferença entre o DRX calculado e observado)].

Tabela 4.3. Dados obtidos para as amostras calcinadas a 900°C.

Amostra	Fase [a]	AQF (mol%)	*a* (Å)	*c* (Å)	V (Å^3)	Coord. Ox. [c]	FWHM [d] (Δ2θ)	Posição (°2θ)	D (g.cm^{-3})
T90	Rt1	48,1	4,5921	2,9596	62,41	0,305	0,111	27,53	4,25
	Rt2	51,9	4,6013	2,9657	62,79	0,302	0,269	27,47	4,23
TA90	Rt	99,6	4,5927	2,9597	62,43	0,305	0,170	27,45	4,25
	A3c	4 [b]	4,0949	4,0949	68,66	-	0,235	38,04	10,44
TS90	An1	1,0	3,8179	9,4675	138,0	0,159	0,043	25,12	3,85
	An2	99,0	3,7830	9,5036	136,0	0,168	0,640	25,30	3,90
TSA90	Rt	88,9	4,5909	2,9597	62,38	0,304	0,198	27,38	4,26
	An	10,8	3,7814	9,5206	136,13	0,169	0,209	25,25	3,90
	A3c	2 [b]	4,0926	4,0926	68,55	-	0,390	37,98	10,46

[a] *Os índices 1 e 2 referem-se à distribuição bimodal de cristalinidade da fase Rt.*
[b] *4 e 2mol% de prata correspondem, respectivamente, a 5 e 3% em massa respectivamente.*
[c] *Coordenadas atômicas do oxigênio referem-se às componentes: z na fase Rt e x,y na fase An.*
[d] *FWHM obtido do pico (011) da fase An, (110) da fase Rt e pico(111) da fase A3c.*

Esclarece-se que, nas amostras tratadas a 900°C, a coordenada cristalográfica do oxigênio reside na componente z na fase rutilo, enquanto que, na fase anatásio, encontra-se na componente x, y.

Analisando-se os resultados mais detalhadamente observa-se que a amostra T90 apresenta-se monofásica, no entanto há uma distribuição bimodal de cristalinidade. Esse evento está associado à não homogeneidade na(s) etapa(s) do processo de hidrólise, secagem do gel, trituração e/ou calcinação. Aproximadamente metade do material apresenta fase Rt de alta cristalinidade (Rt1), com menor parâmetro de rede e maior densidade que a outra metade da fase rutilo (Rt2), menos cristalina. A coordenada do oxigênio da fase Rt1 é similar ao do modelo estrutural, indicando a ausência ou menor quantidade de defeitos nesta fase, ao contrário da fase Rt2.

Nas amostras calcinadas a 250 e 450°C (T25 e T45), devido à baixa cristalinidade e a natureza da fase An nelas presente, não é possível determinar a existência do comportamento bimodal. Em materiais pouco cristalinos tem-se um número grande de modos de cristalinidade e no seu refinamento estrutural são adotados modos dispersos em torno de um valor médio. A distribuição modal pode ser feita apenas a partir de certo valor de FWHM, onde se pode fazer a desconvolução acurada dos picos de difração. Normalmente, a distribuição bimodal é caracterizada pela elevada superposição de picos, uma vez que ambas as fases possuem estruturas muito próximas. Assim, a desconvolução acurada só é possível quando o ordenamento atômico já está avançado e a diferença de cristalinidade é significativa, como ocorreu na amostra T90.

A adição da prata, de maneira similar ao verificado nas amostras calcinadas a 250°C, atua como agente de cristalização das fases de óxido de titânio, fato este já comprovado por Chao et al. (2003), quem demonstrou que a redução da temperatura de transição de fase de An para Rt é proporcional à quantidade de prata. Assim, não ocorre a distribuição bimodal de cristalinidade na amostra TA90, pois a prata atua como agente de ordenamento atômico durante sua movimentação pela matriz de óxido de titânio, que ocorre juntamente com o processo de coalescência dos núcleos de prata. A não ocorrência da fração menos cristalina da fase anatásio já foi verificada para a amostra TA45. Assim, o comportamento bimodal da amostra sem prata, T90, parece ser conseqüência da condição heterogênea pré-existente (quando a amostra foi pré-tratata até 450°C).

A cristalinidade da fase Rt na amostra TA90, no entanto, é menor do que na fase Rt1 da amostra T90, mas maior que da fase Rt2, ou seja, próxima da média entre as fases Rt1 e Rt2. Este resultado nos remete novamente ao fato de que os núcleos de prata atuam como agente cristalizador, mas ao mesmo tempo como limitador da coalescência de cristalitos durante a formação da fase An. Alguns trabalhos demonstram que a formação da fase Rt ocorre

simultânea e induzida pela formação da fase A3c da prata em temperaturas cada vez menores com o aumento da quantidade de prata, ocorrendo até mesmo a 600°C, quando a quantidade de prata suplanta os 10% em massa (TRAVERSA, 2000; CHAO, 2003; XIN, 2005). Como a ocorrência das fases Rt e A3c é simultânea e limitada pela formação da fase A3c, a coalescência dos núcleos de prata passa a ser o fator limitador da ocorrência daquela fase (Rt). Neste caso, a velocidade do ordenamento do material é também limitada pela velocidade de coalescência de prata. Estes efeitos foram melhor estudados, cuja discussão encontra-se no final desta seção.

Apesar dos núcleos de prata atuar como agente de cristalização ainda na fase An, espera-se que não haja significativa mudança na temperatura de transição An-Rt para baixa concentração de prata (demonstrado no final desta seção). Antes que a temperatura aumente o suficiente para permitir completa coalescência dos núcleos de prata (formação da fase A3c), eliminação de defeitos da fase An e conseqüente formação da fase Rt, ocorre uma homogeneização química e estrutural do material. A partir da formação das fases Rt e A3c, se dá o crescimento de cristalitos de ambas as fases, mas a menor velocidade de coalescência dos núcleos de prata (em baixa concentração de prata) limita o crescimento acentuado de cristalitos, impedindo a cristalização do TiO_2 como a encontrada para a fase Rt1 da amostra T90.

A amostra TS90 apresenta um comportamento diferenciado das amostras T90 e TA90. Com adição da sílica, a transição da fase anatásio para rutilo é dificultada e há uma distribuição bimodal de cristalinidade da fase anatásio. Aproximadamente metade do material se apresenta na fase An de alta cristalinidade (An1), com menores parâmetros de rede e maior densidade que a outra metade da fase An, menos cristalina (An2). O refinamento da quantidade de silício em ambas as fases de óxido de titânio (An1 e An2) na amostra TS90 demonstrou não haver substituição mensurável deste modificador no sítio do titânio, o que é

condizente com os parâmetros de rede destas duas fases (muito próximos da fase pura do modelo estrutural). Entretanto, como picos de óxido de silício não foram observados, ou o óxido de silício existe em tamanho menor que o detectável pela difração de raios X ou/e existe uma matriz composta de titânia e sílica (amorfa), o que explicaria a cristalinidade da fase An. A presença da fase An cristalina nesta amostra demonstra que esta fase pode estar embebida na matriz amorfa de sílica, que impede a transição An-Rt.

A amostra TSA90, no entanto, exibe um comportamento bastante diferenciado. A cristalinidade da fase An da amostra TSA90 é maior do que a cristalinidade das fases Rt1 e Rt das amostras T90 e TA90, respectivamente. Por outro lado, a cristalinidade da fase A3c é significativamente reduzida, demonstrando que a coalescência dos núcleos de prata foi afetada com a presença da sílica. O refinamento da quantidade de silício em ambas as fases de óxido de titânio também demonstrou não haver substituição mensurável deste modificador no sítio do titânio, deduzido pelo fato dos parâmetros de rede destas duas fases serem muito próximos aos da fase pura do modelo estrutural. Entretanto, os picos de óxido de silício não foram observados, indicando que o óxido de silício existe em tamanho menor que o detectável pela difração de raios X ou/e existe uma matriz composta de titânia, prata e sílica (amorfa) o que explicaria também a redução da cristalinidade da fase A3c. Tais fases impedem a prata de completar sua coalescência. Explica também a menor quantidade de prata cristalizada como fase A3c (3%), o que significa que 2% de prata se encontram ainda na forma não detectável por DRX. Como as cristalinidades das fases An e Rt não são significativamente afetadas, acredita-se que o processo de cristalização induz a formação de um compósito Ag/SiO_2-TiO_2 nanoestruturado no material, com a prata embebida na matriz amorfa ou mesoporosa de sílica, dispersa na matriz de titânia. Isso retém a prata na matriz de óxido de silício e anula seu papel cristalizador e limitador do crescimento de cristalitos da titânia a baixa temperatura. Dessa forma, o processo de cristalização do óxido de titânio permanece heterogêneo, o que faz com

que a diferença de cristalinidade persista até o final (altas temperaturas). A presença da fase An cristalina nesta amostra demonstra que a fase anatásio está embebida na matriz de sílica e isolada dos núcleos de prata, pois a prata, se estivesse em contato com esta porção de titânia, atuaria como agente de transição para a fase Rt, fato este que não ocorreu.

Outras observações a respeito da fase An são as relações entre seus parâmetros de rede que acusam aumento na tetragonalidade (c/a=2,518), volume de cela reduzido e aumento na coordenada do oxigênio, que significam que há formação de uma estrutura altamente organizada e livre de defeitos, metaestável em uma temperatura bem maior do que a permitida para sua existência em forma isolada e pura. Isso pode suscitar a hipótese de que há oclusão de núcleos de óxido de silício nesta matriz, mas é um evento que deve ser objeto de outras análises, como microscopia de transmissão, com padrão de difração de elétrons superposto a um EDX. Caso esta hipótese não seja válida, a fase anatásio deve estar tensionada por uma matriz de sílica, o que explicaria sua existência em temperaturas tão altas quanto 900°C.

Por outro lado, a fase Rt exibe cristalinidade pouco menor que a fase Rt da amostra T90, demonstrando que ela resulta de uma fração de óxido com uma quantidade proporcionalmente maior de núcleos de prata, que limita o crescimento de cristais de Rt. No entanto, a cristalinidade da fase A3c é afetada significativamente, o que pode ser conseqüência da percolação alternada de partículas de Sílica/Anatásio e prata em torno das partículas de Rutilo. Com esta alternação de partículas em torno da fase Rutilo, a coalescência das partículas de prata é limitada, levando à baixa cristalinidade da fase A3c.

Em seguida, estão apresentados os difratogramas das amostras obtidas em temperaturas que variaram entre 450 e 900°C. Estas caracterizações foram necessárias para auxiliarem nas comprovações, já discutidas ao longo desta seção. Foram feitas também com base nos resultados dos testes bacteriológicos (seção 4.7), que mostraram que materiais

tratados nesta faixa de temperatura podem apresentar atividade bactericida interessante. Esclarece-se que a análise dos difratogramas que seguem é apenas qualitativa: não foram refinados para a quantificação das fases cristalinas nem para a determinação dos parâmetros estruturais e cristalinidade. O refinamento, as caracterizações por técnicas como MEV, adsorção de N_2 e FTIR, bem como os testes bactericidas para estes materiais estão reservado para trabalhos futuros.

As Figuras 4.14 e 4.15 mostram a evolução das fases no material (TiO_2) sem e com modificador (prata), respectivamente, em função da temperatura. Fica claro, pelas figuras, que a transição da fase anatásio para rutilo ocorre na faixa de temperatura entre 550 e 650°C. Cabe lembrar aqui que os resultados das análises térmicas (TG/DTA) revelaram que esta transição ocorre centrado em duas temperaturas, 649 e 704°C, no caso da amostra sem prata e em 710°C, quando a amostra contém prata. Por outro lado, os resultados da literatura demonstram que a formação da fase Rt ocorre simultânea e induzida pela formação da fase A3c da prata (TRAVERSA, 2000; CHAO, 2003; XIN, 2005) e que dependendo da quantidade de prata (>10%) a transição pode ser tão menor quanto 600°C. Embora a identificação dos picos referentes a esta fase na amostra tratada a 650°C seja difícil, pois os picos são próximos aos da fase rutilo do TiO_2 (ver Figura 4.15), há indícios de que os picos referente à prata estão nos difratogramas (ampliação não mostrada). Assim, ou o pico exotérmico observado em 710°C nas análises térmicas (DTA) não se deve exatamente à transição mencionada ou a diferença reside no fato dos eventos das análises térmicas ocorrer sob um processo dinâmico (a taxa de aquecimento de 10K/min sob fluxo de ar) enquanto que as amostras usadas na caracterização por difratometria são tratadas estaticamente numa determinada temperatura por um tempo relativamente longo.

De qualquer forma, a transição da fase anatásio para rutilo ocorre entre 550 e 650°C. O refinamento pode evidenciar a presença da fase A3c da prata, bem como revelar detalhes estruturais das fases anatásio e rutilo. As Figuras 4.14 e 4.15 mostram, também, que a cristalinidade da fase anatásio dos materiais tratados a 550°C é maior que o tratado a 450°C, um fato esperado.

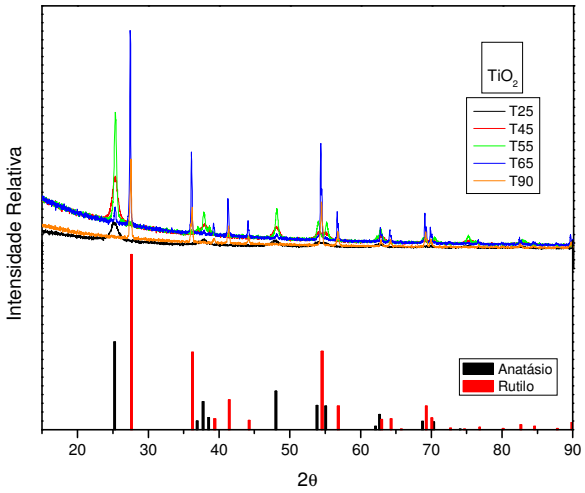

Figura 4.14. Difratograma de raios X das amostras de titânia sem modificador (prata e óxido de silício) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 550°C (verde), 650°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO_2 (PDF 21.1276, em vermelho): TiO_2 (T).

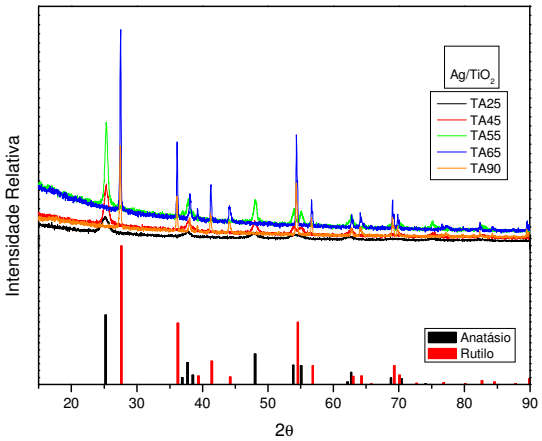

Figura 4.15. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 550°C (verde), 650°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO_2 (PDF 21.1276, em vermelho): Ag/TiO_2 (TA).

As Figuras 4.16 e 4.17 mostram a evolução das fases no material (TiO_2) modificados apenas com silício ou com silício e prata, respectivamente, em função da temperatura. Fica evidente, pelas figuras, que o silício dificulta a transição de fases, de anatásio para rutilo, enquanto que a prata age contrariamente. Na presença de silício, o TiO_2 encontra-se como anatásio até mesmo a 900°C, temperatura esta superior à observada para as amostras sem silício (ver Figura 4.14). Com a adição de prata, a transição ocorre na faixa de temperatura entre 800 e 900°C, ainda que parcial mesmo a 900°C. Devido à amorficidade conferida pela sílica, a presença dos picos de prata não é clara nas amostras obtidas em temperaturas menores ou iguais a 800°C. A presença da prata (como fase A3c) na amostra tratada a 900°C encontra-se confirmada e seus dados estruturais estão na Tabela 4.3. A análise qualitativa dos difratogramas da Figura 4.16 mostra também que a cristalinidade não muda significantemente entre as amostras calcinadas na faixa de 650 a 900°C. No caso das

amostras modificadas com sílica e prata, a cristalinidade da fase anatásio aumenta à medida que se aumenta a temperatura de tratamento até 800°C (Figura 4.17).

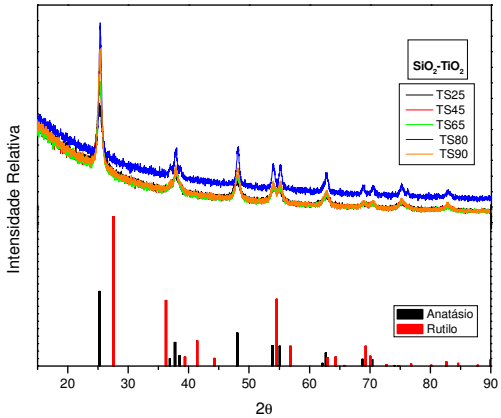

Figura 4.16. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (silica) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 650°C (verde), 800°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO_2 (PDF 21.1276, em vermelho): SiO_2/TiO_2 (TS).

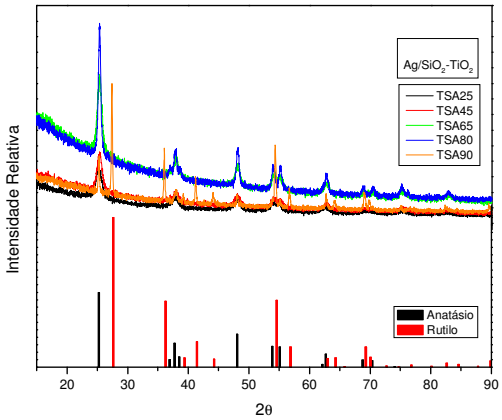

Figura 4.17. Difratograma de raios X das amostras de titânia com modificador (prata e sílica) obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C (preto), 450°C (vermelho), 650°C (verde), 800°C (azul), 900°C (azul claro), padrão de difração da fase anatásio do TiO_2 (PDF 21-1272, em preto) e padrão de fração da fase rutilo do TiO_2 (PDF 21.1276, em vermelho): Ag/SiO_2-TiO_2 (TSA).

4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A seguir são apresentadas as micrografias das amostras de T25, TA25, TS25 e TSA25 (Figura 4.18), T45, TA45, TS45 e TSA45 (Figura 4.19) e T90, TA90, TS90 e TSA90 (Figura 4.20).

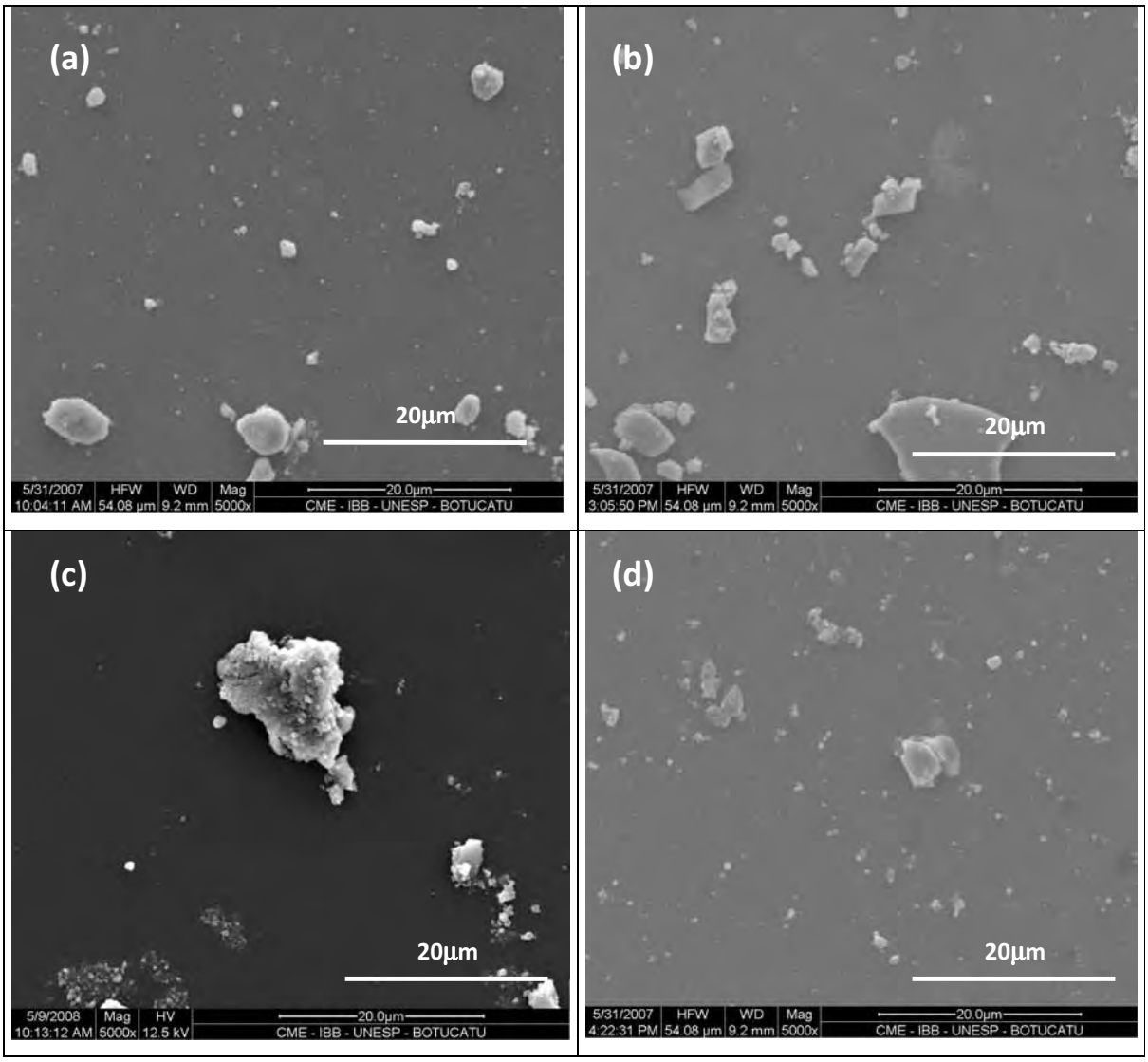

Figura 4.18. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinadas a 250°C: a) T25, b) TA25, c) TS25 e d) TSA25. (Magnificação de 5.000X).

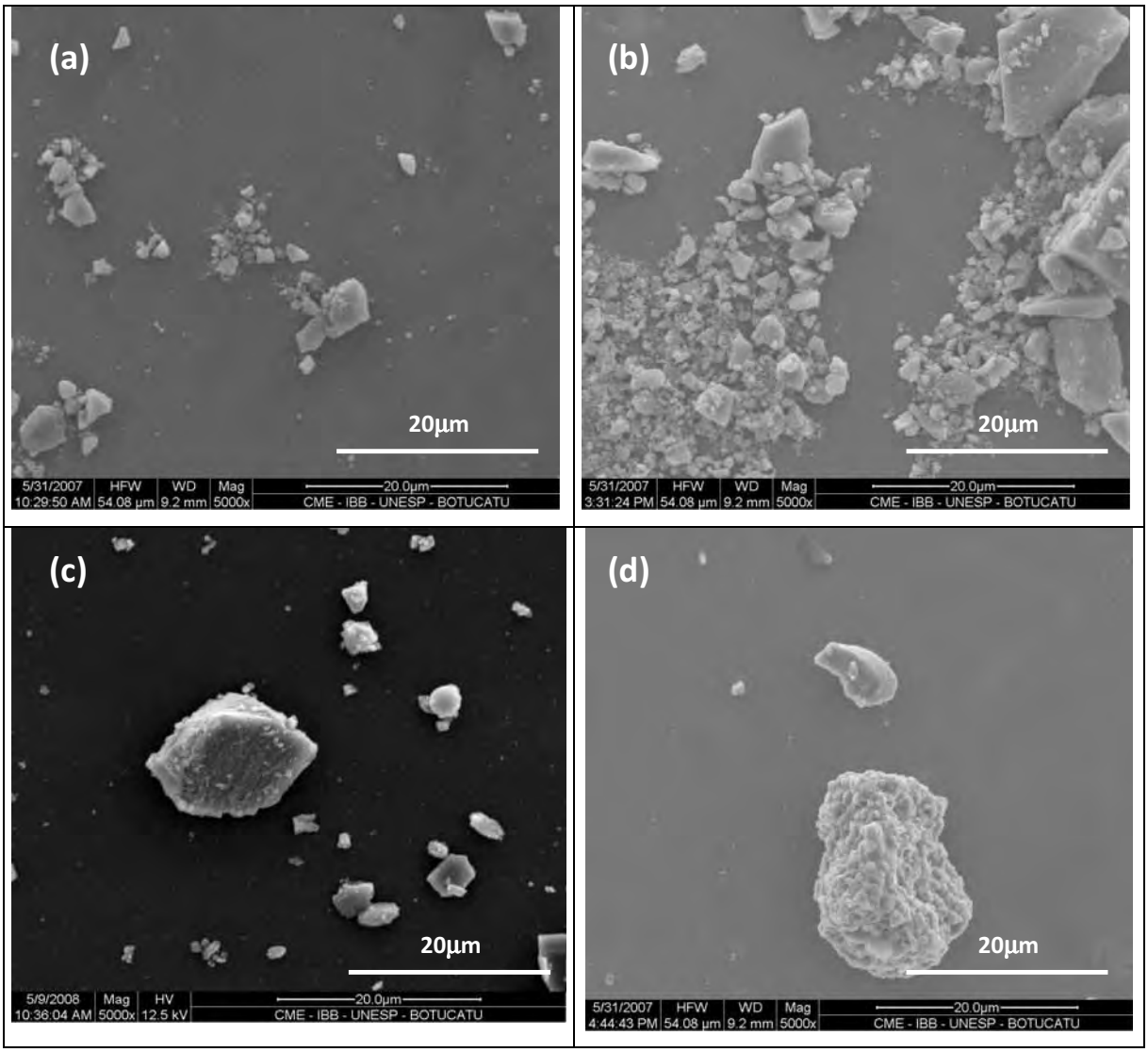

Figura 4.19. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinadas a 450°C: a) T45, b) TA45, c) TS45 e d) TSA45. (Magnificação de 5.000X).

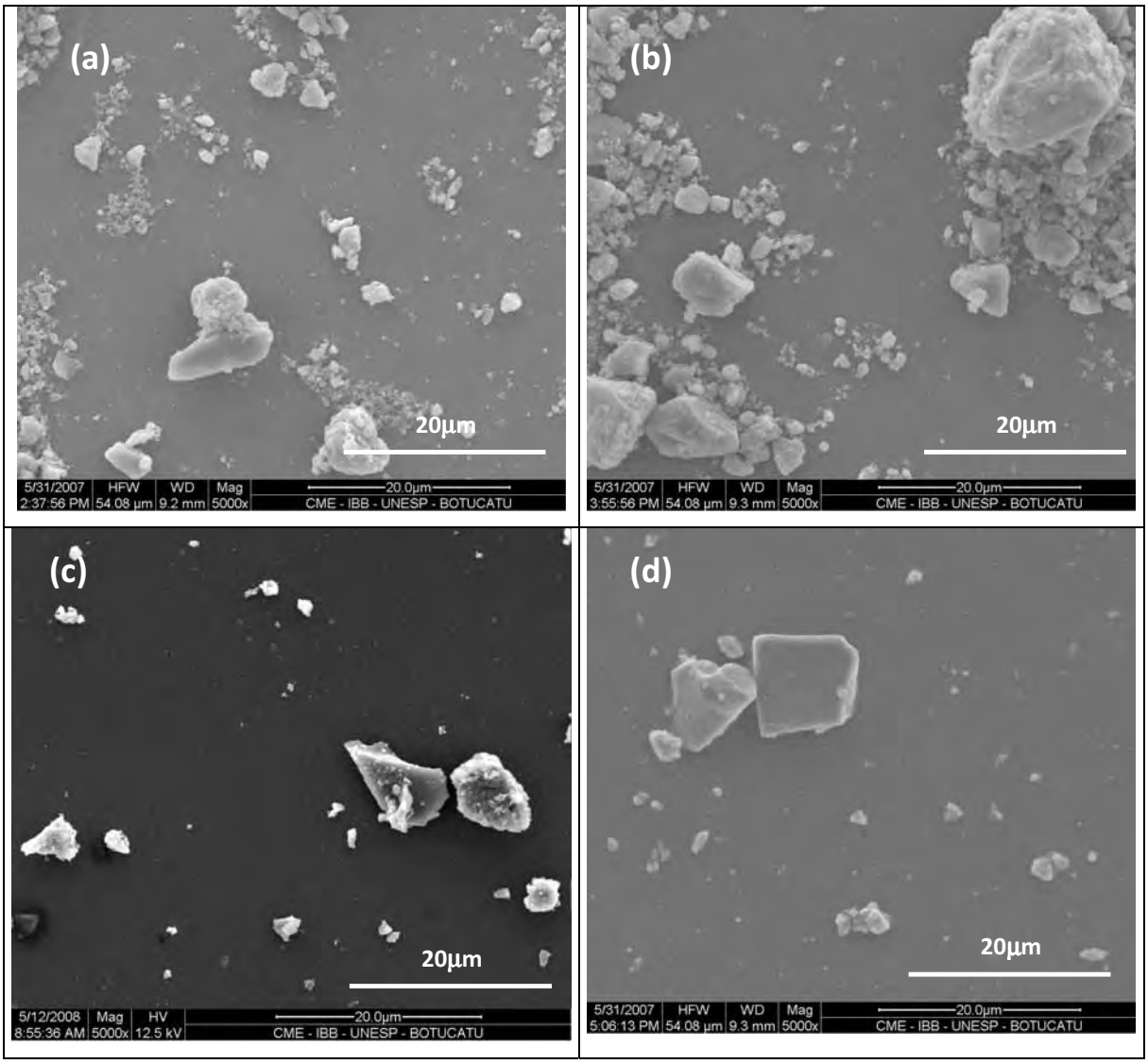

Figura 4.20. Imagens obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura para as amostras calcinados a 900°C: a) T90, b) TA90, c) TS90 e d) TSA90. (Magnificação de 5.000X).

Numa análise geral as micrografias mostram que há formação de aglomerados com placas de formas irregulares heterogêneas constituídos de partículas finas, o mesmo observado em amostras de TiO_2 por Costa e colaboradores (2006). Numa inspeção mais cuidadosa, nota-se que as amostras tratadas a 250°C (Figura 4.18) apresentam-se na forma de aglomerados esféricos com aspecto amorfo. Já as amostras tratadas a 450°C (Figura

4.19) mostram uma morfologia de grãos pequenos de forma irregular, apresentando aglomerados arredondados e outros em forma de placas. Com o aumento da temperatura de calcinação para 900°C (Figura 4.20), observa-se uma distribuição larga do tamanho dos aglomerados (heterogeneidade de tamanhos). Tal morfologia tem sido também reportada para materiais similares (ALBARICI, 2004 e COSTA, 2006). Não há influência aparente da adição de prata e silício na morfologia dos sistemas: Ag/TiO_2, SiO_2-TiO_2 e Ag/TiO_2-SiO_2.

4.4 Caracterização textural por adsorção de nitrogênio

Nas Figuras 4.21 e 4.22, podem ser observadas as isotermas de adsorsão(ramos adsorção e desorção) de N_2 a 77 K sobre amostras calcinadas a 250°C (Fig.4.21) e 450°C (Fig.4.22). Em geral, é possível verificar que o rearranjo estrutural da matriz quando a temperatura é levada de 250°C para 450°C tende a reduzir a porosidade. Esse evento é mais acentuado na matriz de titânia sem adição de modificadores, pois passa a exibir menor volume adsorvido de N_2 para amostras obtidas em temperatura maior. Apesar das amostras com prata exibirem o mesmo efeito, a amostra sem prata tem uma maior perda do que a amostra modificada com prata. Entretanto, ao adicionar óxido de silício à matriz, este efeito é inibido e a isoterma permanece praticamente inalterada, a exemplo do que foi verificado com a cristalinidade de fases nos estudos por DRX.

Analisando os tipos de isotermas (classificação IUPAC), pode-se afirmar que as isotermas tanto das amostras obtidas a 250°C, quanto das obtidas a 450°C, apresentam ser do tipo IV. A isoterma do tipo IV é marcada essencialmente por uma adsorção na região de

pressões relativas intermediárias que é comum a materiais mesoporosos (com poros entre 20 e 500Å).

A modificação feita nas amostras obtidas a 250°C por adição de prata, sílica ou prata e sílica provoca um aumento na adsorção de N_2 em baixa pressão relativa (P/P_0), que está associado à adsorção de N_2 sobre paredes de poros de tamanho reduzido que é de baixa energia de adsorção (GREGG, 1982; PAUL, 1997 e RODELLA, 2001). A adsorção na região intermediária de pressão relativa (P/P_0) também é maior para amostras modificadas. Entretanto, há uma semelhança na adsorção de N_2 em alta pressão relativa (P/P_0 próximas de 1), em que as amostras modificadas com sílica ou prata e sílica exibem uma adsorção um pouco maior (25%) que das amostras não modificadas neste intervalo de pressão relativa.

Este comportamento apresentado pelas amostras calcinadas a 250°C difere quando as amostras são submetidas à temperatura de calcinação de 450°C. Através da isoterma é possível notar que há uma diminuição dos poros de tamanho menor, ou seja, há uma coalescência, o que significa que a temperatura de 450°C é capaz de movimentar as redes a matriz de titânia, contendo ou não prata (T45 e TA45) e sílicio (TS45), e levar a este rearranjo. A presença destes poros em temperatura menor parece ser conseqüência da presença de orgânicos oriundos do processo de síntese, que atuam como *templates* para a matriz inorgânica. Ao elevar a temperatura para 450°C, os orgânicos são decompostos e a matriz, rearranjada. Isso ocorre para as amostras T45, TA45 e TS45. Para a amostra modificada com silício e prata (TSA45), a isoterma permanece praticamente inalterada com a da TSA25, evidenciando que os poros de menores tamanhos não sofreram ou sofreram pouca coalescência. A presença de silício e prata (TSA) faz com que a estrutura espacial dos poros seja mantida, após a decomposição dos orgânicos, o que demonstra e confirma o aumento do caráter refratário deste material quando modificado com óxido de silício e prata.

Outro aspecto importante que pode observado nestas isotermas diz respeito à histerese entre as curvas de adsorsão e desorção. A histerese é a não-reversibilidade do fenômeno de desorção em relação à adsorção física de N_2 a 77K e está associada à condensação capilar nas estruturas porosas do material. Assim, a histerese informa sobre a morfologia dos poros presentes na amostra. Observa-se assim que as isotermas apresentam histerese do tipo H2, em que o ramo de desorção é muito mais inclinado do que o da adsorção. Geralmente, associa-se este tipo de comportamento aos diferentes mecanismos de condensação e evaporação de N_2 em poros com forma de tinteiro (poros com um gargalo estreito e corpo largo), que parece ser uma conseqüência da oclusão de orgânicos durante a síntese da matriz de óxido, com posterior saída na forma de gases após atingir a temperatura de decomposição. Para as amostras T45 e TA45, esta diferença de inclinação tende a diminuir, ou seja, há uma redução da diferença de diâmetro entre o gargalo e o corpo do poro.

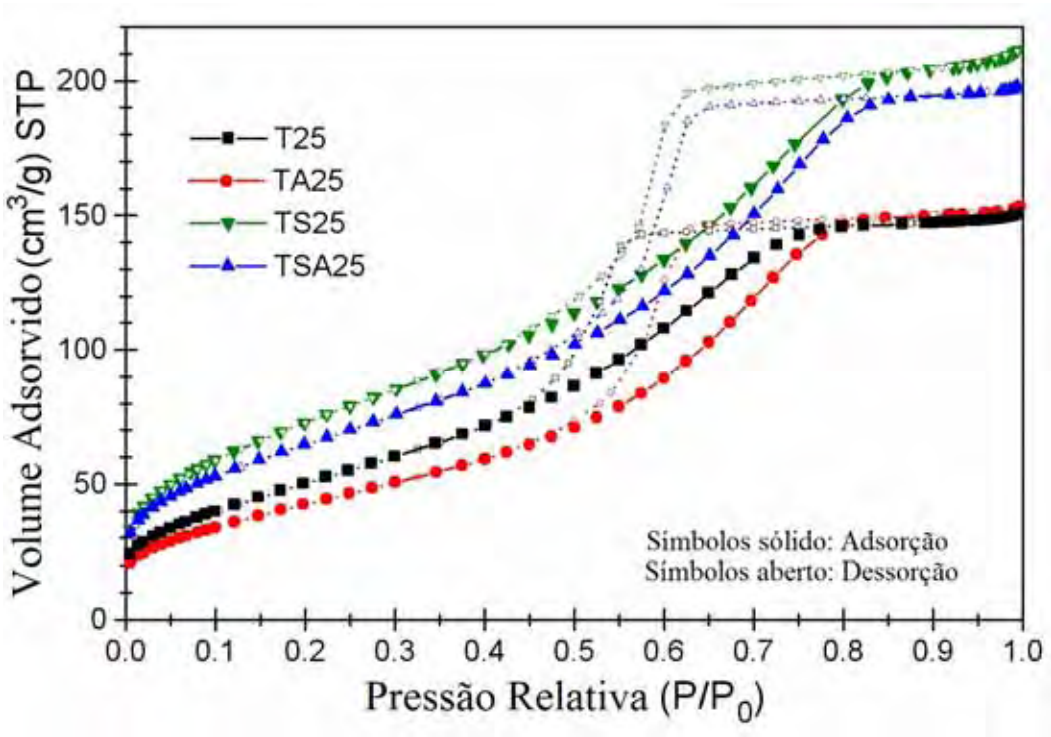

Figura 4.21. Isotermas de adsorção de N_2 a 77 K sobre amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C.

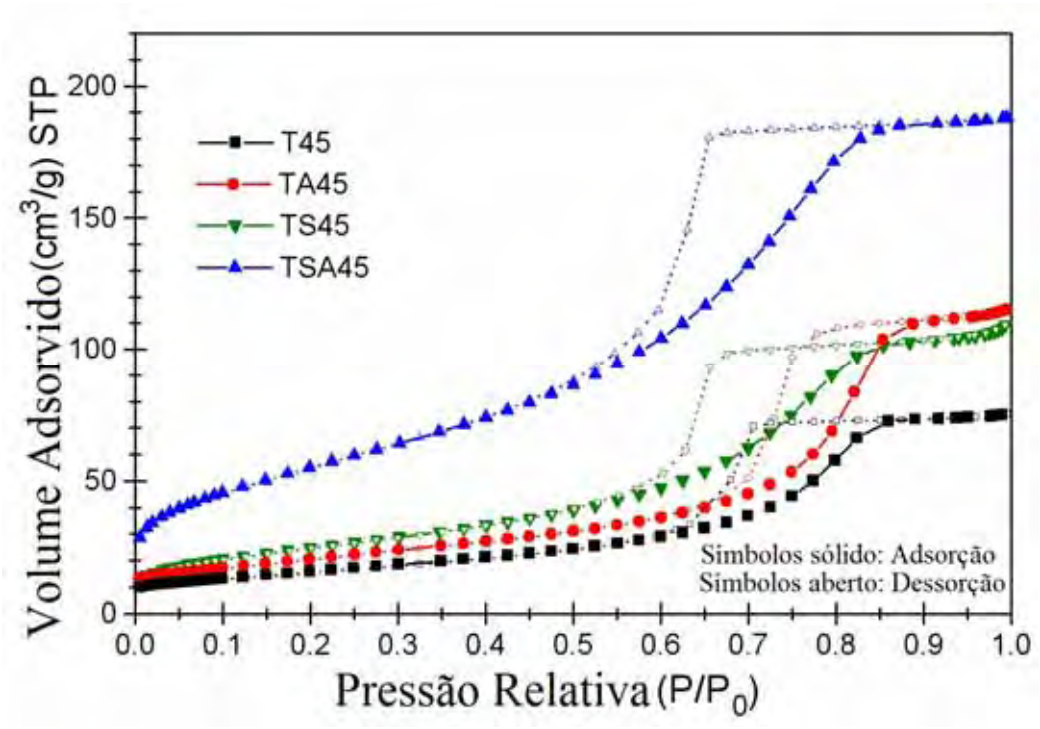

Figura 4.22. Isotermas de adsorção de N_2 a 77 K sobre amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 450°C.

Na Tabela 4.4, são mostrados os dados de área superficial e diâmetro médio de poros obtidos pelo método B.E.T. Observa-se que a área decresce acentuadamente com o aumento da temperatura de 250 para 450°C, acarretada pelo aumento no diâmetro médio de poro em mais de 50% do valor verificado em menor temperatura de calcinação. A amostra com silício (amostra TS) é a que apresentou a maior área superficial (270 m^2/g) o que pode indicar a formação da fase zeolítica de MCM-48, que produz um grande incremento no volume de N_2 adsorvido (aumento na população de poros entre 30 e 50 Å). Para a amostra modificada com silício e prata (TSA), a perda de área superficial, como conseqüência da elevação da temperatura, é apenas tênue e o diâmetro médio de poros não sofre acentuado aumento. Estes dados corroboram as observações anteriores sobre o efeito da presença do óxido de silício e prata na matriz de titânia. A presença da prata (amostras TA45) parece exercer um papel de frenagem na movimentação das paredes de poros, o que

parece estar associado à presença de núcleos de prata embebido na matriz de titânia. Para a amostra TA25, a menor área de superfície apresentada parece estar associada ao aumento na densidade e cristalinidade da fase An com adição de prata (ver resultados do DRX: Figuras 4.4 e 4.5 e Tabela 4.2), que reduz a área de superfície em relação à amostra T25. Mas, ao elevar a temperatura (amostra TA45), estes núcleos de prata impedem a movimentação das paredes de poros evitando a coalescência, resultando em maior área superficial quando comparada com a da amostra T45.

Tabela 4.4. Dados de área superficial e diâmetro médio de poros obtidos pelo método B.E.T.

Amostra	Área superficial BET (m^2/g)		Diâmetro médio de poro (4V/A-BET) (Å)	
	Temp. 250°C	Temp. 450°C	Temp. 250°C	Temp. 450°C
T	190	60	50	80
TA	160	75	60	95
TS	270	90	50	70
TSA	240	200	50	58

Ao observar a distribuição de tamanhos de poros (obtidas da isoterma, ramo dessorção, usando o método BJH) para estas amostras (Fig. 4.23 e 4.24), observa-se que todas as amostras são predominantemente mesoporosas (poros entre 20 e 500 Å). As amostras não modificadas com óxido de silício (T e TA) não sofrem grande perda de volume relativo a poros de tamanho entre 20 e 500 Å quando a temperatura é elevada para 450°C, sofrendo apenas um aumento em seus diâmetros. A amostra T25 possui majoritariamente poros com tamanho de 30 Å e o pico da distribuição desloca para região de 50 Å quando se aumenta a

temperatura de tratamento. Isso denota o caráter generalizado da movimentação da matriz, pois não é observado um aumento na ordem de grandeza do diâmetro de poros. No caso das amostras modificadas com prata (TA25 e TA45) predomina poros com diâmetro em torno de 50 Å para aquelas tratadas a 250°C, cujo pico da distribuição se desloca para 80 Å com o aumento da temperatura. O perfil da distribuição permanece inalterado, surgindo apenas uma pequena contribuição de poros de tamanhos de até 95 Å. É um efeito muito similar ao verificado para a amostra não modificada com prata. Para as amostras modificadas com óxido de silício (TS) e óxido de silício/prata (TSA), no entanto, o efeito observado é inverso: nota-se uma redução no volume adsorvido em torno de 60 e 35%, respectivamente, sem deslocamento do diâmetro médio de poros que está em torno de 50 Å.

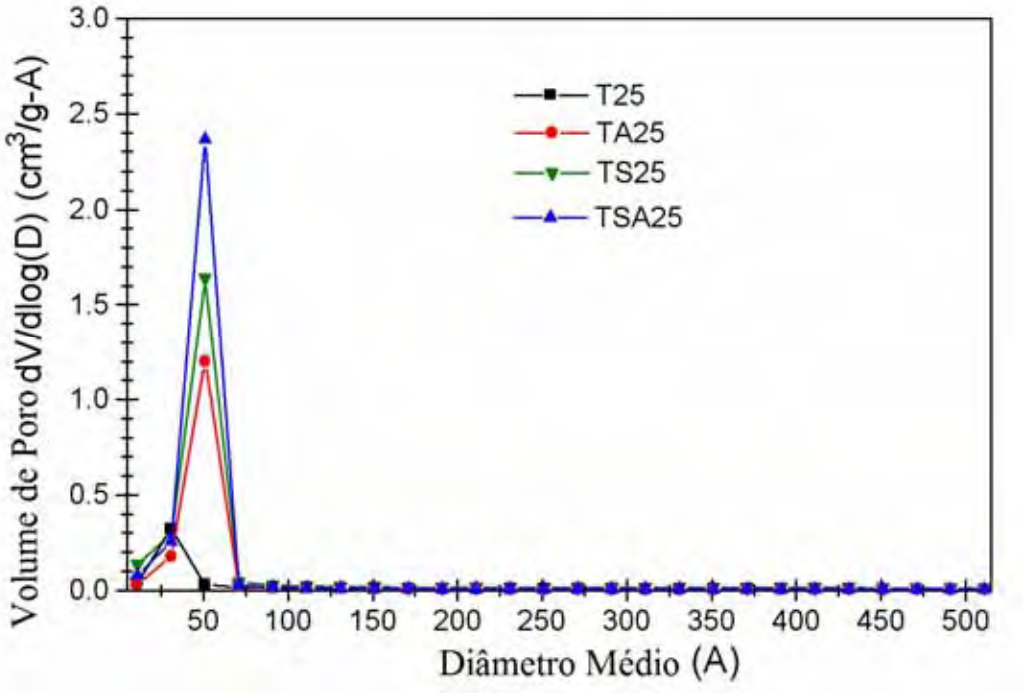

Figura 4.23. Distribuição de tamanhos de poros (desorção BJH) para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 250°C.

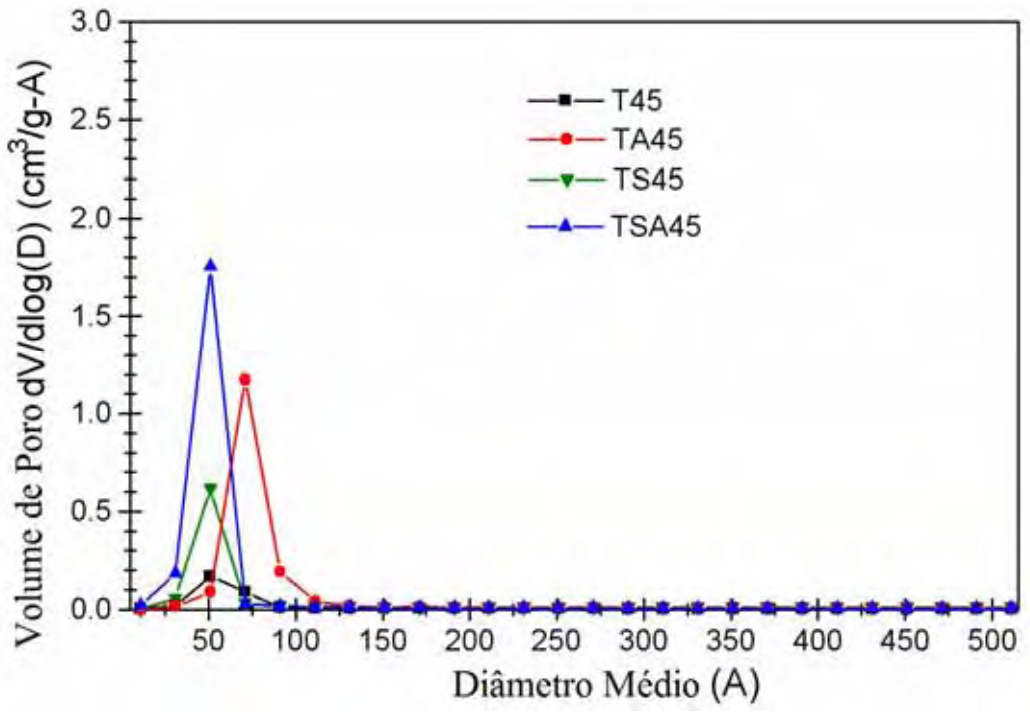

Figura 4.24. Distribuição de tamanhos de poros (desorção BJH) para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 450°C.

Do ponto de vista estrutural (DRX), a modificação com prata tende a aumentar a cristalinidade da fase An, sendo que isso é observada mais efetivamente para a temperatura de calcinação mais baixa (250°C). Ao comparar os dados estruturais da fase An das amostras T25 e TA25 (Tabela 4.2), verifica-se que os parâmetros de rede diminuem e há um aumento na densidade da fase e cristalinidade com adição de prata, o que pode estar associado à significativa eliminação de defeitos pela prata. O mesmo ocorre com o aumento da temperatura de calcinação, verificado quando se compara a amostra T25 com T45 e, TA25 com TA45. No entanto, quando se compara as amostras T45 e TA45, parece ocorrer o inverso. É preciso, então, interpretar este evento com o auxílio dos resultados de porosidade.

A partir de um certo ponto do processo de cristalização, a coalescência de cristalitos da fase An, fenômeno que ocorre associado à movimentação das paredes de poros, é inibida

devido à presença da prata. A presença destes núcleos de prata é freqüentemente reportada na literatura (HE, 2002; SUNG-SUH, 2004; SEM, 2005), em que os autores demonstram, por espectroscopia XPS e microscopia de transmissão (MET), que a prata se encontra na forma de nanopartículas metálicas (não detectadas por difratometria de raios X) na superfície das partículas de óxido de titânio. O aumento da temperatura de calcinação faz com que a fase An se cristalize mais rapidamente em ambas as amostras. No entanto, a 450°C, a difusividade da prata na superfície da titânia não é suficiente para promover a coalescência dos seus núcleos. Somente temperaturas tão altas quanto 900°C são suficientes para promover a coalescência de cristalitos de prata e crescimento de partículas. Deste modo, nas amostras calcinadas a 450°C (T45 e TA45), a fase An exibe poucos defeitos (densidade alta) e coordenada atômica do oxigênio próxima a do modelo estrutural, pois sua cristalinidade não é inibida pela difusividade do modificador e sim por fatores microestruturais: as amostras exibem maior macrodeformação da fase An, observada pela distorção do parâmetro de rede, aumento de $\underline{a}$ e redução de $\underline{c}$, o que leva a perda de tetragonalidade ($\underline{c}$ / $\underline{a}$), quando se aumenta a temperatura de tratamento das amostras contendo prata.

Quanto às amostras tratadas a 900°C, a TS apresentou área BET de 210 m^2/g (S_{BET}) e poro de 65 Å, enquanto que as outras amostras apresentaram baixa área superficial (<1 m^2/g), o que não permite a determinação do tamanho de poro. Todavia, este fato confirma que o efeito modificador da prata (em 5%) nas propriedades texturais dos materiais é grande o suficiente para promover a coalescência da fase cerâmica mesmo na presença de sílica.

4.5 Espectrofotometria no Infravermelho

A forma com que a sílica se encontra no material foi objeto de análises por FTIR.

A Figura 4.25(a) mostra os espectros das amostras obtidas após tratamento a temperatura de 250°C. Observa-se que ainda há banda que pode ser associada aos grupos C-C (~1400 cm^{-1}). Esta banda não é visualizada quando o material é submetido a 450°C, indicando que, abaixo de 450°C, a decomposição de compostos orgânicos oriundos do processo de obtenção do material (sol-gel) é incompleta.

Nos espectros das amostras obtidas por tratamento a 250 e 450°C (Figura 4.25), observa-se uma banda larga e intensa, associada ao grupo OH da água (~3500 cm^{-1}), que é praticamente invariável, na forma e posição, com a presença de modificadores. Não se verifica também mudanças nas posições das bandas Ti-O (~1700 cm^{-1}). Os espectros T25 e TA25, bem como os espectros T45 e TA45, são praticamente idênticos, demonstrando que a adição de prata não leva a alterações substanciais na rede cristalina da fase An. A presença do silício no material também não altera as posições das bandas de titânia An, exibindo a banda adicional associada ao grupo Si-O para a amostra TS e TSA. A presença de bandas Ti-O (~1700 cm^{-1}) sem deslocamento e ao mesmo tempo bandas características de Si-O (~1200 cm^{-1}) indica que de sílica encontra-se segregada na matriz de titânia, corroborando com os resultados da difratometria de raios X.

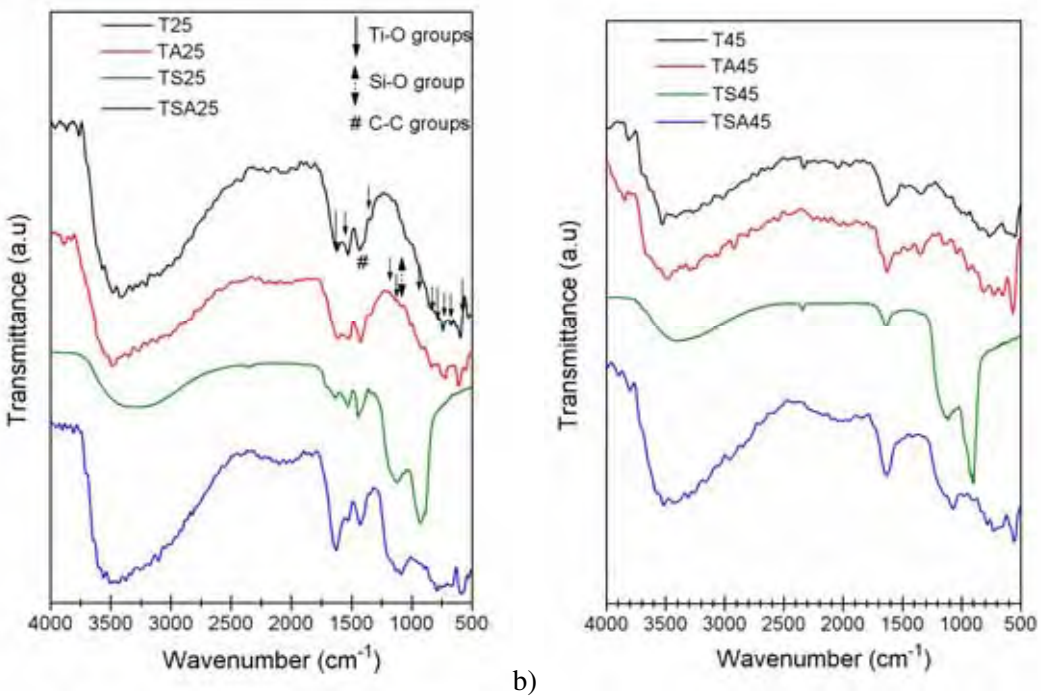

Figura 4.25. Espectros na região do Infravermelho para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a: a) 250°C e b) 450°C.

Os espectros na região do infravermelho para estas amostras calcinadas a 900°C são mostrados na Figura 4.26. Observa-se que há uma maior quantidade de bandas, oriundas da presença simultânea de fase rutilo (~600 cm^{-1}) e anatásio (~800 cm^{-1}) da titânia. A banda de óxido de silício surge de maneira similar à observada nas amostras calcinadas em temperaturas menores.

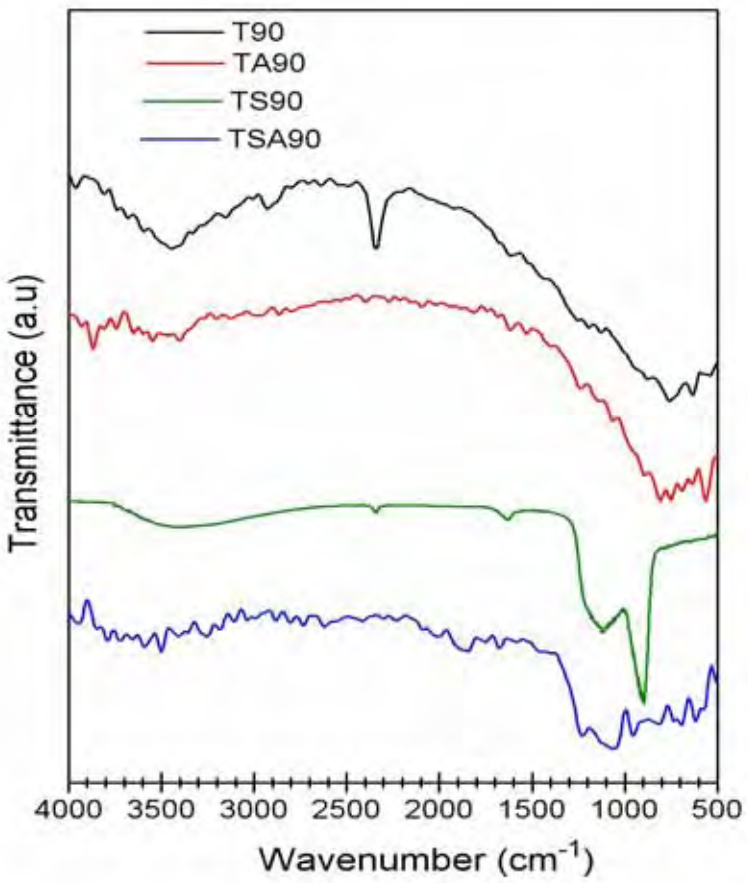

Figura 4.26. Espectros na região do Infravermelho para as amostras de titânia obtidas pelo método sol-gel e calcinadas a 900°C.

Ainda de acordo com o espectro de infravermelho, pode-se verificar um pico de intensidade variada em torno de 2400 cm^{-1}. Isto se refere ao CO_2, cuja concentração no caminho ótico varia de acordo com a movimentação da atmosfera circundante.

4.6 Resultado bactericida

Nas Figuras 4.27 a 4.32 estão apresentados os resultados dos testes antimicrobianos efetuados com os materiais sintetizados por tratamento a 250, 450 e 900°C. Os testes foram feitos em suspensão aquosa (a 0,0001 g/mL do bactericida inorgânico) contendo *E.coli* ou *P. aeruginosa* a $2{,}0x10^4$ UFC/mL. A contagem de bactérias remanescentes (sobreviventes ou células viáveis) foi feita em função do tempo, na presença e ausência da luz e, com e sem os materiais catalisadores. A discussão dos resultados antimicrobianos foi feita considerando-se o decaimento até um tempo de 10 minutos, porque após 15 minutos de teste, a quantidade remanescente de bactérias é menor que 5% na sua maioria, a partir de quando o decaimento é mais suave. A taxa de bactérias inativadas após 5 e 10 min de reação será expressa em porcentagem ao longo do texto, sendo que a de 10 min estará entre parênteses após a taxa de 5 min.

Escherichia coli

A Figura 4.27 mostra os resultados dos testes de inativação da bactéria *E.coli* por amostras calcinadas a 250°C [TiO_2 puro (T25), Ag/TiO_2 (TA25), TiO_2-SiO_2 (TS25) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA25)].

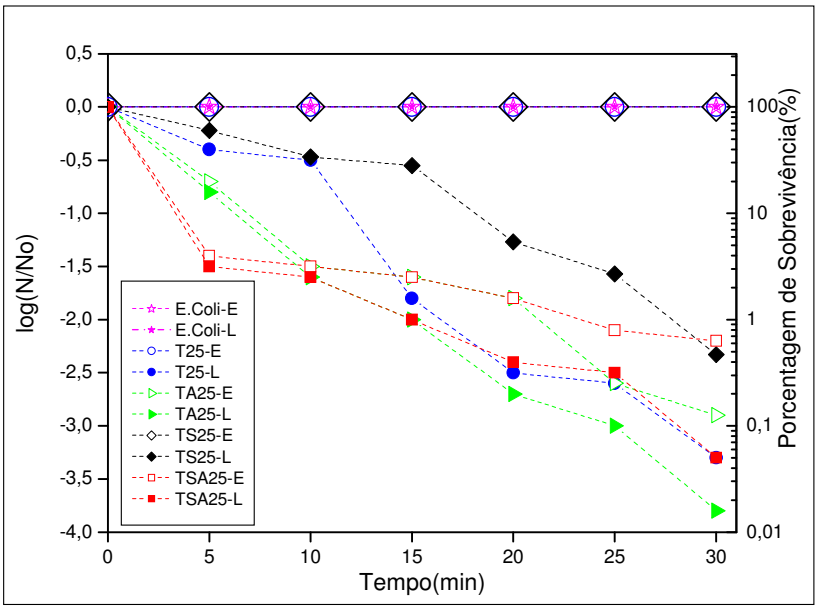

Figura 4.27. Inativação da *E.coli* (concentração inicial de bactéria: 2,0x10^4 UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 250°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.coli*-E) e na presença de luz (*E.coli*-L).

Nota-se que, na ausência de luz, o TiO_2 e TiO_2/SiO_2 não apresentaram atividade antimicrobiana, nem citotoxidade, ou seja, as células sobreviveram na presença de 0,0001 g/mL destes óxidos em igual condição que na referência (sem catalisador).

A inativação foi maior para catalisadores contendo prata. A atividade foi ligeiramente superior quando assistida por irradiação, sendo que a atividade biocida da luz é praticamente nula nas condições testadas. O catalisador TA25 inativou cerca de 84% (98%) da população na presença de luz. Sem irradiação, a inativação foi de 80% (97%). Nas mesmas condições, o T25 apresentou uma inativação de 60% (68%) sob irradiação, sendo que ele não apresentou qualquer atividade biocida no escuro. A suspensão TSA25 apresentou uma inativação de 97% (98%) e 96% (97%), na presença e ausência de luz, respectivamente. O catalisador sem prata

contendo sílica, TS25, apresentou uma inativação de 40% (66%) sob irradiação e nenhuma atividade no escuro.

Estes resultados mostram que a atividade microbiana dos sistemas contendo prata se deve na maior parte à prata e que o suporte TiO_2 auxilia na inativação somente na presença da luz. O efeito da luz é notado somente após 10 min de ação em catalisadores contendo prata, ou seja, em t>10min, quando cerca de 97% da *E. coli* já se encontra inativada. Contudo, a ação antimicrobiana da prata é imediata e está principalmente associada à degradação das membranas celulares de microrganismos pela prata, segundo a literatura (BORZANI, 2003). O efeito da luz, em catalisadores sem prata, é notado desde o início, significando que requer a fotoexcitação do elétron para promover atividade antimicrobiana. Os resultados mostram também que a modificação por adição de sílica tem maior influência na atividade inicial e que a atividade ao longo do tempo dos catalisadores com silício é menor que sem este modificador, estando a prata presente ou não.

A mudança de inclinação nas curvas log N/No *versus* tempo produzida pelas variáveis indicam que podem ter interações entre os efeitos das variáveis.

A Figura 4.28 mostra a inativação da *E. coli* em função do tempo, na presença e na ausência da luz, com os materiais calcinados a 450°C [TiO_2 puro (T45), Ag/TiO_2 (TA45), TiO_2-SiO_2 (TS45) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA45)].

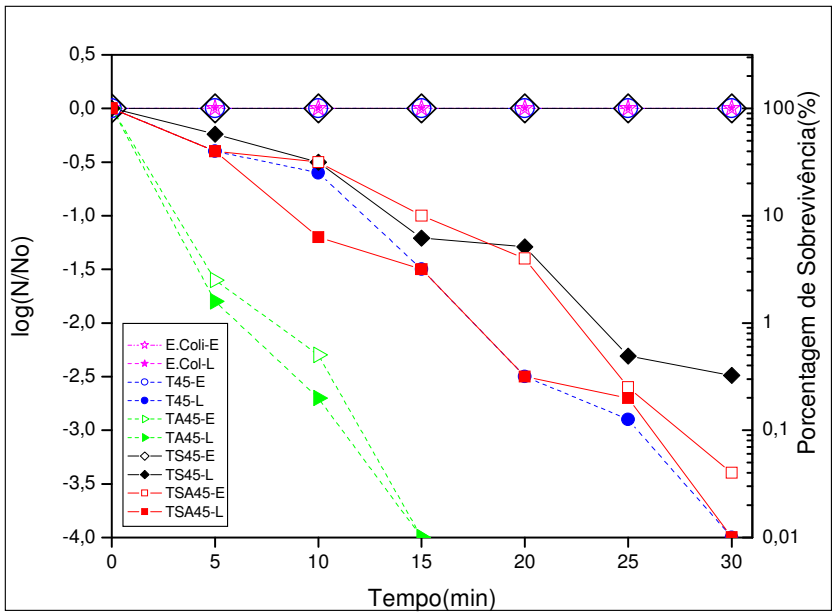

Figura 4.28. Inativação da *E.coli* (concentração inicial de bactéria: 2,0x10^4 UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 450°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.*coli-E) e na presença de luz (*E.coli*-L).

Novamente, nota-se que catalisadores que contêm prata exibem atividade antimicrobiana superior. Cerca de 98,4% (99,8%), quando assistida pela luz, e 97,5% (99,5%), no escuro, de *E. coli* são inativadas na presença de catalisadores de TiO_2 modificados somente com prata (TA45). Em 15 min de teste, este catalisador inativa completamente esta bactéria, mesmo na ausência de luz, sendo que o catalisador sem prata, T45, apresenta 60% (75%) da população de *E. coli* inativadas. Na ausência de luz, o último material (T45) não exibe qualquer atividade antimicrobiana, pelo menos no tempo testado. Estes catalisadores são mais ativos que aqueles que foram tratados a 250°C, entretanto sofreram uma redução de área de 1/2 a 1/3 em comparação a área que apresentavam quando tratados na temperatura menor (ver Tabela 4.4). No caso do catalisador contendo sílica e prata, TSA45, inativa 60% (94%) de *E.coli*. Na ausência de luz, a inativação é de 60% (68%),

sendo tais atividades menores que as do catalisador tratado a 250°C. Cabe destacar que o último catalisador é aquele que apresentava maior área superficial e que sofreu menor perda de área com o aumento da temperatura de tratamento ($S_{BET\ 250^oC}$=240 m^2/g; $S_{BET\ 450^oC}$=200 m^2/g). O catalisador sem prata (TS45) apresenta 43% (68%) de inativação, sendo que na ausência de luz não exibe atividade antimicrobiana. Cabe lembrar que a área do TS45 é 3 vezes menor que a do catalisador tratado a 250°C, mas a atividade foi praticamente a mesma.

No geral, a atividade dos catalisadores obtidos a 450°C é superior à dos catalisadores tratados a 250°C, sendo menor somente no caso do catalisador TSA45. Tecnicamente não há diferença entre as atividades assistida ou não pela luz para o catalisador contendo prata (TA45), ou seja, a taxa de inativação praticamente não é influenciada pela irradiação. A atividade antimicrobiana pode ser atribuída então à prata. Considerando que a área superficial diminui em pelo menos duas vezes quando a temperatura de calcinação é elevada de 250°C para 450°C, é provável que aumento na atividade do catalisador se deva ao aumento na cristalinidade e/ou estrutura da banda, no caso do material sem prata, e à estrutura da prata e sua distribuição no suporte no caso de catalisadores contendo prata.

A atividade dos suportes T45 e TS45 é boa sob irradiação e é semelhante ao dos respectivos catalisadores tratados a 250°C apesar de ter uma área superficial 3 vezes menor que dos catalisadores tratados em menor temperatura. O efeito da luz aparece com forte evidência desde o início nestes catalisadores (sem prata) indicando a sua importância para promover atividade antimicrobiana. Quando o catalisador é modificado por sílica e prata a atividade é menor que dos respectivos materiais sem sílica apesar da maior área superficial (área do TS/T=1,5; área do TSA/TA=2,7).

Cabe ressalvar aqui, que a área superficial desses materiais se deve basicamente aos poros neles contidos, com tamanhos entre 20 e 500 Å (materiais mesoporosos). Tais superfícies não são acessíveis às bactérias (*E. coli*), de tamanhos de cerca de 1 μm. Assim, o

aumento na atividade se deve principalmente às propriedades das superfícies que entram em contato com os microrganismos. Por outro lado, a atividade antimicrobiana do suporte está associada à propriedade semicondutora e a geração de radicais reativos (•OH) é proporcional à área irradiada. É uma contribuição importante na inativação, principalmente em materiais de alta área. Assim, nos testes feitos com materiais de alta área como aqueles obtidos a 250°C e alguns obtidos a 450°C (aqueles que contem sílica e prata), nota-se que a inativação sob irradiação é maior que no escuro. Com este último (TSA45) a inativação foi cerca de 15% maior que quando realizado sem luz devido à contribuição mencionada.

A Figura 4.29 mostra a inativação da *E.coli* em função do tempo, na presença e na ausência da luz, com os materiais calcinados a 900°C [TiO_2 puro (T90), Ag/TiO_2 (TA90), TiO_2-SiO_2 (TS90) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA90)].

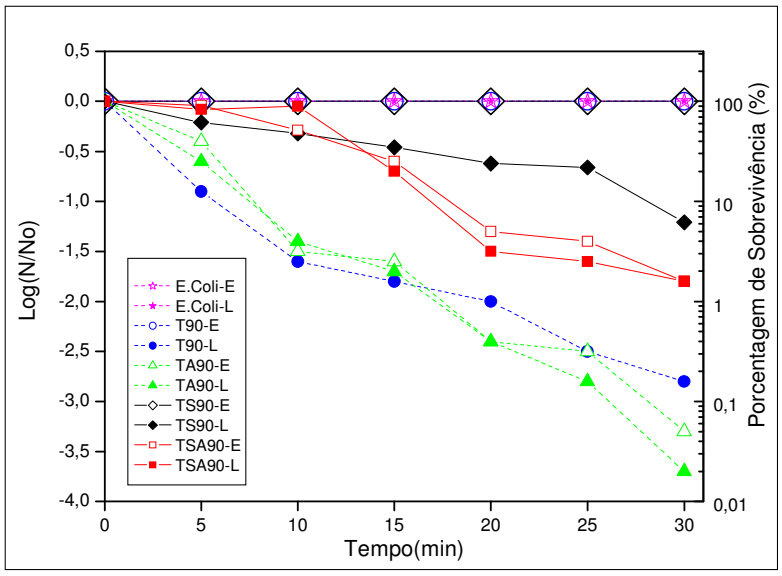

Figura 4.29. Inativação da *E.coli* (concentração inicial de bactéria: 2,0x10^4 UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 900°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*E.coli*-E) e na presença de luz (*E.coli*-L).

Nota-se, também, que a inativação foi maior para catalisadores contendo prata. O catalisador TA90 apresentou uma inativação de cerca de 75% (96%) e 60% (97%) da população, quando assistida ou não por irradiação, respectivamente. O catalisador sem prata, de T90, inativou cerca de 87% (98%) de UFCs sob irradiação, porém no escuro não apresentou qualquer atividade antimicrobiana. A atividade do T90 sob irradiação ao longo do tempo foi semelhante à do TA90, cabendo lembrar que ambos são constituídos de TiO_2 rutilo (ver Figuras 4.12 e 4.13). A suspensão TSA90 apresentou uma inativação de 17% (11%) e 9% (49%), na presença e ausência de luz, respectivamente. Esta discrepância se deve à dispersão nos dados obtidos para este tempo de reação. Para outros tempos de reação a inativação na presença de luz foi ligeiramente superior. Todavia, tanto o efeito da prata como o da luz tornou-se evidente somente após 10 min de contato do material TSA90 com a bactéria. O catalisador sem prata, de TS90, apresentou uma inativação de 38% (52%) sob irradiação, porém no escuro não apresentou qualquer atividade.

De maneira geral, a atividade do catalisador com prata tratado a 900°C foi inferior à dos catalisadores obtidos a 450°C. Além da propriedade das superfícies que entram em contato com *E. coli* ser diferente, devido à transição de TiO_2 da fase anatásio para rutilo e cristalinidade, a área dessa superfície deve ser substancialmente menor devido à sinterização avançada (área superficial de uma a duas ordens de grandeza menor, ver seção 4.4). Considerando ainda que a coalescência dos cristais de prata (diminuição da área superficial metálica) deve ter ocorrido em alguma extensão (notada pelo aparecimento de picos nos difratogramas) e que a prata pode ainda estar embebida na matriz de sílica com percolação alternada de partículas de sílica/anatásio, prata e rutilo, a menor atividade bactericida era esperada. Contudo, estes efeitos (diminuição da área superficial e transição de fase) parecem não ter afetado a atividade destes materiais, proporcionalmente, cabendo explorar melhor a influência dessas variáveis. De qualquer forma, não se observou o efeito da irradiação nas

atividades dos materiais contendo prata, provavelmente por causa da baixa área superficial onde a contribuição dos radicais •OH fotogerados deve ser baixa.

Os testes comprovam que a atividade antimicrobiana para *E. coli* deve-se principalmente à prata que a inativa mesmo na ausência de luz. A ação antimicrobiana da prata é imediata, atribuída por alguns autores à degradação das membranas celulares de microrganismos pela prata em que, após o rompimento da parede, íons metálicos em pequenas quantidades migram para o citoplasma bacteriano, combinam com os grupos sulfinidrilas das proteínas celulares causando a sua desnaturação (BORZANI, 2003; MATSUNAGA, 1988; LU, 2003). A ação antimicrobiana da prata é imediata, mas não no caso dos catalisadores que contem silício e tratados em alta temperatura (TSA90). A maior atividade é observada para os pós obtidos por tratamento a 450°C, com exceção do TSA45, em que a atividade é maior quando o tratamento é feito em menor temperatura.

A atividade ligeiramente maior na presença de luz pode ser atribuída à associação do efeito catalítico do semi-condutor TiO_2 à ação oligo-dinâmica da prata. A contribuição da luz é mais evidente em catalisadores sem prata onde a ação da luz é imediata e essencial, pois na sua ausência eles não apresentam atividade antimicrobiana. Quando tem prata, a contribuição da luz é notada naqueles que apresentam alta área superficial como os tratados a 250°C e TSA45. Contudo, o seu efeito é notado somente após 10 min de irradiação. Quanto ao efeito bactericida da luz, atribuído à radiação UV (MATSUNAGA, 1985), a intensidade da luz UV usada no presente trabalho não era suficiente para que esses efeitos fossem notados.

Pseudomonas aeruginosa

A Figura 4.30 mostra os resultados dos testes de inativação da bactéria *P. aeruginosa* por amostras calcinadas a 250°C [TiO_2 puro (T25), Ag/TiO_2 (TA25), TiO_2-SiO_2 (TS25) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA25)].

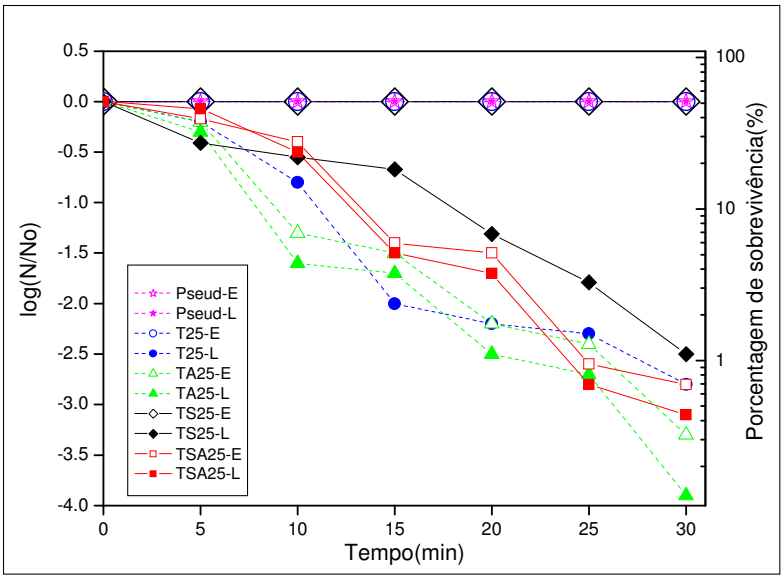

Figura 4.30. Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de bactéria: $2{,}0x10^4$ UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 250°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* - E) e na presença de luz (*P.aeruginosa*-L).

Nota-se que a inativação para esta bactéria foi maior também para catalisadores contendo prata (TA25), especialmente quando assistida pela irradiação. A inativação foi de cerca de 50% (97%) da população de *P. aeruginosa*. Na ausência de irradiação, a inativação foi de 37% (95%). Nas mesmas condições, a suspensão TSA25 apresentou uma inativação de 32% (60,18%) e 15% (68%) na ausência e presença de luz, respectivamente. Os catalisadores, sem prata, de T25 e TS25 apresentaram inativação respectiva de 37% (84%) e 61% (72%) sob irradiação, sendo que, na média, o sistema sem sílica apresentou maior atividade. No escuro, ambos não apresentaram atividade antimicrobiana.

Estes resultados mostram que a atividade antimicrobiana dos sistemas tratados a 250°C contendo prata se deve na maior parte à prata que ao suporte TiO_2, que contribui na inativação somente na presença da luz. O suporte requer a fotoexcitação do elétron para promover atividade antimicrobiana, contudo a contribuição da luz é menor que no caso da

inativação da *E. coli*. A ação antimicrobiana tanto da prata como da luz tem um tempo de ativação entre 5 e 10 min a partir de quando a inativação é intensificada. Os resultados mostram também que a modificação por adição de sílica tem influência negativa na atividade, seja na ausência como na presença de prata.

A Figura 4.31 mostra a inativação da *P. aeruginosa* em função do tempo, na presença e na ausência da luz, com os materiais calcinados a 450°C [TiO_2 puro (T45), Ag/TiO_2 (TA45), TiO_2-SiO_2 (TS45) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA45)].

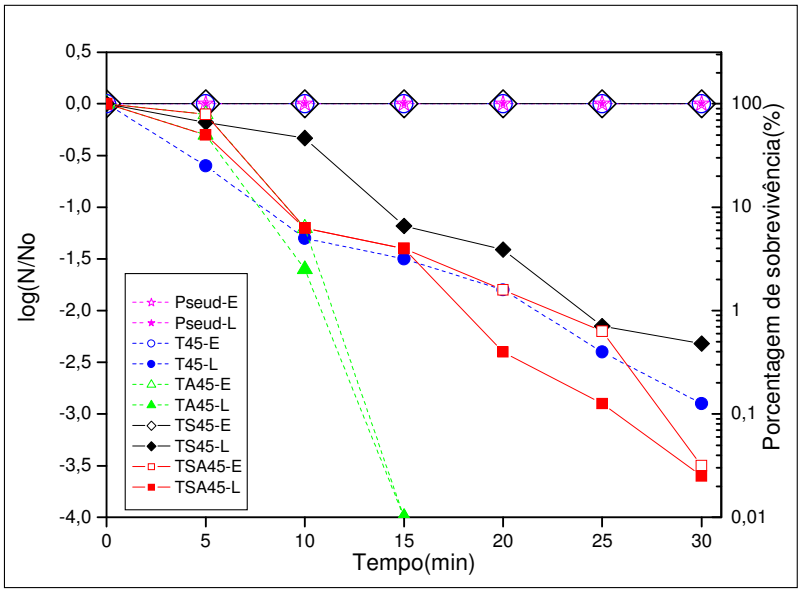

Figura 4.31. Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de bactéria: 2,0x10^4 UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 450°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* -E) e na presença de luz (*P.aeruginosa* -L).

A atividade é superior à dos catalisadores tratados a 250°C e, novamente, nota-se que catalisadores que contem prata exibem atividade antimicrobiana superior. A inativação para catalisadores de TiO_2 modificados somente com prata (TA45) foi de 50% (98%) e em 15 min de teste, inativam completamente a bactéria. Tecnicamente, não houve diferença entre as atividades assistida ou não pela luz para este catalisador. No teste com o suporte de T45, a

inativação foi de 75% (95%) na presença de luz e nula no teste sem irradiação. O TSA45 inativa 50% (94%) de *P. aeruginosa* na presença de luz enquanto que na ausência, inativa 21% (94%). O suporte sem prata, TS45, apresentou inativação de 34% (53%) sob irradiação e na ausência de luz não exibiu atividade antimicrobiana. Os resultados mostram também que a sílica não é benéfica para a atividade antimicrobiana. A atividade antimicrobiana dos materiais testados para *P. aeruginosa* é menor que para *E. coli*, mas a contribuição da luz na atividade é maior.

A Figura 4.32 mostra a inativação da *P. aeruginosa* em função do tempo, na presença e na ausência da luz, com os materiais calcinados a 900°C [TiO_2 puro (T90), Ag/TiO_2 (TA90), TiO_2-SiO_2 (TS90) e Ag/TiO_2-SiO_2 (TSA90)].

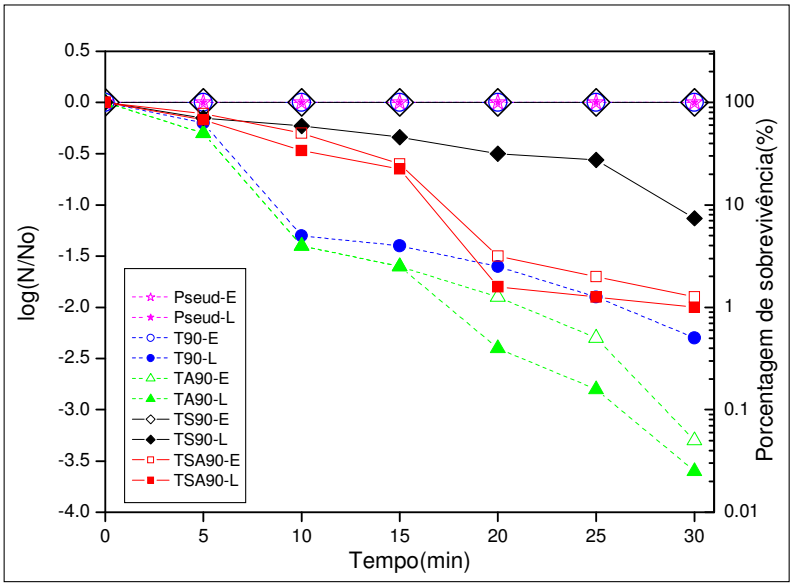

Figura 4.32. Inativação da *Pseudomonas aeruginosa* (concentração inicial de bactéria: 2,0x10^4 UFC/mL) em função do tempo. Temperatura de tratamento dos catalisadores, 900°C; E=Escuro e L=Luz (λ=365 nm); Controles sem catalisador na ausência de luz (*P.aeruginosa* -E) e na presença de luz (*P.aeruginosa* -L).

A tendência se mantém, ou seja, a inativação foi maior para catalisadores contendo prata (TA90) apresentando uma inativação de 50% (96%) da população, na presença ou na

ausência de luz. Nas mesmas condições, a suspensão TSA90 apresentou uma inativação de 32%(66%) e 22% (50%), na presença e ausência de luz, respectivamente. Os catalisadores, sem prata, de T90 e TS90 apresentaram inativação respectiva de 37% (95%) e 29% (41%) sob irradiação, porém no escuro, ambos não apresentaram atividade antimicrobiana.

De forma geral, a atividade da prata para a inativação das *P. aeruginosa* é primordial, especialmente na ausência de luz. Não há influência clara da temperatura de calcinação na atividade antimicrobiana, mas tratamento em temperaturas superior à 250°C, mas menores que 900°C, é requerido para otimizar a atividade. A estrutura cristalográfica do suporte e da fase ativa parece ter pouca influência na inativação. Tais propriedades podem ser importantes na degradação das moléculas orgânicas produzidas na inativação. A sílica parece diminuir a atividade apesar da propriedade textural (área superficial, porosidade) ser aquela que favorece a atividade. O suporte rutilo também apresenta boa atividade se for assistida por radiação, assim como o anatásio.

Estes resultados mostram que a atividade antimicrobiana dos sistemas contendo prata se deve praticamente à prata e que, na presença de luz, a inativação das bactérias é ligeiramente superior. O suporte TiO_2 auxilia na inativação somente com a luz. Assim, o efeito maior se deve à ação oligo-dinâmica da prata que promove a destruição das membranas celulares de microrganismos como bactérias, fungos e etc. Segundo a literatura, após o rompimento da parede, íons metálicos, em pequenas quantidades, migram para o citoplasma bacteriano, combinam com os grupos sulfinidrilas nas proteínas celulares causando a sua desnaturação (MCWHIRTER, 2002; SCLAFANI, 1990 e MINERO, 1996). O óxido de titânio não é eficiente como bactericida, porém o efeito semi-condutor TiO_2 deve ser importante na degradação de orgânicos, produtos da desnaturação dos componentes celulares.O efeito da luz é importante principalmente para os catalisadores sem prata em que necessita da fotoexcitação para promover atividade biocida, porém seu efeito não sobressai ao

da prata. Os resultados mostram também que a modificação por adição de sílica parece não afetar na atividade para catalisadores obtidos por tratamento a 250°C, porém afetam quando o catalisador é obtido em temperaturas maiores.

No que se refere à utilização dos materiais desenvolvidos no tratamento de água deve-se considerar que a portaria No. 518/2004 estabelece que os coliformes termotolerantes não podem estar presente para que a água seja considerada potável. Nas condições utilizadas nesses testes, isso é observado após 15 min usando catalisadores de TA45.

4.7 Ensaio para verificação da influência do pó no crescimento das bactérias após incubar no PCA.

Este estudo foi feito para comprovar que a quantidade de prata e titânia presente nas alíquotas (1 mL) retiradas do reator (teste antimicrobiano) a cada intervalo de tempo não interfere no comportamento (crescimento) das bactérias quando é incubado com PCA.

Conforme mencionado na parte experimental, o catalisador (pó) foi utilizado na concentração de 0,1 mg mL^{-1} nos testes antimicrobianos. A alíquota de 1 mL dessa solução, contendo bactérias e catalisador, é retirada e pode ou não ser diluída (10 vezes) antes de transferir à placa de petri que posteriormente é juntada com 15 mL de solução de ágar padrão e encubada. Deste modo, 0,1 ou 0,01 mg de catalisador é incubado com as bactérias. O presente teste foi feito na presença de 0,1 e 0,01 mg de quantidades de catalisador seguindo-se o procedimento descrito na seção 3.6.

As Figuras 4.33 e 4.34 mostram, respectivamente, a quantidade relativa da população de *E. coli* e *P. aeruginosa*, em diferentes tempos, após serem incubados na presença e ausência de 0,01 mg de prata/titânia.

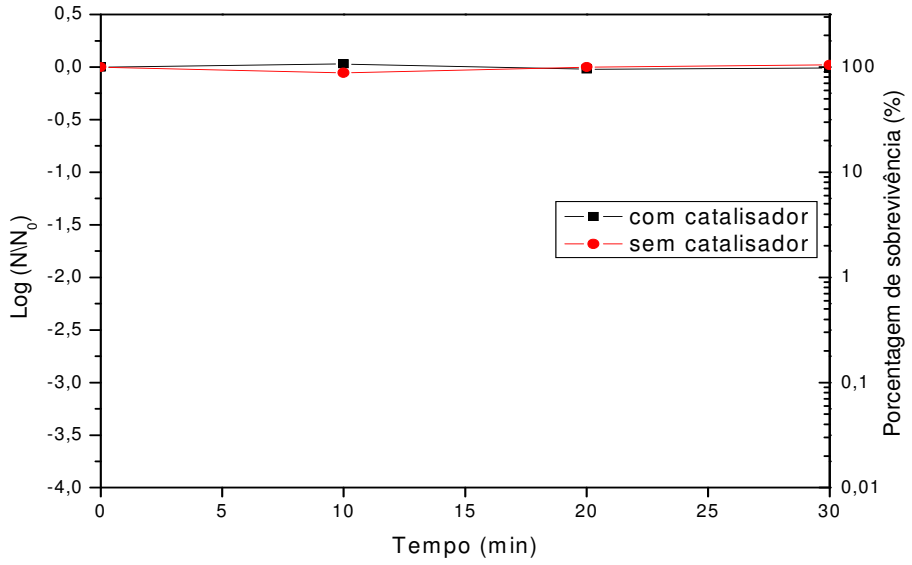

Figura 4.33. Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,01 mg (concentração no PCA: 0,00067 mg/mL) no crescimento da bactéria *E. coli* (teste feito no escuro).

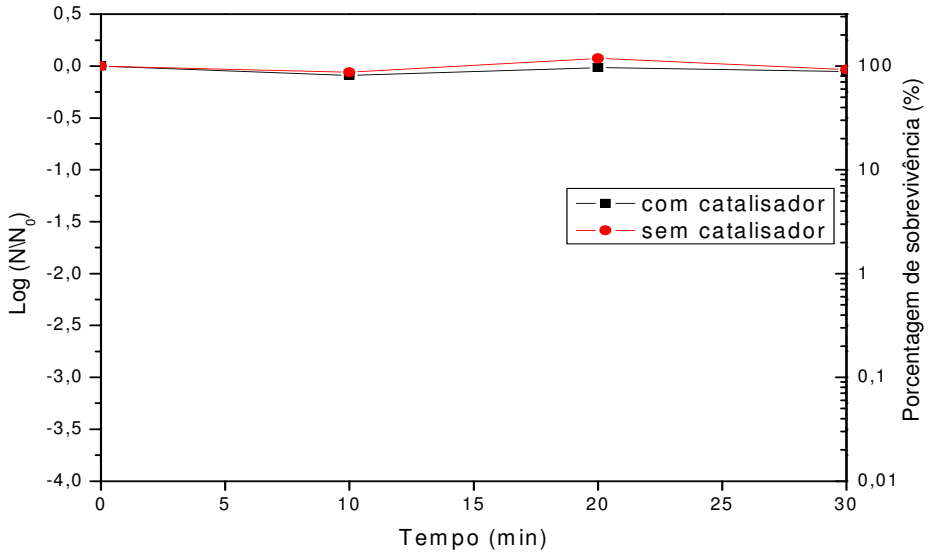

Figura 4.34. Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,01 mg (concentração no PCA: 0,00067 mg/mL) no crescimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (teste feito no escuro).

As Figuras 4.35 e 4.36 mostram os resultados dos testes realizados para as duas bactérias na presença de 0,1 mg.

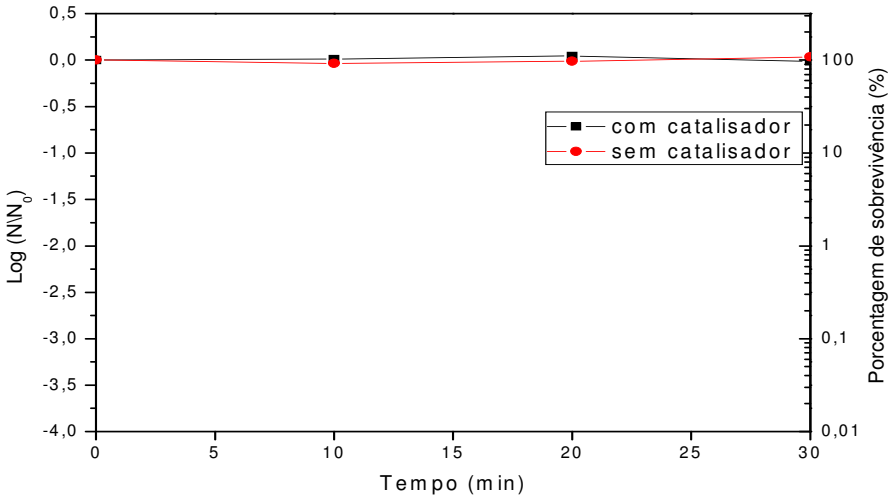

Figura 4.35. Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,1 mg (concentração no PCA: 0,0067 mg/mL) no crescimento da bactéria *E. coli* (teste feito no escuro).

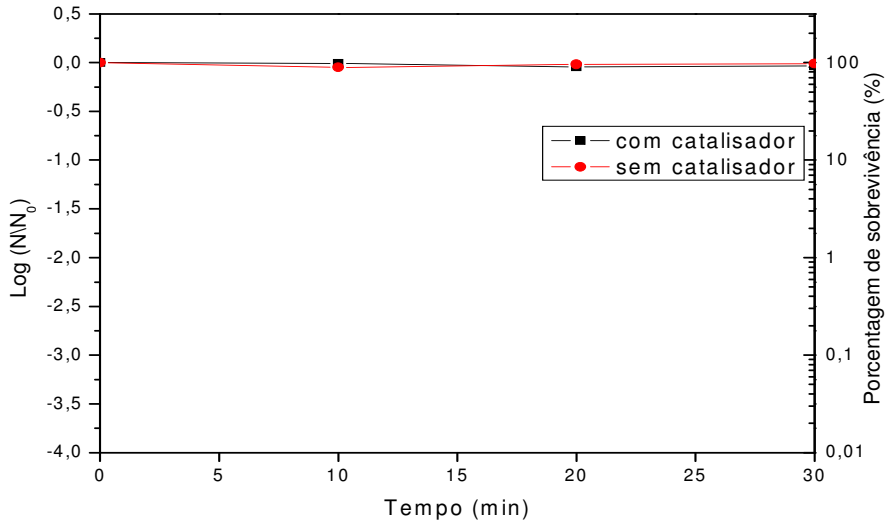

Figura 4.36. Estudo da influência da Ag/TiO_2 a 0,1 mg (concentração no PCA: 0,0067 mg/mL) no crescimento da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (teste feito no escuro).

As populações foram praticamente iguais àquelas sem o catalisador para ambas as bactérias, tanto na presença de 0,01 mg, quanto na presença de 0,1 mg, comprovando que a quantidade de catalisador utilizada nestes testes não inibe o crescimento das bactérias após a semeadura, nem é suficiente para estimular o seu crescimento, o que ocorreria se a quantidade fosse extremamente baixa (BORZANI, 2003).

Estes testes foram primordiais para validação dos resultados mostrados e discutidos na seção 4.6 e foram realizados durante o estabelecimento das condições para o teste antimicrobiano.

5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos pelo procedimento adotado nos permitem dizer que:

O método sol-gel é adequado para preparar o material proposto;

A análise termogravimétrica mostrou que temperaturas próximas de 700ºC são necessárias para que o material esteja livre de orgânicos;

Por meio da técnica de difratometria de raios X, associado ao método Rietveld, foi possível verificar que em baixas temperaturas de calcinação (250 e 450°C) as amostras são monofásicas (titânia fase anatásio, An) independente da modificação introduzida (adição de prata e/ou sílica) sendo que a sua cristalinidade diminui, bem como a área superficial aumenta, com o aumento da quantidade de modificadores;

Quando a temperatura é elevada para 900°C as amostras estruturam-se sob forma de rutilo, sendo que na presença de prata, esta é segregada. Quando as amostras são modificadas por sílica, a transição para rutilo é dificultada e a titânia permanece estruturada sob forma de anatásio. Mas quando se adiciona prata a esta mistura, somente 10% permanecem na forma de anatásio sendo que 90% experimentam a transição para rutilo;

A modificação com prata tende a aumentar a densidade e a cristalinidade da fase anatásio sendo que esse efeito é mais notório para baixa temperatura de calcinação;

A área superficial (BET) diminui acentuadamente com o aumento da temperatura de 250ºC para 450ºC (47%), acarretando um aumento no diâmetro médio de poro em mais de 50% do valor verificado para a menor temperatura de calcinação;

Os espectros no infravermelho do sistema T25 e TA25, bem como os do T45 e TA45, demonstraram que a adição de prata e/ou de sílica não leva a alterações substanciais nos grupos superficiais dos cristais da fase An;

Os testes de inativação das bactérias mostraram que a atividade antimicrobiana da prata predomina ao da fotodegradação do TiO_2, sendo primordial especialmente na ausência de luz;

Não há influência clara da estrutura cristalográfica do suporte na atividade antimicrobiana, mas tratamentos em temperaturas superiores à 250°C, mas menores que 900°C, são requeridos para otimizar a atividade antimicrobiana;

No estudo da influência do catalisador no crescimento das bactérias após incubar no PCA, comprovou-se que a quantidade de prata e titânia presente nas alíquotas retiradas do reator não interfere no crescimento das bactérias.

6 TRABALHOS FUTUROS

Propõe-se inicialmente como trabalho futuro o refinamento, as caracterizações por técnicas como MEV, adsorção de N_2 e FTIR, bem como os testes antimicrobianos dos materiais preparados por tratamento em temperaturas que variaram sistematicamente entre 450°C e 900°C. Esse estudo permitirá avaliar a influência da prata e do suporte catalítico (TiO_2 e SiO_2) na atividade antimicrobiana. Um estudo mais detalhado da estrutura da prata (por microscopia eletrônica de transmissão, MET) é igualmente importante.

Outras propostas seriam:

- Preparar e testar a atividade dos filmes de TiO_2 modificado com prata para inativar *E.coli* e *P. aeruginosa*, bem como para outras bactérias (gram-positivas), como por exemplo *Staphylococcus aureus*;

- Testar outros metais que possuam efeito oligodinâmico (Exemplo: cobre);

- Testar a atividade nos mesmos materiais, porém na forma de filmes imobilizados sobre um suporte transparente de baixo custo;

- Desenvolver filtros antimicrobianos de TiO_2 modificado com prata para ser aplicado nas regiões do País (Norte e Nordeste), onde o tratamento de água é precário.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A.C.S., Dessulfurização oxidativa da mistura dibenzotiofenolisoctano. 2007. 104 f, ***Dissertação*** (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Pernambuco, Recife, PE, 2007.

AHN, Y. U.; KIM, E. J.; KIM, H.T.; HAHN, S. H.; Variation of structural and optical properties of sol-gel TiO2 thin films with catalyst, ***Materials Letters***, v. 57, p. 4660, 2003.

ALBARICI, V. C.; Síntese e Caracterização de pós de Li_2TiSiO_5 e Na_2TiSiO_5. 2004.80p. **Dissertação** (Mestrado em Química – Área de Concentração: Físico-Química) Universidade de Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2004.

ALMEIDA, E.; ASSALIN, M.R.; ROSA, M.A.; DURAN, N. Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. ***Química Nova***, v.27, n.5, p. 818-824, 2004.

ARAÚJO, A.B., Degradação de poluentes orgânicos utilizando filmes de TiO_2 modificados com íons prata**.** 2006. 72 f. ***Tese*** (Doutorado em Química) Instituto de Química - Universidade Estadual Paulista-UNESP, Araraquara – SP, 2006.

ATSUMI, K., SAITO, T., KOMORI, M., Process for producing an antibacterial ceramic material, ***United States Patent*** 5,151,122 , 1992.

BAIFU, X.; LIQUIANG, J.; ZHIYU, R.; BAIQI, W.; HONGGANG, F. Effects of simultaneously doped and deposited Ago n the photocatalytic activity and surface states of TiO_2. ***Journal Physical Chemistry***, B, v. 109, p. 2805-2809, 2005.

BALASUBRAMANIAN, G.; DIONYSIOU, D. D.; SUIDAN, M. T.; BAUDIN, I.; LAINE, J.M.; The progress of catalytic technologies in water purification: A review, **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 47, p. 73, 2004.

BLEICHER,L.;SASAKI, J. M.; **Introdução à Difração de Raio X em Cristais,Ceará: UFC, 2000**. Disponível em: <http:www.fisica.ufc.br/raiosx/download/apostila.pdf> Acesso em 12 de Janeiro de 2009.

BLESA, M.A. (EDITOR). Semicondutores Eliminácion de Contaminantes por Fotocatálisis Heterogênea. La Plata: ***Argentina por Gráfica***. 2001, 266p. (ISBN – 987 – 43-3809-1).

BORZANI, W.; ***Revista de Graduação da Engenharia Química****, Ano VI* No. 11 Jan-Jun 2003.

BOZANO, D. F**.** Preparação e caracterização de catalisadores de V_2O_5 sobre suportes mistos de TiO_2-SiO_2 obtidos pelo método sol-gel: oxidação de metano e diclorometano. 2003. 136 f. ***Tese*** (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu-SP, 2003.

BRINKLER, C. J.; SCHERER, G.W.; The physics and chemistry of sol-gel processing, 1st. ed. San Diego: ***Harcourt Brace Javanovich***, 1990, 908p.

BROOK, L.A.;, EVANS, P.; Foster, H.A.; Pemble, M.E.,; Steele, A., Sheel, D.W.; Yates, H.M,; Highly bioactive silver and silver/titania composite films grown by chemical vapour deposition. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry** 187 (2007) 53–63.

BROOKS, G. F.; BUTEL, J. S.; MORSE, S. A.; Microbiologia Médica, Vigésima Primeira Edição. ***Editora Guanabara Koogan*** *S.A*., 2000.

CARDONA, S.P.P., **These n^{o}.** 2470 (2001). École Polytechnique Féderale de Lausanne (Suisse).

CARINI, J. P.; Avaliação das Propriedades Físico-químicas da Matéria-prima Talidomira com Ênfase no Polimorfismo e sua Influencia Frente à Dissolução e Compactação – **Dissertação** (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Faculdade de Farmacia – UFRGS , Porto Alegre, 2007.

CHAO, H.E., YUN, Y.U., XINGFANG, H.U., LARBOT, A.; Effect of silver doping on the phase transformation and grain growth of sol-gel titania powder., ***Journal of the European Ceramic Society*** 23 (2003) 1457–1464.

CHENG, Q., LI, C., PAVLINEK, V., SAHA, P., WANG, H., Surface-modified antibacterial TiO2/Ag+ nanoparticles: Preparation and properties. **Applied Surface Science** 252 (2006) 4154–4160.

CHO, M.; CHUNG, H.; CHOI, W.; YOON, J.; Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO2 photocatalytic disinfection. **Water Research** 38 (2003) 1069–1077.

CHOI, Y.; YAMAMOTO, S.; UMEBAYASHI, T.; YOSHIKAWA, A.; Fabrication and characterization of anatase TiO_2 thin film on glass substrate grown by pulsed laser deposition**,** ***Solid State Ionics***, v. 172, n. 1-4, p. 105, 2004.

COHN, A., NUNES, E., JACOB, P.R., KARSCH, U.S.; A Saúde como Direito e com Serviço. 2ed., São Paulo., ***Cortez***, 1999.

COSTA, A. C. F. M., VILAR, M. A., LIRA, H. L., KIMINAMI, R. H. G. A., GAMA, L.; Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO_2., **Cerâmica 52** (2006) 255-259p.

CULLITY, B. D.; STOCK, S.R.; Elements of X-Ray Diffraction, **3 ed. New Jersey**, 2001.

DATTA, S.; GRANT, D. J. W.; Crystal Structures of Drugs: Advances in Determination, Prediction and Engineering. **Nature Reviews**, v. 3, p. 42-57, 2004.

DAVIES, A., HOBSON, R. J., HUDSON, M. J., MACKLIN, W. J., e NEAT, R. J.; Sol-gel-derived vanadium and titanium oxides as cathode materials in high-temperature lithium polymer-electrolyte cells., **Journal of Material Chemistry.,** 1996, **6(** l), 49-56.

DERSIO, J.C.: Introdução ao Controle de Poluição Ambiental., São Paulo.: ***CETESB***, 201p, 1992.

DIONYSIO, D.D.; KHODADOUST, A.P.; KERN, A.M.; SUIDAN, M.T.; BAUDIN, I.; LAÎNE, J.M. Continuous-mode photocatalytic degradation of chlorinated phenols and pesticides in water using a bench-scale TiO2 rotating disk reactor. ***Applied Catalysis***, v.24, n,3/4, p. 139-155, 2000.

DUNLOP, P. S. M.; BYRNE, J. A.; MANGA, N.; EGGINS, B. R.; Detection and Bio-Distribution of Inhaled Carbon Nanotubes in Lungs by Raman Spectroscopy, ***J. Photochem. Photobiol.***, *A* 2002, *148*, 355.

ETHZURCH. Electron Microscopy. **Disponível em**: <HTTP://www.microscopy.eth.ch/bragg. htm> . Acesso em 14 de Janeiro de 2009.

FERREIRA, I.V.L.; DANIEL, L. A. Fotocatálise heterogênea com TiO2 aplicada ao tratamento de esgoto sanitário secundário. ***Engenharia Sanitária e Ambiental***, v. 9, n. 4, p. 335-342, 2004.

FRANCO, L.; *Análise Fractográfica de Compósitos Poliméricos Estruturais.* 2003, 168p. **Tese** (Mestrado em Física e Química de Materiais Aeronáuticos) – Instituto Tecnológico de Aeronáutica, ITA-SP, São José dos Campos, 2003.

FREIRE, I.V.L.; PELEGRINI, R.; KUBOTA, L.T.; DURÁN, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Novas tendências para o tratamento de resíduos industriais contendo espécies organocloradas. ***Química Nova***, v.23, n.4, p. 504-511, 2000.

FUJISHIMA, A.; HONDA, K.; TiO_2 Fotocatalysis, ***Nature*** (**London**) 1972, *238*, 37.

GRANT, D. J. W.; BYRN, S. R.; A Timely Re-examination of Drug Polymorphism in Pharmaceutical Development and Regulation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 237-239, 2004.

GREGG, S. J. e SING, K. S. W., Adsorption Surface and Porosity, **2nd Edtion, Academic Press**, London, 1982.

HE, C.; YU, Y.; HU, X.; LARBOT, A.; Adsorption of Ag(I) on H2TiO3 from aqueous solutions**, Applied Surface Science**, v. 200, p. 239, 2002.

HERMANN, Jean-Marie.; Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and aplications to the renoval **...,** ***Catalysis Today***, v.53, p.115-129, 1999.

HIRATSUKA, R. S.; SANTILLI, C. V.; PULCINELLI, S. H.; Sol-gel process-Physicochemical aspects ***Química Nova*** , São Paulo, v.18, n.2, p.171-180, Mar.-Abr. 1995.

HUANG, C. P.; DONG, C.; TANG, Z.; **Advanced Chemical Oxidation**: **Its Present role** and Potential future in hazardous waste treatment**,** ***Waste Manag***. 1993, *13*, 361.

HUANG, Z; MANESS, P. C.; BLAKE, D. M.; WOLFRUM, E. J.; SMOLINSKI, S. L.; JACOB, W. A. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis, ***Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry***, **130** (2000) 163-170.

IRELAND, J. C.; KLOSTERMANN, P.; RICE, E. W.; CLARK, R. M. Inactivation of Escherichia coli by titanium dioxide photocatalytic oxidation, ***Applied and Enviromental Microbiology***, 59 (1993) 1668-1670.

IYENGAR, S. S.; PHADNIS, N. V.; SURYARAYANAN, R.; Quantitative Analysis of Complex Pharmaceutical Mixtures By the Rietveld Method. **Powder Diffraction**., v. 16, n. 1, p. 20-24, 2001.

JESCHKOWISKI, V.; NIEDERWALD, H.; Coating technologies. In: BACH, H,; KRAUSE, D. (Ed.). Thin films on glass. **Berlim:** ***Springer***, 1997. Cap. 3. P. 192.

JING, L.; SUN, X.; CAI, W.; XU, Z.; DU, Y.; FU, H. The preparation and characterization of nanoparticle TiO2/Ti films and their photocatalytic activity. **Journal of Physics and Chenistry of Solids**, v. 64, p. 615-623, 2003.

KAWASHITA, M., TSUNEYAMA, S., MIYAJI, F., KUZUKA, H. e YAMAMOTO, K., Polycatenar mesogens with a perfluorinated moiety showing liquid crystalline polymorphism and, microscopically, a continuous smectic A to structured, fluid, optically isotropic phase transition, ***Biomaterials***, 21 393, 2000.

KONDO, M. M.; ORLANDA, J. F. F.; FERREIRA, M. G. A. B.; GRASSI, M. T.; *Quim.* LABORATÓRIO DE FILMES FINOS – IF – USP., Microscopia Eletrônico de Varredura com EDS e Sistema de Nanolitografia. Disponível em: **http://fap01.if.usp.br/~iff/mev.html.** . Acesso em 26/01/2009.

LEGRINI, O.; OLIVEROS, E.; BRAUN, A. M.; HETEROGENEOUS PHOTOCATALYSIS AND ITS ENVIRONMENTAL APPLICATIONS**,** ***Chem. Rev***. 1993, *93*, 671.

LEMOS, A.B.; Generalidades da Analise Térmicas – Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens – ISSN 0104-3781 – Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL – Informativo - vol.15, n3 – 2003 – Disponívelem : **< http://cetae.ital.org.br/cetea/informativo/v15n3/**... Acessado em 26/01/2009.

LIU, H. R.; LIU, W.; XU, L.; XU, Y.; Structure and Antibacterial Properties of Ag-Doped TiO2 Porous materials, **Engineering Materials**, 330-332 (2007) 995-998.

LI-YUAN, C., SHUN-WEN, W., BING, P., ZHU-YING, L.; Effect of thermal treating temperature on characteristics of silver-doped titânia., **Transactions of Nonferrous Metals Society of China.**, 18(2008)980-985.

LU, Z. X.; Zhou L.; Zhang Z. L.; Shi W. L.; Xie Z. X.; Xie H.Y.; Pang D. W.; e Shen P. . **Cell Damage Induced by Photocatalysis of TiO2 Thin Films** ***Langmuir*****,** v.*19,* p.8765-8768, 2003.

LVDT – AK Industries. Disponível em: <http://**ak-industries.com/ivdt.htm**. Acessado em 25/01/2009.

MACHADO, G.; Difração de Raios X: Princípios Físicos e Aplicações. **Apostila de Acompanhamento de Curso**, Porto Alegre, 2005.

MALISKA, A. M., MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA**,** Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Departamento de Engenharia Mecânica – EMC, Laboratório de Materiais – LABMAT, Laboratório de Caracterização Microestrutural e Análise de Imagens – LCMAI. Disponível em: http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-mev/meve_apostila.pdf. Acesso em: 28/01/2009.

MANESS, P. C.; SMOLINSKI, S.; BLAKE, D. M.; HUANG, Z.; WOLFRUM, E. J., Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO2 Reaction: toward an understanding of its killing mechanism, ***Appl. Environ. Microbiol***. 65 (1999) 4094-4098.

MATSUNAGA, T.; TOMODA, R.; NAKAJIMA, Y.; NAKAMURA, N.; KOMINE,T., This study presents the bactericidal activity of titanium dioxide photocatalysis, ***Appl. Environ. Microbiol.***, *54*, 1330. 1988.

MATSUNAGA, T.; TOMODA, R.; NAKAJIMA,T.; WAKE, H.; Inactivation of Escherichia coli and *Pseudomonas sp***, FEMS Microbiol**. Lett. 29 (1985) 211.

MILLS, A.; HILL, G.; BHOPAL, S.; PARKIN, I. P.; NEILL, S. A. O.; Influence of Pretreatment of Titanium Substrate on Long-Term Stability of TiO_2 Film. *Journal of Photochemistry and Photobiology A*: **Chemistry**, v. 160, p. 185, 2003.

MILLS, A. and J. WANG, 1998. Photomineralization of 4-chlorophenol sensitized by TiO_2 thin films. J. **Photochem. Photobiol**., A, 118: 53-63.

MIOTTO, D.M.M., MACHADO, N.R.C.F., LIMA, S.M., PEREIRA, N.C., PRADO FILHO, B.D., ALVES, B.A.; ***XVII Ibero-Americano de Catálise***, Porto - Portugal, 2000.

MORAIS, J.L.; SIRTORI, C.; PERALTA-ZAMORA, P.G. Tratamento de chorume de aterro sanitário por fotocatálise heterogênea integrada a processo biológico convencional. ***Química Nova***, v. 29, n. 1, p. 20-23, 2006.

MURRAY, P. R,; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A.; Microbiologia Médica, Quarta Edição, ***Editora Guanabara Koogan S.A***., 2004.

NAMAN, S.A.; KHAMMAS, ZA.A.; HUSSEIN, F.M.; photo-oxidative degradation of insecticide dichlorovos by a combined semiconductors and organic sensitizers in aqueous media. *Journal of Photochemistry and Photobiology A:* ***Chemistry*****, Lausanne, v. 153**, p. 229-236, 2002.

NOBRE, G.H., YOKOYA, N.; Bactericida Inorgânico – Para uso em materiais plásticos; ***Real Trade***, comunicação pessoal, 2005.

OKU, T., SHIGERU, K., YAZAWA, T., IJIMA, T., KUMAKURA, N., , Anti-bacterial and Anti-fungal Glaze Composition for Ceramic Products, ***United States Patent*** 5,807,641, 1998.

PAUL, A.; Webb and Clyde Orr, Analytical Methods in Fine Particle Technology, Micromeritics, **2nd Edition**, 1997.

PDF (*Powder Diffraction File* – PDF-2003 distribuido por *Joint Committee on Powder Difraction Standarts* – ***JCPDS***).

PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S.; Microbiologia, v. 1, ***MacGraw-Hill***, pp. 502, 1981.

PELKZAR JR, M. J., CHAN, E. C. S. , KRIEG, N. R., EDWARDS, D. D., PELCZAR, M. RF., *Microbiologia Conceitos e Aplicações*, Vol1, **2a Edição Makron Books do Brasil Editora LTDA**, São Paulo, 1998.

PEREIRA, T. J., Síntese e Caracterização de Catados de Perovskitas $La_{0,6}Sr_{0,4}Fe_yCo_{1-y}O_z$, para células a combustível de eletrólito sólido (SOFC) operando em temperaturas intermediárias, **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais) POSMat, IBB-UNESP, Botucatu-SP, 2007.

PIERRE, A. C.; Applications of sol-gel processing. In: Introduction to sol-gel processing. Boston: ***Kluwer Academic***, 1998. Cap.9, p. 347-386.

PRADO, A.G.S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. ***Química Nova***, v.26, n.5, p.738-744, 2003.

PRAT, A. S., SMITH, P. R., Antimicrobial Compositions Consisting of Metallic Silver Combined With Titanium Oxide or Tantalum Oxide, ***United States Patent***, 4,849,223, 1989.

PRUDEN, A. L.; OLLIS, D. F.; MECHANISM REACTIONS OF PHOTODEGRADATION OF ORGANIC COMPOUNDS CATALYZED BY TiO_2. ***J. Catal***. 1983, *83*, 404.

PUREUR, P., **Estado Solido**, Porto Alegre-RS, UFRGS, 2001.

RIETVELD, H. M., A profile refinement method for nuclear and magnetic structures, ***Journal of Applied Crystallography***, v. 10, p. 65, 1969.

RIETVELD, H. M.; Profile refinemente method for nuclear for nuclear and magnetic structures. ***Journal of Applied Crystallography***, v. 10, p. 65-71, 1969.

RINCÓN, A. G.; PULGARIN C. Photocatalytical inactivation of E. coli: effect of (continuous-fixed) light intensity and of (suspended-fixed) TiO_2 concentration. ***Applied Catalysis B: Environmental***. v. 44 p. 263-284, 2003.

RINCÓN, A. G.; PULGARIN, C. Field solar *E. Coli* inactivation in the absence and presence of TiO_2: is UV solar dose an appropriate parameter for standardization of water solar disinfection? ***Solar Energy***, 77 (2004) 635-648.

RODELLA, C.B.; Preparação e caracterização de catalisadores de V_2O_5 suportados em TiO_2, 2001. 120 f. **Tese** (Doutorado em Ciência e Engenharia dos Materiais), Universidade de São Paulo-USP, São Carlos-SP.

RODRIGUES, G.V.; MARCHETTO, O.; WENDHAUSEN, P.A.P.; **Análise Térmicas** – Departamento de Engenharia de Mecânica, Curso de Graduação em Engenharia de Materiais, Caracterização de Materiais III, Belo Horizonte, 2007.

RONALDO, R.C.,; Técnicas de Analise Térmica – Termogravimetria, Termogravimetria Diferencial, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial.; Disponivel em: <http:**//www.fisica.ufs.br/npgfi/curso/topicosfismat-aula/aula/aula%205_ronaldo-analise-termica.pdf**. Acesso em 27/01/2009.

SÁ, D. A., Microscopia Eletrônica na Engenharia**,** 1. Introdução, Disponível em: www.eletrica.ufpr.br/piazza/materiais/DiegoSa.pdf.. Acesso em 27/01/2009.

SANKAPAL, B. R.; LUX-STEINER, M. CH.; ENNAOI, A.; Comparative studies on p-type CuI grown on glass and copper substrate by SILAR method**.** ***Applied Surface Science***, v. 239, n. 2, p. 165, 2005.

SANTILLI, C. V.; PULCINELLI, S. H., Influence of the use of microwave oven or conventional **...,** ***Cerâmica***, 39 (259) janeiro/fevereiro (1993).

SANTOS, C. P.; Aplicações do Metodo de Rietveld, Araraquara. Disponível em: http://labcacc.iq.unesp.br/publicacoes/aplic/Alicacoes do Metodo de Rietveld.pdf Acesso em 03/02/2009.

SANTOS, J.M., Estudos das condições de Coagulação/Flogulação para Remoção do Catalisador TiO_2 do Meio Reacional após Fotodegradação da Carga Orgânica. 2006. 40 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Materiais). Instituto de Biociência de Butucatu – IBB, Universidade Estadual Paulista – UNESP, 2006.

SEKLER, M.S.; LEVI, Y.; POLYAK, B.; NOVOA, A.; DUNLOP, P.S.M.; BYRNE, J. A.; MARKS, R.S. Monitoring genotoxicity during the photocatalytic degradation of p-nitrophenol. ***Journal of Applied Toxicology*****,** v. 24, n. 5, p. 395-400, 2004.

SEM, S.; MAHANTY, S.; ROY, S.; HEINTZ, O.; BOURGEOIS, S.; CHAUMONT, D.; Effect of heat treatment on electrochromic properties of TiO2 thin. ***Thin Solid Films***, v. 474, p. 245, 2005.

SEO, J. W.; CHUNG, H.; KIM, M. Y.; LEE, J.; CHOI, I. H.; CHEON, J. Development of water-soluble single crystalline TiO2 nanoparticles for photocatalytic cancer-cell treatment, ***Small***, 3 (2007) 850-853.

SHCHUKIN, D.; USTINOVICH, E.; SVIRIDOV, D.; PICHAT, P. Effect of silver deposits on the photocatalytic of titanium dioxide for the removal of 2-chlorophenol in water. ***Photochemistry Photobiology Science***, v. 3, 1, p. 142-144, 2004.

SOKMEN, M.; CANDAN, F.; , SUMER, Z.; Disinfection of *E. coli* by the Ag-TiO2/UV system: lipidperoxidation. ***Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*** 143 (2001) 241–244.

SOUZA, A. A., BITTENCOURT, M. A.; A CONTRIBUIÇÃO DA DIFRAÇÃO DOS RAIOS-X PARA CONFIGURAÇÃO MOLECULAR; **Ensino e Pesquisa**, Volume 5, ISSN 1676-1030, 2008.

SPERLING, M.V.: **Introdução à Qualidade das águas e ao Tratamento de Esgotos**, Belo Horizonte, 452p, 2005.

SPICER, W. J.; Clinical Bacterology, Mycology and Parasitology, An Illustrated Colour Text, 1st Edition, Harcourt Publishers Limited 2000 – ***Traduzida por Editora Guanabara Koogan S.A***., 2002.

SRINIVASAN, C.; SOMASUNDARAM, N. Bactericidal and detoxification effects of irradiated semiconductor catalyst, TiO_2 (Review), ***Current Science***, 85 (2003) 1431-1438.

SUN, D. D.; TAY, J. H.; TAN, K. M. Photocatalytic degradation of *E. coliform* in water, ***Water Research***, 37 (2003) 3452-3462.

SUNADA , K., WATANABE, T. AND HASHIMOTO, K., Bactericidal Activity of Copper-Deposited TiO2 Thin Film under Weak UV Light Illumination**.** ***Environ. Sci. Technol***. 2003, 37, 4785-4789.

SUNG-SUH, H.M.; CHOI, J.R.; HAH, H.J.; KOO, S.M.; BAE, Y.C.; Effect of heat treatment on electrochromic properties of TiO2 thin, ***Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry***, v. 163, p. 37, 2004.

SZABÓ-BÁRDOS, E., CZILI, H., HORVÁTH, A., Photocatalytic oxidation of oxalic acid enhanced by silver deposition on a TiO_2 surface. ***Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*** 154 (2003) 195–201.

SZABÓ-BÁRDOS, E., PETERVARI, E., EL-ZEIN, V., HORVATH, A., Photocatalytic decomposition of aspartic acid over bare and silver deposited TiO_2. ***Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*** 184 (2006) 221–227.

TIBURTIUS, E.R.T.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E.S. Contaminação de água por BTXs e processos utilizados na remediação de sítios contaminados. ***Química Nova***, v. 27, n. 3, p. 441-446, 2004.

TRAVERSA, E.; VONA, M.L.; NUNZIANTE, P.; LICOCCIA, S.; Sol-Gel Preparation and Characterization of Ag-TiO2 Nanocomposite Thin Films, ***Journal of photochemistrys and photobiology A: Chemistry***, v.163,p.37, 2004.

VALENTE, J.P.S.; ARAÚJO, A.B.; BOZANO, D.F.; PADILHA, P.M.; FLORENTINO, A. O. Síntese e caracterização textural do catalisador CeO_2/TiO_2 obtido via sol-gel: fotocatálise do composto modelo hidrogenoftalato de potássio. ***Eclética Química***, v. 30, n. 4, p. 7-12, 2005.

VALENTE,J.P.S.; TRAFICANTE, D.P.; Qualidade da Água – Ribeirão Lavapés.In: SILVA, Ramon Felipe Bicudo; *Lavapés, Água e Vida*: nos caminhos da Educação Ambiental. ***Gráfica Editora Lar Análise Franco*** – Botucatu-SP, cap.5, p.97-117, 2008.

VOHRA A.; GOSWAMI, D. Y.; DESHPANDE, D. A.; BLOCK, S. S. Enhanced photocatalytic inactivation of bacterial spores on surfaces in air, ***Journal Ind. Microbiol. Biotechnol.,*** v.32, p.364–370, 2005.

WATTS, R. J.; KONG, S.; ORR, M. P.; MILLER, G. L.; HENRY, B. E. Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent, ***Water Research***, 29 (1995) 95-100.

XIN, B.; JING, L.; REN, Z.; WANG, B.; FU, H.; Effects of noble metal modification on surface oxygen composition, charge separation and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles, ***Journal of Physical Chemistry B***, v. 109, p. 2805, 2005.

XU, Y.; LU, P.; HUANG, G.; ZENG, C. Synthesis of $SrAl_4O_7$ via citric acid precursor. ***Materials Chemistry and Physics*****,** v 95, p 62-66, 2006.

YAMAGUCHI, N.U.; SILVA, F. V.; BERGAMASCO R.; DOS SANTOS, O. A. A.; NAKAMURA, C. V. Eficiência Microbiológica de filtro de carvão ativado com impregnação de íons prata. **Anais do XVI EAIC** - 26 a 29 de Setembro de 2007.

YASUDA, M. T., Processamento e Caracterização de Hexaferritas de Bário Dopadas com Cobalto e Titânio, **Tese** (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) UFSCar, São Carlos-SP, 2008.

YOSHINAKA, M.; HIROTA, K.; YAMAGUCHI, O.; Formation and Sintering of TiO_2 (Anatase) Solid Solution in the System TiO_2–SiO_2. ***Journal of American Ceramic Society,*** 80 (10) 2749–53 (1997).

YOUNG, R.A.; LARSON, A.C.; PAIVA–SANTOS, C.O.; *In*: User's Guide to Program DBWS-9807 for Rietveld Analysis of X-ray and Neutron Powder Diffraction Patterns School of Physics/Georgia Inst. of Technology, **Atlanta, G**A, 1998.

ZHANG, L., YU, J.C., YIP, H.Y., LI, Q., KWONG, K.W., XU, A.W and WONG, P.K.; Ambient Light Reduction Strategy to Synthesize Silver Nanoparticles and Silver-Coated TiO2 with Enhanced Photocatalytic and Bactericidal Activities**.** ***Langmuir*** 2003**,** *19,* 10372-10380.

ZHU, X.L.; FENG, X.G.; YUAN, C.W.; CAO, X.M.; LI, J.H.; Photocatalytic degradation of pesticide pyridaben in suspension of TiO2: identification of intermediates and degradation pathways. ***Journal of Molecular Catalyses A: Chemical***, v.214, n.2, p. 293, 2004.

APÊNDICE A

ANÁLISES TÉRMICAS

Análise Térmica é um termo que abrange um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física ou química de uma substância, ou de seus produtos de reação, é monitorada em função do tempo ou temperatura, enquanto a temperatura da amostra, sob uma atmosfera específica, é submetida a uma programação controlada. Essa definição é usualmente aceita para análise térmica e foi originalmente proposta pelo Comitê de Nomenclatura da Confederação Internacional de Análises Térmicas (ICTA) sendo, subseqüentemente, adotada tanto pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) quanto pela Sociedade Americana de Testes de Materiais (ASTM) (RONALDO, 2009 e RODRIGUES, 2007).

Desta forma a análise térmica tem seu campo de atuação voltado ao estudo de: processos como catálises e corrosões, propriedades térmicas e mecânicas como expansão térmica e amolecimento, diagramas de fase e transformações. Algumas das principais técnicas termo-analíticas: a) Termogravimetria **(TG) =** Mudanças de massa devido à interação com a atmosfera, vaporização e decomposição; b) Análise Térmica Diferencial **(DTA)** Calorimetria Exploratória Diferencial **(DSC) =** Processos físicos e químicos envolvendo variação de energia; c) Análise Termo-mecânica **(TMA)** Análise Dilatométrica **(DIL)** Análise Dínamo-Mecânica **(DMA) =** Mudanças nas propriedades dimensões, deformações, viscoelásticas e transições e **TPP - (**Laser / Light Flash Analysis**) (LFA) =** Propriedades termofísicas (TPP). Cálculo da difusividade térmica, condutividade térmica e Cp (LEMOS,2009).

Neste trabalho serão discutido somente as técnicas de Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA).

TERMOGRAVIMETRIA (TG)

Termogravimetria é a técnica na qual a mudança da massa de uma substância é medida em função da temperatura enquanto esta é submetida a uma programação controlada.

O termo Análise Termogravimétrica (TGA) é comumente empregado, particularmente em polímeros, no lugar de TG por ser seu precedente histórico e para minimizar a confusão verbal com T_g, a abreviação da temperatura de transição vítrea. Problemas adicionais podem ocorrer em pesquisas computadorizadas, já que ambas abreviaturas são aceitas pela IUPAC.

Tipicamente curvas TGA e sua derivada (DTG) são apresentadas como na Figura A1.

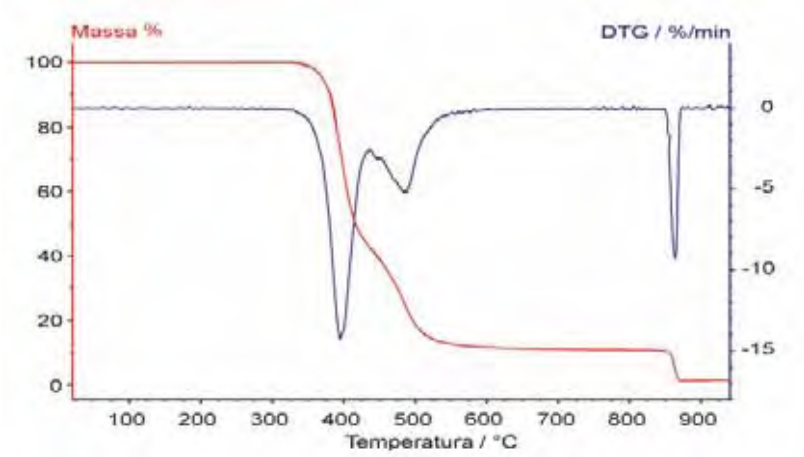

Figura A1 - Gráfico de TGA (vermelho) e sua derivada, dTG (azul) (RODRIGUES, 2007)

A ordenada é apresentada usualmente em percentual de massa wt%, ao invés da massa total, proporcionando assim uma fácil comparação entre várias curvas em uma base normalizada. É preciso deixar claro que existem mudanças significativas, particularmente na temperatura da amostra, que podem refletir na curva TGA quando a massa inicial é significativamente variada entre experimentos (RODRIGUES, 2007).

Ocasionalmente o peso e a temperatura serão exibidos em função do tempo. Isto permite a verificação aproximada da taxa de aquecimento, mas é menos conveniente para propósitos de comparação com outras curvas.

As curvas DTG aperfeiçoam a resolução e são mais facilmente comparadas a outras medidas. Entretanto, a diferenciação é um grande amplificador; sendo, muitas vezes, aplainada pelo software para gerar um gráfico da derivada. Tais curvas são também de interesse no estudo da cinética das reações, uma vez que ela apresenta a taxa efetiva da reação. A estequiometria, todavia, é mais legível na representação original (LVDT, 2009).

O equipamento utilizado na análise termogravimétrica é basicamente constituído por uma microbalança, um forno, termopares e um sistema de fluxo de gás. A Figura A2 apresenta um desenho detalhado deste instrumento.

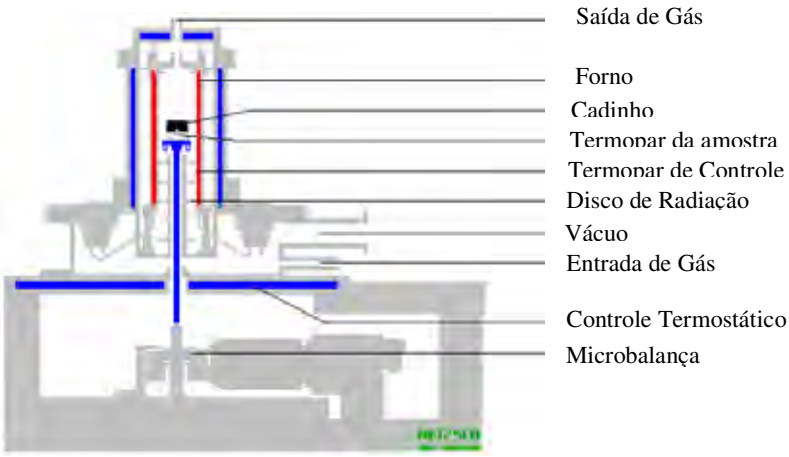

Figura A2 - Desenho detalhado de um equipamento de termogravimetria (RODRIGUES, 2007).

Análise Térmica Diferencial (DTA)

É a técnica na qual a diferença de temperatura entre uma substância e um material de referência é medida em função da temperatura enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura.

Esta técnica pode ser descrita tomando como base a análise de um programa de aquecimento. A Figura A3 mostra o diagrama do compartimento de DTA no qual são colocados dois cadinhos (da amostra a ser analisada (A) e do material referência (R)), e dois sensores de temperatura (um sensor em cada cadinho), em um sistema aquecido por apenas uma fonte de calor.

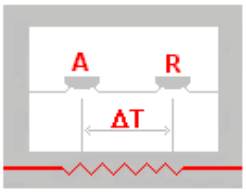

Figura A3 - Diagrama esquemático do compartimento da amostra na análise DTA (RODRIGUES, 2007).

A amostra e o material de referência são submetidos à mesma programação de aquecimento monitorada pelos sensores de temperatura, geralmente termopares. A referência pode ser alumina em pó, ou simplesmente a cápsula vazia.

Ao longo do programa de aquecimento a temperatura da amostra e da referência se mantêm iguais até que ocorra alguma alteração física ou química na amostra. Se a reação for exotérmica, a amostra liberará calor, ficando por um curto período de tempo, com uma temperatura maior que a referência. Do mesmo modo, se a reação for endotérmica a temperatura da amostra será temporariamente menor que a referência.

Mudanças na amostra tais como fusão, solidificação e cristalização são então registradas sob a forma de picos (como mostrado na Figura A4), sendo a variação na capacidade calorífica da amostra registrada como um deslocamento da linha base.

A curva DTA é então registrada tendo a temperatura ou o tempo na abscissa, e μV na ordenada. A diferença de temperatura é dada em μV devido ao uso de termopares em sua medição.

O uso principal da DTA é detectar a temperatura inicial dos processos térmicos e qualitativamente caracterizá-los como endotérmico e exotérmico, reversível ou irreversível, transição de primeira ordem ou de segunda ordem etc. Este tipo de informação, bem como sua dependência em relação a uma atmosfera especifica, fazem deste método particularmente valioso na determinação de diagramas de fase (LVDT, 2009).

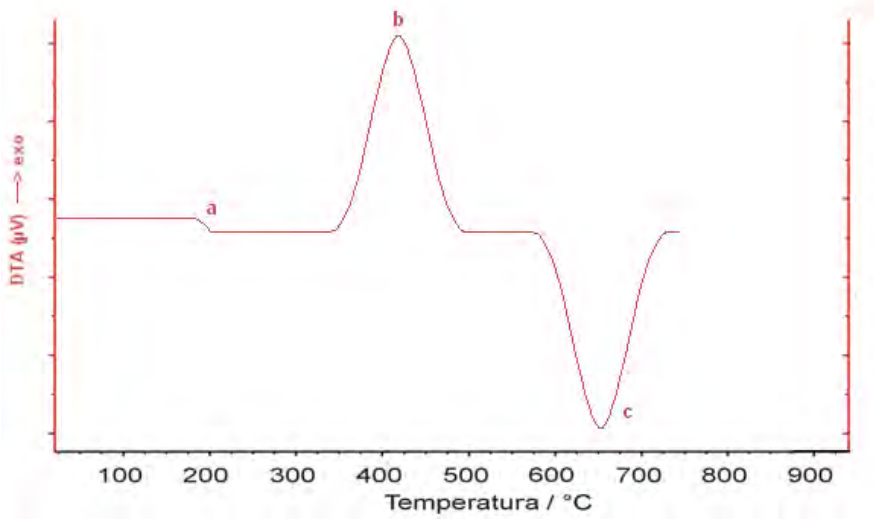

Figura A4 - Curva típica de uma análise térmica diferencial: a) Variação da capacidade calorífica b) Reação exotérmica c) Reação endotérmica (RODRIGUES, 2007).

Idealmente a área sob o pico da DTA deveria ser proporcional ao calor envolvido no processo formador do pico. Existem vários fatores que, entretanto, influenciam no gráfico tradicional da DTA, inviabilizando a conversão da área em calor (RONALDO, 2009).

APÊNDICE B

DIFRAÇÃO DE RAIO X

A difração de raios X corresponde a uma das principais técnicas de caracterização de materiais cristalinos, encontrando aplicações em diversos campos do conhecimento, como na engenharia civil, metalúrgica, química e de minas, ciência de materiais e geociência, dentre outros. Esta técnica, descoberta por Von Laüe (1912) envolve a difração de raios X pelos planos cristalinos de um material em que o padrão permite obter informações sobre sua estrutura como: fases cristalinas, tamanho de cristalitos, orientação preferencial, tensões residuais etc (PUREUR, 2001 e SOUZA, 2008).

Os raios X são gerados quando uma partícula de alta energia cinética é rapidamente desacelerada. O método mais utilizado para produzir raios X é fazendo com que elétrons de alta energia (gerados por emissão termoiônica de um cátodo metálico e acelerados por uma diferença de potencial) colidam com um alvo metálico (ânodo). Dá-se origem a dois espectros de emissão de raios X: contínuo e característico. Para este último, especialmente utilizado na técnica em questão, os elétrons acelerados atingem o alvo, elétrons da camada K dos átomos do material bombardeado são liberados na forma de fotoelétrons, fazendo com que haja vacâncias nessa camada. Para ocupar o espaço deixado por esses elétrons, outros elétrons de uma camada mais externa passam à camada K, liberando energia na forma de um fóton de raios X. A energia desse fóton corresponde à diferença de energia entre as duas camadas. Quando os raios X provenientes do alvo são analisados, observa-se que eles são combinações de diferentes comprimentos de onda onde cada linha refere-se à transição entre os níveis de energia formando o espectro característico do metal alvo. A radiação K_α, é produzida quando um elétron transita da camada L para a camada K, enquanto que a radiação K_β é gerada quando o elétron transita da camada M para a K. Outra maneira de se gerar raios X é através

de um acelerador síncrotron, onde elétrons são acelerados a grandes velocidades, próximas à da luz, por campos magnéticos, e ao serem desacelerados, produzem raios X de vários comprimentos de onda (CULLITY, 2001; PEREIRA, 2007 e BLEICHER, 2009).

Os tubos convencionais de raios X, utilizados para este fim, devem conter essencialmente dois eletrodos, um ânodo (alvo metálico) e um cátodo (geralmente é um filamento de tungstênio emitindo elétrons) e uma alta voltagem de aceleração que pode variar de 30 a 50 kV. O alvo metálico deve ser continuamente resfriado para não fundir, pois a maior parte da energia cinética dos elétrons que o atingem é transformada em calor (BLEICHER, 2009).

Na Figura 1A, de acordo com Bragg, quando uma radiação monocromática atinge o cristal, especificamente em um plano de átomos com orientação adequada, a mesma será sucessivamente refletida pela estrutura periódica deste plano. A incisão de raios X sobre um plano de átomos e posterior difração deste feixe de radiação gera ângulos característicos, denominados de θ (theta). Desta forma, o caminho percorrido pela radiação é da ordem das distâncias entre planos (d), sendo que a diferença do caminho percorrido pode coincidir com o valor do comprimento de onda da radiação utilizada (λ) ou de um múltiplo inteiro do mesmo, gerando-se uma interferência construtiva e posterior detecção desta radiação. A partir destas deduções, Bragg formulou a seguinte equação:

$$n\lambda = 2.d.\ \text{sen}\theta \qquad \text{Equação (1A).}$$

onde “d” é a distância entre planos do cristal, “θ” é o ângulo de difração dos raios X, “λ” é o comprimento de onda dos raios X e “n” um número inteiro.

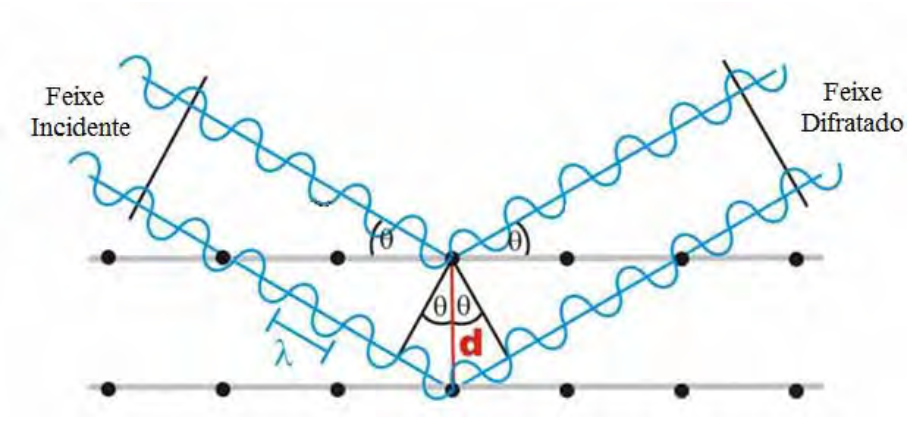

Figura B1- Difração de raios X por um cristal (Adaptado: YASUDA, 2008 e ETH ZURCH, 2009).

Dessa forma, a análise por difração de raios X gera difratogramas com registro de intensidade da radiação em todos os ângulos de análise, sendo que nos ângulos em que a condição de Bragg é satisfeita, picos são registrados.

A partir dos princípios postulados por Bragg, conforme sua equação pode-se definir a estrutura cristalina de uma substância do seguinte modo (DATTA, 2004 e GRANT, 2004): 1) Indexação de um padrão de difração e determinação do sistema cristalino e parâmetros de rede; 2) Identificação dos grupos espaciais; 3) Conversão de intensidade determinadas experimentalmente em uma imagem dos átomos de uma célula unitária.

Metodologia de Difração de Raios X em Pós

A metodologia de difração de raios X em pós consiste de padrões de difratogramas gerados caracteristicamente e distintamente para cada amostra, os quais são formados por um conjunto de linhas ou picos. Cada um destes picos apresenta diferentes posições, intensidades e forma e/ou largura. Para uma dada substância, as posições dos picos são essencialmente fixas e características, de modo tal que possa ser feita uma comparação do difratograma

experimental com bancos de dados de intensidades e coordenadas cristalográficas (*Powder Diffraction File – PDF).*

As posições dos picos fornecem informações acerca das dimensões da cela unitária, do(s) sistema(s) cristalino(s) presente(s) na amostra e ainda das fases cristalinas em estudo (análise qualitativa). A forma e largura dos picos permitem uma análise do tamanho do cristalito e possíveis defeitos no cristal, como por exemplo, tensão na rede. Por fim, a intensidade dos picos permite uma análise quantitativa das fases (cristalinidade) além de estudos relacionados à simetria pontual do pó.

O estudo por difratometria de raios X em pós é extremamente sensível a condições experimentais, tais como a preparação da amostra e parâmetros instrumentais, exigindo relevante critério do usuário da técnica.

Refinamento Estrutural pelo Método de Rietveld

O refinamento proposto por Rietveld (RIETVELD,1969), desenvolvido inicialmente para difratogramas gerados a partir de difração de nêutrons e posteriormente adaptado para difratogramas de raios X, fornece informações a respeito da estrutura de compostos cristalinos e mostra-se uma ferramenta poderosa para a determinação quantitativa em casos onde ocorrem misturas de fases (IYENGAR, 2001; DATTA, 2004; GRANT, 2004 e SANTOS, 2009).

O método de Rietveld basea-se na simulação teórica de um espectro de difração de raios X completo a partir de um modelo, onde se assume a estrutura cristalina e as espécies atômicas que ocupam os sítios de rede (posições atômicas, parâmetro de rede e grupos espacial) de uma determinada substância, levando-se em conta toda a estrutura cristalina deste composto. O método consiste em ajustar uma curva teórica calculada pelo método dos

mínimos quadrados aos picos do difratograma experimental, minimizando a diferença entre estes. O espectro teórico simulado é ajustado ao espectro experimental através de procedimento numéricos onde vários parâmetros estruturais são refinados, tais como: posições atômicas, número de ocupação, fatores de temperatura, fator de escala, parâmetro de rede, fatores de assimetria, orientação preferencial e parâmetros de largura, forma e intensidade de linha. Para efetuar o refinamento por Rietveld é necessária uma grande quantidade de cálculos matemáticos relativamente complexos, os quais são realizados por meio de programas computacionais específicos. Um dos programas freqüentemente utilizados para essa finalidade é o DBWS-9807 (YOUNG, 1995). Para a avaliação do ajuste, são gerados fatores numéricos que verificam a qualidade do refinamento, além da demonstração gráfica, onde é permitida uma avaliação visual dos progressos do refinamento, durante a análise (MACHADO, 2005; CARINI, 2007 e SANTOS, 2009).

Desta forma, a análise por Rietveld envolve, basicamente, a seqüência de três passos: 1) Geração de um padrão de difração de raios X calculado a partir de um modelo, utilizando seus dados estruturais; 2) Comparação de um padrão de difração de raios X obtido experimentalmente com o padrão calculado; 3) Minimização do erro existente entre os dois padrões comparados (experimental e calculado) ponto a ponto, pelo método de mínimos quadrados (IYENGAR, 2001 e CARINI, 2007).

APÊNDICE C
Microscopia Eletrônica de Varredura

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) se tornou um instrumento imprescindível no estudo de materiais (orgânicos e inorgânicos) e é usada rotineiramente para a análise morfológica (microestrutural) de materiais sólidos.

Apesar da complexidade dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de muito fácil interpretação. O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o Microscópio Ótico (MO) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, na ordem de 2 a 5 nm (20 - 50 Å). Atualmente existem instrumentos com até 1 nm (10 Å) de resolução, enquanto que no MO, é de 0,5 μm. Comparado com o MET a grande vantagem do MEV está na facilidade de preparação das amostras (PEREIRA, 2007 e MALISKA, 2009).

Basicamente um MEV é composto por uma fonte de elétrons e o anodo (acelerador de elétrons), sistemas de lentes condensadas (lentes eletromagnéticas) bobinas de varreduras, lentes objetivas (lentes eletromagnéticas para o posicionamento do foco sobre a amostra), câmara de amostras e, finalmente, detectores dos sinais oriundos da interação entre elétrons do feixe e a amostra. Todo o sistema é mantido em vácuo, evitando a interferência do ar sobre o trajeto dos elétrons e sobre a vida útil do filamento emissor de elétrons (YASUDA, 2008 e KONDO, 2009). A Figura 1C ilustra o esquema básico de um MEV.

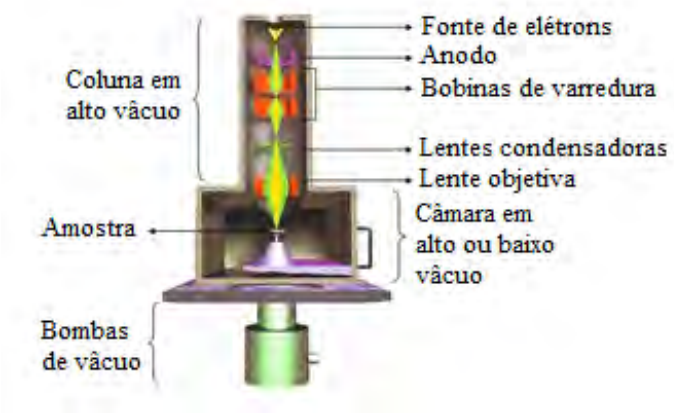

Figura C1 – Desenho esquemático da coluna do MEV, Adaptado da referência (YASUDA, 2008).

Neste tipo de microscópio, os elétrons são acelerados na coluna através de duas ou três lentes eletromagnéticas por tensões de 1 a 30 kV. Estas lentes obrigam formar um feixe de elétrons bastante colimado (50 a 200Å de diâmetro) ao atingir a superfície da amostra. Bobinas de varredura obrigam o feixe a varrer a superfície da amostra na forma de uma varredura quadrada similar a uma tela de televisão. A corrente que passa pela bobina de varredura, sincronizada com as correspondentes bobinas de deflexão de um tubo de raios catódicos, produz uma imagem similar, mas aumentada. Os elétrons emitidos atingem um coletor e a corrente resultante é amplificada e utilizada para modular o brilho do tubo de raios catódicos. Os tempos associados com a emissão e coleta dos elétrons, comparados com o tempo de varredura, são desprezíveis, havendo assim uma correspondência entre o elétron coletado de um ponto particular da amostra e o brilho do mesmo ponto na tela do tubo. O limite de resolução de um MEV é cerca de uma ordem de grandeza melhor do que o do microscópio óptico (MO) e um pouco mais que uma ordem de grandeza pior do que a do microscópio eletrônico de transmissão (MET) (SÁ, 2009 e MALISKA, 2009).

APÊNDICE D
Método de Brunauer-Emmett-Teller (BET)

Esse método consiste na determinação da porosidade (tipo de poro e distribuição do tamanho de poro) e área superficial (S_{BET}) do material. Na prática, isso é feito com a construção da isoterma de adsorção do gás N_2 no material.

O material é secado e aquecido sob vácuo antes de serem submetido às medidas de adsorção a 77 K. A obtenção da isoterma é feita pela medição do volume de N_2 adsorvido a 77 K no sólido (corrigido para o CNTP) a diferentes pressões. Na prática, é feito determinando-se o volume de N_2 adsorvido na superfície do material para valores crescentes de pressão até atingir a pressão de saturação, $P_0 \cong 1$ (Isoterma de adsorção) e/ou fazendo-se o caminho inverso, a partir de $P_0 \cong 1$. Tem-se, neste caso, a isoterma de dessorção. O perfil da isoterma de adsorção e a histerese (com o ramo de dessorção) fornecem informações a respeito da textura do sólido.

POROSIDADE (Tipo de poro e distribuição)

Em 1940, Brunauer, Deming, Deming e Teller propuseram a classificação, ilustrada na Figura 1, que associa a forma da isoterma às características e dimensões dos poros do sólido (GREGG, 1982).

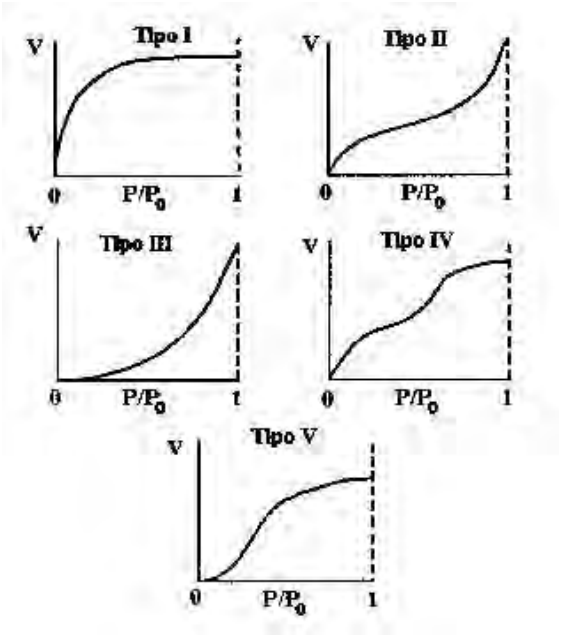

Figura D1 - Tipos de isotermas de adsorção na classificação BDDT.

O Tipo I ocorre quando a adsorção é limitada a poucas camadas moleculares. É característico de sólidos que possuem microporos, em que as dimensões dos poros são próximas às do diâmetro da molécula adsorvente (N_2, no nosso caso).

Os Tipos II e IV são os mais comuns. Ocorrem em sólidos não porosos ou com poros no intervalo de mesoporos (2,5 a 100 nm) ou macroporos (diâmetro superior a 50 nm). O ponto de inflexão da isoterma corresponde à formação da primeira camada do adsorvente sobre toda a superfície do material. O aumento brusco do volume de gás adsorvido para pequenos valores de P/P_0 na isoterma do Tipo IV indica a presença de microporos associados à mesoporos.

Os do Tipo III e V ocorrem quando o calor de adsorção das moléculas adsorventes é menor do que o calor de liquefação. Deste modo, as moléculas do gás adsorvido têm maior afinidade entre elas do que com o sólido. Análise da área superficial e porosidade são prejudicadas nestes casos.

A **histerese** é um fenômeno que resulta da diferença entre o mecanismo de condensação e evaporação do gás adsorvido. O intervalo de pressão relativa em que esse processo ocorre, e a forma com que isso ocorre, depende principalmente da geometria dos poros. Os mais freqüentes foram classificados pela IUPAC (*Intenational Union of Pure and Applied Chemistry*) em quatro tipos sendo que, a hiterese do Tipo H1 é observada em materiais com poros regulares, de formato cilíndrico e/ou poliédrico com extremidades abertas. O Tipo H2 é formado pela composição de poros cilíndricos e abertos e fechados com extrangulações, resultando numa morfologia irregular semelhante ao da "garrafa". Na histerese do Tipo H3, os poros apresentam formatos de cunhas, cones e/ou placas paralelas. O tipo H4 ocorre em sólidos cujo raio do poro (r_p) é menor do que 1,3 nm, ou seja, com as dimensões da molécula adsorvente. A morfologia dos poros não é definida neste caso.

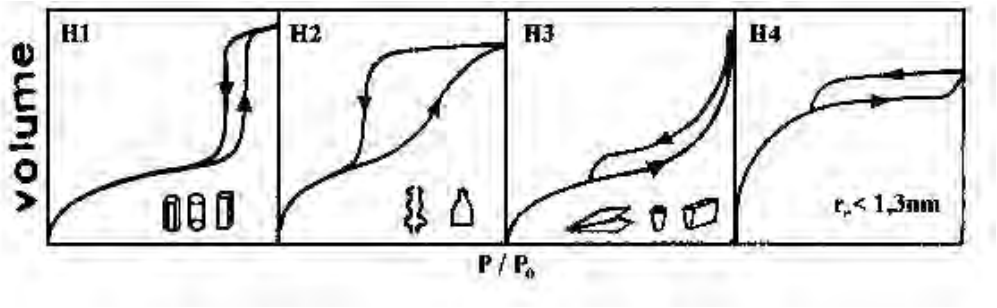

Figura D2 – Tipos de histerese segundo a classificação da IUPAC.

ÁREA SUPERFICIAL

A **área superficial** é determinada segundo a equação abaixo (equação 1). A inclinação e a intercepção da reta: $\frac{1}{V_a\left(\frac{P_{0)}}{P}-1\right)} versus \left(\frac{P}{P_0}\right)$ nos fornece o valor de V_m, que por sua vez nos fornece a área superficial (Equação 2).

$$\frac{1}{V_a\left(\frac{P_{0)}}{P}-1\right)}=\frac{1}{V_m C}+\frac{C-1}{V_m C}\left(\frac{P}{P_0}\right) \qquad \text{Equação (1)}$$

e,

$$S_{BET}=\frac{\sigma N_A V_m}{m V_0}=\frac{4{,}35.V_m}{m} \qquad \text{Equação(2)}$$

onde

P/P_0 é a pressão relativa;

P_0 é a pressão de saturação do gás N_2 a 77 K;

V_a é a quantidade ou volume do gás adsorvido à pressão P;

V_m é a quantidade ou volume do gás adsorvido necessário para que a superfície inteira esteja recoberto com apenas uma camada (monomolecular) de gás N_2 (cm^3, corrigido para as condições normais de temperatura e pressão);

C é a constante de BET;

S_{BET} é a área superficial (m^2/g);

σ é a área da superfície ocupada por uma única molécula do gás que está sendo adsorvido (no caso do N_2, $\sigma = 16{,}2A^2 = 16{,}2x10^{-20}m^2$);

N_A é a constante de Avogadro;

m é a massa do sólido em (g);

V_0 é o volume molar do gás (22,414 cm^3). Na determinação da área superficial, somente dados onde a relação $\frac{1}{V_a\left(\frac{P_{0)}}{P}-1\right)}$ *versus* $\left(\frac{P}{P_0}\right)$ é linear é útil. Normalmente se dá no intervalo de $0{,}03<P/P_0<0{,}20$. A (PAUL, 1997; GREGG , 1982; SANTILLI, 1993 e RODELLA, 2001).