



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**

Paula de Freitas Rosa Remiro

**“Modificação de meios filtrantes com nanomateriais
para controle de bioaerossóis”**

SÃO CARLOS

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**“Modificação de meios filtrantes com nanomateriais
para controle de bioaerossóis”**

Paula de Freitas Rosa Remiro

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Engenharia Química, área de concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

Orientadora: Prof^a Dr^a Monica Lopes Aguiar

Coorientador: Prof. Dr. André Bernardo

SÃO CARLOS

2018

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE TESE DE PAULA DE FREITAS ROSA REMIRO APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS, EM 15 DE JUNHO DE 2018.

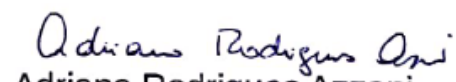
BANCA EXAMINADORA:


Mônica Lopes Aguiar
Orientadora, UFSCar


André Bernardo
UFSCar


Simone Andréa Pozza
UNICAMP


Cristina Paiva de Sousa
UFSCar


Adriano Rodrigues Azzoni
USP

*Á minha família, minha base
Ao meu marido, meu ponto de equilíbrio
Aos amigos e colegas, minha motivação.*

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais Paulo Sérgio e Arinete por serem a minha base, por me ensinarem a nunca desistir e por me proporcionarem todas as condições para chegar até aqui.

Ao meu marido Lucas por estar sempre comigo. Obrigada por ser meu apoio, meu ponto de equilíbrio, minha melhor metade.

Aos meus irmãos Michaela, Daniel e Lucas por estarem sempre comigo, especialmente nos momentos mais difíceis.

À Luiza por me proporcionar alegrias, mesmo quando o momento era de lágrimas.

Aos cunhados e cunhadas, por sempre acreditarem em mim e por sempre proferirem palavras de incentivo.

Às famílias Freitas e Rosa por torcerem a cada degrau subido.

À família Remiro pelo incentivo diário.

Aos companheiros e amigos de laboratório, Flávia, Bruno, Eduardo, Ana Isabela, Ana Cláudia, Daniela, Bárbara, Camila e todos os outros que passaram pela minha trajetória, por tornar essa jornada mais leve.

Às amigas de graduação Bianca e Thalita que ainda se fazem presentes em todos os momentos da minha vida. Obrigada por todo o apoio, por todos os puxões de orelha e por todo o incentivo durante esses 11 anos de convívio.

Aos amigos que a pós me deu Liliana, Marcos, Cássia, Cadu, Tati, Dimas, Ana, Gabriel e Ricardo. Obrigada por me ouvirem em cada crise de desespero. A cada “você vai conseguir” que era dito, minhas esperanças se refaziam. Vocês foram fundamentais nessa caminhada.

Aos amigos do CS que, todos os dias, durante os cafés, me proporcionavam muitas alegrias.

Aos amigos de Jaboticabal que entenderam a minha ausência em diversos momentos durante estes quatro anos, Renata, Pedro, Alana, Du, Jéssica, Maibi, Jessé, Aline e Daniele.

Aos funcionários do DEQ, Marcos, Oscar, Alcione e Raquel meus agradecimentos por todo suporte para que este trabalho pudesse ser concretizado.

À professora Mônica pela orientação, pelas broncas e por me fazer crescer tanto. Obrigada por acreditar em mim e por me “lapidar”.

Ao professor André que esteve presente em toda a minha vida de pós-graduação. Se hoje sou ou que sou, muito devo a você. Obrigada pela coorientação e por todos os ensinamentos.

Ao Professor Alberto por sempre disponibilizar a estrutura do seu laboratório para que eu pudesse efetuar alguns testes.

À professora Cristina e ao Dr. Henrique por sempre serem solícitos e à todo o pessoal da Biologia (DMP) por me receberem tão bem e me ensinarem um pouquinho desse lindo universo que é a microbiologia.

À Professora Vádila por todas as ideias e discussões e por ser uma profissional exemplar.

Ao Professor Mädler, Samir, Valentin, Hendrick e demais membros da Unibremen por me possibilitarem realizar parte deste trabalho lá. Meu crescimento nos quatro meses de Doutorado Sanduíche só foi possível porque eu tinha vocês comigo.

À todos os professores que fizeram parte desta longa caminhada, sem vocês, seria impossível eu chegar até aqui.

À FAPESP pelo apoio financeiro.

Ao Departamento de Engenharia Química da UFSCar pela estrutura e equipamentos utilizados para que este trabalho pudesse ser efetuado.

Gostaria de reiterar aqui meus sinceros agradecimentos a todos os acima citados e a todos que não mencionei neste texto, mas que, de alguma forma, contribuíram para a execução deste trabalho.

Muito obrigada!

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

Madre Teresa de Calcutá

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS	16
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	18
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	23
1. INTRODUÇÃO	24
1.1. Contextualização.....	24
1.2. Objetivos.....	25
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
2.1. Filtração de gases.....	26
2.1.1. Meios Filtrantes e critérios de seleção.....	27
2.1.2. Permeabilidade	28
2.1.3. Eficiência de coleta e Mecanismos de Coleta.....	29
2.1.3.1. Mecanismo Difusional.....	30
2.1.3.2. Mecanismo Inercial	30
2.1.3.3. Mecanismo de Interceptação Direta	30
2.1.3.4. Mecanismo Gravitacional.....	31
2.1.3.5. Mecanismo de deposição eletrostática.....	31
2.1.2. Modificação de meios filtrantes e aplicações	32
2.2. Qualidade do ar em ambientes internos e Bioaerossóis.....	33
2.3. Ação antimicrobiana da Prata e do Dióxido de Titânio.....	35
2.3.1. Mecanismos de Atuação da Prata e do Dióxido de Titânio sob os microrganismos E.coli, S.aureus e C.albicans.....	38
2.4. Força de Adesão	40
2.5. Microscopia de Força Atômica.....	44
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
3.1. Meio Filtrante	49

3.1.1. Caracterização do meio filtrante	49
3.1.1.1. Queda de pressão, Permeabilidade e Eficiência de coleta	49
3.2. Preparação das nanopartículas de Prata	50
3.3. Preparação das nanopartículas de TiO ₂	51
3.4. Preparação dos nanocompósitos Ag/TiO ₂	52
3.5. Caracterização dos nanomateriais.....	53
3.5.1. Análise de tamanho e de Potencial Zeta dos nanomateriais	53
3.5.2. Análise da composição dos nanomateriais	53
3.5.3. Análise da Cristalinidade dos nanomateriais	54
3.6. Geração do aerossol e Modificação dos meios filtrantes.....	54
3.7. Teste “in vitro” da capacidade antimicrobiana dos nanomateriais.....	55
3.7.1. Microrganismos testados na contaminação controlada.	55
3.7.2. Preparação da solução para utilização da escala de McFarland ..	56
3.7.3. Escolha do Agente dispersante para estabilização dos nanomateriais.....	56
3.7.4. Ensaio para averiguação do poder antimicrobiano dos filtros e materiais em estudo	57
3.7.4.1. Ensaio de esfregação em placa de Petri.....	57
3.7.4.2. Teste de difusão em disco ou Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA)	58
3.7.4.3. Ensaio em meio líquido utilizando a escala McFarland (Medida de densidade ótica).....	60
3.8. Testes dos meios filtrantes em ambiente real.	61
3.8.1. Local de coleta	61
3.8.2. Coleta do Bioaerossol	62
3.8.3. Preparo do Meio de Cultura e das Placas de Petri	64
3.8.4. Determinação da Massa Seca e Porcentagem de Inibição/Eliminação.....	65

3.9. Medidas de Força de Adesão e Trabalho de adesão	65
3.10. Cálculo da Velocidade de Arrasto das Partículas Aderidas no Meio Filtrante.....	67
3.11. Cálculo da Força de Adesão Teórica – Modelos JKR e DMT.	68
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	69
4.1. Caracterização do meio filtrante	69
4.2. Caracterização dos nanomateriais.....	72
4.3. Avaliação da capacidade antimicrobiana dos nanomateriais.....	85
4.4. Avaliação da força de adesão e cálculo da velocidade de desprendimento entre nanomateriais e fibra do meio filtrante	94
4.5. Cálculo da força de adesão teórica utilizando os modelos JKR E DMT	112
4.6. Análise do poder antimicrobiano dos filtros em ambiente real	113
5.CONCLUSÃO.....	123
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	125
7. REFERÊNCIAS.....	126

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismos Físicos de Coleta.....	31
Figura 2: Esquema de um Microscópio de Força Atômica.	44
Figura 3: Esquema de uma típica deflexão de <i>cantilever</i> vs altura do piezo (Z_c - vs.- Z_p) curva (esquerda) e Z_c vs D plotado, com $D = Z_c + Z_p$	45
Figura 4: Esquema de um diagrama de deflexão-deslocamento típico em <i>cantilever</i> com destaques das várias etapas (A-E) da agulha do AFM.	46
Figura 5: Diagrama da alavanca de luz para detectar a deflexão do <i>cantilever</i> . ΔPSD é a distância que o ponto do laser move no PSD, d é a distância entre a extremidade do <i>cantilever</i> e o PSD e Z_c é a deflexão do <i>cantilever</i>	47
Figura 6: Fluxograma das principais etapas do trabalho.	48
Figura 7: Equipamento utilizado para medidas de queda de pressão, eficiência de coleta e geração do aerossol dos nanomateriais.....	50
Figura 8: Etapas de calcinação do TiO_2 sólido.....	52
Figura 9: Inalador comercial utilizado para gerar o aerossol dos nanomateriais Ag , TiO_2 e Ag/TiO_2	55
Figura 10: Ilustração do procedimento de esfregação do meio filtrante em placa.	57
Figura 11: Ilustração do método para Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA).	59
Figura 12: Apresentação esquemática dos discos sob a placa e as respectivas concentrações de nanomaterial.	59
Figura 13: Planta baixa do banheiro localizado no DEQ/UFSCar (local de coleta).	62
Figura 14: Equipamento utilizado para a coleta do material particulado.	63
Figura 15: Detalhes dos componentes de filtração.	64
Figura 16: Microscópio de força atômica JPK nanowizard 3.	67
Figura 17: Gráfico $\Delta P/L$ x Velocidade superficial do filtro HEPA.	70
Figura 18: Eficiência de coleta do Filtro HEPA.....	70
Figura 19: Eficiência de coleta teórica de acordo com os mecanismos de coleta	71
Figura 20: Imagem de nanopartículas de prata com aumento de 1000x.	72
Figura 21: Imagem de nanopartículas de prata com aumento de 20000x.	72

Figura 22: Espectrometria por dispersão de energia de raios-X das nanopartículas de prata.	73
Figura 23: Imagem de nanopartículas de Dióxido de Titânio com aumento de 35x.	74
Figura 24: Imagem de nanopartículas de Dióxido de Titânio com aumento de 250x.	74
Figura 25: Espectrometria por dispersão de energia de raios-X das nanopartículas de Dióxido de Titânio.	75
Figura 26: Difratoograma da amostra de nanopartículas de TiO_2 e background do programa de análise utilizado.	76
Figura 27: Difratoograma da amostra de nanopartículas de TiO_2 espelhado no difratograma do background do programa de análise utilizado.	76
Figura 28: Imagem de nanopartículas de Titânia - Prata com aumento de 100000x.	77
Figura 29: Imagem de nanopartículas de Titânia - Prata com aumento de 250000x.	77
Figura 30: Caracterização da composição do nanocompósito Ag/TiO_2 por meio de espectroscopia por dispersão de energia de raios-X.	78
Figura 31: Linha de composição traçada sobre o nanocompósito Titânia – Prata.	78
Figura 32: Identificação das fases presentes no nanocompósito Ag/TiO_2 utilizando difração de raios-X.	79
Figura 33: Difratoograma da amostra do compósito Ag/TiO_2 espelhado no difratograma do background do programa de análise.	80
Figura 34: Distribuição dos diâmetros das nanopartículas de prata.	80
Figura 35: Distribuição dos diâmetros das nanopartículas de Titânio.	81
Figura 36: Imagem das nanopartículas de TiO_2 com aumento de 15000x.	82
Figura 37: Imagem das nanopartículas de TiO_2 com aumento de 100000x.	82
Figura 38: Distribuição dos diâmetros dos nanocompósitos Ag/TiO_2	82
Figura 39: Meio filtrante modificado com nanopartículas de prata.	84
Figura 40: Meio filtrante modificado com nanopartículas de TiO_2	84
Figura 41: Meio filtrante modificado com nanopartículas de Ag/TiO_2	84

Figura 42: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo <i>E.coli</i> com nanopartículas de prata (duplicata).....	87
Figura 43: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo <i>S.aureus</i> com nanopartículas de prata (duplicata).....	87
Figura 44: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo <i>C.albicans</i> com nanopartículas de prata (duplicata).....	88
Figura 45: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo <i>E.coli</i> com o nanocompósito Ag/TiO ₂	89
Figura 46: Teores de eliminação dos três microrganismos estudados utilizando os três materiais propostos.....	92
Figura 47: Mecanismos de ação dos antimicrobianos.....	94
Figura 48: Cantilever sob as amostras (a) meio filtrante e (b) partículas de TiO ₂	95
Figura 49: Cantilever e agulha utilizados para realizar medidas de força e trabalho de adesão (a) aumento de 2.000x, (b) 20.000x e (c) 50.000x.....	95
Figura 50: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para o meio filtrante sem nanopartículas.....	96
Figura 51: Histograma de força do último pico da fibra do meio filtrante sem nanomateriais.....	97
Figura 52: Histograma do trabalho de adesão para o filtro sem nanopartículas.	98
Figura 53: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para as partículas de nanocompósito.	99
Figura 54: Histograma de força do último pico das medidas partícula-partícula de nanocompósito.....	99
Figura 55: Histograma do trabalho de adesão das medidas partícula-partícula de nanocompósito.....	100
Figura 56: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para as partículas de TiO ₂	101
Figura 57: Histograma de força do último pico das medidas partícula-partícula de TiO ₂	101
Figura 58: Histograma do trabalho de adesão das medidas partícula-partícula de TiO ₂	102

Figura 59: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de prata na fibra do meio filtrante.	103
Figura 60: Histograma de força do último pico das partículas de prata nas fibras do meio filtrante.	103
Figura 61: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de prata nas fibras do meio filtrante.	104
Figura 62: Histograma da força de adesão por tamanho para as partículas de prata nas fibras do meio filtrante.	104
Figura 63: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de compósito na fibra do meio filtrante.	105
Figura 64: Histograma de força do último pico das partículas de compósito nas fibras do meio filtrante.	106
Figura 65: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de compósito nas fibras do meio filtrante.	106
Figura 66: Histograma de Força de Adesão por tamanho de partícula do compósito na fibra dos meios filtrantes.	107
Figura 67: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de TiO ₂ na fibra do meio filtrante.	107
Figura 68: Histograma de força do último pico das partículas de TiO ₂ nas fibras do meio filtrante.	108
Figura 69: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de TiO ₂ nas fibras do meio filtrante.	109
Figura 70: Histograma de Força de Adesão por tamanho de partícula do TiO ₂ na fibra do meio filtrante.	109
Figura 71: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com prata incubados durante 48 h. - Teste 1.	113
Figura 72: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado com prata (b) incubados durante 48 h. - Teste 2.	113
Figura 73: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com prata incubados durante 48 h. - Teste 3.	114
Figura 74: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 1.	116

Figura 75: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 2.....	116
Figura 76: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 3.....	117
Figura 77: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 1.....	118
Figura 78: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 2.....	119
Figura 79: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO ₂ incubados durante 48 h. - Teste 3.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros de projetos utilizados com maior frequência na filtração de gases.....	28
Tabela 2: Potencial Zeta dos nanomateriais.	83
Tabela 3: Dados do teste de toxicidade do SDS.....	85
Tabela 4: Dados do teste de toxicidade do Twin 80.....	86
Tabela 5: Medidas dos halos de inibição utilizando a Ag como antimicrobiano.	89
Tabela 6: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo <i>E.coli.</i> .	90
Tabela 7: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo <i>S.aureus.</i>	91
Tabela 8: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo <i>C.albicans.</i>	91
Tabela 9: Dados comparativos de Massa, mol e área dos nanomateriais.....	93
Tabela 10: Resumo dos dados das análises de força e trabalho de adesão.....	110
Tabela 11: Forças e velocidades necessárias para promover o desprendimento das partículas presentes no meio filtrante.....	111
Tabela 12: Forças de adesão teóricas utilizando os modelos JKR E DMT.....	112
Tabela 13: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – Ag	114
Tabela 14: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – Ag.	115
Tabela 15: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – Ag.	115
Tabela 16: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – TiO ₂	117
Tabela 17: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – TiO ₂	117
Tabela 18: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – TiO ₂	118
Tabela 19: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – Ag/TiO ₂	120

Tabela 20: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – Ag/TiO ₂	120
Tabela 21: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – Ag/TiO ₂	120
Tabela 22: Resultados de inibição média obtidos para os três diferentes filtros em ambiente real.....	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AFM:** Atomic Force Microscopy
- Ag:** Prata
- AgNO₃:** Nitrato de Prata
- Ag/TiO₂:** Compósito Titânia-Prata
- ANVISA:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ATCC:** American Type Culture Collection
- BaCl₂:** Cloreto de Bário
- BEPE:** Bolsa Estágio de Pesquisa no Exterior
- BET:** Técnica de Brunauer–Emmett–Teller
- CETESB:** Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
- C₂H₄O₂:** Ácido Acético
- C₁₆H₃₆O₄Ti:** Butóxido de Titânio
- C. albicans:*** *Cândida albicans*
- C_D:** Coeficiente de arrasto
- CLSI:** Clinical and Laboratory Standards Institute
- CO:** Monóxido de Carbono
- ΔP:** Queda de Pressão
- DEQ:** Departamento de Engenharia Química
- DLS:** Espalhamento Dinâmico de Luz
- DMT:** Derjaguin, Muller e Toporov
- D.O:** Densidade Ótica
- E.coli:*** *Escherichia coli*
- EDS:** Espectroscopia de Energia Dispersiva
- EPA:** United States Environmental Protection Agency
- F_{ad}:** Força de Adesão Total
- F_c:** Força de Capilaridade
- F_{es}:** Força eletrostática
- F_{quim}:** Força química
- F_{vdw}:** Força de Van der Waals
- FAPESP:** Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo
- FDA:** Food and Drug Administration
- γ:** Tensão superficial

H: Constante de Hamaker
H₂O₂: Peróxido de Hidrogênio
H₂SO₄: Ácido sulfúrico
HEPA: High Efficiency Particulate Arrestance
I: Intensidade da Luz Transmitida
I₀: Intensidade da Luz incidente
JKR: Johnson, Kendall e Roberts
k: Constante de mola
k₁: Permeabilidade Darciana
L: Comprimento
λ: Comprimento de onda
MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura
μ: Viscosidade do ar
NCCLS: National Committe for Clinical Laboratory Satandards
NO₂: Dióxido de Nitrogênio
OMS: Organização mundial de Saúde
PSD: Detector Sensível à posição
QAI: Qualidade do Ar Interno
R: Raio
ρ: Densidade
S. aureus: *Staphylococcus aureus*
SDS: Dodecilsulfato de Sódio
Si₃N₄: Nitreto de Silício
T: Transmitância
TiO₂: Dióxido de Titânio
TSA: Teste de Sensibilidade Antimicrobiana
UFC: Unidade Formadora de Colônia
UFSCar: Universidade Federal de São Carlos
V_s: Velocidade Superficial
VMR: Valor Máximo Recomendado
W: Trabalho
Z₀: Distância de separação entre duas superfícies
Z_c ou x: Deflexão do cantilever

Z_p: Posição do Piezo

ZnO: Óxido de Zinco

RESUMO

ROSA, Paula de Freitas. (2018). **“Modificação de meios filtrantes com nanomateriais para controle de bioaerossóis”**. Tese de Doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2018.

As pessoas consomem cada vez mais o seu tempo em ambientes fechados, e nestes ambientes eleva-se o risco de contágio por doenças transmitidas pelas vias aéreas, devido a baixas taxas de troca de ar. Assim, o número de agentes causadores de várias doenças veiculados pelo ar se propaga mais rapidamente, aumentando os casos de problemas respiratórios. Portanto, controlar os microrganismos presentes nos ambientes internos tornou-se extremamente necessário. Uma alternativa é desenvolver filtros para aparelhos de ar condicionados, capelas de fluxos laminares e exaustões de salas limpas que tenham propriedades antimicrobianas. Existem inúmeros materiais que possuem ação frente a fungos e bactérias, dentre eles a prata e o dióxido de titânio. Com a combinação destes dois materiais pode-se formar um compósito que se espera ter um efeito sinérgico. Assim, esta tese teve como principal objetivo o desenvolvimento de meios filtrantes modificados com esses nanomateriais que apresentam capacidade antimicrobiana. Após a modificação dos filtros, foram feitas análises da força de adesão e os cálculos de velocidade de desprendimento entre os nanomateriais e as fibras, com o intuito de garantir o não carregamento dos materiais para o ambiente. Os resultados mostraram que a inibição em ambiente real foi de $55,6 \pm 9,52$, $72,2 \pm 4,81$ e $81,1 \pm 1,92\%$, as forças de adesão 3,44, 14,32 e 12,24 nN e as velocidades médias necessárias para desprender os nanomateriais de 125,2, 46,8 e 35,7 m/s para a os filtros de prata, dióxido de titânio e nanocompósito Ag/TiO₂ respectivamente. Estes dados sugerem uma diminuição considerável no número de microrganismos quando se usam filtros modificados com estes nanomateriais e demonstraram que as partículas são removidas a diferentes velocidades. No entanto, com os resultados obtidos não foi possível apontar para um filtro que satisfaça todos os parâmetros avaliados. O filtro modificado com Ag/TiO₂ apresentou maior poder de inibição dos microrganismos, no entanto, este material pode ser removido com velocidades mais baixas quando comparado com os outros materiais. O filtro de prata apresentou as menores taxas de inibição, mas são necessárias altas velocidades para

remover as partículas aderidas a ele. Assim, o filtro mais adequado será aquele que satisfizer as condições operacionais do equipamento no qual ele será utilizado.

ABSTRACT

ROSA, Paula de Freitas. (2018). "**Modification of filter medium with nanomaterials to control bioaerosols**". Tese de doutorado. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2018.

People are increasingly wasting their time in indoors environments, in these locations there is a risk of contagion from diseases transmitted by the airways, due to low rates of air exchange. Thus, the number of causative agents of various diseases airborne spreads more rapidly, increasing cases of respiratory problems. Therefore, controlling the microorganisms present in indoor environments has become extremely necessary. An alternative is to develop filters for air conditioners, laminar flow hoods, and clean room exhausts that have antimicrobial properties. There are numerous materials that have an action against fungi and bacteria, among them silver and titanium dioxide. By combining these two materials a composite can be formed which is expected to have a synergistic effect. Thus, this thesis had as main objective the development of modified filter media with those nanomaterials that present antimicrobial capacity. After the modification of the filters, adhesion strength analyzes and peel velocity calculations between the nanomaterials and the fibers were done in order to ensure that they are not released into the environment.

The results showed that the inhibition in the real environment was 55.6 ± 9.52 , 72.2 ± 4.81 and $81.1 \pm 1.92\%$, adhesion forces 3.44, 14.32 and 12, 24 nN and the average velocities required to release the nanomaterials of 125.2, 46.8 and 35.7 m / s for the silver, titanium dioxide and Ag/TiO₂ nanoparticles respectively. These data suggest a considerable decrease in the number of microorganisms when using filters modified with these nanomaterials and have shown that the particles are removed at different speeds. However, with the results obtained it was not possible to point to a filter that satisfies all the evaluated parameters. The Ag/TiO₂ modified filter showed greater inhibition capacity of the microorganisms, however, this material can be removed at lower speeds when compared to the other materials. The silver filter has the lowest inhibition rates, but high velocities are required to remove the particles adhered to it. Thus, the most appropriate filter is one that satisfies the operating conditions of the equipment on which it will be used.

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo será descrita uma breve contextualização, bem como os objetivos gerais e específicos desta tese.

1.1. Contextualização

A poluição do ar é uma grande ameaça à saúde humana, especialmente no que se refere a problemas respiratórios. Os poluentes provenientes de inúmeras fontes, tais como, veículos, indústria e queimadas tem ocasionado uma degradação da qualidade do ar que respiramos. Na classe dos poluentes atmosféricos, encontram-se o CO, SO₂, NO₂ aldeídos, hidrocarbonetos e os materiais particulados. De acordo com a CETESB, denomina-se material particulado o conjunto de poluentes constituídos de poeiras, fumaças e todo tipo de material sólido e líquido que se mantém suspenso na atmosfera devido ao seu pequeno tamanho. Os materiais particulados podem trazer aderidos a si a classe de poluentes denominados bioaerossóis, que correspondem às partículas de origem biológica suspensas no ar que abrangem os vírus, bactérias, fungos, insetos, grãos de pólen e frações de plantas (CAVINATTO, 1991). As partículas biológicas podem compreender de 10 a 50% da massa total do ar, esta variação é dependente da estação do ano e da localização geográfica. Por serem considerados um dos principais causadores de doenças infecciosas é importante que haja o controle ou, até mesmo, a eliminação das bactérias e fungos. Existem inúmeros materiais com caráter antimicrobiano, e dentre eles estão compreendidos a prata, o dióxido de titânio e o composto destes materiais. Os compostos combinam as propriedades dos materiais que os formam. Estes materiais quando combinados podem proporcionar efeitos ainda maiores, por exemplo, o dióxido de titânio quando combinado à prata, pode potencializar o seu efeito biocida acrescentando a ela um efeito biostático. Estes materiais estão sendo empregados em inúmeros trabalhos descritos na literatura, no entanto, as aplicações estão concentradas a líquidos. Neste contexto, uma das alternativas de minimização dos bioaerossóis presentes no material particulado de ambientes internos é a utilização de um meio filtrante modificado com estes materiais. Assim, o ar contaminado tende a ser purificado ao entrar em contato com as partículas biocidas/biostáticas presentes no meio filtrante.

CAPÍTULO 1:

INTRODUÇÃO

O grupo de pesquisa em que a autora se inseria possui ampla experiência na área de filtração de gases com foco principal em avaliação e caracterização de meios filtrantes, ciclones, precipitadores eletrostáticos, dentre outros equipamentos para tratamento de efluentes gasosos; no entanto, trabalhos que buscam a minimização de bioaerossóis ainda não haviam sido desenvolvidos. Assim, este trabalho configurou-se como um trabalho inovador e recheado de desafios, pois a maioria dos métodos (de síntese dos materiais, avaliação do poder antimicrobiano e coleta do material particulado, avaliação da força de adesão por AFM e cálculo de velocidade de desprendimento das partículas do meio filtrante) ainda não eram conhecidos e tampouco utilizados pelo grupo de pesquisa.

1.2. Objetivos

Este trabalho tem como objetivo a produção de filtros com capacidade antimicrobiana para serem utilizados para purificação de ar de ambientes internos. Como objetivos específicos tiveram-se:

- sintetizar os nanomateriais Ag, TiO₂ e Ag/ TiO₂ para modificar os meios filtrantes;
- modificar os meios filtrantes pela aspersão e impregnação dos nanomateriais sintetizados;
- caracterizar os meios filtrantes modificados em termos de sua perda de carga, permeabilidade e eficiência de coleta;
- avaliar a eficácia dos materiais utilizados para modificar os meios filtrantes por meio do estudo da contaminação controlada (Método de TSA e Densidade Ótica) de microrganismos;
- avaliar a eficácia dos meios filtrantes modificados em ambientes reais;
- determinar a força de adesão e a velocidade de desprendimento dos materiais nas fibras para avaliar se eles não seriam carregados para o ambiente interno.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O foco principal deste trabalho é o desenvolvimento de filtros modificados com nanomateriais que sejam capazes de inibir ou erradicar microrganismos presentes em material particulado de ambientes internos. Deste modo, nesta seção, será apresentada a revisão da literatura para este tema versando acerca dos conceitos gerais de filtração de gases e os importantes parâmetros que envolvem esta operação unitária, mecanismos de coleta de partículas, modificação de meios filtrantes e suas aplicações, qualidade do ar em ambientes internos e bioaerossóis, ação antimicrobiana da prata e do dióxido de titânio, mecanismos de atuação destes materiais sob os microrganismos *E.coli*, *S.aureus* e *C. albicans*, força de adesão (a qual deve ser estudada para se ter conhecimento de sua magnitude e assim evitar que os materiais sejam lançados à atmosfera) e microscopia de força atômica.

2.1. Filtração de gases

A filtração de gases é uma importante operação utilizada na separação de sólidos de um gás a qual se processa por meio da passagem de um fluido através de um meio poroso permeável (DICKENSON, 1994). Inicialmente, as partículas que entram em contato com o meio filtrante vão sendo depositadas no interior deste meio filtrante. Este tipo de filtração é denominado de filtração interna. Posteriormente, passado um intervalo de tempo inicia-se a formação de uma camada de partículas na superfície do filtro a qual é denominada torta de filtração, que passa a ser responsável pelo depósito das demais partículas no filtro. Esta filtração recebe o nome de filtração superficial (DULLIEN, 1989). Na operação de filtração, inúmeros são os parâmetros que devem ser avaliados para que se tenha uma maior eficiência neste processo, dentre eles destacam-se a permeabilidade e perda de carga nos filtros. Desta forma, neste trabalho serão avaliados os parâmetros mencionados acima para que os filtros desenvolvidos tenham qualidade e garantam uma ótima eficiência de filtração.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.1. Meios Filtrantes e critérios de seleção

A classificação dos meios porosos é dada em função da estrutura das fibras que as compõe e podem ser denominados granulares ou fibrosos. Os granulares correspondem a conjuntos de partículas ou grãos, de forma esférica ou não, distribuídos de forma aleatória ou regular, e representam a maioria dos meios porosos. Já os filtros fibrosos são constituídos por um conjunto de fibras que podem ser sintéticas ou naturais, podendo estar dispostas de maneira regular ou aleatória. Neste trabalho, os filtros utilizados caracterizam-se como meios filtrantes fibrosos.

Um filtro é considerado fibroso quando é constituído por fibras em forma de fios, com tamanhos variados. Durante a filtração, o fluido percorre a região entre as fibras e o particulado é coletado.

Nas operações de filtração devem estar presentes duas características principais. Primeiramente o filtro deve ser capaz de reter os sólidos contidos no fluido sem ocasionar uma queda de pressão indesejada, ou seja, o filtro deve ser capaz de remover as impurezas do gás com a menor resistência ao fluido de arraste possível. A segunda característica relevante está relacionada à diminuição da habilidade do meio filtrante em conduzir o ar através dele, devido ao acúmulo de partículas. A passagem do fluido pelo filtro e o carregamento das partículas, resulta no aumento sucessivo da queda de pressão do filtro, que pode conduzir ao entupimento do filtro (MIGUEL, 2003).

Os critérios fundamentais na avaliação de meios filtrantes, independentemente da sua estrutura e aplicação são permeabilidade, eficiência de retenção de purezas (eficiência de coleta) e resistência mecânica (INNOCENTINI, 1997). Dentre as principais variáveis de projeto que interferem diretamente na filtração de gases encontram-se a velocidade superficial do gás, a queda de pressão, a quantidade de pó no meio filtrante e a eficiência de coleta. Igualmente importante na caracterização de meios filtrante tais como densidade e porosidade e tamanho médio dos poros. Na Tabela 1 estão descritos os principais parâmetros de projeto utilizados em filtração de gases.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1: Parâmetros de projetos utilizados com maior frequência na filtração de gases.

Parâmetros frequentes na filtração de gases	
Velocidade do gás	0,5 a 10 cm/s
Queda de pressão do filtro limpo (ΔP_0)	60 a 200 Pa
Queda de pressão máxima de operação (ΔP)	500 a 2500 Pa
Massa de pó depositada por unidade de área (W)	200 a 2000 g/m ³
Eficiência de coleta (η)	99,9 a 99,99%

Fonte: Adaptado de Matteson, 1987.

2.1.2. Permeabilidade

O conceito de permeabilidade passa a existir à medida que um fluido é forçado a passar por um meio poroso. Esta passagem forçada ocasiona uma transformação na energia do sistema como um todo, geralmente proveniente da diminuição de pressão exercida pelo fluido. Desta forma, a permeabilidade não é um parâmetro apenas característico do meio poroso ou do fluido, mas sim da interação de ambos (INNOCENTINI et al., 2009)

Innocentini et al. (2009) citam que Darcy, em 1856, foi um dos pioneiros a equacionar empiricamente a modificação na energia causada pela passagem do fluido através do meio poroso. Darcy propôs que, para baixas velocidades de escoamento do fluido de viscosidade μ o gradiente de pressão (dP/dx) se constitui em:

$$\frac{-dP}{dx} = \frac{\mu}{k_1} v_s \quad (1)$$

Integrando a equação (1) para a espessura L tem-se:

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{\mu}{k_1} v_s \quad (2)$$

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na equação (2) k_1 corresponde a permeabilidade Darciana (também conhecida como permeabilidade viscosa), ΔP a queda de pressão, L a espessura do meio filtrante, μ a viscosidade do ar e v_s a velocidade superficial.

A equação (2), conhecida como Lei de Darcy, tem grande relevância por ser simples. No entanto, por emergir de ensaios a baixas velocidades (escoamento laminar), esta lei considera somente os efeitos do atrito sobre a queda de pressão no filtro.

Innocentini et al. (2009) também menciona que opostamente ao que Darcy propôs, Reynolds (1900) e Forchheimer (1901) sugeriram uma relação parabólica visto que a Lei de Darcy não representava bem o fenômeno a altas velocidades. À essa relação parabólica associaram a variação de energia cinética de um fluido de densidade (ρ) ao longo do seu escoamento através do meio poroso. Empiricamente determinou-se que:

$$\frac{\Delta P}{L} = \frac{\mu}{k_1} v_s + \frac{\rho}{k_2} v_s^2 \quad (3)$$

Na equação de Forchheimer surge o termo de permeabilidade não-Darciana ou permeabilidade inercial (k_2) a qual é dependente somente do meio poroso. Na equação de Forchheimer, o termo $\mu v_s/k_1$ representa os efeitos da interação fluido-sólido, enquanto o termo $\mu v_s^2/k_2$ representa os efeitos cinéticos (RUTH e MA, 1992). Neste trabalho serão empregadas baixas velocidades (escoamento laminar), desta forma, a equação de Darcy será utilizada para estimar a variável permeabilidade.

2.1.3. Eficiência de coleta e Mecanismos de Coleta

A eficiência total de coleta η_t (que inclui todos os mecanismos de coleta) pode ser representada por:

$$\eta_t = \frac{N_D}{N_C} \quad (4)$$

Sendo N_D correspondente ao número de partículas depositadas por unidade de tempo e N_C ao número de partículas que chegam ao coletor por unidade de tempo.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O gás contendo material particulado atravessa o meio filtrante que compõe as fibras promovendo a deposição nas fibras. Esta deposição se dá por diferentes mecanismos de coleta sendo os principais: difusional, inercial, interceptação direta, gravitacional e eletrostático (HINDS, 1999)

2.1.3.1. Mecanismo Difusional

O mecanismo difusional é resultante do movimento aleatório (Browniano) a que as pequenas partículas estão sujeitas em um gás, denominada difusão browniana (COURY, 1983). Este mecanismo é predominante em partículas submicrômicas e em baixas velocidades de filtração. Partículas pequenas não seguem perfeitamente as linhas de corrente do ar devido a suas constantes colisões com as moléculas do ar. Por isto, as partículas se encaminham por diversas direções, aumentando a probabilidade de se chocarem com as fibras e ali ficarem depositadas.

2.1.3.2. Mecanismo Inercial

Este mecanismo é decorrente da inércia das partículas que estão presentes em uma corrente de gás. As linhas de corrente de gás se moldam ao passar em torno de um coletor. Quanto maior a massa da partícula, maior a dificuldade da partícula em seguir estas linhas, devido a sua inércia. Este mecanismo é predominante à altas velocidades (COURY, 1983; HINDS, 1999).

2.1.3.3. Mecanismo de Interceptação Direta

A interceptação direta é proveniente do tamanho coletor em relação ao tamanho da partícula. Este mecanismo é expressivo em partículas de dimensões grandes, de tamanho próximo ao tamanho do coletor. Neste mecanismo, uma partícula é coletada pelo coletor quando seu centro passa pela superfície do coletor a uma distância menor ou igual ao seu raio. A coleta por este mecanismo depende das propriedades de transporte do fluido e da razão entre diâmetro do coletor e da partícula (COURY, 1983).

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

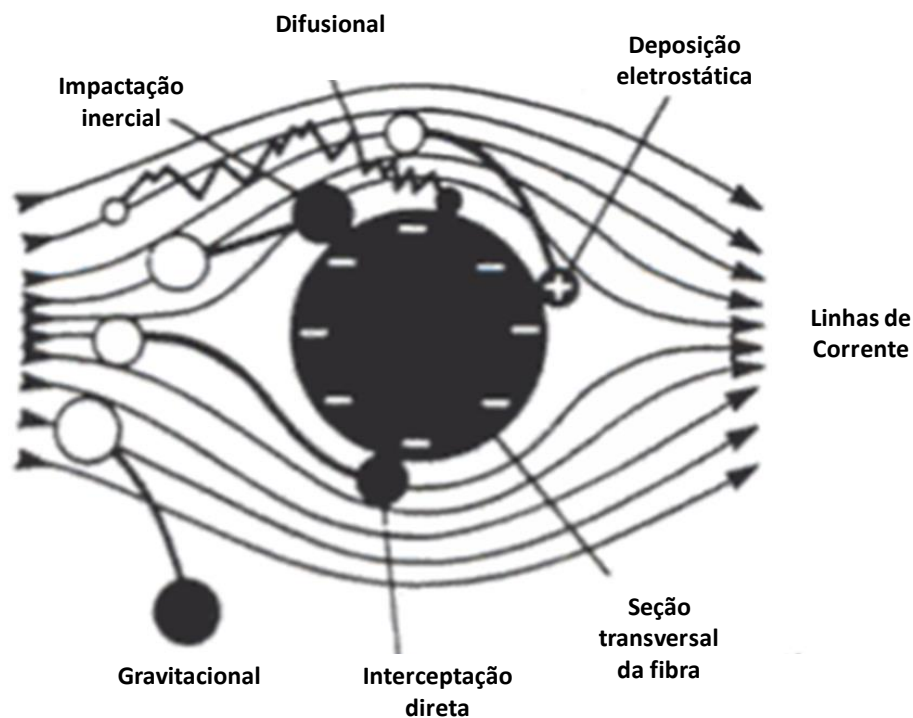
2.1.3.4. Mecanismo Gravitacional

O mecanismo gravitacional é decorrente da gravidade que age sob a partícula, causando um desvio na sua trajetória normal. É predominante em baixas velocidades do gás e em grandes partículas. A eficiência de coleta depende da direção do fluxo e do sentido da corrente gasosa, uma vez que em um fluxo de cima para baixo existe a tendência das partículas se aproximarem do coletor (COURY, 1983).

2.1.3.5. Mecanismo de deposição eletrostática

O mecanismo de deposição eletrostática ocorre quando há interação eletrostática entre partícula e coletor. As forças eletrostáticas podem contribuir para o aumento da eficiência de coleta de partículas durante a filtração. A presença dessas forças pode ser proveniente das cargas eletrostáticas nas partículas, coletor ou pode ser induzida por algum campo elétrico externo.

Figura 1: Mecanismos Físicos de Coleta



Fonte: Adaptado de Spurny, 1998.

CAPÍTULO 2:

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1.2. Modificação de meios filtrantes e aplicações

Na literatura são descritos alguns trabalhos em que os autores promovem a potencialização de meios filtrantes com materiais com atividade antimicrobiana. Na sequência deste tópico serão apresentados alguns destes trabalhos.

Ungur e Hruza (2017) produziram filtros com nanofibras poliméricas para purificação antibacteriana de ar e água e comprovaram sua eficiência e estabilidade sob condições simuladas de filtração. As soluções de poliuretano foram modificadas com micropartículas (700nm a 1µm) e nanopartículas (≈50 nm) de óxido de cobre (CuO) para comparar a influência das características dimensionais do modificador nas propriedades dos filtros compósitos. Os aditivos antimicrobianos (concentrações utilizadas 5; 7; 9,5 e 12%) foram introduzidos diretamente nas soluções de pré-eletrofição posteriormente foram completamente misturados. A eficiência antibacteriana dos nanofibras com micro e nanopartículas foi estudada utilizando os microrganismos modelo *Escherichia coli* e *Staphylococcus gallinarum*. Os autores concluíram que micropartículas de cobre são aditivos antimicrobianos apropriados para a utilização em filtração.

Faria et al. (2015) demonstraram uma abordagem viável para produzir polímeros com materiais antimicrobianos em sua composição. Para isso, uma mistura de poli(lactido-co-glicolídeo) (PLGA) e quitosana foi eletrofiada para produzir fibras poliméricas cilíndricas e com pequeno diâmetro (356 nm). Para obter uma propriedade antimicrobiana robusta, as fibras foram funcionalizadas com óxido de grafeno decorado com nanopartículas de prata (GO-Ag). A confirmação da presença de GO-Ag na superfície das fibras de PLGA-quitosana foi feita por Microscopia eletrônica de varredura e transmissão. Os nanocompósitos PLGA-quitosana funcionalizados com nanocompósitos GO-Ag foram capazes de inativar bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*). Os resultados destes autores sugerem que a ligação covalente de nanocompósitos GO-Ag à superfície de PLGA-quitosana abre novas oportunidades para a produção de materiais de revestimento de baixo custo com capacidade de impedir a proliferação microbiana em superfícies sólidas podendo assim, serem utilizados com meios filtrantes para serem aplicados na filtração de gases.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Mpenyana-Monyatsi et al. (2012) desenvolveram filtros potencialmente de baixo custo revestidos com nanopartículas de prata foram desenvolvidos para a desinfecção das águas subterrâneas. As nanopartículas de prata foram depositadas em substratos de zeólita, areia, fibra de vidro, ânion e cátions em várias concentrações (0,01 mM, 0,03 mM, 0,05 mM e 0,1 mM) de AgNO₃. Esses substratos foram caracterizados por MEV, EDS, TEM, distribuição de tamanho de partículas e análises de DRX. Os cinco substratos revestidos com várias concentrações de AgNO₃ foram testados contra *E. coli* enriquecidos com água sintética para determinar a melhor concentração de carga que poderia remover completamente as bactérias patogênicas da água de teste. Os resultados revelaram que todos os filtros foram capazes de diminuir a concentração de *E. coli* da água sintética, com uma maior eficiência de remoção alcançada em 0,1 mM (21-100%) e uma menor eficiência em concentrações de 0,01 mM (7-50%). Assim, os autores sugerem que o sistema de filtro com substrato de resina Ag / catiônica pode ser usado como filtro para a desinfecção de águas subterrâneas e para a produção de água potável.

Shafiee et al. (2015) avaliaram a eficácia de meios filtrantes de polipropileno contendo nanopartículas de TiO₂ e os meios filtrante contendo partículas de argila na filtração de bactérias. Foram avaliados o diâmetro da fibra, distribuição no meio filtrante e porosidade. O efeito antimicrobiano foi avaliado utilizando bactérias *E.coli*. Os autores concluíram que a redução da *E.coli* foi de 69,4% utilizando o filtro de polipropileno com partículas de TiO₂ e 88,1% utilizando o filtro de polipropileno com argila.

Com a apresentação destes trabalhos, reitera-se a importância de desenvolver meios filtrantes com nanopartículas antimicrobianas para uso em ambientes internos.

2.2. Qualidade do ar em ambientes internos e Bioaerossóis

A motivação para o desenvolvimento de estudos na área de qualidade do ar interno (QAI) é proveniente da descoberta de que em ambientes fechados as trocas de ar são diminutas, o que acarreta um aumento na concentração de contaminantes biológicos nestes ambientes.

Segundo Wang et al. (2007), o ar interno corresponde às habitações, escritórios, escolas e hospitais. O estudo de sua qualidade configura-se como sendo algo de extrema relevância, uma vez que, há um aumento gradativo na construção de edificações

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

absolutamente fechadas (desprovidos de ventilação natural) por motivos de ruídos, de climatização e até mesmo estéticos. Gioda e Aquino Neto (2003) reportaram que este aumento no número de construções faz com que as pessoas fiquem, cada vez mais, grande parte dos seus dias nestes locais, o que ocasiona o aumento de problemas relacionados à qualidade dos ambientes internos.

Estudos da EPA (Agencia de Proteção Ambiental dos Estados Unidos) sugerem que a concentração de poluentes em ambientes internos pode ser até cinco vezes maior do que em ambientes externos, um dos motivos que pode levar a este fato é a não higienização dos aparelhos de ar condicionado e a falta de controle periódico das possíveis fontes de contaminação, estes dados estão de acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde) (SCHIRMER et al., 2011).

Dentre os principais poluentes do ar interno, destacam-se tanto contaminantes de origem não biológica tais como o monóxido e o dióxido de carbono, o óxido e o dióxido de nitrogênio, o dióxido de enxofre, o ozônio, os materiais particulados, a fumaça de cigarro e os compostos orgânicos voláteis, quanto os de origem biológica – denominados bioaerossóis (bactérias, fungos, etc.) – que são definidos como poluentes biológicos que se encontram suspensos na atmosfera. (SCHIRMER et.al., 2011).

Fujii (2006) avaliou a qualidade do ar interno em duas estações de metrô de São Paulo. Neste estudo o autor encontrou, no material particulado, fungos considerados comuns. No entanto, as possíveis contribuições de contaminantes físicos e químicos encontrados em altas concentrações, podem ter ocasionado a exposição dos usuários e funcionários dos metrô a infecções e alergias.

No Brasil, a legislação que regulamenta os valores acerca de contaminantes biológicos é a RE/ANVISA n9 de 2003 a qual recomenda para contaminação biológica o valor máximo recomendável (VMR) de 750 UFC/m³ (unidades formadoras de colônia por metro cúbico de ar).

Lee e Jo (2006) avaliaram a qualidade do ar em diferentes andares de apartamentos em uma cidade da Coreia e concluíram que não há diferença significativa nas concentrações de bactérias e fungos em se tratando dos andares dos apartamentos, contudo, encontraram valores entre 10 e 1000 UFC/m³, sendo que os valores mais altos estão acima dos valores previstos pela ANVISA.

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Nascimento (2011) avaliou a qualidade do ar em uma biblioteca pública onde concluiu que não há inadequações quanto à contaminação do ambiente, uma vez que, os valores obtidos estão abaixo dos valores previstos pela ANVISA. Os valores encontrados para ambientes internos foram de 100 a 250 UFC/m³.

No estudo da qualidade de ar interno também de bibliotecas, Obbard et al. (2000) identificaram valores altos de contaminantes, os quais estão acima dos valores que seriam aceitos no Brasil, com valores de 800 a 3000 UFC/m³.

Neste contexto, é relevante que se estude uma maneira de erradicar estes poluentes, e, neste trabalho, será analisada uma metodologia para atender este feito.

2.3. Ação antimicrobiana da Prata e do Dióxido de Titânio

Ação oligodinâmica dos metais é a capacidade de pequenas quantidades de metais pesados em exercer um efeito letal sobre as células bacterianas e virais. Metais oligodinâmicos, tais como prata e cobre vem sendo usados como desinfetantes, pois, os mesmos, inibem a formação de esporos de bactérias e formação da biota (THURMAN e GERBA, 1988). Acredita-se que estes metais agem como desinfetantes, pois inibem o desenvolvimento desses organismos inativando suas enzimas. O mecanismo exato desta ação ainda é desconhecido, mas alguns dados sugerem que os íons metálicos modificam as proteínas das células alvo.

Shrestha et al. (2009) demonstraram a ação oligodinâmica de alguns metais contra bactérias Gram negativas, agentes patogênicos entéricos, isoladas a partir da água potável.

Este estudo explorou o uso de metais oligodinâmicos para a descontaminação da água potável utilizando vasos de prata e cobre, já que, estes metais possuem pronunciado efeito biocida.

O termo “nano” é utilizado para designar a bilionésima parte de um metro. As nanopartículas são agrupamentos de átomos que podem variar de 1 a 100 nanômetros (RAI et al., 2009), e que apresentam grande área específica, o que lhes confere um efeito mais pronunciado, neste caso, o efeito biocida da prata e do cobre torna-se mais elevado quando se encontram na forma de nanopartículas. Frequentemente, as nanopartículas, exibem propriedades mecânicas, ópticas, magnéticas ou químicas distintas de partículas

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

e superfícies macroscópicas. O aproveitamento dessas propriedades em aplicações tecnológicas forma a base da nanotecnologia de materiais (QUINA, 2004).

As pesquisas envolvendo nanomateriais aumentaram rapidamente nos últimos anos, principalmente devido às suas características vantajosas, em relação aos materiais em escalas maiores correspondentes, incluindo o aumento da área superficial e conseqüentemente a melhora na reatividade. Nanomateriais como prata e dióxido de titânio têm sido amplamente relatados na literatura devido às suas capacidades antimicrobianas (KIM et al., 2009). As técnicas usadas para sintetizar nanopartículas de prata incluem rotas de síntese verde (biossíntese) empregando frutas (KUMAR et al., 2017), plantas (RAJA et al., 2017; AMOOAGHAIE et al., 2015), algas (PALANISAMY et al., 2017) e extratos de microalgas (FERREIRA et al., 2017) como agentes redutores. As nanopartículas de prata também podem ser sintetizadas usando microemulsão (KRUTYAKOV et al., 2008; ZHANG et al., 2007), eletroquímica (MA et al., 2004), assistida por micro-ondas (EUSTIS et al., 2005) e métodos de redução química (GORUP et al., 2011, PILLAI e KAMAT, 2004, LEE e MEISEL, 1982), entre outros.

As nanopartículas de dióxido de titânio também podem ser produzidas por métodos verdes usando plantas (SUMAN et al., 2015; SIVARANJANI e PHILOMINATHAN, 2016) e extratos fúngicos (DURAIRAJ et al., 2014), bem como por micro-ondas (ESTRUGA et al., 2010), sonoquímica (HASSANJANI-ROSHANA et al., 2011) e procedimentos sol-gel. A técnica de sol-gel é amplamente utilizada para sintetizar nanopartículas de titânio e foi escolhida aqui devido à sua simplicidade e reprodutibilidade (LAZAREVIC et al., 2010; MALEKFAR et al., 2009; ŠALKUS et al., 2012).

Nanopartículas de prata exibem excelente atividade antifúngica contra *Trichosporon asahii* (XIA et al., 2016) e *Candida* spp. (PANACEK et al., 2009), e são capazes de inibir bactérias como *Brucella melitensis* (ALIZADEH et al., 2013), *Pseudomonas chlororaphis* (CALDER et al., 2012) e *Bacillus Subtilis* (BELLISSIMA et al., 2013). Nanopartículas de dióxido de titânio efeitos inibitórios contra as bactérias *Pseudomonas putida* (COMBARROS et al., 2016) e os fungos *Hypocrea lixii* (podridão branca) e *Mucor circinelloides* (podridão parda) (FILPO et al., 2013). Casagrande (2010) avaliou o efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata, ouro, cobre e níquel sob o *Streptococcus mutans* (agente causador da cárie dentária). Em seu trabalho o autor

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

demonstrou que a prata tem um importante efeito antimicrobiano e que este efeito é dependente de contato superficial, em que a prata pode inibir sistemas enzimáticos da cadeia respiratória e alterar a síntese de DNA.

Rajagopal et al. (2006) avaliaram a ação fotocatalítica do TiO_2 na destruição de micro-organismos em biofilmes. Os autores concluíram que há uma diminuição de cinco vezes na contagem de bactérias, devido à formação de H_2O_2 na interface TiO_2 /biofilme.

Filpo et al. (2013) avaliaram o efeito do tratamento de oito tipos de madeira, alguns dos quais são comumente utilizados no domínio do patrimônio cultural, com uma solução de nanopartículas de dióxido de titânio. Estas amostras foram colocadas em contato com duas espécies de fungos, *Hypocrea lixii* e *Mucor circinelloides*, que são conhecidos como sendo responsáveis pela deterioração rápida da madeira. Os resultados mostram que a atividade fotocatalítica das nanopartículas de dióxido de titânio impede a colonização dos fungos nas amostras de madeira ao longo do tempo, principalmente quando comparados com as madeiras que não possuem nenhum tratamento. Desta forma, as nanopartículas podem ser facilmente aplicadas em superfícies por meio de pulverização ou simples “pincelada” e representam um “escudo” que bloqueia a contaminação. Esses materiais (Ag e TiO_2), quando combinados, podem dar origem a materiais chamados compósitos.

Srisitthiratkul et al. (2011) estudaram o uso de nanofibras de TiO_2 decoradas com nanopartículas de prata. As amostras estudadas apresentaram aumento da atividade antimicrobiana após a inclusão de nanopartículas de prata. A fotodegradação do azul de metileno mostrou que a adição de 2% de nanopartículas de prata melhorou significativamente o desempenho fotocatalítico das nanofibras de TiO_2 . Por fim, os autores concluíram que é possível aplicar essas nanofibras híbridas em nanofiltração ambiental e de higiene.

Nanocompósitos de prata e dióxido de titânio foram testados como um agente antimicrobiano (CAO et al., 2011). Pesquisas incluindo nanomateriais como antibióticos cresceram exponencialmente devido ao problema da resistência de patógenos a antibióticos (CONLON et al., 2004).

Muitas metodologias podem ser usadas para avaliar o poder antimicrobiano de nanomateriais. O método de difusão é amplamente empregado, onde o grau de inibição do halo fornece uma indicação da eficácia do material estudado (TURKI et al., 2012);

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

(FREITAS et al., 2014); (PREMA et al., 2017); (RAVICHANDRAN et al., 2016); (TIAN et al., 2016); (NINAN et al., 2014); (AHMAD et al., 2013); (ARSHI et al., 2011). Outra forma de avaliar o efeito antimicrobiano dos materiais é medir a densidade óptica, baseada na escala McFarland, que permite calcular o número de células em uma amostra (SELVAMANI et al., 2016). Neste estudo, ambas as metodologias foram utilizadas, uma vez que apenas um dos nanomateriais pôde ser avaliado pelo método de difusão em disco.

Três diferentes microrganismos (uma bactéria Gram-positiva, uma bactéria Gram-negativa e um fungo) foram utilizados nos testes de eliminação/inibição. A avaliação da eficácia dos materiais estudados foi o primeiro passo essencial no desenvolvimento de produtos a serem utilizados em ambientes reais. Ibrahim et al. (2016) demonstraram em seu trabalho que a nanotecnologia exibe características notáveis para processos de tratamento avançados, robustos e multifuncionais que podem melhorar o monitoramento da poluição.

Desta forma, foram testadas metodologias empregando nanopartículas e nanocompósitos que possuem efeito biocida na tentativa de erradicar bactérias e fungos comumente presentes em material particulado.

2.3.1. Mecanismos de Atuação da Prata e do Dióxido de Titânio sob os microrganismos E.coli, S.aureus e C.albicans.

Jung et al. (2008) estudaram o efeito antibacteriano e o mecanismo de ação de uma solução de íons de prata sob os microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* analisando o crescimento, a morfologia e a ultraestrutura das células bacterianas após o tratamento com a solução de íons de prata. As bactérias foram expostas à solução de íons de prata durante vários períodos de tempo, e o efeito antibacteriano da solução foi testado usando o método convencional de contagem de placas e a análise por citometria de fluxo (FC). Reduções de mais de 5 log₁₀ UFC/mL de ambas as bactérias *S. aureus* e *E. coli* foram confirmadas após 90 min de tratamento com a solução de íon prata.

A microscopia eletrônica de transmissão mostrou mudanças consideráveis nas membranas das células bacterianas após o tratamento com íons de prata, o que pode ser a causa ou consequência da morte celular. Em conclusão, os resultados do presente estudo

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

sugerem que os íons de prata podem fazer com que as bactérias *S. aureus* e *E. coli* atinjam um estado ativo mas não cultivável e eventualmente morram.

Lara et al. (2015) sintetizaram nanopartículas de prata e realizaram ensaios sob o fungo *C. albicans*. Um ensaio fenotípico com este microrganismo demonstrou um bom efeito inibidor dependente da dose de nanopartículas de prata na formação de biofilme, com um IC50 de 0,089 ppm. Além disso as nanopartículas de prata demonstraram eficácia quando testadas contra biofilmes pré-formados de *C. albicans* resultando em um IC50 de 0,48 ppm. O ensaio de citotoxicidade resultou em um CC50 de 7,03 ppm. As diferenças ultra estruturais visualizadas em MEV com tratamento de nanopartículas de prata foram mudanças na aparência da superfície da levedura de suave a áspero assim indicando dano na parede celular externa.

Os autores demonstram que as nanopartículas de prata são potentes inibidores da formação de biofilme de *C. albicans*. Por imagens de MEV foi possível observar a perda global de estrutura de biofilmes, principalmente devido à ruptura da célula externa membrana/parede e inibição da filamentação. A Microscopia de Transmissão indicou a permeabilização da parede celular e subsequente rompimento das camadas estruturais da parede celular fúngica externa. Assim, os autores concluíram que efeitos anti-biofilme são causados pela ruptura da parede celular.

Bonnet et al. (2015) avaliaram a eficiência de morte dos microrganismos utilizando de partículas de dióxido de titânio em suspensão. Duas espécies de *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei rhamnosus* e *Staphylococcus aureus* foram utilizados para testar as atividades antimicrobianas das nanopartículas.

A atividade antimicrobiana destas nanopartículas (NPs) foi investigada considerando-se a concentração de NPs, tempo de irradiação UV, as diferentes espécies de microrganismos e os valores de LC50 da suspensão de nanopartículas por contagem das Unidades Formadoras de Colônias. Na concentração de 1 g/L de TiO₂, as bactérias testadas foram mortas após 30 minutos de foto-tratamento. Os autores concluíram que a bactéria gram positiva (*Staphylococcus aureus*) foi mais resistente que as gram-negativas. Esta resistência pode ser proveniente da presença do gene da catalase em seu genoma e por apresentar uma parede celular mais espessa.

No entanto, os autores relatam que são necessários mais estudos para elucidar os mecanismos de toxicidade induzidos pelas partículas de TiO₂, e relatam ser interessante

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

determinar a concentração intracelular de ROS, o nível de peroxidação lipídica, a integridade da membrana e os danos ao DNA. A análise da expressão gênica por RT-qPCR e/ou RNA-Seq também permitirá avaliar todos os efeitos das nanopartículas nas diferentes vias metabólicas e, especialmente, na via oxidativa.

Leung et al. avaliaram a toxicidade de nanopartículas de ZnO e TiO₂ utilizando *Escherichia coli* como organismo modelo. Ambos os materiais são semicondutores do tipo n de banda larga e podem interagir com moléculas lipopolissacarídicas presentes na membrana externa do microrganismo *E. coli*, bem como produzir espécies reativas de oxigênio (ROS) sob iluminação UV. Apesar das semelhanças em suas propriedades, a resposta das bactérias aos dois nanomateriais foi fundamentalmente diferente. Segundo os autores, quando a geração de ROS foi observada, a toxicidade do nanomaterial foi comumente atribuída aos danos causados na membrana celular causados pela peroxidação lipídica. No entanto, os autores notaram que uma toxicidade significativa não se correlaciona necessariamente com a regulação positiva de proteínas relacionadas a ROS. TiO₂ exibiu significativa atividade antibacteriana, mas o perfil de expressão proteica de bactérias expostas ao TiO₂ foi diferente em relação ao H₂O₂ e as proteínas relacionadas ao ROS não foram fortemente expressas. Por outro lado, o ZnO exibiu menor atividade antibacteriana quando comparado ao TiO₂, e a resposta bacteriana envolveu a regulação positiva de proteínas relacionadas à ERO, similar à resposta bacteriana à exposição ao H₂O₂.

2.4. Força de Adesão

A adesão de partículas micrométricas e nanométricas têm se tornado importante em inúmeros campos, como medicina (MARSHALL et al, 2003; TOUHAMI et al. 2003), microbiologia (ZHANG et al, 2011; DUFRENE, 2002 e ALAM e BALANI, 2017), engenharia química (ASAY e KIM, 2006), engenharia mecânica (KNOLL et al, 2017). e engenharia ambiental (XING et al, 2010 e STAHL et al, 2013). A adesão pode ter consequências negativas e positivas, por exemplo, uma boa adesão é importante para manter uma imagem sob um papel em uma impressão usando tinta em pó. Em contraste, é desejável que o excesso de pó depositado na parede e no chão da cabine de revestimento possa ser limpo facilmente (TAKEUCHI, 2006). Também não é desejável, na indústria

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

de semicondutores, onde partículas finas aderem a componentes eletrônicos que causam a contaminação.

Atualmente, as técnicas mais comumente utilizadas para determinar a força de adesão entre partículas e superfícies são a Microscopia de Força Atômica (AFM- Atomic Force Microscopy) (XING et al, 2010; SALAMEH et al, 2012) e a técnica de centrifuga (PETEAN e AGUIAR, 2015; SALAZAR-BANDA et al, 2007; FELICETTI et al, 2008 e FELICETTI et al, 2009). Mesmo com os numerosos esforços em pesquisa e tecnologia, a adesão entre partículas e substratos está longe de ser compreendida. A adesão entre corpos está diretamente ligada às propriedades físico-químicas dos materiais, como forma, tamanho, rugosidade e composição (PETEAN e AGUIAR, 2015).

A força de adesão entre superfícies e partículas e entre partículas contíguas é resultado da soma das forças eletrostáticas, capilares e Van der Waals. No entanto, a força predominante depende das condições ambientais e das propriedades físico-químicas dos materiais e superfícies em contato. De acordo com Takeuchi (2006), a força de adesão total pode ser calculada como descrito na Equação (3):

$$F_{ad} = F_{vdw} + F_C + F_{el} + F_{quim} \quad (3)$$

Em que:

F_{ad} = Força de adesão total;

F_{vdw} = Força de Van der Waals;

F_c = Força de Capilaridade;

F_{es} = Força eletrostática;

F_{quim} = Forças químicas devido a ligações químicas ou interações ácido-base.

Sabe-se que, nas interações entre partícula-partícula e partícula-substrato, sem ligações químicas, ausência de campo elétrico externo e baixa umidade, a força de adesão pode ser derivada das forças de Van der Waals (SALAZAR-BANDA et al., 2007).

As forças de Van der Waals entre duas partículas são calculadas pela soma das interações entre todas as moléculas dessas duas partículas (FRÖBERG et al., 1999). De

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

forma simplificada, isso é conseguido pela integração, chamado modelo macroscópico. De acordo com Hamaker (1937), as forças de Van der Waals entre uma esfera de diâmetro d_S e uma superfície plana podem ser calculadas pela Equação (4).

$$F_{vdw} = \frac{Hd_S}{12Z_0^2} \quad (5)$$

Em que:

Z₀: Distância de separação entre duas superfícies.

H: Constante de Hamaker, esta constante é dependente das características do material.

A principal dificuldade de uso da Equação 4 é determinar a distância de separação (Z_0) entre duas partículas. No entanto, a força de adesão entre duas superfícies também depende das propriedades do material e da geometria das superfícies. Existem alguns modelos analíticos relatados na literatura para o comportamento mecânico ideal de esfera-esfera ou contatos de esfera-plano. Dois modelos amplamente utilizados são JKR (JOHNSON, KENDALL e ROBERTS, 1971) e DMT (DERJAGUIN, MULLER e TOPOROV, 1975). Esses modelos consideram os sólidos elasticamente deformáveis em contato com as geometrias esfera-esfera ou plano-esfera. Eles preveem uma força de pull-off necessária para separar o sólido que pode ser calculada como:

$$F_{ad} = \frac{3}{2}\pi RW_A \quad (\text{JKR}) \quad (6)$$

$$F_{ad} = 2\pi RW_A \quad (\text{DMT}) \quad (7)$$

Em que:

R: é o raio da partícula no caso de um contato esfera-plano ou o raio reduzido das duas partículas para um contato esfera-esfera.

W_A: É o trabalho de equilíbrio de adesão definido pelo negativo da troca de energia livre de Gibbs por unidade de área de interfaces interativas. Pode ser calculado pela equação de Dupré como:

$$W_A = \gamma_1 + \gamma_2 - \gamma_{12} \quad (8)$$

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Em que:

γ_1 = tensão superficial do sólido 1,

γ_2 = tensão superficial do sólido 2 e

γ_{12} = pode ser calculado como: $\gamma_{12} = \gamma_1 + \gamma_2 - 2\sqrt{\gamma_1\gamma_2}$

A aproximação de Derjaguin é aplicável a partículas perfeitamente rígidas em contato e é válida para sistemas em que a distância de separação entre a esfera e o substrato é muito menor do que o raio da esfera (sonda). Nas medidas de forças de adesão, esta suposição sempre se aplica, mas essa aproximação pode falhar nas forças de contato (de longo alcance). Deve-se lembrar que as partículas e os substratos se deformam elasticamente ou plasticamente sob cargas aplicadas durante a adesão e a análise de partículas e substratos requer modelos de mecânica de contato mais precisos que incluam um componente de deformação física (SALAZAR-BANDA et al., 2007).

Os modelos JKR e DMT apresentaram algumas diferenças. No modelo JKR, assume-se que as forças atrativas atuam apenas dentro da área de contato partículas-substrato, já Derjaguin et al. (1975) incluíram forças de superfície de longo alcance que operavam fora da área de contato partículas-substrato.

Existem algumas maneiras de determinar a força de adesão entre partículas-partículas e partículas-superfícies. Drelich et al. (2004) utilizou a técnica AFM para determinar as medidas de força de *pull-off*. A medida envolve o contato de uma sonda de (raio R) com uma amostra planar. A correlação entre a força de tração (F) e a energia superficial do material (γ_S) é:

$$F = 2c\pi R\gamma_S \quad (9)$$

Em que: c é uma constante: no modelo DMT, c = 2, e no modelo JKR, c = 1.5.

Kaushik et al. (2007) avaliaram o efeito no desprendimento de esferas de poliestireno de tamanho micrométrico e partículas de alumina rugosas utilizando microscopia de força atômica. Um trabalho semelhante foi conduzido por Xing et al. (2010) para determinar a adesão entre as superfícies de um polímero. Neste estudo

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

objetivava-se avaliar a força necessária que a agulha de AFM deveria ter para remover completamente uma camada de polímero do substrato.

Vale ressaltar que os modelos descritos acima são modelos teóricos para a previsão das forças de Van der Waals. Nas medidas de força feitas experimentalmente, utilizando a técnica AFM, a Lei de Hooke é considerada para o cálculo em que:

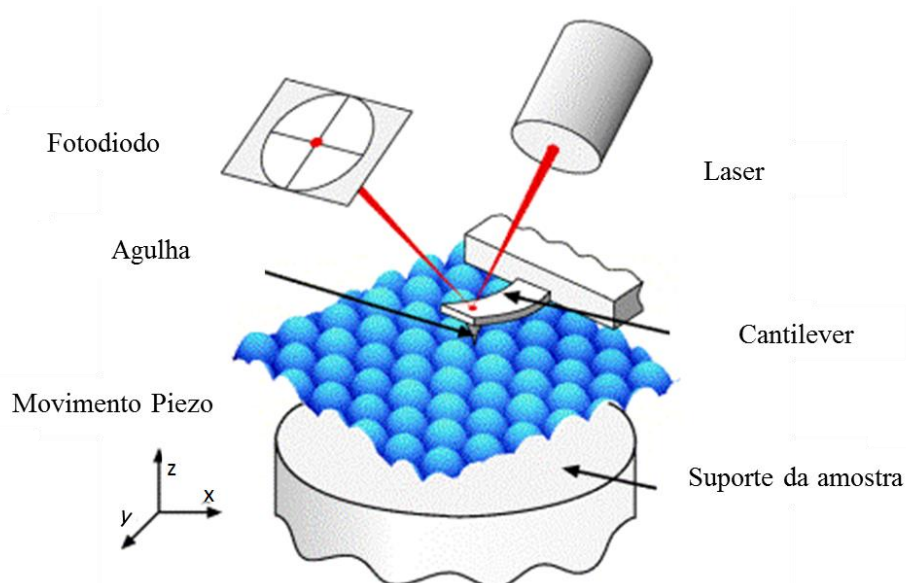
$$F = kx \quad (10)$$

Nesta equação k é a constante de mola (em medidas de AFM é a constante de mola do *cantilever*) e x é deslocamento de massa do seu ponto de equilíbrio (nas medidas AFM x é a medida da deflexão do *cantilever*).

2.5. Microscopia de Força Atômica

A Microscopia da Força Atômica foi inventada em 1986 por Binnig, Quate e Gerber (BINNIG et al., 1986). Este equipamento pode medir precisamente as forças de superfície e as superfícies da imagem com alta resolução. No AFM (Figura 2), a amostra é escaneada por uma agulha, que está anexada ao final de uma mola em um *cantilever*.

Figura 2: Esquema de um Microscópio de Força Atômica.



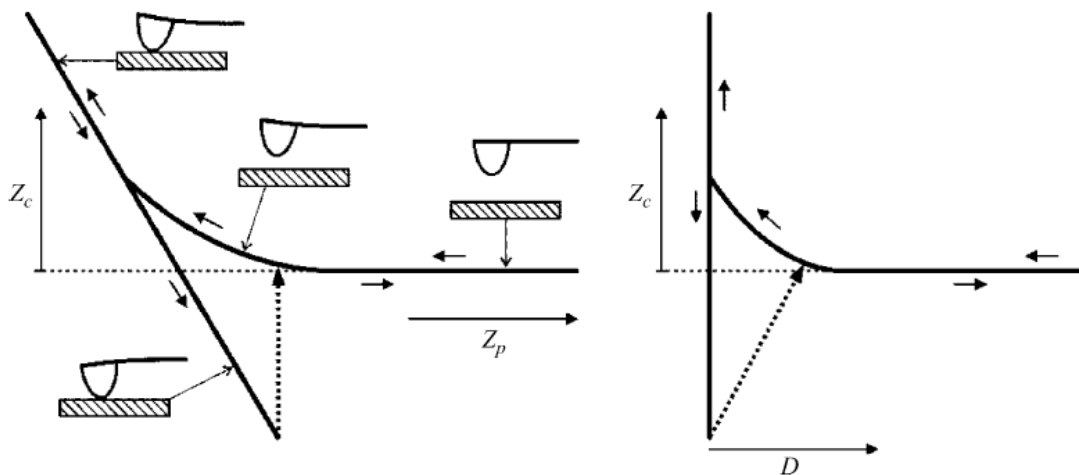
Fonte: Wyart et al (2008).

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Durante o escaneamento, a força entre a agulha e a amostra é medida considerando a deflexão do *cantilever*. Uma imagem topográfica da amostra é obtida traçando a deflexão do *cantilever* em relação à posição da amostra. Também pode ser plotado, alternativamente, a posição de altura da fase de tradução. Essa altura é controlada por um loop de feedback, que mantém uma força constante entre a agulha e a amostra (BUTT et al., 2005).

Em medidas de força, a amostra é movida para baixo e para cima por meio de uma aplicação de tensão no transdutor piezoelétrico, onde as amostras estão localizadas e, assim, medindo a deformação do *cantilever*. A Figura 3 mostra a típica deflexão do *cantilever*.

Figura 3: Esquema de uma típica deflexão de *cantilever* vs altura do piezo (Z_c -vs.- Z_p) curva (esquerda) e Z_c vs D plotado, com $D = Z_c + Z_p$.



Fonte: Butt et al (2005) .

A medida da força é o resultado da medida da deflexão da Z_c do *cantilever* versus a posição do Piezo Z_p , normal à superfície. É possível obter a força versus distância, multiplicando a deflexão do *cantilever* pela constante de mola (k_c), de modo que:

$$F = k_c Z_c \quad (\text{Lei de Hooke}) \quad (11)$$

A distância de separação entre a agulha e a amostra (D) é calculada pela soma da deflexão do *cantilever* e a deflexão da posição.

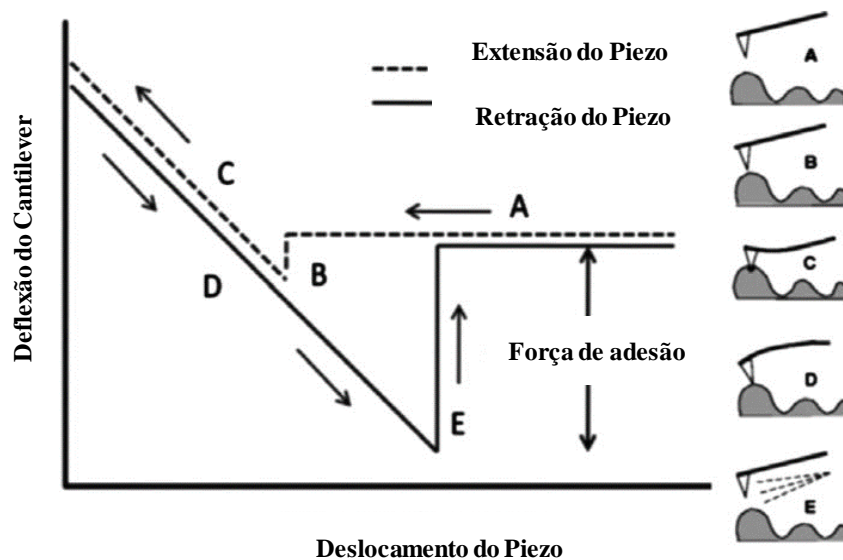
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

$$D = Z_p + Z_c \quad (12)$$

Em que D é denominado "distância" (BUTT et al., 2005).

A Figura 4 apresenta o diagrama de uma típica deflexão x deslocamento do *cantilever* em várias etapas (A-E). No ponto (A), a agulha está próxima à superfície da amostra a uma velocidade constante. No ponto (B), existem várias forças atrativas de curto e longo alcance, essas forças permanecem até o gradiente de força total exceder a rigidez do *cantilever*. A certa distância ao longo da curva (C), a ponta AFM forma uma ligação com a superfície da amostra, faz com que a cabeça do scanner se mova em uma distância além do ponto de contato inicial (B) durante o processo de retração. À medida que a cabeça do scanner continua a se afastar da amostra (D), as interações adesivas entre a agulha e a superfície da amostra são superadas no ponto (E) à medida que a agulha retorna à sua posição original (YAKUB e SOBOYEJO, 2012).

Figura 4: Esquema de um diagrama de deflexão-deslocamento típico em *cantilever* com destaques das várias etapas (A-E) da agulha do AFM.



Fonte: Yakub e Soboyejo (2012).

Na maioria das vezes, a deflexão do *cantilever* é medida pela técnica de alavanca óptica. Um esquema dessa técnica é mostrado na Figura 5. Um feixe de laser é focado na

CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

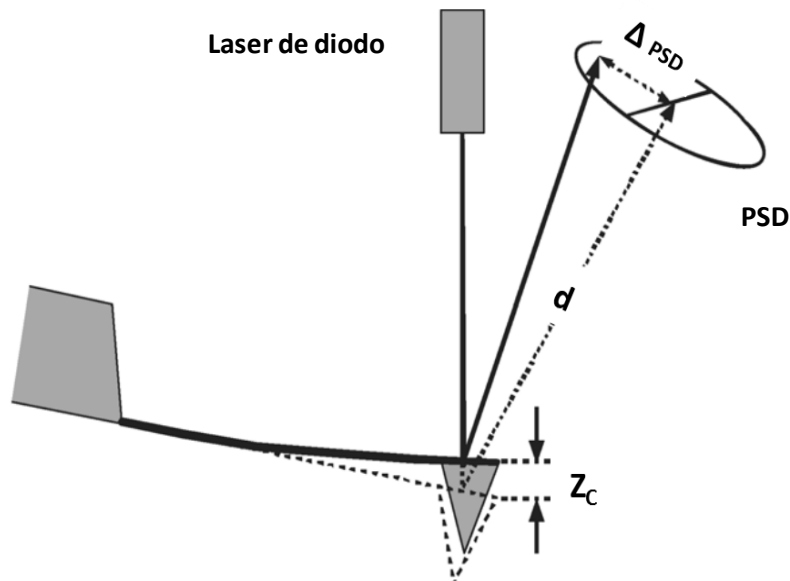
extremidade do *cantilever* e a posição de reflexão deste feixe é monitorada por um detector sensível a posição (PSD). Quando uma força é aplicada à agulha, as dobras do *cantilever* e o feixe de luz refletida movem-se através de um ângulo igual a duas vezes a mudança final $\alpha = \Delta (dZ_c / dX)$. Se o detector estiver a distância d do *cantilever*, o ponto do laser se desloca no detector através de uma distância (BUTT et al., 2005).

$$\Delta_{PSD} \approx 2d \tan \alpha = \frac{FL^2 d}{EI} \quad (13)$$

A deflexão do *cantilever* pode ser escrita como:

$$Z_c = \frac{FL^3}{3EI} = \frac{\Delta_{PSD} L}{3d} \quad (14)$$

Figura 5: Diagrama da alavanca de luz para detectar a deflexão do *cantilever*.



Fonte: Butt et al (2005).

Em que: Δ_{PSD} é a distância que o ponto do laser move no PSD, d é a distância entre a extremidade do *cantilever* e o PSD e Z_c é a deflexão do *cantilever*.

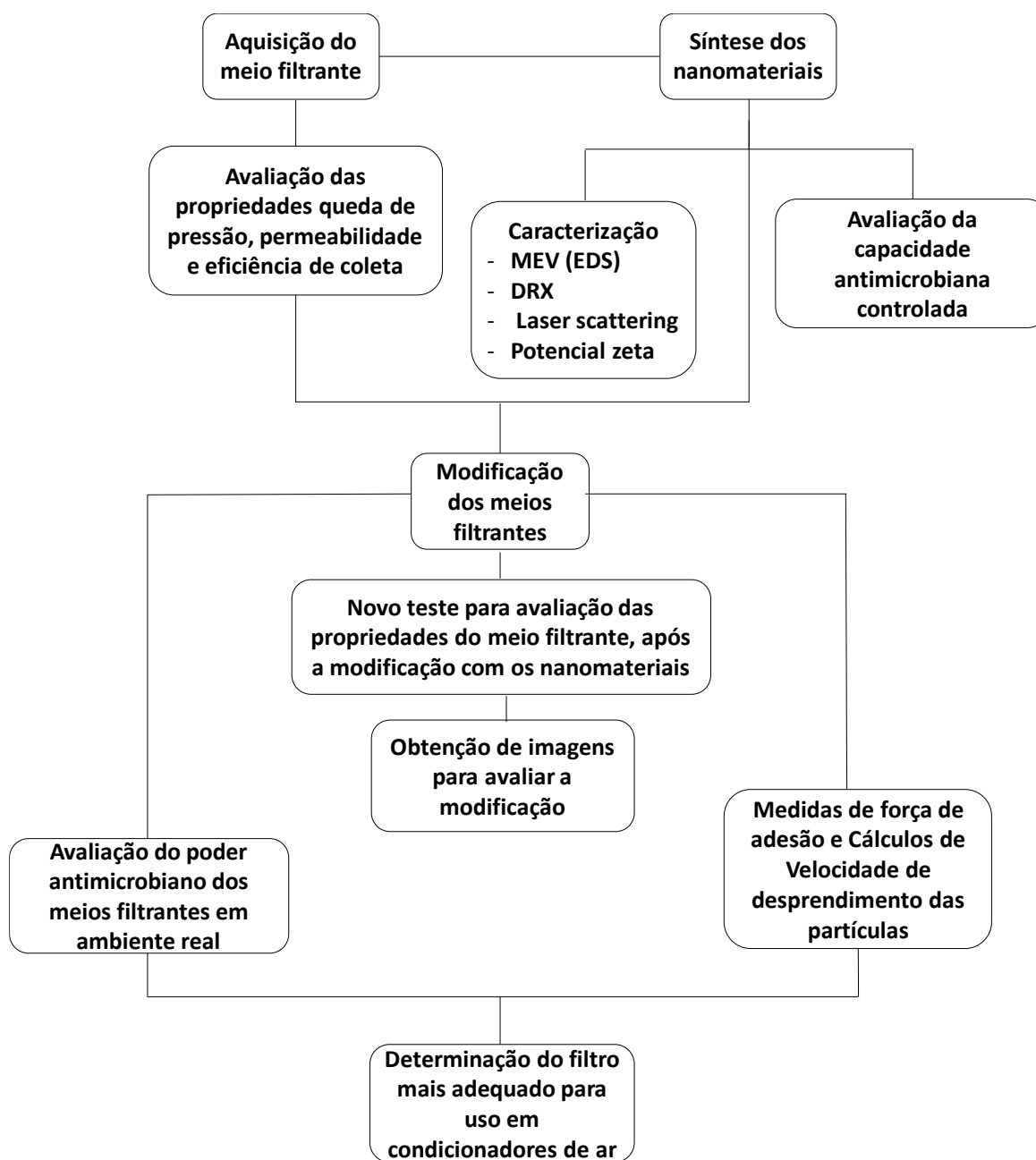
Após a apresentação dos conceitos essenciais para o entendimento do trabalho desenvolvido, estão descritos na próxima seção os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento dos estudos propostos.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão descritos os principais procedimentos e equipamentos utilizados para a coleta dos dados e avaliação dos parâmetros propostos. Na Figura 6 está apresentado um fluxograma das principais etapas do trabalho.

Figura 6: Fluxograma das principais etapas do trabalho.



Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Meio Filtrante

O meio filtrante utilizado foi cedido pela empresa Filtracom e corresponde a um meio filtrante do tipo HEPA de composição de fibra de vidro. Outros meios filtrantes foram inicialmente testados e não foi obtido êxito nas modificações. Estas modificações não foram possíveis devido à alta permeabilidade destes filtros e, conseqüentemente, a não adesão dos materiais nas fibras destes meios filtrantes.

3.1.1. Caracterização do meio filtrante

O meio filtrante foi caracterizado em termos da queda de pressão, permeabilidade e eficiência de coleta. Esta caracterização foi feita antes e após a modificação com os nanomateriais.

3.1.1.1. Queda de pressão, Permeabilidade e Eficiência de coleta

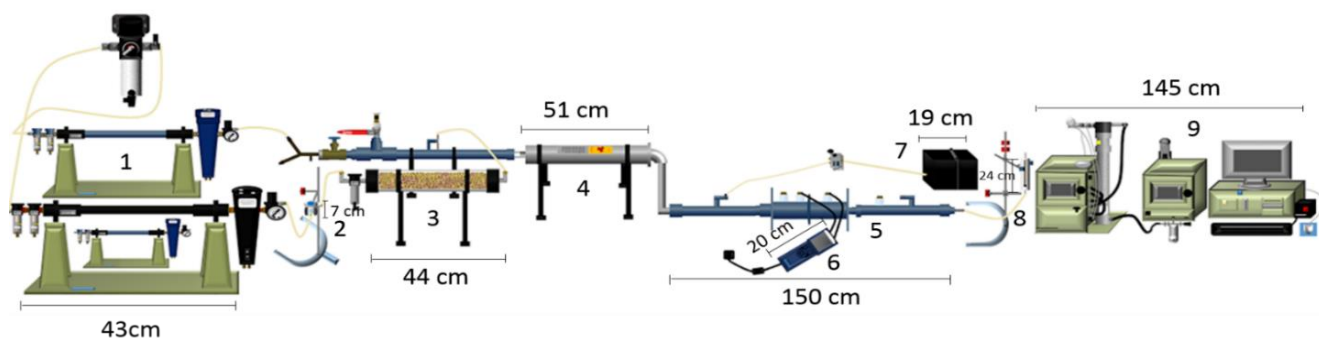
As medidas de queda de pressão (utilizadas posteriormente para o cálculo de permeabilidade) e a Eficiência de coleta foram realizadas utilizando-se o equipamento ilustrado na Figura 7. Este equipamento consiste em (1) Filtros de purificação, (2) Gerador de aerossóis (descrito com mais detalhes abaixo), (3) Secador por difusão, (4) Neutralizador radioativo (I), (5) Suporte do meio filtrante, (6) Manômetro, (7) Neutralizador radioativo (II), (8) Rotâmetro e (9) Classificador, contador e Computador para aquisição de dados.

Para as medidas de queda de pressão, inicialmente, o meio filtrante foi cortado na dimensão adequada (124,6mm de diâmetro) para ser alocado ao suporte. Posteriormente, com auxílio do rotâmetro, variou-se a vazão de fluido que atravessava o meio filtrante. A cada variação efetuada, um valor para a queda de pressão era registrado e posteriormente utilizado no cálculo de permeabilidade. Para as medidas de eficiência de coleta, foi necessária a adição de partículas para que fossem contadas antes e após o meio filtrante, e assim, por meio da diferença do número de partículas, obter-se a eficiência de coleta do meio filtrante para a determinada faixa de tamanho de partículas. Para isso, o gás transportador foi purificado e prosseguiu para o gerador de aerossol. Após a geração, o aerossol seguiu para o secador de difusão onde a umidade foi removida. Em seguida, o aerossol passou pelo

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

neutralizador e seguiu para o suporte do filtro (onde estava localizado o filtro HEPA). No último passo, o aerossol seguiu para o classificador e contador de partículas. A solução utilizada para o teste de eficiência de coleta foi de DEHS assim como nas principais normas de classificação de filtros (EN 779 e ISO 16890).

Figura 7: Equipamento utilizado para medidas de queda de pressão, eficiência de coleta e geração do aerossol dos nanomateriais.



1- Filtros de purificação, 2- Gerador de aerossóis, 3- Secador por difusão, 4- Neutralizador radioativo (I), 5- Suporte do meio filtrante, 6- Manômetro, 7- Neutralizador radioativo (II), 8- Rotâmetro e 9- Classificador, contador e Computador

Fonte: Rosa et al, 2017.

3.2. Preparação das nanopartículas de Prata

As nanopartículas de prata foram preparadas pela redução de nitrato de prata, fazendo para isso, o uso de soluções de citrato de sódio pelo método padrão descrito por Turkevich et al (1951). Em um erlenmeyer de 250 mL foram adicionados 125 mL de uma solução 1,0mM de AgNO_3 , em seguida, o erlenmeyer foi colocado em uma placa aquecedora de um agitador magnético. Com o auxílio de uma pipeta graduada foram gotejados 5mL da solução de citrato de sódio 0,04M. A reação foi realizada durante 3 minutos com agitação de 1200 rpm e aquecimento de 100°C. Nesta etapa, houve o aparecimento da coloração amarelada que indica a total redução dos íons prata com conseqüente formação de nanopartículas de prata. Posteriormente, o erlenmeyer foi retirado do aquecimento e foi colocado em outro agitador magnético a frio com velocidade de 1200 rpm por 5 minutos; nesta etapa, a tonalidade amarela tornou-se cada vez mais intensa. A solução foi resfriada a temperatura ambiente. Esta metodologia foi definida no projeto de mestrado realizado pela autora e

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

mostrou-se eficiente na produção de suspensões estáveis de nanopartículas de prata com tamanho médio de 50 nm.

3.3. Preparação das nanopartículas de TiO₂

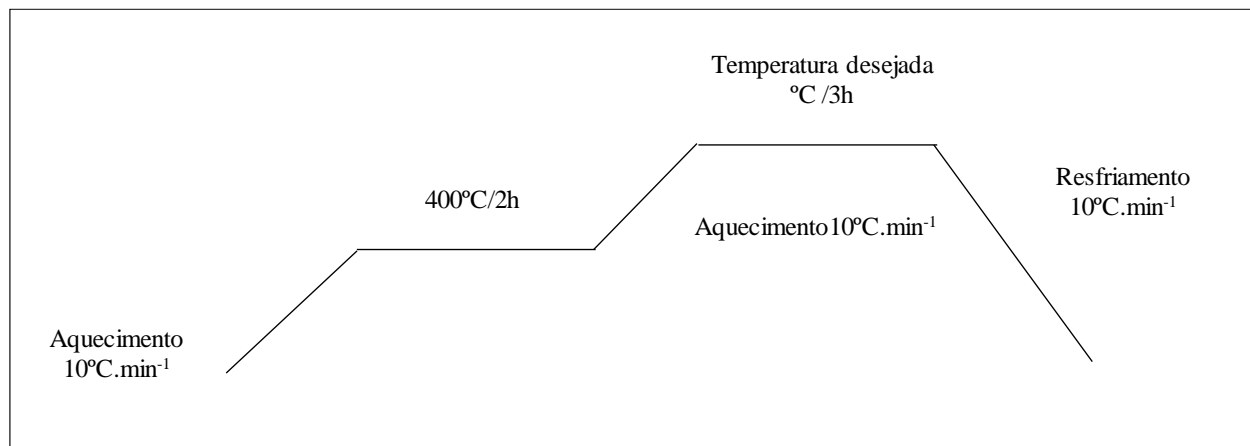
Existem inúmeros métodos de preparo de nanopartículas de dióxido de titânio descritos na literatura. Um dos métodos bastante empregados para a síntese é o método de Pechini (1967), também conhecido como método do precursor polimérico. Para a realização desta síntese, inicialmente o citrato de titânio foi preparado. Para tal síntese fixou-se a razão molar 3:1 entre ácido cítrico e isopropóxido de titânio (IV). Em seguida dissolveu-se o ácido cítrico em água sob constante agitação e aquecimento a 70°C. Posteriormente o isopropóxido de titânio foi dissolvido na solução de ácido cítrico o qual foi adicionado em cotas de 10mL, mantendo-se as mesmas condições de temperatura e agitação. Após alguns minutos foi obtida uma solução límpida e estável. Esta solução foi deixada sob agitação por 3 horas e posteriormente filtrada. A quantidade de sólido obtido foi gravimetricamente determinada como TiO₂.

A gravimetria foi feita por calcinação em um cadinho de alumina o qual foi previamente limpo e seco em estufa, em seguida o mesmo foi transferido para uma mufla a uma temperatura de 1000°C para realizar o tratamento térmico. Em seguida, após o tratamento, o cadinho foi resfriado a temperatura ambiente e posteriormente pesado. Posteriormente 5 mL de citrato de titânio foi adicionado ao cadinho e em seguida o mesmo foi levado à uma chapa aquecedora para evaporar o solvente remanescente. Em seguida, o cadinho foi calcinado em forno mufla para a evaporação de orgânicos, com uma razão de aquecimento de 10°C/min com o tratamento térmico de 900 °C em 120 min. Após a síntese do citrato, o etileno glicol foi adicionado ao cadinho para promover a polimerização pela reação de poliesterificação entre o citrato de titânio e o etileno glicol. Foi seguida a relação molar entre o ácido cítrico e o etileno glicol de 60:40%, em massa. Após a polimerização a 120 °C foi formada uma resina límpida e bastante viscosa. A resina foi levada à mufla a uma temperatura de 400°C por 2h onde ocorreu a formação do “puff” (polímero pirolisado) e a liberação de parte da matéria orgânica (COSTA et al., 2006). Após esta etapa, o material foi desaglomerado por moagem em almofariz de ágata e peneirado em malha 200 (74µm). O material foi novamente calcinado a 900 °C para completa eliminação da matéria orgânica e

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

oxidação do cátion metálico. A Figura 8 ilustra as etapas de calcinação realizadas no decorrer da síntese das nanopartículas de TiO_2 .

Figura 8: Etapas de calcinação do TiO_2 sólido.



Fonte: Acervo Pessoal.

3.4. Preparação dos nanocompósitos Ag/TiO₂

Os nanocompósitos Ag/TiO₂ foram preparados como segue: O Butóxido de Titânio (IV), (C₁₆H₃₆O₄Ti, 5 ml, 0,014 mol) foi adicionado a ácido acético (C₂H₄O₂, 9,6 ml, 0,16 mol) com agitação contínua. O nitrato de prata (AgNO₃, 0,121 g, 7,12 × 10⁻⁴ mol, razão Ag / Ti = 0,05) foi dissolvido em 30 ml de água destilada e após este procedimento adicionou-se o agente dispersante goma arábica (GA) (foram adicionadas 0,9 g na mistura descrita acima). A mistura foi aquecida a 60 °C durante 30 minutos para a dissolução completa do agente de dispersão. A solução de prata foi esfriada até à temperatura ambiente e o butóxido de titânio foi adicionado gota a gota, a solução foi agitada vigorosamente. O citrato de sódio (agente redutor) foi adicionado à solução, sob agitação vigorosa durante 3 horas a 60 °C. Foram utilizados 3,56mL de agente redutor na concentração de 0,4M. Para evaporar os materiais orgânicos, a solução foi calcinada em uma mufla a 400°C por 1h, a uma razão de aquecimento de 10 °C/min, em um cadinho de alumina previamente tratado (tratamento termico a 1000 °C por 30 min). Em seguida, o material foi desaglomerado por moagem em almofariz seguido de um peneiramento em peneira de malha 200 (74 μm) e posteriormente o cadinho foi colocado novamente na mufla a 900 °C por mais 2 h para completar a síntese do TiO₂.

CAPÍTULO 3:

MATERIAIS E MÉTODOS

3.5. Caracterização dos nanomateriais

Os nanomateriais foram caracterizados em tamanhos, potencial zeta (medida da estabilidade das suspensões geradas), composição e cristalinidade.

3.5.1. Análise de tamanho e de Potencial Zeta dos nanomateriais

As análises de tamanho e de potencial Zeta foram feitas utilizando o equipamento modelo Zetasizer Nano ZS90 da marca Malvern. As suspensões dos três nanomateriais analisados foram preparadas na concentração 0,17g/L com uma porcentagem de 2,5% do surfactante Dodecilsulfato de sódio da marca Sigma Sigma-Aldrich, 99% de pureza. O equipamento utilizado opera na faixa de tamanho de 2 nm a 3 µm. O tamanho das partículas é medido baseado no movimento Browniano das partículas numa amostra usando Espalhamento Dinâmico de Luz (Dynamic Light Scattering (DLS)). O equipamento utilizado pertence ao Laboratório de P&D em Processos Farmacêuticos e Biotecnológicos (LAPROFAR/ USP Ribeirão Preto).

3.5.2. Análise da composição dos nanomateriais

A composição dos nanomateriais foi avaliada utilizando os equipamentos Philips XL-30 FEG e FEI Magellan 400L ambos com detector EDS acoplado (Os equipamentos pertencem ao LCE-UFSCar). O EDS quando combinado com ferramentas de imagem, pode proporcionar a análise elementar em áreas muito pequenas da amostra. O impacto do feixe de elétrons sobre a amostra produz raios X, que são característicos dos elementos presentes na amostra. A Análise EDS pode ser utilizada para determinar a composição elementar de pontos individuais da amostra ou até mesmo para mapear a distribuição dos elementos da amostra como um todo. Este instrumento, conhecido como instrumentos de microanálise é então utilizado para identificar e quantificar, na escala microscópica, os elementos químicos presentes na amostra.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.5.3. Análise da Cristalinidade dos nanomateriais

A cristalinidade dos nanomateriais (apenas os que se apresentavam na forma sólida) foi determinada com utilizando o Difratorômetro AXS Analytical X - Ray Systems Siemens D 5005, operando com 1600 W de potência, 40 kV x 40 mA, radiação Cu-K alfa, comprimento de onda $\lambda=1.54056 \text{ \AA}$, inerente ao tubo de cobre. As intensidades obtidas em ângulos 2θ com variações de 5° a 60° ($2^\circ/\text{min}$).

3.6. Geração do aerossol e Modificação dos meios filtrantes

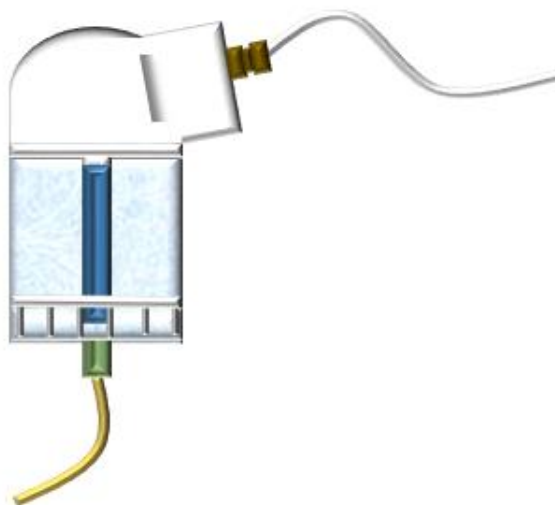
Os filtros foram modificados pela deposição por aspersão de nanopartículas em sua trama. Os filtros foram modificados em um período de duas horas com suspensões de concentração de $0,17 \text{ g/mL}$ de cada um dos três nanomateriais e velocidade de 5 cm/s através da geração do aerossol dos nanomateriais utilizando o equipamento ilustrado na Figura 6.

Para a geração do aerossol foi utilizado um inalador comercial (facilmente encontrado em farmácias populares) da marca NS, modelo I-205. Este dispositivo é composto por um reservatório para armazenamento do líquido (do qual irá ser gerado o aerossol) e um bocal de saída. Neste dispositivo o ar comprimido penetra pela parte inferior do reservatório e é direcionado a passar por um orifício localizado em seu interior. O ar comprimido em contato com o fluido a altas velocidades e ocasiona a atomização. Neste aparato, as gotas maiores são removidas por meio de impactação inercial e retornam ao reservatório. A névoa de gotas pequenas segue o fluxo do ar e passa por um secador de difusão e as partículas já secas são alimentadas pela corrente de ar que compõe a linha principal. Este gerador de partículas foi desenvolvido no laboratório de Controle Ambiental (sob a supervisão da Professora Vádila Giovana Guerra Béttega) e pioneiramente utilizado no trabalho de Zoccal, 2015.

O gerador de partículas utilizado pode ser visualizado na Figura 9.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 9: Inalador comercial utilizado para gerar o aerossol dos nanomateriais Ag, TiO₂ e Ag/TiO₂.



Fonte: Acervo Pessoal

Após a geração do aerossol e a modificação dos meios filtrantes, foram feitas imagens de microscopia eletrônica de varredura para confirmar a existência das nanopartículas aderidas ao meio filtrante.

3.7. Teste “in vitro” da capacidade antimicrobiana dos nanomateriais

Com o intuito de avaliar a capacidade de inibição/erradicação dos nanomateriais foram feitos testes “in vitro” com concentrações conhecidas de microrganismos e de nanomaterial.

3.7.1. Microrganismos testados na contaminação controlada.

Os microrganismos escolhidos para contaminação controlada dos filtros foram:

- ***Escherichia coli*** (ATCC 11775): Bactéria bacilar Gram-negativa;
- ***Staphylococcus aureus*** (ATCC 29213): Bactéria esférica (do grupo dos cocos), Gram-positiva;
- ***Candida albicans*** (Coleção de culturas): Fungo leveduriforme;

CAPÍTULO 3:

MATERIAIS E MÉTODOS

Estes microrganismos foram escolhidos por representarem diferentes tipos de patógenos e por serem comumente encontrados em todos os ambientes.

3.7.2. Preparação da solução para utilização da escala de McFarland

Inicialmente foram preparadas duas soluções, uma solução de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 1% e uma solução de cloreto de bário (BaCl_2) a 1,175%. O preparo da solução final foi feito adicionando 9,95 mL da solução de ácido sulfúrico e 0,05 mL da solução de cloreto de bário a um tubo de 10 mL. Esta solução apresentou uma concentração de $1,5 \times 10^8$ g/mL. A solução foi armazenada a temperatura ambiente e ao abrigo de luz. O precipitado de sulfato de bário, quando ressuspensionado, corresponde à densidade conferida pelo cultivo dos microrganismos em meio líquido, na concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

3.7.3. Escolha do Agente dispersante para estabilização dos nanomateriais

Para a realização dos testes iniciais de efeito antimicrobiano foram utilizados os meios filtrantes modificados com cada um dos três nanomateriais. Contudo, notou-se que a concentração de material contida em cada porção do meio filtrante (1 cm^2) era muito baixa e os erros relativos obtidos estavam acima do valor aceitável (erros superiores a 10%). Estes erros tornaram este procedimento inviável. Os testes seguintes foram feitos apenas com o nanomaterial. Para estes testes, foram adicionados 2,5 mg dos nanomateriais sólidos (TiO_2 e Ag/TiO_2) em 14,85 mL de meio de cultura e 0,15 mL do inóculo do microrganismo, no entanto, ocorria a sedimentação do material e este ficava retido no fundo do tubo ocasionando um gradiente de contato entre o material e o inóculo.

Baseado nestas evidências julgou-se necessário a utilização de um agente dispersante que fosse capaz de manter as nanopartículas suspensas. Para isso, inicialmente foram utilizadas as concentrações de 0,1, 0,3, e 0,5% m/v do agente dispersante Dodecilsulfato de sódio (SDS) da marca Sigma-Aldrich com 99,0% de pureza. Os testes foram realizados e notou-se que no branco (tubos contendo o meio de cultura e o inóculo de 10^3 células de cada microrganismo) havia menos células do que no controle (tubos contendo o meio de cultura, o agente dispersante e o inóculo de 10^3 células de cada microrganismo). Estes resultados demonstraram que o SDS promoveu a morte dos microrganismos e então se optou por

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

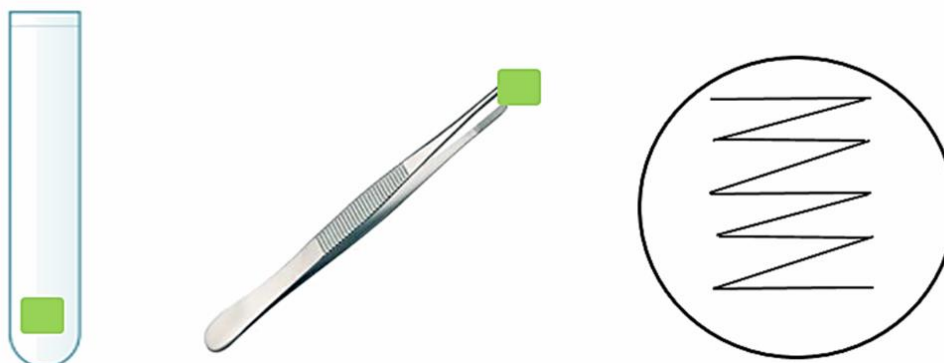
utilizar o tensoativo Polisorbato 80 (nome comercial Tween 80) que é frequentemente utilizado na indústria alimentícia e que possui toxicidade baixa em pequenas concentrações. Os resultados destas constatações serão apresentados na seção 4.

3.7.4. Ensaios para averiguação do poder antimicrobiano dos filtros e materiais em estudo

3.7.4.1. Ensaio de esfregaço em placa de Petri

Para realizar o ensaio 1 foram cortados pedaços do filtro de 1 cm² e estes foram autoclavados. Após este procedimento as porções do filtro foram colocadas em um tubo de ensaio contendo 10³ células dos microrganismos juntamente com o meio de cultura e foram deixadas por 5 minutos até que ocorresse a contaminação do meio filtrante. Em seguida foi feito o “esfregaço” do meio filtrante na placa de Petri contendo os meios de cultura específicos para o melhor crescimento de cada um dos microrganismos. Este esfregaço foi realizado em placas de Petri onde os fragmentos do meio filtrante eram esfregados na placa. Para isto, foi necessário flambar uma pinça, deixar esfriar e tomar o pedaço do meio filtrante contaminado para, em seguida, semear em ziguezague toda a superfície da placa. Este tipo de semeadura é comumente empregado para o isolamento bacteriano e/ou obtenção de UFCs isoladas. Neste trabalho teve-se a intenção de realizar a contagem de UFC's. A placa de Petri juntamente com o inóculo foi deixada por 24 h em estufa a 37 °C para avaliar o crescimento dos microrganismos. A Figura 10 descreve este procedimento.

Figura 10: Ilustração do procedimento de esfregaço do meio filtrante em placa.



Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.7.4.2. Teste de difusão em disco ou Teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA)

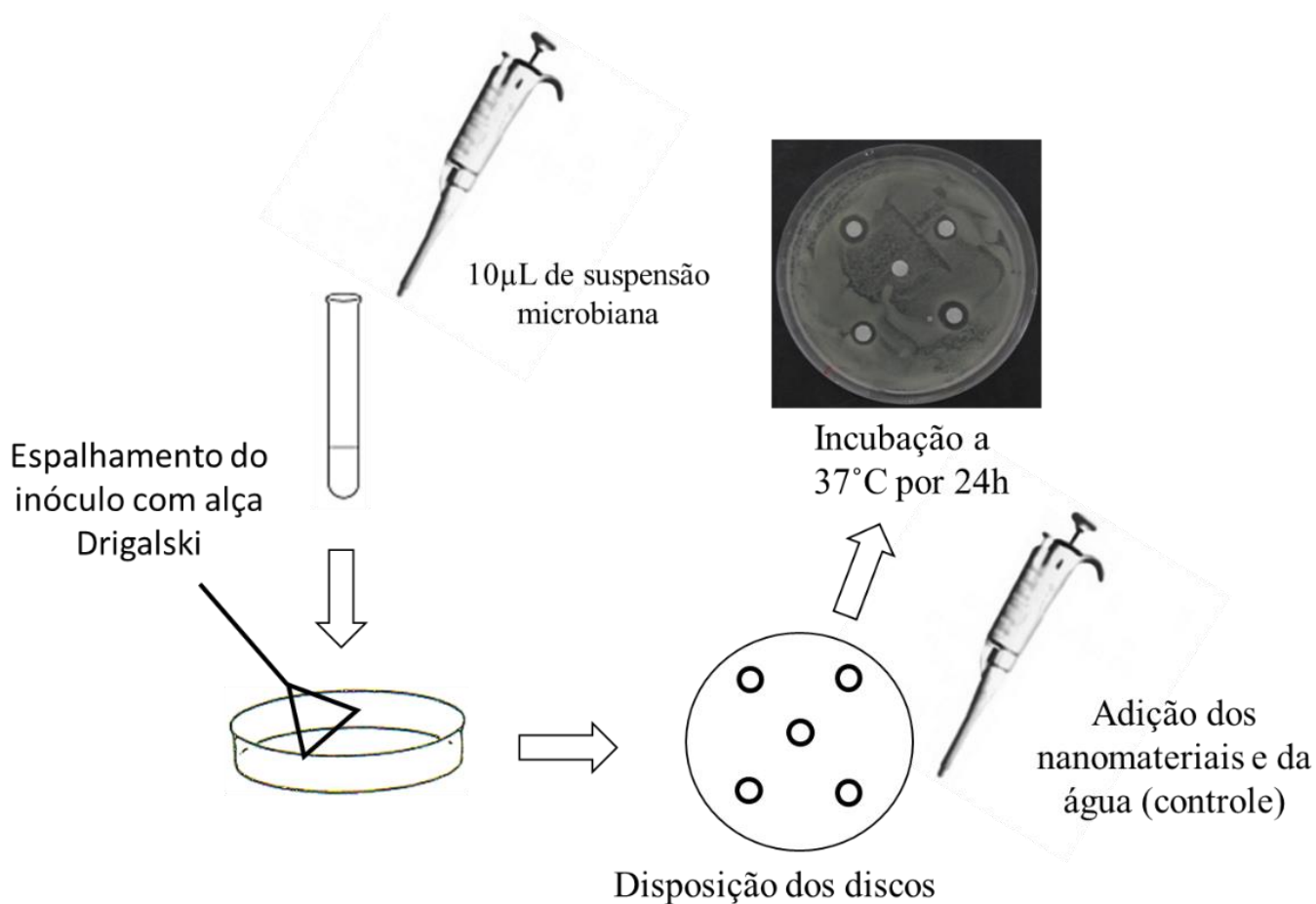
Segundo Barry & Thornsberry (1991) o teste de difusão em disco é aceito pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e estabelecido como padrão pelo NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*). Rabanal et al. (2002) e Karaman et al. (2003) sugeriram os testes de disco-difusão os quais consistiam na adição de 10 µL da solução de agente antimicrobiano em discos de papel de filtro de 6 mm de diâmetro, nas diferentes concentrações a serem testadas, estes autores variaram de 31,25 a 500 µg/mL.

Este ensaio foi realizado com o objetivo de avaliar a sensibilidade microbiana em relação aos nanomateriais. O procedimento consistiu inicialmente na suspensão das colônias em salina estéril (85%) até se obter uma turvação correspondente a 10^7 UFC/mL na escala de McFarland. Após isto, 10 µL desta suspensão foram adicionados nas placas contendo o meio de cultura Muller-Hinton ágar. Em seguida, com auxílio de uma alça de Drigalski foi realizada semeadura por toda a superfície da placa, procurando abrange-la em totalidade. Depois disto, com o auxílio de uma pinça flambada colocou-se os discos de papel filtro sobre a superfície do meio inoculado, exercendo-se uma leve pressão nos discos para que eles aderissem ao meio de cultura. Após estes procedimentos as placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Os diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano ao redor de cada disco foram medidos com o auxílio de um halômetro. As medidas foram tomadas em milímetros.

O halo de inibição para cada material testado (antibiótico) normalmente é interpretado nas categorias sensível, intermediário ou resistente, de acordo com os critérios estabelecidos pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) M100-S18, 2008 (revisado anualmente), M2-A9, 2006 (documento de disco difusão, revisado a cada três anos), (CLSI 2006, 2008). No entanto, os materiais em estudo não são classificados como antibióticos por isso não são encontrados na lista CLSI. A Figura 11 ilustra o método TSA, já a Figura 12 ilustra a maneira com que foram dispostos os filtros e a quantidade do nanomaterial utilizada. Este método também é conhecido como teste de disco-difusão em ágar e foi proposto por Bauer e Kirby (1966).

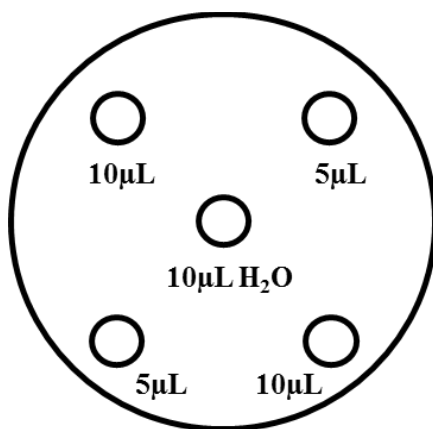
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 11: Ilustração do método para Teste de Sensibilidade Antimicrobiana (TSA).



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 12: Apresentação esquemática dos discos sob a placa e as respectivas concentrações de nanomaterial.



Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

3.7.4.3. Ensaio em meio líquido utilizando a escala McFarland (Medida de densidade ótica)

Para realização deste ensaio foram cortadas amostras de 1 cm² dos filtros modificados com os três nanomateriais e estes foram autoclavados. Após serem esterilizados, os meios filtrantes foram condicionados em um tubo de ensaio contendo o meio de cultura líquido (Muller Hinton, Kasvi) e os indicadores (microrganismos). O tempo do inóculo foi de 24 h e após este período foi realizada a análise espectrofotométrica da densidade ótica (D.O.) da cultura microbiana.

Utilizou-se um método indireto para avaliar a turbidez da cultura microbiana. Para estimar a concentração celular um feixe de luz foi emitido em uma suspensão microbiana e foi parcialmente desviado pelas células, a porcentagem de luz não desviada (transmitância, T) foi medida por meio de um espectrofotômetro. A Densidade Ótica (D.O.) da cultura corresponde à Absorbância, e foi determinada com base na expressão $D.O. = \log(I_0/I)$, em que I_0 é a intensidade da luz incidente e I é a intensidade da luz transmitida através da suspensão de células.

O comprimento de onda utilizado foi 625 nm, pois este comprimento de onda é comumente utilizado para medir a Densidade Ótica de suspensões de células de bactérias ou leveduras. Existe, com algumas limitações, uma relação linear entre a Absorbância ou D.O. da cultura e o número total de células por mililitro de suspensão, ou seja, a concentração celular.

Utilizando este método não foi possível identificar se as células eram viáveis ou mortas, bem como não permitiu obter diretamente os valores absolutos da concentração de células. Este método foi especialmente utilizado quando se pretendia confirmar se uma dada cultura se encontrava em crescimento ou para acompanhar o crescimento microbiano com base no aumento da D.O. medida a um comprimento de onda particular.

Realizando o método como descrito anteriormente não foi possível observar uma eliminação significativa de microrganismos. Uma hipótese possível para tal comportamento foi que a concentração de nanomaterial presente na área de 1cm² não foi suficiente para promover a morte/ inibição dos microrganismos. Assim, optou-se por aumentar a concentração do nanomaterial no meio, adicionando a massa de nanomaterial contida na área total de um filtro que será utilizado em um teste real. Este filtro possui a área de 40,71 cm²

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

e para a sua modificação são utilizados 15 mL de uma suspensão 6 µg/L o que representa uma massa de 2,5 mg do nanomaterial. Para o ensaio seguinte, foram preparados tubos com 15 mL do meio de cultura Muller Hinton e nestes foram adicionadas 10^3 células dos microrganismos, 2,5 mg do nanomaterial a ser estudado e 1%v/v do agente dispersante escolhido (Tween 80) após a realização do teste de toxicidade. Os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por 24 h e posteriormente foram feitas as leituras de densidade óptica.

Cabe ressaltar que foram feitos ensaios de controle (tubos contendo o meio de cultura, o microrganismo e o Tween 80) e branco (tubos contendo o meio de cultura e o microrganismo) para garantir a ausência de contaminação e para que houvesse uma referência para a comparação dos dados.

3.8. Testes dos meios filtrantes em ambiente real.

Com o objetivo de avaliar o efeito antimicrobiano dos meios filtrantes modificados com os nanomateriais, foram feitos testes em um ambiente aqui denominado de “ambiente real”. Este nome foi dado por representar um ambiente comum onde encontramos uma grande variedade de microrganismos, configurando-se assim, um ambiente real.

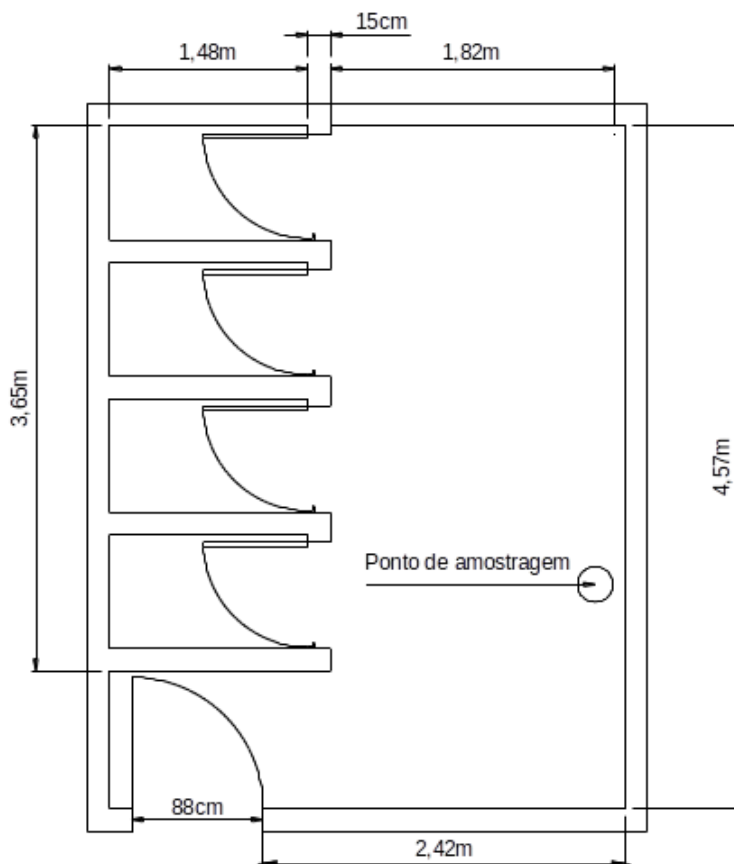
3.8.1. Local de coleta

O banheiro feminino do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de São Carlos foi escolhido como o local de coleta por ser um local de intenso tráfego. O banheiro foi escolhido pois acredita-se que banheiros são locais potencialmente contaminados por fungos e bactérias, e, visto que, a ideia do trabalho é avaliar o efeito dos filtros modificados com nanomateriais e que há a necessidade de existência dos microrganismos, este local foi definido como um local ideal de trabalho. O tempo de amostragem foi de 1 h e a vazão escolhida para os testes foi de 600 L/h. Esta vazão de ar foi escolhida com o objetivo de simular a vazão da respiração de um homem em repouso.

Na Figura 13 está apresentada a planta baixa do banheiro utilizado como local de coleta.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 13: Planta baixa do banheiro localizado no DEQ/UFSCar (local de coleta).



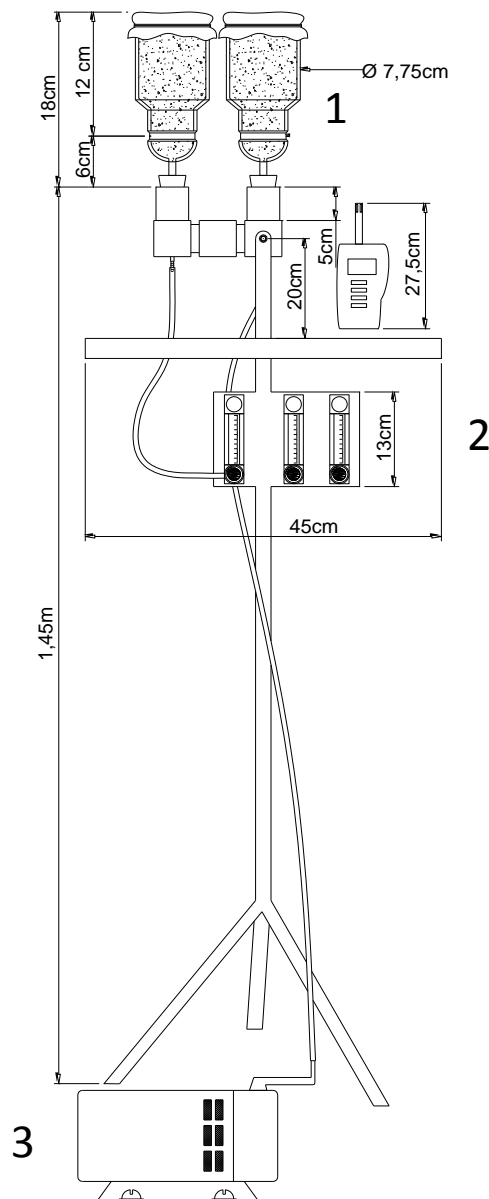
Localizado: Departamento de Engenharia Química/ UFSCAR, 2018.

3.8.2. Coleta do Bioaerossol

Os bioaerossóis foram coletados utilizando-se um sistema de filtração. Para coletar e determinar o número de microrganismos existentes foi realizada uma filtração do ar do local escolhido utilizando um sistema de filtração especialmente construído para tal finalidade, de acordo com Catranis et al. (2006). O sistema é composto por dois funis com garra, marca Nalgene, modelo 315-0047; três medidores de vazão tipo rotâmetro marca ASA, escala de 400 a 1600 L/h e uma bomba de vácuo, da marca Fisatom, modelo 820, conforme observado na Figura 14. O funil com a garra é fixado em uma haste, cuja altura em relação ao solo é ajustável e, nesta pesquisa, foi utilizada a altura de 1,45 m.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 14: Equipamento utilizado para a coleta do material particulado.



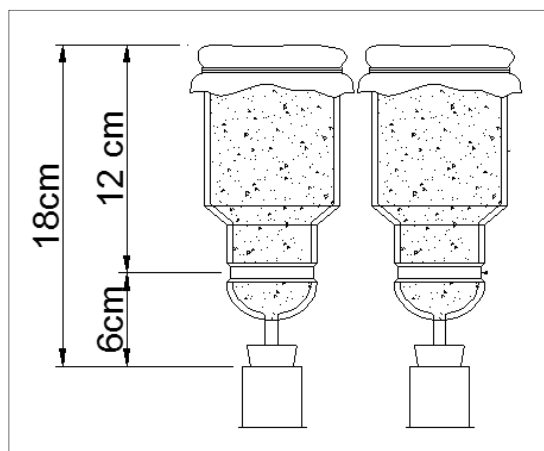
- 1- Suporte dos meios filtrantes,
2- rotâmetros, 3- bomba à vácuo.

Localizado: Laboratório de Controle Ambiental DEQ/UFSCAR, 2018.

Os componentes do sistema de filtração descrito na Figura 14 são apresentados com mais detalhes na Figura 15.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 15: Detalhes dos componentes de filtração.



Localizado: Laboratório de Controle Ambiental DEQ/UFSCAR, 2018.

No suporte ilustrado na Figura 15 são ilustrados os filtros HEPA “branco” e modificado dispostos lado a lado. Estes filtros foram dispostos desta maneira, com o intuito de medir simultaneamente o efeito do filtro modificado em relação a um filtro sem modificação.

3.8.3. Preparo do Meio de Cultura e das Placas de Petri

O meio de cultura do tipo Agar Nutriente de composição 5 g/L de peptona e cloreto de sódio, 1,5 g/L de extrato de carne e extrato de levedura e 15 g/L de ágar, marca Merck, série Mikrobiologie foi empregado para a cultura de bactérias e fungos e seu preparo foi efetuado de acordo com as recomendações indicadas no rótulo, o qual corresponde a uma quantidade de 20 g do produto para cada litro de água destilada. Logo após este meio foi armazenado em frascos apropriados e foi esterilizado em autoclave vertical a 120 °C durante 15 minutos a fim de garantir que não havia presença de microrganismos no mesmo. Em seguida o meio foi estocado na geladeira.

Para utilização do meio, o mesmo foi aquecido em forno micro-ondas e, cerca de 10mL do meio foi aplicado em cada placa de Petri as quais foram adquiridas esterilizadas.

Um volume de 50 mL de solução 0,9% de NaCl (cloreto de sódio) foi utilizado para a lavagem dos filtros. Esta solução foi agitada a fim de garantir que todo material particulado estivesse suspenso na solução. Em seguida um volume de 0,5 mL foi transferido para a placa de Petri e com ajuda de uma alça de Drigalski este volume foi espalhado pela placa. O cultivo

CAPÍTULO 3:

MATERIAIS E MÉTODOS

dos micro-organismos foi feito em shaker, o qual possibilita o controle de temperatura e agitação os quais foram de 37 °C e 120 rpm. O tempo de incubação foi de 48 h, visto que testes preliminares foram desenvolvidos no trabalho de mestrado da autora.

3.8.4. Determinação da Massa Seca e Porcentagem de Inibição/Eliminação.

A metodologia escolhida para avaliar quantitativamente o teor de micro-organismos foi a de massa seca. Neste método os tubos Falcon (tubos de polipropileno) foram inicialmente dispostos em estufas a 60°C para eliminar toda a umidade presente no mesmo. Em seguida, foram colocados em dessecadores para que a baixa umidade fosse mantida. Posteriormente os tubos foram pesados e foi tomado nota dos valores. Os cultivos foram realizados e após 48 h foram extraídos 10 mL do meio de cultura contendo as células e foram dispostos nos tubos Falcon para posterior centrifugação. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e os tubos contendo as células foram levados à estufa a 60°C. Após 18 h em estufa, os tubos foram retirados e dispostos novamente em dessecadores até atingir a temperatura ambiente. Por fim os tubos foram pesados. O cálculo da massa seca foi realizado por meio da subtração da massa do tubo da massa do tubo contendo as células. Este procedimento foi feito para ambos os filtros (modificado com os nanomateriais e não modificados).

Para o cálculo do teor de inibição/eliminação foi feito um cálculo considerando-se a massa seca obtida no filtro não modificado como 100% e ponderou-se a massa seca do filtro modificado. Assim, comparando os teores obtidos nos dois filtros, denominou-se teor de inibição/eliminação a diferença dos valores encontrados entre o modificado e o não modificado, visto que os filtros foram dispostos no ambiente interno no mesmo momento e sob as mesmas condições.

3.9. Medidas de Força de Adesão e Trabalho de adesão

Com o objetivo de avaliar a magnitude da força que mantém os nanomateriais aderidos ao meio filtrante, foram realizadas medidas de força de adesão e medidas de trabalho de adesão dos três nanomateriais utilizando Microscopia de Força Atômica.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

As forças de adesão entre fibra e agulha, entre nanopartículas (apenas nanomateriais em pó) e entre nanopartículas e fibras, foram medidas com um microscópio de força atômica (JPK nanowizard 3) no ar à temperatura ambiente com uma umidade relativa constante de 50%. As medidas de força foram realizadas com um cantilever Si_3N_4 (DNP-10 de Bruker/ constante de mola = 0,12 N/m) com uma velocidade vertical do cantilever de 5,06 $\mu\text{m/s}$, 8X8 pontos de medição e um tamanho de varredura de 100 a 500 nm^2 . Essas três medidas diferentes foram feitas para ver se, de fato, a força medida era entre as partículas e meio filtrante.

Para garantir condições constantes, todas as medidas de força foram feitas de forma consecutiva, usando o mesmo cantilever em condições ambientes. As curvas de força foram analisadas seguindo o trabalho de Farshchi-Tabrizi et al. (2006) usando o software R-studio. A utilização do software R demandou o desenvolvimento de um script em que era selecionado o último pico da curva de Força x Deslocamento, e este pico era então correspondente à força de adesão. No Apêndice 1 estão apresentadas imagens da interface do programa JKR o qual foi utilizado para selecionar e tratar as curvas obtidas via AFM e no apêndice 2 encontra-se o *script* desenvolvido e uma imagem da interface do software R.

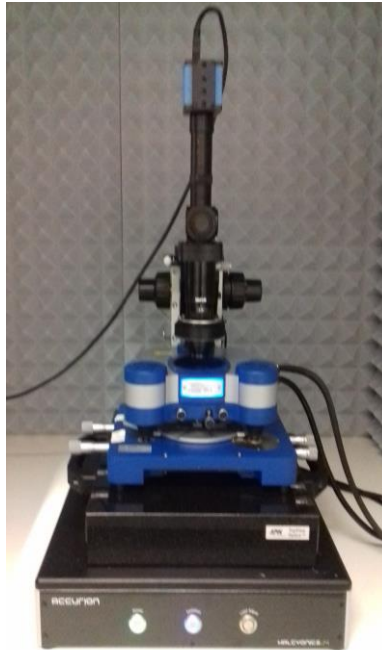
A análise levou em consideração a inclinação da linha de base, subtraindo seu valor daquelas das forças de pico. Foram calculadas a força de adesão média e o trabalho médio de adesão.

A Figura 16 apresenta o Microscópio de Força Atômica utilizado. As análises de força de adesão foram realizadas na Universidade de Bremen sob a supervisão do Professor Lutz Mädler com o apoio da agência de fomento FAPESP (Processo BEPE - 2017/05251-2).

Neste trabalho as forças de adesão foram medidas experimentalmente e calculadas pelos modelos DMT e JKR, no entanto, para saber qual o real efeito destas forças entre partícula e meio filtrante julgou-se necessário realizar cálculos de velocidade de arrasto destas partículas. Estes cálculos levam em consideração a força de adesão ponderando a área da partícula, tornando assim a avaliação mais precisa. No tópico a seguir será discutido como os cálculos de velocidade de arrasto foram realizados.

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

Figura 16: Microscópio de força atômica JPK nanowizard 3.



Fonte: Acervo Pessoal.

3.10. Cálculo da Velocidade de Arrasto das Partículas Aderidas no Meio Filtrante

Com o intuito de avaliar a velocidade necessária para desprender as partículas do meio filtrante, foram feitos cálculos igualando-se a força de adesão (medida experimentalmente) à força de arrasto. A equação 15 corresponde à equação de força de arrasto utilizada nos cálculos da velocidade.

$$F_{Arrasto} = \frac{1}{2} C_D \rho V^2 A \quad (15)$$

Em que:

C_D: coeficiente de atrito;

ρ: densidade do fluido de arraste (neste caso o ar);

V²: velocidade;

A: área da partícula a ser extraída.

O coeficiente de atrito (C_D) é dependente do número de Reynolds, portanto foi necessário fazer o uso de uma correlação empírica entre estes dois parâmetros. Neste trabalho fez-se uma aproximação para esfera e considerou-se apenas a força de arrasto como

CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS

a responsável por retirar a partícula do meio filtrante. A equação 16 foi extraída do livro do Morrison (2013) e foi utilizada para estimar o C_D levando-se em conta a equação 17 (Reynolds).

$$C_D = \frac{24}{\Re} + \frac{2,6\left(\frac{\Re}{5}\right)}{1+\left(\frac{\Re}{5}\right)^{1,52}} + \frac{0,411\left(\frac{\Re}{2,63e5}\right)^{-7,94}}{1+\left(\frac{\Re}{2,63e5}\right)^{-8,00}} + \frac{0,25\left(\frac{\Re}{10e6}\right)}{1+\left(\frac{\Re}{10e6}\right)} \quad (16)$$

$$\Re = \frac{\rho VD}{\mu} \quad (17)$$

Em que:

Re: número de Reynolds;

ρ : densidade do fluido (ar);

D: diâmetro da partícula;

μ : Viscosidade dinâmica do fluido (ar).

Em um processo de cálculo iterativo foi possível encontrar as velocidades mínima e média de arranque de cada um dos nanomateriais estudados.

3.11. Cálculo da Força de Adesão Teórica – Modelos JKR e DMT.

Com o intuito de estimar as forças teóricas de adesão os modelos JKR e DMT foram utilizados. Cálculos simples foram realizados utilizando as equações (5) e (6). As intensidades obtidas foram comparadas com os valores de força medidos experimentalmente (utilizando a técnica de AFM).

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Seguem nesta seção os resultados da caracterização do meio filtrante e nanomateriais, avaliação do poder antimicrobiano dos nanomateriais, avaliação da força de adesão e velocidade de desprendimento entre nanomateriais e fibra do meio filtrante e a análise do poder antimicrobiano dos filtros em ambiente real.

4.1. Caracterização do meio filtrante

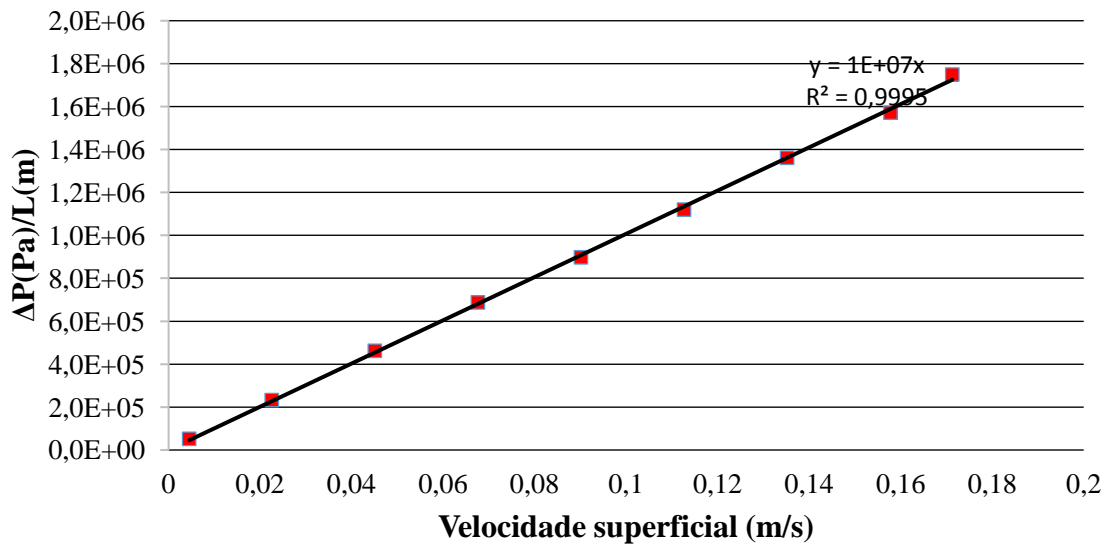
Nesta seção serão apresentados os dados de caracterização do meio filtrante. Para esta caracterização foram avaliados os parâmetros queda de pressão, permeabilidade e eficiência de coleta do meio filtrante HEPA de composição fibra de vidro. Inicialmente obteve-se a queda de pressão através do equipamento ilustrado na Figura 7. Os cálculos de permeabilidade Darciana foram feitos, após a obtenção dos diferentes valores de queda de pressão para diferentes velocidades de filtração, por meio da Equação 2.

A permeabilidade Darciana foi calculada levando-se em conta a curva $\Delta P/L$ x velocidade superficial, em que μ/k_1 corresponde ao coeficiente angular da reta. O valor da permeabilidade encontrado para o filtro HEPA foi de $4,99 \times 10^{-13} \text{ m}^2$. Este valor está bastante próximo dos valores encontrados por Bortolassi (2015). Os valores encontrados por esta autora para os filtros do tipo HEPA fibra de vidro foram $7,28 \times 10^{-13} \text{ m}^2$ e $9,04 \times 10^{-13} \text{ m}^2$. Salussoglia (2016) avaliou meios filtrantes contendo nanofibras e obteve o valor de permeabilidade Darciana de $2,5 \times 10^{-12} \text{ m}^2$. Ao comparar o resultado obtido com o resultado das duas autoras supracitadas, nota-se que há uma convergência, ou seja, apresentam-se na mesma ordem de grandeza para o meio filtrante do tipo HEPA e possui valores próximos ao valor obtido para filtros com nanofibras.

Os experimentos foram feitos em triplicata e na Figura 17 está apresentado o gráfico correspondente à médias dos valores experimentais.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

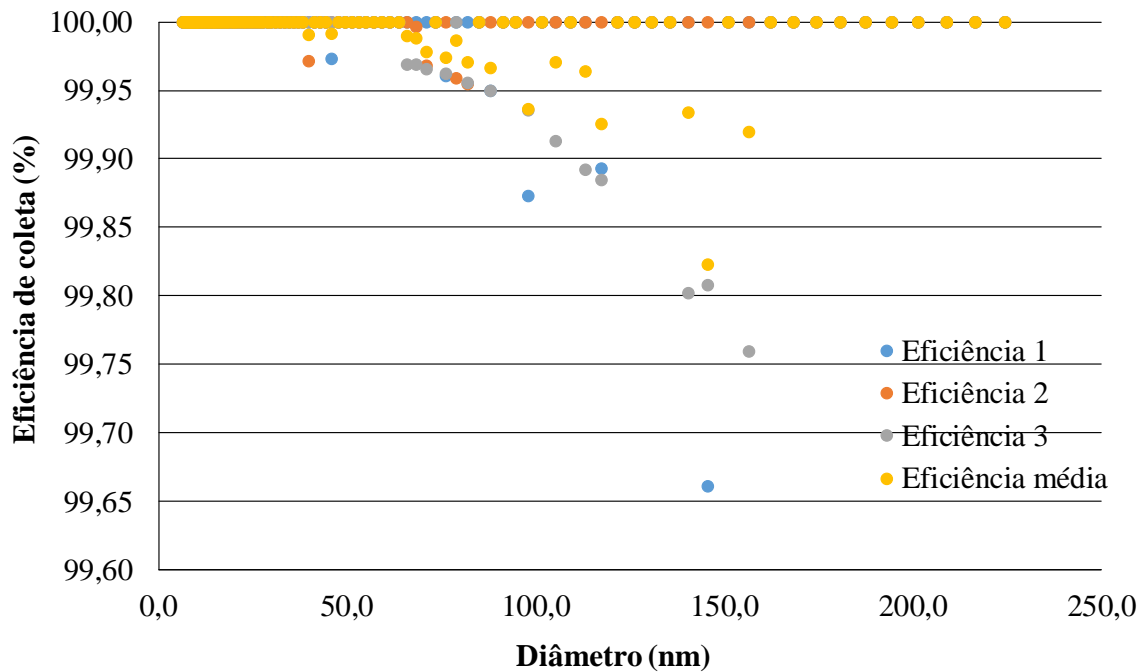
Figura 17: Gráfico $\Delta P/L$ x Velocidade superficial do filtro HEPA.



Fonte: Acervo Pessoal

A Figura 18 apresenta os dados de eficiência de coleta do filtro HEPA para as partículas da solução padrão de DEHS.

Figura 18: Eficiência de coleta do Filtro HEPA.

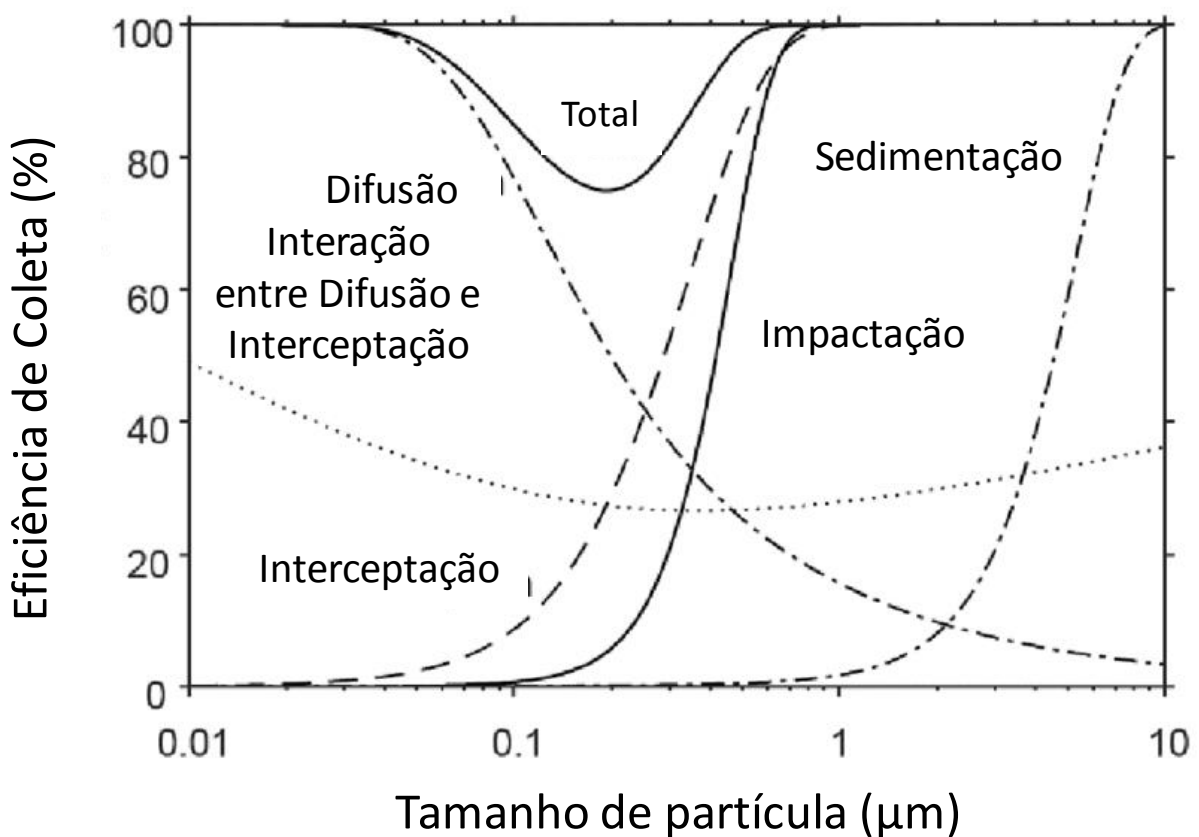


Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise do gráfico apresentado na Figura 18 é possível observar que para toda a faixa de tamanho de partículas varrida a eficiência de coleta foi superior a 99,6%. A eficiência média apresentou valores acima de 99,8%. Estes dados estão de acordo com os dados comumente encontrados para filtros HEPA, que apresentam valores próximos as 100% de eficiência de coleta para todas as faixas analisadas. No entanto nota-se que na faixa de 100 nm há uma queda na eficiência total de coleta. Esta diminuição se deve ao fato de que nesta faixa não há predominância de um único mecanismo de coleta e, a soma dos mecanismos de coleta ocasionada uma queda na eficiência de coleta nesta faixa de tamanho de partículas (entre 0,1 e 1 μm). A Figura 19 ilustra os mecanismos de coleta para uma única fibra.

Figura 19: Eficiência de coleta teórica de acordo com os mecanismos de coleta



Fonte: Adaptado de Hinds, 1999.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

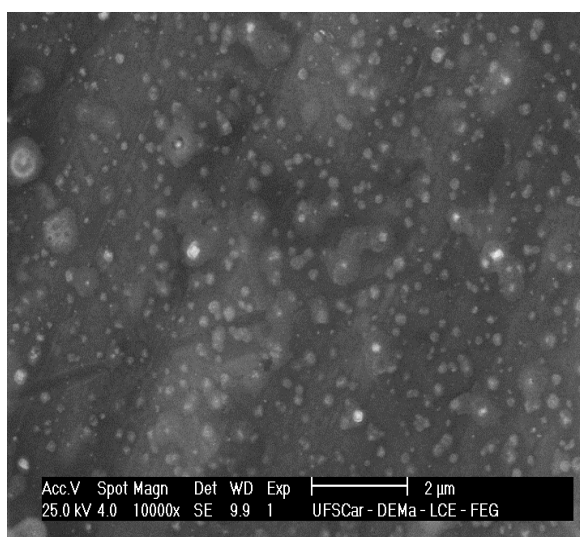
Observa-se que na Figura 19, o mecanismo difusional é o mecanismo mais atuante em partículas menores do que $0,2 \mu\text{m}$, enquanto os mecanismos inercial e de interceptação são predominantes em partículas maiores do que $1,0 \mu\text{m}$. Cabe ressaltar que todas as partículas utilizadas (dos nanomateriais) possuem tamanhos inferiores a $1,0 \mu\text{m}$, portanto, devem ter predominância dos mecanismos de difusão e interceptação direta.

4.2. Caracterização dos nanomateriais

Nessa seção serão apresentados os resultados referentes à caracterização por Microscopia Eletrônica de Varredura (acoplado ao detector EDS), Difração de raios-x e espalhamento de luz dinâmico dos três nanomateriais utilizados, bem como serão apresentadas as imagens do meio filtrante modificado com estes materiais.

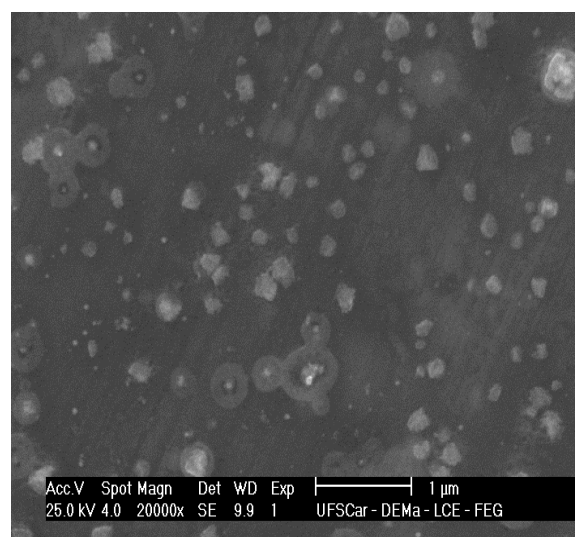
Nas Figuras 20 e 21 estão apresentadas as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de prata. Estas imagens não apresentam boa qualidade pois tratam-se de amostras líquida as quais possuem a necessidade de serem pingadas no amostrador do microscópio, tornando as imagens menos nítidas do que as amostras sólidas que são fixadas diretamente no amostrador.

Figura 20: Imagem de nanopartículas de prata com aumento de 1000x.



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 21: Imagem de nanopartículas de prata com aumento de 20000x.



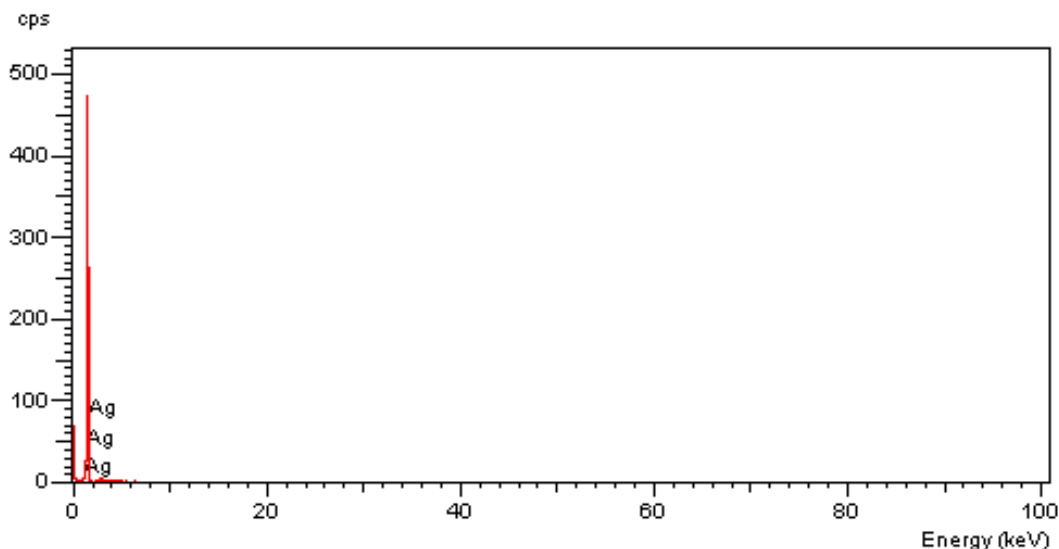
Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a confirmação de que o material sintetizado correspondia a nanopartículas de prata foi realizada uma análise de EDS (Espectrometria por dispersão de energia de raios-X). A Figura 22 ilustra os dados obtidas desta análise.

Figura 22: Espectrometria por dispersão de energia de raios-X das nanopartículas de prata.



Fonte: Acervo Pessoal.

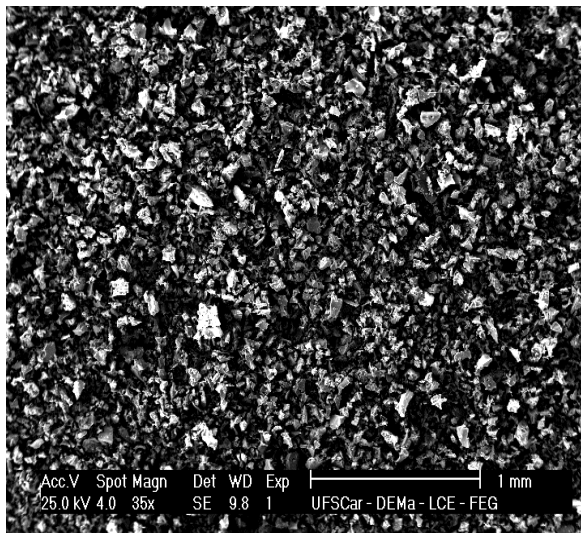
Por meio da análise da Figura 22 é possível observar que há um pico correspondente a prata. Este pico foi obtido na mesma região (em aproximadamente 3 keV) do pico relatado por Hebeish, 2013, (HEBEISH et al. 2013). A análise demonstra que a solução sintetizada era composta deste metal o que faz com que a síntese empregada seja considerada viável. A figura apresenta uma longa varredura (até 100keV) utilizada para buscar a presença de possíveis contaminantes. No entanto, não foi observado nenhum outro pico, caracterizando partículas de prata pura.

Nas Figuras 23 e 24 estão apresentadas as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura das nanopartículas de Dióxido de Titânio.

CAPÍTULO 4:

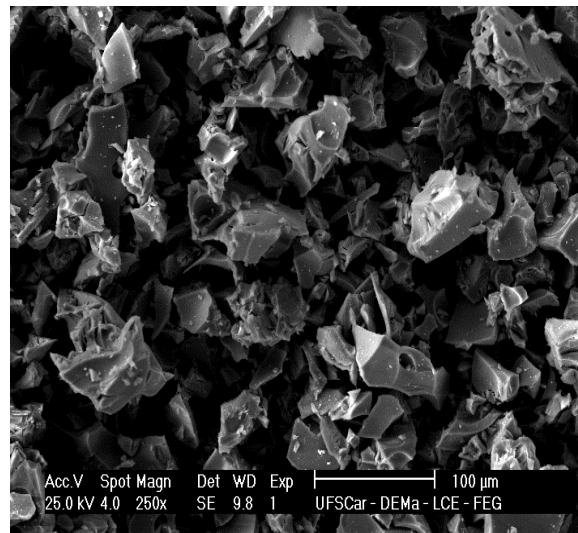
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 23: Imagem de nanopartículas de Dióxido de Titânio com aumento de 35x.



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 24: Imagem de nanopartículas de Dióxido de Titânio com aumento de 250x.



Fonte: Acervo Pessoal

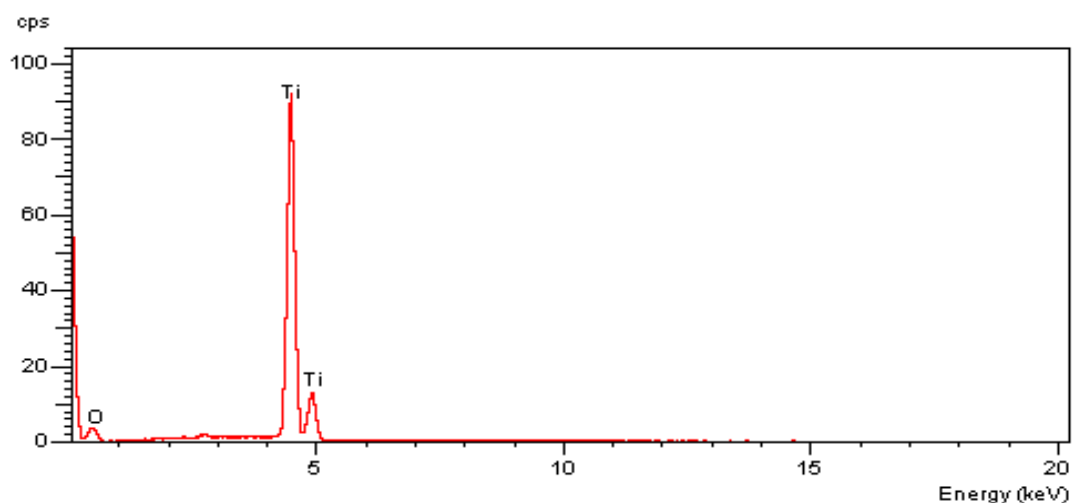
Por meio da Figuras 23 e 24 é possível observar que as partículas sintetizadas possuem dimensões maiores do que aquelas esperadas (superiores a $50\mu\text{m}$). Segundo Costa et al. (2006) estes aglomerados possuem características de aglomerados moles (formados por forças de Van der Waals), pois foram facilmente desaglomerados utilizando almofariz e peneira malha 200. O mesmo autor realizou análises de BET e confirmou que o pó de TiO_2 apresentou elevado valor de área superficial $74,2 \text{ m}^2/\text{g}$, e por conseguinte tamanho de partícula de 21 nm.

Para a certificação de que o sólido sintetizado correspondia a nanopartículas de Dióxido de Titânio foi realizada uma análise de EDS (Espectrometria por dispersão de energia de raios-X). A Figura 25 ilustra os dados obtidos desta análise.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 25: Espectrometria por dispersão de energia de raios-X das nanopartículas de Dióxido de Titânio.



Fonte: Acervo Pessoal

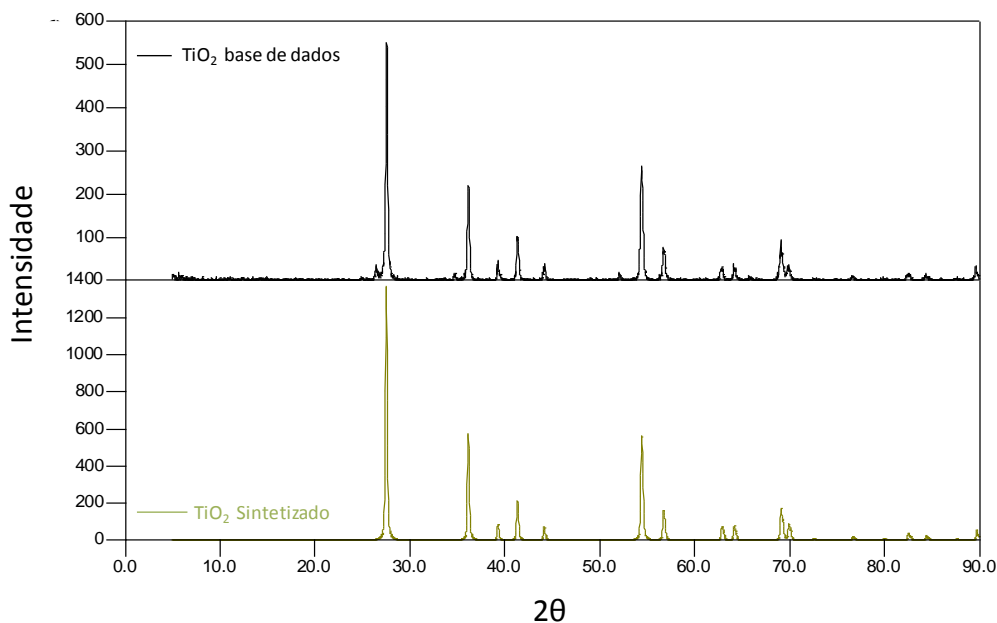
Por meio da análise da Figura 25 é possível notar que há a formação de dois picos correspondentes ao titânio e um pico correspondente ao oxigênio. Desta forma pode-se presumir que o sólido sintetizado corresponde a Dióxido de Titânio o que viabiliza o método de síntese.

Ainda para a obtenção da confirmação de que o sólido sintetizado correspondia a nanopartículas de Dióxido de Titânio foram realizadas análises de difração de raios-x. Nas Figuras 26 e 27 estão ilustrados os difratogramas obtidos. O difratograma espelhado tem o intuito de facilitar a avaliação da coincidência dos picos e, assim, fazer com que o leitor perceba de forma mais nítida que o sólido corresponde ao selecionado no programa de análise.

A comparação do difratograma da amostra sintetizada com o banco de dados do programa Crystallographica Search-Match, considerando os planos de difração, distâncias interplanares e densidade atômica / eletrônica, indicou que o sólido sintetizado corresponde a nanopartículas de dióxido de titânio com estrutura rutílica.

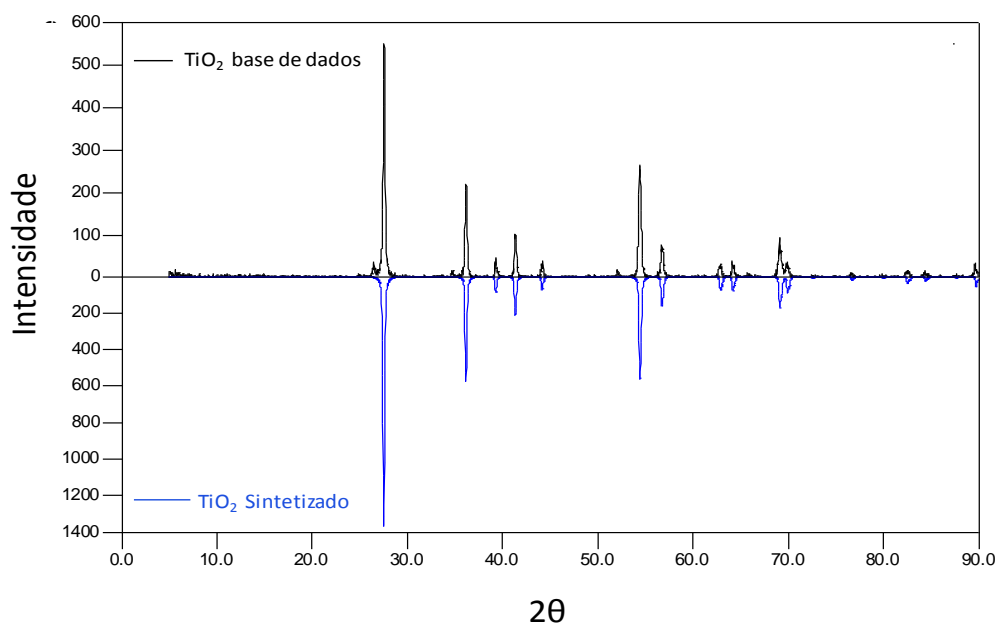
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 26: Difratoograma da amostra de nanopartículas de TiO_2 e background do programa de análise utilizado.



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 27: Difratoograma da amostra de nanopartículas de TiO_2 espelhado no difratograma do background do programa de análise utilizado.



Fonte: Acervo Pessoal

A principal aplicação de difração de raios-x refere-se à identificação de compostos cristalinos. Os planos de difração, as distâncias interplanares assim como as densidades

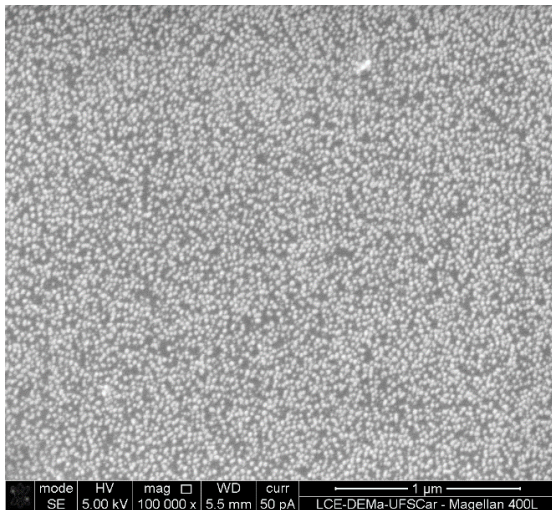
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

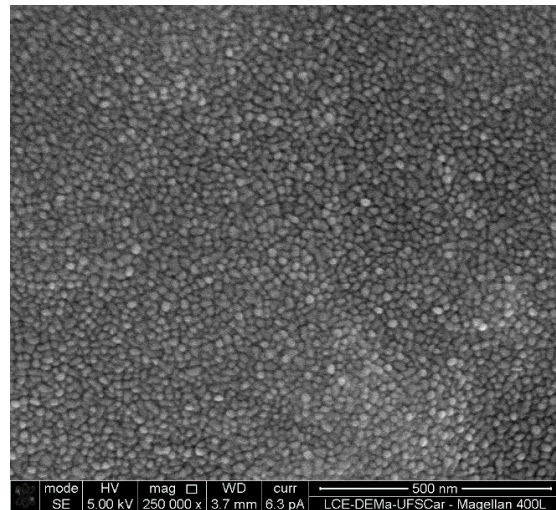
de átomos (elétrons) em cada plano cristalino são característicos e únicos de cada substância cristalina, da mesma maneira que o difratograma gerado para cada substância (similarmente à impressão digital). Desta forma, foi possível concluir que o sólido sintetizado corresponde ao dióxido de titânio assim como previsto.

Nas Figuras 28 e 29 estão apresentadas as imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura dos nanocompósitos Titânia - Prata.

Figura 28: Imagem de nanopartículas de Titânia - Prata com aumento de 100000x. **Figura 29:** Imagem de nanopartículas de Titânia - Prata com aumento de 250000x.



Fonte: Acervo Pessoal



Fonte: Acervo Pessoal

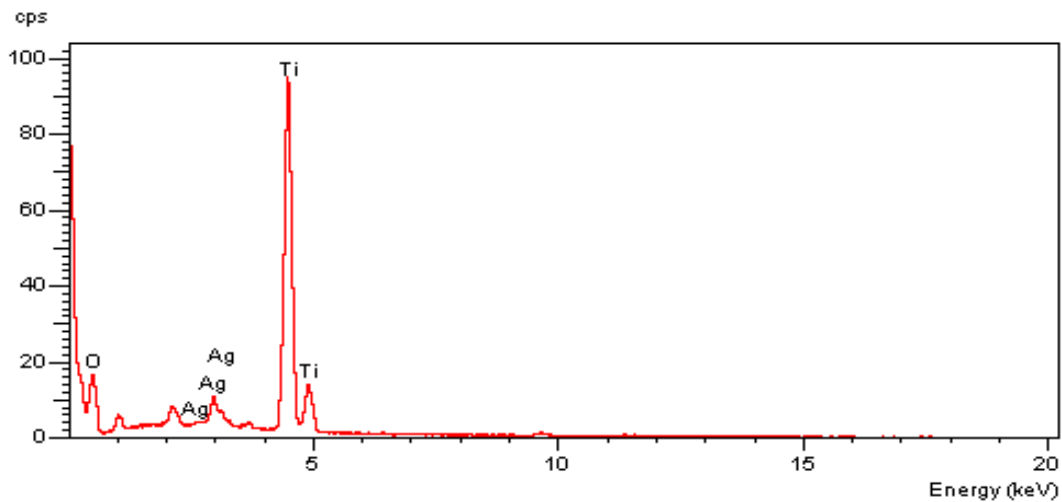
Para a certificação de que o sólido sintetizado correspondia a nanocompósitos Titânia - Prata foi realizada uma análise de EDS (Espectrometria por dispersão de energia de raios-X). A Figura 30 ilustra os dados obtidos desta análise.

Por meio da análise da Figura 30 é possível notar que há picos correspondentes a oxigênio, prata e titânio. A presença de picos destes três elementos diferentes sugere a presença do nanocompósito Titânia-prata.

Ainda para a obtenção da confirmação de que o sólido sintetizado correspondia a nanopartículas de Titânia - Prata foram realizadas análises de linhas de composição que estão ilustradas na Figura 31.

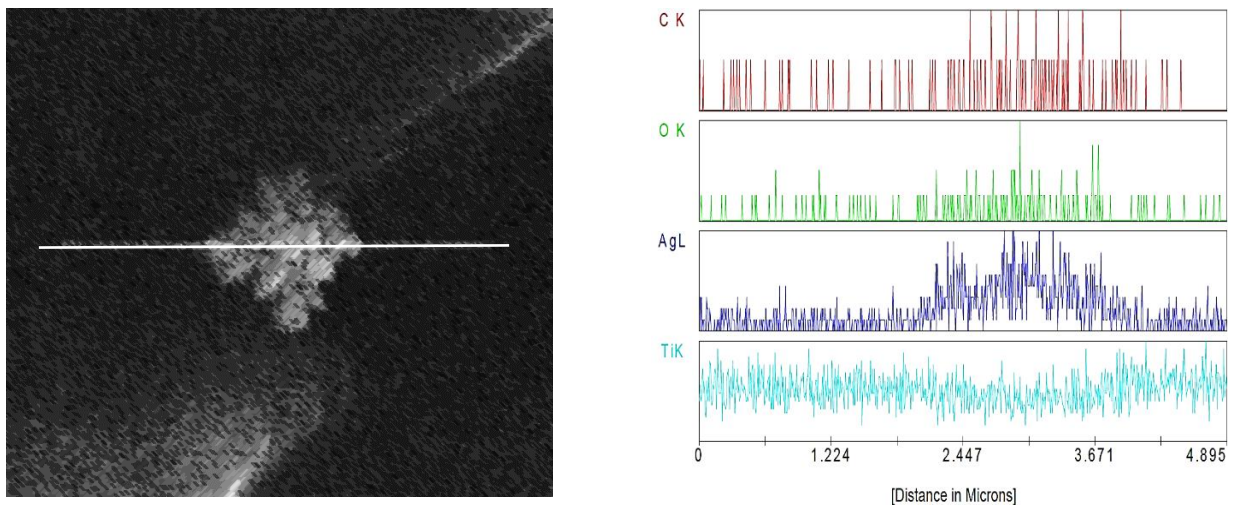
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 30: Caracterização da composição do nanocompósito Ag/TiO₂ por meio de espectroscopia por dispersão de energia de raios-X.



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 31: Linha de composição traçada sobre o nanocompósito Titânia – Prata.



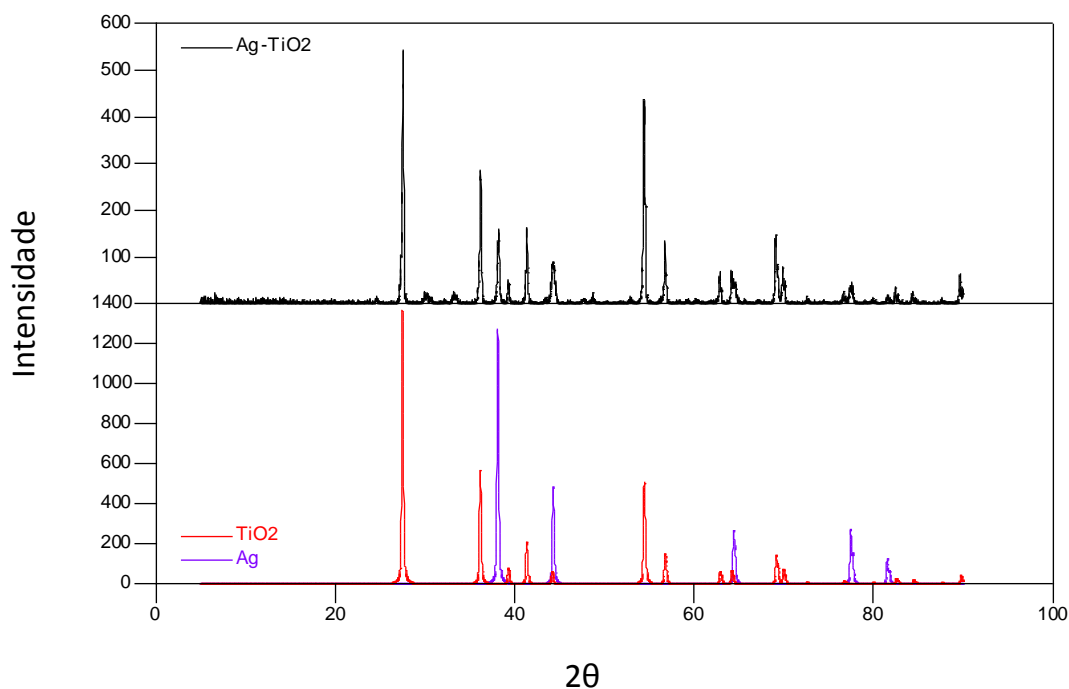
Fonte: Acervo Pessoal

À esquerda da Figura 31 está ilustrado um aglomerado de nanocompósito Titânia – Prata e a linha traçada sobre o compósito teve como resultado a composição apresentada à direita. A linha em vermelho corresponde ao carbono contido na amostra. Este carbono deve ser proveniente da fita de carbono utilizada para aderir a amostra ao suporte. A linha verde corresponde ao oxigênio que deve estar ligado a alguns dos metais (Ti ou Ag) formando, possivelmente, um óxido. A linha azul escuro corresponde a prata e a azul claro ao Titânio. Por meio dessas linhas de composição confirmou-se a síntese de

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

nanocompósitos Ag/TiO₂. Na Figura 32 e 33 estão apresentados os difratogramas do nanocompósito.

Figura 32: Identificação das fases presentes no nanocompósito Ag/TiO₂ utilizando difração de raios-X.



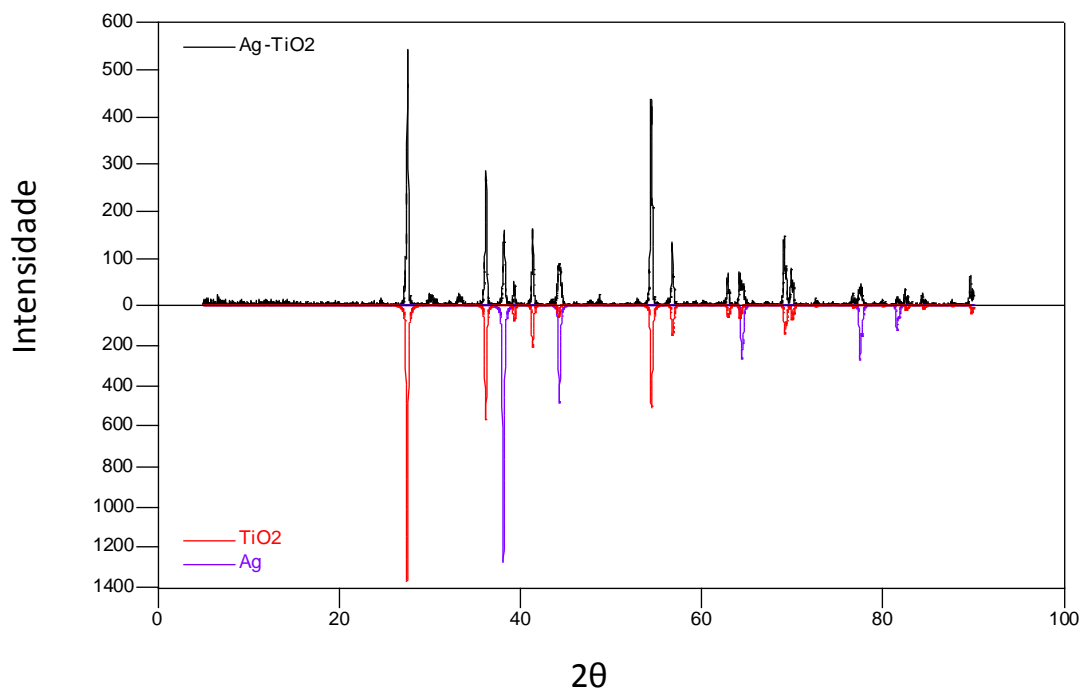
Fonte: Acervo Pessoal

Na Figura 33 está apresentado o difratograma do nanocompósito de maneira espelhada. A maneira de apresentar é apenas para facilitar a visualização da coincidência dos picos de maiores intensidades.

O difratograma de raios-X para o Ag /TiO₂ mostrou que o material sintetizado é cristalino, com picos correspondentes ao dióxido de titânio na fase do rutilo (mostrado em vermelho) e prata (mostrados em azul). A presença de picos distintos para as duas espécies foi indicativa da presença de ambos os materiais, prata e titânia, característicos de um composto. Os picos mais intensos da amostra sintetizada corresponderam aos picos mais intensos nos difratogramas padrão de TiO₂ e Ag, contudo, caracteriza-se como um composto. As pequenas diferenças nas intensidades dos picos podem ser atribuídas à diferente forma de preparo das amostras.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

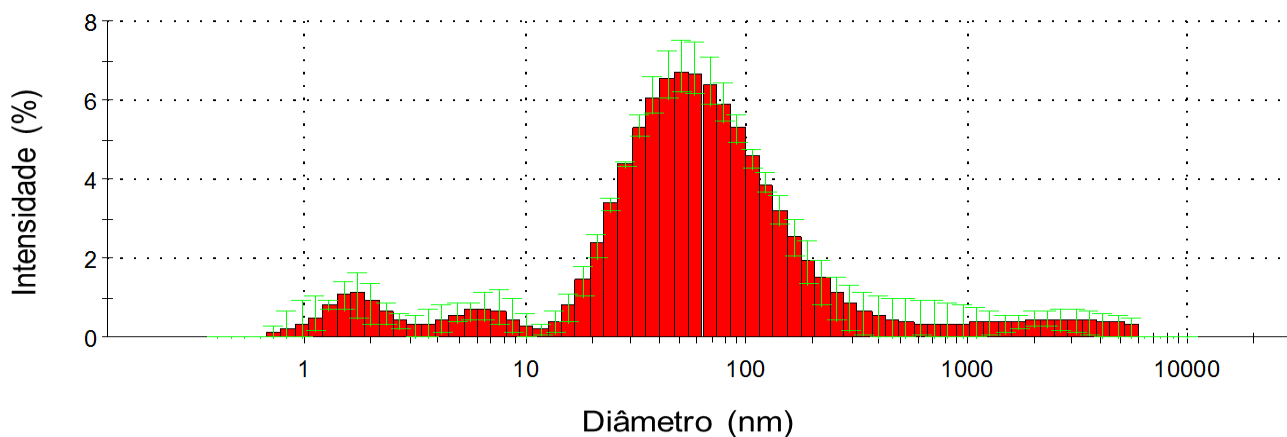
Figura 33: Difrátograma da amostra do composto Ag/TiO₂ espelhado no difratograma do background do programa de análise.



Nas próximas páginas serão apresentados os resultados das análises da distribuição de tamanhos dos nanomateriais bem como suas estabilidades em água.

A Figura 34 ilustra a varredura dos diâmetros encontrados na amostra das nanopartículas de prata.

Figura 34: Distribuição dos diâmetros das nanopartículas de prata.



Fonte: Acervo Pessoal

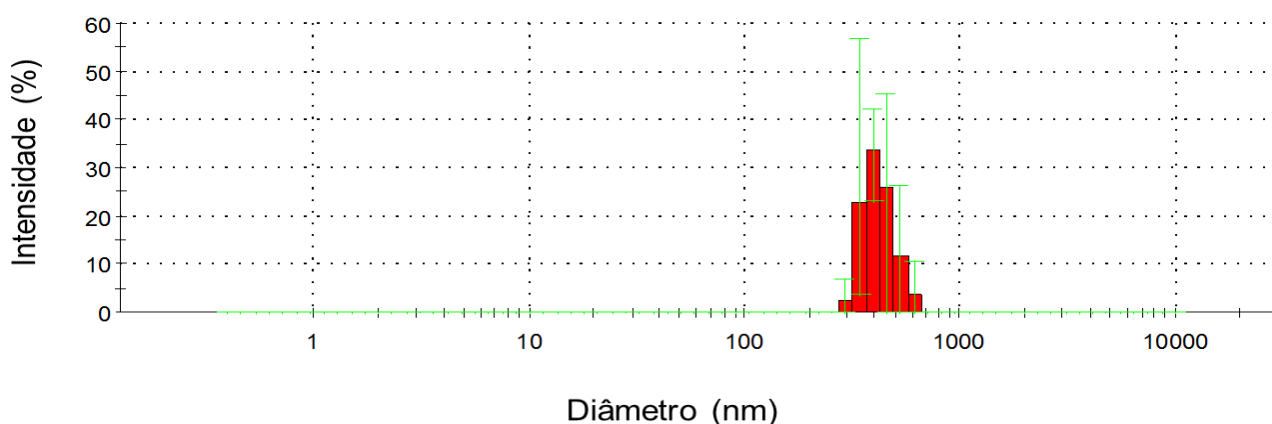
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Por meio da Figura 34 é possível constatar que as nanopartículas de prata obtidas pelo método de Turchevich, 1951 apresentaram valor médio de 39 nm. Estes dados são condizentes com o que foi encontrado por outras técnicas, o que garante a repetibilidade e reprodutibilidade do método escolhido.

A Figura 35 apresenta a distribuição de tamanho das nanopartículas de TiO_2 obtidas pela técnica de Dinâmica de Espalhamento de Luz.

Figura 35: Distribuição dos diâmetros das nanopartículas de Titânio.



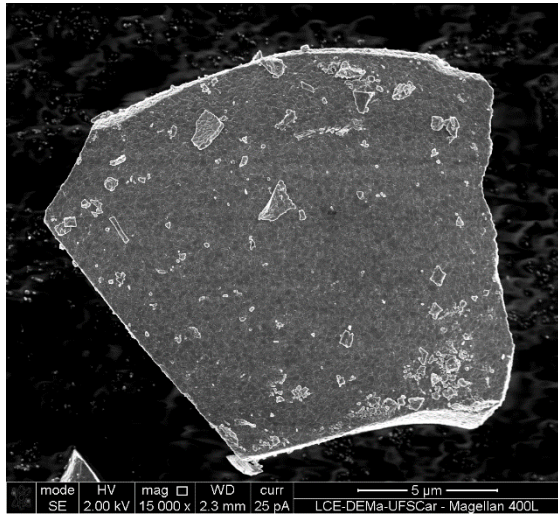
Fonte: Acervo Pessoal

Analisando-se a Figura 35 pode-se verificar que as nanopartículas de TiO_2 sintetizadas apresentaram tamanho médio de 421 nm. Este valor encontrado difere do valor encontrado na Microscopia Eletrônica de Varredura. Na análise microscópica foi possível verificar que este material é nano estruturado formando partículas micrométricas, possivelmente resultado de agregação. É notório que algumas técnicas de análise enxergam somente as partículas aglomeradas e atribuem, desta forma, tamanho micrométricos a elas. A Figura 36 e 37 ilustram as imagens do TiO_2 que comprovam as nanoestruturas deste sólido.

CAPÍTULO 4:

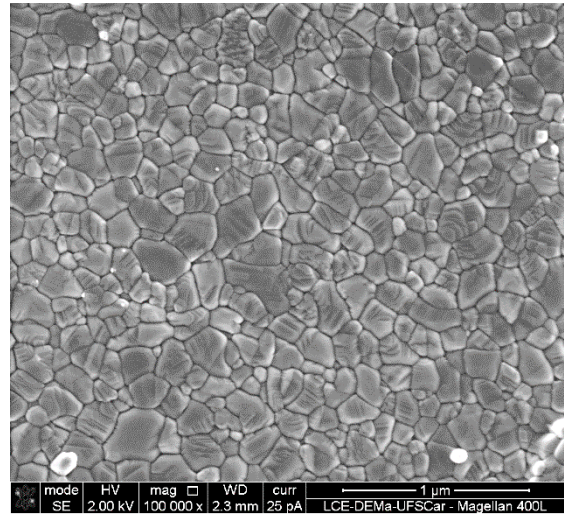
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 36: Imagem das nanopartículas de TiO_2 com aumento de 15000x.



Fonte: Acervo Pessoal

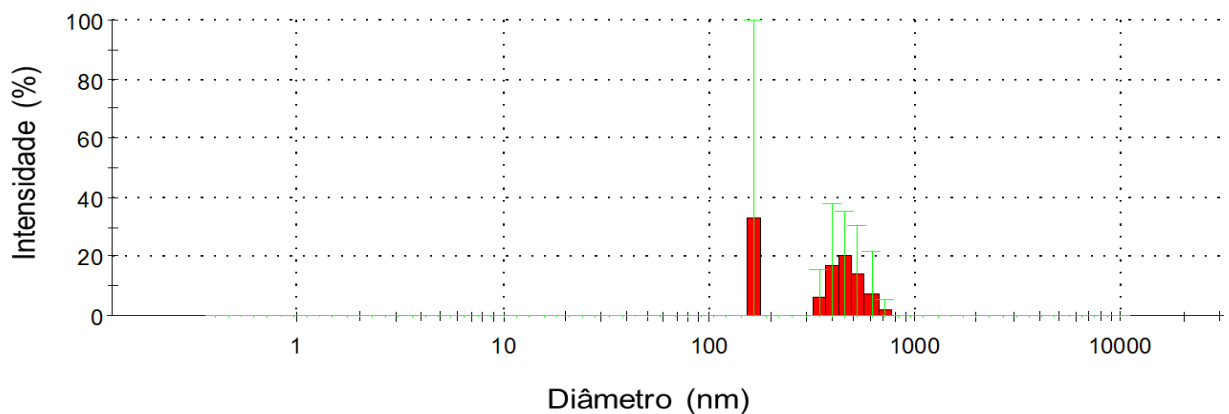
Figura 37: Imagem das nanopartículas de TiO_2 com aumento de 100000x.



Fonte: Acervo Pessoal

Na Figura 38 estão apresentados os dados da distribuição granulométrica do nanocompósito Ag/TiO_2 feita pelo método obtidas pela técnica de Dinâmica de Espalhamento de Luz.

Figura 38: Distribuição dos diâmetros dos nanocompósitos Ag/TiO_2 .



Fonte: Acervo Pessoal

Analisando a Figura 38 é possível verificar que as partículas obtidas por meio da síntese utilizando o método de Pan et al., 2010 modificado apresentaram valor médio de 368 nm. Este valor encontrado remete que há uma agregação das partículas e foi possível

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

confirmar por meio da análise de Microscopia Eletrônica de Varredura. A amostra de Ag/TiO₂ se comportou de forma similar ao TiO₂, ou seja, apresentou aglomerados que puderam ser vistos com o auxílio do MEV.

A análise do potencial Zeta gerou os resultados descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Potencial Zeta dos nanomateriais.

Nanomaterial	Potencial Zeta (mV)
Nanopartícula de Prata	-19 ± 2,4
Nanopartícula de Dióxido de Titânio	-53 ± 2,5
Nanocompósito Titânia/Prata	-60 ± 12

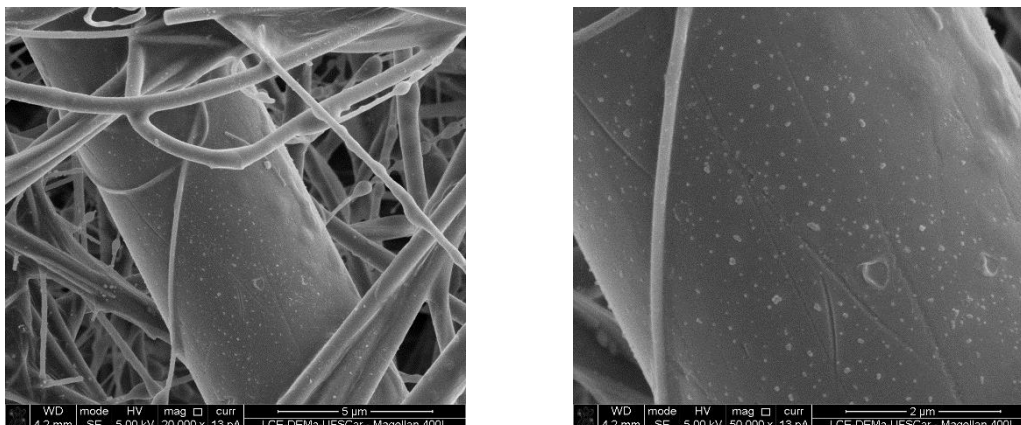
Fonte: Acervo Pessoal

A análise da Tabela 2 permite verificar que as nanopartículas apresentaram estabilidades grandes o suficiente para serem utilizadas na modificação dos filtros, visto que, de maneira geral, as suspensões com potencial Zeta acima de 30 mV (valor absoluto) são fisicamente estáveis. Suspensões com potencial Zeta acima de 60 mV mostram excelentes estabilidades. Suspensões com potencial abaixo de 20mV possuem estabilidade limitada, já as que possuem valores abaixo de 5mV sofrem agregação pronunciada, Müller apud Obedait (1996). Especificamente no caso da prata, testes de estabilidade foram feitos com o objetivo de avaliar se os tamanhos das partículas se mantinham constantes. Os resultados demonstraram que em um tempo de 2 horas de geração constante tinha-se o início da aglomeração.

Após a síntese e caracterização dos nanomateriais foi realizada a modificação do meio filtrante com os nanomateriais. As Figuras de 39 a 41 ilustram as imagens por Microscopia Eletrônica de Varredura após a modificação dos filtros. É possível identificar a presença dos nanomateriais nos três filtros modificados, confirmando a eficácia do método proposto para a modificação.

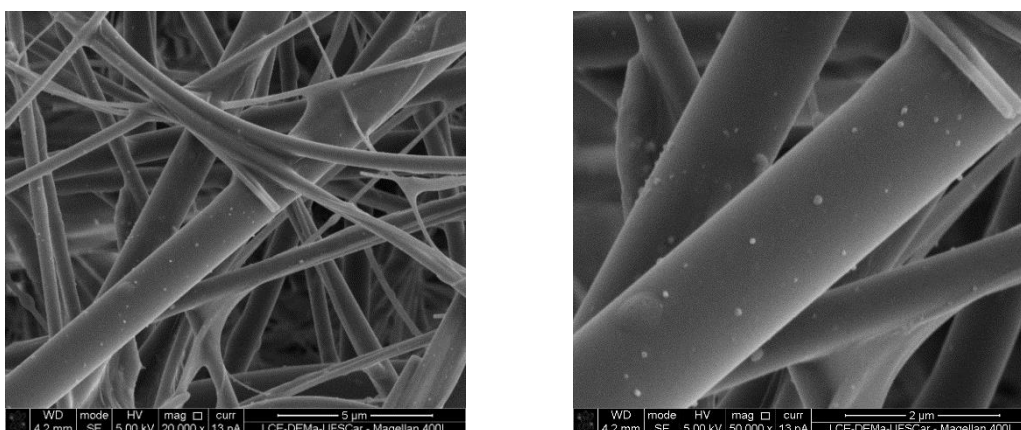
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 39: Meio filtrante modificado com nanopartículas de prata.



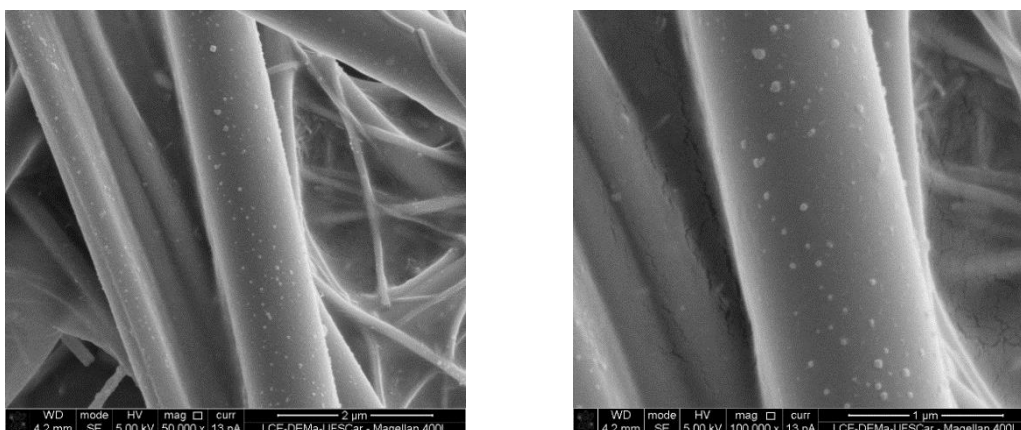
Fonte: Acervo Pessoal.

Figura 40: Meio filtrante modificado com nanopartículas de TiO₂.



Fonte: Acervo Pessoal.

Figura 41: Meio filtrante modificado com nanopartículas de Ag/TiO₂.



Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3. Avaliação da capacidade antimicrobiana dos nanomateriais

Seguem nesta seção os resultados relativos à avaliação da capacidade antimicrobiana dos materiais em estudo. Estes testes foram realizados “*in vitro*” por meio do estudo dos efeitos dos materiais considerando concentrações conhecidas dos microrganismos.

O teste descrito na seção 3.7.4.1 foi realizado e não foram obtidos resultados significativos. Todas as placas semeadas apresentaram o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFCs) superior a 250. Segundo a U.S. Food and Drug Administration (FDA), quando se tem valores superiores a 250 UFCs há a sobreposição de colônias. Esta sobreposição inviabilizou o teste realizado. Posteriormente foi realizado o teste descrito na seção 3.7.3 em que objetivava avaliar a toxicidade dos agentes dispersantes. Na Tabela 3 são apresentados os dados do teste de toxicidade do agente dispersante SDS.

Tabela 3: Dados do teste de toxicidade do SDS.

<i>E. coli</i>		
Concentração do agente dispersante (%m/v)	Absorbância Média	Porcentagem de Eliminação (%)
0,5	0,0473±0,003	86,5
0,3	0,0613±0,010	82,6
0,1	0,1783±0,006	49,3
0	0,3520±0,008	0,0
<i>S. Aureus</i>		
0,5	0,023±0,006	91,8
0,3	0,067±0,006	76,2
0,1	0,067±0,012	76,2
0	0,280±0,004	0,0
<i>C. Albicans</i>		
0,5	0,02±0,005	94,0
0,3	0,013±0,004	96,1
0,1	0,023±0,004	93,1
0	0,336±0,011	0,0

Fonte: Acervo Pessoal

Analisando a Tabela 3 é possível observar que o tensoativo Dodecilsulfato de sódio foi tóxico para os microrganismos em estudo. Nota-se que os valores ficaram entre 49 e 96% de eliminação das células. Estes valores indicam que na presença de 100 células, de 49 a 96 serão eliminadas. Portanto, este tensoativo não é indicado para a estabilização

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

das partículas, visto que, não seria possível saber com precisão se a inibição não estaria sendo causada por ele ao invés de ser causada pelos nanomateriais.

Na Tabela 4 são apresentados os dados do teste de toxicidade do tensoativo Tween 80.

Tabela 4: Dados do teste de toxicidade do Twin 80

<i>E.coli</i>		
Concentração do agente dispersante (%v/v)	Absorbância Média	Porcentagem de Eliminação (%)
1	0,340	2,8
0	0,350	0,0
<i>S. aureus</i>		
1	0,291	-1,4
0	0,287	0,0
<i>C. albicans</i>		
1	0,332	-2,3
0	0,325	0,0

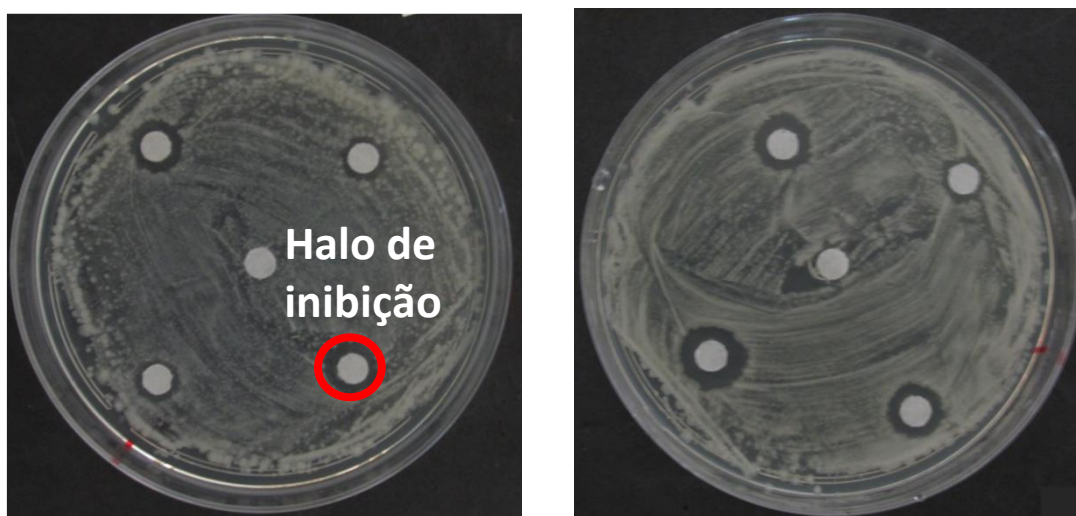
Fonte: Acervo Pessoal

Analisando-se a Tabela 4 foi possível constatar que o agente dispersante Tween 80 não apresentou uma toxicidade expressiva para os microrganismos estudados. Este composto é utilizado em indústrias alimentícias, farmacêuticas e de cosméticos. Assim, seguiram-se os ensaios utilizando o Tween 80 como agente dispersante dos nanomateriais.

As imagens de 42 a 44 ilustram os resultados do procedimento descrito no item 3.7.4.1. Com este ensaio objetivou-se avaliar a inibição do crescimento dos microrganismos utilizando-se os nanomateriais. A Figura 42 ilustra as placas contendo os discos embebidos com a suspensão de nanopartículas de prata para o microrganismo *E.coli*. As duas placas representam a duplicata, no entanto, os testes de cada concentração com cada material foram feitos em quadruplicata, pois em cada uma das placas existem dois discos para cada concentração.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

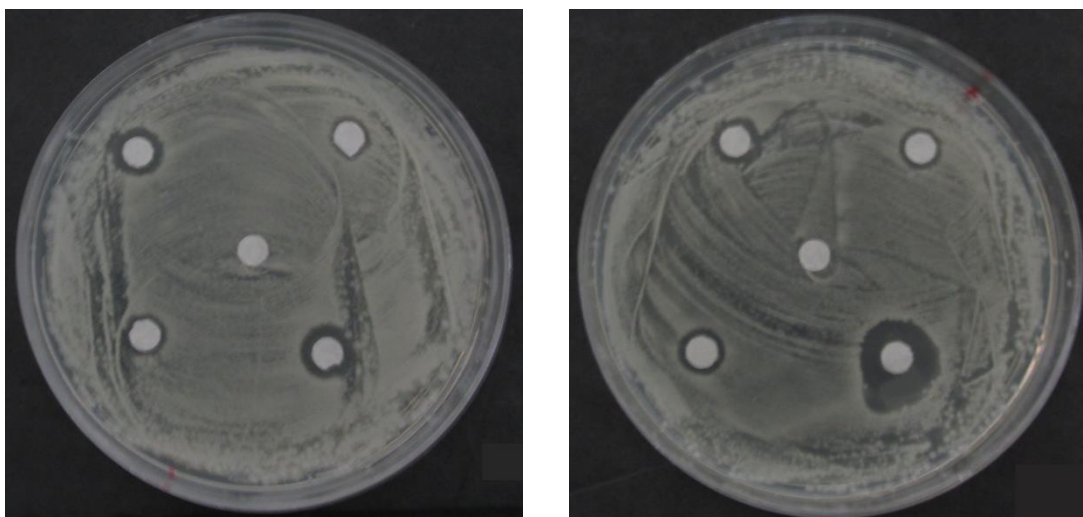
Figura 42: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo *E.coli* com nanopartículas de prata (duplicata).



Fonte: Acervo Pessoal

A Figura 43 ilustra as placas contendo os discos embebidos com a suspensão de nanopartículas de prata para o microrganismo *S.aureus*.

Figura 43: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo *S.aureus* com nanopartículas de prata (duplicata).



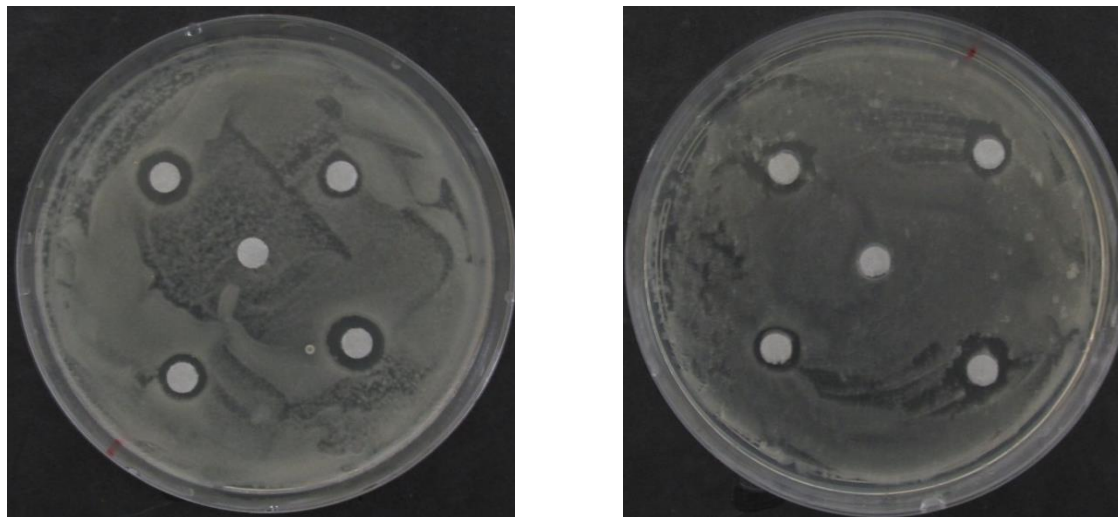
Fonte: Acervo Pessoal

A Figura 44 ilustra as placas contendo os discos embebidos com a suspensão de nanopartículas de prata para o microrganismo *C.albicans*.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 44: Ensaio de Disco-difusão para o microrganismo *C.albicans* com nanopartículas de prata (duplicata).



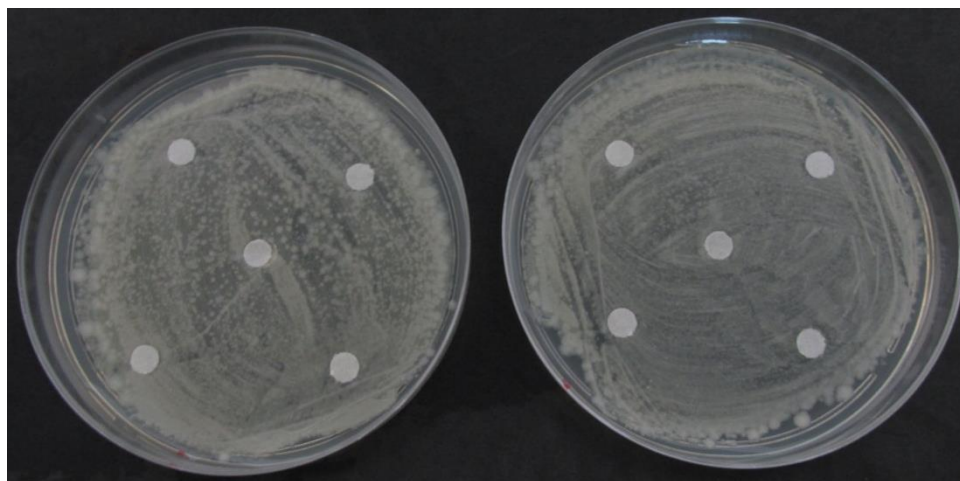
Fonte: Acervo Pessoal

Analisando as Figuras de 42 a 44 é possível notar a formação de halos de inibição (zona clara ao redor do disco antimicrobiano). Estes halos são formados devido à capacidade de difusão do antimicrobiano que se encontra impregnado nos discos de papel de filtro, através do meio sólido, inibindo o crescimento microbiano.

Para os nanomateriais TiO_2 e Ag/TiO_2 não houve a formação de halo de inibição. Acredita-se que o não aparecimento do halo de inibição é em decorrência da pouca difusão destes materiais no ágar. Outro motivo que pode ter ocasionado a ausência de halo é a baixa dispersão dos nanomateriais, fazendo com que eles se depositem no fundo dos frascos, dificultando a pipetagem e a homogeneização. A Figura 45 apresenta apenas para efeito ilustrativo as placas com o microrganismo *E.coli* e o nanocompósito Ag/TiO_2 . O restante dos resultados que demonstram a ausência da formação de halo de inibição está apresentado no Apêndice 3.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 45: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *E.coli* com o nanocompósito Ag/TiO₂.



Fonte: Acervo Pessoal

Na Tabela 5 estão descritos os valores destes halos de inibição obtidos para os três microrganismos com o nanomaterial de Ag.

Tabela 5: Medidas dos halos de inibição utilizando a Ag como antimicrobiano.

Volume da suspensão do nanomaterial (µL)	Tamanho do Halo de inibição (mm)
<i>E.Coli</i> (6µg/L)	
5	9 ± 1,4
10	10,5 ± 0,58
<i>S.Aureus</i> (6µg/L)	
5	7,8 ± 0,5
10	11,5 ± 2,4
<i>C.Albicans</i> (6µg/L)	
5	8 ± 0
10	10,8 ± 0,5

De acordo com o manual da Anvisa, existem critérios de interpretação do diâmetro dos halos de inibição de maneira a classificar com precisão os 3 níveis de sensibilidade dos organismos a diversos agentes antimicrobianos. Estas categorias são divididas em sensível, intermediária e resistente. Sensível quer dizer que uma infecção por uma determinada cepa pode ser tratada adequadamente com a dose do agente antimicrobiano recomendada para esse tipo de infecção e patógeno, exceto quando contraindicado. A

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

categoria “intermediária” inclui isolados nos quais as taxas de resposta são inferiores àquelas apresentadas por isolados sensíveis. As cepas “resistentes” não são inibidas pelas concentrações sistêmicas dos agentes antimicrobianos geralmente atingíveis nos regimes terapêuticos habituais; e/ou podem ter os diâmetros do halo de inibição dentro de uma faixa de maior probabilidade de ocorrência de mecanismos específicos de resistência microbiana, além de a eficácia clínica não ter sido confiável nos estudos terapêuticos.

Na literatura, existem tabelas de referência para os valores dos halos em comparação com o nível que se enquadra. No entanto, pelo fato de os nanomateriais não se configurarem como antibióticos comerciais, não há referências para estes materiais. O que se pode inferir é que há inibição dos microrganismos, no entanto, por este método não foi possível quantificá-la. Contudo, o teste descrito no item 3.7.4.3 apresentou resultados quantitativos bastante promissores os quais encontram-se descritos nas Tabelas de 6 a 8.

Tabela 6: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo *E.coli*.

Nanomaterial	Absorbância média	Número de células (comparação com a solução de McFarland)	Porcentagem de eliminação (%)
TiO ₂	0,262±0,009	3,35E+07	62,94±1,26
Ag/TiO ₂	0,241±0,002	3,08E+07	65,96±0,29
Branco (medidas TiO ₂ e Ag/TiO ₂)	0,707±0,031	9,04E+07	0,000
Controle	0,584±0,004	7,47E+07	17,39
Ag	0,209±0,010	2,67E+07	53,14±2,20
Branco (medidas Ag)	0,445±0,029	5,69E+07	0,000

Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 7: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo *S.aureus*.

Nanomaterial	Absorvância média	Número de células (comparação com a solução de McFarland)	Porcentagem de eliminação (%)
TiO ₂	0,100±0,006	1,27E+07	66,74±1,55
Ag/TiO ₂	0,092±0,006	1,17E+07	69,41±1,90
Branco (medidas TiO ₂ e Ag/TiO ₂)	0,300±0,005	3,83E+07	0,000
Controle	0,284±0,012	3,63E+07	5,23
Ag	0,082±0,027	7,35E+06	67,47±10,18
Branco (medidas Ag)	0,276±0,013	2,26E+07	0,000

Fonte: Acervo Pessoal.

Tabela 8: Dados de absorvância média obtidas para o microrganismo *C.albicans*.

Nanomaterial	Absorvância média	Número de células (comparação com a solução de McFarland)	Porcentagem de eliminação (%)
TiO ₂	0,114±0,009	1,46E+07	72,84±2,07
Ag/TiO ₂	0,104 ±0,006	1,33E+07	75,22±1,43
Branco (medidas TiO ₂ e Ag/TiO ₂)	0,421±0,020	5,38E+07	0,000
Controle	0,405±0,030	5,05E+07	3,80
Ag	0,143±0,006	1,82E+07	67,89±1 ,28
Branco (medidas Ag)	0,444±0,023	5,68E+07	0,000

Fonte: Acervo Pessoal.

Os ensaios realizados demonstraram que os teores de eliminação para o microrganismo *E.Coli* foram de 53, 63 e 68% para os nanomateriais de Ag, TiO₂ e Ag/TiO₂ respectivamente, 67, 67 e 69% para *S.Aureos* e 68, 73 e 75% para *C.Albicans*.

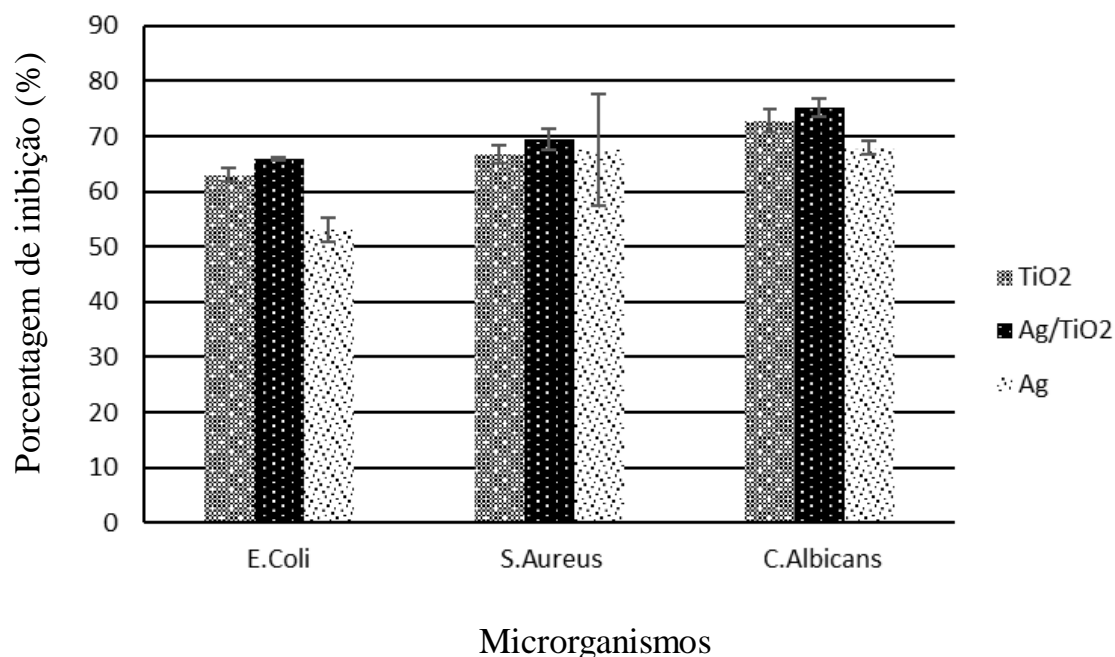
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estes resultados demonstram que há uma diminuição significativa de microrganismos variando de 53 a 75%. Os resultados sugerem que o compósito é o material mais efetivo, apesar da diferença entre a titânia e o compósito não ser estatisticamente significativa. Esses resultados podem ser melhor visualizados na Figura 46.

Segundo Allaker (2010) inúmeros materiais, sintéticos ou naturais, têm apresentado propriedades antimicrobianas através de diversos mecanismos. Estes autores relataram que TiO_2 , ZnO , fulereno, quitosana, nanotubos de carbono e nanopartículas de prata são alguns dos exemplos. Os mecanismos de ação destes antimicrobianos, como ilustrados na Figura 47 são: produção fotocatalítica de espécies reativas de oxigênio que destroem componentes celulares dos microrganismos (este é o caso do TiO_2), causam danos à membrana celular e ao transporte de elétron das células (caso das nanopartículas de prata). Por meio das Tabelas de 6 a 8 também foi possível observar que as maiores porcentagens de inibição foram nos testes feitos com o nanocompósito Ag/TiO_2 . Estes dados sugerem que a soma dos mecanismos citados acima conferiu um efeito maior para o material híbrido, pois o mecanismo de atuação da prata e do titânio são diferentes e, possivelmente, quando somados, tornaram o nanomaterial mais efetivo.

Figura 46: Teores de eliminação dos três microrganismos estudados utilizando os três materiais propostos.



Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Já, a diferença entre a porcentagem de eliminação de microrganismos, pode ser decorrente da diferença na anatomia e fisiologia dos três microrganismos. Esta diferença na porcentagem de eliminação também pode ser causada pelas diferentes probabilidades de encontro entre microrganismo e partícula, ou seja, é provável que nem todos os microrganismos entraram em contato com o nanomaterial causando assim essa divergência na porcentagem de eliminação/inibição.

As porcentagens médias de inibição apresentadas nas Tabelas de 6 a 8 fazem menção a medidas comparativas em massa (2,5g de cada um dos nanomateriais). Para melhor entender os dados obtidos, foram feitos cálculos em mol e em área. O motivo deste cálculo se dá pelo fato das nanopartículas promoverem a inibição das enzimas via contato. Este contato está intimamente relacionado com a área de contato entre o nanomaterial e o microrganismo. Desta forma, julgou-se necessário acrescentar esses cálculos e promover uma discussão nesta temática. A Tabela 9 ilustra os dados em massa, mol e área que foram utilizados nos testes.

Tabela 9: Dados comparativos de Massa, mol e área dos nanomateriais

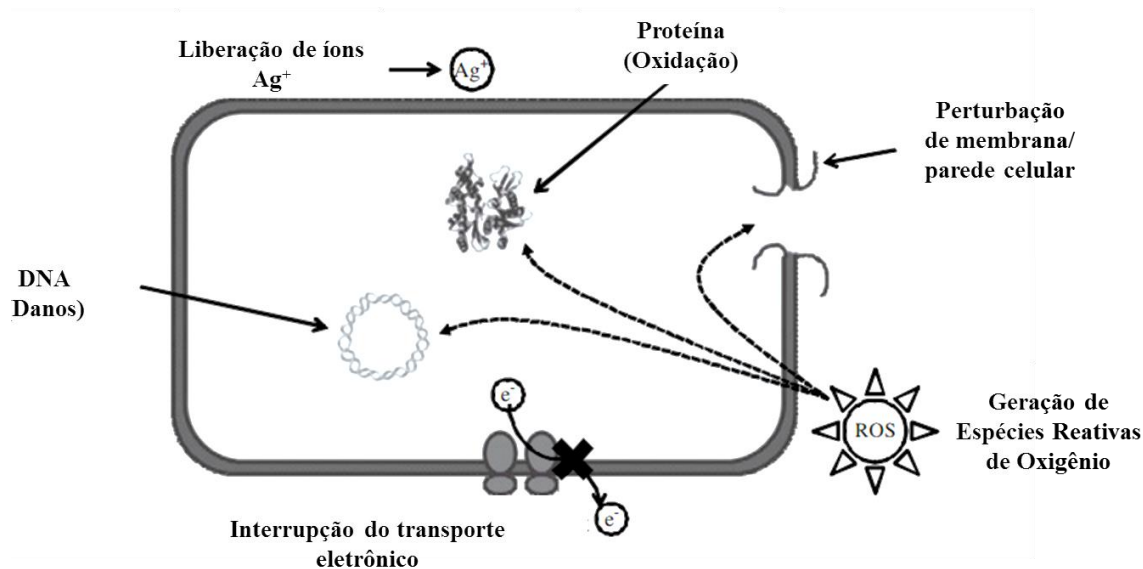
Nanomaterial	Massa(g)	Mol	Área da partícula (m ²)
Ag	2,5	0,0232	36,66
TiO ₂	2,5	0,0313	8,42
Ag/TiO ₂	2,5	0,0308	8,81

Fonte: Acervo Pessoal.

Por meio dos dados apresentados na Tabela 9 é possível verificar que embora a prata tenha um menor número de mols, é ela quem apresenta uma maior área de superfície. Este aumento da área promove um maior contato com os microrganismos, potencializando o efeito deste material. No entanto, mesmo esta apresentando maior área, ao avaliar o teor de inibição, o nanocompósito apresentou os melhores resultados. Neste trabalho os nanomateriais foram avaliados em relação a sua massa. Em trabalhos futuros estes dados podem ser comparados em relação a área de superfície, visto que, a inibição ocorre na parede celular, ou seja, por meio do contato entre o nanomaterial e o microrganismo.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 47: Mecanismos de ação dos antimicrobianos.



Fonte: Adaptado de Li et al (2008).

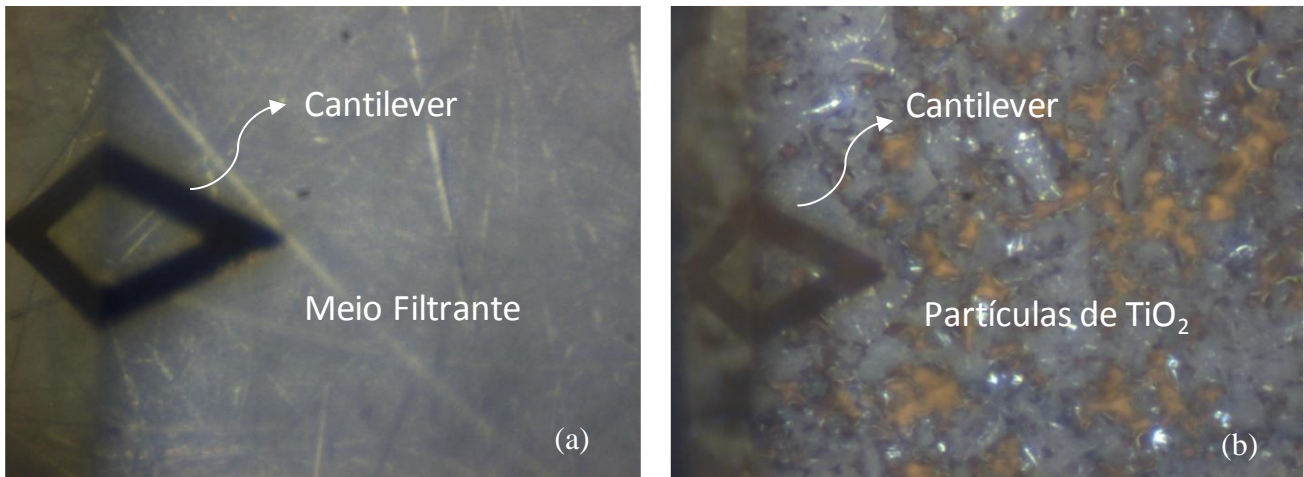
4.4. Avaliação da força de adesão e cálculo da velocidade de desprendimento entre nanomateriais e fibra do meio filtrante

Para analisar as forças de contato entre fibra e nanopartículas, foi utilizada a microscopia de força atômica (AFM). Esta técnica foi aplicada para os três nanomateriais em estudo (sob condições ambiente), penetrando altamente as fibras com a agulha e extraíndo nanopartículas. As medidas de força de adesão também foram realizadas entre o filtro "branco" (não modificado) e a agulha, isto quer dizer, o filtro sem a presença de partículas. As medições das nanopartículas também foram feitas na ausência dos meios filtrantes. Essas medidas foram tomadas para avaliar se o que estava sendo medido era, de fato, adesão entre as partículas e o meio filtrante. O valor mais importante é a medida do último pico que aparece no gráfico, pois representa o momento em que a agulha retrai e retorna à origem, configurando assim a intensidade da força de adesão.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 48 ilustra o cantilever sob uma amostra de filtro que contém nanopartículas (a) e o cantilever sob o nanomaterial em pó (b).

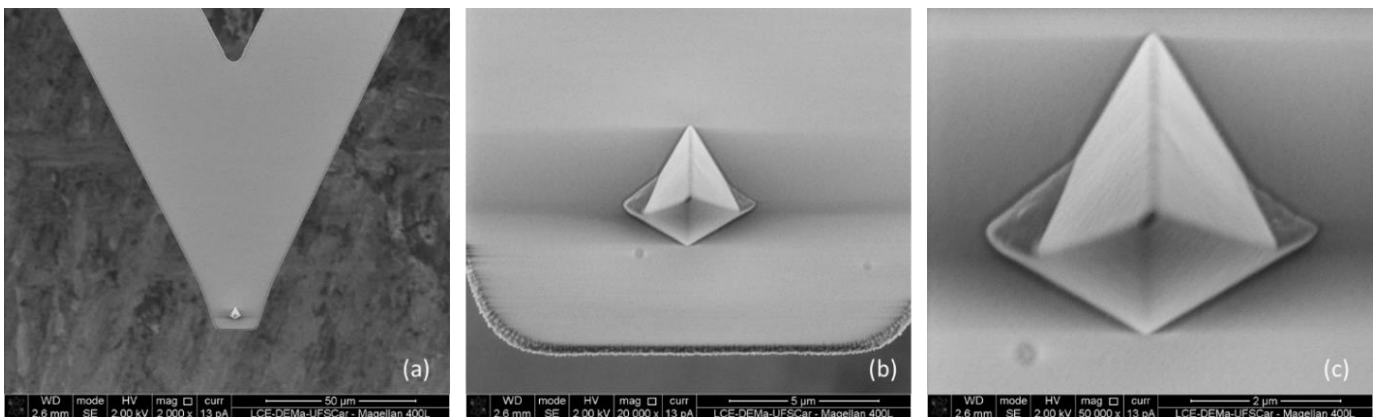
Figura 48: Cantilever sob as amostras (a) meio filtrante e (b) partículas de TiO_2 .



Fonte: Acervo Pessoal.

Aderida ao cantilever e quem promove as medidas (é por meio dela que se fazem as varreduras) encontra-se a agulha. Na Figura 49 está apresentada uma microscopia eletrônica de varredura da agulha contida no cantilever.

Figura 49: Cantilever e agulha utilizados para realizar medidas de força e trabalho de adesão (a) aumento de 2.000x, (b) 20.000x e (c) 50.000x.



Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

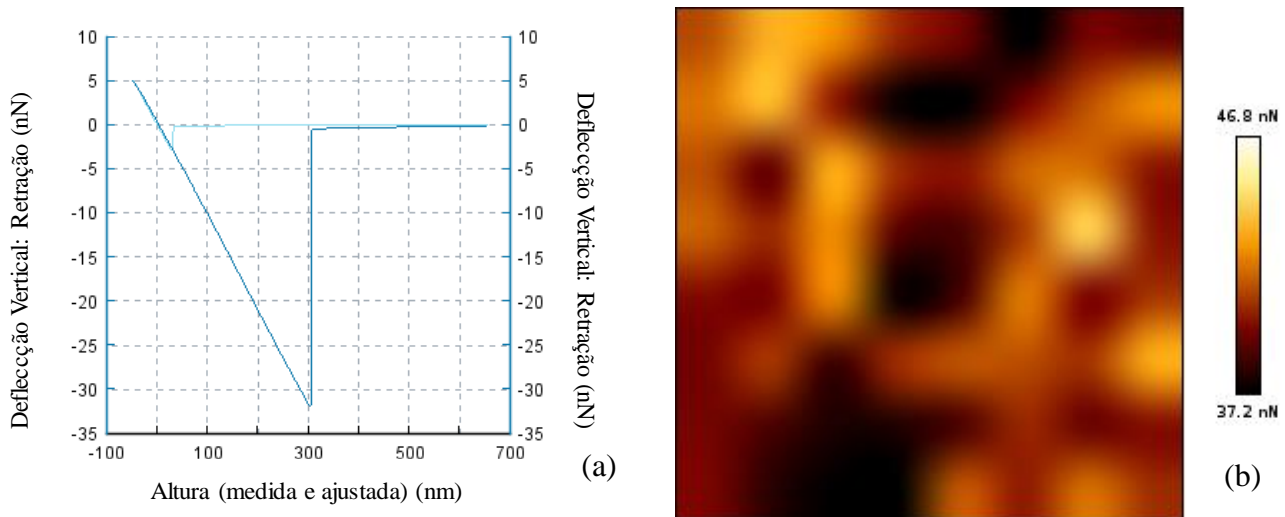
Esta agulha promove a "extração" das partículas do meio filtrante por meio de forças eletrostáticas. A força de adesão é proporcional à constante de mola e a distância em que a agulha se afasta do meio filtrante, obedecendo, assim, à lei de Hooke ($F = k \cdot x$).

A Figura 50 (a) e (b) ilustra a curva de força e o mapa de força de adesão para a fibra sem nanopartículas (apenas para ilustração). Na Figura 50 (a) é possível observar que há apenas um pico e de grande intensidade. O valor da força de adesão mostrada neste pico é de cerca de 30nN. Este valor não é um valor característico de adesão de nanomateriais, desta forma, é confirmado que não existem partículas e que a medida corresponde à adesão da ponta com a fibra contida no meio filtrante.

A Figura 51 apresenta o histograma da força de adesão do último pico do filtro sem nanomateriais.

O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de 60 nN. Forças inferiores a 17 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre a agulha e a fibra. Com os dados obtidos foi possível concluir que o valor característico da força de contato entre a agulha e a fibra na amostra, em condições atmosféricas, é de cerca de 36 nN.

Figura 50: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para o meio filtrante sem nanopartículas.

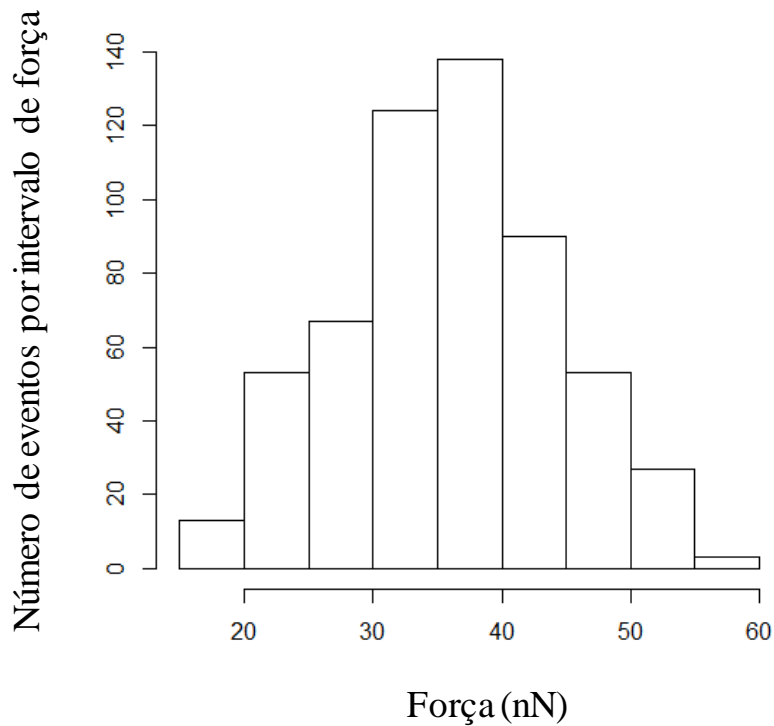


Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 51: Histograma de força do último pico da fibra do meio filtrante sem nanomateriais.



Fonte: Acervo Pessoal.

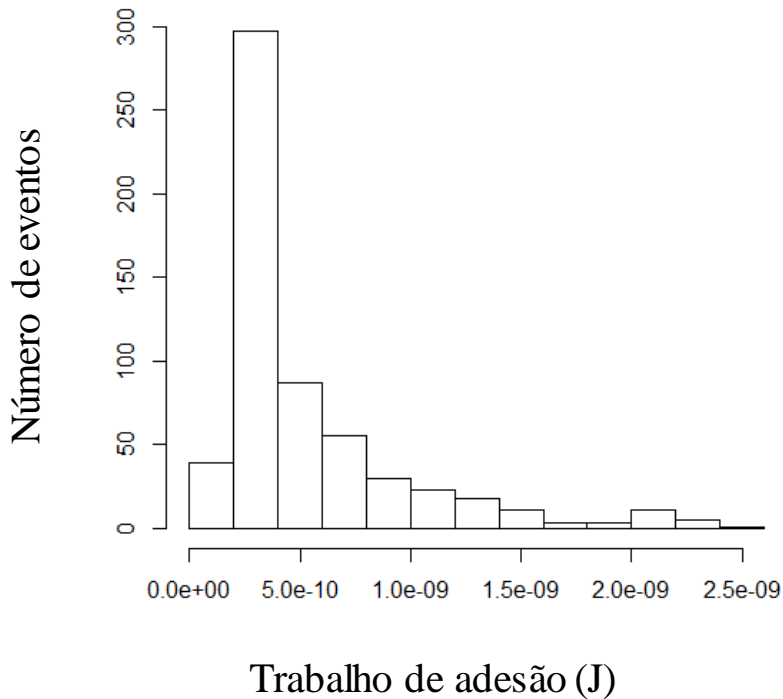
A Figura 52 apresenta o histograma do trabalho de adesão para as medidas do filtro sem a presença de nanopartículas. O trabalho é a integral da força sobre o deslocamento. No caso de uma força constante, o trabalho é o produto escalar da força que atua sobre um objeto e o deslocamento causado por essa força. Este trabalho corresponde à área da curva de força de adesão. Representa a facilidade ou a dificuldade de estender a agulha para longe da amostra.

O valor médio obtido para o trabalho de adesão entre a agulha e as fibras foi de $5,4 \times 10^{-10}$ J. Este trabalho é o trabalho que deve ser feito para separar duas fases adjacentes 1 e 2. Quando uma fase é coberta por outra, as duas superfícies anteriormente existentes desaparecem, pois a energia é liberada devido às respectivas tensões superficiais σ_1 e σ_2 . Ao mesmo tempo, o trabalho, que é referido como tensão interfacial σ_{12} , deve ser feito para formar a interface.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 52: Histograma do trabalho de adesão para o filtro sem nanopartículas.



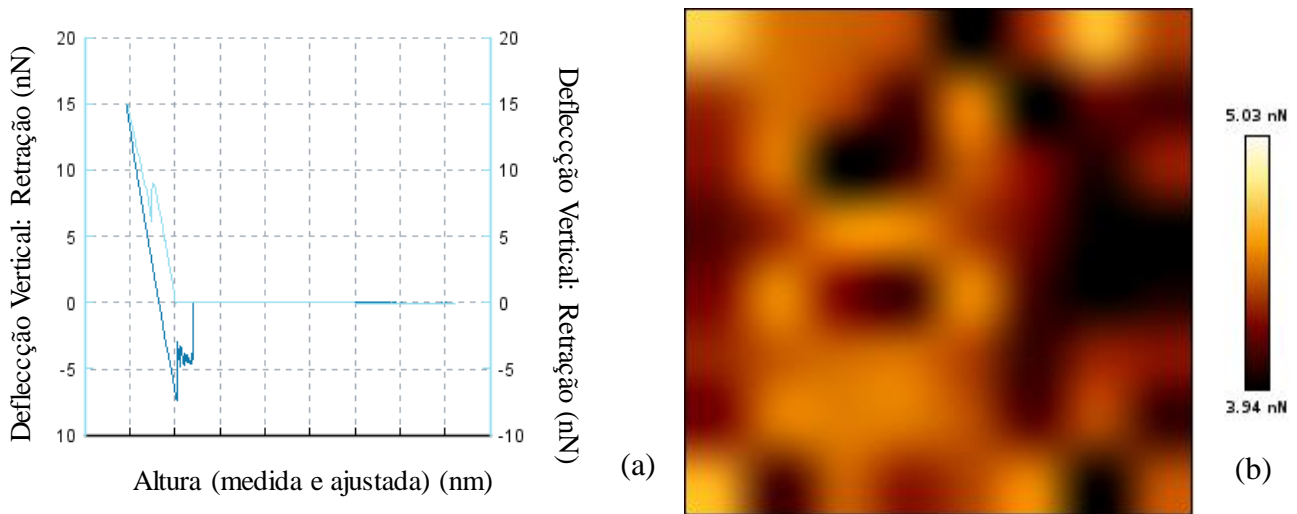
Fonte: Acervo Pessoal.

A Figura 53 apresenta as curvas de força e o mapa de força de adesão para o compósito. Ao contrário da adesão entre a agulha e o meio filtrante, na curva de adesão entre as partículas de nanocompósito é possível observar a presença de alguns picos com intensidades mais baixas. Para remover uma partícula ligada a outra, a agulha se estende e se retrai até que a força de atração entre a agulha e partícula seja maior do que a força da interação partícula-partícula (neste caso). Quando a partícula é extraída para a agulha, há a medida da força de adesão que corresponde à força necessária para extrair uma partícula da outra (mesmo módulo e direção oposta).

A Figura 53 apresenta o histograma da força de adesão do último pico das medidas partícula-partícula de nanocompósito. O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de 7 nN. Forças inferiores a 2 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre duas partículas do compósito (Ag/TiO₂). Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre duas partículas do compósito, em condições atmosféricas, é de cerca de 4,1 nN.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

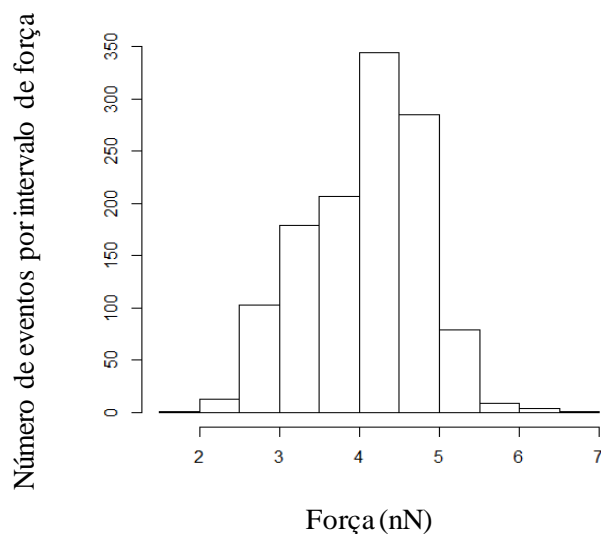
Figura 53: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para as partículas de nanocompósito.



Fonte: Acervo Pessoal

A Figura 54 apresenta o histograma da força de adesão do último pico das medidas partícula-partícula de nanocompósito. O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de 7 nN. Forças inferiores a 2 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre duas partículas do compósito (Ag/TiO_2). Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre duas partículas do compósito, em condições atmosféricas, é de cerca de 4,1 nN.

Figura 54: Histograma de força do último pico das medidas partícula-partícula de nanocompósito.



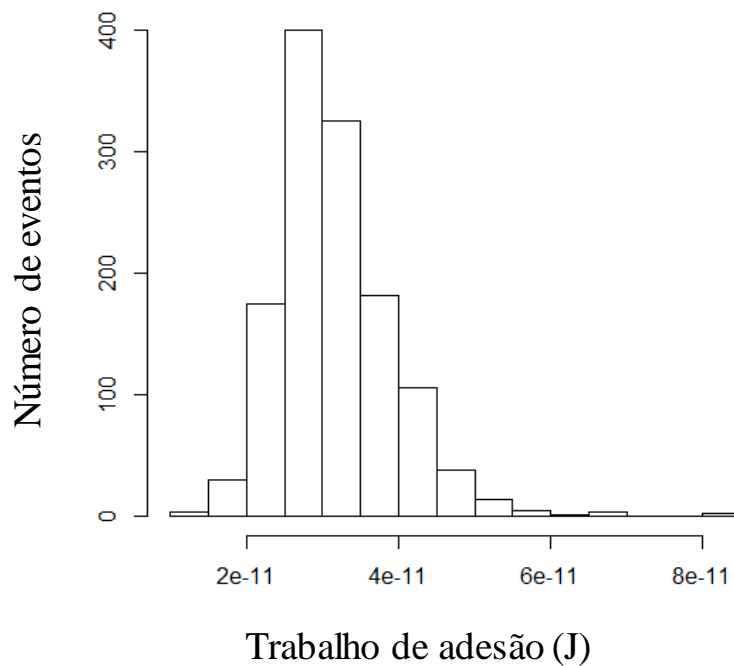
Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 55 apresenta o histograma do trabalho de adesão para as medidas partícula-partícula de nanocompósito.

Figura 55: Histograma do trabalho de adesão das medidas partícula-partícula de nanocompósito.



Fonte: Acervo Pessoal.

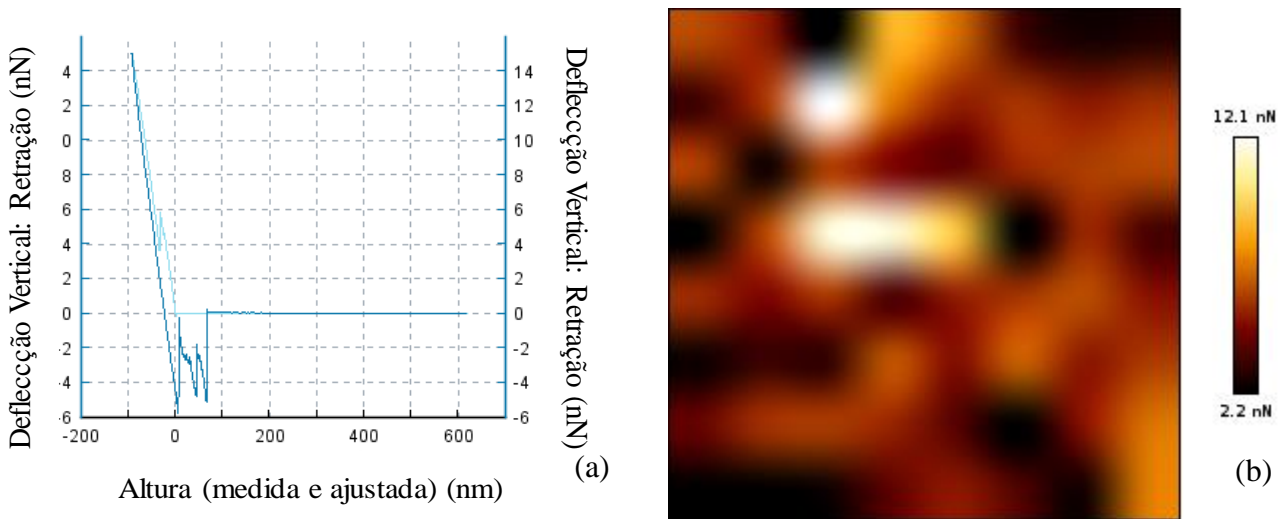
O trabalho médio de adesão para as medidas partícula-partícula de nanocompósito foi de $3,17 \times 10^{-11}$ J.

A Figura 56 mostra a curva e o mapa de força de adesão selecionados para as partículas de TiO_2 . Assim como para a medida partícula-partícula de nanocomposito, a medida de partícula-partícula de TiO_2 apresentou picos de força de adesão de baixa intensidade (característico de nanomaterial).

A Figura 57 apresenta o histograma da força de adesão do último pico das medidas partícula-partícula de TiO_2 . O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de cerca de 9 nN. Forças inferiores a 0,93 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre duas partículas de TiO_2 . Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre duas partículas de TiO_2 em condições atmosféricas é de cerca de 4,8 nN.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

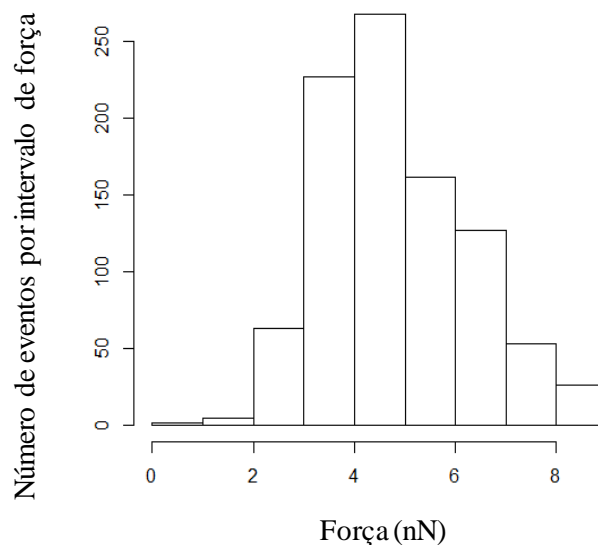
Figura 56: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para as partículas de TiO₂.



Fonte: Acervo Pessoal.

A Figura 57 apresenta o histograma da força de adesão do último pico das medidas partícula-partícula de TiO₂. O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de cerca de 9 nN. Forças inferiores a 0,93 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre duas partículas de TiO₂. Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre duas partículas de TiO₂ em condições atmosféricas é de cerca de 4,8 nN.

Figura 57: Histograma de força do último pico das medidas partícula-partícula de TiO₂.



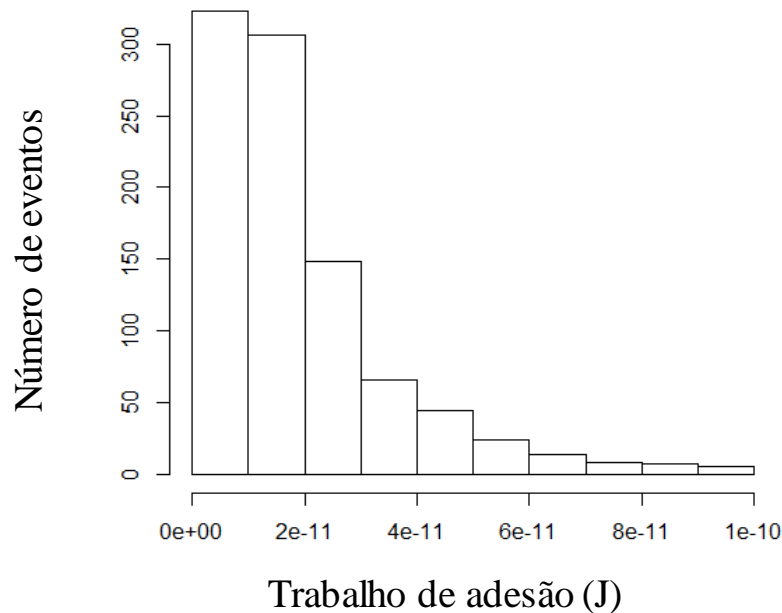
Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 58 apresenta o histograma do trabalho de adesão para as medidas de partícula-partícula de TiO_2 .

Figura 58: Histograma do trabalho de adesão das medidas partícula-partícula de TiO_2 .



Fonte: Acervo Pessoal.

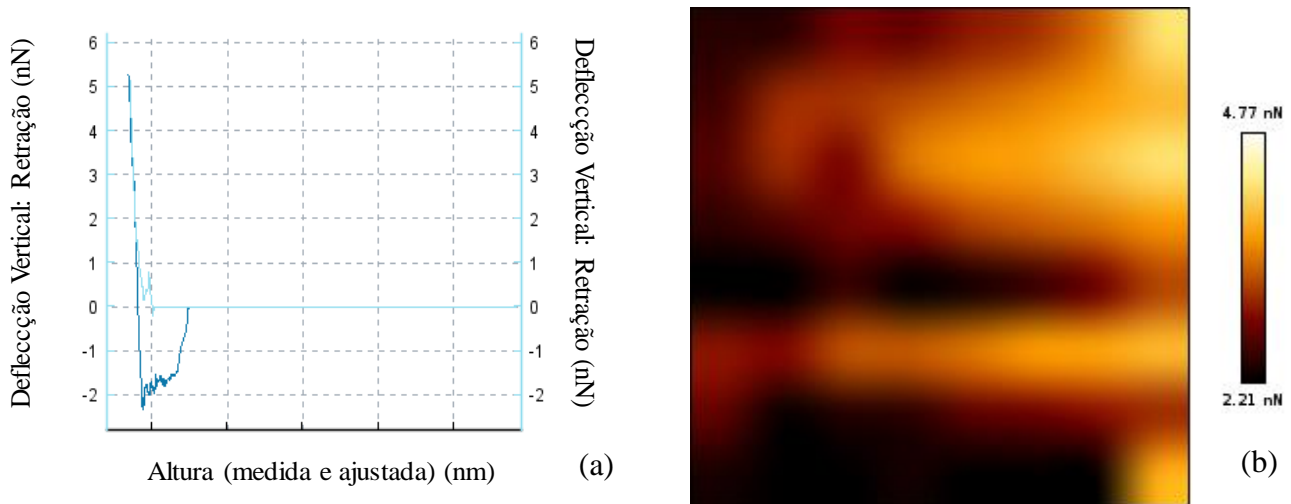
O trabalho médio de adesão para as medidas partícula-partícula de TiO_2 foi de $2,12 \times 10^{-11}$ J.

Após a realização de medidas de força entre a agulha e o meio filtrante sem partículas, realizaram-se análises de força de adesão entre partícula-partícula de nanomateriais (como mostrado acima). Em seguida, foram realizadas medições entre os nanomateriais e os meios filtrantes. Neste trabalho, as medidas de interesse são as medidas entre as partículas e o meio filtrante. As análises apresentadas acima apenas serviram para justificar que a força medida correspondia, de fato, à força entre o nanomaterial e o meio filtrante.

A Figura 59 apresenta a curva e o mapa de força de adesão para as partículas de prata nas fibras. Da mesma maneira que nas medidas partícula-partícula do nanocompósito, partícula-partícula de TiO_2 , a prata na fibra também apresentou picos de força de adesão de baixa intensidade.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

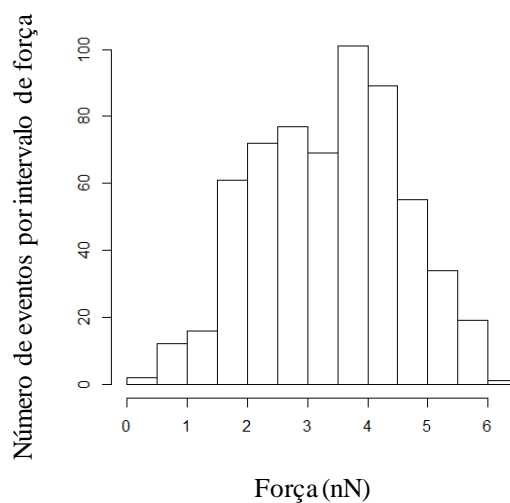
Figura 59: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de prata na fibra do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

A Figura 60 ilustra o histograma da força de adesão do último pico das partículas de prata nas fibras. O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de cerca de 6 nN. Forças inferiores a 0,61 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre a fibra e as partículas de prata. Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre a prata e a fibra nas condições atmosféricas é de cerca de 3,4 nN.

Figura 60: Histograma de força do último pico das partículas de prata nas fibras do meio filtrante.

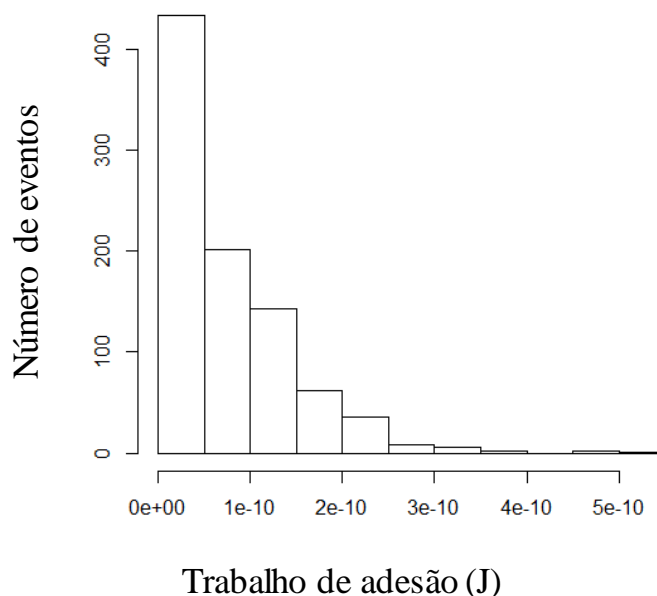


Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 61 apresenta o histograma do trabalho de adesão das medidas das partículas de prata nas fibras.

Figura 61: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de prata nas fibras do meio filtrante.

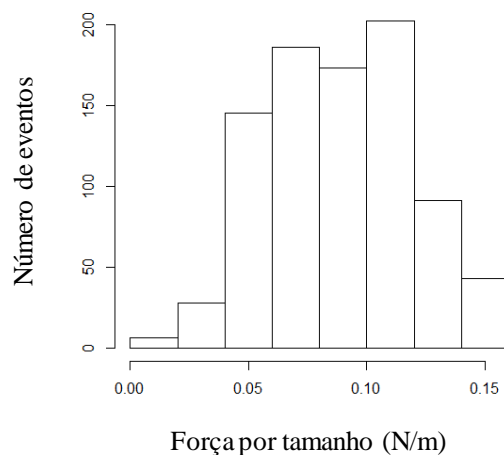


Fonte: Acervo Pessoal.

O trabalho médio de adesão para a prata na fibra foi de $7,74 \times 10^{-11}$ J.

A Figura 62 ilustra o histograma da força de adesão por tamanho de partícula para a prata no meio filtrante.

Figura 62: Histograma da força de adesão por tamanho para as partículas de prata nas fibras do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

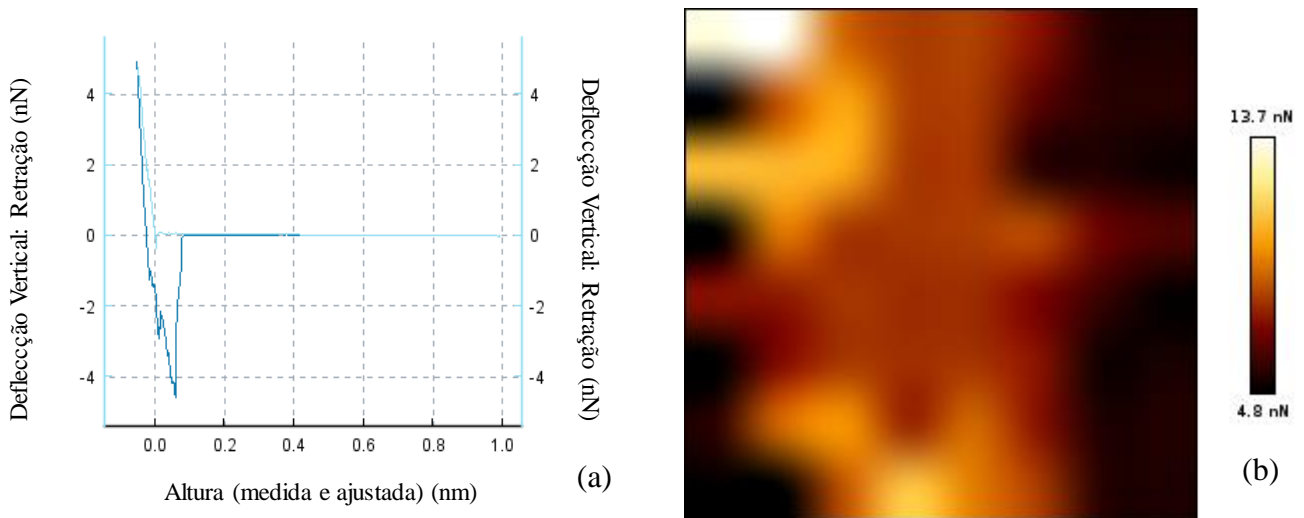
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 63 apresenta a curva e o mapa de força de adesão para as partículas do compósito nas fibras. Assim como nas medidas partícula-partícula de nanocompósitos, partícula-partícula de TiO_2 e a prata na fibra, as partículas de compósito nas fibras apresentaram picos de força de adesão de baixa intensidade.

O histograma da Figura 64 apresenta uma distribuição com um máximo de cerca de 49 nN. É possível que esses valores altos correspondam às medidas de força entre a agulha e o meio filtrante, juntamente com as partículas, uma vez que esse valor não é típico das nanopartículas. Forças inferiores a 2 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre a fibra e as partículas compostas. Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre o compósito Ag/ TiO_2 e a fibra nas condições atmosféricas é de cerca de 12,2 nN.

Figura 63: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de compósito na fibra do meio filtrante.

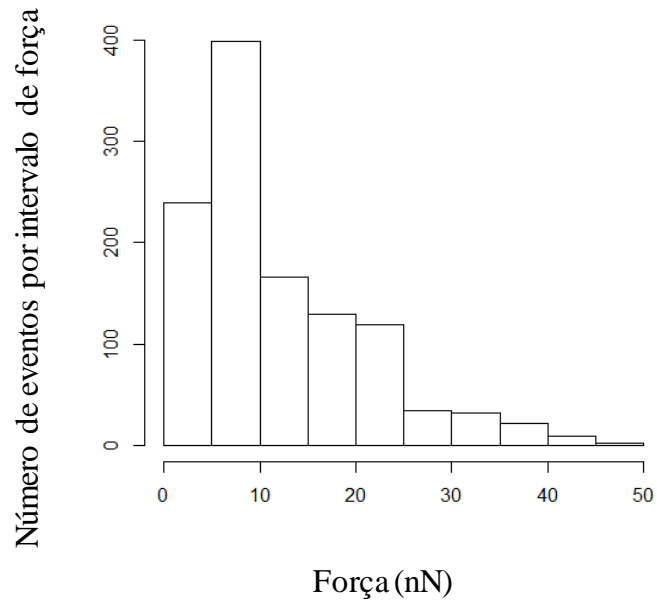


Fonte: Acervo Pessoal.

A Figura 64 ilustra o histograma da força de adesão do último pico das partículas de compósito nas fibras.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

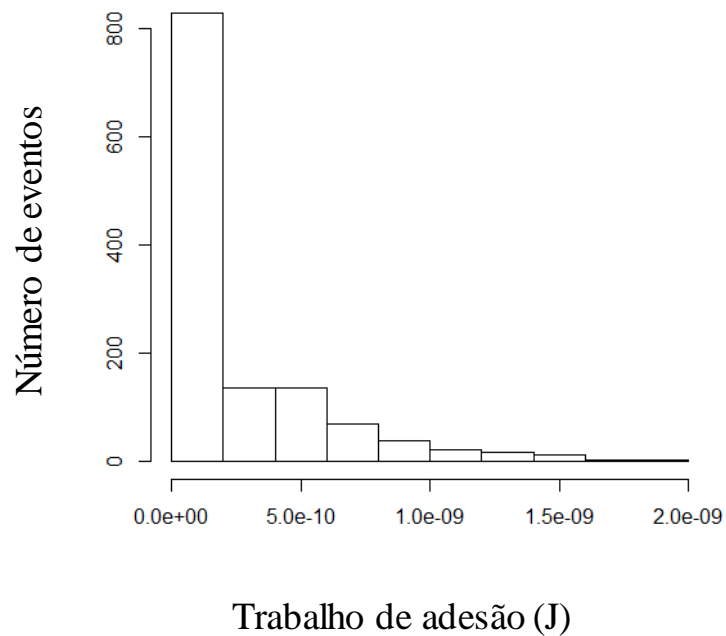
Figura 64: Histograma de força do último pico das partículas de compósito nas fibras do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

A Figura 65 apresenta o histograma do trabalho de adesão das medidas das partículas de compósito nas fibras.

Figura 65: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de compósito nas fibras do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal

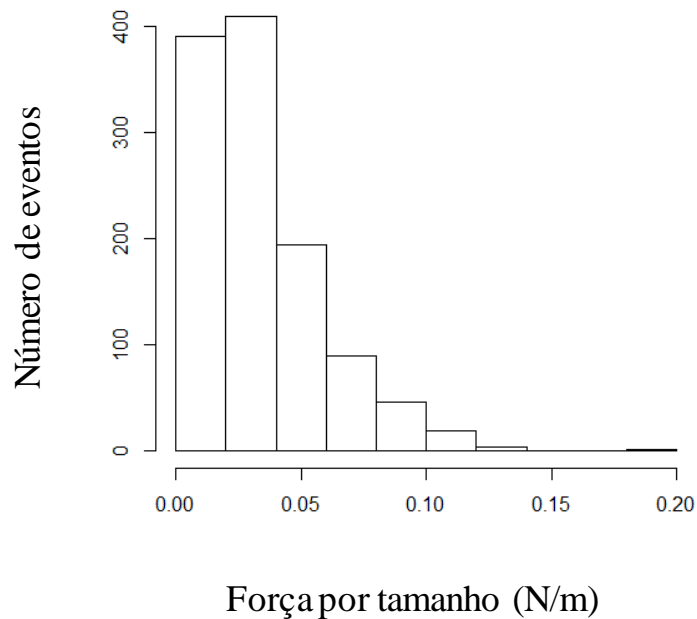
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trabalho médio de adesão para o compósito na fibra foi de $2,46 \times 10^{-10}$ J.

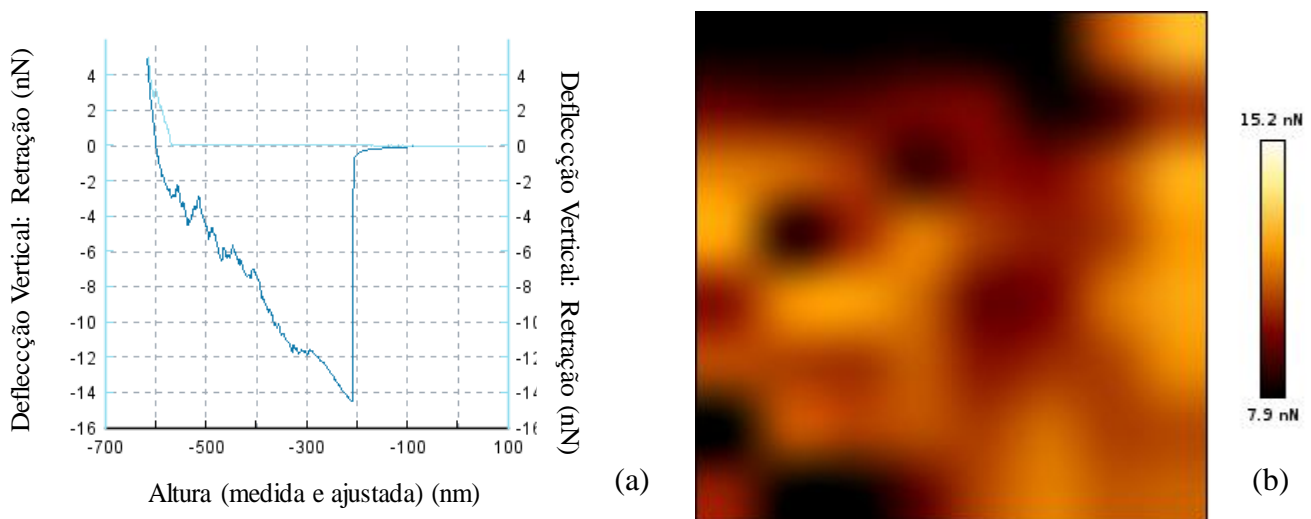
A Figura 66 ilustra o histograma da força de adesão por tamanho de partícula para o compósito no meio filtrante.

Figura 66: Histograma de Força de Adesão por tamanho de partícula do compósito na fibra dos meios filtrantes.



Fonte: Acervo Pessoal

Figura 67: Curva de força de adesão (a) e mapa de força de adesão (b) para a as partículas de TiO_2 na fibra do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

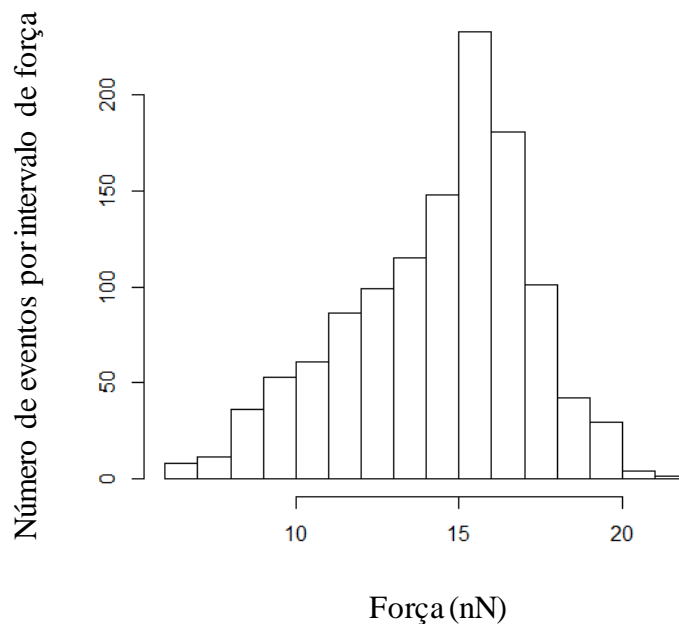
CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 67 mostra a curva e o mapa de força de adesão para as partículas de TiO_2 nas fibras. Assim como nas medidas partícula-partícula de nanocompósito, partícula-partícula de TiO_2 , a prata na fibra e o compósito na fibra, o TiO_2 na fibra apresentou picos de baixa intensidade de força de adesão.

A Figura 68 ilustra o histograma da força de adesão do último pico das partículas de TiO_2 nas fibras.

Figura 68: Histograma de força do último pico das partículas de TiO_2 nas fibras do meio filtrante.



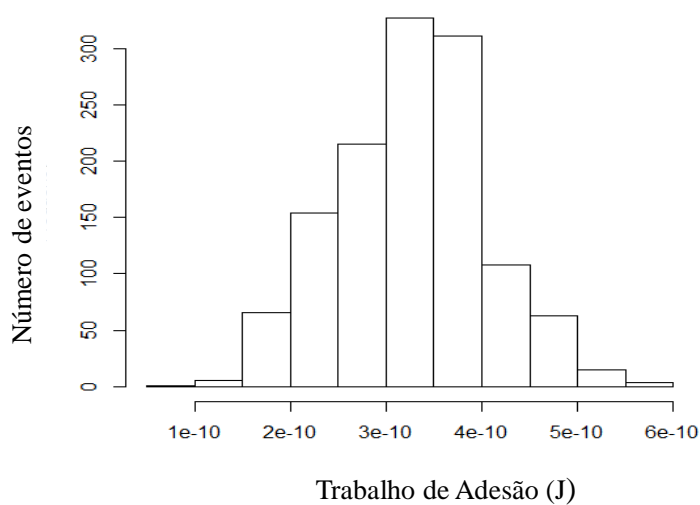
Fonte: Acervo Pessoal.

O histograma apresenta uma distribuição log-normal com um máximo de cerca de 19 nN. Forças inferiores a 6,4 nN estão ausentes do histograma, indicando um limiar mínimo na força de contato entre a fibra e as partículas compostas. Os dados mostram que o valor característico da força de contato entre a prata e a fibra, nas condições atmosféricas, é de cerca de 14,3 nN.

A Figura 69 mostra o histograma do trabalho de adesão do TiO_2 nas fibras, e a Figura 70 apresenta o histograma do trabalho de adesão do TiO_2 por tamanho da partícula.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

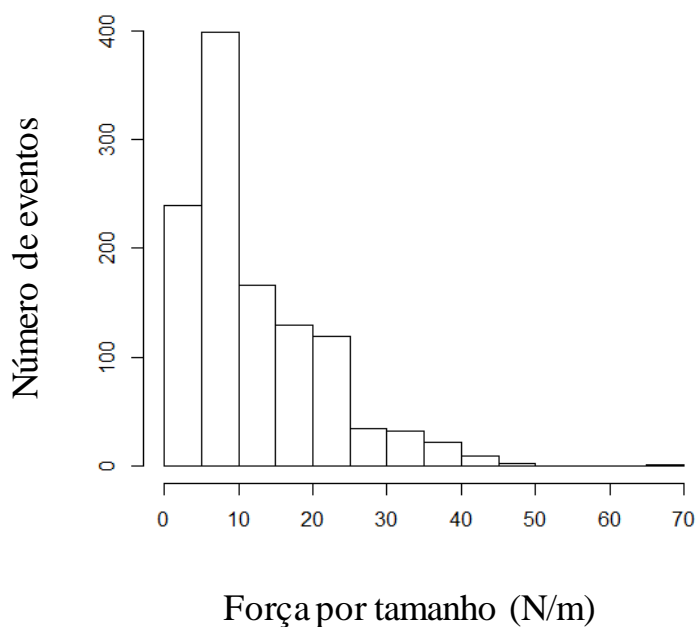
Figura 69: Histograma do trabalho de adesão para as partículas de TiO_2 nas fibras do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

O trabalho médio de adesão para o TiO_2 na fibra foi de $3,28 \times 10^{-10}$ J.

Figura 70: Histograma de Força de Adesão por tamanho de partícula do TiO_2 na fibra do meio filtrante.



Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Muitos dos histogramas apresentados possuem assimetria positiva (assimétrica a direita), demonstrando pouca aleatoriedade nos dados. De maneira geral, curvas com essas características possuem valores de médias maiores que os valores de medianas, pois a média é afetada por valores extremos, o que não ocorre com o valor da mediana. Esta assimetria (uma cauda maior que a outra) nos indica que há alguma propriedade que influencia diretamente nas medidas de força e trabalho. Acredita-se que os fatores de maior influência sejam o tamanho das partículas (ou fibra) e a composição das faces dos materiais compostos. Nota-se, por exemplo, que o histograma do trabalho para as fibras sem partículas possui pouca aleatoriedade, este dado indica que quase sempre o trabalho possui a mesma intensidade, retratando homogeneidade nas fibras.

A Tabela 10 apresenta o resumo dos dados obtidos por meio de comparação.

Tabela 10: Resumo dos dados das análises de força e trabalho de adesão.

	Tamanho (nm)	Força de adesão (nN)	Trabalho de adesão (pJ)
Filtro sem nanopartículas	-	35,79	539
Partícula-Partícula de nanocompósito	368±23	4,07	31,7
Partícula-Partícula de TiO₂	421±37	4,84	21,2
Prata na fibra	39±1,6	3,44	77,4
Compósito na fibra	368±23	12,24	246
TiO₂ na fibra	421±37	14,32	328

Fonte: Acervo Pessoal

Neste trabalho, inicialmente se suspeitava que as medidas não estavam sendo realizadas entre a partícula e o meio filtrante, mas sim entre a partícula e a agulha. Para resolver essas dúvidas, as medidas entre as partículas dos nanomateriais foram feitas com a intenção de saber se os valores seriam os mesmos. No entanto, conforme observado na Tabela 10, os valores encontrados foram diferentes. Este fato indica que as medidas feitas foram entre a partícula e o meio filtrante.

Também é notável que os maiores valores de adesão são para partículas de tamanhos maiores. As partículas maiores são mais difíceis de remover da fibra; no entanto, outros fatores influenciam a adesão dos materiais à fibra.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora seja a força de adesão o parâmetro medido entre as partículas e o meio filtrante, a velocidade é um parâmetro que torna o entendimento mais nítido. Isto porque, o interesse é aplicar este meio filtrante em condicionadores de ar, capelas de fluxo laminar e exaustores de salas limpas. Assim, com o intuito de determinar a velocidade necessária para extrair os nanomateriais da fibra foram feitos os cálculos descritos na sessão 3.10.

A Tabela 11 ilustra os dados de velocidade mínima e média necessária para extrair cada uma das partículas do meio filtrante bem como a área e a relação Força/Área para os três nanomateriais.

Tabela 11: Forças e velocidades necessárias para promover o desprendimento das partículas presentes no meio filtrante.

Nanomaterial	$F_{adesão}$ Mínima (N)	$F_{adesão}$ Média(N)	Velocidade Mínima (m/s)	Velocidade Média(m/s)	Área da Partícula (m ²)	Relação Força/ Área(N/m ²)
Ag	6,1E-10	3,4E-09	22,55	125,18	4,8E-15	7,1E+05
TiO₂	6,4E-09	1,4E-08	21,53	46,81	5,6E-13	2,6E+04
Ag/TiO₂	2,0E-09	1,2E-08	5,94	35,67	4,3E-13	2,2E+04

Fonte: Acervo Pessoal.

Analisando-se a Tabela 11 é possível verificar que maiores forças de adesão não implicam necessariamente em maiores velocidades requeridas para desprender as partículas do meio filtrante. Ressaltando que:

$$F_{Arrasto} = \frac{1}{2} C_D \rho V^2 A, \text{ tem-se que}$$

$$\frac{F_{Arrasto}}{A} = \frac{1}{2} C_D \rho V^2,$$

Então F/A é proporcional a V. Ou seja, é necessário avaliar a Força de arrasto por área da partícula e não somente a força em valores absolutos. Assim, analisando-se a

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 11 pode-se notar que a prata apresenta maior relação força x área e o nanocompósito Ag/TiO₂ a menor. Nota-se, contudo, que as partículas de prata, embora tenham valores absolutos de força menores, requerem maiores velocidades para que as partículas sejam lançadas ao ambiente.

A mesma lógica segue para o compósito que, embora tenha a maior força de adesão absoluta, possui as partículas mais facilmente extraídas do meio filtrante. Portanto, quando maior a relação F/A maior a velocidade necessária para extrair as partículas do meio filtrante, assim como ilustrado na Tabela 11.

4.5. Cálculo da força de adesão teórica utilizando os modelos JKR E DMT

Os modelos JKR e DMT utilizam-se dos valores dos trabalhos nos seus cálculos. Como foram obtidos trabalhos experimentais (área do gráfico Força x Deslocamento), foi possível calcular de maneira simples as forças de adesão teóricas. A Tabela 12 apresenta os resultados utilizando os dois modelos para os três materiais estudados.

Tabela 12: Forças de adesão teóricas utilizando os modelos JKR E DMT.

Nanomaterial	F _{ades} calculada pelo modelo JKR (nN)	F _{ades} calculada pelo modelo DMT (nN)	F _{ades} experimental
Ag	7,11	9,48	3,44
TiO ₂	324,42	432,56	14,32
Ag/TiO ₂	207,99	277,32	12,24

Fonte: Acervo Pessoal.

Analisando-se a Tabela 12 é possível verificar que o modelo prevê com certa precisão a força de adesão para as partículas de prata. Provavelmente isto se deve ao fato das partículas de prata serem mais regulares (se aproximarem mais de uma esfera) e menos complexas (não apresentarem aglomerados) do que as partículas dos outros dois nanomateriais. Em contrapartida os modelos não preveem com nenhuma exatidão as forças de adesão do dióxido de titânio e do compósito titânia prata. De forma contrária às partículas de prata, estes dois materiais apresentam-se em aglomerados nanoestruturados distanciando ainda mais as suas características de uma esfera. Cabe ressaltar que os modelos de força de adesão (JKR e DMT) foram implementados considerando superfícies

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

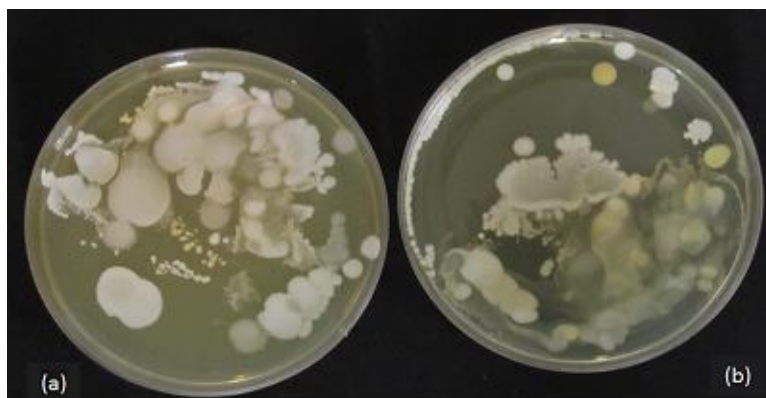
sólidas (que não é o caso do meio filtrante, visto que ele apresenta deformações) e partículas esféricas.

4.6. Análise do poder antimicrobiano dos filtros em ambiente real

Nesta seção serão apresentados os resultados referentes à análise do poder antimicrobiano em ambiente real dos meios filtrantes modificados com os nanomateriais.

As fotografias das placas de Petri contendo os inóculos dos filtros modificados e não modificados com Ag, após 48 h de incubação, são apresentados nas Figuras de 71 a 73 (Triplicata do ensaio).

Figura 71: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com prata incubados durante 48 h. - Teste 1.



Fonte: Acervo Pessoal.

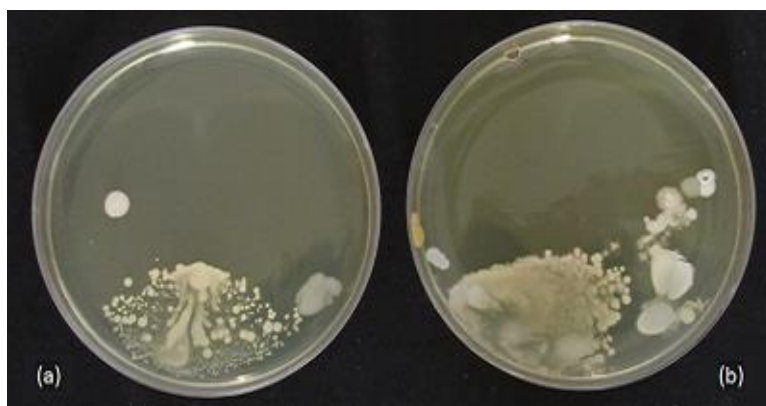
Figura 72: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado com prata (b) incubados durante 48 h. - Teste 2.



Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 73: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com prata incubados durante 48 h. - Teste 3.



Fonte: Acervo Pessoal

Os testes qualitativos foram feitos em triplicata com o intuito de averiguar se eles apresentavam o mesmo comportamento. Por meio das Figuras 71 a 73, pode-se observar que a placa de Petri dos filtros modificados (a) e a placas dos filtros não modificados (b) não apresentaram diferenças significativas em termos da diferença de colônias de microrganismos. Apenas com o resultado qualitativo não foi possível avaliar se houve inibição do crescimento microbiano. Assim, para avaliar quantitativamente, o método da massa seca foi implementado. Este teste também foi executado em triplicata para que pudesse ser calculado o desvio padrão das amostras. As Tabelas 13, 14 e 15 apresentam os valores de massa seca obtidos a partir do cultivo de microrganismos contidos no material particulado nos filtros não modificados e modificados com nanomateriais de prata.

Tabela 13: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – Ag

TESTE 1	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,02	50,00%
HEPA modificado com Ag	0,04	

Fonte: Acervo Pessoal

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 14: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – Ag.

TESTE 2	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,02	50,00%
HEPA modificado com Ag	0,04	

Fonte: Acervo Pessoal.

Tabela 15: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – Ag.

TESTE 3	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,01	66,66%
HEPA modificado com TiO ₂	0,03	

Fonte: Acervo Pessoal

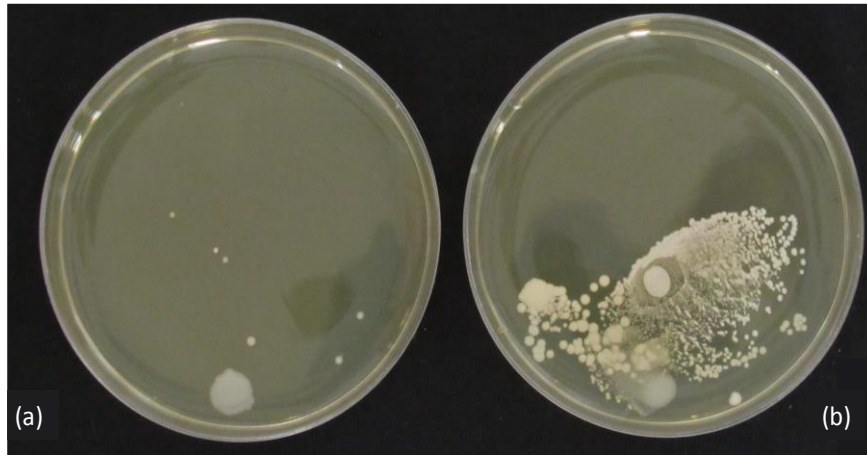
A massa seca dos bioaerosóis contidos nos filtros de Ag está apresentada nas Tabelas 12,13 e 14. É possível observar que a inibição nos três testes foi superior a 50%. A inibição média foi de $55,6 \pm 9,52\%$, mostrando que prata possui um efeito antimicrobiano não muito pronunciado, mas suficiente para reduzir pela metade os microrganismos em um ambiente.

As fotografias das placas de Petri contendo os inóculos dos filtros modificados e não modificados com TiO₂, após 48 h de incubação, são apresentados nas Figuras de 74 a 76 (Triplicata do ensaio).

Por meio das Figuras 74 a 76, pode-se observar que a placa de Petri dos filtros modificados (a) tem um número muito menor de colônias quando comparados com as placas dos filtros não modificados (b). Este resultado demonstra qualitativamente a eficiência de inibição dos microrganismos nos meios filtrantes contendo TiO₂.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 74: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO_2 incubados durante 48 h. - Teste 1.



Fonte: Acervo Pessoal.

Figura 75: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO_2 incubados durante 48 h. - Teste 2.



Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 76: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com TiO_2 incubados durante 48 h. - Teste 3.



Fonte: Acervo Pessoal.

Para avaliar quantitativamente, também foi implementado o método da massa seca. As Tabelas 16, 17 e 18 apresentam os valores de massa seca obtidos a partir do cultivo de microrganismos contidos no material particulado nos filtros não modificados e modificados com nanomateriais de TiO_2 .

Tabela 16: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – TiO_2 .

TESTE 1	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,06	66,66%
HEPA modificado com TiO_2	0,02	

Fonte: Acervo Pessoal

Tabela 17: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – TiO_2 .

TESTE 2	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,04	75,00%
HEPA modificado com TiO_2	0,01	

Fonte: Acervo Pessoal.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 18: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – TiO₂.

TESTE 3	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,04	75,00%
HEPA modificado com TiO ₂	0,01	

Fonte: Acervo Pessoal

A massa seca dos bioaerosóis contidos nos filtros de TiO₂ está apresentada nas Tabelas 16, 17 e 18. É possível observar que a inibição nos três testes foi superior a 66%. A inibição média foi de $72,2 \pm 4,81\%$, mostrando que o dióxido de titânio tem um efeito antimicrobiano bastante elevado, visto que, é possível observar a variedade de microorganismos encontrados no ambiente de coleta. Segundo Rajagopal et al. (2006) esta inibição é provavelmente devido à formação de H₂O₂ que é bastante tóxico para a parede celular, causando assim a morte de microorganismos.

As fotografias das placas de Petri contendo os inóculos dos filtros modificados e não modificados com Ag/TiO₂, após 48 h de incubação, são apresentados nas Figuras de 77 a 79 (Triplicata do ensaio).

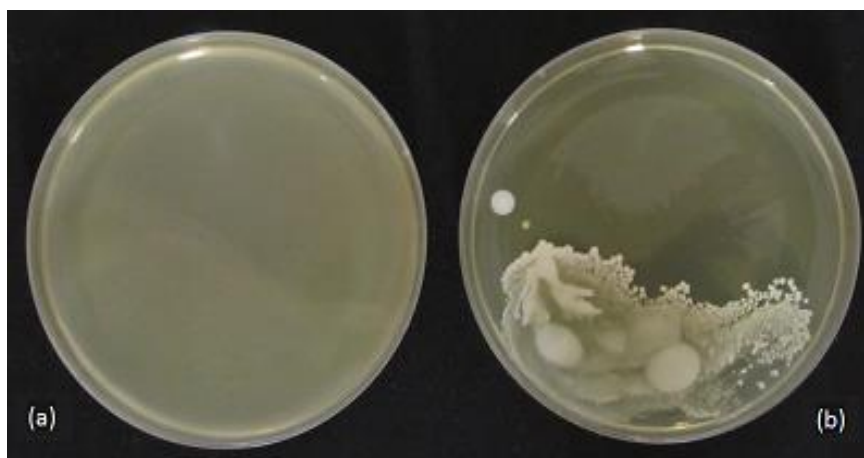
Figura 77: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO₂ incubados durante 48 h. - Teste 1.



Fonte: Acervo Pessoal.

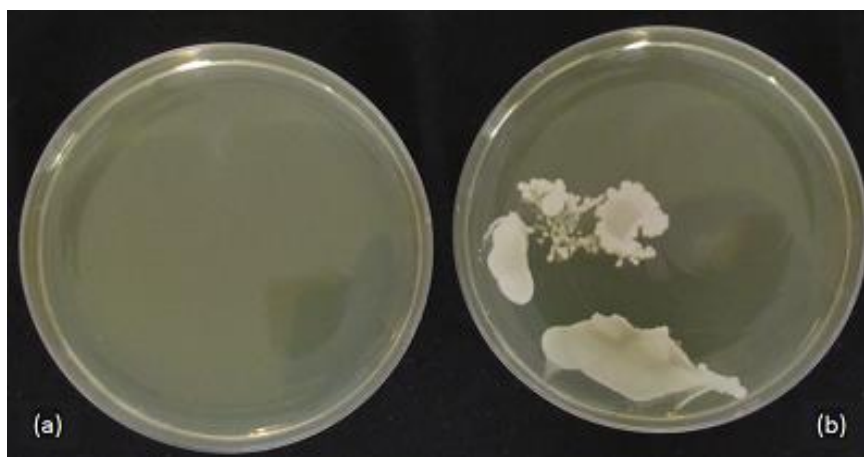
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

Figura 78: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO₂ incubados durante 48 h. - Teste 2.



Fonte: Acervo Pessoal.

Figura 79: Placas de Petri contendo o inóculo do filtro modificado (a) e do filtro não modificado (b) com Ag/TiO₂ incubados durante 48 h. - Teste 3.



Fonte: Acervo Pessoal.

Por meio das Figuras 77 a 79, pode-se observar que a placa de Petri dos filtros modificados (a) tem um número muito menor de colônias quando comparados com as placas dos filtros não modificados (b). Nota-se que em dois dos três ensaios não houve aparecimento de microrganismos na placa do filtro modificado. Este resultado demonstra qualitativamente a eficiência de inibição dos microrganismos nos meios filtrantes contendo Ag/TiO₂. Para avaliar quantitativamente, também foi implementado o método da massa seca. As Tabelas 18, 19 e 20 apresentam os valores de massa seca obtidos a

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

partir do cultivo de microrganismos contidos no material particulado nos filtros não modificados e modificados com nanomateriais de Ag/TiO₂.

Tabela 19: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no primeiro teste – Ag/TiO₂.

TESTE 1	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,05	80,00%
HEPA modificado com Ag/TiO₂	0,01	

Fonte: Acervo Pessoal.

Tabela 20: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no segundo teste – Ag/TiO₂.

TESTE 2	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,06	83,33%
HEPA modificado com Ag/TiO₂	0,01	

Fonte: Acervo Pessoal.

Tabela 21: Massa seca e porcentagem de inibição obtida no terceiro teste – Ag/TiO₂.

TESTE 3	Massa seca (g)	Porcentagem de inibição (%)
HEPA não modificado	0,05	80,00%
HEPA modificado com Ag/TiO₂	0,01	

Fonte: Acervo Pessoal.

A massa seca dos bioaerosóis contidos nos filtros de Ag/TiO₂ está apresentada nas Tabelas 19, 20 e 21. É possível observar que a inibição nos três testes foi superior a 80%. A inibição média foi de $81,11 \pm 1,92\%$, mostrando que o nanocompósito Ag/TiO₂ é o nanomaterial que possui o melhor efeito antimicrobiano em ambientes reais.

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 22 resume os dados médios obtidos da avaliação dos meios filtrantes modificados em ambientes reais.

Tabela 22: Resultados de inibição média obtidos para os três diferentes filtros em ambiente real.

Nanomaterial	Porcentagem média de inibição (%)
Ag	$55,6 \pm 9,52$
TiO ₂	$72,2 \pm 4,81$
Ag/TiO ₂	$81,11 \pm 1,92$

Fonte: Acervo Pessoal.

Estes resultados corroboram com os resultados obtidos nos testes “*in vitro*” em que a prata apresentou os menores e o compósito os maiores teores de inibição. Os dados sugeriram que o maior efeito do material híbrido era devido a uma combinação dos mecanismos mencionados acima. Os mecanismos de ação da prata e do titânio são diferentes, então seus efeitos combinados tornaram o nanomaterial mais eficaz, com evidência de sinergismo (o efeito combinado foi maior que a soma dos efeitos individuais dos agentes).

Nota-se também que os teores de eliminação/inibição do teste “off-line” para TiO₂ e para o compósito são todos menores do que os do ambiente real. Cabe ressaltar que no banheiro os testes foram feitos de dia (luz solar) e com a luz acesa (a luz branca emite raios UV). Como é sabido, a incidência de UV potencializa o efeito do TiO₂. Nessa condição (incidência de UV), a superioridade do compósito é estatisticamente significativa frente ao teor de inibição utilizando partículas de prata.

Cabe ressaltar que foram modificados filtros absolutos (do tipo HEPA) que, por definição, não permitem a passagem do bioaerossol. Portanto, ao conseguir uma eliminação de 80% dos microrganismos retidos significa um aumento do tempo de uso do meio filtrante em 5 vezes (a perda de carga devido ao acúmulo de biomaterial seria 5 vezes menor, aumentando a vida útil em 5 vezes), o que também pode diminuir em 5

CAPÍTULO 4:

RESULTADOS E DISCUSSÃO

vezes a probabilidade de contaminação do meio ambiente. Estes dados reiteram a ideia de diminuição de contaminação do ambiente ao serem utilizados os filtros modificados.

CAPÍTULO 5: CONCLUSÃO

5.CONCLUSÃO

Levando-se em conta o cenário atual e a contínua busca por minimização da contaminação de ambientes internos, especialmente pelo crescente confinamento das pessoas, esta tese objetivou contribuir para a diminuição ou até mesmo erradicação de microrganismos nestes ambientes. Para atingir estes objetivos, meios filtrantes foram modificados com nanomateriais com ação antimicrobiana e estes foram posteriormente testados em ambientes reais.

Assim, pode-se inferir que os nanomateriais propostos foram sintetizados e caracterizados de maneira efetiva. A prata sintetizada pelo método de Turkevich apresentou tamanho médio de $39\pm 1,6\text{nm}$, o dióxido de titânio sintetizado pelo método Pechini $421\pm 37\text{nm}$ e o nanocompósito Ag/TiO_2 sintetizado pelo método de Pan Modificado obteve o valor médio de $368\pm 23\text{nm}$. A composição destes nanomateriais foi avaliada e confirmada utilizando-se MEV acoplado ao detector EDS.

O meio filtrante HEPA fibra de vidro mostrou-se adequado, visto que, era necessário a retenção das nanopartículas nas fibras para que a modificação fosse efetiva. O meio filtrante apresentou eficiência de coleta de quase 100% para toda a faixa de partículas analisada.

Também foi obtido êxito na modificação dos filtros, as quais foram confirmadas, similarmente, pela técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura.

A contaminação controlada revelou que os nanomateriais em estudo eram potenciais agentes biocida, apresentando valores de inibição para o microrganismo *E.coli* foram de 53, 63 e 68 % para os nanomateriais de Ag, TiO_2 e Ag/TiO_2 respectivamente, 67, 67 e 69% para *S.aureos* e 68, 73 e 75% para *C.albicans*. Além destes testes quantitativos, viu-se a formação de halos de inibição o que reitera a ideia de haver uma boa inibição/eliminação dos microrganismos estudados.

Com as medidas de força de adesão e com os posteriores cálculos de velocidade de desprendimento das partículas do filtro foi possível avaliar qual a partícula é mais facilmente extraída do meio filtrante. Os resultados obtidos mostraram que as partículas de titânio foram as que possuíram a maior intensidade de força de adesão $14,32\text{nN}$. No entanto, as partículas de Ag/TiO_2 apresentaram forças similares, $12,24\text{nN}$. As partículas que apresentaram menor força de adesão foram as partículas de prata, com intensidade de

CAPÍTULO 5:

CONCLUSÃO

3,44 nN. Em posse dos valores de força de adesão foi possível calcular a velocidade mínima e média do ar necessária para carregar as partículas para o ambiente. Devido à velocidade ser proporcional à força/área, a prata apresentou-se como o material mais difícil de ser retirado das fibras com velocidade mínima de 22,5 m/s e média de 125, 18 m/s. Para extrair partículas de titânio a velocidade mínima foi de 21,53 e média de 46,81 e, para o compósito 5,94 e 35,67 para mínima e média, respectivamente.

A avaliação dos filtros em ambiente real também se mostrou promissora, obtendo valores de $55,6 \pm 9,52\%$ de inibição com os filtros modificados com prata, $72,2 \pm 4,81\%$ para os filtros modificados com TiO_2 e $81,11 \pm 1,92\%$ para os filtros modificados com o nanocompósito. Estes dados evidenciam o efeito sinérgico da prata e do dióxido de titânio que, quando em conjunto, possuem um efeito antimicrobiano mais pronunciado.

Em suma, com as avaliações propostas neste trabalho, não foi possível apontar para um filtro/ nanomaterial com desempenho em destaque. O compósito Ag/TiO_2 apresentou um grande efeito antimicrobiano, tanto na investigação controlada quanto na investigação em ambiente real, no entanto, apresentou velocidade mínima de desprendimento bastante reduzida, o que poderia acarretar uma poluição no ambiente em que seria utilizado. A prata, por sua vez, apresentou valores de inibição menores que os demais, mas suporta maiores velocidades de ar sem que seja desprendida. Desta forma, o meio filtrante adequado será aquele que suporte as velocidades operadas nos equipamentos em que serão usados. Caso todos suportem a velocidade de operação, o mais adequado será o que apresenta maior capacidade de inibição dos microrganismos (neste caso o modificado com Ag/TiO_2).

CAPÍTULO 6:

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar o efeito dos nanomateriais sob a bactérias *Legionella pneumophila* (bactéria amplamente encontrada em ambientes internos);
- Fazer a modificação de meios filtrantes já utilizados em condicionadores de ar;
- Modificar os meios filtrantes com outros materiais antimicrobianos que sejam menos danosos ao meio ambiente (quitosana, por exemplo);
- Avaliar a repetibilidade e reprodutividade de métodos “verdes” de síntese dos nanomateriais que já mostraram eficácia em combater microrganismos em geral;
- Avaliar o efeito do método de preparação do compósito (Ag/TiO₂) na exposição dos componentes;
- Determinar a quantidade de partículas presentes no meio filtrante e avaliar a inibição/ eliminação levando em conta o número de partículas e não somente da massa;
- Modificar filtros não absolutos para avaliar o efeito biocida no ar passante;
- Realizar experimentos de força de adesão pelas técnicas de AFM e centrífuga e verificar a similaridade ou divergência dos dados.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição. Wayne, Pensilvânia, Copyright[©], 2003. 58p.

AHMAD, T. et al. Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. **Colloids Surf., B**, n.107, p.227-234, 2013.

ALAM, F.; BALANI, K. Adhesion force of *staphylococcus aureus* on various biomaterial surfaces. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, n.65, p. 872-880, 2017.

ALIZADEH, H. et al. Intramacrophage antimicrobial effect of silver nanoparticles against *Brucella melitensis* 16M. **Scientia Iranica**, n.20, p. 1035-1038., 2013.

ALLAKER, R.P. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. **J Dent Res**, n.80, v.11, p.1175-1186, 2010.

AMOOAGHAIE, R. et al. Synthesis, characterization and biocompatibility of silver nanoparticles synthesized from *Nigella sativa* leaf extract in comparison with chemical silver nanoparticles. **Ecotoxicol. Environ. Saf**, n. 120, p.400-408, 2015.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RESOLUÇÃO - RE/ANVISA Nº9** de 16 de janeiro de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br> acesso em 17/01/2018.

ARSHI, N. et al. Microwave assisted synthesis of gold nanoparticles and their antibacterial activity against *Escherichia coli* (E. coli). **Curr Appl Phys.**, n.11, p.5360-5363, 2011.

ASAY, D.B.; KIM, S.H. Effects of adsorbed water layer structure on adhesion force of silicon oxide nanoasperity contact in humid ambient. **The Journal of Chemical Physics**, n.124, p.1747121- 1747125, 2006.

BARRY, A. L.; THORNSBERRY, C. Susceptibility tests: Diffusion Test Procedures. In: BALOWS, A.; HAUSER, W.J.; HERMANN, K.L.; ISENBERG, H.D.; SHAMODY, H.J. Manual of clinical microbiology. 5.ed. Washington: DC: American Society for Microbiology, p. 1117- 1125,1991.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Amer. J. Clin. Pathol.**, n.45, p.493-496, 1966.
- BELLISSIMA, F. et al. Antibacterial activity of silver nanoparticles grafted on stone surface. **Environ Sci Pollut Res**, v.21, n.23, 13278- 13286, 2013.
- BINNIG, G.; QUATE, C.F. Atomic Force Microscope. **Physical Review Letters**, v. 56, n.9, p. 930-934, 1986.
- BONNET, M. et al. Toxicity and Antimicrobial Efficiency of Titanium Dioxide Nanoparticles in Suspension. **Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology**, n.06, v.03, p.213-224, 2015.
- BORTOLASSI, A.C.C. **Caracterização e eficiência de diferentes meios filtrantes fibrosos na remoção de nanopartículas.** 2015. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.
- BUTT, H. et al. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications. **Surface Science Reports**, n.59, p. 1-152, 2005.
- CASAGRANDE, J.J.C. Efeito antimicrobiano de nanopartículas de prata, cobre, ouro e níquel contra *Strestococcus mutans*. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) – Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, Criciúma- SC, 2010.
- CALDER, A.J. et al. Soil components mitigate the antimicrobial effects of silver nanoparticles towards a beneficial soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6. **Sci Total Environ.**, n.429, 215-222, 2012.
- CAO, H. et al. Biological actions of silver nanoparticles embedded in titanium controlled by micro-galvanic effects. **Biomaterials.**, n.32, P.693–705, 2011.
- CATRANIS, C. M. et al. A new sub-sampling method for analysis of air samples collected with the Andersen single-stage sampler. **Aerobiologia**, n.22, p.177-184, 2006.
- CAVINATTO, V.M. Influência de fatores ambientais na dispersão de partículas originadas em um sistema de tratamento biológico de esgotos em valos de oxidação. 1991. 123p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Faculdade de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.
- COMBARROS, R.G. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles on *Pseudomonas putida*. **Water Research.**, n.90, p.378-386, 2016.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- CONLON, J.M. et al. Antimicrobial peptides from ranid frogs: taxonomic and phylogenetic markers and a potential source of new therapeutic agents. **Biochim Biophys Acta**, n.1696, p.1-14, 2004.
- COSTA, A.C.F. et al. Síntese e caracterização de nanopartículas de TiO₂. **Cerâmica**, v.52, n. 324, p.255-259, 2006.
- COURY, J.R. Electrostatic effects in granular bed filtration in gases. Tese de Doutorado, Cambridge University, Cambridge, U.K, 1983.
- DERJAGUIN, B.V.; MULLER, V.M.; TOPOROV, Y.P. Effect of Contact Deformations on the Adhesion of Particles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v.53, n.2, 1975.
- DICKENSON, C. Filters and Filtration Handbook. 3^a ed. Oxford: Elsevier Advanced Technology, 1994.
- DRELICH, J. et al. Determination of solid surface tension from particle–substrate pull-off forces measured with the atomic force microscope. **Journal of Colloids and Interface Science**, n.280, p.484-497, 2004.
- DUFRENE, Y.F. Atomic Force Microscopy, a Powerful Tool in Microbiology. **Journal of Bacteriology**, v.184, n.19, p. 5205-5213, 2002.
- DULLIEN, F.A.L. Introduction to industrial gas cleaning. **Academic Press**, 285, 1989.
- ESTRUGA, M. et al. Microwave radiation as heating method in the synthesis of titanium dioxide nanoparticles from hexafluorotitanate-organic salts. **Mater Res Bull.**, n.45, p.1224-1229, 2010.
- EUSTIS, S. et al. Growth and fragmentation of silver nanoparticles in their synthesis with a fs laser and CW light by photo-sensitization with benzophenone. **Photochem. Photobiol. Sci.**, n. 4, p.154-159, 2005.
- DURAIRAJ, B. et al. Fungal generated titanium dioxide nanoparticles for UV protective and bacterial resistant fabrication. **Int. j. eng. sci. Technol.**, n.6, p.621-625, 2014.
- FARIA et al. Antimicrobial Electrospun Biopolymer Nanofiber Mats Functionalized with Graphene Oxide–Silver Nanocomposites. **Applied Materials & Interfaces**, n.7, p.12751-12759, 2015.
- FARSHCHI-TABRIZI, M.; KAPPL, M.; CHENG, Y. J.; GUTMANN, J.; BUTT, H. J. On the adhesion between fine particles and nanocontacts: An atomic force microscope study. **Langmuir**, n.22, p.2171–2184, 2006.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

FELICETTI, M.A.; COURY, J.R.; AGUIAR, M.L. Centrifuge Study on Influence of Particle Size, Compression and Substratum on Particle-Surface Adhesion Force. **Materials Science Fórum**, 591-593: 347-351, 2008.

FELICETTI, M.A.; SALAZAR-BANDA, G.R.; COURY, J.R.; AGUIAR, M.L. Influence of Particle Size, Applied Compression, and Substratum Material on Particle? Surface Adhesion Force Using the Centrifuge Technique. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, **48**: 877-887, 2009.

FERREIRA, V.S. et al. Green production of microalgae-based silver chloride nanoparticles with antimicrobial activity against pathogenic bacteria. **Enzyme Microb Tech Journal**, n. 97, p.114-121, 2017.

FILPO, G. et al. Preventing fungal growth in wood by titanium dioxide nanoparticles. **T Biodeter Biodegr.**, n.83, p.217-222, 2013.

FREITAS, A.R. et al. Yeasts isolated from nosocomial urinary infections: Antifungal susceptibility and biofilm production. **Rev Iberoam Micol.**, n.31, p.104–108, 2014.

FRÖBERG, J.C.; ROJAS, O.J.; CLAEISSON, P.M. Surface forces and measuring techniques. **International Journal of Mineral Process**, n.56, p.1–30, 1999.

FUJII, R.K. Avaliação da qualidade do ar em duas estações de metrô de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GIODA, A.; AQUINO NETO, F.R. Considerações sobre estudos de ambientes industriais e não-industriais no Brasil: uma abordagem comparativa. **Cad. Saúde Pública.**, v.19, n.5, p. 1389-1397, 2003.

GORUP, L.F. et al. Moderating effect of ammonia on particle growth and stability of quasi-monodisperse silver nanoparticles synthesized by the Turkevich method. **J. Colloid Interface Sci.**, n.360, p.355-358, 2011.

HAMAKER, H.C. The London-Van der Waals attraction between spherical particles. **Physica IV**, n.10, p.1058–1065, 1937.

HASSANJANI-ROSHANA, A. et al. A. The effect of sonication power on the sonochemical synthesis of titania nanoparticles. **J Ceram Process.**, n.12, p. 299-303, 2011.

HEBEISH, A. et al. Development of CMC hydrogels loaded with silver nano-particles for medical applications. **Carbohydr Polym.**, n.92, p. 407-413, 2013.

CAPÍTULO 7:

REFERÊNCIAS

- HINDS, W.C. Aerosol Technology: properties, behavior and measurement of airborne particles, 2ed, New York: John Willey & Sons, 1999, p.483.
- IBRAHIM, R.K. et al. Environmental application of nanotechnology: air, soil, and water. **Environ Sci Pollut Res.**, v.23, n.14, p.13754 – 13788, 2016.
- INNOCENTINI, M.D.M. et al. Otimização da permeabilidade de filtros de aerossóis para altas temperaturas preparados a partir da técnica de adição de espuma aquosa em suspensão cerâmica. **Cerâmica**, n.55, p.67-77, 2009.
- INNOCENTINI, M. D. M. Filtração de gases a altas temperaturas. 1997. 266p. Tese (Doutorado em Engenharia Química)- Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997. Doutorado. UFSCar/ DEQ (1997).
- JOHNSON, K.L.; KENDALL, K.; ROBERTS, A.D. Surface energy and the contact of elastic solids. **Proceedings of the Royal Society**, 324: 301-313, 1971.
- KARAMAN, I. et al. .Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **J Ethnopharmacol**, n.85, p. 231-235, 2003.
- KAUSHIK, A. et al. Dynamic Effects in Microparticle Pull-Off Using an AFM. **Particulate Science and Technology**, n.25, p.387–399, 2007.
- KEDZIORA, A.; STREK, W.; KEPINSKI, L.; BUGLA-PLOSKONSKA, G.; DOROSZKIEWICZ, W. Synthesis and antibacterial activity of a novel titanium dioxide doped with silver. **J Sol-Gel Sci Technol.**, 62:79–86, 2012.
- KIM, Y.J. et al. Atmospheric and biological environmental monitoring, Springer, **2009**.
- KNOLL, J.; DAMMERT, W.; NIRSCHL, H. Integration of a microscope into a centrifuge for adhesion force measurement of particles. **Powder Technology**, 305: 147-155, 2017.
- KRUTYAKOV, Y.A. et al. Aggregative Stability and Polydispersity of Silver Nanoparticles Prepared Using Two-Phase Aqueous Organic Systems. **Nanotechnol. Russ**, n.3, p. 303-310, 2008.
- KUMAR, B. et al. Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. **Saudi J Biol Sci.** n.24, p. 45-50, 2017.
- LARA et al. Effect of silver nanoparticles on *Candida albicans* biofilms: an ultrastructural study. **Journal of Nanobiotechnology**, n.13, v.91, p.1-12, 2015.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- LAZAREVIC, Z.Z. et al. The characterization of the barium titanate ceramic powders prepared by the Pechini type reaction route and mechanically assisted synthesis. **J Eur Ceram Soc.**, n.30, p. 623-628, 2010.
- LEE, B. U. Life Comes from the Air: A Short Review on Bioaerosol Control, **Aerosol and Air Quality Research**, 11: 921–927, 2011
- LEE, J.; JO, W. Characteristics of indoor and outdoor bioaerosols at Korean high- Rise apartment buildings. **Environ. Research.**, n.101, p. 11-17, 2006.
- LEE, P.C.; MEISEL, D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. **J. Phys. Chem.**, n.86, p.3391, 1982.
- LEUNG, Y.H. Toxicity of ZnO and TiO₂ to *Escherichia coli* cells. **Scientific Reports-Nature**, n.35243, v.6, p. 1-13, 2016.
- LI, Q. et al. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbial control: Potential applications and implications. **Water Research**, n.42, p. 4591-4602, 2008.
- MA, H. et al. Synthesis of Silver and Gold Nanoparticles by a Novel Electrochemical Method. **Chemphyschem.**, n.5, p. 68-75, 2004.
- MALEKFAR, R. et al. Micro-Raman scattering of KTP (KTiOPO₄) nanocrystallites synthesized by modified sol–gel Pechini method. **Vib Spectrosc.**, n.51, p.308-312, 2009.
- MARSHALL, B.T. et al. Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules. **Nature**, n.423, p. 190-193, 2003.
- MATTESON, M.J. Filtration: Principles and Practices, New York, Marcel Dekker Inc., 1987.
- MIGUEL, A.F. Effect of air humidity on the evolution of permeability and performance of a fibrous filter during loading with hygroscopic and non-hygroscopic particles. **Journal of Aerosol Science**, n.34, p.783-799, 2003.
- MORRISON, A. An Introduction to Fluid Mechanics, Cambridge University Press, New York, 2013.
- NASCIMENTO, G.C. Avaliação da qualidade do ar em ambientes internos: biblioteca pública. Dissertação (Mestrado em Hidráulica e Saneamento) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos-SP, 2011.
- NINAN, N. et al. Antibacterial and wound healing analysis of gelatin/zeolite scaffolds. **Colloids Surf., B**, n.115, p.244-252, 2014.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- OBBARD, G. I. et al. Airborne bacterial and fungal spores in the indoor environment - a case of study in Singapore. **Acta Biotechnology**, v.20, n. 1, p. 67-73, 2000.
- PALANISAMY, S. et al. A green route to synthesis silver nanoparticles using *Sargassum polycystum* and its antioxidant and cytotoxic effects: An in vitro analysis. **Materials Letters**, n.185, p. 196-200, 2017.
- PAN, X.; MEDINA-RAMIREZ, I.; MERNAUGH, R.; LIU, J. Nanocharacterization and bactericidal performance of silver modified titania photocatalyst. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n.77, p.82-89, 2010.
- PANACEK, A. et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against *Candida* spp. **Biomaterials**, n.30, p.6333-6340, 2009.
- PETEAN, P.G.C.; AGUIAR, M.L. Determining the adhesion force between particles and rough surfaces. **Powder Technology**, 274: 67-76, 2015.
- PILLAI, Z.S.; KAMAT, P.V. What Factors Control the Size and Shape of Silver Nanoparticles in the Citrate Ion Reduction Method?. **J. Phys. Chem. B**, n.108, p.945-951, 2004.
- PREMA, P. et al. CMC stabilized nano silver synthesis, characterization and its antibacterial and synergistic effect with broad spectrum antibiotics. **Carbohydrate Polymers**, n.158, p.141-148, 2017.
- QUINA, F. Nanotecnologia e o meio ambiente: Perspectivas e Riscos. **Quim. Nova**, v.27, n.6, p. 1028-1029, 2004.
- RABANAL, R.M.; ARIAS, A.; PRADO, B.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; SÁNCHEZ-MATEO, C.C. Antimicrobial studies on three species of *Hypericum* from the Canary Islands. **J Ethnopharmacol.**, n. 81, p. 287-292, 2002.
- RAI, M. et al. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, n.27, p. 76-83, 2009.
- RAJA, S. et al. Green biosynthesis of silver nanoparticles using *Calliandra haematocephala* leaf extract, their antibacterial activity and hydrogen peroxide sensing capability. **Arab J Chem**, n.10, p. 253-261, 2017.
- RAJAGOPAL, G. et al. Biocidal effects of photocatalytic semiconductor TiO₂. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n.51, p.107-111, 2006.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- RAVICHANDRAN, K. et al. Synthesis of ZnO:Co/rGO nanocomposites for enhanced photocatalytic and antibacterial activities. **Ceramics International**, n.42, p.17539–17550, 2016.
- RUTH, D.; MA, H. On the Derivation of the Forchheimer Equation by Means of the Averaging Theorem. **Transport in Porous Media**, n.7, p.255-264, 1992.
- SALAMEH, S.et al. Adhesion Mechanisms of the Contact Interface of TiO₂ Nanoparticles in Films and Aggregates. **Langmuir**, n.28, p. 11457–11464, 2012.
- SALAZAR-BANDA,G.R. et al. Determination of the adhesion force between particles and a flat surface, using the centrifuge technique. **Powder Technology**, n.173, p.107–117, 2007.
- ŠALKUS, T. et al. Ionic conductivity of Li_{1.3}Al_{0.3–x}Sc_xTi_{1.7}(PO₄)₃ (x=0, 0.1, 0.15, 0.2, 0.3) solid electrolytes prepared by Pechini process. **Solid State Ionics.**, n.225, p.615-619, 2012.
- SCHIRMER, W. N. et al. A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 16, n. 8, p. 3583-3590, 2011.
- SELTZER, J. M. Biological contaminants. **J. Allergy Clin. Immunol.**, 94; 2:318-326, 1994.
- SELVAMANI, M. et al. Ag@Ag₈W₄O₁₆ nanoroasted rice beads with photocatalytic, antibacterial and anticancer activity. **Mater Sci Eng. C**, n.60, p.109-118, 2016.
- SHAFIEE et al. Antibacterial performance of nano polypropylene filter media containing nano-TiO₂ and clay particles. **Journal of nanoparticle Research**, n.17, v.407, p. 1-9, 2015.
- SHRESTHA,R.. et al. Oligodynamic Action of Silver, Copper and Brass on Enteric Bacteria Isolated from Water of Kathmandu Valley. **Nepal Journal of Science and Technology**, n.10, p.189-193, 2009.
- SIVARANJANI, V.; PHILOMINATHAN, P. Synthesize of Titanium dioxide nanoparticles using Moringa oleifera leaves and evaluation of wound healing activity. **Wound Medicine.**, n.12, p. 1-5, 2016.
- SRISITTHIRATKUL, C.et al. The potential use of nanosilver-decorated titanium dioxide nanofibers for toxin decomposition with antimicrobial and selfcleaning properties. **Applied Surface Science**, v.21, n.257, p.8850-8856, 2011.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS

- STAHL, S.; LEIPERT, C.; NIRSCHL, H. The cleanability of particle loaded woven filter media in solid–liquid separation. **Separation and Purification Technology**, n.110, p. 196-201, 2013.
- SUMAN, T.Y. et al. Larvicidal activity of titanium dioxide nanoparticles synthesized using *Morinda citrifolia* root extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* and its other effect on non-target fish. **Asian Pac JTrop Dis.**, n.5, p. 224-230, 2015.
- TAKEUCHI, M. Adhesion forces of charged particles. **Chemical Engineering Science**, n.61, p. 2279-2289, 2006.
- THURMAN, R.B.; GERBA,C.P. The molecular mechanisms of copper and silver ion disinfection of bacteria and viruses. **Soil, water and Environmental Science**, n.4, p. 295-315, 1988.
- TIAN, J. et al. Antimicrobial application of nanofibrous mats self-assembled with chitosan and epigallocatechin gallate. **Colloids Surf., B**, n.145, p. 643-652, 2016.
- TOUHAMI, A. et al. Probing Specific Lectin-Carbohydrate Interactions Using Atomic Force Microscopy Imaging and Force Measurements. **Langmuir**, n.19, p.1745-1751, 2003.
- TURKEVICH, J.; STEVENSON, P.C.; HILLIER, J. Nucleation and Growth Process in the Synthesis of Colloidal Gold. **Discuss. Faraday Soc.**, n.11, p. 55-75, 1951.
- TURKI, Y. et al. Evaluation of a cocktail of three bacteriophages for the biocontrol of *Salmonella* of wastewater. **Food Res Int.**, n.45, p.1099-1105, 2012.
- UNITED STATES PATENT OFFICE. Maggio P. Pechini. Method of preparing lead and alkaline Earth titanates and niobates and coating method using the same to form a capacitor. U.S. Patent 3.330.697, 11 de Julho de 1967
- WANG, S. et al. Volatile organic compounds in indoor environment and photocatalytic oxidation: State of the art. **Environ. Int.**, v. 33, n.5, p.694-705, 2007.
- WYART, Y. et al. Membrane characterization by microscopic methods: Multiscale structure. **Journal of membrane Science**, n.315, p.82-92, 2008.
- XIA, Z. et al. The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. **J Microbiol Immunol.**, n. 49, p.182-188, 2016.
- XING, M. et al. Adhesion Force Studies of Nanofibers and Nanoparticles. **Langmuir**, v.26, n.14, p. 11809-11814, 2010.

CAPÍTULO 7:

REFERÊNCIAS

YAKUB, I.; SOBOYEJO, W.O.; Adhesion of E. coli to silver- or copper-coated porous clay ceramic surfaces. **Journal of applied Physics**, n.111, p. 124324, 2012.

ZHANG, W. et al. Synthesis of nanosilver colloidal particles in water/oil microemulsion. **Colloids Surf., A.**, n.299, p. 22-28, 2007.

ZHANG, W. et al. Interaction force measurement between E. coli cells and nanoparticles immobilized surfaces by using AFM. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, n.82, p.316–324, 2011.

ZOCCAL, J.V.M. **Estudo de métodos para a dispersão de nanopartículas de níquel e ferro em suspensão**. 2015.166f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

APÊNDICE 1

Neste apêndice será apresentada a interface do programa JPK. Este programa foi utilizado para o tratamento das curvas (ajustar às linhas de base) bem como para a seleção das curvas que seriam posteriormente tratadas pelo software R.

Figura A1: Interface do programa JPK - selecionando curvas.

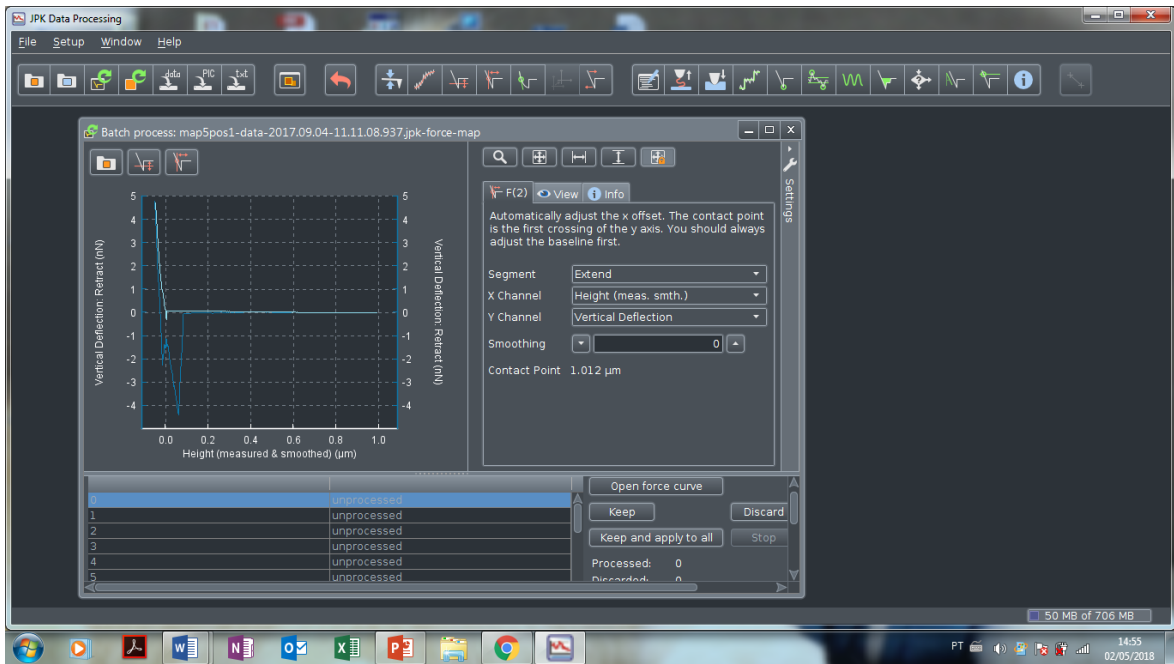
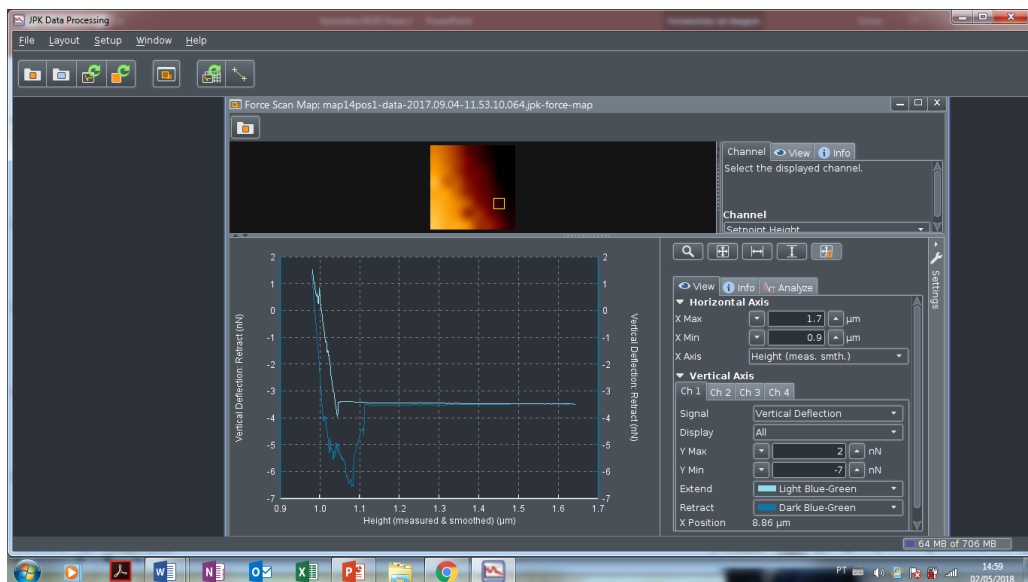


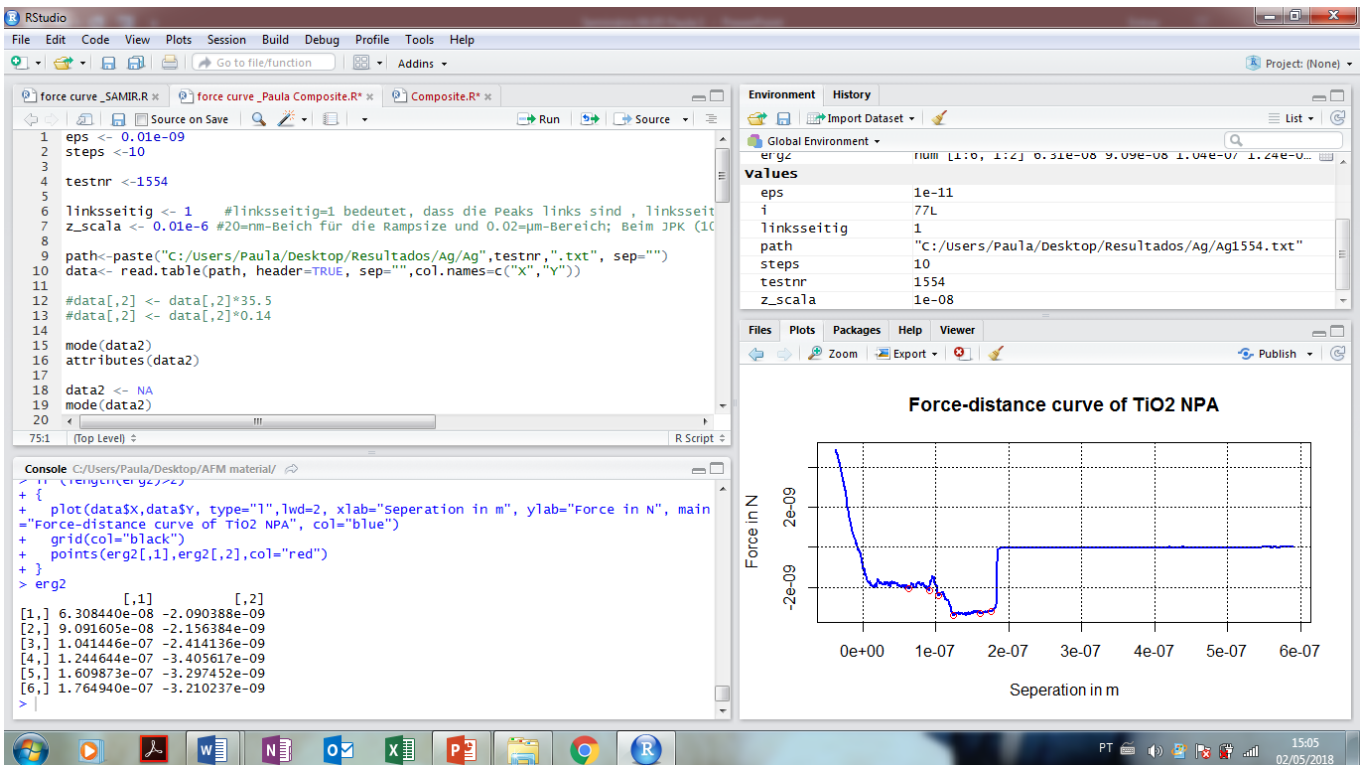
Figura A2: Interface do programa JPK – curva selecionada por meio do mapa.



APÊNDICE 2

Neste apêndice será apresentada a interface do software R bem como o *script* utilizado para encontrar o último pico de cada uma das curvas escolhidas.

Figura A3: Tela de interface do software R e usuário.



Script

```
eps <- 0.01e-9
```

```
steps <- 2
```

```
testnr <- 1
```

```
left side <- 1 # left side = 1 means that the peaks are left, left = 0 means peaks right
```

```
z_scala <- 0.01e-6 # 20 = nm area for the ramp size and 0.02 = µm area; JPK (1024 data points) 0.01E-6
```

```
path<-paste("C:/Users/Paula/Desktop/Composite.txt" sep="")
```

```
data<- read.table(path, header=TRUE, sep=" ", col.names=c("X", "Y"))
```

```
#data[,2] <- data[,2]*35.5
```

```
#data[,2] <- data[,2]*0.14
```

```
data2 <- NA
```

APÊNDICE 2

```
mode(data2)
attributes(data2)
for (i in (steps+1):(nrow(data)-steps))
{
  if (data$Y[i-steps]-data$Y[i]>eps && data$Y[i+steps]-data$Y[i]>eps)
    data2<-rbind(data2,data[i,])
}
data2<-data2[-1,]
erg<-cbind(data2$X,data2$Y)

if (nrow(data2)>1)
{
  for (i in 1:(nrow(data2)-1))
  {
    if (linksseitig==1)
    {
      if (-(data2$X[i]-data2$X[i+1])<z_scala)
      {
        erg[i+1,2]<-min(erg[i,2],erg[i+1,2])
        if (erg[i+1,2]==erg[i,2])
        {
          erg[i+1,1]<-erg[i,1]
        }
        erg[i,2]<-1000
      }
    }
    if (linksseitig==0)
    {
      if (data2$X[i]-data2$X[i+1]<z_scala)
      {
        erg[i+1,2]<-min(erg[i,2],erg[i+1,2])
        if (erg[i+1,2]==erg[i,2])
        {
```

APÊNDICE 2

```
    erg[i+1,1]<-erg[i,1]
  }
  erg[i,2]<-1000
}
}

}
}
erg2<-erg[which(erg[,2] < 1000),]
if (length(erg2)==2)
{
  plot(data$X,data$Y, type="p")
  points(erg2[1],erg2[2],col="red")
}
if (length(erg2)>2)
{
  plot(data$X,data$Y, type="l",lwd=2, xlab="Seperation in m", ylab="Force in N",
main="Force-distance curve", col="blue")
  grid(col="black")
  points(erg2[,1],erg2[,2],col="red")
}
erg2
```

APÊNDICE 3

Neste apêndice serão apresentadas as imagens do ensaio de disco-difusão feitos para os três microrganismos em estudo com os nanomateriais TiO_2 e Ag/TiO_2 .

Figura A4: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *E.Coli* com o nanomaterial de TiO_2 .

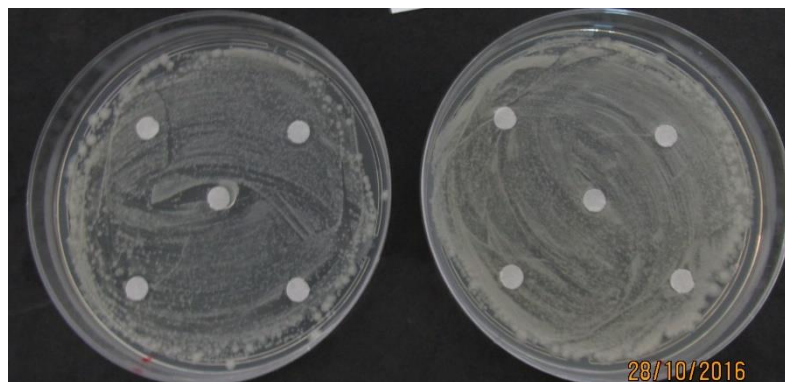


Figura A5: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *S.Aureus* com o nanomaterial de TiO_2 .

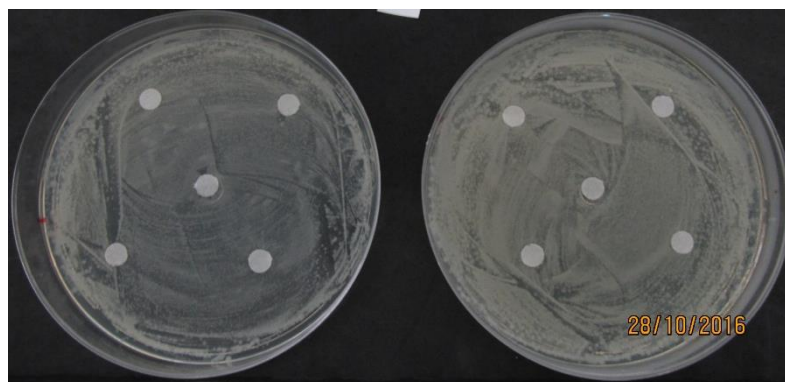
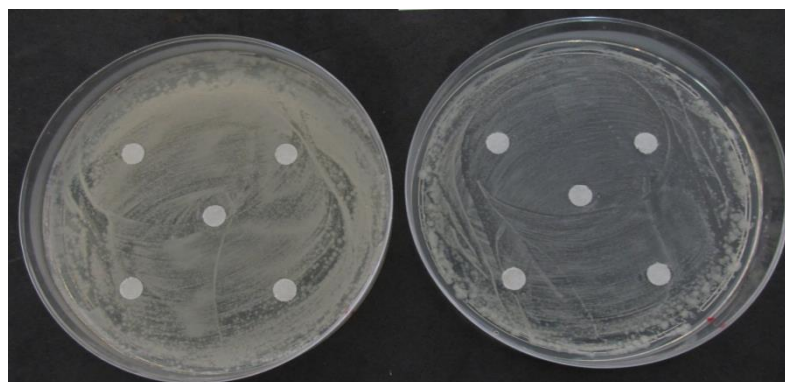


Figura A6: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *S.Aureus* com o nanocopmpósito Ag/TiO_2 .



APÊNDICE 3

Figura A7: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *C.Albicans* com o nanomaterial de TiO_2 .

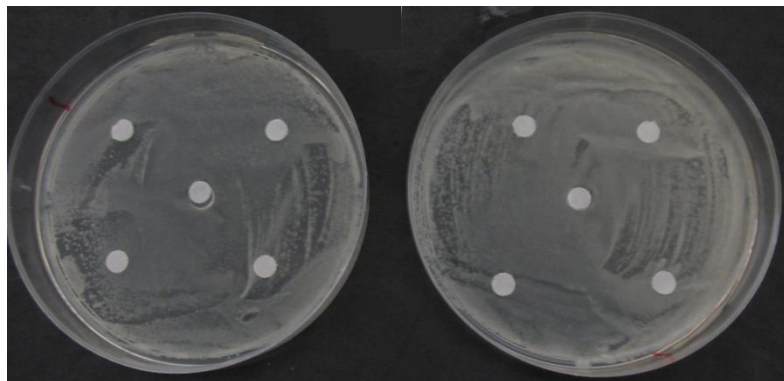


Figura A8: Ensaio de disco-difusão para o microrganismo *C.Albicans* com o nanocompósito Ag/TiO_2 .

